

S1-3

ラット精巣における遺伝子発現の可視化

佐々木順造、笠原恵美子*、佐藤英介*、小阪 淳
(岡山大・大学院医歯学総合研究科、*大阪市立大学・大学院医学研究科)

活性酸素分子種は種々の病態の発現に重要な役割を演じていることが知られている。我々は活性酸素分子種の生殖器系臓器における役割を検索するために、活性酸素関連酵素の発現を、主としてラットを対象として、プローブ作製を容易にするために考案した多標識オリゴヌクレオチドプローブ作製法を用いた *In situ* ハイブリダイゼーション法により検索し、phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) mRNA がラット精巣において、精子形成におけるステージ特異的に発現していることを見出した。ステージVIIのパキテン期の精母細胞より、PHGPx mRNA のシグナルが検出され、ステップ 7-12 の精子細胞で強陽性に検出された。以上の結果は精巣における PHGPx の発現も上位の内分泌調節により制御されていることを推察させる。

下垂体摘出はラット精巣において主としてステージVIIの精細胞に変性をおこすことが知られており、PHGPx も下垂体摘出によりその発現が消失する。

今回、精細胞障害の際におけるステージ特異的な遺伝子発現や活性酸素分子種の関与を知る目的で、DNA マイクロアレイによる解析を、下垂体摘出ラットおよびフタル酸エステル投与ラットの精巣について行った。DNA マイクロアレイは、比較する2種の組織あるいは細胞より mRNA を抽出した後、蛍光またはラジオアイソトープで標識された cDNA を合成し、ナイロン膜に数百から数千の cDNA を配列したマイクロアレイとハイブリダイゼーションさせ、DNA マイクロアレイのイメージを蛍光検出器あるいはオートラジオグラフィーにて検出し、解析ソフトにより、2種の遺伝子発現パターンを一度に数百から数千の遺伝子について解析する方法である。

下垂体摘出ラットについて testis lipid-binding protein など数種の遺伝子に著明な減少が観察された。これらの遺伝子は、preliminary な実験でフタル酸エステル投与においても減少していた。下垂体摘出で消失することが報告されている PHGPx については、摘出 6 日目の時点では未だ有意の減少は認められなかった。これらの結果を元に、形態学的変化の観察にあわせて、*in situ* ハイブリダイゼーション法を施行し、変動の著しい遺伝子の局在を検索する。