

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		鳥類の卵管で精子の運動と生存をコントロールする細胞認証機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Cell Authentication in the Oviduct of Avian Species for the Sperm Storage and Release			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)ササナミ	名)トモヒロ	研究期間 B	2010～ 2011年
	漢字 CB	笹浪	知宏	報告年度 YR	2012年
	ローマ字 CZ	Sasanami	Tomohiro	研究機関名	静岡大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		笹浪知宏、静岡大学・准教授			
概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)					
<p>動物は受精の戦略を特殊化させることにより生存競争を勝ち抜き今日に至る進化を遂げてきた。ウズラやニワトリの輸卵管には、精子貯蔵管と呼ばれる特殊な組織が存在し、射精された精子は精子貯蔵管内で数週間～数ヶ月の間貯蔵され、受精能を維持することが知られている。これまでの研究で、輸卵管の抽出物は、ウズラの射出精子をインビトロで長期間生存させる能力を有していることが判明した。また、この抽出物は、鳥類だけでなく、ヒトやブタといったほ乳類精子をもインビトロで長期間生存させることが分かった。本研究は、鳥類の輸卵管で精子の運動を制御する生理活性物質単離・同定を目的として遂行したものである。</p> <p>ウズラの輸卵管をキャビテーションにより破碎し、遠心分離によって抽出物を回収した。回収した抽出物をマウスに免疫し、抽出物に対するモノクローナル抗体ライブラリーを構築した。精子貯蔵に関係する分子を認識する抗体を Dot blot assay 及びウェスタンブロットを用いたスクリーニングにより選抜した。また輸卵管抽出部の精子運動継続時間延長効果を中和するような抗体を選抜することで、貯精に重要な生理活性物質の同定を試みた。</p> <p>抽出物をマウスに免疫し、計 61 種類のハイブリドーマからなるモノクローナル抗体ライブラリーを取得することが出来た。Dot blot assay, ウェスタンブロットおよび精子の運動に及ぼす影響によりハイブリドーマのスクリーニングを進めたところ、輸卵管抽出物の精子運動継続延長効果を打ち消す働きを持つ抗体を得ることに成功した。また、in-gel digestion 法と LC-MS/MS 解析による de novo sequencing により、分子の同定を行ったところ、Annexin と Heat shock protein が同定された。</p>					
キーワード FA	精子貯蔵管	輸卵管	精子	モノクローナル抗体	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Progesterone is a sperm-releasing factor from the sperm-storage tubules in birds.							
	著者名 ^{GA}	Ito, T. et al.	雑誌名 ^{GC}	Endocrinology					
	ページ ^{GF}	3952~3962	発行年 ^{GE}	2	0	1	1	巻号 ^{GD}	152 (10)
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Because of the presence of sperm storage tubules (SST) in the utero-vaginal junction (UVJ) in the oviduct, once ejaculated sperm entered into the female reproductive tract, they can survive for a prolonged time in domestic birds. Previously, we found that progesterone acts as a sperm releasing factor from the SST in Japanese quail, though the specific mechanisms involved in the sperm uptake into, and maintenance within the SST remain to be elucidated. In this study, we investigated the effects of UVJ extracts on the sperm viability in Japanese quail to elucidate the specific machinery of sperm maintenance in the SST. When the ejaculated sperm were incubated in Hanks' balanced salts solution at 39°C, most of the sperm were found to be immotile after 5 hrs of incubation. In contrast, in the presence of the UVJ extracts, sperm can survive for more than 24 hrs. In order to identify the molecules that involved in the prolongation of the sperm viability, we constructed monoclonal antibody (mAb) library for UVJ extracts. As the results, several mAb possessed the potency to absorb the UVJ effects on the sperm viability. The immunoreactive bands were excised from the gels, and LC-MS/MS analysis successively identified as annexin1, annexin2, annexin5, annexin6 and heat shock protein 70. qRT-PCR analysis demonstrated the presence of the transcripts of all of the genes in the UVJ, and the expression of mRNAs fluctuates during ovulatory cycle. Moreover, mRNA level of these genes decreased in the presence of the residence sperm in the SST after mating. These results indicated the possibility that annexin1, annexin2, annexin5, annexin6 and heat shock protein 70 might play important roles in the control of the sperm maintenance in the SST.