

自由38

精巣上体における精子成熟の分子機構の解析

岡村直道 (筑波大・基礎医)

サルを始めとする哺乳動物の精子は、精巣上体を通る過程で運動性と受精能を備えるようになる。この精子成熟と呼ばれる過程には精巣上体上皮細胞の働きが必須である。特に上皮細胞から分泌されて、精子の表層を修飾するタンパク質の作用が注目され、近年そのようなタンパク質の同定と精子成熟における役割の解析が盛んに行われている。本研究では、サルの精巣上体の中で、部位特異的に発現している遺伝子をクローニングすることによって、精子成熟に関連したタンパク質を見出し、精子に運動性と受精能が付与される分子機構を明かにすることを目的とする。

既に我々は、ブタを材料として、精子成熟と関連していると思われる16,23,135kDaタンパク質を精製し、そのcDNAをクローニングした。そこで本年は先ず、これらのタンパク質が、サルの精巣上体でも認められるかどうかを検討した。ヤクニホンザル(6才)の精巣と精巣上体の頭部、体部、尾部からそれぞれRNAを調製し、16,23,135kDaタンパク質のcDNAをプローブとしてノーザンブロット法によって、mRNAの発現を調べた。その結果、16kDaタンパク質は、頭部と体部で、23kDaタンパク質は頭部のみで発現が認められ、精巣上体内で、ブタと同様な発現分布をしていることが判明したが、135kDaタンパク質の発現を示すシグナルは、精巣、精巣上体共に認められなかった。現在、特に16kDaタンパク質について、ブタの精製タンパク質を用いて、生理活性の同定を行っている。

自由40

輸送したサル卵巢からの卵子の採取性と成熟能 塩谷康生、細江実佐(農水省・畜試)、清水慶子 (京都大・霊長類・分子生理)

実験や事故などによって死亡した個体の卵巢や精巣には利用可能な生殖細胞が残っている。これらの生殖細胞を用いて受精卵(胚)を生産するためには、卵巢からの卵子採取、その卵子の体外成熟、精巣上体からの精子の採取と受精能獲得処理、体外受精と体外での発生培養などの技術が必要である。

霊長類研究所で実験殺されたサルから卵巢を摘出し、魔法瓶中に保温し、茨城県筑波まで輸送し、卵子を採取し、その採取性や体外での成熟能を検討した。

摘出卵子を通常のトラック輸送便に託すことによって、翌日8時あるいは10時までに筑波に輸送できた。

ニホンザル(2.5才、体重4.0Kg)の卵巢から92個、ヤクザル(0.5才、体重1.1Kg)から14個、アカゲザルから121個(6才、体重2.6Kg)、37個(1.5才、体重3.4Kg)の卵子が得られた。

採取卵子を5%牛血清、FSHおよびエストラジオールを加えたTCM199中で38.5℃で培養した結果、採取2時間後では82.1%(23/28)が卵核胞期、24時間では43.8%(14/32)が卵核胞期、15.6%が減数分裂第1分裂中期であり、36時間ではそれぞれ11.8%(4/34)、38.2%(13/34)であり、38.2%(13/34)が第2分裂中期であった。

輸送中温度が適正に保たれれば、実験殺サルの卵巢を長距離輸送し、それから得た卵子が体外で成熟することが示された。