

有機スズ化合物によるインポセックス発症機構の解明： (2)インポセックス発症過程で発現する遺伝子の検索

○二場恵美子、林悠子、後藤靖夫、佐藤元子、松浦聡子、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(TBT)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おり、とりわけ顕著な影響が巻貝類の雌に雄性生殖器官(ペニスと輸精管)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、インポセックスの発症機構を遺伝子の発現として明らかにするために、海産の巻貝に TBT を暴露し、インポセックス発症過程において発現が変化する遺伝子を検索することを目的とした。

【方法】

実験に用いた巻貝イボニシ(*Thais clavigera*)は5~7月に茨城県平磯海岸で採取した。TBT 暴露実験は、雌雄それぞれについて、TBT の EtOH 溶液を筋肉注射する TBT 暴露群と、EtOH のみを注射する対照群に分け、注射後 1、2、4 週間人工海水中で飼育した。また雌を、TBT を 1、0.1、0.01 $\mu\text{g/gBW}$ 及び EtOH のみを投与する 4 群に分けて筋肉注射後 4 週間飼育し、インポセックス発症率と死亡率を測定した。TBT を暴露した雌雄それぞれの個体から神経節、ペニス形成部位、消化腺および卵巣、精巣を分離し、RNA を調製した。これらの 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 法で DNA を増幅させ、Differential Display 法により TBT 暴露により発現が変動する遺伝子断片を分離した。この cDNA をプローブとしてノーザンブロットィングを行い、変動を定量化した。

【結果】

TBT 筋肉注射後経時的にインポセックス発症率が2週目まで増加した。また 0.01~1 $\mu\text{g/gBW}$ まで TBT 濃度に依存して発症率は増加した。臓器から調製した RNA を用いて RT-PCR 反応を行い、Differential Display 法により TBT 暴露により発現量に変化する遺伝子の cDNA を得た。

Studies on the mechanism developing imposex in gastropods, *Thais clavigera*: (2) Screening of the genes expressed during imposex development

○Emiko Futaba, Yuko Hayashi, Motoko Sato, Yasuo Goto, Satoko Matsuura, Tatsuya Yoshimi, Yuji Takahashi, Toshihiro Horiguchi*, Takashi Miura

Environmental Molecular Physiology, School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science *The National Institute for Environmental Studies

Imposex has been observed worldwide. The mechanism of imposex development is still unclear, although imposex is known due to contamination of organotin compounds, such as tributyltin (TBT) and triphenyltin. To reveal the mechanism of imposex development, we performed exposure experiments of *Thais clavigera* to TBT and confirmed imposex development of female rock shells in a dose-dependent and time-dependent manners. Using RNA samples from the ganglion, digestive gland, penis-forming area in addition to the ovary and testis we performed RT-PCR reaction followed by differential display and obtained several DNA fragments increased by TBT exposures.