

第 71 回日本電気泳動学会シンポジウム

The 71st Japanese Electrophoresis Society Symposium

—電気泳動で何をしよう—

日時：令和 3 年 10 月 22 日（金） 13:00-16:10

Microsoft Teams 使用

世話人：藤井一恭（鹿児島大学病院皮膚科）

E-mail: 71th-jes-sympo@jes1950.sakura.ne.jp



ご挨拶



鹿児島大学の藤井と申します。この度、第71回日本電気泳動学会シンポジウムを2021年10月22日(金)に開催させていただくことになりました。コロナウイルス感染症流行のため、前回のシンポジウムに続き今回もオンラインでの開催とさせていただきます。

本学会は電気泳動という手法を中心に研究者が集まっているという特徴がありますが、電気泳動のどこに興味を持たれているかは各々の会員の先生方によって異なると思います。これまでの学会のご発表でも、電気泳動の手法自体の新しい可能性の追求、電気泳動を利用した新規解析法の開発、電気泳動を利用した自然科学現象の基礎研究やその臨床応用など、様々な観点からのご発表があったと思います。

今回のシンポジウムでは『電気泳動で何をしよう』というテーマでシンポジウムを組ませていただきました。医学、薬学、農学の各分野の先生にお願いし、それぞれのご専門の分野でどのようなトピックがあるのか、そのトピックに対して電気泳動を使ってどのようなことを解決しようとしているのかをご講演いただきます。

電気泳動という手法を利用している多くの研究者の皆さまにご参加いただき、何かしらの新しい発見をしていただけたらと考えております。コロナウイルス感染症の流行もようやく落ち着きつつあります。不手際や至らぬ点などが生じることもあるかと思いますが、このシンポジウムが参加いただく皆様にとって少しでも有意義な時間となり楽しんでいただけることを願っております。

第71回日本電気泳動学会シンポジウム

世話人 藤井一恭

(鹿児島大学病院皮膚科)

日程・プログラム

令和3年10月22日(金)

第71回日本電気泳動学会シンポジウム

—電気泳動で何をしよう—

10:00-12:00 理事会:Microsoft Teams 使用

13:00-16:10 シンポジウム本会:Microsoft Teams 使用

シンポジウム本会

13:00-13:05 開会のご挨拶 藤井一恭

13:05-14:05 シンポジウム1:電気泳動で何をしよう【医学】

オーガナイザー:菊田一貴 先生(栃木県立がんセンター)

13:05-13:25 杉原 豊 先生(ルンド大学/栃木県立がんセンター研究所)
バイオバンク活動での品質検査における電気泳動法の役割

13:25-13:45 井坂栄作 先生(国際医療福祉大学)
粘表皮癌が発現する腫瘍関連 MUC1 とその糖鎖の特性

13:45-14:05 杉浦貴則 先生(東京歯科大学)
粘表皮癌の有する特徴的な糖鎖のレクチンブロッティング解析とその局在

14:05-15:05 シンポジウム2:電気泳動で何をしよう【薬学】

オーガナイザー:木下英司 先生(広島文教大学)

14:05-14:25 木下恵美子先生(広島大学)
無細胞タンパク質合成系で作成した Src ファミリーチロシナーゼの
リン酸化状態と活性

14:25-14:45 伊藤玄太 先生(帝京大学)
電気泳動がひも解くパーキンソン病病因タンパク質の性状と機能

14:45-15:05 小松 徹 先生(東京大学)
酵素活性の網羅的計測(enzymomics)による疾患関連タンパク質機能の探
索

15:10-16:10 シンポジウム3:電気泳動で何をしよう【農学】

オーガナイザー:榊原陽一 先生(宮崎大学)

15:10-15:40 若山正隆 先生(慶応義塾大学)
キャピラリー電気泳動-質量分析法を用いた食品・農産物の体系的な解析

15:40-16:10 黒木勝久 先生(宮崎大学)
プロテオミクス基盤技術の畜産分野への応用に関する研究

16:10- 閉会のご挨拶 藤井一恭

抄 録 集

電気泳動で何をしよう【医学】

1. バイオバンク活動での品質検査における電気泳動法の役割

杉原 豊

ルンド大学/栃木県立がんセンター研究所

バイオバンクは医学の進展に欠かせない重要な研究基盤である。バイオバンクでは、個別のプロジェクトに合ったサンプルの品質が求められる。バイオバンクサンプルの品質検査手法はさまざまで、研究目的により、形態学的な評価や生体分子の状態を調べる必要があるとされる。

本研究では、皮膚がんの治療標的の一つである BRAF V600 の変異状態を調べるために、132 症例の皮膚がん凍結検体を解析した。検体より mRNA を抽出、cDNA を作製し、BRAF 遺伝子に対するプライマーを用いて、解析領域を含む配列を PCR 法により増幅した。アガロース電気泳動法により、PCR 産物の評価を行なった。PCR 産物が複数検出された症例、増幅されなかった症例が観察された。このように、電気泳動法は品質検査を行う上で役立った。今後も電気泳動は、バイオバンク活動における品質検査の過程において、重要な技術として役立つであろう。

電気泳動で何をしよう【医学】

2. 粘表皮癌が発現する腫瘍関連 MUC1 とその糖鎖の特性

井坂栄作¹⁾、杉浦貴則²⁾、橋本和彦³⁾、菊田一貴⁴⁾、穴澤卯圭⁵⁾、野村武史²⁾⁶⁾、亀山昭彦⁷⁾

1) 国際医療福祉大学医学部歯科・口腔外科学、2) 東京歯科大学口腔腫瘍外科学講座、
3) 東京歯科大学市川総合病院臨床検査科、4) 栃木県立がんセンター骨軟部腫瘍・整形外科、5) 東京歯科大学市川総合病院 整形外科、6) 東京歯科大学口腔がんセンター、7)
国立研究開発法人 産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門

粘表皮癌(MEC)は粘液産生細胞、中間細胞、扁平上皮細胞からなる唾液腺悪性腫瘍で、ムチンを多く含む事が報告されており、診断に苦慮することがある。ムチンの中でも MUC1 は、MEC を含むさまざまな腫瘍で発現が増加するムチンであり、診断および予後を判断する腫瘍マーカーとして以前より研究がなされてきた。さらに、ムチンは分子量の50%以上が糖鎖で構成されており、その糖鎖も悪性化に伴い変化が報告されている。我々は、MEC と正常唾液腺(NSG)のムチンを構成する糖鎖の違いを分析し、新しい診断マーカーを発見すべく研究を行なった。MEC、NSG の検体の可溶性画分を濃縮し、分子マトリックス電気泳動を用いてムチンを分離、抗 MUC1 抗体により電気泳動膜を染色した。MUC1は MEC では確認できたが、NSG では検出できなかった。また、分離したムチンバンドから糖鎖を遊離して質量分析を行なった。MEC では NSG と比較して、結合している糖鎖の殆どがシアル酸化されたコア2タイプの糖鎖であり、中でも $(Hex)_2(HexNAc)_2(NeuAc)_1$ および $(Hex)_2(HexNAc)_2(NeuAc)_2$ が豊富に含まれていることがわかった。MEC が発現する MUC1は糖鎖に特徴を持った腫瘍関連 MUC1であると考えられ新たな診断マーカーの開発に向けて今後さらに研究を進めてきたい。

参考文献)

Isaka, Eisaku et al. “Characterization of tumor-associated MUC1 and its glycans expressed in mucoepidermoid carcinoma.” *Oncology letters* vol. 22,4 (2021): 702.

電気泳動で何をしよう【医学】

3. 粘表皮癌の有する特徴的な糖鎖のレクチンブロッティング解析とその局在

杉浦貴則¹⁾、井坂栄作²⁾、橋本和彦³⁾、菊田一貴⁴⁾、穴澤卯圭⁵⁾、野村武史⁶⁾、亀山 昭彦⁷⁾

1) 東京歯科大学 口腔腫瘍外科学講座、2) 国際医療福祉大学 医学部 歯科・口腔外科学、3) 東京歯科大学 市川総合病院臨床検査科、4) 栃木県立がんセンター 骨軟部腫瘍・整形外科、5) 東京歯科大学 市川総合病院整形外科、6) 東京歯科大学 口腔腫瘍外科学、7) 産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門

【目的】糖鎖は細胞の悪性化に伴い、正常時にはみられない異常糖鎖の発現が知られ、以前より腫瘍マーカーとして利用されてきた。我々は粘表皮癌においてシアル酸が結合したコア 2 O-型糖鎖 (GlcNAc β 1-6(Gal β 1-3)GalNAc α Ser/Thr) を多く含む MUC1 があることを明らかにした。本研究では粘表皮癌における新たなバイオマーカーの発見を目的に MUC1 および、その糖鎖の解析と組織内での局在を検討した。

【方法】粘表皮癌、正常唾液腺よりムチンを抽出し、分子マトリックス電気泳動により分離、各種レクチン抗体にて泳動膜を染色しパターンを比較した。局在解析は粘表皮癌の免疫組織化学染色、In situ hybridization にて評価した。

【結果】ムチンおよびその糖鎖解析と局在解析にて α 2-3 シアル酸を含むコア 2 型糖鎖によって修飾された MUC1 は粘表皮癌にて特異的に産生されていることが示唆され、粘表皮癌における新たなバイオマーカーとなり得る糖鎖抗原であると考えられた。

電気泳動で何をしよう【薬学】

1. 無細胞タンパク質合成系で作成した Src ファミリーチロシンキナーゼのリン酸化状態と活性

木下恵美子¹⁾、木下英司²⁾、小池 透¹⁾

1) 広島大学大学院医系科学研究科、2) 広島文教大学人間科学部

外来タンパク質を発現には、細胞あるいは無細胞系のタンパク質発現系を利用できる。目的のタンパク質がリン酸化などの翻訳後修飾を要する場合には系の選択が重要である。私たちは、ヒト Src ファミリーキナーゼ(SFKs) 8 種類を、2 種類の細胞ベースのタンパク質発現系と 4 種類の無細胞タンパク質発現系で合成し、それらのリン酸化状態をリン酸基親和性電気泳動法 Phos-tag SDS-PAGE で解析した。真核細胞由来の系では、発現したキナーゼに翻訳後修飾に基づく複数のリン酸化状態が存在した。それぞれのキナーゼのリン酸化状態は、発現系によって明らかに異なった。キナーゼ活性の有無は、キナーゼと発現系の両方の特性に依存していた。これらの結果は、無細胞タンパク質合成系を利用したプロテオーム解析、特に翻訳後修飾を必要とするタンパク質の解析に対して重要な情報である。(E. Kinoshita-Kikuta et al, *Biomolecules*, in press)

電気泳動で何をしよう【薬学】

2. 電気泳動がひも解くパーキンソン病病因タンパク質の性状と機能

伊藤弦太

帝京大学薬学部 生体分子化学研究室

パーキンソン病は運動機能障害を主症状とする進行性の神経変性疾患であり、現在のところ根本治療法は存在しない。その病因タンパク質のひとつである leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) は GTP 結合能とキナーゼ活性をあわせもつユニークなタンパク質である。私たちは、LRRK2 の生化学的な性質や基質タンパク質のリン酸化を、native PAGE や Phos-tag SDS-PAGE などの電気泳動法を用いて研究してきた。その結果、LRRK2 は主として単量体として存在することや、低分子量 GTPase である Rab タンパク質の一部をリン酸化すること、そのリン酸化の亢進がパーキンソン病を引き起こすことなどが明らかになりつつある。また、これらの知見をもとに、LRRK2 阻害剤がパーキンソン病の治療薬として臨床試験に供されている。今回のシンポジウムでは、その過程で電気泳動法がどのように活用されてきたかお話したい。

電気泳動で何をしよう【薬学】

3. 酵素活性の網羅的計測 (enzymomics) による疾患関連タンパク質機能の探索

小松 徹

東京大学大学院薬学系研究科

生体内には常に数千種類を超える酵素が発現しており、特定の酵素のはたらきの異常が病気の進行と関連する例が数多く報告されています。特定の疾患と関わる酵素の機能を理解することは、病気の診断、薬の開発に直結する非常に重要なものですが、その機能は生体内の種々の要因によって動的に制御されており、いまだに、疾患との関わりが見出されていない酵素も数多く存在していると考えられます。

演者らは、酵素の有する活性に着目し、生体内の様々な酵素の活性を網羅的に評価する研究手法と、見出された活性の責任タンパク質を非変性電気泳動を用いた活性評価によりプロテオーム中から高精度に発見する研究手法 (diced electrophoresis gel 法) を組み合わせることで、生体内の様々な酵素の機能異常を活性レベルの解析から発見し、新たな創薬標的、バイオマーカーの候補タンパク質を見出す方法論

(enzyme の omics = enzymomics 法) の開発を進めてきました。本講演では、酵素の活性を高感度に検出する蛍光性分子を用いた解析を中心として、その方法論と展望について紹介させていただきたいと思えます。

電気泳動で何をしよう【農学】

1. キャピラリー電気泳動-質量分析法を用いた食品・農産物の体系的な解析

若山 正隆

慶應義塾大学 先端生命科学研究所

様々な物質を一斉に分析するメタボローム解析のうち、極性低分子（アミノ酸類、有機酸類、核酸類）についてはキャピラリー電気泳動質量分析(CE-MS)法がしばしば用いられる。食品・農産物は多種多様であり、いわゆる機能性表示食品で着目を受けている物質は CE-MS 法での一斉分析ターゲットから外れることも多いが、極性低分子は呈味性に関与することも多く、品質の維持、向上に重要な役割を持っている。このため実験系の組み方によって食品、農産物に対しての品質の維持、向上にきちんとした改良案を提案できうる可能性を秘めている。本発表では発表者が行っている農業、食品従事者との共同研究を中心に、CE-MS が得意な分析ターゲットに対し、様々な農産物、食品での生産、保管、加工の各プロセスを綿密にとらえる実験系を紹介、製品品質の維持、向上の可能性を提示する。当日はブドウ栽培中の登熟過程、鶏卵への給餌飼料変更の影響を中心に紹介する。

電気泳動で何をしよう【農学】

2. プロテオミクス基盤技術の畜産分野への応用に関する研究

黒木勝久、秋山克樹、榊原陽一

宮崎大学 農学部 応用生物科

黒毛和牛やブランド豚肉を始めとした高付加価値食肉は系統種の交配と飼育条件の工夫により開発される。食肉偽装などの問題もあり、遺伝的・環境的要因を一度に解析できる手法を確立することで、効率的な優良育種とブランド肉の偽装鑑定への応用に期待できる。その一つとして、我々はプロテオミクス基盤技術を活用した解析を行っている。本講演では、豚肉に焦点を当てブランド肉鑑定および優良種豚選抜法への応用研究の取り組みを紹介したい。プロテオーム解析の結果、ブランド豚肉では解糖系に関するタンパク発現が大きく変動しており、環境要因が解糖系に与える影響を見出すことが出来たと共に、ブランド豚肉を判別できるマーカータンパク質・ペプチドを得ることが出来た。さらに、優良育種に用いられるデュロック種と大ヨークシャー種の血清サンプルを用いた解析より、従来の系統的な選抜方法とは異なる新たな個体識別方法への可能性が示された。