

Title	Characterization of male meiotic germ cell specific antigen (Meg 1) by monoclonal antibody TRA 369 in mice.
Author(s)	渡邊, 大介
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37975
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

氏名	わた なべ だい すけ 渡 邊 大 介
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 0 1 7 3 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 病理系専攻
学位論文名	Characterization of male meiotic germ cell specific antigen (Meg 1) by monoclonal antibody TRA 369 in mice. (マウス精細胞分化特異抗原の解析)
論文審査委員	(主査) 教授 西宗 義武 (副査) 教授 北村 幸彦 教授 奥山 明彦

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

精子形成は、精原細胞の増殖及び分化、減数分裂、精子細胞の大幅な形態変化、というそれぞれ非常に複雑な一連の過程を経て完成される。このように複雑な精子形成過程を理解するには、まずそこで特異的に発現する分子の機能を調べる事が有用である。この様な目的でマウス精巣を特異的に認識する抗体が作成され、その抗原解析がなされてきた。しかしこれらのほとんどは精子抗原に関するものであり、未分化な精細胞あるいは精細胞分化過程内で発現の調節がなされる抗原に対する知見は殆ど得られていない。そこでこれら精細胞に特異的に反応するモノクローナル抗体の作製を試み、得られた抗体によって認識される新たなマウス精細胞分化抗原の解析を行った。

(方 法)

モノクローナル抗体の作製において、従来行われてきたマウス精巣抗原によるマウスへの免疫方法をとらず、抗原認識を高める目的でマウス精巣抗原をラットに免疫し、ラット脾細胞とマウスミエローマ細胞の異種間ハイブリドーマを作製した。スクリーニングは未固定またはパラホルムアルデヒド等の固定を施したマウス成熟精巣の凍結切片を用いた間接蛍光抗体法により行い、特定の精細胞を認識する抗体を選択した。免疫組織染色は感度を高める目的で二次抗体以降アビジン、ビオチンのシステムを用いた。またマウス精巣及び各組織より得たタンパク質試料を一次元あるいは二次元電気泳動により分離後、イムノブロットを行い、得られた抗体の認識する抗原分子の解析を行った。

(結果 考察)

特定の分化段階のマウス精細胞と反応するモノクローナル抗体 TRA 369 が得られ、それによって認

識されるマウス精細胞分化抗原 (Meg 1) を同定した。マウス成熟精巣を用いた免疫組織染色の結果から、この抗原はパキテン期初期の精母細胞から、精子細胞までの精細胞においてのみ発現され、他の分化段階の精細胞やライディヒ細胞、セルトリ細胞等の精巣内の体細胞及びその他の臓器には存在せず、非常に特異的な発現様式を示す精細胞抗原である事が確認された。またイムノブロットの結果から、分子量93 kDa 等電点5.3のタンパク質であることが判明した。この抗原は ConA 等のレクチンカラムに結合せず、糖鎖切断酵素による影響も受けないことから糖鎖修飾の可能性は低く、また精細胞内の細胞質ならびにミクロゾーム分画において検出されたことから、小胞体、ゴルジ体等の細胞質内のオルガネラに存在する可能性が考えられる。

この様に精細胞分化過程において正確にその発現調節がなされていることから、この抗原タンパク質はマウス精子形成において何らかの重要な機能をもつものと考えられる。またここで単離された TRA 369抗体は従来困難であったマウス精細胞の分化段階の同定に簡便且つ有用な手段となり得る。今回得られた TRA 369抗体のほか異なった精細胞の分化段階を認識するモノクローナル抗体も数種得られており、本実験における免疫ならびにスクリーニング法が微量且つ特異な局在を示す抗原の検出に有効であることが示された。今後、これらのモノクローナル抗体を用いた新たな精巣分化抗原の単離とそれら抗原の機能に関する知見の蓄積により、複雑な精子形成機構の理解が進むものと考えられる。

(総 括)

マウス精巣抗原を免役したラット脾細胞とマウスミエローマ細胞の間でハイブリドーマ細胞を作製し、マウス精巣切片を用いたスクリーニングによって精細胞抗原 (Meg 1) を認識するモノクローナル抗体 TRA 369を得た。Meg 1 抗原はパキテン期精母細胞から精子細胞までの精細胞の細胞質においてのみ、その存在が確認される分子量93 kDa、等電点5.3の新たな精細胞分化特異抗原である。

論文審査の結果の要旨

マウス精細胞の分化特異抗原を認識するモノクローナル抗体を作製する試みは以前より成されているが、従来の方法では得られる抗体に限られ、新たな精細胞抗原に対する抗体を得ることは困難であった。本実験では、ラット・マウスハイブリドーマによるモノクローナル抗体の作製、並びに免疫組織染色によるスクリーニング等の手法を用いる事により、特定の分化段階の精細胞を認識する数種の抗体の作製に成功し、それらの抗体を用いた解析から、新たなマウス精細胞分化特異抗原 Meg 1 を単離同定した。

現在、精細胞分化特異抗原に関する知見は少なく、本研究によって明らかにされた抗原は精細胞分化過程での発現の特異性から、その機能に興味もたれ、今後、精細胞並びにその分化機構を調べる上で貴重な研究対象になるものと考えられる。これらの研究成果は意義深く、学位に値するものであると判定する。