

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23310155

研究課題名(和文) 組織ペプチドーム解析を可能とする技術開発と新規生理活性ペプチドの探索・同定

研究課題名(英文) Development of tissue peptidome analysis technology and its application to discovery of new biologically active peptides

研究代表者

南野 直人 (MINAMINO, Naoto)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・部長

研究者番号：50124839

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円、(間接経費) 4,560,000円

研究成果の概要(和文)：生理活性ペプチドは生体の情報伝達に不可欠な物質で、組織や細胞が産生するペプチド総体(ペプチドーム)をカタログ化できれば、生理活性ペプチドの発見、創薬、診断法開発に活用できる。培養細胞のペプチドーム解析法を開発し研究を進めてきたが、組織については世界的にも解析法が作成されていない。本研究では組織中の消化・分解ペプチドを特異的に標識する方法を開発し、動物組織に適用して妥当性を検討した。本法による分解ペプチド標識率は予想を下回ったが、標識されたペプチドは分解ペプチドと推定され、それらの排除により内在ペプチドを高い精度で選出可能となった。本法により、組織ペプチドーム解析の精度が大きく向上した。

研究成果の概要(英文)：Biologically active peptides (BAPs) are well known as key regulators in the signaling between cells, and used for drugs and diagnosis. Thus, a data set of whole peptides (peptidome) in the cell or tissue is a promising resource for future development of drug and diagnosis. Mass spectrometry has enabled us to analyze numerous peptides, but proteases still hamper the peptidome analysis, i.e. they quickly degraded peptides and converted proteins into peptides. We have succeeded in analyzing peptides in the conditioned media of cultured cells in their intact forms, but not in the tissues. We have recently proposed a new approach to specifically label degraded peptides using a small membrane-permeable reagent, and developed the labeling method in this study. Although the labeling ratio is lower than expected, we can exclude the degraded peptides from the list of identified peptides. This method will facilitate cataloging the endogenous peptides and discovery of new BAPs.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：ペプチドーム解析 生理活性ペプチド 分解ペプチド 内在ペプチド 質量分析 プロセッシング 標識法

1. 研究開始当初の背景

(1)環境変化に対応するために、生体は多量かつ精緻な情報伝達・制御機構を細胞間、組織間で構築し、モノアミン、脂質、核酸などの化合物、タンパク質やペプチドが、その伝達・制御に使用されている。中でもペプチドは神経系、内分泌系だけでなく循環器系や免疫系など生体全体の多様な経路で重要な機能を担っている。実際、ナトリウム利尿ペプチドのように医薬品や診断薬に利用されているものも多い。そのため、組織や細胞が産生するペプチド総体(ペプチドーム)を正確にカタログ化できれば、内在するペプチド情報を基盤として新規生理活性ペプチドの発見、情報伝達・制御機構の発見、病因究明、治療・診断法開発、創薬に効率的に展開できると考えられる。しかし、ペプチドはタンパク質より選択的切断と修飾を受けて生成するため、ゲノム情報から最終的に生成、機能するペプチド構造は推定できず、その実像を把握するには実験的解析以外に方法がない。

(2)質量分析計の長足の進歩により、微量ペプチドでも高い確率で構造決定可能となった。しかし、ペプチドは微量しか存在せず、プロテアーゼにより容易に消化・分解を受ける上、タンパク質の代謝により発生する分解ペプチドも細胞内に多量に存在するため、上記の目的に合致する解析データの収集は困難と考えられてきた。1999年にプロテアーゼを失活させた組織のペプチドーム解析を開始したが、80%は細胞内タンパク質の分解ペプチドと推定され、生理活性ペプチドとなり得る前駆体や分泌タンパク質由来のペプチドは一部に過ぎず、多くは消化を受けた分解ペプチドであった。そのため、組織ペプチドーム解析は、限定された組織以外では困難と判断し中断していた。

(3) 研究分担者の佐々木は、ペプチドホルモンが分泌されることに着目し、それらを多く含有する内分泌系細胞に刺激を与え、分泌ペプチドを回収する方法を開発した。細胞種によって状況は異なるが、無血清培地に刺激・分泌させた微量ペプチド画分の解析で安定した同定数が得られ、調節的分泌細胞では方法論を一般化できたと考えている。実際、重複のない800以上のペプチドを同定し、主要な分泌タンパク質ではプロセッシング部位も予想可能となった。同定ペプチドリストからC末端アミド化修飾を起点に生理活性ペプチド候補を選択、合成し、活性スクリーニングを行った結果、VGFタンパク質より生成する4種のNeuroEndocrine Regulatory Peptide(NERP)を発見できた。分泌顆粒を含まない構成的分泌細胞についても、無血清状態で細胞が死滅しない短時間に分泌、回収される微量ペプチド画分を対象に、同定数が確保できるようになりつつある。

(4)ペプチドーム解析の重大な課題として、タンパク質の代謝により生じる分解ペプチドに加え、抽出等の操作で発生する消化・分解ペプチドの問題がある。培養細胞ではほぼ問題を解決できたが、組織ペプチドーム解析では組織からのペプチド抽出操作が不可避で、未だ解決法がない。欧米では、死亡直後にマイクロウェーブによる数秒間の急速加熱処理によるプロテアーゼの失活、微小組織片や切片表面でのペプチド解析である程度の成果が得られている。特に急速加熱処理法はプロテオーム解析を含めて普及しつつある。しかし、消化や分解を正確に評価する方法がない現状では、正確な実態把握はできない。連携研究者の高尾は質量分析関連技術開発の専門家であり、各種標識法の開発と実用化を行ってきた。プロテアーゼの急速失活法と高尾の開発した標識法を組み合わせ、処理過程で生成する消化・分解ペプチドを標識、排除できれば、内在ペプチドのみをカタログ化する組織ペプチドーム解析法を確立できる可能性が高く、以降の研究に極めて有用である。

2. 研究の目的

(1)生理活性ペプチドは生体の情報伝達・制御に不可欠な物質で、組織や細胞の産生するペプチドームを解析し、正確なカタログを作成できれば、生理活性ペプチドの発見や応用に有用である。しかし、プロテアーゼによる易分解性などの問題点があり、ペプチドーム解析は極めて困難である。我々はペプチドーム解析の有用性を提唱するとともに、解析法の改良を続けた結果、培養細胞の分泌ペプチドーム解析法を作成し、4種の新規生理活性ペプチドを発見し、主要タンパク質のプロセッシング経路も予想可能とした。

(2)培養細胞は生体の生理的条件を正確に反映しているとは言えないため、組織のペプチドーム解析が大きなゴールである。しかし、実験作業により発生する消化・分解ペプチドが不可避的に含まれるため、分解ペプチドを排除した組織ペプチドーム解析法を開発できていない。組織からのペプチド抽出において、内在ペプチドのみを選択して抽出することは不可能であり、消化・分解ペプチドが存在・発生しても全ペプチドを回収、解析し、プロテアーゼによる消化・分解を受けたペプチドを排除するのが唯一の可能な方法である。本研究では、組織ペプチドーム解析を実施可能とするため、(1)内在ペプチドと消化・分解ペプチドの識別法を開発し、対象組織によらず意義のあるペプチドーム解析を実施可能とする、(2)(1)を用いて消化・分解を極小化し、高精度のペプチドーム解析を実施する、(3)新しいスクリーニング法や細胞活性評価法を用いて、生理活性ペプチドを探索、発見する、ことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物組織： Sprague-Dawley ラットの下垂体中葉、副腎髄質、全脳、あるいは視床下部の組織を使用し、研究計画について動物実験委員会の承認を得て実施した。

(2) 標識試薬、標識方法と安定性： 標識試薬については、論文発表、特許出願などが実施できていないために、詳細を記載しない。本標識試薬は細胞膜透過性を有し、ペプチドやタンパク質の消化・分解に伴い切断部位を標識する。一方、ペプチドの抽出、精製条件である酸性条件で標識試薬は徐々に脱離するため、酸性条件や温度変動における安定性を確認し、標識後の取り扱い条件を設定した。また、本研究では消化・分解ペプチドを確実に標識するため、標識試薬が組織内に十分に取り込まれた後に抽出を行い、ペプチドを標識する必要があるため、組織の小片化、微細化と標識試薬を含む緩衝液中でのインキュベーション時間を変動して標識率を検討した。脳などの大組織では、経血管灌流により標識試薬を含む緩衝液と十分に置換後、時間経過と標識率を検討した。

(3) ペプチドの抽出・精製法、構造解析法： ペプチドの抽出・精製時における消化・分解は、時間依存的で、組織・細胞構造の破壊により強く誘導されるため、迅速に組織片化して熱変性させる方法を採用した。中性条件下で熱処理後、酢酸酸性条件下で抽出を行った。直ちに、逆相系の樹脂カラム (Sep-pak C18, InertSep RP-1 など) により脱塩・濃縮し、遠心減圧濃縮後、凍結乾燥した。ゲルろ過は、Tosoh G2000SWXL、GE Healthcare Superdex75 10/300 GL カラムで、30%CH₃CN/0.1% trifluoroacetic acid (TFA)を溶媒として実施した。逆相ナノ LC は、日立 Nanofrontier、Dionex Ultimate で行った。質量分析は、AB Sciex TOF/TOF 4800 及び 5800、Thermo-Fischer LTQ Orbitrap XL (ETD 付) で実施した。データ解析は Mascot ソフトウェアと NCBI nr データベースを使用し、酵素消化無の条件で、標識試薬による修飾、種々の翻訳後修飾の有無の条件で解析を行い、expect value<0.05 のものを使用した。標識率は、標識されたペプチドと非標識ペプチドのピーク強度か面積の比より算出した。

(4) ペプチドの生物活性評価法： ペプチドは委託合成で作成し、純度検定、定量を行い使用した。活性測定には、蛍光タンパク質エコーリンを全身組織に強制発現したマウスの組織を使用し、そのカルシウム上昇に伴う蛍光強度の変動を観測した。血管、心臓、脳・下垂体系の培養細胞について、セカンドメッセンジャー変動を指標とした生物活性評価系を作成した。

4. 研究成果

(1) 分解ペプチドの識別法

標識試薬の脱離： 標識試薬は消化・分解の際にペプチドと反応して標識されるが、徐々に脱離するため、先ず脱離条件を検討し、実験条件を設定した。連携研究員の髙尾より標識試薬をほぼ完全に導入した 15 残基合成ペプチドの提供を受けた。本ペプチドは 98% が標識され、中性溶液では 3 週間後でも標識率の変動を認めなかった。ペプチド精製に汎用される強酸性の 1%TFA 溶液では、25 で 18 時間に 10%の脱離が観測され、72 時間後に 35%、3 週間後には 70%以上が脱離した。1%TFA 溶液、50 の条件では、2 時間後に有意な脱離が確認され、6 時間後に 25%、18 時間後に 40%以上が脱離した。また、1%TFA 溶液-30 凍結条件でも脱離は観測されるが非常に遅く、数値化は困難であった。

以上より、抽出、精製時に用いる酸性条件では標識試薬が脱離するため、室温や氷上での作業実施、作業後の速やかな凍結あるいは中性化、さらに凍結乾燥、フリーザー保存の徹底により、最終的な質量分析までに要する延べ 24 時間程度の酸性溶液状態で、標識試薬の脱離は 10%以内に抑えられ、本実験の実施に問題がないことが確認された。

(2) 標識試薬の導入条件の検討

脳を用いた標識実験： 標識試薬による消化・分解ペプチドの標識を確認するために、ラット全脳を左右に 2 分割し、(a)一方は 10 倍量の標識試薬を含む中性溶液、氷冷下でホモジナイズし、30 分間放置後、90 以上に急速加熱、冷却した。(b)他方は加熱した中性溶液に組織を添加し、90 以上に加熱後、標識試薬を加えてホモジナイズした。以降は定法に従い酸性条件下で抽出、逆相カートリッジで脱塩・濃縮し、ゲルろ過でペプチド画分を調製し、逆相ナノ LC で分離後、Maldi-質量分析計 (MS/MS) で分析した。その結果、(b)では有意に標識されたペプチドが見出せず、標識されていても定量限界以下であったが、(a)では大半のペプチドで 50%を超えて 90%程度まで標識され、且つ(a)では(b)に比してペプチド画分の量が多く、(a)と(b)では主要なペプチドが大きく異なっていた。これらの結果より、消化・分解を受けたペプチドは、試薬と自由に反応できる条件では 90%程度まで標識されることが確認された。

副腎髄質の標識実験： ラット副腎を収集後、髄質を摘出し、Hank's 溶液内で細片化、洗浄後、標識試薬を含む中性溶液内で 10 分間、室温で振とうし、その後 90 以上に加熱後、定法に従い酸性条件下でペプチド画分を調製し、Maldi-MS/MS で分析した。ProSAAS、SCG1、7B2、ACTH-endorphin 前駆体 (POMC)、Cathepsin B 及び D などに由来するペプチドが観測されたが、分泌タンパク質と細胞内タンパク質由来ペプチドを比較すると後者が大部分であった。Cathepsin B ではプロタン

パク質に由来する多数のペプチド観測され、それらは80%程度の標識率が認められた。一方、C末端の6残基、N末端の62残基が選択的切断を受けて活性型に変換されるが、C末端から6番目/7番目の切断部位は標識されていないが、消化・分解と考えられるC末端から8番目/9番目の切断部位は75%が標識されていた。この事実は重要で、Cathepsin Bの活性型への変換が予め細胞内で起こり、その後、標識試薬存在下で消化・分解反応が起こったと推定され、本標識法の消化・分解検出における有効性を示すものである。しかし、同定されたペプチドの大半は細胞内タンパク質の消化・分解ペプチドで標識率が高いことから、副腎髄質組織の細胞構造は脆弱で組織片内で細胞死が急速に起こり、消化・分解が進行していると推定され、組織ペプチドーム解析対象として優先度は低いと判断した。

(3)下垂体中葉の標識実験

下垂体中葉は、ペプチド含量が高い内分泌細胞が大半を占め、且つ細胞の安定性が比較的高い。

浸漬法による標識実験：死亡直後に下垂体を摘出し、中後葉を剥離後、中葉のみを分離した。中葉組織(100 ug程度)を分割した組織片、あるいは物理的に分散した細胞塊を、標識試薬を含む緩衝液に移し、10分から70分間振とう後、急速加熱処理し、以降は定法に従いペプチド画分を調製した。組織量が限られるために下垂体中葉ではゲル口過は省略し、逆相カラム溶出物を直接ナノLCで分離後、ESI法によりLTQ Orbitrapに導入、解析した。POMC由来の多くのペプチドに加えて、SCG1、SCG2、SCG3、ProSAAS、chromogranin A由来ペプチドなどが同定されたが、20%以上標識されたペプチドは数%以下であった。標識率は短時間振とうでは減少したが、組織片や細胞塊の大きさには依存しなかった。

灌流法による標識実験：脳及び脳下垂体を対象に、色素を用いて十分な置換に必要な液量を測定し、灌流実験を実施した。ヘパリン入Normal Locke's緩衝液で総頸動脈片側より灌流後、標識試薬入り緩衝液20mLで灌流し、25-125分の4時点で下垂体を摘出し、さらに中葉のみを分離して、と同様の処理、解析を行った。POMC、SCG1、SCG2、SCG3、ProSAAS、chromogranin A由来のペプチドなど、とほぼ同様のペプチドが観測された。標識率は灌流後の時間が増加すると共に増加したが、と同様に20%以上標識されたペプチドは125分後でも数%程度であった。

標識ペプチドの特徴：数量で圧倒的に多いPOMC由来ペプチドにおいては、下垂体中葉の特徴として-endorphin、-MSHが強く観測された。選択的なプロセッシングにより生成するペプチドについては、有意な標識試薬との反応物は観測されなかったが、-endorphinやN末端介在ペプチドの消化ペプチドでは高い比率で標識が導入され、90%程

度の標識されたペプチドも認められた。しかし、他の前駆体やタンパク質由来で標識率の低いペプチドも数多く存在した。

(4)視床下部の灌流、標識実験

脳組織を組織スライスとして、あるいは細片化して標識試薬を含む緩衝液にて浸漬し、穏やかに振とうする方法を試みたが、副腎髄質と同様に組織が非常に柔らかく脆弱であるため、浸漬法は不適と判断した。また、大型組織からの抽出における実験法開発が必要であることも踏まえ、脳については灌流法による標識実験を実施した。

下垂体と同じ手法で標識試薬入り緩衝液で灌流し、25-125分の4時点で全脳を摘出した。解析対象としてペプチド含量が最も高い視床下部を選択し、Glowinski-Iversenの方法に基づき分割、収集した(n=4, 90.0 ± 3.3mg)。急速加熱処理後、定法に従い抽出し、ゲル口過によりペプチド画分を回収し、75cmモノリスカラムで分離後、LTQ Orbitrapにて解析した。重複のない約1800ペプチドが同定され、その中には既知の生理活性ペプチド前駆体25種に由来するペプチドが観測されたが、有意に標識されたペプチドは観測されなかった。また、プロセッシング酵素3種、グラニン類7種由来のペプチドも多数観測され、その内、1ペプチドについてののみ有意な標識が認められた。この他、細胞内タンパク質を中心に312タンパク質が検出され、45タンパク質では標識されたペプチドが観測された。最大で標識率が90%程度のペプチドが検出され、50%を超える標識率のペプチドもかなりの数で認められた。これらの標識ペプチドは、前駆体タンパク質配列との比較から消化・分解を受けて生成したと推定され、標識率は個々のペプチドで異なっていた。3ペプチドは、酸性条件で加水分解を受けやすいAsp-Pro結合の切断によるもので、明確に標識されていた。

これらの結果を総合して、有意に標識されたペプチドは消化・分解ペプチドと判断すべきであると結論した。均一系では高率に標識されるため、標識率の違いは、標識試薬の細胞や組織内への取り込み、細胞内での分配にかなりの相違があり、その結果生じる細胞内局所における標識試薬濃度の相違が、標識率の違いに反映されると推定とされた。

(5)生理活性ペプチド候補の選出

下垂体中葉において多数のペプチドが同定されたが、多くはPOMCや既知の前駆体タンパク質由来のペプチドであり、新規のタンパク質に由来し、選択的な切断によって生成したと考えられる新しいペプチドは観測されなかった。視床下部のペプチドーム解析でも、標識を受けたタンパク質由来ペプチドを先ず排除し、残りの同定ペプチドリットについて検討を行ったが、大部分のペプチドは消化・分解により生み出され、生合成機序に基

づく選択的切断により生成した可能性のあるペプチドは、予定通り少数であった。

これらのペプチドについて、前駆体タンパク質配列における存在位置、切断部位周辺のアミノ酸配列を精査した結果、プロホルモン変換酵素などによる切断が推定されるタンパク質が2種存在した。これらのタンパク質については、他の切断予想部位に由来する生成ペプチドも探索し、合計3種のペプチドについて生体内に内在し生理活性を保持する可能性があるかと判断し、化学合成を行った。研究期間の終了時期に近づいてからペプチドを調製したため、エコーリン発現マウスの一部組織と限られた培養細胞系についてしか検討を行っておらず、現在までに明確なカルシウム変動や細胞活動の変化を誘導するペプチドは観測されていない。

(6)まとめ

本研究では、組織ペプチドーム解析を可能とすべく、標識試薬の有用性の確認とその実用化を目指した。ペプチドやタンパク質が標識試薬と自由に混合、反応できる条件では、消化・分解により高率に標識されるが、実際の組織片、灌流組織での標識率は、数においても導入率においても予想を下回るものであった。細胞内各部位の標識試薬濃度を正確に評価できないが、ホモジナイズ後には反応は進行するため、標識試薬が細胞内へ取り込まれた後も、微小器官や部位ごとに大きな濃度があり、多くの部位では高い濃度に達せず、消化・分解が起こっても標識率が低い水準に止まると推定された。研究計画では標識率により分解を判定する予定であったが、これらの結果を総合し、低率であっても有意な標識ペプチドが存在する場合は、当該ペプチドは消化・分解物とすべきと結論した。このため、質量分析計で標識されたペプチドのピーク強度が低くノイズが多い状況でも、親ペプチドピークと一定質量差で検出される標識ペプチドの割合を正確に評価できるソフトウェアの開発が必要である。開発ができれば、標識法として普遍化して利用できると期待される。

質量分析計の進歩と高感度化、微量ペプチド分離システムの向上により、解析に必要なペプチド量は激減した。このため10 pmol/g程度の濃度で存在するペプチドあれば、10 mgの組織でペプチド解析が可能で、何kgもの組織から精製した時代とは隔世の感がある。今回開発した標識試薬を微小組織に一定時間取り込ませた後、急速加熱後にペプチドーム解析を行い、ペプチドカタログを作成後、標識されたペプチドを排除することにより、従来法よりは格段に精度の高い組織ペプチドーム解析が実施可能である。この方法を用いて、組織内に微量しか存在しない生理活性ペプチド候補の探索を推進したい。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計6件)

Osaki T, Sasaki K, Minamino N, Peptidomics-based discovery of an antimicrobial peptide derived from insulin-like growth factor-binding protein 5. *J Proteome Res*, 10:1870-1880, 2011. 査読有
Fujihara H, Sasaki K, Ueta Y, Minamino N 他4名. Molecular characterization and biological function of neuroendocrine regulatory peptide-3 in the rat. *Endocrinology*, 153:1377-1386, 2012. 査読有

Moin AS, Yamaguchi H, Sasaki K, Minamino N 他8名. Neuroendocrine regulatory peptide-2 stimulates glucose-induced insulin secretion in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 428:512-517, 2012. 査読有

Sasaki K, Osaki T, Minamino N, Large-scale identification of endogenous secretory peptides using electron transfer dissociation mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*, 12:700-709, 2013. 査読有

Tokizane K, Sasaki K, Minamino N, Kiyama H 他3名. Continuous stress promotes expression of VGF in melanotroph via suppression of dopamine. *Mol Cell Endocrinol*, 372:49-56, 2013. 査読有

(学会発表)(計10件)

佐々木一樹、高橋憲行、佐藤光男、山崎基生、南野直人：セクレトペプチドーム解析に基づく新規生理活性ペプチド探索、第84回日本内分泌学会学術総会、2011年4月21-23日、神戸国際会議場

南野直人：内在ペプチドと創薬への応用、第318回情報計算化学生物学会講演会「ペプチド創薬の現状と未来」、2011年7月5日、東京大学山上会館

Osaki T, Sasaki K, Minamino N: Peptidomics-based discovery of an antimicrobial peptide derived from insulin-like growth factor binding protein 5、第48回ペプチド討論会、2011年9月27-29日、札幌コンベンションセンター
Minamino N, Osaki T, Sasaki K: Secretopeptidome and discovery of new biologically active peptides. 9th Australian Peptide Conference, 2011年10月16-20日、Hamilton Island, Australia

南野直人：ペプチドーム探索、第9回GPCR研究会、2012年5月11-12日、日本未来館、東京

Sasaki K, Ueta Y, Minamino N: VGF-derived peptides identified by mass spectrometry and their functions. *Frontiers in Biologically Active Peptides*, 3rd Meeting of Japan Branch of the Inter-

national Neuropeptide Society, 2012 年 9 月 29-30 日, 北九州コンベンションセンター
望月明和、佐々木一樹、中里雅光、上田陽一、塩田清二、南野直人:ラット脳内における NERP 類の分布、局在とバソプレシン分泌に及ぼす効果、第 16 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2012 年 11 月 23-24 日、東京大学

南野直人:ペプチドーム解析に基づく新規生理活性ペプチドの探索、第 86 回日本内分泌学会学術総会、2013 年 3 月 25-27 日、仙台国際センター

Sasaki K, Osaki T, Minamino N: Peptidomics for naturally occurring secretory peptides using electron transfer dissociation (ETD) mass spectrometry. 12th HUP0 World Congress, 2013 年 9 月 14-18 日、パシフィコ横浜

Tsuchiya T, Sasaki K, Osaki T, Minamino N: Peptidomic survey of peptides found in culture supernatant of cardiac fibroblast -an expanded application to common cell having the constitutive secretory pathway. 4th Asia Pacific International Peptide Symposium, 2013 年 11 月 6-8 日、ホテル阪急エキスポパーク、大阪

〔図書〕(計 3 件)

佐々木一樹, 山口秀樹, 中里雅光, 南野直人: 質量分析法を活用する生理活性ペプチドの探索 - Neuroendocrine Regulatory Peptides の発見, 日本臨床化学会、臨床化学, 40:127-132, 2011

佐々木一樹, 尾崎司, 南野直人: ペプチドミクスを活用する新規生理活性ペプチドの探索, シーエムシー出版、ペプチド医薬の最前線、2012 年、108-111 頁

Sasaki K, Minamino, N: Peptidomics strategy for discovering endogenous biologically active peptides. Academic Press/Elsevier, Handbook of the Biologically Active Peptides, 2nd Edition, Ed. Kastin AJ, 2013, pp.1772-1779.

〔産業財産権〕なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ncvc.go.jp/res/divisions/pharmacology/001/index.html#a>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

南野直人 (MINAMINO Naoto)
独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・部長
研究者番号: 50124839

(2) 研究分担者

佐々木一樹 (SASAKI Kazuki)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・室長

研究者番号: 80260313

望月明和 (MOCHIZUKI Akikazu)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・研究員

研究者番号: 30589601

(3) 連携研究者

高尾敏文 (TAKAO Toshifumi)

大阪大学蛋白質研究所・教授

研究者番号: 30589601

尾崎司 (OSAKI Tsukasa) (H23)

独立行政法人国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員

研究者番号: 60380565