

課題 6 . ミジンコにおける内分泌かく乱作用発現のメカニズムに関する研究

代表研究者：渡邊 肇

(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】

生態系への内分泌かく乱作用による影響を評価する際には、魚類等の脊椎動物だけでなく、多様な生物種が含まれ、食物連鎖においても重要な位置を占める無脊椎動物への影響についても考慮する必要がある。環境省は、無脊椎動物の中でも、古くから毒性試験に用いられてきたミジンコをモデル動物として、内分泌かく乱作用検出のための試験法開発を実施し、脱皮回数の減少という個体レベルの変化や、オスの発生という個体群レベルでの性比の変化をエンドポイントとする改良試験法 (enhanced TG211) を OECD に提出した。このような、ミジンコにおける化学物質暴露による個体・個体群レベルでの変化について、その機序を細胞・分子レベルで解明する必要がある。

【具体的研究計画】

1) 研究の背景と目的

本研究では、古くから環境毒性評価に用いられてきたミジンコをモデル動物として、無脊椎動物における内分泌かく乱の解析とその作用メカニズムの解明を目的とする。

2) 研究概要

遺伝子情報の整理

ミジンコの mRNA から作製した cDNA ライブラリーの情報の整理を行う。第 1 段階としてコンピューターを用いてクラスタリング解析をし、重複している情報を選択し、整理する。第 2 段階として、この配列をそれぞれ別のパラメーターを用いて再解析し、さらに目視により重複配列の確認を行うことにより、異常なクローンに由来する情報を除去する。第 3 段階として、有害な情報を除いた配列情報をもとに、もう一度クラスタリング解析などを行うことにより、取得した配列情報を利用可能な遺伝子情報として整理する。

DNA マイクロアレイの作製

平成 16 年度に作製した DNA マイクロアレイのプロトタイプは、非常に高い再現性を示したことから、基本的にはこのプラットフォームを踏襲し、搭載する遺伝子数を増やすことにより、実際に利用可能な DNA マイクロアレイを作製する。およそ 3,000 ~ 6,000 遺伝子に相当するオリゴ DNA を設計・合成しガラスアレイに搭載する。この新規に作製した DNA マイクロアレイについ

て、その性能の評価を行い、信頼性について検証する。一部の遺伝子については、定量 PCR などを併用してその発現について確認することにより、固定化したオリゴ DNA の信頼性について検証する。問題のあるオリゴ DNA については、遺伝子の別の領域からオリゴ DNA を設計しなおすことにより、次のバージョンのアレイ作製のための準備を行う。

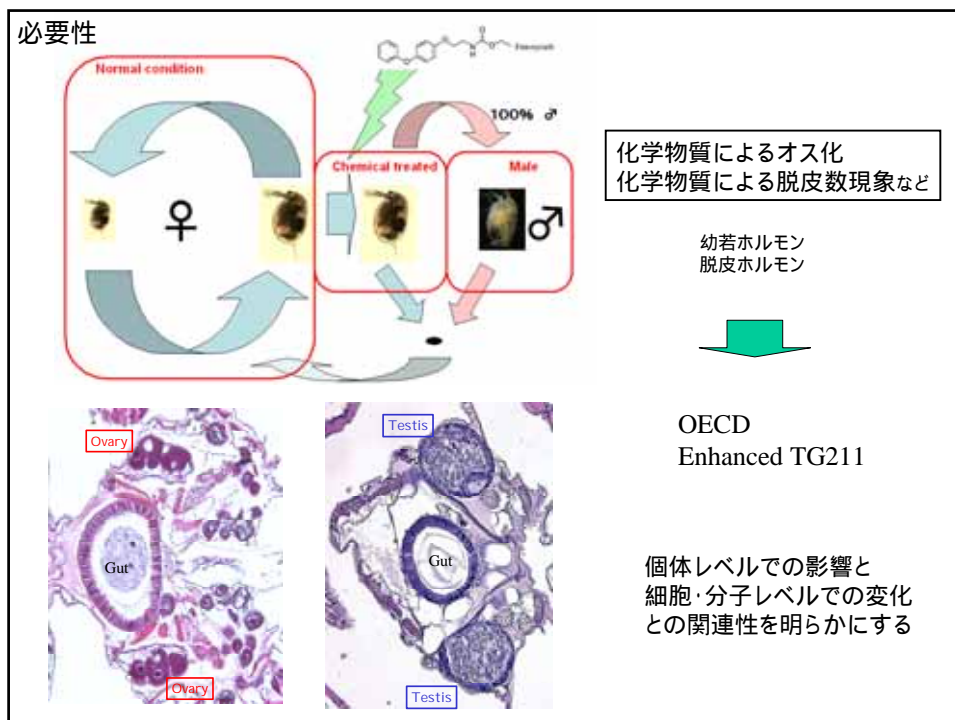
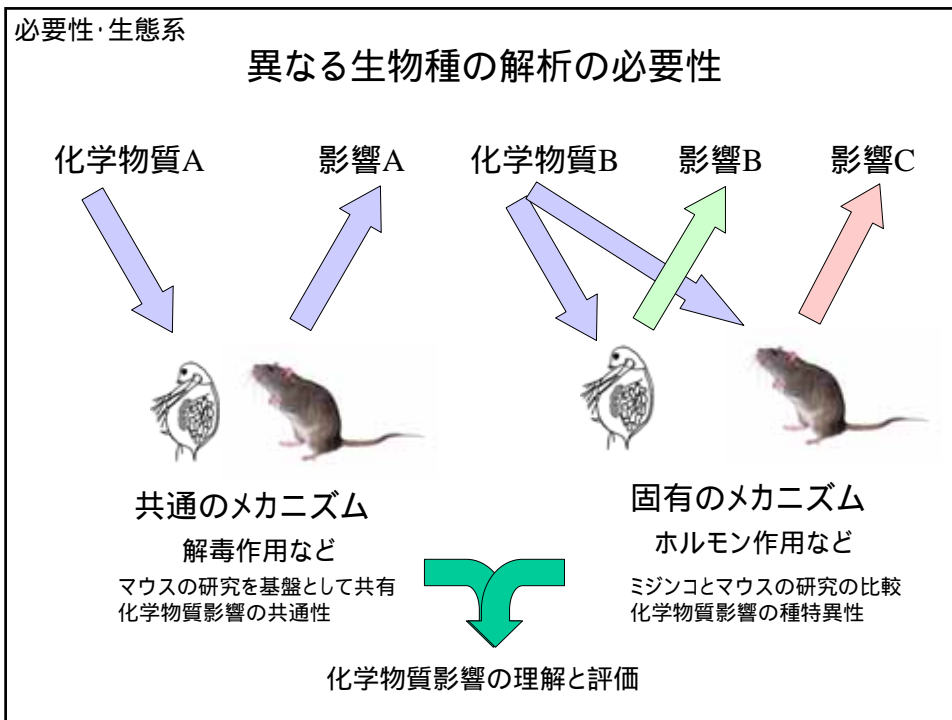
平成17年度基盤的研究企画評価検討会

ミジンコによる細胞・分子レベルの作用メカニズムの解析

自然科学研究機構
基礎生物学研究所
岡崎統合バイオサイエンスセンター

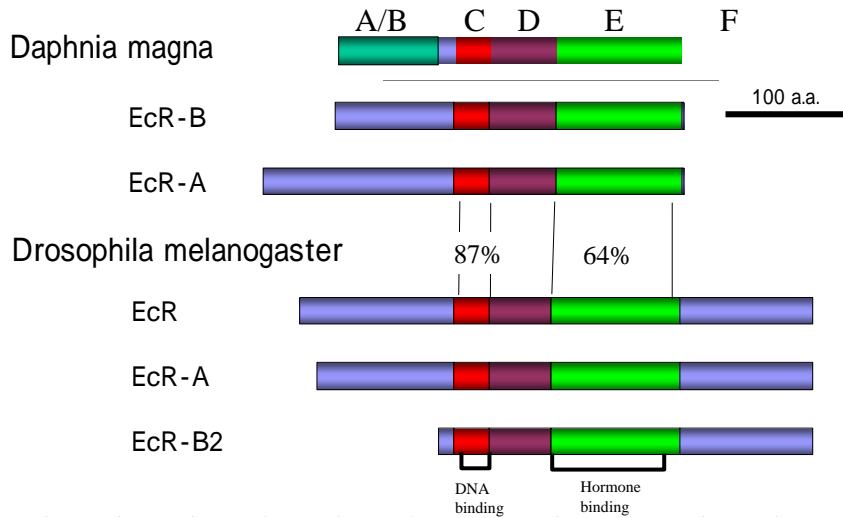
渡邊 肇



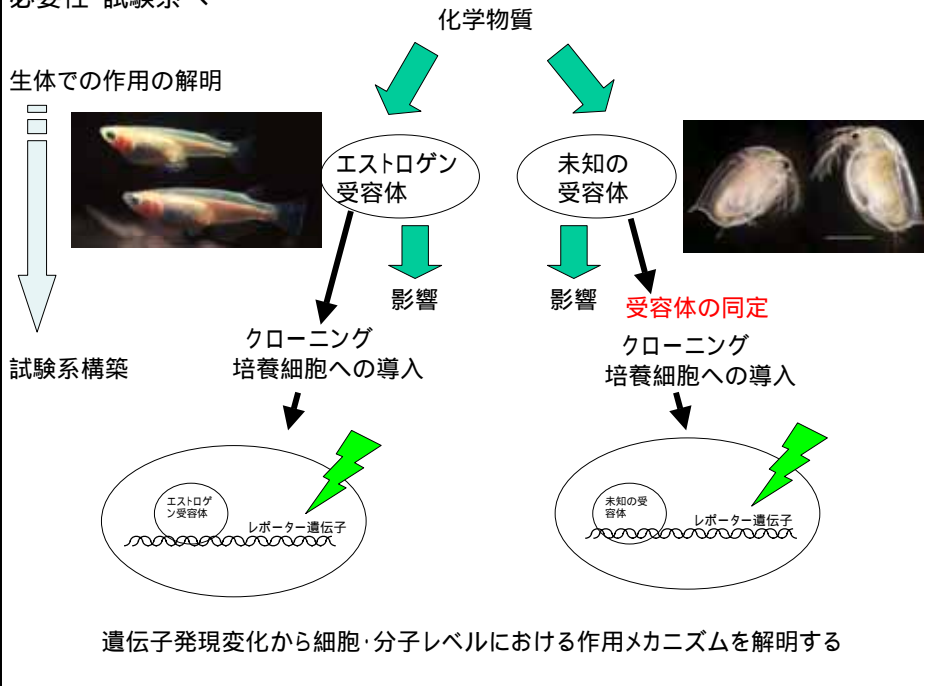


必要性・準備状況・受容体

エクジソン受容体の比較

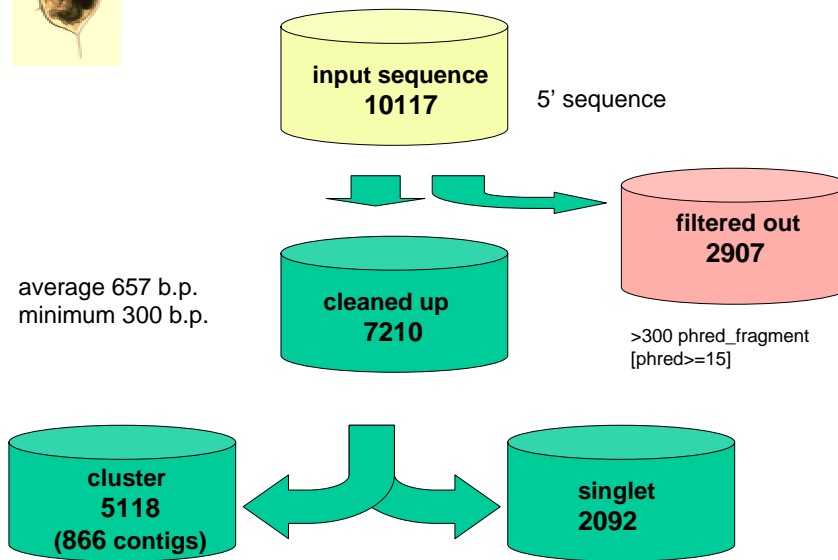


必要性・試験系へ





EST analysis



DaphniaBASE

Daphnia magna EST database

<http://daphnia.nibb.ac.jp>

Daphnia cDNA analysis

[BLAST search against *DaphniaBASE*](#)

[List of Clones](#)

[List of Contigs](#)

[List of Pairs](#)

[All results of homology searching](#)

BJ925659-BJ936637: DDBJ