

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 25 年 4 月 26 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
 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
 ファックス番号 (03) 5992-1029
 E-メール 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 24 年 4 月 1 日 ~ 平成 25 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 (分担研究者) 大野 剛 小林 哲也 近藤 洋一 鈴木 雅一	62 歳 34 歳 51 歳 81 歳 46 歳	学習院大学 理学部 同上 埼玉大学 理学部 群馬大学 静岡大学 理学部	教授 助教 教授 名誉教授 准教授	海棲生物甲状腺タンパク質含有ヨウ素の分析と比較 同上 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 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	岡島史和

※ 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。

<p>6. 共同研究計画</p> <ol style="list-style-type: none">1) 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)を指標にヨウ素タンパク質を抽出し、生化学的手法で単離したタンパク質分画の解析からペプチド構造解明を目指す。2) ヌタウナギ甲状腺から得られた cDNA ライブラリーを利用し、サイログロブリンその他高等動物甲状腺関連遺伝子に対する相同遺伝子を検索する。高頻度に出現する EST 解析からペプチド構造の予測も試み、それらの結果とタンパク質化学的解析をあわせ、サイログロブリン出現の過程を推測する。3) 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。
<p>7. 共同研究の成果</p> <ol style="list-style-type: none">I) 原始脊椎動物ヌタウナギ類甲状腺特異ヨウ素タンパク質の生化学的特性解析(小林, 村松(分析遠山): クロヌタウナギを試料に、微量の抽出液から当該タンパク質の単離法確立を目指した。近藤らの知見に従い、50%飽和硫酸上清を出発材料にした。限外濾過により分子サイズ別試料を得たのち、SDS-PAGE による分離を行った。ゲル各部位の ICP-MS によるヨウ素分布の検討から、A)分子サイズ数万—10数万の範囲に複数種ヨウ素タンパク質が存在する。B)それらの分布は還元剤処理にほとんど影響されず、ヌタウナギヨウ素タンパク質には SS 結合は存在しない。など、他の脊椎動物甲状腺サイログロブリンとは異なる特性が推定された。II) ヌタウナギ甲状腺cDNA の第一次解析(鈴木ほか): クロヌタウナギを試料に甲状腺組織から常法に従い cDNA を作成し、ランダムに単離した cDNA クローン80個について PCR 増幅後塩基配列を解析した。(そのうち配列解析ができた76個の解析結果)<ol style="list-style-type: none">1) データベースに登録されたサイログロブリンと相同性あるクローンは得られなかった。2) 甲状腺のヨウ素イオン濃縮機構として必須のヨウ素イオン—ナトリウムイオンシンポーターと相同性の高いクローンが得られた。3) データベースに報告された配列とは相同性がないが、相互に相同性の高い4個のクローンについて配列を確認した。アミノ酸配列換算で401—474残基に相当する4種のクローンは 1)システインを含まない。 2) 開始コドンより上流に終止コドンが認められないことから C 末端側の部分配列の可能性が高い。 3)アミノ酸配列から算出したアミノ酸組成は近藤らが単離した低システイン含量のヌタウナギ甲状腺高ヨウ素高サイロキシンタンパク質のアミノ酸組成に酷似する。III) 考察: 4種のcDNA クローンは甲状腺特異性、アミノ酸組成、およびヨウ素タンパク質の電気泳動上の特性からサイログロブリン以外のサイロキシン母体タンパク質遺伝子の可能性が高い。作成を終わった c 末端側アミノ酸配列に対する抗体を使って無脊椎から脊椎動物へサイロキシン合成機構の進化を追及したい。
<p>8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況</p> <p>24年度内には本共同研究成果の発表はなかった。</p>