

骨格筋線維型をタイピングせずに 識別できるマウス

SATテクノロジー・ショーケース2023

■ はじめに

骨格筋は体重の40-50%を占める最大の組織であり、運動するためには必須の組織である。骨格筋組織は、数千～数万本の筋線維が束ねられることで形成され、個々の筋線維のサイズは、マウスでは直径～100 μ m、長さ～1mmにもおよぶ。1本の筋線維は1つの細胞に相当し、通常の細胞に比べ、巨大な細胞である。骨格筋は、マラソンなどの持久力系の運動を得意とする遅筋型筋線維、短距離走などの瞬発系の運動を得意とする速筋型筋線維に大別される。骨格筋線維型により、運動特性および代謝等が異なるため、従来から筋線維型の特性を明らかにする研究が行われてきた。しかし、従来までの実験動物を用いた研究では、筋線維型をPCRあるいは抗体を用いてタイピングしたうえで、筋線維型の特性を改めて測定する必要があり、手間と時間がかかることが問題であった。また、骨格筋組織を固定、あるいはすり潰してしまうために、筋線維を生かした状態で筋線維型を識別することも困難であった。そこで、これらの問題を解決するツールとして、蛍光顕微鏡下において筋線維型を簡便に見分けることができるマウスを作出した。

■ 活動内容

1. GFP-Myh7マウスおよびKuO-Myh1マウスの作出

マウスが生きた状態でも筋線維型を簡便に識別できるようにするため、遅筋型ミオシン重鎖であるMyh7に緑色蛍光タンパク質(GFP)を融合したGFP-Myh7、および速筋型ミオシン重鎖の1つであるMyh1にオレンジ色蛍光タンパク質(KuO)を融合したKuO-Myh1を発現するマウスを作出した。GFP-Myh7/KuO-Myh1マウスの骨格筋組織では、Myh7を発現する遅筋型筋線維のみがGFP陽性であり、Myh1を発現する速筋型筋線維ではKuOが発現するため、蛍光顕微鏡下で視覚的に筋線維型を区別することができる。そのため、予め筋線維型を区別した上で筋線維型の特性を測定することができる。

(参考文献①②)

2. GFP-Myh7/KuO-Myh1マウスを使った解析例

骨格筋組織としての筋線維型は遅筋型と速筋型筋線維の割合で決まるため、従来までの組織レベルの解析では他の筋線維型の混在が問題となることが多かった。一方、GFP-Myh7/KuO-Myh1マウス骨格筋組織から筋線維を単離することで、蛍光顕微鏡下においてGFP陽性筋線維、

KuO陽性筋線維を区別して採取できる。そのため、筋線維レベルで筋線維型の特性を評価することができる。特定の筋線維型のみを集めて試料とすることで、より精度の高い解析結果が得られる。

●遅筋型と速筋型筋線維間におけるDNAメチル化の差
両筋線維型の筋線維を～1000本集め試料とすることで、筋線維型特異的なDNAのメチル化部位と遺伝子発現の関係を示した。

(参考文献①)

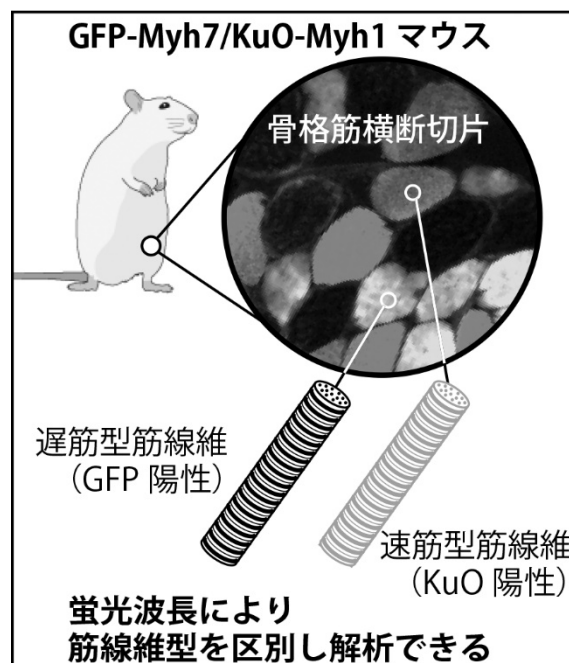
●内在性ミオシン分子の動態

GFP-Myh7/KuO-Myh1マウスでは蛍光タンパク質を内在性ミオシン分子に融合してあるため、単一筋線維レベルにおいて内在性のミオシン分子の動態を観察することができた。

(参考文献②)

■ 関連情報等 (参考文献)

- ① Oe M, et al. *Physiol. Genomics*. 2021, 53, 69-83.
- ② K. Ojima, et al. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2022, 323, C520-C535.



代表発表者 尾嶋 孝一(おじま こういち)

所属 農研機構 畜産研究部門
食肉用家畜研究領域

問合せ先 〒305-0901 つくば市池の台2

TEL: 029-838-8600

FAX: 029-838-8606

<https://www.naro.affrc.go.jp/inquiry/index.html>www@naro.affrc.go.jp

■キーワード: (1)骨格筋
(2)筋線維型
(3)ミオシン分子

■共同研究者: 室谷 進 (農研機構)
大江 美香 (農研機構)
西邑 隆徳 (北大農学部)