

有機スズ化合物によるインポセックス発症機構の解明: (1)イボニシの性成熟過程で性特異的に発現する遺伝子の検索

○佐藤元子、二場恵美子、後藤靖夫、林悠子、吉見立也、高橋勇二、堀口敏宏*、三浦卓
東京薬科大学生命科学部環境分子生理生態学研究室、*国立環境研究所

【目的】

船底や漁網の防汚塗料として使用されてきたトリブチルスズなどの有機スズ化合物による海洋汚染が世界的に問題となっている。とりわけ顕著な影響が巻貝類の雌に雄性生殖器官が形成され発達するインポセックスの誘導である。この発症機構については現在まだ明らかにされていない。さらに、巻貝の生殖腺の発生、分化機構も明らかにされていない。そこで、本研究では、インポセックス発症機構を遺伝子レベルで解明するために、まず生殖線が発達する時期を中心に採集した巻貝を用いて、雄と雌に性特異的に発現する遺伝子の検索を行うことを目的とした。

【方法】

実験に用いた巻貝イボニシ(*Thais clavigera*)は2~8月に約40日おきに茨城県平磯海岸で採取し、雌雄それぞれから神経節、ペニス形成部位、消化腺及び卵巣、精巣を分離し湿重量を測定後RNAを調製した。このRNAを用いて逆転写反応を行った後ランダムプライマーを用いたPCR法を行いDNA断片をPAGEにより分離した。臓器特異的に、あるいは性特異的に発現しているDNA断片をプローブとしてノーザンブロットィングにより各臓器における遺伝子発現の性成熟に伴う変動を検討した。

【結果及び考察】

卵巣、精巣及びペニス形成部位の湿重量が生殖期に高くなった。また、性特異的に発現しているcDNAを各臓器から収集した。そのcDNAを用いて、生殖器が発達する過程における遺伝子発現の変化の検討を行い、生殖腺の発達期において臓器特異的に発現する遺伝子の発現の変動を明らかにした。さらに、TBT投与実験から得た試料を用いてTBTによるインポセックスの発症機構を遺伝子発現の変化として検討していく予定である。

Studies on the mechanism developing imposex in gastropods, *Thais clavigera*: (1) Screening of the genes expressed sex-specifically during sex maturatidon

○Motoko Sato, Emiko Futaba, Yasuko Goto, Yuko Hayashi, Tatsuya Yoshimi, Yuji Takahash, Toshihiro Horiguchi*, Takashi Miura
Environmental Molecular Physiology, School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science *The National Institute for Environmental Studies

In gastropods, imposex has been observed world wide. Imposex is defined as a superimposition of male sexual organs, such as penis and vas deferens, on female gastropod and has been clarified typically due to tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPT). But, the detailed mechanism of imposex development is still unclear. To clarify the mechanism developing imposex, we have screened the genes expressed sex-specifically. We collected gastropods (*Thais clavigera*) at Hiraiso from February to August and measured wet tissue weights of the ganglion, penis-forming area, digestive gland, ovary and testis. Using RNA samples of these tissues we ①performed RT-PCR reaction and isolated several DNA fragments expressed sex-specifically by PAGE. ②The expression of the sex-specific genes was confirmed by Northern blot analysis by using isolated DNA fragments as probes.

Exposure experiments to TBT were also performed to examine alterations of expression of sex-specific genes during imposex-development.