

様式3

神戸大学バイオシグナル総合研究センター共同利用研究報告書

平成 31 年 4 月 30 日

神戸大学バイオシグナル総合研究センター長 殿

所属機関・部局名 奈良県立医科大学
職 名 講師
研究代表者名 秦野 修

下記のとおり平成30年度の共同利用研究成果を報告します。

記

(課題番号: 281028)

1. 共同利用研究 課題名	質量分析法を用いたステロイドホルモン産生機構の研究			
2. 共同利用研究 目的	申請者は、ステロイドホルモンの質量分析イメージングによる、組織細胞上の直接可視化法の開発を行っている。本年度は、本手法をより簡便で、かつ、高空間解像度の試料前処理法の開発を行うと共に、ステロイドホルモン産生/異常に関与するタンパク質群の解析を行うことを目的とする。			
3. 共同利用研究 期間	平成 30 年 4 月 1 日 ~ 平成 31 年 3 月 31 日			
4. 共同利用研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役 割 分 担	
(研究代表者) 秦野 修	奈良県立医科大学・医学部	講師	研究統括と質量分析法、タンパク質合成	
(分担研究者) 岩崎哲史	神戸大学・バイオシグナル総合研究センター	助教	受入れとタンパク質合成、質量分析解析補助	
5. センター内受入研究者	研究部門・ 分野名	シグナル統合経路研究 部門・細胞増殖分化制御研究分野	氏 名	岩崎哲史

※ 次の6~9の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6~9の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 281028)

6. 共同利用研究計画

ステロイドの質量分析イメージング(MS Imaging)法では、イオン化効率/検出感度の向上のため、現時点において組織切片上 (On-tissue)での誘導体化が必須であるが、この手法は続くマトリックス塗布と合わせて、2段階の切片の湿潤処理が必要である。MS Imaging 法では、ホルマリン等での化学固定処理を行わないため、これらの湿潤処理によって切片上の目的分子が拡散して、空間分解能が低下する。本年度は表面の微細ナノ構造がイオン化効果を持つ SALDI 法等の適用を含めて、1段階で誘導体化/マトリックス塗布効果を達成する手法を開発することにより、目的分子の拡散を極力抑えて、より高空間分解能な MS Imaging の試料作製法の開発を試みた。

又、ステロイドホルモン産生経路へのシグナル伝達タンパク質の関与を明らかにする目的で、主に小麦胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて、ステロイド産生異常を含めて多彩な表現型異常に関与する塩誘導キナーゼ(SIK)や、ステロイド合成関連タンパク質を作成し、これらのタンパク質の結合する因子の探索を行う。

7. 共同利用研究の成果

ナノ微細構造をイオン化に利用する質量分析 SALDI 法を用いて、ステロイドホルモン、及び、スライドグラス上で誘導体化したステロイドホルモンを検出する手法の開発を行なった。又、免疫組織化学法で、アミノ酸配列の類似性が極めて高い、アルドステロン合成酵素と、コルチコステロン合成酵素の染め分けを行う目的で、両酵素間で異なるペプチド部位を選定して、各々のペプチド部位に特異的な抗体を作成した。

又、ステロイドホルモン産生異常を含めて多彩で重篤な表現型異常に関与する塩誘導キナーゼ(SIK)に相互作用するタンパク質因子の探索のため、ビオチン化ヒト SIK をコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系で作成し、SIK に結合することが既知である4種のタンパク質との相互作用解析系を構築した(Alpha Screen 法)。この系を用いて、愛媛大学プロテオサイエンスセンターが所有する、ヒト プロテインキナーゼ群アレイ、ヒト転写因子群アレイを用いて、今後、SIK に結合する因子のスクリーニングを行う予定である。(研究協力者: 愛媛大学・竹田浩之博士)

8. 共同利用研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本センターの担当教員の氏名の記載、又はこの共同利用研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

「ステロイドホルモンの質量分析イメージング解析とラット副腎皮質の再生」

秦野 修、磯崎勝弘、竹森 洋、西村裕志、竹田浩之、岩崎哲史、大西 健。

第1回再生学異分野融合研究会、2018年8月30日～31日、基礎生物学研究所(岡崎市)

9. 共同利用研究に関連した受賞、博士学位論文の取得、大型研究プロジェクトや競争的資金の獲得等がありましたらご記入ください。

科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究 平成 26～28 年度

「ステロイドホルモンの質量分析イメージングによる組織細胞上の直接可視化法の開発」

研究代表者: 秦野 修 研究協力者: 岩崎哲史

科学研究費補助金 基盤研究(C) 一般 平成 29～31 年度

「質量分析イメージングと標的プロテオミクスによるステロイドホルモン産生異常の解析」

研究代表者: 秦野 修 研究協力者: 岩崎哲史