

## マウス精巣上体 cDNA マイクロアレイの開発

山崎康司<sup>1</sup>、小宮山政敏<sup>1</sup>、小野祐新<sup>1</sup>、足達哲也<sup>1</sup>、関 直彦<sup>2</sup>、森 千里<sup>1</sup>

<sup>1</sup>千葉大学大学院医学研究院・環境生命医学、<sup>2</sup>機能ゲノム学

【目的】精巣上体は精子が授精能や運動能を獲得する重要な器官であり、近年世界的に報告されている内分泌攪乱物質による正常精子数の減少や妊孕性の低下に深く関わっていると考えられる。内分泌攪乱物質による精巣上体の形態学的変化の研究はなされているが、遺伝子発現レベルでの影響報告は少ない。我々は精巣上体における内分泌攪乱物質の影響を遺伝子発現レベルで調べるために、マウス精巣上体の1751種の遺伝子の載った精巣上体アレイを作製した。本会では、作製した精巣上体アレイの品質の確認を行ったので報告する。【方法】マウス胎仔(17.5日齢)と成熟マウス精巣上体(8週齢)から mRNA を調製し、逆転写反応により作製した Cy3 または Cy5 標識ターゲット cDNA を精巣上体 cDNA マイクロアレイにハイブリダイズさせ、遺伝子発現強度の解析を行った。さらに精巣上体で発現強度の高かった遺伝子について各臓器間(脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、腸、精巣、精巣上体)で発現量を比較するために、Real-Time PCR 法による定量的解析を行った。【結果】成熟マウスにおいて胎仔より2倍以上の強く発現した遺伝子が246種検出され、これらの発現は Real-Time PCR 法によっても確認できた。各臓器間で比較したところ、すべての遺伝子が精巣上体に特異的または強く発現していた。【考察・結論】我々が作製した精巣上体 cDNA マイクロアレイによって検出された発現レベルは、Real-Time PCR 法を用いた定量的解析でも同様であることが確認された。さらに、多くの遺伝子が精巣上体で強く発現していたことから、内分泌攪乱物質曝露による精子成熟や精巣上体への影響を、遺伝子発現変化から評価するツールとして利用できることが期待される。

### Construction of Mouse Epididymis cDNA Microarray for Evaluation of Molecular Effects of Exposure to Endocrine Disruptors

Koji Yamazaki<sup>1</sup>, Masatoshi Komiyama<sup>1</sup>, Yushin Ono<sup>1</sup>, Tetsuya Adachi<sup>1</sup>, Naohiko Seki<sup>2</sup> and Chisato Mori<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departments of Bioenvironmental Medicine and <sup>2</sup>Functional Genomics, Graduate School of Medicine, Chiba University.

Epididymis is an important organ for maturation of spermatozoa, and is one of the organs that are very susceptible to endocrine disruptors (EDs). In order to evaluate the effect of EDs on the epididymis at molecular level, we have constructed mouse epididymis cDNA microarray (EParray) carrying 1751 genes picked up from a mouse epididymis cDNA library. For testing the quality of EParray, we have analyzed the difference in gene expression between ICR mouse fetus (17.5dpc) and adult epididymis (8week-old) using EParray. In epididymis, 246 genes were expressed at 2-fold intensity or more, as compared to fetus. Real-time PCR analysis revealed that 12 genes of them were expressed at much greater intensity in epididymis as compared to other organs (brain, heart, lung, liver, kidney, spleen, intestine and testis). These results suggest that EParray contains a number of epididymis specific genes. EParray with such a character might be useful for the evaluation of molecular effects of EDs on the epididymis.