

研究紹介 2 ～動物のホルモンの測定～

応用生物科学科 分子細胞機能グループ 教授・穂坂正博

ホルモン量の測定 (図 1) :

内分泌組織 (脳下垂体、膵島) とその細胞株からからのホルモン分泌を測定しています。測定対象は主に ACTH (副腎皮質刺激ホルモン; 脳下垂体から分泌)、インスリン (膵島 β 細胞から分泌) で、測定方法は Radio-immunoassay (RIA; ラジオイムノアッセイ; 放射免疫分析法) です。試料に含まれる測定対象ホルモン (抗原) に対する抗体をその放射性同位元素 ^{125}I で標識し、試料と混ぜ、抗原抗体反応で両者が結合したものを取り出して、 γ -カウンターで放射能強度を測定します。抗原・抗体反応に基づくため、特異的かつ感度が高く、微量ホルモンの濃度の測定に欠かせません (Sun et al. 2013)。

ノーザンブロッティング法 (図 2) :

分子生物学研究において用いられる、RNA を検出する手法です。組織・細胞から抽出した RNA を電気泳動で展開し、ナイロンメンブレンに転写して、標識した DNA プローブを用いて検出を行います。DNA-RNA 結合を利用した方法で、目的とする転写産物の量を調べます。近年、nonRI 法が開発されていますが、放射性同位元素をプローブとして利用した方がより S/N (signal-noise ratio: 信号雑音比) 比が高く解像度も高いです (Han et al. 2008)。

パルスチェイス分析法 (pulse-chase experiment) (図 3) :

生体で短時間標識化合物にさらすことにより標識し、その後、標識しない条件下で標識化合物が生体内を移行する状態を調べる実験です。具体的には、1) 細胞を ^{35}S -メチオニン、 ^{35}S -システインで 10-30 分間培養する (パルス; タンパク質を ^{35}S -メチオニン、 ^{35}S -システインで標識)、2) 通常培地に交換後 2-3 時間培養する (チェイス; ^{35}S -タンパク質が移行)、3) 細胞を破碎しモニターしたいタンパク質の抗体を用い免疫沈降する、5) SDS-PAGE (電気泳動法) でタンパク質を展開し、ゲルを乾燥した後、フルオログラフィーなどで解析するなどを行います (Sun et al. 2013)。

Sun M, Watanabe T, Bochimoto H, Sakai Y, Torii S, Takeuchi T, Hosaka M (2013) Multiple sorting systems for secretory granules ensure the regulated secretion of peptide hormones. *Traffic* **14**: 205-218

Han, L., Suda, M., Tsuzuki, K., Wang, R., Ohe, Y., Hirai, H., Watanabe, T., Takeuchi, T., Hosaka, M (2008). A large form of secretogranin III functions as a sorting receptor for chromogranin A aggregates in PC12 cells. *Mol. Endocrinol.* **22**: 1935-1949