

課題番号	LS102
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成22年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	筋収縮によって骨格筋から分泌される生理活性因子の探索と運動調節性筋内分泌の概念の確立
研究機関・部局・職名	首都大学東京・人間健康科学研究科ヘルスプロモーションサイエンス学域・教授
氏名	藤井 宣晴

1. 当該年度の研究目的

骨格筋細胞株 C2C12 を無血清下で筋管に分化させ、電気刺激で収縮させる実験系を完成させる。これを用いて、筋収縮によって骨格筋から分泌されるタンパク質群を網羅的に探索する。筋収縮後の培養液に含まれる蛋白を SDS-PAGE で展開してから、分子量を基準に 24 分割し、分画毎に質量分析器を用いてプロテオーム解析する。同定された分子の中から分泌蛋白と予測される遺伝子をコンピュータ解析で選り出す。解析プログラムは、蛋白の「シグナルペプチド」「疎水性領域」「低複雑性領域」「電荷」「等電点」「蛋白切断部位」等の情報から分泌蛋白の特徴をフィードフォワード型ニューラルネットワークで予測する (ProteinEng.Des.Sel., 17(4) 349-, 2004)。プログラム作製は DNA チップ研究所(所長;松原謙一)に依頼済みである。

2. 研究の実施状況

1. 生体外で筋細胞を血液成分無しで培養し電氣的に強制収縮させるシステムの確立  
 これまでに、細胞に電気刺激を加えるための電極デバイスの改良、電気パルスジェネレータの作製、収縮強度および時間の検討、未分化細胞の薬理的選択排除の条件決定、細胞障害の有無の確認、等を行った。その結果、当初 70%ほどの効率でしか収縮させられなかった C2C12 細胞を約 90%の効率で収縮させることに成功した。さらに電気刺激や収縮によって、細胞が障害を受けないマイルドな実験条件を見つける事ができた。

2. 筋収縮によって細胞培養液中に分泌されたタンパク質の同定  
 確立された培養骨格筋細胞の収縮システムを用いて、まずは分泌タンパク質を探索するためのスキームを作成した(以下の①から⑤)。①培養骨格筋細胞を、一秒間に一回のペースで 6 時間収縮させる。②培養液を回収し今週している可能性のある細胞片などの異物を除去する。③濃縮フィルタを用いて回収液を濃縮する。④電気泳動法で回収物をゲル上に二次元展開し、分子量を目安に分画する。⑤それぞれの分画を質量分析器にかけ含まれるタンパク質を同定する。このスキームを用いた検討を数度繰り返した結果、分泌タンパク質と予想される分子を数個同定できた。分泌タンパク質の探索は次年度も引き続き行う。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計 1 件	(掲載済み一査読有り) 計 0 件  (未掲載) 計 1 件 1. Toyoda T, An D, Witczak CA, Koh HJ, Hirshman MF, Fujii N, and Goodyear LJ. Myo1c regulates glucose uptake in mouse skeletal muscle. Journal of Biological Chemistry, in press
会議発表 計 1 件	専門家向け 計 1 件  1. Manabe Y. and Fujii N. 「Development of the cultured-muscle cells contraction system by electric stimulation」The Inaugural International Academy of Sportology Tokyo 平成 23 年 3 月
図書 計 0 件	
産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件	(取得済み) 計 0 件  (出願中) 計 0 件
Webページ (URL)	<a href="http://www.comp.tmu.ac.jp/muscle/">http://www.comp.tmu.ac.jp/muscle/</a>
国民との科 学・技術対話 の実施状況	なし
新聞・一般雑 誌等掲載 計 0 件	
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	118,000,000	0	45,100,000	72,900,000
間接経費	35,400,000		13,530,000	21,870,000
合計	153,400,000	0	58,630,000	94,770,000

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	45,100,000	0	45,100,000	1,128,750	43,971,250
間接経費		13,530,000	0	13,530,000	0	13,530,000
合計	0	58,630,000	0	58,630,000	1,128,750	57,501,250

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	1,128,750	光学活性物質、試薬の購入等
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	1,128,750	
間接経費計	0	
合計	1,128,750	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
				0		
				0		
				0		