

研究区分	教員特別研究推進（地域振興）
------	----------------

研 究 テーマ	膜電位依存性カルシウムチャネル薬剤誘導性発現細胞株の樹立				
研究組織	代 表 者	所属・職名	薬学部 生体情報薬理学・講師	氏名	児玉 昌美
	研究協力者	所属・職名	薬学部 生体情報薬理学・教授	氏名	黒川 洵子
		所属・職名	薬学部 生体情報薬理学・助教	氏名	清水 聡史
		所属・職名	薬学部 生体情報薬理学 ・客員教授	氏名	渡邊 泰秀
		所属・職名	国際医療福祉大学・教授	氏名	坂本 多穂
	発 表 者	所属・職名	薬学部 生体情報薬理学・講師	氏名	児玉 昌美

講演題目
膜電位依存性カルシウムチャネル薬剤誘導性発現細胞株の樹立
研究の目的、成果及び今後の展望
膜電位依存性カルシウムチャネル(LTCC)は、心筋細胞の興奮収縮連関において重要な役割を担っている。心筋細胞に発現する LTCC は、$\alpha 1$, $\beta 2$, $\alpha 2 \delta 1$ サブユニットから成る。なかでもイオン透過領域を構成する $\alpha 1$ サブユニットをコードする遺伝子の変異は、心電図の QT 間隔延長や先天性心奇形などを主症状とするチモシー症候群などに関連することが知られている。しかしながら、患者から見つかった多種多様な遺伝子変異が、どのようにして患者間の症状の違いを引き起こすかについて、分子生物学的背景を説明できるまでには至っていない。LTCC は薬剤の安全性試験においても重要な標的である。現在は市販の構成的発現株が用いられているが、LTCC の発現量が少なく評価系として感度が十分ではない。本研究では、将来的な安全性試験への応用を見据え、変異型 LTCC の機能解析を目的に LTCC 薬剤誘導性安定細胞株を樹立する。 昨年度までに、FRT 遺伝子組換えサイトを有する親細胞株の樹立、薬剤感受性レプレッサーの導入、さらに内向き整流性カリウムチャネル (Kir2.1) の構成的発現株の樹立を完了し、LTCC 発現に伴う細胞毒性を抑制可能な基盤細胞株を確立した。 本年度は、当該 Kir2.1 発現株を基盤として、LTCC 構成サブユニットのうち補助サブユニットである $\beta 2$ および $\alpha 2 \delta 1$ の構成的発現カセットの安定発現株を構築した。同一細胞株に対し、さらに FRT サイトに主サブユニットである $\alpha 1$ の薬剤誘導性発現カセットを導入し、LTCC 全構成サブユニットの導入を完了し、薬剤誘導性発現系の構築を達成した。 今後は、本発現系を用いた電流測定系の最適化および再現性の検証を進め、機能的な LTCC 電流の安定した検出系の確立に取り組む。本系を基盤として野生型および変異型 LTCC の機能比較解析へと展開する予定である。