

## プロトカドヘリン-21 の機能解析

関西学院大学大学院理工学研究科  
生命科学専攻 鈴木研究室 赤瀬 高文

カドヘリンはカルシウムイオン依存性の細胞間接着を行い、多細胞体の構築に不可欠な分子である。カドヘリンはスーパーファミリーを形成しており、多種のカドヘリンが同定されている。中でもプロトカドヘリンは最も大きなサブファミリーを形成する分子であり、クラシックカドヘリンとは異なり、細胞外のカドヘリンリピートが6つ以上存在し、多様性に富んでいる。プロトカドヘリンは神経系に特異的に発現しているが、神経組織形成における個々のプロトカドヘリンの機能は十分に解明されていない。中でも、プロトカドヘリン-21 は遺伝子を破壊すると網膜の外節が崩壊し、光受容体細胞の細胞死を引き起こすことが示されている。また、網膜色素変性症の原因遺伝子の一つであることが報告されている。しかし、プロトカドヘリン-21 の詳しい生理機能や作用機構は解っていない。そこで本研究ではモデル生物であるゼブラフィッシュを用いて、発生段階におけるプロトカドヘリン-21 の発現時期、局在解析を行うことや、モルフォリノアンチセンスオリゴ顕微注入による、翻訳阻害が発生に与える影響を検討した。プロトカドヘリン-21 の発現時期の検討は、受精後6~48時間後の胚、成体網膜から mRNA を抽出、RT-PCR により行った。受精24時間後からプロトカドヘリン-21 の発現が確認されたが、受精29時間後では発現量が減少し、その後増加した。また網膜以外の組織から mRNA を抽出し RT-PCR を行ったところ、発現が確認できた。プロトカドヘリン-21 の局在を Whole mount *in situ* hybridization 法により検討したところ、受精24時間後では間脳と脊髄の付近に、受精48時間後では間脳と視蓋の付近に局在している可能性が示唆された。また、モルフォリノアンチセンスオリゴを顕微注入したところ、網膜の層構造が異常になった胚、体が伸長していない胚を得ることができた。したがって、プロトカドヘリン-21 は網膜の形成と、体の伸長に関与していることが示唆された。また、プロトカドヘリン-21 細胞内ドメインの解析は未だに進んでいない。そこで、プロトカドヘリン-21 の細胞内ドメインと相互作用するタンパク質の単離を試みた。プロトカドヘリン-21 の細胞内ドメインを強制発現させた、ヒト網膜芽細胞腫である Y79 細胞を用いて免疫沈降法により相互作用タンパク質の単離を行った。さらに単離したタンパク質を質量分析法により解析した結果、プロトカドヘリン-21 細胞内ドメイン相互作用タンパク質候補として、神経特異的アクチン結合タンパク質 Drebrin E2 の存在が示唆された。