

Detection of calcitonin mRNA in various tissues of the goldfish

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/30168

キンギョの様々な組織におけるカルシトニン mRNA の検出

田村 知

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学環日本海域環境研究センター, 臨海実験施設
Chika TAMURA: Detection of calcitonin mRNA in various tissues of the goldfish

キンギョは、飼育が容易で手術にも強く、生殖周期に伴う種々の生理現象が完全に解明されており、実験動物として有利な点を多くもっている。一方、カルシトニンは破骨細胞の活性を抑制し、血中カルシウム濃度を低下させるペプチドホルモンであり、32個のアミノ酸で構成されている。このホルモンは骨粗鬆症の治療薬として知られている。また、カルシトニンは骨吸収作用だけでなく、腸管への作用、肝臓への作用、腎臓への作用、さらに神経系における鎮痛作用など、それぞれの組織においてさまざまに機能することも報告されている。これまで魚類以上の脊椎動物において29種の動物から、アミノ酸配列が異なる35種類のカルシトニンが知られている。キンギョにおいては、カルシトニンの生産に働く内分泌腺である“鰓後腺”からRT-PCRによって増幅され、実際にホルモンとして機能するカルシトニンの他に、肝臓のDNAからgenomic PCRによって増幅されたカルシトニンの2種類が報告されている。これらをそれぞれカルシトニンⅠ、カルシトニンⅡと呼んでいる。但し、これまでカルシトニンⅡが実際に発現しているか否かは調べられたことはない。

本研究においては、まずカルシトニンの生産を受け持っている内分泌器官である鰓後腺において、カルシトニンⅡが産生されているか否かを調べた。また、その他に脳（前脳、中脳、後脳）、腎臓、肝臓、筋肉、鱗、脾臓、硬骨、生殖巣（卵巣あるいは精巣）の各組織においてカルシトニンⅠとⅡが発現しているか否かをアクチンの発現を内部標準にした半定量的PCR法により調べた。実験に先立ち、カルシトニンⅠとⅡを区別して増幅させることができるプライマーを設計した。それらは、それぞれのカルシトニンの5'末端と3'末端の塩基配列を基本とした20merあるいは21merの相補的ヌクレオチド配列である。cDNA作成後のPCR条件は、アクチンとカルシトニンⅠおよびⅡともにPCRサイクル数を変えたときの反応生成物量から最適サイクル数を求め、その時の生成物量で比較した。

その結果、実際にカルシトニンⅡは鰓後腺において発現していることが明らかになった。但し、その発現量はⅠと比較すると少ない傾向にあった。また、調べた全ての組織において程度の差はあるが、どちらのカルシトニンも発現していることがわかった。なかでも脳は調べた組織の中で常に両カルシトニンを発現させていた。したがって、本研究では脳を詳しく調べた。その結果、脳はその部位によってカルシトニンの発現量に違いがあるように見えた。また魚のカルシトニンに対する抗体を用いて、RT-PCRの手法だけではなく免疫組織学的手法も用いても、確かにカルシトニンが脳において発現していることが明らかになった。また、これまでのカルシトニンⅠ、Ⅱに相当する配列は、キンギョの他にイワシにおいても知られており、ⅠどうしよりもⅡどうしの相同性が高く、Ⅱの方が分子系統学的に古い可能性が示唆されている。このことを踏まえて本研究の結果を考察する。

（本研究は、金沢大学自然システム学類生物学科 田村 知君の卒業論文の一環として行われた）