

Award Accounts

第4回 D-アミノ酸学会奨励賞

哺乳類における 遊離型 D-アスパラギン酸の生化学

片根 真澄

北里大学 薬学部

1. はじめに

ヒトを含めた哺乳類体内には、主な遊離型 D-アミノ酸として D-セリン (D-Ser) と D-アスパラギン酸 (D-Asp) が見出される。近年、研究が著しく進展した D-Ser とは対照的に、D-Asp については研究が大きく立ち遅れている。1986 年に Dunlop らにより、遊離型の D-Asp がヒトを含めた哺乳類体内に存在することが初めて報告された¹⁾。それ以来、D-Asp は脳、網膜、松果体、下垂体、副腎および精巣といった様々な組織に多量に存在することが確認され、それらの組織における D-Asp の局在性や個体の成長に伴った含量の変化などが詳細に調べられてきた。哺乳類の D-Asp については、主に神経内分泌系および内分泌系組織において種々のホルモンやステロイドの産生・分泌の調節といった重要な生理活性を示すことが知られている (表 1)。また、D-Ser がイオンチャネル型 L-グルタミン酸

(L-Glu) 受容体の一種である N-メチル-D-Asp (N-methyl-D-Asp ; NMDA) 受容体にコアゴニストとして結合して作用するのに対し、D-Asp は NMDA 受容体の L-Glu 結合部位にアゴニストとして結合し、この受容体を活性化することが報告されている²⁻⁴⁾。このように、D-Asp は重要な生理活性物質として機能していることが示唆されているが、その生理的役割の詳細は未だ不明である。

D-Asp の代謝 (合成と分解) や動態 (細胞内への取り込みと細胞外への放出) を解析することは、その生理的役割を明らかにするうえで重要なことと考えられる。著者らはこれまでに、D-Asp の代謝関連酵素の同定・機能解析を行ってきた⁵⁻¹⁰⁾。また、D-Asp の細胞外への放出機構についても解析してきた¹¹⁻¹³⁾。本稿では、D-Asp の代謝に関する著者らの最近の研究結果をまとめた。D-Asp の動態や機能の詳細に関しては、他の総説を参照されたい¹⁴⁻¹⁶⁾。

表 1 哺乳類の神経内分泌系および内分泌系組織における D-Asp の生理活性

組織	標的細胞	生理活性
松果体	実質細胞	メラトニン合成・分泌の抑制
下垂体前葉	プロラクチン産生細胞	プロラクチン分泌の促進
下垂体中葉	α-メラニン細胞刺激ホルモン産生細胞	プロオピオメラノコルチンの産生調節
下垂体後葉	巨大神経分泌ニューロン	オキシトシン・バソプレッシンの産生調節
精巣	ライディッヒ細胞	テストステロン産生の亢進

2. 哺乳類細胞における D-Asp の生合成

哺乳類体内に D-Asp が見出されて以来、D-Asp の由来と合成経路に強い関心が注がれてきた。D-Asp の合成酵素として、D, L-Asp の相互変換を触媒する Asp ラセマーゼが、真正細菌や古細菌、また、真核生物ではアカガイ (*Scapharca broughtonii*) とアメフラシ (*Aplysia californica*) で見出されている¹⁷⁻²⁰。著者らはこれまでに、種々の哺乳類由来培養細胞株を用いて、培養系全体 (細胞内および培養上清中) の D-Asp 量を経時的に定量することにより、哺乳類細胞でも D-Asp が生合成されることを明らかにしている²¹⁻²⁴。また、ラット胎児神経細胞の初代培養系では、¹⁴C]-L-Asp を添加すると ¹⁴C]-D-Asp の生合成が認められ、この生合成はピリドキサル-5'-リン酸 (pyridoxal-5'-phosphate ; PLP) 依存的な酵素の阻害剤であるアミノオキシ酢酸の添加により阻害されると報告されている²⁵。したがって、哺乳類細胞では PLP 依存的な Asp ラセマーゼが D-Asp の生合成を担っている可能性が高いと考えられる。しかしながら、D-Asp 合成酵素の同定には至っていない。

このように、哺乳類における D-Asp の合成経路は未だ不明であるが、最近、機能未知のタンパク質であったマウス glutamate-oxaloacetate transaminase 1-like 1 (GOT1L1) が PLP 依存的に Asp ラセマーゼ活性を示すと報告された²⁶。興味深いことに、アカガイとアメフラシの Asp ラセマーゼが哺乳類の Ser ラセマーゼ (D, L-Ser の相互変換を触媒する D-Ser の合成酵素) と比較的高いアミノ酸配列相同性を示すのに対し、マウス GOT1L1 は哺乳類の Ser ラセマーゼよりも L-Asp アミノトランスフェラーゼに高い相同性を示す。また、マウス GOT1L1 が 404 アミノ酸残基から成るのに対し、ラットおよびヒト GOT1L1 はそれぞれ 315 および 421 アミノ酸から成り、これら 3 種のタンパク質間ではアミノ酸残基数の保存性が比較的低いことも明らかであった。したがって、GOT1L1 が D-Asp の主要な合成酵素であることには疑問の余地があると

考えられた。

そこで著者らは、種々の哺乳類培養細胞株を用いて、ラットおよびヒト GOT1L1 が D-Asp の生合成能を有するか否かを解析した。まず始めに、種々のラットおよびヒト由来培養細胞株を用いて、細胞内 D-Asp 含量と GOT1L1 mRNA の発現レベルとの相関を解析した。この際、D-Asp の分解酵素である D-Asp オキシダーゼ (D-Asp oxidase ; DDO) mRNA の発現レベルも同時に解析した。その結果、DDO の発現レベルを考慮したとしても、GOT1L1 の発現レベルと細胞内 D-Asp 含量との間に明確な相関性は得られないことが明らかになった²⁴。次に、D-Asp を生合成しているラット下垂体腫瘍由来 GH₃ 細胞を用いて、*Got1l1* 遺伝子のノックダウンが D-Asp の生合成に与える影響を解析したところ、ノックダウンによる培養系全体の D-Asp 含量の低下は認められなかった (図 1)。したがって、ラットおよびヒト細胞では、D-Asp の生合成に GOT1L1 はほとんど寄与していないと考えられる。

最近、Tanaka-Hayashi らにより GOT1L1 のノックアウトマウスの作成とその解析結果が報告された²⁷。野生型およびノックアウトマウス間で、海馬および精巣における D-Asp および L-Asp 含量に有意な変化は認められない。また、哺乳類培養細胞株で発現させた組換え GOT1L1 が、L-Asp から D-Asp を生成する Asp ラセマーゼ活性は示さない一方で、L-Asp アミノトランスフェラーゼ活性を示すと報告されている²⁷。すなわち、哺乳類における D-Asp 合成経路の詳細は、依然として不明であるというのが現状である。

興味深いことに、アカガイの Asp ラセマーゼが Ser に対してはラセマーゼ活性を示さないのに対し、アメフラシの Asp ラセマーゼは Ser に対してもラセマーゼ活性を示す^{19,20}。また、最近、下等生物で見出される Ser ラセマーゼやマウス組換え Ser ラセマーゼが、種によって活性の強弱に差はあるものの Asp ラセマーゼ活性を示すことが報告された²⁸。実際、著者らがヒト組換え Ser ラセマーゼを用いて解析したとこ

る、マウス酵素と同様に比較的lowレベルではあるが、Ser に対してだけでなく Asp に対するラセマーゼ活性も認められた (未発表データ)。また、Ser ラセマーゼのノックアウトマウスを用いた解析結果では、D-Ser 含量のみならず、幾つかの脳組織における D-Asp 含量も有意に低下している²⁹⁾。したがって、詳細は未だ不明で

あるが、D-Asp の生合成は D-Ser 代謝に密接に関与していると考えられる。

冒頭でも述べたように、D-Asp は哺乳類体内に見出されたのが D-Ser よりも早かったにもかかわらず、その研究は著しく遅れている。D-Asp の標的タンパク質が同定されていないことに加え、合成経路が解明されていないことが主な原因であると思われる。著者らは最近、哺乳類における D-Asp 合成酵素の同定を念頭に置き、Asp ラセマーゼ活性の簡便かつ高感度な測定法を開発した³⁰⁾。また、微生物由来の天然有機化合物や既存薬を材料にしたスクリーニングに基づき、D-Asp 合成経路に抑制的に作用する2種の化合物 (mithramycin A および geldanamycin) を同定した³¹⁾。これらの測定法ならびに化合物は、未だ不明な点が多い哺乳類における D-Asp 合成経路の解明に貢献すると思われる。

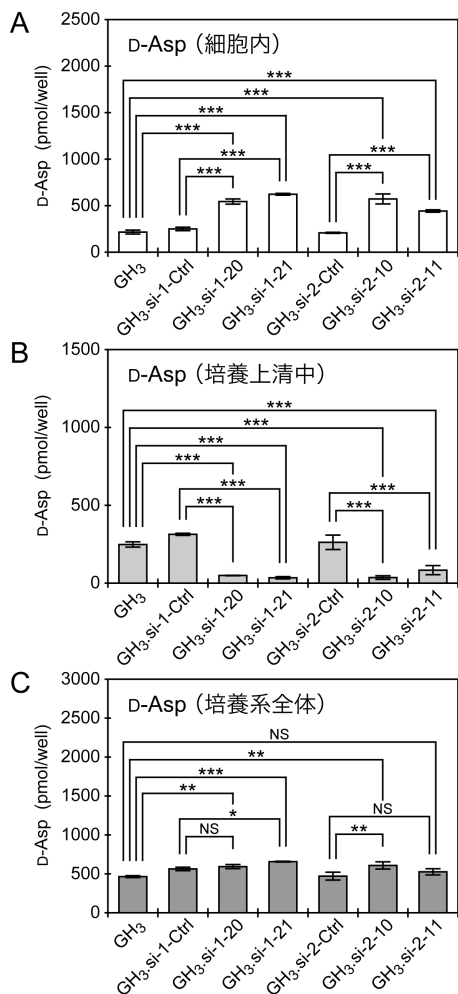


図 1 Got11 遺伝子のノックダウンが GH3 細胞における D-Asp の生合成に与える影響

野生型 GH3 細胞、Got11 遺伝子を標的とする siRNA を発現させた GH3 細胞 (GH3.si-1-20、GH3.si-1-21、GH3.si-2-10、および GH3.si-2-11)、および標的配列をランダムに入れ替えた siRNA を発現させた GH3 細胞 (GH3.si-1-Ctrl および GH3.si-2-Ctrl) における細胞内 (A)、培養上清中 (B)、および培養系全体 (C) の D-Asp 含量を示した (平均値 ± 標準偏差、n = 3)。*P < 0.05、**P < 0.01、***P < 0.001 (Tukey-Kramer 多重比較検定法)。NS : not significant (P > 0.05)。文献 24) より改変。詳しくは本文および文献 24) 参照。

3. 抗精神病薬を指向した DDO 阻害剤

前項で述べたように、哺乳類における D-Asp の合成経路は未だ解明されていないが、D-Asp を分解する DDO は古くから知られていた。DDO は生体内酸化酵素であり、1949 年に Stillらがウサギの腎臓および肝臓の抽出液に DDO 活性を認めたのが最初の報告である³²⁾。DDO は D-Asp だけでなく、NMDA や D-Glu といった酸性 D-アミノ酸を特異的に分解する^{33,34)}。また、D-Ser などの中性および塩基性 D-アミノ酸を分解する別の生体内酸化酵素として D-アミノ酸オキシダーゼ (D-amino acid oxidase ; DAO) が知られている。両酵素ともに立体特異的であり、L-アミノ酸には作用しない。DDO および DAO はフラビンアデニンジヌクレオチド (flavin adenine dinucleotide ; FAD) を補酵素とするフラビントタンパク質であり、1 分子の DDO または DAO に 1 分子の FAD が非共有結合で結合する。両酵素の触媒の機構は類似しており、D-アミノ酸の酸化的脱アミノ化によりイミノ酸と過酸化水素を生成する (図 2)。哺乳類では、DDO および DAO は脳、腎臓および肝臓に多く

存在し、細胞内ではペルオキシソームに局在する。両酵素は、内在性 D-アミノ酸の代謝のみならず、食餌や腸内細菌に由来する外来性の D-アミノ酸の分解・除去を担っていると考えられている。

近年、脳内 D-Asp または D-Ser 濃度の減少が、NMDA 受容体の機能不全を引き起こし、その結果として統合失調症や躁うつ病が発症するという仮説が提唱されている。そこで、脳内 D-Asp または D-Ser 濃度を上昇させる DDO および DAO 阻害剤に、NMDA 受容体の機能低下に関連した精神疾患の新規改善薬としての期待が寄せられている。実際、DDO のノックアウトマウスや DAO 活性を欠損したマウスでは、脳内 D-Asp または D-Ser 含量の上昇に伴い、NMDA 受容体のアンタゴニスト投与時に観察される統合失調症様症状やうつ様症状の緩和が認められる³³⁻³⁸⁾。したがって、脳内 D-Asp または D-Ser 含量の上昇が期待される DDO および DAO 阻害剤は、NMDA 受容体に関連した精神疾患に対する新規改善薬としての可能性を持つと考えられる。

このような背景から著者らは、DDO および DAO 新規阻害剤の探索・同定を試みてきた。その結果、微生物由来の天然有機化合物や既存薬を材料にしたスクリーニングに基づき、放線菌由来の抗生物質である thiolactomycin が、DDO の基質と補酵素の結合をともに阻害するユニークな阻害剤であることを見出した³⁹⁾。また、抗ヘルペスウイルス薬として知られる acyclovir

が、DAO の slow-binding 阻害剤であることを見出した⁴⁰⁾。さらに、非常に多数(約 400 万)の低分子合成化合物を対象にした *in silico* スクリーニングに基づき、新規改善薬を開発するためのリード化合物として有用な複数の DAO 新規阻害剤の同定に成功した⁴¹⁾。これらの阻害剤の性質・機能の詳細に関しては、他の総説を参照されたい⁴²⁾。

著者らは最近、上述したのと同様の *in silico* スクリーニングにより、10 種の DDO 新規阻害剤候補化合物を選別した⁴³⁾。選別された化合物のうち、DDO に対する阻害活性が既知の DDO 阻害剤であるマロン酸よりも強く、かつ DDO に対する選択性が高いことが明らかになった 5-aminonicotinic acid および 7-hydroxy-4-hydro-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]pyrimidine-6-carboxylic acid についてさらに詳細な解析を行った。これらの化合物のヒト、マウスおよびラット DDO、およびヒト DAO に対する 50% 阻害濃度 (IC₅₀) を表 2 に示した。

5-Aminonicotinic acid および 7-hydroxy-4-hydro-1,2,4-triazolo[4,3-*a*]pyrimidine-6-carboxylic acid の DDO に対する阻害様式を二重逆数プロットで解析したところ、これらの化合物はいずれも活性中心指向性の競合阻害剤として DDO に作用することが明らかになった⁴³⁾。次に、これらの化合物の細胞内で発現する DDO に対する阻害効果を検討するために、ヒト子宮頸部がん由来の HeLa 細胞にヒト DDO を高発現させた安定形質転換細胞株 (HeLa.HA-hDDO-16) と、その対照として薬剤耐性能のみ獲得させた HeLa 細胞 (HeLa/NEO) を樹立した。興味深いことに、HeLa 細胞では培養に伴って細胞内および培養上清中の D-Asp 含量が増加する²⁴⁾。HeLa 細胞の培養中には D-Asp を添加していないので、この細胞は D-Asp を生合成していると考えられる。実際、高速液体クロマトグラフィーを用いた分析法で定量すると、HeLa/NEO の細胞内には L-Asp とともに D-Asp が検出される (図 3)。また、HeLa.HA-hDDO-16 の細胞内にも D-Asp が検出されるが、その量は HeLa/NEO と比較して著しく低レベルである。すなわち、HeLa.

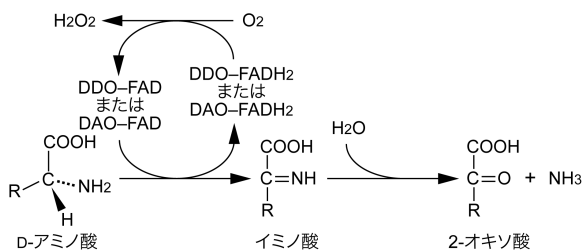


図 2 DDO および DAO による D-アミノ酸の代謝
DDO および DAO は D-アミノ酸を酸化的に脱アミノ化し、イミノ酸と過酸化水素が生成する反応を触媒する。生成したイミノ酸は、非酵素的に 2-オキソ酸とアンモニアに加水分解される。

表 2 ヒト、マウスおよびラット組換え DDO およびヒト組換え DAO に対する各化合物の阻害活性

化合物	IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)			
		ヒト DDO	マウス DDO	ラット DDO	ヒト DAO
マロン酸 <chem>OC(=O)CC(=O)O</chem>	879 ± 147	2875 ± 314	8486 ± 650	> 10000	
安息香酸 <chem>OC(=O)c1ccccc1</chem>	> 10000	> 10000	ND	134 ± 40	
5-Aminonicotinic acid <chem>NC1=CC=C(C(=O)O)N=C1</chem>	21.9 ± 5.6	20.5 ± 1.7	32.0 ± 3.3	> 2500	
7-Hydroxy-4-hydro-1,2,4-triazolo[4,3-a]pyrimidine-6-carboxylic acid <chem>OC(=O)c1nc2nnc2n1O</chem>	87.1 ± 16.0	76.8 ± 6.8	358 ± 43	> 500	

DDO および DAO に対する IC₅₀ (平均値 ± 標準偏差, n = 3-4) は、それぞれ 10 mM D-Asp および D-アロニン を基質として用いて決定した。対照として用いたマロン酸および安息香酸 (既知の DAO 阻害剤) の IC₅₀ も示した。ND: 未決定。詳しくは本文および文献 43) 参照。

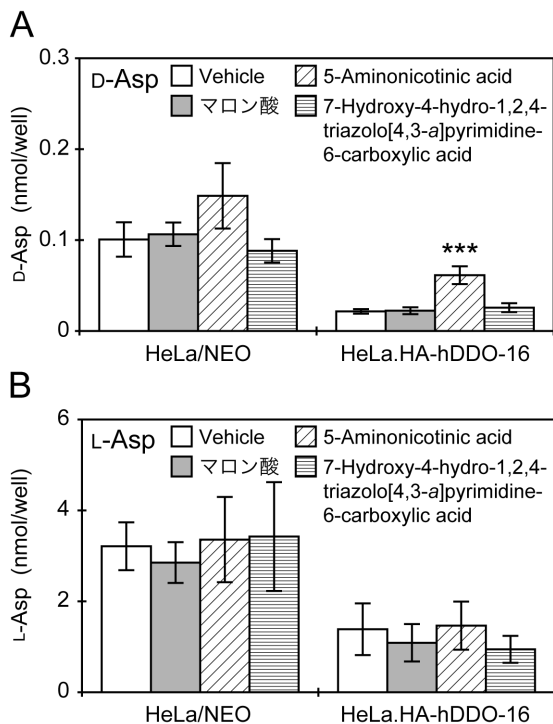


図 3 DDO 阻害剤の細胞内 D-Asp 含量に与える効果

ヒト DDO を高発現させた哺乳類培養細胞株 (HeLa.HA-hDDO-16) を用いて、DDO 阻害剤の細胞内で発現する DDO に対する阻害効果を解析した。阻害剤の添加後、細胞内の D-Asp (A) および L-Asp (B) 量を定量した。アスタリスクは溶媒のみ添加した細胞における D-Asp 含量 (Vehicle) と比較して有意差があることを示す (***P < 0.001; Dunnett 多重比較検定法)。文献 43) より改変。詳しくは本文および文献 43) 参照。

HA-hDDO-16 の細胞内では高レベルで発現する DDO によって D-Asp が効率良く分解されると考えられる。そこで、上記 2 種の化合物とマロン酸のそれぞれを HeLa/NEO および HeLa.HA-hDDO-16 に与え、一定時間後に細胞内の D-Asp 量と L-Asp 量を定量した。HeLa/NEO においては、いずれの化合物を添加した場合にも細胞内 D-Asp および L-Asp 含量に有意な変化は認められなかった (図 3)。これとは対照的に、HeLa.HA-hDDO-16 においては、5-aminonicotinic acid を与えた場合にのみ細胞内 D-Asp 含量の有意な上昇が認められた (図 3A)。一方、細胞内 L-Asp 含量に有意な変化は認められなかった (図 3B)。以上の結果から、5-aminonicotinic acid は細胞膜を通過してペルオキシソームに局在する DDO に到達し、DDO に対する阻害活性を効果的に発揮すると考えられる。

次に、5-aminonicotinic acid の DDO に対する結合様式を明らかにするために、Glide ソフトウェア (Schrödinger Suite 2009; Schrödinger, LLC, New York, NY, USA) を用いてヒト DDO (全長 341 アミノ酸) と 5-aminonicotinic acid の複合体モデルを構築した (図 4)。この際、DDO の三次元構造は決定されていないので、X 線結晶構造解析により決定されているヒト DAO の三次元構造を鋳型としたホモロジーモデリングにより作成した DDO の推測三次元構造を用いた。

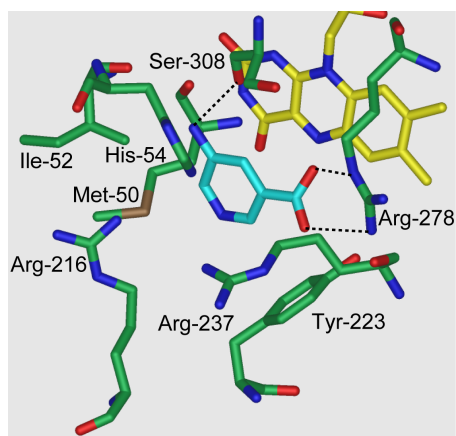


図 4 ヒト DDO と 5-aminonicotinic acid の複合体モデル

5-Aminonicotinic acid, FAD、およびアミノ酸残基それぞれの C 原子はシアン、黄、および緑で示した。N 原子、O 原子、および S 原子はそれぞれ青、赤、およびカーキで示した。黒の点線は水素結合を示す。文献 43) より改変。詳しくは本文および文献 43) 参照。

その結果、5-aminonicotinic acid は次の水素結合を介して DDO の活性中心に結合することが示唆された。すなわち、5-aminonicotinic acid のカルボキシ基と DDO の Arg-278 残基側鎖のグアニジノ基との水素結合、および 5-aminonicotinic acid のアミノ基と DDO の Ser-308 残基主鎖のカルボニルとの水素結合である (図 4)。実際、5-aminonicotinic acid のカルボキシ基またはアミノ基を欠失させた化合物や、これらの官能基の位置を変えた化合物の DDO に対する阻害活性は、5-aminonicotinic acid と比較して著しく低レベルである⁴³⁾。

DDO 阻害剤は NMDA 受容体の機能低下に関連した精神疾患に対する新規改善薬として期待されるので、本稿で紹介した化合物は臨床応用可能な新規改善薬を開発するためのリード化合物として有用であると考えられる。また、これらの化合物は DDO の構造機能相関、特に活性中心構造を解析するための活性中心プローブとしても有用であると思われる。今後、多因子疾患であるために世界的にも未だ十分な成果が得られていない統合失調症の治療分野の進展に、DDO 阻害剤が新たな側面から貢献することが期待される。

謝 辞

本稿で紹介した著者らの研究成果は、北里大学薬学部生体分子解析学教室の皆様、ならびに北里大学薬学部創薬物理化学教室および北里大学薬学部微生物薬品製造学教室の先生方の協力のもとに得られたものである。

文 献

- 1) Dunlop DS, Neidle A, McHale D et al. 1986. The presence of free D-aspartic acid in rodents and man. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 26: 27–32.
- 2) Fagg GE, Matus A. 1984. Selective association of *N*-methyl aspartate and quisqualate types of L-glutamate receptor with brain postsynaptic densities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81: 6876–6880.
- 3) Olverman HJ, Jones AW, Mewett KN et al. 1988. Structure/activity relations of *N*-methyl-D-aspartate receptor ligands as studied by their inhibition of [³H]D-2-amino-5-phosphonopentanoic acid binding in rat brain membranes. *Neuroscience* 26: 17–31.
- 4) Errico F, Napolitano F, Nisticò R et al. 2012. New insights on the role of free D-aspartate in the mammalian brain. *Amino Acids* 43: 1861–1871.
- 5) Katane M, Furuchi T, Sekine M et al. 2007. Molecular cloning of a cDNA encoding mouse D-aspartate oxidase and functional characterization of its recombinant proteins by site-directed mutagenesis. *Amino Acids* 32: 39–78.
- 6) Katane M, Hanai T, Furuchi T et al. 2008. Hyperactive mutants of mouse D-aspartate oxidase: mutagenesis of the active site residue serine 308. *Amino Acids* 35: 75–82.
- 7) Katane M, Saitoh Y, Seida Y et al. 2010. Comparative characterization of three D-aspartate oxidases and one D-amino acid oxidase from *Chaenorhabditis elegans*. *Chem. Biodivers.* 7: 1424–1434.
- 8) Katane M, Saitoh Y, Maeda K et al. 2011. Role of the active site residues arginine-216 and arginine-237 in the substrate specificity of mammalian D-

- aspartate oxidase. *Amino Acids* 40: 467–476.
- 9) Katane M, Sekine M, Homma H. 2012. Assay of amino acid racemases. *Methods Mol. Biol.* 794: 367–379.
- 10) Katane M, Kawata T, Nakayama K et al. 2015. Characterization of the enzymatic and structural properties of human D-aspartate oxidase and comparison with those of the rat and mouse enzymes. *Biol. Pharm. Bull.* 38: 298–305.
- 11) Koyama H, Sekine M, Furuchi T et al. 2005. A novel L-glutamate transporter inhibitor reveals endogenous D-aspartate homeostasis in rat pheochromocytoma MPT1 cells. *Life Sci.* 76: 2933–2944.
- 12) Koyama H, Adachi M, Sekine M et al. 2006. Cytoplasmic localization and efflux of endogenous D-aspartate in pheochromocytoma 12 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 446: 131–139.
- 13) Furuchi T, Suzuki T, Sekine M et al. 2009. Apoptotic inducers activate the release of D-aspartate through a hypotonic stimulus-triggered mechanism in PC12 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 490: 118–128.
- 14) 本間 浩. 2008. 哺乳類体内の遊離型 D-アスパラギン酸の振舞いと機能. *生化学* 80: 277–286.
- 15) 片根真澄, 本間 浩. 2010. 遊離型 D-アミノ酸の役割. *バイオインダストリー* 27: 21–27.
- 16) Katane M, Homma H. 2011. D-Aspartate—an important bioactive substance in mammals: a review from an analytical and biological point of view. *J. Chromatogr. B* 879: 3108–3121.
- 17) Okada H, Yohda M, Giga-Hama Y et al. 1991. Distribution and purification of aspartate racemase in lactic acid bacteria. *Biochim. Biophys. Acta* 1078: 377–382.
- 18) Long Z, Lee J-A, Okamoto T et al. 2001. Occurrence of D-amino acids and a pyridoxal 5'-phosphate-dependent aspartate racemase in the acidothermophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281: 317–321.
- 19) Shibata K, Watanabe T, Yoshikawa H et al. 2003. Purification and characterization of aspartate racemase from the bivalve mollusk *Scapharca broughtonii*. *Comp. Biochem. Physiol. B* 134: 307–314.
- 20) Wang L, Ota N, Romanova EV et al. 2011. A novel pyridoxal 5'-phosphate-dependent amino acid racemase in the *Aplysia californica* central nervous system. *J. Biol. Chem.* 286: 13765–13774.
- 21) Long Z, Homma H, Lee J-A et al. 1998. Biosynthesis of D-aspartate in mammalian cells. *FEBS Lett.* 434: 231–235.
- 22) Long Z, Lee J-A, Okamoto T et al. 2000. D-Aspartate in a prolactin-secreting clonal strain of rat pituitary tumor cells (GH₃). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 276: 1143–1147.
- 23) Long Z, Sekine M, Adachi M et al. 2002. Cell density inversely regulates D- and L-aspartate levels in rat pheochromocytoma MPT1 cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 404: 92–97.
- 24) Matsuda S, Katane M, Maeda K et al. 2015. Biosynthesis of D-aspartate in mammals: the rat and human homologs of mouse aspartate racemase are not responsible for the biosynthesis of D-aspartate. *Amino Acids* 47: 975–985.
- 25) Wolosker H, D'Aniello A, Snyder SH. 2000. D-Aspartate disposition in neuronal and endocrine tissues: ontogeny, biosynthesis and release. *Neuroscience* 100: 183–189.
- 26) Kim PM, Duan X, Huang AS et al. 2010. Aspartate racemase, generating neuronal D-aspartate, regulates adult neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107: 3175–3179.
- 27) Tanaka-Hayashi A, Hayashi S, Inoue R et al. 2015. Is D-aspartate produced by glutamic-oxaloacetic transaminase-I like 1 (Got111): a putative aspartate racemase? *Amino Acids* 47: 79–86.
- 28) Uda K, Abe K, Dehara Y et al. 2015. Distribution and evolution of the serine/aspartate racemase family in invertebrates. *Amino Acids*, in press, doi: 10.1007/s00726-015-2092-0.
- 29) Horio M, Ishima T, Fujita Y et al. 2013. De-

- creased levels of free D-aspartic acid in the fore-brain of serine racemase (*Srr*) knock-out mice. *Neurochem. Int.* 62: 843–847.
- 30) Katane M, Nakayama K, Kawata T et al. 2015. A sensitive assay for measuring aspartate-specific amino acid racemase activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 116: 109–115.
- 31) Katane M, Kaneko Y, Watanabe M et al. 2016. Identification and characterization of natural microbial products that alter the free D-aspartate content of mammalian cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 26: 556–560.
- 32) Still JL, Buell MV, Knox WE et al. 1949. Studies on the cyclophorase system; D-aspartate oxidase. *J. Biol. Chem.* 179: 831–837.
- 33) 片根真澄, 本間 浩. 2009. D-アスパラギン酸と D-アスパラギン酸オキシダーゼノックアウトマウス. *アニテックス* 21: 5–11.
- 34) Katane M, Homma H. 2010. D-Aspartate oxidase: the sole catabolic enzyme acting on free D-aspartate in mammals. *Chem. Biodivers.* 7: 1435–1449.
- 35) Hashimoto A, Yoshikawa M, Niwa A et al. 2005. Mice lacking D-amino acid oxidase activity display marked attenuation of stereotypy and ataxia induced by MK-801. *Brain Res.* 1033: 210–215.
- 36) Almond SL, Fradley RL, Armstrong EJ et al. 2006. Behavioral and biochemical characterization of a mutant mouse strain lacking D-amino acid oxidase activity and its implication for schizophrenia. *Mol. Cell. Neurosci.* 32: 324–334.
- 37) Weil ZM, Huang AS, Beigneux A et al. 2006. Behavioural alterations in male mice lacking the gene for D-aspartate oxidase. *Behav. Brain Res.* 171: 295–302.
- 38) Errico F, Rossi S, Napolitano F et al. 2008. D-Aspartate prevents corticostriatal long-term depression and attenuates schizophrenia-like symptoms induced by amphetamine and MK-801. *J. Neurosci.* 28: 10404–10414.
- 39) Katane M, Saitoh Y, Hanai T et al. 2010. Thio-lactomycin inhibits D-aspartate oxidase: a novel approach to probing the active site environment. *Biochimie* 92: 1371–1378.
- 40) Katane M, Matsuda S, Saitoh Y et al. 2013. The antiviral drug acyclovir is a slow-binding inhibitor of D-amino acid oxidase. *Biochemistry* 51: 5665–5674.
- 41) Katane M, Osaka N, Matsuda S et al. 2013. Identification of novel D-amino acid oxidase inhibitors by *in silico* screening and their functional characterization *in vitro*. *J. Med. Chem.* 56: 1894–1907.
- 42) 片根真澄, 本間 浩. 2014. ビタミン B₂ 誘導体を補酵素とする脳内活性 D-アミノ酸代謝酵素の新規阻害剤. *ビタミン* 88: 469–477.
- 43) Katane M, Yamada S, Kawaguchi G et al. 2015. Identification of novel D-aspartate oxidase inhibitors by *in silico* screening and their functional and structural characterization *in vitro*. *J. Med. Chem.* 58: 7328–7340.



片根 真澄 (かたね ますみ) 氏

略 歴

- 1994–1998 筑波大学第二学群生物学類
- 1998–2000 筑波大学大学院修士課程バイオシステム研究科
- 2000–2004 筑波大学大学院博士過程生物科学研究科 博士 (生物科学)
- 2004–2007 北里大学薬学部 助手
- 2007–2012 北里大学薬学部 助教
- 2012–現在 北里大学薬学部 講師