

巻貝のステロイドホルモン受容体ファミリー遺伝子の機能解析

○黒川 貴子、加藤 健一、梶原 昌朗、榎本 瞳、高橋 勇二、三浦 卓
(東薬大・生命科学・環境分子生理生態学)

【目的】

軟体動物から脊椎動物と同じ化学構造の性ステロイドホルモン(17 β -エストラジオール、テストステロン)が見い出されている。また、性腺切除とステロイドホルモン投与実験から性ステロイドホルモンが卵形成、精子形成、および、性付属腺の発達に関与していることが示されている。軟体動物への内分泌攪乱物質の影響評価を行うためにもステロイドホルモン受容体の特性の解明は不可欠であると考えられる。しかし、それら受容体の性質はほとんど明らかにされていない。本研究は、軟体動物への内分泌攪乱作用を解明する第一歩として、軟体動物から単離したステロイドホルモン受容体ファミリー遺伝子の機能を解析することを目的とした。

【方法】

巻貝のイボニシ(*Thais clavigera*)の神経節から、ステロイドホルモン受容体ファミリー遺伝子に属する tSHR13 を単離した。tSHR13 とヒトのエストロゲン受容体(ER)とのキメラ遺伝子を作製し、Reporter gene assay を行った。このとき、性ステロイドホルモンの生合成経路における様々な代謝物を添加したときのルシフェラーゼ活性への影響を調べた。また、Ligand binding assay を行い、17 β -エストラジオールとの親和性を検討した。

【結果、考察】

イボニシから単離した tSHR13 のアミノ酸配列は、脊椎動物の ER と高い相同性を示した。キメラ遺伝子を用いた Reporter gene assay より、tSHR13 がヒトの ER α と同様の標的配列に結合することが予想された。しかし、Ligand binding assay では、17 β -エストラジオールとの特異的な結合は認められなかった。さらに、tSHR13 は、性ステロイドホルモンの生合成経路における様々な代謝物に対しても、応答性を示さなかった。現在、One-hybrid 法により新規のステロイドホルモン受容体を探索中である。

Functional analysis of steroid hormone receptor superfamily gene of sea snail (*Thais Clavigera*)

○Takako Kurokawa, Ken-ichi Kato, Masaaki Kajiwara, Hitomi Enomoto, Yuji Takahashi, Takashi Miura

(Environmental Molecular Physiology, School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science)

In order to gain further insight on molecular mechanism of endocrine disruption of sea snail (*Thais Clavigera*) by exposure to tributyltin (TBT), we cloned a steroid hormone receptor superfamily gene (tSHR13) from the snail ganglia. To examine a function of tSHR13, we constructed two chimeric receptors (tSHR13-DBD and tSHR13-LBD) with human ER α , and assayed transcription activity using COS-1 cell. tSHR13-DBD chimeric receptor, containing the DNA binding domain of tSHR13 and the ligand binding domain of human ER α , activated transcription in response to 17 β -estradiol. But tSHR13-LBD chimeric receptor, containing the ligand binding domain of tSHR13 and the DNA binding domain of human ER α , did not regulate transcription in the presence of various compounds in the steroid hormone biosynthetic pathway. These results suggest that tSHR13 could bind to target DNA elements, which are similar to human estrogen-responsive element, and activate transcription of the target genes.