

C. elegans DNA マイクロアレイを用いたテストステロン応答遺伝子の検索

園田 理紗¹⁾、松野 哲也¹⁾、浦和 寛^{2),5)}、上杉 裕子³⁾、
小原 雄治³⁾、井口 泰泉^{4),5)}、有菌 幸司^{2),5)}、富永 伸明¹⁾

¹⁾有明工業高等専門学校 ²⁾熊本県立大学環境共生学部 ³⁾国立遺伝学研究所生物遺伝資源情報研究室

⁴⁾岡崎国立共同研究機構統合バイオサイエンスセンター ⁵⁾科学技術振興事業団戦略的基礎推進事業 (CREST)

(目的) 線虫 *C.elegans* は、生殖腺、神経、消化器官等を持つ多細胞生物である。既に、全ゲノム塩基配列が決定されており、ヒトの予想タンパク質配列のうち約 70%が *C. elegans* に相同遺伝子を持っている。*C. elegans* の予想タンパク質のうち約 40%が線虫類以外の相同遺伝子を持ち、他は線虫類のみで保存されている。これらのことから、我々は生体外物質の生体に及ぼす影響を評価するモデル生物に *C. elegans* を用いることを提案している。これまでに各種外因性ステロイドホルモンが、*C. elegans* の成長・増殖レベルに特異的に影響を及ぼす事を示す事ができた。今回、我々は *C. elegans* において、外因性の物質に応答する遺伝子を解析することで、影響及びメカニズムが明らかにできると考え、cDNA マイクロアレイを用いて、男性ホルモンに応答する遺伝子の一斉検索を行った結果を報告する。

(方法) *C. elegans* を同調培養し、筋化後 2 日目の L2/3 ステージになる幼虫を用い、1、10、100、1000nM Testosterone (TS) を 5 時間暴露した。暴露群に対して未暴露群をコントロールとした。定法に従い mRNA を調製した後、逆転写反応を行った。この際、同量の mRNA を暴露群は Cy3、コントロール群は Cy5 でラベルしてプローブ DNA を合成した。この二つのプローブ DNA を一枚のチップ上でハイブリダイゼーションし、その後、スキャナーで各スポットの蛍光強度を測定した。蛍光強度の相対値から、発現量の変化を調べ、特異的に発現が促進あるいは抑制されている遺伝子を検索した。

(結果と考察) 約 9000 個の遺伝子が検出可能な cDNA マイクロアレイを用いて解析を行った結果、*C. elegans* において約数 100 個の遺伝子が TS 暴露によって発現量に変化する遺伝子群として確認できた。また、データベースを用いた機能解析の結果、既知の機能を持つものがあつたが、多くは未知のものであつた。以上の結果から、*C. elegans* DNA マイクロアレイを用いることで線虫において TS に応答する遺伝子が網羅的に検索でき、*C. elegans* は有力なツールになる事が示唆された。

Detection of testosterone target genes using *C. elegans* cDNA microarray

Risa Sonoda¹⁾, Tetsuya Matsuno¹⁾, Kazuhiro Ura^{2),5)}, Hiroko Uesugi³⁾, Yuji Kohara³⁾, Taisen Iguchi^{4),5)}, Koji Arizono^{2),5)}, Nobuaki Tominaga¹⁾

¹⁾Ariake National College of Technology, Japan, ²⁾Faculty of Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto, Japan, ³⁾National Institute of Genetics, Japan, ⁴⁾National Institute of Basic Biology, Japan, ⁵⁾CREST

Caenorhabditis elegans (*C. elegans*) is a multicellular organism that has gonad, neuron, digestive organ etc. Its genome has been sequencing completely. We propose that *C. elegans* is used for a model organism to examine the effects of environmental chemicals on the living body. Previously we demonstrated that steroid hormones affect the growth and fecundity rates of *C. elegans*. However, the mechanisms have not been undertaken. In this study, we tried to detect the testosterone (TS) response genes using *C. elegans* cDNA microarray and determined the possibility, of the *C. elegans* cDNA microarray system using for the androgen action screening. As a result of *C. elegans* cDNA microarray analyses, Some genes out of about 9000 genes are shown specific response to TS. From the Proteome database analyses, majority of these genes are categorized to "unknown" in function of cellular role. In conclusion, we could find some TS response genes and suggested that *C. elegans* is a potent tool for the androgen action screening.