

氏名(本籍)	ボラン アブデル ハミッド オスマン (スーダン)			
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第5888号			
学位授与年月日	平成23年6月30日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Studies on the calcium-binding proteins expressed in the spermatids of mice. (マウス精子細胞に発現するカルシウム結合タンパク質についての解析)			
主査	筑波大学教授	理学博士	石井哲郎	
副査	筑波大学准教授	医学博士	内田和彦	
副査	筑波大学准教授	博士(獣医学)	杉山文博	
副査	筑波大学准教授	理学博士	中村二郎	

論文の内容の要旨

(目的)

精子においてカルシウムシグナルは鞭毛運動、受精能獲得、超活性化、ケモタクシス、アクロゾーム反応、受精などにおいて大切な役割を果たしている。カルシウムシグナルの障害はオスの不妊の原因となる。精子形成は精細管で行われ、マウスの場合には約34.5日かかる。カルシウムシグナル伝達を担う分子は精子形成の適切な時期にそれぞれの部位に発現すると思われるが、それらの解析はほとんど行われていない。本研究では、マウス精子形成段階に特異的なカルシウム結合タンパク質を同定することである。そのため、精子形成をアルキル化剤ブスルファン投与で一時的に阻害し、精子形成時期を同調させる新しい手法を用いて解析を行った。

(対象と方法)

ブスルファンを成熟オスに投与(20 mg/Kg 体重)し、精子形成細胞を5週間以内に減衰させ、その後精細管上皮から生き残った未分化の精原細胞を回復させる。精子形成の回復過程に伴うタンパク質の発現解析を行う。さらに、2次元電気泳動を用いてStain-all色素を用いてカルシウム結合タンパク質の検出を行う。タンパク質をスポットから抽出して質量分析により同定し、それらの組換え体よりポリクローナル抗体を製作して組織や精子における局在を調べた。

(結果)

複数の新規カルシウム結合タンパク質候補を見いだした。その内CABS1(Calcium binding protein sperm-specific 1)、Pre-TDPとE2uについて詳しく解析を行った。CABS1は伸長した精子の鞭毛基部に特異的に発現しており、精巣で成熟する時にCABS1はCa²⁺を結合することが推測された。Pre-TDPはCABS1の第2エキソンを共有するカルシウム結合タンパク質としてクローン化されたが、円形精原細胞にのみ発現しており、精子細胞の伸張に伴い遺伝子の発現がCABS1に切り替わることが推測された。E2uは、タンパク質のプロテアソームによる分解制御に関与しているユビキチン結合酵素E2の新しいファミリータンパクであり、構造上の特徴としてC末に酸性のドメインを持っており、ここにCa²⁺が結合することを証明した。E2uは精

子形成過程 4 - 12 段階では先体部分に発現し、特に 8 段階の円形精子細胞に一番多く発現していることを明らかにした。

(考察)

本研究では、精子形成を同調させる実験系と Ca^{2+} が結合する色素を用いて、精子においてカルシウム結合タンパク質 CABS1、Pre-TDP と E2u の発現を見だし、それらの成熟過程での発現部位と組織特異的な発現について明らかにし、これらのタンパク質の精子形成過程での関与を示唆した。今後、精子機能の異常やそれに伴う不妊の解析に関連して、これらのタンパク質の具体的な生理機能について研究するための基礎的な研究成果を得た。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、精子形成過程で発現する Ca^{2+} 結合タンパク質について解析した初めての成果であり、それらの生理的な機能は推測の域を出ないが今後の発展が期待できる優れた研究成果であると評価できる。

平成 23 年 5 月 10 日、博士（医学）学位論文審査専門委員会において審査委員全員出席のもとに最終試験を行い、論文について説明をもとめ、関連事項について質疑応答を行った結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。