Japan Society of Histochemistry and Cytochemistry (JSHC)

論文賞受賞講演 1

精子特異的グリセルアルデヒド -3- リン酸脱水素酵素アイソフォームの電顕的局在と発現時期の解析から考察する精子鞭毛形成

谷井 一郎[1], 稲垣 直之[2], 中山 建男[3], 今泉 和則[4], 吉永 一也[5]

[1]富山大学大学院医学薬学研究部生物学, [2]奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科, [3]宮崎大学フロンティア科学実験総合センター, [4]宮崎大学医学部解剖学分子細胞生物学分野, [5]熊本大学医学部保健学科

精子特異的グリセルアルデヒド -3- リン酸脱水素酵素アイソフォーム（GAPDS）は精子鞭毛に存在し，鞭毛運動のエネルギー供給を担っている。我々は精子を免疫原として，このアイソフォームを認識するモノクローナル抗体を作成した。本研究では，精子形成過程の詳細が明らかにされているラットでこの分子の局在と発現時期を解析し，他の鞭毛構成成分の発現時期と比較することによって鞭毛形成過程の詳細を調べた。

GAPDS は鞭毛主部の線維鞘の肋骨と呼ばれる構造に優先的に局在していた。線維鞘には腹側と背側に縦に走る柱（縦柱）があり，2 本の縦柱の間を多数の肋骨が連結している。GAPDS はこの構造と結合して，ミトコンドリアの存在しない主部でエネルギー供給を担っていると考えられる。精子細胞鞭毛での GAPDS の発現は，ステップ 16 で出現し，ステップ 17 以降で最大となった。形態学的には肋骨の原基はステップ 11 で出現し，ステップ 15 までに完成する。オートラジオグラフィーによる解析がこれを裏付け，新しく合成されたタンパク質は主にステップ 11 からステップ 15 の間に肋骨に組み込まれる。線維鞘の主要な細胞骨格要素である A-kinase anchoring protein 4（AKAP4）は肋骨原基と同時期に鞭毛に出現し，ステップ 15 で最大発現量となる。したがって，GAPDS は線維鞘の細胞骨格による枠組みが完成してから後にこの構造に組み込まれる，という鞭毛タンパク質の組込み順序が明らかとなった。

精子無力症による不妊男性の精子で線維鞘の形成異常（DFS）が報告されている。DFS 患者の精子では，線維鞘の主要細胞骨格要素である AKAP4 と AKAP3 には量的・質的な異常はなく，線維鞘構成成分の組み立てのどこに異常があるかは分かっていない。鞭毛構成成分の発現・組込み順序及びその制御機構の解析が DFS の原因解明につながると思われる。

論文賞受賞講演 2

Three-dimensional, Computer-tomographic Analysis of Membrane Proteins (TrkA, caveolin, clathrin) in PC12 Cells

Nishida T[1,3], Arii T[2], Takaoka A[3], Yoshimura R[1], Endo Y[1]

[1]Division of Applied Biology, Kyoto Institute of Technology, Kyoto 606–8585, [2]Center for Brain Experiment, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, 444–8585, [3]Research Center for Ultra-High Voltage Electron Microscopy, Osaka University, Osaka 567–0047, Japan

Signaling of nerve growth factor (NGF) and its receptor (TrkA) promotes neuronal differentiation, synapse formation and survival. It has been known that the complex of NGF and TrkA is internalized into the cytoplasm and transported for further signal transduction, but the ultrastructural information of this process is virtually unknown. In order to clarify the relationship between the internalization of TrkA and the membrane-associated proteins (caveolin and clathrin), the localization and three-dimensional structures of those proteins were examined with computer tomography of high voltage electron microscopy in PC12 cells. TrkA immunoreactivity was found only at definite areas in the plasma membrane, as ring and cluster structures. Its 3D image indicated that those cluster structures contained small pits, which did not appear to be typical caveolae in size and shape. 3D images of clathrin and caveolin-1 immunoreactivities indicated that the formation of those small pits was associated with clathrin, but not with caveolin-1. Caveolin-1 immunoreactivity was found as a mesh-like structure just beneath the plasma membrane. These results suggest that clathrin rather than caveolin is mainly involved in the process of TrkA internalization, at least in differentiated PC12 cells.

NII-Electronic Library Service