

## カクレクマノミ仔魚の初期発生率および遺伝子発現に及ぼす銅添加の影響

中村健太<sup>1</sup>、糸井史朗<sup>1</sup>、鷲尾明佳<sup>1</sup>、古田岳志<sup>2</sup>、岩田仲弘<sup>2</sup>、菊池弘太郎<sup>2</sup>、杉田治男<sup>1</sup>(<sup>1</sup>日大生物資源、<sup>2</sup>電中研)

【目的】カクレクマノミ孵化仔魚の飼育水中に 60～180 µg/L の銅を添加することで、生残率が約 2 倍に向上することが確認されている。本研究では、銅添加時の遺伝子発現変動を調べて生残率向上に關与する機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】銅添加による遺伝子発現を調べるため、まず、標的遺伝子として HSP70、内部標準遺伝子として EF1 $\alpha$  を選択し、cDNA クローニングを行った。続いて、銅添加区と無添加区を設定し、経時的に試料採取を行った。採取時期は銅添加後、0、1、2、4、12、24、48、72 および 96 時間とし、RNA 抽出後、cDNA を合成した。合成した cDNA を鋳型に HSP70 および EF1 $\alpha$  を対象とするリアルタイム PCR を行った。

【結果】カクレクマノミ仔魚の EF1 $\alpha$  遺伝子の部分塩基配列約 1 kbp、HSP70 遺伝子の部分塩基配列 2 kbp を決定した。銅添加区において、添加直後(0 時間後)の試料で最も高い HSP70 遺伝子の発現が観察され、その発現量は他の時間と比べて約 1.4 倍であった。銅添加区の 1～96 時間後および無添加区では、HSP70 遺伝子の発現量に大きな差は認められなかった。

【考察】銅添加直後(0 時間後)に最も高い発現量を示し、添加後 1～96 時間後には対象区と同レベルであったことから、HSP70 遺伝子は、銅が添加されてから 0～1 時間後に発現量が増加し、本種の初期生残率向上に影響を与えている遺伝子の一つである可能性が示唆された。