## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		マイクロコズムのゲノミクス解析による化学物質の生態影響評価法の開発							
研究テーマ (欧文) AZ		Ecotoxicological evaluation of chemicals based on the transcriptomics analysis of microcosm.							
研究氏 代表名者	ከ <b>ሃ</b> ከታ cc	姓)ワタナベ	名)ハジメ	研究期間 в	2010 ~ 2012 年				
	漢字 CB	渡邉	肇	報告年度 YR	2012 年				
	<b>□-マ</b> 字 cz	WATANABE	HAJIME	研究機関名	大阪大学				
研究代表者 cp 所属機関・職名		大阪大学・教授							

概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)

本研究では、自然生態系を模擬した複数の生物種が共存する系(マイクロコズム)における化学物質影響評価法の確立を目指した。実際の生態系は単一種では構成されておらず、生物種間の相互作用により複数の生物種が共存していることから、環境中の化学物質影響においても複数の生物種が共存している点を見据えた評価法の確立が重要となる。そこで本研究では今まで個別に解析されてきた藻類とミジンコをそれぞれ被食者と捕食者としたマイクロコズムに着目しマイクロコズムにおける個体群動態から化学物質影響を評価することとした。一方、従来の評価方法は個体群動態の評価が中心であり、得られる情報量には限りがあったことから、ゲノミクス技術を導入し、化学物質影響評価をはじめとした様々な表現系の解析にゲノミクスからアプローチすることとした。

オオミジンコ(Daphnia magna)とクロレラ(Chlorella vulgaris)の 2 種の生物を中心とするマイクロコズムを作製し、 長期間にわたり安定した系を確立した。この確立した系においては、さらに細菌が存在していることを確認し、細菌から得られたリボソーマル RNA の配列から優位に limnohabitans が存在することが明らかにした。この細菌を除くとミジンコの増殖が抑えられることから、マイクロコズムにおいては、オオミジンコ、クロレラに加えて limnohabitans も重要な役割をしていることが示唆された(投稿準備中)。

またミジンコに対して世界に先駆けてゲノミクスを導入してきた我々は、化学物質に暴露されたときの致死量や産仔数減少などとゲノミクス情報を関連づけることに成功した。さらに今後遺伝子応答をより簡便に検出するために、ミジンコにおいて緑色蛍光タンパク質をマーカーとして発現するトランスジェニックミジンコの構築も試みた。その結果、外来遺伝子を生殖系列に遺伝子を導入することに成功した。今後引き続きこの確立した系を用いてゲノミクス解析を進めていく予定である。

	キーワード FA	マイクロコズム	ゲノミクス	ミジンコ	化学物質影響
--	----------	---------	-------	------	--------

## (以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA			研究課題番号 🗚					
研究機関番号 AC			シート番号					

発表文献 (この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。)										
雑誌	論文標題GB	Genomic Integration and Germline Transmission of Plasmid Injected into Crustacean Daphnia magna Eggs								
	著者名 GA	Y Kato, T Matsuura, H	雑誌名 GC	PL0S	ONE					
	ページ GF	e45318	発行年 GE	2	0	1	0	巻号 GD	7	
雑誌	論文標題GB									
	著者名 GA		雑誌名 GC							
	ページ GF	~	発行年 GE					巻号 GD		
雑	論文標題GB									
誌	著者名 GA		雑誌名 gc							
	ページ GF	~	発行年 GE					巻号 GD		
図	著者名 HA									
書	書名 HC									
	出版者 нв		発行年 HD					総ページ HE		
図書	著者名 HA									
	書名 HC		,							
	出版者 нв		発行年 HD					総ページ HE		

## 欧文概要 EZ

The water flea, Daphnia, has been the subject of study in ecology, evolution, and environmental sciences for decades. Over the last few years, expressed sequence tags and a genome sequence have been determined. In addition, functional approaches of overexpression and gene silencing based on microinjection of RNAs into eggs have been established. However, the transient nature of these approaches prevents us from analyzing gene functions in later stages of development. To overcome this limitation, transgenesis would become a key tool. Here we report establishment of a transgenic line using microinjection of plasmid into Daphnia magna eggs. The green fluorescent protein (GFP) gene fused with the D. magna histone H2B gene under the control of a promoter/enhancer region of the elongation factor  $1\alpha-1$  (EF1 $\alpha-1$ ) gene, EF1 $\alpha-1$ ::H2B-GFP, was used as a reporter providing high resolution visualization of active chromatin. Transgenic lines were obtained from 0.67% of the total fertile adults that survived the injections. One of the transgenic animals, which exhibited fluorescence in the nuclei of cells during embryogenesis and oogenesis, had two copies of EF1 $\alpha-1$ ::H2B-GFP in a head-to-tail array. This is the first report of a transgenesis technique in Daphnia and, together with emerging genome sequences, will be useful for advancing knowledge of the molecular biology of Daphnia.