

助成年度：平成5年度

[所属] 京都大学 農学部

[役職] 助手

[氏名] 豊原 治彦 (他計4名)

[課題]

環境モニタリングのための遺伝子組み換えメダカの開発

[内容]

水質汚染の生物に対する影響を連続的にモニターし、汚染の状況を容易に知ることができるトランスジェニックメダカの作出を目的として、ストレスセンサー遺伝子とメダカを生かしたままセンサーの応答を確認できるレポーター遺伝子の開発を行った。

1) レポーター遺伝子の開発：昨年度、ニジマスのメタロチオネイン遺伝子のプロモーター領域をセンサー遺伝子として用いる試みを行ったが、メダカにとって異種の生物のプロモーターであったためか、その遺伝子を固定化したメダカの系統では、金属に対して正確に応答しなかった。そこで、今年度は、メダカ本来のメタロチオネイン遺伝子のプロモーター領域をクローニングし、センサー遺伝子としての有効性を検討する予定である。現在、RTPCRにより得られたメダカメタロチオネイン cDNA 断片を得、これをプローブとして遺伝子ライブラリーからスクリーニング中である。

新たに、メダカ熱ショックタンパク質のプロモーター領域をセンサー遺伝子として用いるため、クローニングを行い、現在、遺伝子ライブラリーより6つのポジティブクローンを得、その塩基配列の決定を行っている。

2) レポーター遺伝子の開発：シロザケメラニン凝集ホルモン遺伝子(MCH)のレポーター遺伝子としての利用の可能性について検討した。この遺伝子が期待どおりにメダカ個体内で機能すれば、誰にでも容易に認知できる体色の白化をもたらす。強力なプロモーター活性を有すると考えられるサイトメガロウイルスのプロモーターを用いプラスミドベクターpMCH-MCHを構築し、これをマイクロインジェクション法によりメダカに導入した。PCRの結果、マイクロインジェクションした卵の13%に相当する13尾に導入が確認された。その内、2尾について顕著な体色の白化が観察された。また、その内の1尾により得られた子孫において、個体の全ての組織において導入遺伝子が発現し、体色が白化した。このように、MCHはメダカ個体において体色の白化という機能が有し、かつ、子孫に伝達され安定した系列として固定化されることが明らかとなり、レポーター遺伝子としての利用の可能性が示された。