九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Molecular Cloning, Subcellular Localization, and Characterization of CEACAM2-L, a Member of the Immunoglobulin Superfamily Expressed on Spermatids in Mouse Testis

Elsaid, Salaheldeen Abdelmoneim Abdelrady

https://hdl.handle.net/2324/1470623

出版情報：九州大学, 2014, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏　　名　：エルサイド サラエルディーン

論文題目：　Molecular Cloning, Subcellular Localization, and Characterization of CEACAM2-L, a Member of the Immunoglobulin Superfamily Expressed on Spermatids in Mouse Testis

（マウス精巣の精子細胞に発現するイムノグロブリンスーパーファミリー分子 CEACAM2-L のクローニング、局在、およびキャラクタリゼーション）

区　　分　：　甲

論　文　内　容　の　要　旨

哺乳類の半数体精子細胞は球状の細胞から、余分な細胞質の除去、核の濃縮、鞭毛・先体形成を経て、運動性を持った精子へと著しくその形態を変化させる。この過程には、生殖細胞とセルトリ細胞との間の細胞間接着装置による相互作用が重要である。この接着装置を構成する分子の多くはイムノグロブリンスーパーファミリー(IgSF) に属し、それらの機能阻害は生殖細胞の分化を妨げることが報告されている。本研究ではマウス精巣に発現する IgSF 分子である *Ceacam 2* [Carcinoembryonic antigen (CEA)-related cell adhesion molecule] について研究を行った。

Ceacam 2 はマウス第 7 染色体 7A3 上にシングルコピー遺伝子として存在する。RT-PCR 解析によって、*Ceacam 2*遺伝子はスプライシングによって２種のバリアントを産生し、*Ceacam 2 S*（短鎖）は 272 アミノ酸からなる分子量 30kDa のタンパク質をコードし、*Ceacam2-L*（長鎖）は 340 アミノ酸からなる分子量 37.5 kDa のタンパク質をコードしていた。*Ceacam2-L* は新規バリアントであった。どちらの分子も Ig ドメインと IgC2 ドメインおよび膜貫通領域を 1 個有するが、CEACAM2-L はより長い細胞質領域を持っていた。*Ceacam2-L* は精巣特異的に発現し、また精巣においては発生３週齢から発現する分子であることが RT-PCR 解析により判明した。本研究は CEACAM2-L に焦点をあて研究を行った。

CEACAM２-L に特異的な抗体をウサギにて作成し、GST 融合蛋白質および COS7 培養細胞に発現させた CEACAM２-L-GFP を用いて作成した抗体の特異性を確認した。CEACAM2-L-GFP を発現させた培養細胞の蛍光顕微鏡解析を行ったところ、CEACAM2-L-GFP は発現細胞間の接着部位に濃縮していた。精巣の精細管上皮の免疫組織化学的解析を行った結果、CEACAM２-L は伸長精子細胞にのみ発現しており、精子形成の最終段階でセルトリ細胞に貪食処理される余分な細胞質を被う精子細胞の形質膜に存在し、鞭毛および精子細胞の頭部には検出されなかった。

CEACAM２-L はセルトリ細胞との細胞間で接着分子として働くことが予想されるため、セルトリ細胞において発現し、かつ CEACAM２-L と相互作用する分子の探索を免疫沈降法によって行った。その結果、セルトリ細胞で発現している IgSF 分子である Poliovirus receptor (PVR)を CEACAM２-L のパートナー分子として同定した。COS7 培養細胞を用いた免疫沈降実験においても、CEACAM２-L と PVR の相互作用が確認され、さらにこの分子間結合には CEACAM２-L の N 末 Ig ドメインが必要であることも明らかとなった。膜不透過性クロスリンカーを用いた分子複合体構造解析の結果、CEACAM２-L は PVR とヘテロ４量体の分子複合体を形成する事が判明した。以上の結果から、精子細胞に発現する CEACAM２-L は、セルトリ細胞に発現する PVR と分子間相互作用し、精子細胞の余分な細胞質の除去に関わる新規細胞間接着分子である可能性が示唆された。