様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 24 年 4 月 25 日

群馬大学生体調節研究所長　殿

所属機関名　学習院大学　理学部
職名　教授
研究代表者　村松康行
勤務先所在地　〒171-8588　東京都豊島区目白　1－5－1

電話番号　(03) 3986-0221 (ext.6477)
ファックス番号　(03) 5992-1029
E-メール　yasuyuki.muramatsu@gakushuin.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

（課題番号　10007　　）

1. 研究プロジェクト名と共同研究課題名	プロジェクト名:　「代謝シグナル機能研究プロジェクト」 共同研究課題名:　甲状腺タンパク質ヨウ素化機構の進化
2. 共同研究目的	脊椎動物にのみ存在する甲状腺に必須の特異的ヨウ素化機構出現過程を探るために、最も無脊椎動物に近いヌタウナギと近縁生物について、甲状腺または相同器官のヨウ素化タンパク質と甲状腺関連遺伝子を比較、解析する
3. 共同研究期間	平成　23 年　4 月 1　日　～　平成 24　年 3　月 31　日

4. 共同研究組織

氏　　名	年齢	所属部局等	職名等	役 割 分 担
(研究代表者) 村松　康行	62歳	学習院大学理学部	教授	海棲生物甲状腺タンパク質含有ヨウ素の分析と比較
(分担研究者)				
大野　剛	34歳	同上	助教	同上
遠山　知亜紀	27歳	同上	大院生(D3)	同上
小林　哲也	51歳	埼玉大学　理学部	教授	ヌタウナギ甲状腺高チロキシン含有タンパク質の同定とサイログロブリンとの比較
近藤　洋一	81歳	群馬大学	名誉教授	
鈴木　雅一	46歳	静岡大学　理学部	準教授	ヌタウナギ甲状腺関連遺伝子の検索

5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	シグナル伝達	氏名	岡嶋史和

※　次の6，7，8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6，7，8の項目全体では1頁に収めて下さい。

（課題番号　　10007　　）

6. 共同研究計画

● ヌタウナギ甲状腺から、ヨウ素含量（ICP/MS）及びサイロキシン含量（EIA）を指標に HIP を抽出、カラムクロマト、電気泳動などで分画、単離した各タンパク質の解析から HIP の特性を明らかにする。
● ヌタウナギ甲状腺から RNA を抽出、cDNA ライブラリーを作製し、サイログロブリン、甲状腺ペルオキシダーゼ、甲状腺関連トランスクリプションファクターなど甲状腺関連遺伝子に対する相同遺伝子を検索する。その結果と HIP の特性から、サイログロブリン出現の過程を推測する。
● 上記の結果をヤツメウナギ、ホヤなど進化的に近い動物の甲状腺関連既知情報と比較し、脊椎動物出現における生体ヨウ素化合物の役割を論じる。

7. 共同研究の成果

1） ヌタウナギ甲状腺 cDNA ライブラリーの調製：長兼丸船長長谷川久志船長の好意で静岡県焼津近くの水深 300 メートル付近の海底から数回に分けて採取した約 50 匹のクロヌタウナギ（ヌタウナギの一種）を採取し、試料とした。動物の捕獲後動物を氷冷麻痺させ、鰓付近に散在する甲状腺濾胞を採集、可能な限り周辺の脂肪組織を取り除き、凍結保存した。定法に従ってλZAP-CMV XR cDNA ライブラリーを作成し、現在 EST 解析を実行中である。（分担研究者鈴木雅一）
2） ヌタウナギの高ヨウ素高サイロキシン甲状腺タンパク質（HIP）の簡便迅速な単離法開発の予備実験：新潟大学佐渡臨海実験所野崎真澄教授より提供されたクロヌタウナギ凍結甲状腺を試料とした。分担研究者近藤らによる既発表の知見に基づき、50%飽和硫安で一晩処理後、20,000xg 上清を HIP 調製の出発材料とした。本試料を限外濾過により100kDa 以上，100～10kDa，10kDa 以下の 3 分画に分離した。
　100kDa 分画は抽出液タンパク質の 6.5%を含む。また、この分画のタンパク質は抗サイロキシン抗体に反応し、その反応が吸収抗体処理で抑制されることを確認した。この分画のタンパク質組成を調べるため SDS-PAGE（8%ゲル）を行った。主成分は約170kDa であり、還元剤によりパターンが変化しない。HIP の Cys 含量がサイログロブリンの 10 分の 1 で SS 架橋の可能性が低いとの知見に一致した。
　現在170kDa 主成分について解析中である。（分担研究者小林哲也）

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況
（本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。）

平成23年度内に本共同研究における成果の公的発表はなかったが、研究のバックグラウンドと研究の意図に関して、分担研究者近藤が下記のシンポジウムで「生物に於けるヨウ素利用の進化に関する考察」と題して講演した。

平成 23 年 11 月 19 日　第 14 回ヨウ素学会シンポジウム・サテライト・シンポジウム「生物と環境におけるヨウ素」於東京・目白　学習院