

# ポリアミン Polyamine

Vol.4 No.1  
Apr. 2017

巻頭言

岡 孝己

シリーズ ポリアミン研究

鮫島 啓二郎

村井 法之

シリーズ 実験手技ノート

高橋 卓

最新の研究紹介

吉田 健人

小林 和也

今村 正隆

田島 彩沙

最新の論文紹介

植村 武史

松本 靖彦

年会報告

河合 剛太

## 日本ポリアミン学会

The Japanese Society of Polyamine Research



# ポリアミン Polyamine

Vol. 4 No. 1  
Apr. 2017

## 巻頭言

- ・ポリアミンコミュニティの発展を願って 岡 孝己 1

## シリーズ ポリアミン研究

- ・ポリアミン研究と化学合成 鮫島 啓二郎 3
- ・アンチザイム 村井 法之 8

## シリーズ 実験手技ノート

- ・TLCを用いた簡便なポリアミン検出 高橋 卓、懸樋 潤一、今井 章裕 14
- ・質問コーナー 17

## 最新の研究紹介

- ・スペルミジン構造類似体による大腸菌の細胞増殖促進機構の解明  
吉田 健人、坂本 明彦、照井 祐介、五十嵐 一衛、柏木 敬子 19
- ・納豆中ポリアミン含量の増強を目的とした大豆品種の比較 小林 和也 19
- ・ポリアミンによるグリコサミノグリカン合成調節機構の解明  
今村 正隆、東 恭平、五十嵐 一衛、戸井田 敏彦 20
- ・ポリアミン調節タンパク質アンチザイムはがん細胞においてATPクエン酸リアーゼに結合しアセチル  
CoA合成を促進する 田島 彩沙 20

## 最新の論文紹介

- ・スペルミジンによる心臓保護と寿命伸長 植村 武史 21
- ・トランスグルタミナーゼのポリアミン付加による転写因子の活性調節 松本 靖彦 21

## 年会報告

- ・第8回年会総括 河合 剛太、根本 直樹 23

事務連絡 28

編集後記 32



# ポリアミンコミュニティの発展を願って

岡 孝己

湧永製薬 創薬研究所

学会誌「ポリアミン」は、広報委員会の皆様方の多大な努力で毎号素晴らしく編纂されて、いつも大変興味深く愛読させて頂いています。この度、編集部より巻頭言のご依頼を頂きました。私なりにささやかな貢献ができれば幸いと思い、ここに筆をとる次第です。

私は現在、薬の研究開発の仕事を行っておりますが、前職のNIHと武蔵野大学では長年に渡り、「動物細胞の増殖と分化機能の発現に於けるポリアミンの役割」についての研究に取り組んでいました。そして、この研究がきっかけとなって、1971年に開催された第1回目の「ポリアミンに関するゴードン研究会議-Gordon Research Conference on Polyamines」に招待されて、研究成果を発表しました。以来、長年に渡りこの会議に参加して、今年もまた出席することを楽しみにしています。

ゴードン研究会議は、1931年にN.E.ゴードン博士が、最先端の科学者たちの交流と情報交換を推進することを目的として米国北東部で開催したのが始まりです。以来、今日に至るまで毎年200近くの選択されたテーマの会議が開催されます。会議の特徴の1つとして、privileged communicationという参加者が発表内容を外部には漏らさない約束をすることで、安心して未発表の研究成果を“off the record”で発表し、研究者同士が自由に議論し、最新のアイデアを交換できることが上げられます。また、この会議への参加・発表はchair personによる招待が原則として必要で、応募者が多数の場合は厳しい選定が行われます。さらに会議自体の運営内容についても厳しく評価されて、その存続の可否が決定されるので、この会議の権威ある歴史と実績が確立され、科学の発展に大きく貢献する重要な場を提供しています。

今でも鮮明に覚えています。論文や総説等を通じて尊敬していた著名なポリアミン研究者の方々と最初にゴードン会議でお目にかかり、面識を得て、色々とお話しをした時の興奮と感動は忘れられません。ゴードン会議では約一週間近く世界各国からのポリアミン研究者たちと起居を共にしながら熱心に議論し、親しくなり、良い友人も沢山できたことは、かけがえのない研究人生の喜びでした。長年に渡るポリアミンゴードン会議の思い出は本当に盛り沢山ですが、特筆すべきことの1つは、最初の会議では本当に少数であった日本からの参加者が、回を重ねる度に着実に増加し、秀れた研究成果を続々と発表し、高い評価を受けて会議を盛り上げ、ついにはアメリカに次ぐ主要なメンバー国になって今日に至っていることです。

ポリアミンに関するゴードン研究会議は2年毎に開催され、今年で26回目となります。これは数多い会議のテーマの中でもかなり長期に継続しているテーマとして特筆すべきことです。また、このゴード



ン会議をきっかけに、ポリアミンの国際会議がイタリアをはじめヨーロッパの国々、そして日本でも定期的に行われるようになり、ポリアミンコミュニティが著しく発展したことは実に喜ばしいことでした。そして、最近ではトルコやブラジルでも国際会議が開催されて、また来年には台湾で次の会議の準備がなされています。

世界のポリアミン研究者は、決して多数ではありませんが、いろいろな国々でアクティブに活動されていて、研究分野は医・薬・農・生物・化学等、非常に多彩です。そして国際会議等を通じてのこれらの研究分野の方々との交流は自ずとまた新しい視点やアイデアを得る貴重なチャンスとなり、ポリアミン研究のコミュニティのもう1つのユニークな魅力となっています。

ポリアミンコミュニティを形成する研究者の数は、1980年代に最大となり、この頃のゴードン会議は参加者数も200名近くにのぼり、参加できない人達も居ました。また、研究費もかなり潤沢な時代で、まさにポリアミン研究の全盛期でした。日本でもポリアミン研究会が1985年に発足し、国際学会が開催され、さらに2009年には日本ポリアミン学会が設立されて、日本のポリアミンコミュニティの基盤が確立されました。このような学会組織は欧米諸国にはなく、日本独自の優れたもので、ポリアミン研究を推進し、ポリアミンコミュニティの維持、発展に役立っています。

一方、近年、ポリアミン研究者の数は世界中で減少傾向にあるようで非常に気になります。従来、世界のポリアミンコミュニティは構成員数も数百名程度の小規模のものでしたから、研究者の減少はその維持、発展に深刻な問題です。そして、この傾向を改善するのは簡単ではないのが現状です。そもそも研究者あつてのコミュニティですので、まずは個々の研究者の安定した研究活動が大切で、さらには若手研究者の人材育成、研究費の確保も“must”な課題です。まずは研究者各々が地道な努力を、次に研究者同士で相乗効果のある共同作業を、さらにはコミュニティ全体として強力な対策を立てて実行し、また国内外で他のコミュニティと連携して新しい研究分野の展開を企てる等、一連の努力を根気強くすることでポリアミンコミュニティの発展を皆で力を合わせて推進する時期かと感じています。現在、米国をはじめ他の国々の状況から判断すると、日本のポリアミンコミュニティが一番しっかりした組織を持っているので、国際ポリアミンコミュニティの維持と発展のため、日本ポリアミン学会がリーダーシップを取って頑張ることが出来たらと切に願っています。当面の課題として今年6月のポリアミンゴードン会議を成功させて次回に存続させることが重要です。初めに述べたようにこの会議は国際ポリアミンコミュニティの形成の発端となった我々にとっての重要な、歴史的にも意義のあるものです。是非とも皆様と力を合わせてポリアミンコミュニティの大切な場を保持できることを祈っています。

今後のポリアミン研究の更なる進歩とポリアミンコミュニティの一層の発展を願ってやみません。

# ポリアミン研究と化学合成

鮫島 啓二郎

東京都医学総合研究所 客員研究員

(〒156-8506 東京都世田谷区上北沢2-1-6)

連絡先 鮫島啓二郎、e-mail: [samejima-kj@igakuken.or.jp](mailto:samejima-kj@igakuken.or.jp)

ある研究がライフワークになるには動機と情熱の継続が欠かせない。私の場合、前者については既に書いたことがある<sup>1)</sup>ので省略し、後者のために大いに役立った化学合成を中心に振り返ってみる。化学合成といえば有機化学を専門とする研究者の仕事と思われがちだが、ポリアミンのように水溶性で塩基性の強い低分子脂肪族化合物は彼等には研究対象として魅力的には映らないのが普通である。私のように薬品分析化学教室出身で化学合成も含めた方法論に興味を持つ者には、その構造の単純さ故に生命の発生初期から関わってきたであろうポリアミンは大変魅力的な化合物に思えた。ポリアミンの代謝図を念頭に置きながら行ってきた研究の中で、化学合成にまつわる話題を以下の三項目に分けて書いてみる。

## ポリアミン関連化合物の合成

ポリアミン研究を始めた1973年頃は、ろ紙電気泳動でポリアミンを分離しアミドブラックで染色するという古典的な分析法を使った研究が一流の生化学誌に載るような時代であり、またHPLCの黎明、発展期でもあった。市販前の高価な一級アミンの蛍光試薬フルオレサミンが手許にあったので、フルオレサミン標識ポリアミンをHPLCで分析するという当時ではかなり先端的な方法の開発を目指してスタートした。HPLCの装置は送液ポンプ、カラム、蛍光光度計、記録計などの部品を自分で組み立て、担体はその都度詰替えて、やっとの思いでジアミン類  $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2, n=4-8]$  のフルオレサミン誘導体がベースライン分離でつぎつぎに溶出してきた時の

感動は忘れられない<sup>2)</sup>。その系を利用してプトレシン(Put)、スペルミジン(Spd)、スペルミン(Spm)を定量するための内標準物質を探す過程で、市販されていなかったSpdアナログ  $[\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2, n=7,8]$  を合成する必要が生じた。これが私にとって初めてのポリアミン合成だった。ジアミン(n=7,8)にアクリロニトリルを付加した後、ニトリルを還元してアミノプロピル基にするという二段階の反応で、収率を気にしなければ素人の自分でも気楽にやれそうだった。ところが付加反応は良しとしてもニトリルの還元条件(アンモニアガスを氷冷下エタノールに飽和させて触媒とともに百気圧水素ガスの下に130°Cに加熱する高圧接触還元)は装置の完備した研究室でしか行えず、理科大と中外製薬には大変お世話になった。反応終了後、生成物の減圧分留、陽イオン交換カラムによる精製操作が必要で、アミノプロピル基導入の難しさ、ポリアミン合成の奥深さを味わった。

## <sup>15</sup>N標識ポリアミン

天然存在比0.366%の僅かな<sup>15</sup>Nを利用してポリアミンの各アミンのpKaをNMRで測定する共同研究<sup>3)</sup>中、<sup>15</sup>N標識ポリアミンがあれば生理的濃度でpKaが測定できるに違いないと考えたのが合成のきっかけである。しかし、当時は高価な<sup>15</sup>N標識体の合成に適用できるような方法は見当たらず、独自の方法を工夫しなければならなかった。<sup>15</sup>Nの原料には<sup>15</sup>N標識硫酸を用い、その<sup>15</sup>Nを有機化合物に導入する試薬としてフタルイミドカリを利用し、<sup>15</sup>N標識フタルイミドカリと $\alpha, \omega$ -ジブromoアルカンとを

反応させて $^{15}\text{N}$ 標識ジアミン類を合成するまでは通常の合成法に従った。問題はここでもアミノプロピル基の導入だった。試薬として $^{15}\text{N}$ 標識 (N-3-ブロモプロピル) フタルイミドが利用できれば理想的でそれにこだわった。しかし、通常の塩基存在下でのアルキル化条件ではブロモプロピル基に特有な試薬自身の $\beta$ 脱離反応が先行し目的物は全く得られなかった。そこで塩基を使わないアルキル化条件がないかと探していたところ、KF-celiteを使う方法<sup>4)</sup>がタイミングよく報告された。早速それに飛びつき目的化合物をTLC上で検出した時はポリアミン合成でやっと一人前になれた喜びを味わった。このアルキル化はアセトニトリル中KF-celiteと共に還流するだけで進行し、試薬の組み合わせによりいろいろなポリアミンの合成ができ大変有用だった<sup>5)</sup>。例えば、スペルミジンの3個の非等価窒素を自由に $^{15}\text{N}$ に換えたり<sup>6)</sup>、自然界から発見される特異なポリアミンの標品合成やメチレン鎖3または4の組み合わせで得られる全てのトリアミン、テトラミン、及びペンタミンなどの合成である<sup>7)</sup>。

### $^{13}\text{C}$ 標識ポリアミン

tRNA<sup>Phe</sup>とSpmの吸着をNMRで解析するため $^{13}\text{C}$ 標識Spmの合成を故Frydman教授から依頼され快諾した。1995年当時エレクトロスプレーイオン化による質量分析 (ESI-MS) が急速に発展し始めていた頃で、 $^{15}\text{N}$ 標識ポリアミンを利用する新しいポリアミン分析法の開発<sup>8)</sup>を行っていたところだった。そのため安定同位体標識ポリアミンの合成には興味を持っていた。 $^{13}\text{C}$ 源としては $\text{K}^{13}\text{CN}$ を選び、各段階で既報の合成法を検証しながら目的の $[5,8-^{13}\text{C}_2]\text{Spm}$ および $[1,12-^{13}\text{C}_2]\text{Spm}$ を合成した<sup>9)</sup>。この合成では問題のニトリル基の還元が避けられず、多くのニトリル基の還元法を試みた結果、小スケールでのポリアミン合成には $\text{NaBH}_4/\text{TFA}$ の系<sup>10)</sup>が有用だった。なおサクシノジニトリルを乾燥塩酸ガスを含むEtOH中で酸化白金触媒によりPutへ接触還元する古典的な系も役立った。

### $N^1, N^{12}$ -ジアセチルスペルミン (DiAcSpm)

癌患者の尿中にDiAcSpmが増え、腫瘍マーカーとして利用できるという川喜田らの報告<sup>11)</sup>に基づき、標品のDiAcSpmの合成を検討した。スペルミンのように一級アミノ基と二級アミノ基を持つ化合物で、一級のみを選択的にアセチル化するには酢酸溶媒中で無水酢酸を計算量加えて行うやり方が一般的に行われていた。しかし、この方法ではイオン交換クロマトグラフィなどによる精製操作が必要で、その操作の間に導入したアセチル基が一部外れるなどの問題があり、元素分析値が合うような純品はなかなか得られなかった。そこで菊川らが開発した一級アミノ基に対する選択的なアセチル化試薬*N*-methoxydiacetamide<sup>12)</sup>を用い、遊離のSpmと共にジオキサン中室温で攪拌するとDiAcSpmが析出し、それを再結晶するだけで元素分析値が理論値と矛盾しない純品を得ることができた<sup>13)</sup>。

上記のように $^{15}\text{N}$ および $^{13}\text{C}$ 標識ポリアミンを合成するための努力が各種ポリアミン合成のデザインを可能にした。比較的安価な市販の $d$ 標識中間体の利用も含めて、同じポリアミンで質量の違うポリアミンを必要に応じて準備できるようになった<sup>14)</sup>。

### 脱炭酸化S-アデノシルメチオニン (dcAdoMet) 関連化合物の合成

1970年代後半頃のポリアミン生合成酵素に関する研究は、誘導酵素であるオルニチン脱炭酸酵素 (ODC)がポリアミン生合成の律速酵素として圧倒的な注目を浴びており、アミノプロピル基転移酵素に関する研究者は数えるほどだった。研究者が少なかった理由の一つとしては基質であるdcAdoMetが容易に入手できなかったことが挙げられる。当時スペルミジン合成酵素 (Spm syn) に関する研究を始めようとしていたときで、先ずdcAdoMetの合成から開始した。合成法は1963年にJamiesonが報告しており<sup>15)</sup>、調製した*S*-5'-deoxyadenosyl-(5')-3-thiopropylamine (ATPA)をヨードメチルでメチル化してdcAdoMetにする方法である。この反応条件は、ATPAをぎ酸・酢酸混液中に溶かし、過量のヨ

ードメチルを加えて6日間室温、暗所に放置するというもので、時間の経過とともに副生成物が生じ実用性に問題があった。副生成物を抑制するには反応時間の短縮が有効ではないかと考え、上記混液に過塩素酸銀を加えたところ直ちに反応が進行し、数時間でdcAdoMetを得ることができた<sup>16)</sup>。さらに、この反応条件を利用してエチル化、プロピル化、ブチル化も可能となった。得られたdcAdoMet類似体のSpd synに対する基質性を調べると、アルキル基の伸長に伴いSpd の生成は低くなるが、いずれも基質になることがわかった<sup>17)</sup>。この結果は、酵素のdcAdoMet結合部位でこれらアルキル基が外側に向いていることを示唆し、それを参考にしてデザインしたアフィニティークロマトグラフィーにより哺乳動物Spd synを初めて純化することに成功した<sup>18)</sup>。化学合成したdcAdoMetはスルホニウム基の絶対配置S, Rのものがほぼ1 : 1で存在するジアステレオマーである。自然界ではS体が有効であることはAdoMetで証明されており<sup>19)</sup>、合成品に共存するR体の影響を調べる必要があった。そこでHPLCでS体を分離し合成品と比べたところ、合成品を用いても活性測定には全く影響が無いことがわかった<sup>20)</sup>。一般的にスルホニウム化合物のキラル不安定性も考え合わせると、合成dcAdoMetはそのままで十分有用な化合物であり、アミノプロピル基転移酵素の研究に大いに役立った。

## 酵素阻害剤の開発

### アミノプロピル基転移酵素

ポリアミン研究分野では数少ない有機化学の専門家Coward教授が1980年代に報告した、Spd synの転移反応の遷移状態を模して合成したS-adenosyl-1,8-diamino-3-thiooctane (AdoDATO)<sup>21)</sup>、及びSpm synを対象にしたS-adenosyl-1,12-diamino-3-thio-9-azadodecane (AdoDATAD)<sup>22)</sup>は強力な阻害剤として脚光を浴びた。しかし両者共に試験管内実験に止まり、基質のdcAdoMet濃度が高まると阻害が弱まるなどの欠点が明らかになった。そこで白幡らは両酵素のPut或いはSpd結合部位で競合する選択的な阻害剤を探す

ために、合成dcAdoMet及び精製Spd syn又はSpm synを含むアッセイ系で多くの化合物をスクリーニングした結果、Spd synに対してはtrans-4-methylcyclohexylamine(MCHA)が、Spm synに対してはN-(3-aminopropyl)cyclohexylamine(APCHA)が*in vivo*実験にも適用できる有用な阻害剤であることを示した<sup>23)</sup>。なお両化合物は市販品であり、MCHAはcis, trans混合物を塩酸塩にした後エタノール酢酸エチル混液から再結晶を繰り返して、cisの混入がないことをNMRで確認して用いなければならないことを付け加える。

### スperlミン酸化酵素(SMO)及びN<sup>1</sup>-アセチルポリアミン酸化酵素(APAO)

1985年以来N,N'-bis-2,3-butadienyl-1,4-butanediamine (MDL 72527)<sup>24)</sup>がAPAOの強力な不可逆的阻害剤として使用されてきた。その後21世紀に入りポリアミン代謝図にSMOが加わり、SMOの研究にもMDL 72527が阻害剤として用いられてきた。しかしSMOに対してはAPAOに対するほど強く阻害しないことがわかり、より強いSMOの阻害剤が望まれていた。そこで高尾らによる各種ペンタミンに対する基質性の研究<sup>25)</sup>から、SMOがポリアミン産物としてSpdを遊離する傾向に着目し、FADと反応するブタジエニル基をSpdのN<sup>1</sup>又はN<sup>8</sup>に結合したN<sup>1</sup>-butadienyl Spd又はN<sup>8</sup>-butadienyl Spdを合成した<sup>26)</sup>。いずれも不可逆的にSMO及びAPAOを阻害し、とりわけN<sup>8</sup>-butadienyl SpdはMDL 72527より30倍以上強くSMOを、およそ3倍強くAPAOを阻害した。しかしこの両酵素のいずれか一方のみを選択的に阻害することはできなかった。

以上40数年にわたりその時々目的に応じて、必要な化合物を合成しながら研究を進めてきた。市販品が入手できなかったり、高価だったりしたことも合成する理由の一つだったが、それが新規化合物の場合は研究に新たな展開が期待され大きな励みになった。また化学合成を通じてその化合物の物性がわかることは有用な知見として役立つであろう。蛇足になるがポリアミン骨格合成のアルキル化とし

て、KF-celiteを使用したNaHの利用もあることを付記する。

最後にこのようなまとめの機会を与えて頂いた編集委員の皆様に感謝する。

#### 参考文献

1. Samejima K.: ポリアミンの調節と癌. YAKUGAKU ZASSHI 126: 529-542 (2006)
2. Samejima K.: Separation of fluorescamine derivatives of aliphatic diamines and polyamines by high-speed liquid chromatography. J. Chromatogr. 96: 250-254 (1974)
3. Takeda Y., Samejima K., Nagano K., Watanabe M., Sugeta H., Kyogoku Y.: Determination of protonation sites in thermospermine and in some other polyamines by  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. Eur. J. Biochem. 130: 383-389 (1983)
4. Ando T., Yamawaki J.: Potassium fluoride on celite. A versatile reagent for C-, N-, O-, and S-alkylations. Chem. Lett. 8: 45-46 (1979)
5. Samejima K., Takeda Y., Kawase M., Okada M., Kyogoku Y.: Syntheses of  $^{15}\text{N}$ -enriched polyamines. Chem. Pharm. Bull. 32: 3428-3435 (1984)
6. Samejima K., Furukawa M., Haneda M.: Determination of various  $^{15}\text{N}$ -enriched spermidines with gas chromatography-mass spectrometry. Anal. Biochem. 147: 1-9 (1985)
7. Niitsu M., Samejima K.: Syntheses of a series of linear pentamines with three and four methylene chain intervals. Chem. Pharm. Bull. 34: 1032-1038 (1986)
8. Furuumi N., Amano D., Xu Y-J., Samejima K., Niitsu M., Shirahata A.: Ionspray ionization-mass spectrometric separation and determination of heptafluorobutryl derivatives of polyamines. Anal. Biochem. 265: 253-259 (1998)
9. Samejima K., Matsushima N., Niitsu M., Beppu T., Frydman B.: Syntheses of [5,8- $^{13}\text{C}_2$ ]- and [1,12- $^{13}\text{C}_2$ ]spermine using potassium [ $^{13}\text{C}$ ]cyanide as the  $^{13}\text{C}$  source. Chem. Pharm. Bull. 43: 2001-2004 (1995)
10. Caldwell C. R., Haug A.: Affinity chromatographic isolation of calmodulin from bovine-brain acetone powder. Anal. Biochem. 116: 325-330 (1981)
11. Hiramatsu K., Miura H., Kamei S., Iwasaki K., Kawakita M.: Development of a sensitive and accurate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system that can replace HPLC analysis for the determination of  $N^1,N^{12}$ -diacetylspermine in human urine. J. Biochem. 124: 231-236 (1998)
12. Kikugawa Y., Mitsui K., Sakamoto T., Kawase M., Tamiya H.: N-methoxydiacetamide: A new selective acetylating agent. Tetrahedron Letters 31: 243-246 (1990)
13. Samejima K., Hiramatsu K., Takahashi K., Kawakita M., Kobayashi M., Tsumoto H., Kohda K.: Identification and determination of urinary acetylpolyamines in cancer patients by electrospray ionization and time-of-flight mass spectrometry. Anal. Biochem. 401: 22-29 (2010)
14. Moriya S., Iwasaki K., Samejima K., Takao K., Kohda K., Hiramatsu K., Kawakita M.: A mass spectrometric method to determine activities of enzymes involved in polyamine catabolism. Anal. Chim. Acta 748: 45-52 (2012)
15. Jamieson G. A.: The synthesis of 5'-deoxy-5'-S-(3-methylthiopropylamine) sulfoniumadenosine ("Decarboxylated S-adenosylmethionine"). J. Org. Chem. 28: 2397-2400 (1963)
16. Samejima K., Nakazawa Y., Matsunaga I.: Improved synthesis of decarboxylated S-adenosylmethionine and related sulfonium compounds. Chem. Pharm. Bull. 26: 1480-1485 (1978)

17. Samejima K., Nakazawa Y.: Action of decarboxylated S-adenosylmethionine analogs in the spermidine synthesizing system from rat prostate. Arch. Biochem. Biophys. 201: 241-246 (1980)
18. Samejima K., Yamanoha B.: Purification of spermidine synthase from rat ventral prostate by affinity chromatography on immobilized S-adenosyl(5')-3-thiopropylamine. Arch. Biochem. Biophys. 216: 213-222 (1982)
19. Cornforth J. W., Reichard S. A., Talalay P., Carrell H. L., Glusker J. P.: Determination of the absolute configuration at the sulfonium center of S-adenosylmethionine: Correlation with the absolute configuration of the diastereomeric S-carboxymethyl-(S)-methionine salts. J. Am. Chem. Soc. 99: 7292-7300 (1977)
20. Dejima H., Kobayashi M., Takasaki H., Takeda N., Shirahata A., Samejima K.: Synthetic decarboxylated S-adenosyl-L-methionine as a substrate for aminopropyl transferases. Biol. Pharm. Bull. 26: 1005-1008 (2003)
21. Tang K. -C., Mariuza R., Coward J. K.: Synthesis and evaluation of some stable multisubstrate adducts as specific inhibitors of spermidine synthase. J. Med. Chem. 24: 1277-1284 (1981)
22. Woster P. M., Black A. Y., Duff K. J., Coward J. K., Pegg A. E.: Synthesis and biological evaluation of S-adenosyl-1,12-diamino-3-thio-9-azadodecane, a multisubstrate adduct inhibitor of spermine synthase. J. Med. Chem. 32: 1300-1307 (1989)
23. Shirahata A., Morohoshi T., Fukai M., Akatsu S., Samejima K.: Putrescine or spermidine binding site of aminopropyltransferases and competitive inhibitors. Biochem. Pharmacol. 41: 205-212 (1991)
24. Bay P., Bolkenius F. N., Seiler N., Carasa P.: N-2,3-Butadienyl-1,4-butanediamine derivatives: Potent irreversible inactivators of mammalian polyamine oxidase. J. Med. Chem. 28: 1-2 (1985)
25. Takao K., Shirahata A., Samejima K., Casero R. A. Jr, Igarashi K., Sugita Y.: Pentamines as substrate for human spermine oxidase. Biol. Pharm. Bull. 36: 407-411 (2013)
26. Moriya S., Miura T., Takao K., Sugita Y., Samejima K., Hiramatsu K., Kawakita M.: Development of irreversible inactivators of spermine oxidase and N<sup>1</sup>-acetylpolyamine oxidase. Biol. Pharm. Bull. 37: 475-480 (2014)

# アンチザイム

村井 法之

東京慈恵会医科大学

## 1. はじめに

アンチザイム(AZ)は細胞増殖に必須のポリアミンの細胞内濃度を調節している重要なタンパク質である。AZは、ポリアミン合成の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素(ODC)の阻害因子として初めて発見された。AZの発現は、細胞内のポリアミン濃度の上昇に反応して、翻訳フレームシフトと呼ばれるとてもユニークなメカニズムで誘導される。発現したAZはODCに結合し、26SプロテアソームによるODCの分解を促進する。AZはさらに細胞外からのポリアミンの取り込みも阻害する。つまりAZは細胞内のポリアミン濃度を負にフィードバック調節しているのである。AZには3つのタンパク質ファミリーが存在している(AZ1, AZ2およびAZ3)。AZ1とAZ2はほとんどの組織に存在しているが、AZ3は精巣特異的に発現している(表1)。アンチザイムはさらに2つのアンチザイムインヒビター(AZIN)と呼ばれる、ODCにホモロジーがあるがODC活性を持たないタンパク質によって調節されている。本総説では、アンチザイムとアンチザイムインヒビターの機能と制御について解説する。

## 2. アンチザイム1

アンチザイム1(AZ1)はアンチザイムファミリーの中では最もよく研究されている。1976年にHellerらによって、動物細胞でポリアミン誘導性のODC阻害因子として報告されている<sup>1)</sup>。AZ1は酵母から哺乳動物まで幅広く存在している<sup>2)</sup>。AZ1は単量体ODCに結合しODC活性を阻害するとともにそれを26Sプロテアソームに提示し、ユビキチン非依存的分解を促進する<sup>3-6)</sup>。AZ1自身の分解はユビキチン依存的にプロテアソームで行われることが分かって

表1 アンチザイムファミリー

	AZ1	AZ2	AZ3
種特異性	酵母～ 哺乳動物	脊椎動物	哺乳動物
進化的保存	低	高	低
組織局在	全身	全身	精巣
発現レベル	高	低	低
翻訳フレームシフト	+	+	+
ポリアミンによる発現誘導	+	+	+
ODC への結合と活性阻害	+	+	+
ODC の分解促進			
In vitro	+	-	-
In vivo	+	+	-
AZIN への結合	+	+	+
ポリアミンの細胞内取込阻害	+	+	+

いる<sup>7)</sup>。ODCはAZ1が存在しなくとも26Sプロテアソームで分解されるが(半減期1時間程度)、AZ1が存在した場合ODCの半減期は数分から十数分となり分解が促進される<sup>3)</sup>。AZ1によるODCの分解促進において2つの構造上重要な領域が存在する。一つはAZ結合領域でアミノ酸の117～140番目の領域であり<sup>8,9)</sup>、もう一つはC末端の短い領域で特に末端の5アミノ酸が重要である。C末端領域は構造的にフレキシブルでAZが結合すると構造が変化しこの構造変化によりODCが26Sプロテアソームにより認識されると考えられている<sup>6,10,11)</sup>。AZ1は細胞外からのポリアミンの取り込みを阻害するが<sup>12,13)</sup>、実際にAZ1が相互作用する輸送体などは見つかっていない。

これまでAZ1が分解促進するタンパク質はODCのみとされてきたが、最近AZ1によってユビキチン非依存的に分解されるタンパク質がいくつか報告されている(表2)。細胞周期制御因子であるサイクリンD1<sup>14)</sup>、細胞分裂に関連するキナーゼの

表2 AZ1がユビキチン非依存的に分解を促進するタンパク質 (ODC以外)

Proteins	Function	Characteristics of degradation	Degradation	References
Smad1	BMP signaling pathway	Formation of HsN3 ( $\beta$ -subunit for 20S proteasome)-Smad1-AZ1 ternary complex	In vivo	19
Cyclin D1	Cell cycle regulation	Direct interaction with AZ1	In vitro In vivo	14
Aurora-A	Kinase	Formation of AUKAIP1-AZ1-Aurora-A ternary complex	In vivo	15
DeltaNp73	Regulation of apoptosis	Degradation is induced by DNA damage and c-jun dependent	In vivo	17
Mps1	G1/M phase kinase	Expression level of AZ1 affects the level of Mps1 at the centrosome	In vivo	16
	Cell division (important for progression of G2/M phase)			
	Cell division (amplification of centrosome)			

Aurora A<sup>15)</sup>やMps1<sup>16)</sup>、p53のホモログでアミノ末端を欠いているDelta-N(DN)p73<sup>17)</sup>などである。これらのタンパク質に関しては、その分解の詳細や意義についての報告はまだ少なく今後の調査が必要であろう。最近我々もAZ1と相互作用する新たなタンパク質としてATPクエン酸リアーゼ(ACLY)を同定した<sup>18)</sup>。この酵素は細胞質のクエン酸からアセチルCoAを合成する酵素である。興味深いことに、AZ1はACLYの分解は全く促進せず逆に活性化しコレステロールや脂肪酸の合成を増加させることが分かった。このことはポリアミン代謝と脂質代謝がリンクしている可能性を示唆するものであり今後の説明が待たれる。

AZの発現は、ポリアミン誘導性翻訳フレームシフトと呼ばれるとてもユニークなメカニズムで行われる。AZのmRNA上にはオープンリーディングフレームが2つ存在する (ORF1、ORF2)、細胞内のポリアミン濃度が上昇するとAZのmRNA上で翻訳フレームシフトが起こりリボソームの読み枠が1塩基+方向へシフトする。本来認識するはずだったORF1の終止コドンではなくORF2の読み枠でアミノ酸をコードし活性型のAZが合成される<sup>2,20)</sup>。合成されたAZはODCの単量体に結合し、この複合体が26Sプロテアソームに認識されODCの分解が促進される(図1)。このときAZ自身は分解されず再利用される。このプロテアソームによるODCの分解

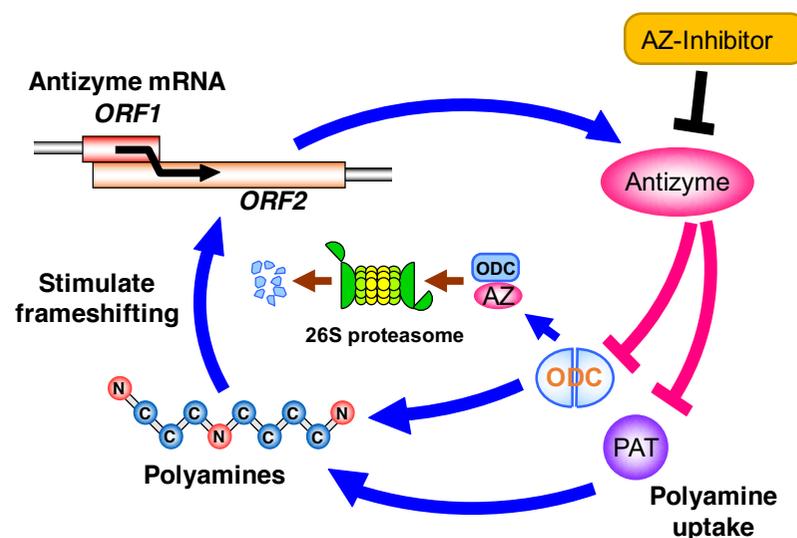


図1 アンチザイムとアンチザイムインヒビターによる細胞内ポリアミンのフィードバック制御

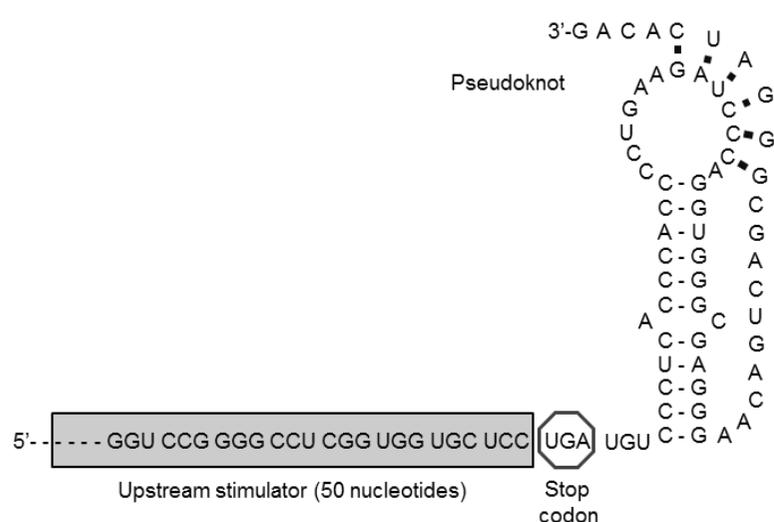


図2 AZ1 mRNA上のポリアミン誘導性翻訳フレームシフト促進領域

は、細胞内の多くのタンパク質の分解でおこるポリユビキチン化を必要とせずAZの結合のみで促進される。AZはさらに細胞外からのポリアミンの取り込みも阻害し細胞内のポリアミン濃度を減少させる。つまりAZは細胞内のポリアミン濃度を負にフィードバック調節しているのである。

これまでの研究からAZのmRNA上には+1フレームシフトに必要な3つのシス領域が存在していることがわかっている。フレームシフトサイトから5'上流の50ヌクレオチド、ORF1のストップコドンのUGAおよびフレームシフトサイトから60ヌクレオチドまでの配列で形成されるシュードノット構造の3つである(図2)。これらのシス配列は、フレームシフト効率を各々2.5~5倍、15~20倍、2.5~5倍に上昇させる<sup>20-22</sup>)。酵母では、翻訳途中のアンチザイムのポリペプチド上にリボソームの翻訳とポリペプチドの遊離を抑制させ、リボソームのストールを増加させる部位が存在し、その部位にポリアミンが結合するとリボソームのストールが解除し+1フレームシフト産物の合成を促進しているというモデルが提唱されている<sup>23</sup>)。しかし動物細胞では、ポリアミンがどのように+1フレームシフトを促進しているか、詳細はよくわかっていない。

### 3. アンチザイム2

AZ2も発現量はAZ1より少ないがAZ1と同様に脊椎動物の組織に広く存在している<sup>24</sup>)。AZ2は、てん

かん誘発剤によって神経細胞で発現が上昇する遺伝子の一つとして発見された<sup>25</sup>)。AZ2はAZ1と同様に細胞内で単量体のODCに結合しその活性を抑制するとともに26Sプロテアソームへ提示しODCの分解を促進させる機能を持っている<sup>26</sup>)。また細胞外からのポリアミンの取り込みも抑制する<sup>26,27</sup>)。しかしODCとの親和性や分解活性はAZ1の方が高い。不思議なことにAZ2はインビトロの系ではODCの分解促進活性を持たない<sup>26</sup>)。AZ2の細胞内局在はAZ1とは少し異なり主に核である。さらにC末端がリン酸化されることから<sup>27</sup>)、核において独自の機能を有していると考えられる。臨床においては、AZ2のmRNAの発現が高い神経芽細胞腫の患者は生存率が高くなるという正の相関があることが報告されている<sup>28</sup>)。このことはAZ2が神経細胞特異的機能を持っていることを意味しているのかもしれない。

### 4. アンチザイム3

AZ3は雄マウスの生殖細胞特異的タンパク質として同定された<sup>25,29</sup>)。AZ3のmRNAの発現は精巣に限定され、およそ22 kDaの翻訳産物はAZ1やAZ2と同様に翻訳フレームシフトによって合成されると考えられている。AZ3は細胞内でODCには結合できるが阻害活性は低く<sup>29</sup>)、また分解は促進しない<sup>30</sup>)。AZ3のノックアウトマウスにおいて、メスは正常だがオスはAZ3をノックアウトしても精巣上体や精巣のポリアミン濃度は変わらず、精子も精巣上体から供給されるが、精子の頭部と尾部の連結部位が弱く簡単に分離してしまう<sup>31</sup>)。またAZ3のmRNA翻訳産物の解析から精巣における主な翻訳産物は、翻訳フレームシフト後の22 kDaの産物ではなくORF1のおよそ12 kDaのタンパク質であると報告されている<sup>32</sup>)。今後の解析によりAZ3の機能の詳細が明らかとなるであろう。

### 5. アンチザイムインヒビター1

アンチザイムインヒビター1 (AZIN1)はAZに高い親和性で結合しAZの活性を阻害するタンパク質として発見された<sup>33</sup>)。ODCと高い相同性を有しているがODC活性はなく、AZに高い親和性で結合す

る。AZ-ODC複合体からODCを解離させODCを安定化するとともに、遊離AZを減らしポリアミンの取込みを促進させることにより細胞内のポリアミン濃度を正に調節している<sup>34)</sup>。またAZINにはAZIN1とAZIN2の2つのアイソフォームが存在し、AZIN1はほとんどの組織に普遍的に存在していて細胞増殖とがん化に関与している<sup>35)</sup>。またKasbekらは、AZIN1はAZIと共にセントロソームに局在し中心体の複製調節に関与していると報告している<sup>16)</sup>。村上らは、細胞周期に応答してAZIN1の発現や局在が変化することを見出した<sup>36)</sup>。AZIN1とAZIはセントロソームにおけるMps1 (表2参照)の発現を調節している可能性がある。

#### 6. アンチザイムインヒビター2

アンチザイムインヒビター2 (AZIN2) はODCの活性のないパラログとして2001年に発見された<sup>37)</sup>。AZIN2は全てのアンチザイム (AZ1~AZ3) に結合しAZIN1の様にポリアミンの取り込みを促進することができる。AZIN2の局在は脳と精巣に限定され、精巣ではAZIN1の25倍発現しているため<sup>38)</sup>精巣での機能が予想されていた。しかし最近セロトニン顆粒を含んだマスト細胞にもAZIN2が発現していて、マスト細胞を活性化するとAZIN2の発現が上昇することが報告された<sup>39)</sup>。さらにAZIN2はゴルジ体以降の分泌小胞に局在しその輸送にも関与しているという報告もある<sup>40)</sup>。このようにAZIN2は局在場所に応じて異なる機能をしている可能性がある。

#### 参考文献

- Heller, J.S., Fong, W.F., Canellakis, E.S. Induction of a protein inhibitor to ornithine decarboxylase by the end products of its reaction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 73: 1858-1862 (1976).
- Ivanov, I.P., Gesteland, R.F., Atkins, J.F. Antizyme expression: a subversion of triplet decoding, which is remarkably conserved by evolution, is a sensor for an autoregulatory circuit. *Nucleic Acids Res*. 28: 3185-3196 (2000).
- Murakami, Y. *et al.* Ornithine decarboxylase is degraded by the 26S proteasome without ubiquitination. *Nature*. 360: 597-599 (1992).
- Li, X., Coffino, P. Distinct domains of antizyme required for binding and proteolysis of ornithine decarboxylase. *Molecular and cellular biology*. 14: 87-92 (1994).
- Hayashi, S., Murakami, Y., Matsufuji, S. Ornithine decarboxylase antizyme: a novel type of regulatory protein. *Trends in biochemical sciences*. 21: 27-30 (1996).
- Coffino, P. Regulation of cellular polyamines by antizyme. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 2: 188-194 (2001).
- Gandre, S., Bercovich, Z., Kahana, C. Ornithine decarboxylase-antizyme is rapidly degraded through a mechanism that requires functional ubiquitin-dependent proteolytic activity. *European journal of biochemistry / FEBS*. 269: 1316-1322 (2002).
- Li, X., Coffino, P. Regulated degradation of ornithine decarboxylase requires interaction with the polyamine-inducible protein antizyme. *Molecular and cellular biology*, 12: 3556-3562 (1992).
- Hoyt, M.A., Zhang, M., Coffino, P. Ubiquitin-independent mechanisms of mouse ornithine decarboxylase degradation are conserved between mammalian and fungal cells. *J Biol Chem*. 278: 12135-12143 (2003).
- Murakami, Y., Matsufuji, S., Hayashi, S.I., Tanahashi, N., Tanaka, K. ATP-Dependent inactivation and sequestration of ornithine decarboxylase by the 26S proteasome are prerequisites for degradation. *Molecular and cellular biology*. 19: 7216-7227 (1999).
- Almud, J.J. *et al.* Crystal structure of human ornithine decarboxylase at 2.1 Å resolution: structural insights to antizyme binding. *J Mol Biol*. 295: 7-16 (2000).
- Mitchell, J.L., Judd, G.G., Bareyal-Leyser, A., Ling, S.Y. Feedback repression of polyamine

- transport is mediated by antizyme in mammalian tissue-culture cells. The Biochemical journal. 299 ( Pt 1): 19-22 (1994).
13. Suzuki, T. *et al.* Antizyme protects against abnormal accumulation and toxicity of polyamines in ornithine decarboxylase-overproducing cells. Proc Natl Acad Sci USA. 91: 8930-8934 (1994).
  14. Newman, R.M. *et al.* Antizyme targets cyclin D1 for degradation. A novel mechanism for cell growth repression. J Biol Chem. 279: 41504-41511 (2004).
  15. Lim, S.K., Gopalan, G. Antizyme1 mediates AURKAIP1-dependent degradation of Aurora-A. Oncogene. 26: 6593-6603 (2007).
  16. Kasbek, C., Yang, C.H., Fisk, H.A. Antizyme restrains centrosome amplification by regulating the accumulation of Mps1 at centrosomes. Mol Biol Cell. 21: 3878-3889 (2010).
  17. Dulloo, I., Gopalan, G., Melino, G., Sabapathy, K. The antiapoptotic DeltaNp73 is degraded in a c-Jun-dependent manner upon genotoxic stress through the antizyme-mediated pathway. Proc Natl Acad Sci USA. 107: 4902-4907 (2010).
  18. Tajima, A. *et al.* Polyamine regulating protein antizyme binds to ATP citrate lyase to accelerate acetyl-CoA production in cancer cells. Biochemical and biophysical research communications. 471: 646-651 (2016).
  19. Lin, Y. *et al.* A novel link between the proteasome pathway and the signal transduction pathway of the bone morphogenetic proteins (BMPs). BMC cell biology. 3: 15 (2002).
  20. Matsufuji, S. *et al.* Autoregulatory frameshifting in decoding mammalian ornithine decarboxylase antizyme. Cell. 80: 51-60 (1995).
  21. Howard, M.T. *et al.* Cell culture analysis of the regulatory frameshift event required for the expression of mammalian antizymes. Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms. 6: 931-941 (2001).
  22. Petros, L.M., Howard, M.T., Gesteland, R.F., Atkins, J.F. Polyamine sensing during antizyme mRNA programmed frameshifting. Biochemical and biophysical research communications. 338: 1478-1489 (2005).
  23. Kurian, L., Palanimurugan, R., Godderz, D., Dohmen, R.J. Polyamine sensing by nascent ornithine decarboxylase antizyme stimulates decoding of its mRNA. Nature. 477: 490-494 (2011).
  24. Ivanov, I.P., Gesteland, R.F., Atkins, J.F. A second mammalian antizyme: conservation of programmed ribosomal frameshifting. Genomics. 52: 119-129 (1998).
  25. Tosaka, Y. *et al.* Identification and characterization of testis specific ornithine decarboxylase antizyme (OAZ-t) gene: expression in haploid germ cells and polyamine-induced frameshifting. Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms. 5: 265-276 (2000).
  26. Chen, H., MacDonald, A., Coffino, P. Structural elements of antizymes 1 and 2 are required for proteasomal degradation of ornithine decarboxylase. J Biol Chem. 277: 45957-45961 (2002).
  27. Murai, N., Shimizu, A., Murakami, Y., Matsufuji, S. Subcellular localization and phosphorylation of antizyme 2. Journal of cellular biochemistry. 108: 1012-1021 (2009).
  28. Geerts, D. *et al.* The polyamine metabolism genes ornithine decarboxylase and antizyme 2 predict aggressive behavior in neuroblastomas with and without MYCN amplification. International journal of cancer. Journal international du cancer. 126: 2012-2024 (2010).
  29. Ivanov, I.P., Rohrwasser, A., Terreros, D.A., Gesteland, R.F., Atkins, J.F. Discovery of a spermatogenesis stage-specific ornithine decarboxylase antizyme: antizyme 3. Proc Natl Acad Sci USA. 97: 4808-4813 (2000).
  30. Snapir, Z., Keren-Paz, A., Bercovich, Z., Kahana, C. Antizyme 3 inhibits polyamine uptake and ornithine decarboxylase (ODC) activity, but does not stimulate ODC degrada-

- tion. The Biochemical journal. 419: 99-103, 101 p following 103 (2009).
31. Tokuhira, K. *et al.* OAZ-t/OAZ3 is essential for rigid connection of sperm tails to heads in mouse. PLoS genetics. 5: e1000712 (2009).
  32. Ruan, Y., Cheng, M., Ou, Y., Oko, R., van der Hoorn, F.A. Ornithine decarboxylase antizyme Oaz3 modulates protein phosphatase activity. J Biol Chem. 286: 29417-29427 (2011).
  33. Fujita, K., Murakami, Y., Hayashi, S. A macromolecular inhibitor of the antizyme to ornithine decarboxylase. The Biochemical journal. 204: 647-652 (1982).
  34. Kitani, T., Fujisawa, H. Purification and characterization of antizyme inhibitor of ornithine decarboxylase from rat liver. Biochimica et biophysica acta. 991: 44-49 (1989).
  35. Olsen, R.R., Zetter, B.R. Evidence of a role for antizyme and antizyme inhibitor as regulators of human cancer. Molecular cancer research : MCR. 9: 1285-1293 (2011).
  36. Murakami, Y. *et al.* The change of antizyme inhibitor expression and its possible role during mammalian cell cycle. Experimental cell research. 315: 2301-2311 (2009).
  37. Pitkanen, L.T., Heiskala, M., Andersson, L.C. Expression of a novel human ornithine decarboxylase-like protein in the central nervous system and testes. Biochemical and biophysical research communications. 287: 1051-1057 (2001).
  38. Lopez-Contreras, A.J., Ramos-Molina, B., Cremades, A., Penafiel, R. Antizyme inhibitor 2 (AZIN2/ODCp) stimulates polyamine uptake in mammalian cells. J Biol Chem. 283: 20761-20769 (2008).
  39. Kanerva, K. *et al.* Expression of antizyme inhibitor 2 in mast cells and role of polyamines as selective regulators of serotonin secretion. PLoS One. 4: e6858 (2009).
  40. Lopez-Contreras, A.J. *et al.* Subcellular localization of antizyme inhibitor 2 in mammalian cells: Influence of intrinsic sequences and interaction with antizymes. Journal of cellular biochemistry. 107: 732-740 (2009).

## TLCを用いた簡便なポリアミン検出

高橋卓、懸樋潤一、今井章裕<sup>1</sup>

岡山大学大学院自然科学研究科

連絡先 高橋卓、[perfect@cc.okayama-u.ac.jp](mailto:perfect@cc.okayama-u.ac.jp)

<sup>1</sup>現 広島工業大学生命学部

### 【はじめに】

本シリーズ「実験手技ノート」では、これまでHPLCを用いた簡便かつ高感度なポリアミン分析法等が紹介されてきました。今回は、ポリアミンの本格的な分析を行う予定はないがとりあえず最低限の検出を試みたい、あるいはHPLCの使用環境が整備されていない状況にある学部や大学院の初学者の方々でも、手軽にポリアミン研究に着手できる方法として、薄層クロマトグラフィー(TLC)を用いた検出法について紹介します。

### 【実験方法1 ダンシル化ポリアミンの検出】

特に準備が必要なもの

1. ソニケーター（菌破碎用）：（例）Branson Sonifier 450
2. マイクロチューブ用ホモジナイザー（植物組織破碎用）：（例）ペレットミキサー、ペレットペッスル
3. 過塩素酸：（例）ナカライ Perchloric Acid (60%) 精密分析用
4. ダンシルクロライド：（例）ナカライ Dansyl Chloride
5. 飽和炭酸ナトリウム水溶液：蒸留水に溶けなくなるまで炭酸ナトリウムを加えて調製する。
6. シリカゲルプレート：（例）MERCK TLC シリカゲル60 F254 (5 x 20 cm)
7. だるま型薄層クロマト展開槽
8. UV照射器：（例）フナコシ ハンディ型UVランプ

サンプル調製

### A. 大腸菌や酵母からポリアミン抽出する場合

1. 培養液1 mlをマイクロチューブに入れ、15,000回転（1分）で遠心集菌する。
2. 上清を捨て、0.4 mlの5% 過塩素酸によく懸濁する。
3. 氷上でソニケーターを用いて超音波破碎（1分）する。
4. 15,000回転（4°C, 10分）で遠心し、上清0.2 mlを新しいマイクロチューブに移す。
5. 0.4 mlのダンシルクロライド (5 mg/ml)のアセトン溶液（遮光冷凍保存）、0.2 mlの飽和炭酸ナトリウム水溶液を加え、ボルテックスミキサーで混合する。
6. 2時間以上、室温で暗所に置く。
7. 0.2 mlのベンゼンを加えて混合し、10分暗所に静置する。
8. 上清0.1 mlを新しいマイクロチューブに移し、TLC展開用試料とする。

### B. 植物からポリアミン抽出する場合

1. 生重量100 mgの植物試料と0.5 mlの5% 過塩素酸をマイクロチューブに入れ、マイクロチューブ用のホモジナイザー（ペレットミキサーやペレットペッスルなど）ですりつぶす。
2. A-4以降に従う。

### TLC展開

1. 薄層プレートの下から1.5 cmに鉛筆で薄く線を書く。

- 抽出試料50  $\mu\text{l}$ を1.5  $\mu\text{l}$ ずつ、薄層プレートに書いた線上、同一箇所添加到する。一度に50  $\mu\text{l}$ を添加すると溶液が滲んで広がるため、広がらないように断続的な添加を繰り返す (図1)。

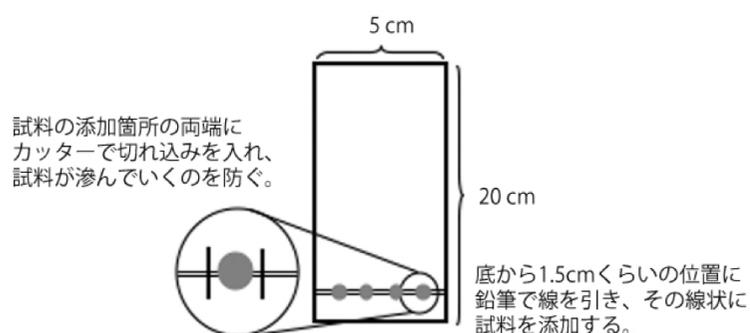


図1. 薄層プレート

- TLC用のだるま式展開槽に展開液 (クロロホルム:トリエチルアミン=2:1) 10 mlを入れ、薄層プレートの底辺を浸けて展開を始める (図2)。

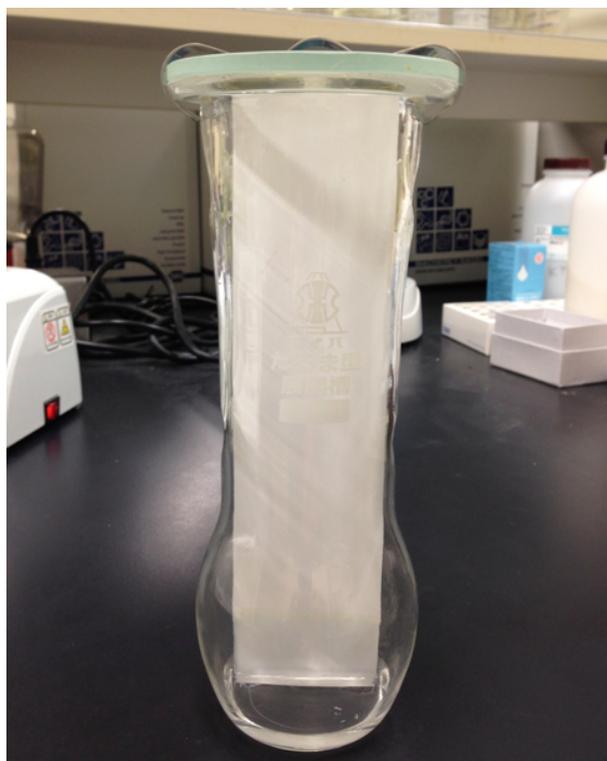


図2. だるま型展開槽を用いたTLCの外観

- 20 cmプレートの場合、展開時間は約1時間、展開液がプレートの上から約1 cmに至るまで展開を続ける。
- 展開終了後、プレートを10分乾かしてからUVランプを照射して結果を見る。必要に応じて写真に撮ります。

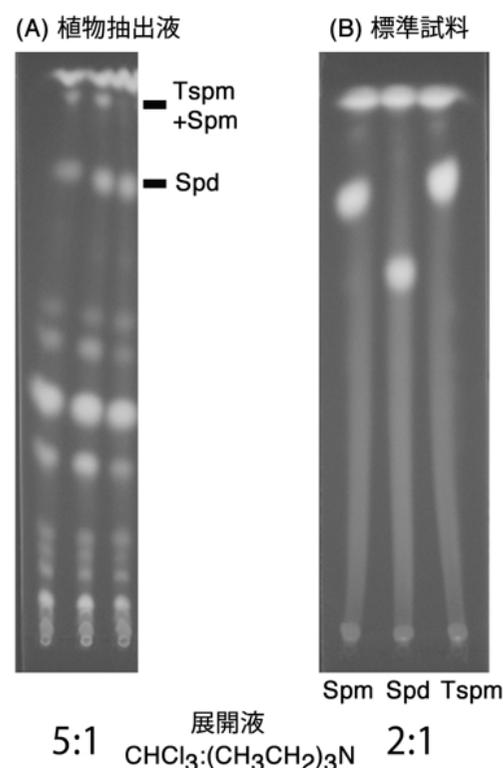


図3. UVによるダンシル化ポリアミンの検出結果

(A) 植物抽出液。試料は左から野生型、テルモスペルミン合成欠損変異株*acl5*、テルモスペルミン&スペルミン合成欠損二重変異株*acl5 spms*のシロイヌナズナ芽生え。(B) 標準試料。Spm, スペルミン、Spd, スペルミジン、Tspm, テルモスペルミン。

注意点

- 薄層プレートの幅と展開液の量は、適宜、展開槽のサイズに合わせるようにします。
- 薄層プレートに添加した試料が滲んで広がるのを防ぐために、添加位置の両端に予めカッターで切れ込みを入れます (図1)。
- 分離能が悪い場合は、展開液のクロロホルムとトリエチルアミンの比を2:1~5:1に変えると改善されることがあります (図3)。
- ダンシル化の欠点として、構造異性体のスペルミンとテルモスペルミンを分離して検出できないことが挙げられます (図3B)。両者を検出するための解決策として、感度は劣りますが、以下にニンヒドリンを用いた検出法を紹介します。

## 【実験方法2 ニンヒドリンによるポリアミン検出】

1. 実験方法1の過塩素酸抽出液の遠心上清0.2 ml (A-4)に等量の1.5 N KOHを加えて混合、中和し、氷上に20分静置する。
2. 0.4 mlの25 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.5)を加える。
3. 精製、濃縮のために、弱酸性陽イオン交換スピнкаラム (例、ザルトリウスVivapure C Mini M, ジーエルサイエンスMonoSpin CBA) に通す。
4. 25 mM 酢酸ナトリウム緩衝液で2回洗浄、遠心する。
5. 1 M 塩化ナトリウムを含む25 mM 酢酸ナトリウム緩衝液50  $\mu$ lで遠心、溶出し、TLC展開用試料とする。
6. *n*-ブタノール-酢酸-ピリジン-37%ホルムアルデヒド (3:3:2:1) を展開液とし、実験方法1と同じ要領で薄層プレートを用いてポリアミンを展開する。
7. 展開後、薄層プレートにできるだけ均一にニンヒドリンを噴霧する。
8. ヘアドライヤーやホットプレートを用いて薄層プレートを数分乾燥させた後、ポリアミンを検出する。

## 注意点

1. 前述したように、ダンシル化に比べて感度は劣るため、スペルミンやテルモスペルミンの合成酵素活性の有無を確かめるだけなら、基質 (スペルミジン) を生物試料に加えて前処理するとよいと思われます。

## 参考文献

1. Kakehi, J., Kuwashiro, Y., Niitsu, M., Takahashi, T. Thermospermine is required for stem elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 49: 1342-1349 (2008).

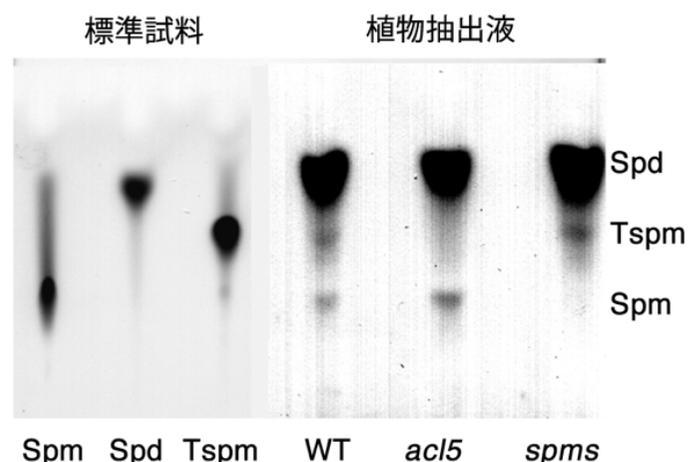


図4. ニンヒドリンによるポリアミンの検出結果

植物抽出液は左から野生型(WT)、テルモスペルミン合成欠損変異株*acl5*、スペルミン合成欠損変異株*spms*のシロイヌナズナ芽生え。ただし、抽出前に液体培地に1 mM スペルミジンを加えて24時間処理している。

2. Shirahata, A., Takeda, Y., Kawase, M., Samejima, K. Detection of spermine and thermospermine by thin-layer chromatography. *J Chromatogr.* 262: 451-454 (1983).

## ～編集部より筆者への質問コーナー～

編集部：これから実験をはじめめる学生さん（研究者）の皆さんを対象としているので、いくつか基本的なことも含めて質問させていただきます。

Q1. TLCの原理について教えてください。

高橋：TLC (thin-layer chromatography)は、ガラス板に薄く塗られた粒子状の担体（シリカゲル等）の中を、展開溶媒とともに試料を1方向に拡散移動させ、その際、試料中の物質の極性によって移動度（Rf値）が変わることを利用して、性質の似て異なる物質を分離、検出する方法です。担体がシリカゲルの場合、シラノール基(>SiOH)と試料中の物質の分子が持つ極性基（ポリアミンではアミノ基）との間にできる水素結合の度合いが大きいと、Rf値が低下します。展開溶媒の極性を上げると、溶媒分子とシラノール基との水素結合により試料の脱離が促進され、Rf値が高くなります。

編集部：ありがとうございます。HPLCの場合、ポリアミンの分離にはイオン交換カラムを、ダンシル化ポリアミンの分離には逆送カラムを用いることが多いので、順相のシリカゲル担体を用いたTLCでは展開液を変えればポリアミンもダンシル化ポリアミンも分離可能なのは意外でした。

Q2. TLCの結果を定量したいときはどうすればいいですか。

高橋：UV検出の場合は難しいので、既知濃度の標準試料を用いて検出し、蛍光強度からおおよその量を推定するのが限界とされます。ニンヒドリンの場合は、プレートをデンストメーターで走査する方法が好ましいですが、高価なので、写真にしてスポットサイズを比較する方法が考えられます。ただし、半定量的になるのは否めません。

Q3. 5cm幅のシリカゲルだと、最大何スポット添加可能でしょうか。

高橋：1スポットにつき1cmの幅は欲しいので、最大でも5スポットが限度とされます。

Q4. 少し幅の広いプレートを購入して、カットして使用することはできますか。カットする方法やコツがあれば教えてください。

高橋：幅広のプレートをカットして使用することも可能です。手袋をして薄層を汚さないように注意して扱うのは必須ですが、ペン型のガラス切を使えば、容易にカットできます。

Q5. 線を引くのに鉛筆以外のものを用いてもよいですか？

高橋：お薦めできません。ポリアミンの展開への影響は特に認められませんでした。本来、鉛筆で線を引くのも展開への影響を考えると、好ましいことではありません。鉛筆で書くのも極力薄く、わかる程度に抑えるべきでしょう。

Q6. 使用する試薬類について、安全衛生的な注意喚起や取扱いおよび廃棄上の注意点など教えてください。

高橋：UVランプの使用時やニンヒドリンの噴霧では、保護メガネの着用が好ましいです。クロロホルムやホルムアルデヒドなどが展開液に含まれますので、廃棄は各研究機関の規則に従って、有機廃液として処理することが必要です。また、TLC展開は室温や湿度の影響を受けるので、季節や天候の影響を受けない安定した実験室環境で実験を行うべきでしょう。

Q7. TLCについてもっと勉強したい人のためにお薦めの図書やHP等がありましたら、ご紹介ください。

高橋：Merck Milliporeがインターネット上で公開しているメルクTLCマニュアルは、無料でダウンロードできます。基礎からわかりやすく解説されており、非常にお薦めです。

編集部：お忙しいなか、ありがとうございました。

### スペルミジン構造類似体による大腸菌の細胞増殖促進機構の解明

吉田健人<sup>1</sup>、坂本明彦<sup>1</sup>、照井祐介<sup>1</sup>、五十嵐一衛<sup>2</sup>、柏木敬子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>千葉科学大学院薬学研究科、<sup>2</sup>株式会社アミンファーマ研究所

**Effect of Spermidine Analogues on Cell Growth of *Escherichia coli* Polyamine Requiring Mutant MA261.**

**Taketo Yoshida, Akihiko Sakamoto, Yusuke Terui, Koichi Takao, Yoshiaki Sugita, Kaneyoshi Yamamoto, Akira Ishihama, Kazuei Igarashi, Keiko Kashiwagi. PLOS ONE, 2016, 11(7), e0159494**

大腸菌ではプトレッシン (PUT) 及びスペルミジン (SPD) が主要ポリアミンであるが、他の細菌ではSPDの代わりにノルスペルミジン (NSPD) やホモスペルミジン (HSPD) などのスペルミジン構造類似体を細胞内に有する細菌も存在する。本研究では、これらスペルミジン構造類似体の存在意義及びSPDとの機能的差異があるかを検討した。その結果、大腸菌においてHSPDの添加により高温条件下での細胞増殖速度が大きく促進され、その際に、他のスペルミジン構造類似体と比較し、細胞内に多くのHSPDが取り込まれていることを見出した。さらに、HSPDは他のスペルミジン構造類似体より強くmRNAの構造を変化させることで、いくつかの熱ストレスの除去に参与する蛋白質の合成を翻訳レベルで促進していた。以上の結果より、大腸菌においてスペルミジン構造類似体の中でも、HSPDは熱耐性に重要な役割を果たす蛋白質合成を促進することで高温条件下において細胞増殖の促進に寄与することが示唆された。

### 納豆中ポリアミン含量の増強を目的とした大豆品種の比較

小林和也

新潟県農業総合研究所食品研究センター

**Comparison of soybean cultivars for enhancement of the polyamine contents in the fermented soybean natto using *Bacillus subtilis* (natto)**

**Kazuya Kobayashi, Yuichiro Horii, Satoshi Watanabe, Yuji Kubo, Kumiko Koguchi, Yoshihiro Hoshi, Ken-ichi Matsumoto, and Kuniyasu Soda.**

**Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2017, 81, 587-594.**

生大豆は高濃度のポリアミンを含有しており、その加工食品である納豆は代表的な高ポリアミン食品である。しかしながら、生大豆のポリアミン含量の多様性は、十分に検討されていなかった。そこで本研究では、品種間で生大豆中ポリアミン含量を比較し、ポリアミン高含有納豆の製造に好適な品種の選抜を行った。はじめに、16種の大豆のポリアミン含量を測定した。その結果、プトレッシン(PUT)、スペルミジン(SPD)およびスペルミン(SPM)濃度は、それぞれ93-861 nmol/g、1055-2306 nmol/gおよび177-578 nmol/gであり、生大豆のポリアミン含量には差異があった。また、生大豆ポリアミン含量とこれらの大豆から製造した納豆のポリアミン含量との間には、高い正の相関関係 ( $r \geq 0.82$ ) が認められ、納豆中ポリアミン量は原料に依存することが示唆された。さらに、国産大豆9品種を比較したところ、「ナカセンナリ」がPUT、SPDおよびSPMを最も高含有していた。

### ポリアミンによるグリコサミノグリカン合成調節機構の解明

今村正隆<sup>1</sup>、東恭平<sup>1</sup>、五十嵐一衛<sup>1, 2</sup>、戸井田敏彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>千葉大院薬、<sup>2</sup>アミンファーマ研

**Polyamines release the let-7b-mediated suppression of initiation codon recognition during the protein synthesis of EXT2.**

**Masataka Imamura, Kyohei Higashi, Katsutoshi Yamaguchi, Kiryu Asakura, Tomomi Furihata, Yusuke Terui, Toshihiko Satake, Jiro Maegawa, Kazunori Yasumura, Ai Ibuki, Tomoko Akase, Kazuhiro Nishimura, Keiko Kashiwagi, Robert J. Linhardt, Kazuei Igarashi, and Toshihiko Toida. Scientific reports, 2016, 6 : 33549.**

我々はヒト皮膚におけるグリコサミノグリカン (ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、ヒアルロン酸)の構造・量とポリアミン量に相関があるかどうかを HPLCにより検討した。その結果、ヘパラン硫酸量とポリアミン量に正の相関があることを見出した。そこで、ポリアミンの有無で発現量に変化する遺伝子をヘパラン硫酸生合成遺伝子から探索したところ、EXT1及びEXT2がポリアミンにより翻訳レベルで合成促進を受けることが明らかとなった。さらに、レポーター遺伝子を用いてポリアミンによるEXT2合成促進機構を検討した結果、EXT2の翻訳開始miRNAの一つであるlet7-bにより負に制御されており、ポリアミンはlet7-bの制御を解除することでEXT2の合成を促進することが明らかとなった。

### ポリアミン調節タンパク質アンチザイムはがん細胞においてATPクエン酸リアーゼに結合しアセチルCoA合成を促進する

田島彩沙

東京慈恵会医科大学 分子生物学講座

**Polyamine regulating protein antizyme binds to ATP citrate lyase to accelerate acetyl-CoA production in cancer cells**

**Ayasa Tajima, Noriyuki Murai, Yasuko Murakami, Takeo Iwamoto, Toshiro Migita, Senya Matsufuji Biochemical and Biophysical Research Communications 2016 18; 471(4): 646-51.**

アンチザイム (AZ) は、細胞内ポリアミンによって誘導され、ポリアミン合成系のオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) と結合してODCの分解を促進している。AZ結合タンパク質の一つとして、新たにATPクエン酸リアーゼ (ACLY) を同定した。ACLYはAZと結合しても分解が促進されない特性を有していた。ACLYは細胞質でクエン酸からアセチルCoAとオキサロ酢酸を生成する酵素である。そこで、AZがACLYに及ぼす影響を調べたところ、AZはACLYの酵素活性を増強していることが明らかとなり、アセチルCoA生成量を増加させ、さらにその下流の生成物であるコレステロール量も増加させていることを確認した。

以上の結果から、AZはポリアミン代謝系の制御因子であるだけでなく、ACLY活性の促進因子として、アセチルCoAを経由する脂質合成系に対しても重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

### スペルミジンによる心臓保護と寿命伸長

(紹介者) 植村武史

株式会社アミンファーマ研究所

#### **Cardioprotection and lifespan extension by the natural polyamine spermidine**

**Tobias Eisenberg, Mahmoud Abdellatif, Sabrina Schroeder, Uwe Primessnig, Slaven Stekovic *et al.***

**Nature Medicine, 2016, 22: 1428-1438**

一日でも長生きしたいと願う人に朗報である。今回Eisenbergらの報告により、スペルミジンを経口摂取すると心臓の老化が遅れ、寿命が伸長することが示された。

彼らはまず、飲み水にスペルミジンを加え、生後4週間からマウスに与え続けた。その結果、マウスの寿命が伸長した。幸いなことに、スペルミジンの摂取は中年以降から始めても同様の効果があった。スペルミジンは心筋細胞でオートファジーを誘導し、心臓を若く保っていた。次に、ヒトにおけるスペルミジンの効果を検討した。食事に関するアンケートに基づいたスペルミジン摂取量と心血管系疾患の頻度には負の相関があり、スペルミジンが心臓の健康を促進する事が示唆された。老化による心血管系疾患リスク上昇はすなわち死亡リスクである。スペルミジン豊富な食材、たとえば納豆や小麦胚芽、チーズ等を食事に取り入れると、健康で長生きできるかもしれない。

### トランスグルタミナーゼのポリアミン付加による転写因子の活性調節

(紹介者) 松本靖彦

帝京大学医真菌研究センター

#### **Transglutaminase-catalyzed incorporation of polyamines masks the DNA-binding region of the transcription factor Relish.**

**Maki K, Shibata T, Kawabata SI.**

**Journal of Biological Chemistry, 2017, *in press***

ショウジョウバエにおける免疫活性化経路として、転写因子であるRelishを介した抗菌ペプチドの発現調節機構が知られている。Relishは、プロテアーゼにより分解され、N末端側のRelish (Relish-N) が核内で下流の遺伝子発現を行う。著者らは、以前にトランスグルタミナーゼがRelishを介する免疫応答を抑制することを明らかにしていたがその分子機構は不明であった。本論文でMakiらは、トランスグルタミナーゼがRelish-NのDNA結合領域のグルタミンにスペルミンを付加することにより転写を抑制することを見出した。精製したタンパク質を用いたin vitroの実験において、トランスグルタミナーゼによりモノダンシルカダベリンが付加したRelish-Nでは、標的DNA配列との結合能が低下した。また、ショウジョウバエを用いたin vivoの実験において、生体内でRelish-Nにスペルミンが付加すると抗菌ペプチドの発現が抑制された。本研究で著者らは、トランスグルタミナーゼによるポリアミンの付加反応を介した転写因子Relish-Nの活性調節が免疫の制御に寄与すること提案している。

### 「最新の研究紹介」「最新の論文紹介」の原稿募集

「最新の研究紹介」「最新の論文紹介」はポリアミン学会員に向け、ポリアミン関連の最新の研究についての有用な情報を提供することを目的としています。

「最新の研究紹介」はポリアミン関連の論文を公表した著者がその研究内容を紹介するコーナーです。

皆様が発表した最新の研究を解説した原稿を募集いたします。本学会誌を研究のアピールの場としても利用していただきたいと思います。

「最新の論文紹介」はポリアミン関連の注目の論文を見つけた人がその研究内容を紹介するコーナーです。

「この研究論文は面白いから是非とも紹介したい!!」「この研究論文は重要だから広く学会員に知ってもらいたい!!」と思われた方は是非ご投稿ください。もし同一の論文に投稿希望が複数あった場合は、投稿者合意の上で全てを掲載する予定でいます。ただし、同じ研究室からの重複投稿は事務局で調整いたします。原稿を作成する前にあらかじめ事務局に投稿希望の旨をご連絡いただくと助かります。

#### [原稿の形式]

基本はA4版の半分のスペースとします(目安として35文字×20行)。このスペースでまとめ、興味を持ってもらい、詳細については論文を読んでもらう、という論文へ誘導する流れを想定しています。

ただし、どうしてもこのスペースでは伝えられないという場合にはA4全体を使って頂くことも可能とします。このスペースに収まるように図を入れて頂いても構いませんが、その際は図の著作権にご注意ください(論文の図をそのまま引用すると著作権の問題が生じる場合もあります)。

書式はこれまで号の形式を参照して頂き、以下の三つの部分で構成して下さい。

1. 日本語の論文のタイトル、本解説文を作成した著者名と所属
2. 論文のタイトル、著者名、雑誌名、発表年、号、ページ
3. 研究内容の要約

投稿はポリアミン事務局宛 ([polyamine@jikei.ac.jp](mailto:polyamine@jikei.ac.jp)) でお願ひします。

## 第8回年会総括

年会世話人 河合剛太、根本直樹

千葉工業大学先進工学部生命科学科

日本ポリアミン学会第8回年会は、平成29年1月20日（金）、21日（土）の二日間にわたり、千葉県習志野市の千葉工業大学津田沼キャンパスにおいて開催された。事前登録者102名（千葉工大学生27名を含む）、当日参加者21名の参加により、熱心な討論が行われた（写真1）。

特別講演は、20日夕方に、以下の2名の講演者を迎えて行われた。

講演者 山崎和彦（産総研・バイオメディシナル研究部門）

演題 NMRと因子分析によるスペルミジン合成酵素阻害剤の効果的評価法

講演者 新美達也（アステラス製薬創薬化学研究所）

演題 FBDDによるトリマノソーマ科寄生原虫スペルミジン合成酵素阻害剤の創製

ポリアミン生合成系を対象とした極めて具体的な創薬の過程が紹介され、積極的な議論が展開された。

一方、一般講演としては、20日に10演題、21日に14演題で、合計24演題の発表があった。それぞれの分野において最新の興味深い成果が発表された。特に、微生物による産生あるいは哺乳類の生理現象との関係について、大きな進展があったことがうかがえた。コーヒブレイクを含めて一つの会場で行ったことから、密度の高い年会になったという印象である。

懇親会は、20日に1号館20階のラウンジで開催された。千葉工業大学の小宮一仁学長にご参加いただき、五十嵐会長、松藤事務局長とともに一斗樽の鏡開きで盛会を祝った（写真2）。103名の参加者は、スペルミンの刻印を入れた升で日本酒を楽しみ、また、特注のケーキを味わいながら、ポリアミン研究について大いに語り合った。

本年会を開催するにあたり、株式会社高長様、株式会社薬研社様、コンビ株式会社様、大陽日酸株式会社様およびフナコシ株式会社様に講演要旨集に広告を提供していただきました。また、協同乳業株式会社様からは乳製品を提供していただきました。厚く感謝の意を表します。



写真1



写真2

# 日本ポリアミン学会第8回評議員会議事録

日時: 平成29年1月21日(土) 11:45~13:00

場所: 千葉工業大学・津田沼キャンパス・2号館2階会議室3

出席者: 五十嵐一衛、大島泰郎、大澤仲昭、岡 孝己、塩川光一郎、柏木敬子、河合剛太、川喜田正夫、草野友延、早田邦康、松藤千弥、鈴木秀之、村井法之、根本直樹

議事予定:

## 1. 役員人事

### 1) 評議員の辞任

埼玉医科大学総合医療センター名越澄子氏自己都合により評議員を辞任したい(学会も退会)との意向があり承認した。

### 2) 第11回年会担当役員の選出

千葉大学か慈恵医大のどちらかで開催することで調整することとした。

## 2. 事業報告

### 1) 会員数・会費納入状況

### 2) 学会誌の発行 ポリアミン 第3巻1号(2016年4月) 2号(2016年11月)

## 3. 事業計画

### 1) 第9回年会開催(西宮) 年会担当役員:藤原伸介氏(関西学院大学)

2018年1月19日(金)、20日(土)

### 2) トランスグルタミナーゼ&ポリアミン合同学術集会(平成29年度12月開催の2017年度生命科学系学会合同年次大会(第40回日本分子生物学会年会第90回日本生化学会大会)の前後または期間中に開催予定)

### 3) GRS, GRCの若手渡航補助(70,000円 × 6名まで)

### 4) 広報活動について

- ・学会誌の発行(2回/年)
- ・学会ホームページのリニューアル

## 4. 会計報告

### 1) 事務局より平成27年度決算および監査が報告され承認された。

### 2) 事務局より平成28年度収支状況について報告があった。

### 3) 事務局より平成29年度予算の報告があり承認された。

## 5. ポリアミン学会企画・運営委員会設置の提案

学会運営の効率化および学会員の意見を運営に生かし学会活動を活性化するために、学会員中堅・若手を中心となり学会の企画・運営委員会を新設したいとの提案があり承認された。

## 6. 連絡事項

事務局より2017年開催予定の国際学会および国内学会について連絡があった。

### 1) 国際学会

- Gordon Research Seminar (GRS)

Polyamines-Mechanistic Insights and Their Therapeutic Applications

会期：2017年6月24日(土)～25日(日)

会場：Waterville Valley, New Hampshire

- Gordon Research Conference (GRC)

Polyamine Metabolism in Disease and Polyamine-Targeted Therapies

会期：2017年6月25日(日)～30日(金)

会場：Waterville Valley Resort in Waterville Valley, New Hampshire

- 15th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins

会期：2017年8月7日(月)～11日(金)

会場：University of Vienna, Austria

- 5th International Conference on Polyamines: Biochemical, Physiological and Clinical Perspectives

会期：2018年9月 (予定)

会場：TAIWAN

オーガナイザー：Han-Jia Lin (National Taiwan Ocean Univ.)

Kazuei Igarashi & Enzo Agostinelli

### 2) 国内学会

- 2017年度生命科学系学会合同年次大会(第40回日本分子生物学会年会,第90回日本生化学会大会)

会期：2017年12月6日(水)～9日(土)

会場：神戸ポートアイランド

- トランスグルタミナーゼ・ポリアミン合同学術集会 (平成29年度12月開催の第90回日本生化学会大会・第40回日本分子生物学会年会 (神戸) の前後または期間中に開催予定)

## 7. その他

### 1) 第8回総会議長・副議長候補推薦

第8回総会議長候補に松本靖彦氏 (帝京大学)、副議長候補に田島彩紗氏 (慈恵医大) を推薦することとした。

以上

# 日本ポリアミン学会第8回総会議事録

日時: 平成29年1月21日(土) 14:50~15:30

会場: 千葉工業大学 津田沼キャンパス 2号館3階大教室

## 1. 議長および副議長の選出

議長: 松本靖彦氏(帝京大学)を選出した。

副議長: 副議長候補に田島彩紗氏(慈恵医大)を選出した。

## 2. 役員人事

### 1) 評議員の辞任

埼玉医科大学総合医療センター名越澄子氏自己都合により評議員を辞任したい(学会も退会)との意向があり承認した。

### 2) 第11回年会担当役員の選出

千葉大学か慈恵医大のどちらかで開催することで調整することとした。

## 3. 事業報告

### 1) 会員数・会費納入状況。

### 2) 学会誌の発行 ポリアミン 第3巻1号(2016年4月) 2号(2016年11月)

## 4. 事業計画

### 1) 第9回年会開催(西宮) 年会担当役員: 藤原伸介氏(関西学院大学)

2018年1月19日(金)、20日(土)

### 2) トランスグルタミナーゼ&ポリアミン合同学術集会(平成29年度12月開催の2017年度生命科学系学会合同年次大会(第40回日本分子生物学会年会第90回日本生化学会大会)の前後または期間中に開催予定)

### 3) GRS, GRCの若手渡航補助(70,000円 × 6名まで)

### 4) 広報活動について

- ・学会誌の発行(2回/年)
- ・学会ホームページのリニューアル

## 5. 会計報告

1) 事務局より平成27年度決算および監査が報告され承認された。

2) 事務局より平成28年度収支状況について報告があった。

3) 事務局より平成29年度予算の報告があり承認された。

## 6. ポリアミン学会企画・運営委員会設置の提案

学会運営の効率化および学会員の意見を運営に生かし学会活動を活性化するために、学会員中堅・若手が中心となり学会の企画・運営委員会を新設したいとの提案があり承認された。

## 7. 連絡事項

事務局より2017年開催予定の国際学会および国内学会について連絡があった。

### 1) 国際学会

#### ・ Gordon Research Seminar (GRS)

Polyamines-Mechanistic Insights and Their Therapeutic Applications

会期：2017年6月24日(土)～25日(日)

会場：Waterville Valley, New Hampshire

#### ・ Gordon Research Conference (GRC)

Polyamine Metabolism in Disease and Polyamine-Targeted Therapies

会期：2017年6月25日(日)～30日(金)

会場：Waterville Valley Resort in Waterville Valley, New Hampshire

#### ・ 15th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins

会期：2017年8月7日(月)～11日(金)

会場：University of Vienna, Austria

#### ・ 5th International Conference on Polyamines: Biochemical, Physiological and Clinical Perspectives

会期：2018年9月 (予定)

会場：TAIWAN

オーガナイザー：Han-Jia Lin (National Taiwan Ocean Univ.)

Kazuei Igarashi & Enzo Agostinelli

### 2) 国内学会

#### ・ 2017年度生命科学系学会合同年次大会(第40回日本分子生物学会年会,第90回日本生化学会大会)

会期：2017年12月6日(水)～9日(土)

会場：神戸ポートアイランド

#### ・ トランスグルタミナーゼ・ポリアミン合同学術集会 (平成29年度12月開催の第90回日本生化学会大会・第40回日本分子生物学会年会 (神戸) の前後または期間中に開催予定)

### ○学会ロゴマーク決定

ロゴマークの選定にあたり、学会員の皆様には第8回年会時およびメールでご投票頂き、大変ありがとうございました。有効投票数55票中、最多の20票を集めた以下のマークを学会ロゴマークと決定いたします。



### デザインコンセプト

- ポリアミンの略語「PA」をベースにしたデザイン。
- 「P」は地球の海をイメージして水色に、「A」は緑豊かな陸地をイメージして緑色にした。「A」の形を残しつつ崩したデザインにしたことで日本列島の形を表現し、さらに赤丸を置いて日の丸をイメージできるデザインにした。
- 「PA」ロゴの下には○で表現したスペルミジン分子を置き、地球（の生命）を支えるポリアミンを示している。

デザインされたのは西村和洋先生（千葉大・薬学）です。決定を受け、西村先生より以下のコメントを頂いております。

「伝統あるポリアミン研究を振興するために設立された日本ポリアミン学会のロゴとして、自分のデザインしたものが選定されて大変光栄です。本学会発展の一助となることを期待したいです。」

学会ロゴマークを使いたい方は、学会宛（[polyamine@jikei.ac.jp](mailto:polyamine@jikei.ac.jp)）に使用目的を明記してメールを頂ければ、ファイルをお渡しいたします。なお、使用は学術分野に限定させていただきます。

### ○学会ホームページ リニューアル募金について

学会ホームページ（HP）のデザイン変更資金を集めるため、第8回年会時に募金を呼びかけたところ、多くの方々からご寄付を頂きました。心より感謝いたします。年会時に集まった金額の合計は66,360円でした。その後、別途6万円のご寄付を受け、総計で126,360円の資金を得ることが出来ました。この資金を基に学会HPのリニューアルを進めさせていただきます。

学会HPのリニューアルについてご意見やご質問等ございましたら、学会宛 ([polyamine@jikei.ac.jp](mailto:polyamine@jikei.ac.jp)) にご連絡下さい。

### ○広報委員会の解散と企画・運営委員会の発足

第8回年会時の総会で決定したように、ポリアミン学会内の新しい組織として企画・運営委員会が発足いたします。これに伴い、これまで学会誌の編集作業を行っていた広報委員会は解散し、新しい委員会に仕事が引き継がれます。企画・運営委員会は事務局とともに企画・運営会議を開催し、学会の活性化を目的に様々な企画と運営を行なっていく予定です。企画・運営会議のメンバーは以下の通りです。

#### 企画・運営委員会

植村武史（アミンファーマ研）

栗原新（石川県立大）

照井祐介（千葉科学大）

西村和洋（千葉大）

根本直樹（千葉工大）

東恭平（千葉大）

松本光彦（協同乳業）

松本靖彦（帝京大学）

南澤磨優覽（千葉工大）

森屋利幸（共和化工）

#### 事務局

大城戸真喜子（慈恵医大）

小黒明広（慈恵医大）

村井法之（慈恵医大）

（五十音順）

### ○学会費の納入をお願いします

今年度の学会費の納入をお願いいたします。会計年度は4月からとなっております。研究室でまとめて納入される場合は、事務局 ([polyamine@jikei.ac.jp](mailto:polyamine@jikei.ac.jp)、TEL:03-3433-1111(内)2275、FAX:03-3436-3897) まで納入者全員のお名前をお知らせください。これまでの未納分のある方は合わせてご納入ください。よろしくをお願いいたします。

1.会費 (年額) 正会員 一般 4,000円 学生 2,000円  
賛助会員 30,000円

2. 振込先 三菱東京UFJ銀行 虎ノ門支店 (支店番号:041)  
普通口座 0084363 日本ポリアミン学会 事務局 松藤千弥

### ○退会の届出をお願いします

卒業等でポリアミン学会を退会される方は事務局までお知らせください。既卒の方については研究室の代表の方がまとめてご報告くださると助かります。

### ○2017 GRC & GRSのお知らせ

2017 Gordon Research Conference on Polyamines & Gordon Research Seminar; Polyaminesが2017年6月25日から6月30日までの日程 (GRSは6/24~6/25) で、米国ニューハンプシャー州で開催されます。GRCの参加締切は2017年5月28日となっております。奮ってご参加ください。詳細は会議HPでご確認ください。

<https://www.grc.org/programs.aspx?id=11974>

学会収支一覧

	平成28年度予算	平成28年度収支 (平成28年12月19日現在)	平成29年度予算
収入の部			
学会費（正会員）	370,000	262,000	370,000
	(一般×80・学生×25)	(一般×55・学生×21)	(一般×80・学生×25)
学会費（賛助会員）	30,000	30,000	30,000
	(1社)	(1社)	(1社)
その他			
前年度繰越金	1,600,000	1,620,987	1,600,000
利息		7	
合計	2,000,000	1,912,994	2,000,000
支出の部			
会議費	50,000	0	50,000
事務費	10,000	366	10,000
年会・国際学会等補助	150,000	150,000	150,000 (年会およびトラ & ポリ集会)
若手国際学会参加補助	0	0	420,000 (70,000円 X 6名)
その他		4,864	
委員会	30,000	20,660	50,000
次年度繰越金	1,760,000	1,737,104	1,320,000
合計	2,000,000	1,912,994	2,000,000
			単位：円

- ・ H28年度予算 H27年度開催予定であったトランスグルタミナーゼ研究会との学術集会がH28年度に延期
- ・ H28年度支出 事務費 366円（内訳 切手代 366円）
- ・ H28年度支出 その他 4,864円（内訳 振込手数料 1,134円, 二重払い 払い戻し 3,730円）

いつの間にか新年度が始まっていました。私の回りでは出入りが少なく、研究室に閉じこもっていると変化を感じ辛いのですが、そうは言っても、春は“終わり”と“始まり”の季節です。

さて、この学会誌「ポリアミン」は発行を重ね、今号で通算7号目、4年目へ突入いたします。この編集後記は広報委員が持ち回りで担当し、一回りして私に戻ってきました。手探りで製作を始めた学会誌も、ご執筆頂いた先生方を始め、学会員皆様のご協力により、私が当初思い描いていたよりもずっと中身の濃い、素晴らしいものになりました。

事務連絡にも書きましたが、今号の発行をもって現体制の広報委員会は解散となり、学会誌の編集作業は新しく組織される企画・運営委員会に引き継がれていきます。その新委員会には広報委員全員が参加しますので、解散と言いつつも発展的解消であり、新しい血が入ることで、より良い誌面作りができるのではないかと期待しています。編集作業を行うメンバーに若干の変動はありますが、学会誌としては基本的に現在の形を継続いたします。これまで同様、皆様にご執筆頂いた原稿で誌面を作っていくこととなりますので、引き続きご協力よろしくお願ひします。

最後に、これまでこの学会誌の編集作業を行ってくれた広報委員会のメンバーに対して感謝の意を表します。以下に広報委員の名簿を載せておきます。彼らの素晴らしいアイデア、惜しみない尽力により、この学会誌は作られてきたことを学会員の皆様にはお伝えしておきます。

(広報委員会 委員長 小黒明広)

### <広報委員会>

- 委員長 小黒明広 (慈恵医大)
- 委員 大城戸真喜子 (慈恵医大)
- 植村武史 (アミンファーマ研)
- 照井祐介 (千葉科学大)
- 根本直樹 (千葉工大)
- 松本靖彦 (帝京大)

**日本ポリアミン学会 学会誌「ポリアミン」  
第4巻1号(2017年4月)**

発行:日本ポリアミン学会

<http://pa.umin.jp/>

[polyamine@jikei.ac.jp](mailto:polyamine@jikei.ac.jp)

製作:日本ポリアミン学会 広報委員会