

様式 F - 7 - 1

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成28年度）

1. 機関番号 

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 基盤研究(C)（一般） 4. 補助事業期間 平成28年度～平成30年度

5. 課題番号 

1	6	K	0	8	4	8	2
---	---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 筋分化に付随する小胞体内カルシウム変動機構の解明

## 7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
3 0 4 1 5 2 5 2	ナカニシ ケイコ 中西 慶子	バイオサイエンス研究科	助教

## 8. 研究分担者

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

## 9. 研究実績の概要

筋前駆細胞である筋芽細胞が筋蛋白質を発現する筋管細胞に分化する筋最終分化過程（以降筋分化と呼ぶ）において、一過的に小胞体ストレス応答が生じ、これが筋分化過程において重要な役割を果たしていることを私たちは以前報告した。更に分化過程に組込まれた生理的小胞体ストレスの発生源が小胞体内カルシウム枯渇であることを突き止め、小胞体内カルシウム枯渇をイメージングによって可視化することにより直接的に証明した。本研究課題では筋分化に伴う生理的な小胞体ストレスの原因である小胞体内カルシウム枯渇がどのように引き起こされるのか、その誘導機構を明らかにすることを目的として、筋分化過程を異なるステップで阻害したサンプルに対する遺伝子発現解析を行い、小胞体内カルシウム枯渇が生じる上流での変化を抽出することに取り組んでいる。これまでの研究から初期過程で筋分化を阻害するいくつかの薬剤を同定しており、それぞれの薬剤が分化のどのステップで抑制しているかについてカルシウムイメージング、細胞免疫染色及びウエスタンブロットにより解析を行った。各阻害剤存在下での筋分化時のマイクロアレイの結果と分化の進行度合いから、小胞体内カルシウム枯渇上流で変化する因子を抽出することを試みる。今年度はマイクロアレイサンプルの作製及び、マイクロアレイ解析結果の妥当性の検証を行った。分化誘導細胞では筋特異的遺伝子の発現上昇が、また阻害剤使用群では分化誘導細胞と比較して筋特異的遺伝子の発現低下が確認されたことから、解析条件が妥当である事が確認された。更に筋分化特異的に発現上昇が起こることを確認している膜脂質動態に関係する遺伝子群に関して、阻害剤存在下においても同様に発現上昇が生じることが明らかとなった。

## 10. キーワード

- |           |             |         |            |
|-----------|-------------|---------|------------|
| (1) 細胞分化  | (2) 小胞体ストレス | (3) 筋発生 | (4) 小胞体膜動態 |
| (5) カルシウム | (6)         | (7)     | (8)        |

## 11. 現在までの進捗状況

(区分)(4)遅れている。

(理由)

平成28年3月末で所属していた研究室(国立研究開発法人理化学研究所 小林脂質生物学研究室・協力研究員)が主任研究員の定年のため閉鎖となり、4月(同所 伊藤ナノ医工学研究室・協力研究員)、5月(同所 脳科学総合研究センター 神経細胞膜機能研究チーム・研究員)、8月(国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 応用免疫学研究室・助教)と3回の異動があった。異動に伴う準備や研究環境及び研究テーマの変化があり、円滑に研究を継続することが難しい状況であった。

## 12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

得られたマイクロアレイ解析データの解析を進め、小胞体内カルシウム枯渇を生じさせる特異的な遺伝子発現変化を抽出する。候補の経路が絞られたら、それらの遺伝子をクローニングし、筋芽細胞に強制発現させることで小胞体内カルシウムの変化が生じるかどうかを検討する。また、内在性のタンパク質の発現変化の確認及び、ノックダウン時の小胞体内カルシウム枯渇や筋分化への影響の検討を行っていく。

(次年度使用額が生じた理由と使用計画)

(理由)

平成28年3月末で所属していた研究室(国立研究開発法人理化学研究所 小林脂質生物学研究室・協力研究員)が主任研究員の定年のため閉鎖となり、4月(同所 伊藤ナノ医工学研究室・協力研究員)、5月(同所 脳科学総合研究センター 神経細胞膜機能研究チーム・研究員)、8月(国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科 応用免疫学研究室・助教)と3回の異動があった。異動に伴う準備や研究環境及び研究テーマの変化があり、円滑に研究を継続することが難しい状況であった。また異動により当初計上していなかった研究設備等の購入が必要となったこともあり、計画と異なる収支となった。

(使用計画)

今年度購入できなかった抗体や各種阻害剤、遺伝子発現実験のための細胞培養試薬、分子生物学試薬等の購入に充てる。

(課題番号: 16K08482)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

## 13. 研究発表 (平成 28 年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計 (1) 件 / うち査読付論文 計 (1) 件 / うち国際共著 計 (0) 件 / うちオープンアクセス 計 (0) 件

著者名		論文標題				
Nobuhiro Morishima and Keiko Nakanishi		Proplatelet formation from megakaryocytes is associated with endoplasmic reticulum stress				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Genes to Cells	有	21	2016	798-806	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1111/gtc.12384						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

〔学会発表〕 計 (0) 件 / うち招待講演 計 (0) 件 / うち国際学会 計 (0) 件

発表者名		発表標題	
学会等名	発表年月日	発表場所	

〔図書〕 計 (0) 件

著者名		出版社		
書名		発行年	総ページ数	

## 14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出願〕 計 (0) 件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

(課題番号: 16K08482)

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷すること。

(3/4)

〔取得〕 計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

## 15. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

## 16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究： -

## 17. 備考

--