

## エクジステロイドが *Daphnia magna vitellogenin* 遺伝子の発現量に及ぼす影響

中村 周平、加藤 泰彦、倉本 英幸、志賀 靖弘、時下 進一、太田 敏博、山形 秀夫  
(東葉大・生命)

<目的> 内分泌攪乱化学物質の野生生物への影響が懸念されている中、その影響は主に脊椎動物中心に研究が行われている。しかし、これらの物質の環境へ与える影響を考える上でも、食物連鎖上重要な位置を占める動物プランクトンであるミジンコを用いた影響評価系を確立することは大切である。卵黄蛋白質前駆体である vitellogenin(VTG)は無脊椎動物でエクジステロイドのアゴニスト、アンタゴニストである内分泌攪乱化学物質のバイオマーカーとしての可能性が期待される。すでに我々はミジンコ *vtg* 遺伝子を単離し、ミジンコ VTG は SOD と融合しており、この融合遺伝子の 5' 上流領域には核内ホルモンエクジソンレセプター(EcR)が結合する配列と相同な配列が存在することを明らかにしている。このことはミジンコ VTG がエクジソンに応答して発現する可能性を示唆しており、今回はエクジステロイドをミジンコに暴露し、ミジンコ個体レベルでの影響と Real-time PCR による vitellogenin の発現を調べた。

<方法, 結果> 20-hydroxyecdysone を 1mg/L, 750  $\mu$ g/L, 500  $\mu$ g/L, 250  $\mu$ g/L, 100  $\mu$ g/L の濃度でミジンコに暴露した結果、500  $\mu$ g/L 以上を暴露したミジンコは卵巣が著しく肥大し、排卵が行われなかった。それ以下の濃度ではこのような影響はみられなかった。Real-time PCR による VTG mRNA 量の解析の結果、500  $\mu$ g/L 以上の 20-HE による VTG mRNA 量の上昇が認められた。また、ショウジョウバエでエクジソンにより誘導される核内レセプターについても部分配列を決定したのでその発現解析についても併せて報告する。

### Expression of the vitellogenin gene in water flea treated with 20-hydroxyecdysone

Shuhei Nakamura, Yasuhiko Kato, Hideyuki Kuramoto, Yasuhiro Shiga, Shin-ichi Tokishita, Toshihiro Ohta, Hideo Yamagata  
*Environmental Molecular Biology, School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science*

It is well known that a number of environmental endocrine disruptors show harmful effects on wildlife. Their effects have been mainly examined in vertebrates. However, it is also very important to develop a convenient assay system for assessing their effects on invertebrates, such as the water flea, *Daphnia magna*, because they play important roles in food webs of freshwater ecosystems. Vitellogenin would have been proposed as an biomarker for detecting endocrine disruptors such as agonist and antagonist of ecdysteroids. We have already isolated a cDNA encoding the Vitellogenin (VTG) that is fused with superoxide dismutase (*sod-vtg*) from *Daphnia*. Sequence analysis of *sod-vtg* genes showed that they form a cluster and their 5' flanking regions have putative binding sites of ecdysteroids. In this study, we investigated whether 20-HE affects the expression of vitellogenin gene. Real-time PCR was used to quantify the induction of VTG mRNA in *Daphnia* after in vivo exposure to 20-HE and showed that VTG mRNA was induced by the exposure. We also analyzed the amounts of mRNA for orphan receptor genes in *Daphnia*.