

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 13 日

2019 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	脳内の新規行動制御因子の構造解析ならびに同定方法の探索		
研究代表者	氏名	深田吉孝	
	所属機関名・部局名	東京大学・大学院理学系研究科	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	○	共同研究員	
		超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	高尾 敏文		
<p>7<math>\alpha</math>-OH-Preg は鳥類や両生類の脳に存在し、光依存的に合成・分泌され、脳神経系に変化を生み出す因子であると考えられている。哺乳類では、脳内に 7<math>\alpha</math>-OH-Preg の合成に関与する酵素が発現していることを示した知見はあるものの、その実体を明示した報告はなく、7<math>\alpha</math>-OH-Preg の存在や生理機能など多くの謎が残されている。7<math>\alpha</math>-OH-Preg の合成には CYP7B1 による 7 位のヒドロキシル化が必要であるが、CYP7B1 によって合成されるもう一つのニューロステロイドとして、7<math>\alpha</math>-ヒドロキシデヒドロエピアンドロステロン(以下 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA と略)がある。本研究課題では、哺乳類脳内における 7<math>\alpha</math>-OH-Preg と 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA の存在を明示するため、マウス脳の各部位抽出物に含まれるステロイドの同定をおこなう。さらに、発現・分泌のパターン、日周リズムや光応答性の詳細な検討を行うことで 7<math>\alpha</math>-OH-Preg と 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA の実体を解明する。</p> <p>マウス脳内の 7<math>\alpha</math>-OH-Preg および 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA 量の定量のために、脳組織からの抽出法と質量分析による検出の改良をおこなってきた。その結果、カラム抽出時の溶媒濃度の改良や、LC-EMS-MS/MS 解析時の Lithium 添加により、より高感度で検出できることがわかった。特に、これまで検出感度が低かった 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA の検出感度を数倍あげることに成功した。また、Morris water maze 試験による空間学習に伴う 7<math>\alpha</math>-OH-Preg と 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA 量の変化を質量分析により検出してきたが、空間学習前には 7<math>\alpha</math>-OH-Preg および 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA は検出されず(検出限界以下)、空間学習後に 7<math>\alpha</math>-OH-Preg および 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA 量が上昇していることがわかった。</p> <p>現在の問題点は、マウスの空間学習の試行回によって、7<math>\alpha</math>-OH-Preg と 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA の量が大きく異なることである。今後、この差異が個体差によるものか、抽出作業によるものかを明らかにし、安定した結果を得られるよう条件を検討する必要がある。また、マウスの空間記憶学習後の 7<math>\alpha</math>-OH-Preg および 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA の時間経過による変化や、時刻依存的な 7<math>\alpha</math>-OH-Preg および 7<math>\alpha</math>-OH-DHEA 量の変化を明らかにする予定である。</p>			