

Title	マウス精細胞の分化誘導に伴なう特異的蛋白質合成の2次元電気泳動法による解析
Author(s)	酒巻, 和弘
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35294
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【16】

氏名・(本籍)	酒 巻 和 弘
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7655 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	医学研究科病理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	マウス精細胞の分化誘導に伴う特異的蛋白質合成の2次元電気泳動法による解析
論文審査委員	(主査) 教授 山之内孝尚 (副査) 教授 北村 幸彦 教授 松本 圭史

論文内容の要旨

[目的]

マウス成熟精巣における精細胞は、精原細胞の分裂・増殖後、精母細胞の減数分裂を経て精子細胞に分化し、形態形成過程を終えて精子へと完成する一連の細胞分裂過程を絶えず繰り返している。

特にA型精原細胞から中間型・B型精原細胞への分化段階は、精子形成過程を進める上で重要な位置にある。ところが精原細胞の分化機構に関しては、ほとんど解明されていない。これは、成熟精巣中には精原細胞を始めとして種々の分化段階の精細胞、さらにSertoli細胞やLeydig細胞等の体細胞が混在しており、この複雑な系より精原細胞のみを純粋に分離することが難しいためである。一方成熟マウスに人工的停留精巣手術を施すと、分化した精細胞は消失し、分化能力を保持した未分化なA型精原細胞のみが残る。この人工的停留精巣は、精原細胞の分化を研究するのに恰好の材料となる。

本研究の目的は、人工的停留精巣を陰のう内に戻す(Orchidopexy)か又は器官培養することにより、in vivo又はin vitro条件下でA型精原細胞を分化させて得られた中間型・B型精原細胞に特異的に現われる蛋白質を2次元電気泳動法で検索し、精原細胞の分化機構を分子レベルで解析することである。

[方法]

- 1) 人工的停留精巣：生後2カ月の成熟マウスの精巣を腹腔内に移動固定し、2カ月過ぎたものを実験に用いた。
- 2) Orchidopexy：人工的停留精巣を再び陰のう内に戻し、10日間維持した。
- 3) 器官培養：人工的停留精巣を取り出し細切した後、組織をグリドメッシュ上のミリポアフィルターにのせ、血清存在下又は非存在下の培地中で32.5°Cで9日間培養した。

- 4) 精原細胞の分離：精細胞と体細胞との細胞表面膜の特異的な差を認識するレクチンを利用し、人工的停留精巣・Orchidopexyした精巣及び器官培養した各組織より精原細胞を体細胞から分離した。
- 5) 蛋白質合成の比較検討：分離した各精原細胞の蛋白質合成を比較検討するため、細胞を [³⁵S] Methylionine でラベルした後、2次元電気泳動を行なった。

[成 績]

- 1) Orchidopexyにより精子形成に向けて分化が再開し、10日後ではA型精原細胞から分化した中間型・B型精原細胞が認められた。
- 2) Orchidopexy10日間の精巣より中間型・B型精原細胞を、人工的停留精巣よりA型精原細胞をそれぞれ分離し、蛋白質合成パターンを2次元電気泳動法で比較すると、中間型・B型精原細胞に特異的な蛋白質の存在を認めた。
- 3) 器官培養系においても、in vivoと同様に未分化なA型精原細胞からの分化誘導が可能であり、血清を含む培地で9日間培養することによりA型精原細胞は中間型・B型精原細胞に分化した。血清非存在下では、A型精原細胞の分化は認められなかった。
- 4) 血清存在下と非存在下で培養後に分離した精原細胞の蛋白質合成パターンを比較すると、in vivoと同様に血清存在下で分化した中間型・B型精原細胞に特異的に合成される蛋白質の存在が認められた。
- 5) 上記のin vivo及びin vitroの条件下で中間型・B型精原細胞に特異的に現われる蛋白質は、分子量及び等電点が同じ蛋白質であることがわかった。

[総 括]

従来の方法では精原細胞の分化機構を研究することが困難であったが、本研究で用いた手法により精原細胞そのものの特性を調べることが可能となり、今回未分化なA型精原細胞から中間型・B型精原細胞への分化に伴って特異的に出現する蛋白質の存在を明らかにした。本研究で同定した蛋白質は、今後精原細胞の分化機構を分子レベルで解明する上で重要な手掛かりを与えるものと思われる。

論文の審査結果の要旨

本研究では、人工的停留精巣術とPNA分離法を組み合わせることにより、精原細胞の分離に成功し、精原細胞の生化学的特性を調べることが可能にした。その結果、精原細胞の分化に伴って特異的に出現する蛋白質の存在を明らかにした。本研究によって得られ知見は、精子形成の分子機構を解明する上で大きく寄与するものと考えられる。したがって、本論文は学位論文として価値あるものと認める。