

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 名	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 の分子クローニング、局在、およびキャラクタリゼーション)		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 飯田 弘
	副 査	九州大学	教授 松山 倫也
	副 査	九州大学	教授 日下部 宜宏

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、哺乳類マウス精巣に発現するイムノグロブリンスーパーファミリー (IgSF) 分子である CEACAM 2 [Carcinoembryonic antigen (CEA)-related cell adhesion molecule 2] の新規 isoform である CEACAM 2-L を同定し、その局在解析及びキャラクタリゼーションを行ったものである。

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 種のバリエーションを産生し、*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、一方、*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することが判明した。*Ceacam2-L* は新規バリエーションであった。どちらの分子も Ig ドメイン、IgC2 ドメイン、および膜貫通領域をそれぞれ 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生後 3 週齢から発現する分子であることが RT-PCR 解析によりわかった。

CEACAM 2-L に特異的なポリクローナル抗体を作製し、GST 融合蛋白質および COS7 培養細胞に発現させた CEACAM 2-L-GFP を用いて、作製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、CEACAM 2-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。

伸長精子細胞に発現する CEACAM 2-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 CEACAM 2-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 CEACAM 2-L のパートナーとなる接着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 CEACAM 2-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 CEACAM 2-L の N 末 Ig ドメインが必要であることも明らかにした。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、CEACAM 2-L は PVR とヘテロ 4 量体の分子複合体を形成することが判明した。また、グリコペプチダーゼを用いた解析により、CEACAM 2-L は N 型糖鎖が付加された糖タンパク質であることが分かった。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。

以上要するに、本研究は哺乳類マウス精巣に発現する新たな分子CEACAM2-Lを同定するとともに、その分子局在とパートナー接着分子を明らかにしたものであり、動物学および動物発生学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究は博士（農学）の学位に値すると認める。