The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Amida predominantly expressed and developmentally regulated in rat testis |
| Author(s) | 甘, 業華 |
| Citation | 大阪大学, 2002, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/43723 |
| 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。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【8】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 甘（かん）　業（ぎょう）　華（か） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（医　学） |
| 学　位　記　番　号 | 第　16805　号 |
| 学位授与年月日 | 平成14年3月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科情報伝達医学専攻 |
| 学　位　論　文　名 | Amida predominantly expressed and developmentally regulated in rat testis<br>（精巣における Amida の機能解析） |
| 論文審査委員 | （主査）<br>教　授　三木　直正<br>（副査）<br>教　授　西宗　義武　　教　授　青笹　克之 |

## 論文内容の要旨

【目的】

最初期遺伝子の Arc と相互作用する新規蛋白質 Amida を、yeast two hybrid system により単離している。Amida は既知の蛋白質と相同性を持たず、in vitro 及び in vivo において Arc 蛋白質と結合することを免疫沈降法を用いて確認している。さらに、Amida は2つの核移行シグナルを持ち、培養細胞への形質導入によって核に局在すること、また Amida を形質導入した細胞の一部に、アポトーシスが生じることも明らかにしている。しかし、Amida の生理的な機能は不明であり、本研究では、Amida の発現が精巣において一番高いことを見出したので、精巣における Amida の生理的な機能の検討を行った。

【方法ならびに成績】

Sprague-Dawley 系成体雄ラット各組織の全 RNA を用いて Northern blot 法を行った。その結果、Amida は精巣で一番高い発現を認めた。また、各種年齢ラット精巣の Amida mRNA の発現を検討した。Amida mRNA の発現は生後18日まではほとんど認められないが、生後26日から30日にかけて急激に上昇し、その後成体まで高発現が続いた。さらに、ラット精巣の新鮮凍結切片を作成し、in situ hybridization 法で Amida mRNA の発現を検討したところ、精母細胞に局在することを明らかにした。また、Amida が精子の形成やその成熟に関与しているかどうかを検討するために、腹腔内精巣を作製し、その発現変化を検討した。その結果、手術後8日目以降に Amida mRNA の発現が急減することを見出した。合成ペプチド用いて、抗 Amida ウサギポリクロナル抗体を作製し、ラット精巣の新鮮凍結切片の免疫組織化学を行った。Amida 蛋白質は精細管内の精原細胞、精母細胞、半数体精子細胞の核に局在すること、さらに前期精子細胞の核に豊富に存在することが明らかとなった。また、各年齢ラット精巣から蛋白質を抽出し、Western blot 法により Amida 蛋白質の発現を検討したところ、Amida 蛋白質の発現は生後32日から認められ、35日にほぼ成体のレベルに達することが分かった。

【総括】

Amida は精巣で高い発現が認められ、精子形成の開始に伴い、発現が増加した。また、Amida は精原細胞、精母細胞、半数体精子細胞、前期精子細胞の核に局在した。腹腔内精巣を作製すると、Amida の発現は精子形成の停止

に伴い激減した。以上のことより、Amidaが精子形成に関与していることが強く示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

Amidaは、最初期遺伝子のArcと相互作用する新規遺伝子として、yeast two hybrid systemにより単離されたものである。しかし、Amidaは既知の蛋白質と相同性を持たないために、その機能が推測できない。本研究は、Amida mRNAの発現が精巣において一番高いことを見出した。精巣の発生段階におけるAmidaの発現は精子形成の開始に伴い増加した。また、腹腔内精巣において、Amidaの発現は精子形成の停止に伴い激減した。精子形成において、Amida mRNAは精母細胞に発現していた。免疫組織化学法により、Amida蛋白質は精細管内の精母細胞以外に、半数体精子細胞核にも発現が見られた。Amidaの過剰発現は、培養細胞の細胞周期をG2期で停止させた。また、Amidaは、Cdc2/Cyclin B kinaseによりリン酸化され、そのDNA結合活性が変化することが推察された。以上のことより、Amidaが、精子形成、特に減数分裂に関与している可能性のあること、さらに、Amidaはリン酸化を受けることにより、細胞周期を調節している可能性があることを示唆したものであり、学位の授与に値するものと考えられる。