

## 電位依存性 $Ca^{2+}$ チャンネル 1A 蛋白質ノックダウンによる運動失調マウス

齋藤 浩充、津村 秀樹、鈴木 昇

三重大学生命科学研究支援センター動物実験施設

はじめに：電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルは、神経系における神経伝達物質の遊離、長期抑圧、発火パターン形成、興奮収縮連関など  $Ca^{2+}$  を介した情報伝達に関わる分子である。電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルには機能的多様性があり、膜電位が 0 mV 近くまで脱分極しないと開かない高電位活性型で、 $\alpha_1$ -アガトキシンに感受性を示す  $Ca^{2+}$  チャンネルは、P/Q 型として分類されている。P/Q 型電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルは、小脳プルキンエ細胞、顆粒細胞、大脳の海馬、に特に多く存在し、神経伝達物質の放出、小脳での長期抑圧に関わっていると考えられている。現在、P/Q 型電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルの分子的な実体は、チャンネルポアを形成する 1 サブユニット A であることが明らかにされている。そこで、P/Q 型電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルの領域特異的な機能解析のため 1A 遺伝子の条件的ノックアウトマウス作製を試みた。その過程で新たなタイプの P/Q 型電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル変異マウスを得たので紹介する。

方法：ES 細胞へのノックインにより、1A 遺伝子 1st エクソンの非翻訳領域中に存在する Eco 47 制限酵素部位、及び 1st イントロン中の Apa 1 制限酵素部位に 34 bp の loxP 配列を挿入したマウスを作製した。得られたヘテロマウスの掛け合わせによりホモマウスを作製した。

結果：得られたホモマウスは、ローリング歩行を伴う運動失調を示した。

また、生後 6 週における小脳は正常との差が観察されなかったが、生後 6 ヶ月における小脳において畏縮とプルキンエ細胞の減少が観察された。そこで、RT-PCR、ノーザンハイブリ、ウエスタンハイブリによる発現量の解析をおこなった。その結果、小脳、大脳での RNA 発現量は正常マウスと変わらないが、タンパク量が減少していた。これまでマウスにおいて、tottering、leaner、rocker、Rolling Nagoya など 1A 遺伝子変異を持つミュータントが報告されているが、いずれも個々の  $Ca^{2+}$  チャンネル活性の低下を原因とする異常である。今回新たに作製されたミュータントは、正常なチャンネルの発現量低下によるノックダウンタイプであり、P/Q 型  $Ca^{2+}$  チャンネル機能の解析に有用であると考えられる。