

## 第 25 回酵素応用シンポジウム 研究奨励賞受賞者（敬称略・五十音順）

### 【生化学分野】

- 小笠原 泰志 （北海道大学大学院 工学研究院 准教授）  
「ペプチドに D 体アミノ酸を導入する新規異性化酵素の精密解析とその応用」
- 加藤 晃代 （名古屋大学大学院 生命農学研究科 助教）  
「翻訳促進技術の開発とタンパク質生産・機能評価への応用」
- 澄田 智美 （海洋研究開発機構 生命理工学センター 副主任研究員）  
「深海メタゲノム情報から見出された新規糖質分解酵素群の機能的多様性の解明」
- 村上 千明 （千葉大学 国際高等研究基幹 特任助教）  
「活性発見後半世紀以上遺伝子不明の哺乳類ホスホリパーゼ C 酵素群の同定と機能解析」
- 松田 知子 （東京工業大学 生命理工学院 准教授）  
「二酸化炭素を溶媒や基質として有効利用する酵素反応の研究」

### 【食品分野】

- 小山内 崇 （明治大学 農学部 農芸化学科 専任准教授）  
「微細藻類における代謝制御メカニズムの解明と食品・化成品原料の生産」
- 佐野 香織 （城西大学 理学部 化学科 准教授）  
「トウガラシ辛味関連化合物の生合成研究における新展開」



## 《 第 25 回 酵素応用シンポジウム プログラム 》

- 10:00 開会の辞 : 小川 順 (京都大学 教授)  
10:05 来賓祝辞 : 西山 真 (日本農芸化学会 会長、東京大学 教授)  
10:15 表彰状授与

### 【研究奨励賞受賞講演】

〈生化学分野〉

- 10:30 演題 1 : 活性発見後半世紀以上遺伝子不明の哺乳類ホスホリパーゼ C 酵素群の同定と機能解析  
村上 千明 (千葉大学 国際高等研究基幹 特任助教)  
10:45 演題 2 : 深海メタゲノム情報から見出された新規糖質分解酵素群の機能的多様性の解明  
澄田 智美 (海洋研究開発機構 生命理工学センター 副主任研究員)  
11:00 演題 3 : 翻訳促進技術の開発とタンパク質生産・機能評価への応用  
加藤 晃代 (名古屋大学大学院 生命農学研究科 助教)  
11:15 演題 4 : ペプチドに D 体アミノ酸を導入する新規異性化酵素の精密解析とその応用  
小笠原 泰志 (北海道大学大学院 工学研究院 准教授)  
11:30 演題 5 : 二酸化炭素を溶媒や基質として有効利用する酵素反応の研究  
松田 知子 (東京工業大学 生命理工学院 准教授)

〈食品分野〉

- 11:45 演題 6 : トウガラシ辛味関連化合物の生合成研究における新展開  
佐野 香織 (城西大学 理学部 化学科 准教授)  
12:00 演題 7 : 微細藻類における代謝制御メカニズムの解明と食品・化成品原料の生産  
小山内 崇 (明治大学 農学部 農芸化学科 専任准教授)  
12:15 昼食
- 13:00 【企画講演 1】 The Bacillus Cell Factory Innovation and European Regulatory Framework  
Colin Harwood (英国ニューキャッスル大学 名誉教授)
- 13:50 【企画講演 2】 AI 新時代における人間の価値と教育  
富田 勝 (慶応義塾大学 名誉教授)
- 14:40 休憩
- 15:00 【企画講演 3】 いまなぜ「リベラルアーツ」なのか？  
近藤 誠一 (近藤文化・外交研究所 代表)
- 15:50 【企画講演 4 (報告講演)】  
AI を活用したバイオ生産マネジメントシステムの開発  
河合 哲志 (株式会社ちとせ研究所 バイオ生産部 部長)  
酵素産業における AI を活用した微生物培養のモニタリング  
水戸 光司 (天野エンザイム株式会社 生産本部 生産技術部長)
- 16:40 閉会の辞 : 天野 源之 (一般財団法人 天野エンザイム科学技術振興財団 理事長)  
17:00 懇親会



# 活性発見後半世紀以上遺伝子不明の哺乳類ホスホリパーゼ C 酵素群の同定と機能解析

国立大学法人千葉大学 国際高等研究基幹 村上 千明

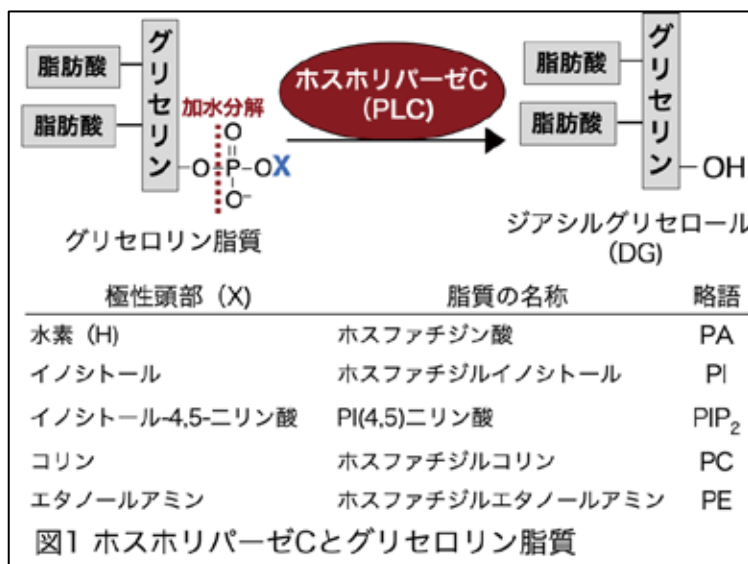


## 【略歴】

2016年3月 千葉大学理学部化学科 卒業  
 2018年3月 千葉大学大学院 理学研究科 基盤理学専攻 修士課程修了  
 2018年4月 日本学術振興会特別研究員 DC1  
 2021年3月 千葉大学大学院 融合理工学府 先進理化学専攻 博士課程修了・博士（理学）  
 2021年4月 日本学術振興会特別研究員 PD  
 2022年5月 千葉大学国際高等研究基幹（兼任：大学院理学研究院化学研究部門）特任助教  
 2024年 McMaster University, Department of Chemistry and Chemical Biology, Visiting Professor (Hamilton, Canada), 兼任：日本学術振興会 国際共同研究加速基金研究者

## はじめに

天野エンザイム（旧称：天野製薬）のロングセラーの消化酵素剤（胃腸薬）「ビオヂアス」は、脂肪分解酵素のリパーゼが多分に含まれている。リパーゼの1種にホスホリパーゼ C (PLC) がある（図1）。PLCはグリセロリン脂質を加水分解し、生理活性脂質のジアシルグリセロール (DG) を産生する。哺乳類 PLC はホスファチジルイノシトール (PI) (4,5) ニリン酸 (PIP<sub>2</sub>) 特異的 PLC (PIP<sub>2</sub>-PLC) の1種のみ同定されている。PIP<sub>2</sub>-PLC は PI 代謝回転の一部として多価不飽和脂肪酸 (PUFA) のアラキドン酸含有 DG を選択的に産生し、protein kinase C の活性化をはじめとする種々のシグナル伝達に参与する。一方、飽和脂肪酸 (SFA) 含有 DG は、生体膜主要成分のホスファチジルコリン (PC) やホスファチジルエタノールアミン (PE) の加水分解によって生じるが、その責任酵素である PC-PLC および PE-PLC は哺乳類にて活性発見後半世紀以上分子実体（遺伝子）が不明であった。



のシグナル伝達に参与する。一方、飽和脂肪酸 (SFA) 含有 DG は、生体膜主要成分のホスファチジルコリン (PC) やホスファチジルエタノールアミン (PE) の加水分解によって生じるが、その責任酵素である PC-PLC および PE-PLC は哺乳類にて活性発見後半世紀以上分子実体（遺伝子）が不明であった。

## なぜ哺乳類 PC-PLC, PE-PLC は半世紀以上もクローニングできなかったのか？

PC-PLC は生体膜、特に脂質ラフト（界面活性剤不溶性膜画分）に活性が強く検出されることから<sup>1</sup>、生体試料からの脂質ラフトの抽出・精製が難しく、精製途中で PC-PLC が失活するリスクが高い。従って、古典的な生化学的手法（いわゆる「モノとり」）による分子実体の同定は困難であったと考えられる。また、ホモロジーサーチによる PC-PLC、PE-PLC の報告例がないことから、当該酵素は従来の哺乳類 PLC (PIP<sub>2</sub>-PLC) と配列類似性が低いと考えられる。すなわち、既知のリパーゼを指標とした探索では PC-PLC の同定は困難であったと考えられる。以上より、哺乳類 PC-PLC は典型的な酵素探索法では発見できず、「新たな指標」が求められていた。

## ジアシルグリセロールキナーゼδアイソザイム (DGKδ) は未知の PC-PLC と相互作用する

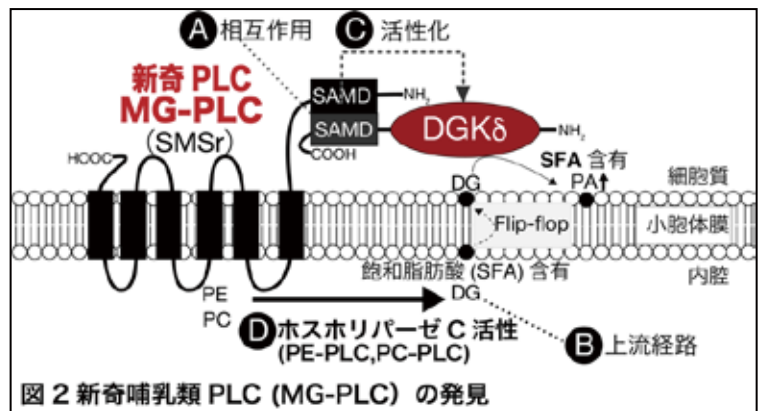
我々はこれまで、主に哺乳類 DGK に注目した研究を展開してきた。現在までに 10 種の哺乳類 DGK アイソザイムが報告され、全ての DGK が PI 代謝回転の一部としてのみ機能する (PUFA 含有 DG のみリン酸化する) と、漠然と考えられていた。最近、DGKδが細胞内で SFA-DG を選択的にリン酸化することを発見した。さらに、DGKδの免疫沈降物中に PC-PLC 活性が検出された。すなわち、DGKδは PC-PLC と相互作用し、PC-PLC 由来の SFA-DG を基質とする可能性がある<sup>2</sup>。そこで、「DGKδとの相互作用



用」という今までにない独自の指標によって PC-PLC を同定することを着想した。

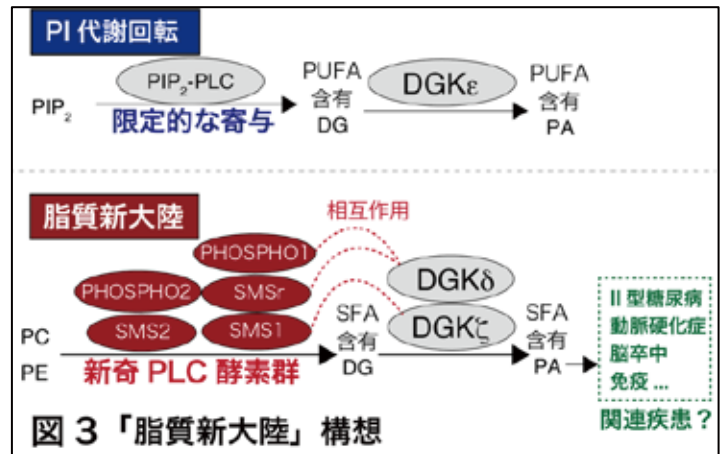
### スフィンゴミエリン合成酵素 (SMS) 関連タンパク質 (SMSr) は新タイプの哺乳類 PLC である

我々は DGK $\delta$ 中のタンパク質間相互作用モジュールの sterile  $\alpha$  motif domain (SAMD) に注目し, SAMD が保存されたタンパク質中から PC-PLC 候補を探索した。その候補として SMSr を見出した。SMSr は細胞内で SAMD を介して DGK $\delta$ と直接相互作用し (図 2A), 細胞内で SFA-DG を産生することを発見した (図 2B)<sup>3</sup>。しかし, 6 回膜貫通タンパク質の SMSr は, 精製困難で, 酵素学的性質に関して不明点が多かった。そこで, SMSr を高純度に精製し, *in vitro* で酵素学的性質を調べた。その結果, 本酵素は *in vitro* で SFA 含有 PC をはじめとするグリセリン脂質を選択的に水解し SFA-DG を産生する Multi-glycerophospholipid PLC hydrolase (MG-PLC) 活性を示すことを発見した (図 2D)<sup>4</sup>。すなわち, SFA-DG を選択的に産生する PC-PLC の分子実体の一つを同定した。



### 今後の展望 – 新奇 PLC 酵素群と DGK の織り成す「脂質新大陸」は存在するのか? –

上述の成果は, 半世紀も停滞した哺乳類 PLC 研究の突破口となった。現在, SMSr のアミノ酸配列を指標に, さらに他の哺乳類 PC-PLC の同定に挑んでいる。最近, SMSr と最も配列類似性の高い 2 種の SMS (SMS1, SMS2) も PC-PLC 活性を有し, SFA-PC に対して選択性を示すことを発見した<sup>5</sup>。また, 全ての SMS isoform は脂質リン酸ホスファターゼの触媒部位が保存されていることに注目し, 哺乳類ホスファターゼ中から新奇 PLC (orphan phosphatase の PHOSPHO1 と PHOSPHO2) を見出した。さらに, 新奇 PLC 酵素群の一部が SFA-DG を選択的にリン酸化する DGK $\delta$ や DGK $\zeta$ アイソザイムと相互作用することを発見した<sup>6</sup>。すなわち, 半世紀以上不明だった哺乳類 PC-PLC/PE-PLC を複数種, 一挙に発見し, PI 代謝回転 (PUFA-DG 代謝) と独立した, 新奇 PLC 酵素群が形成する「脂質新大陸 (SFA-DG 代謝)」が存在する可能性が浮上した (図 3)。今後は脂質新大陸が存在するのか否か, その可能性を検証していきたい。



### 謝辞

本研究は坂根郁夫博士 (千葉大学名誉教授, 特別研究員 DC1 受入研究者), 堺弘道博士 (島根大学助教, 特別研究員 PD 受入研究者) の指導の下に実施しました。指導を賜りました先生方, 角田 (熱田) 京子氏, Kamila Dilimulati 博士をはじめとした共同研究者の皆様にご心より感謝いたします。

本研究の遂行において, 私の健康 (胃腸) を常に支えてきた「ビオヂアス」にも深謝いたします。

### 引用文献

1. Murakami, C. *et al. Anal. Biochem.* **526**, 43–49 (2017)
2. Sakai, H. *et al. J. Biol. Chem.* **289**, 26607–17 (2014)
3. Murakami, C. *et al. J. Biol. Chem.* **295**, 2932–2947 (2020)
4. Murakami, C. *et al. J. Biol. Chem.* **296**, 100454 (2021)
5. Suzuki, R. # Murakami, C. #\* *et al. FEBS Letters* **597**, 2672 (2023) (#: 筆頭著者 \*: 責任著者)
6. Furuta, M. #, Murakami, C. #\* *et al. FEBS Open Bio* **13**, 1333 (2023) (#: 筆頭著者 \*: 責任著者)