

平成 17 年度 ExTEND2005 基盤的研究計画 (案)

課題 1 . エストロジェンによるメダカ精巣卵の誘起機構解析

代表研究者：勝 義直・井口泰泉

(自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター)

【ExTEND2005 との対応】

環境省は、生態系への内分泌かく乱作用による影響の評価手法として、魚類(メダカ)を用いた試験を実施してきている。魚類試験におけるエンドポイントのうちで、女性ホルモン様作用によるオスの生殖腺における精巣卵の出現は重要な指標である。精巣卵の出現という組織・臓器レベルの変化が、個体レベルではどのような影響を及ぼすのか(どの程度の精巣卵が繁殖に影響を与えるのか)については、平成 16 年度より研究が開始されたところである。個体レベルでの変化についての研究とあわせて、精巣卵の出現機構についての細胞・分子レベルでの研究が必要である。

なお、本研究は、国際協力関係事業の日英共同研究におけるテーマの一つである。

【具体的研究計画】

1) 研究の背景と目的

エストロジェンやエストロジェン活性を有する化学物質曝露によって遺伝的オスがメスに性転換したり、イギリスの河川に生息するローチのようにオス生殖腺(精巣)に卵細胞が出現する(精巣卵)現象が起こる。しかし、この詳細な誘起機構は不明である。本研究では、メダカとローチで起こるエストロジェンによる精巣卵の誘起機構の分子機構を解析することを目的として行う。

2) 研究概要

精巣と卵巣でそれぞれ特異的に発現する遺伝子の探索

精巣と卵巣でそれぞれ特異的に発現する遺伝子の比較による精巣卵発現に必要な遺伝子の探索

遺伝子発現の比較を行うために、ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いる。精巣、卵巢から RNA を抽出しローダミンで標識したオリゴ dT を用いて cDNA を合成する。出来た cDNA を鋳型としてローダミン標識オリゴ dT と 5' プライマーを使って PCR を行う。増幅された DNA 断片を電気泳動し、精巣と卵巢それぞれで特異的な DNA 断片を抽出し、塩基配列の解析を行なう。さらに RT-PCR 法により発現の確認を行い特異的な発現を示す遺伝子断片を確定する。また、サブトラクション法を利用して遺伝子発現の比較を行う。さらに、精巣、卵巢、および精巣卵から RNA を抽出し cDNA ライブラリーを作製する。

エストロゲンによる魚類精巢卵の誘起機構解析 ～ ローチとメダカの比較を中心に～

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター

勝 義直 井口 泰泉



Roach (*Rutilus rutilus*)



Medaka (*Oryzias latipes*)



コイ目 コイ科

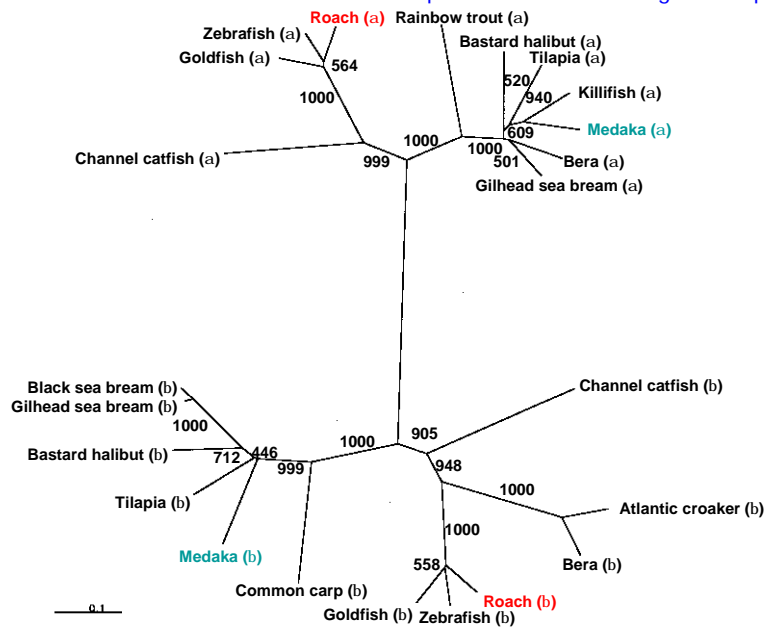


ダツ目 メダカ科

イギリスでは、1980年代の中頃、下水処理場の下流で雌雄同体のコイ科の魚「ローチ」が発見され、社会問題となりました。10年余りにわたる調査の結果、羊毛工場で使用されていた界面活性剤の分解物であるノニルフェノールが原因物質の一つであると指摘されました。また、避妊薬のピル由来の合成女性ホルモンや、ヒトの尿由来の女性ホルモンが污水施設を通じて流れ込んでいることが明らかにされています。

エストロゲンとエストロゲン様化学物質が 精巣卵の発生を誘導している

Phylogenetic tree of the full-ORF amino acid sequences of fish estrogen receptor a and b



Phylogenetic tree was constructed by the neighbour-joining (NJ) method. Numbers indicate bootstrap values from 1000 replicates. Radial branch lengths indicate genetic distances. (a) shows estrogen receptor a and (b) shows estrogen receptor b.