

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	脂質リアルタイム計測技術を基盤とする形質膜修復機構の解明				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	原 雄二
	研究分担者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	土谷 正樹
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	村上 光
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	平野 航太郎
	発 表 者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	原 雄二

講演題目
生体分子ラベル化技術による骨格筋修復・再生過程の分子機構解明
研究の目的、成果及び今後の展望
【本研究の目的】 運動器である骨格筋を構成する筋線維は絶えず物理的な負荷をうけており、筋線維の損傷に対し自律的な修復・再生機構を有する。申請者はこれまでに、形質膜に対する物理的な負荷により活性化される機械受容イオンチャネル群に着目し、筋再生機構の解明に従事してきた（<i>Life Sci. Alliance</i>, 2022; <i>Science Advances</i>, in press. 申請者は両論文の責任著者）。一方で筋線維の修復・再生機構について関与するタンパク質群は同定されてきたものの、それらの詳細なメカニズム解明は依然途上である。本研究では、研究協力者・土谷正樹准教授が開発した脂質ラベル化法（Tsuchiya et al., <i>Cell Metab.</i>, 2023）をはじめとして、生体分子（脂質、タンパク質、糖質）に対しクリックケミストリー技術を用いて標識し、筋線維の修復・再生過程におけるこれらの分子動態の解明を目指した。 【本研究の成果】 令和6年度の進捗は次のとおりである。 <u>形質膜修復過程の可視化を目的とした、脂質分子のラベル化法の構築</u>： 先行論文をもとに、筋芽細胞を用いてホスファチジルコリンへのラベル化を行ない、形質膜への損傷を印加した。膜損傷には二光子顕微鏡（国立循環器病研究センター）を用いて、その後に細胞内小胞の集積過程の検出に成功した。現在、筋ジストロフィーモデルマウス mdx などより筋線維を単離し、筋疾患における損傷過程の検出を目指している。 <u>筋線維再生時の筋幹細胞の性状解析を指向した、生体分子ラベル化法の構築</u>： 筋線維の再生を担う筋幹細胞について、静止状態から活性化、筋分化に至る過程での性状解析を目的として、アミノ酸ラベル化による新生タンパク質の標識、ならびに糖のラベル化による代謝状態のモニタリング手法構築を目指した。細胞株にてアミノ酸ならびに糖の取り込みを行い、クリック反応ののちセルソーターにて標識された細胞群の検出を行った。またタンパク質についてはウェスタンブロット解析にてそれらの標識を検出し、糖ならびにアミノ酸への標識法の構築に成功した。現在、個体レベルでのラベル化法の構築をめざし、更なる予備検討を進めている。 【今後の展望】 本研究により、脂質、タンパク質、糖質のラベル化ならびにその検出法の確立に成功した。これらの技術をさらに最適化、生体レベルの応用を果たすことで、筋再生・修復過程の分子機構解明につながる。さらにこれらの機構の理解深化とともに、筋恒常性機構の解明を通じた健康長寿への貢献が期待される。