

技術習得報告書

提出日 2011年 9月 24日

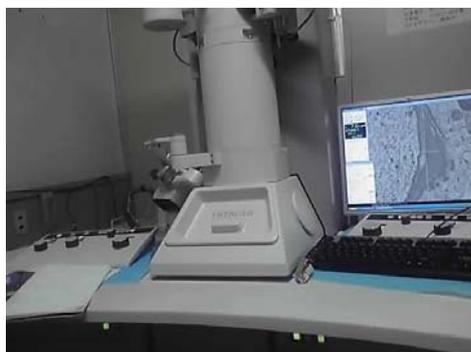


申請者	氏名	船木 智
	所属・職	技術職員
出張期間	2011年09月 11日～09月 17日	
出張先	岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 生化学分野	
出張目的	技術習得	
研究課題名	マウス精巣における表現系解析	

技術解説・プロトコル・得られた成果など

<電子顕微鏡>

電子顕微鏡によるマウス精巣の構造解析をおこなった。今回使用させていただいたのは透過型電子顕微鏡(TEM) 加速電圧が 40～120kV、ZOOM モードで 200～600,000 倍、LOWMAG モードで 50～1,000 倍の観察が可能。画像の取得はデジタルカメラ、少ない電子線量(試料損傷の低減)で撮影が可能、オートフォーカス機能も装備している。像観察や操作に必要な情報、データベース機能による画像管理は1つの液晶モニター上で集約的に行える。細胞内のオルガネラの微細な構造認識を行うために使用。



今回は精巣を環流固定し、岡山大学にて切片を作っていただいた。

今回は精巣を環流固定し、岡山大学にて切片を作っていただいた。

<プロトコル>

電子顕微鏡内にサンプルをのせる。電子顕微鏡内で観察するためには非常に小さなサンプルをスティック状の先端にのせ、サンプルをセットし真空状態にする。

その後目的の細胞を観察する。今回は細胞内のゴルジ構造を詳細に観察すると共に、精子形成において非常に重要な役割を果たす、アクロソームとアクロソーム形成に関わる細胞内小器官の観察を行った。



<得られた成果>

小胞輸送に細胞に関与するタンパク SMAP2 のターゲットマウスの機能解析を行った。我々の研究室で SMAP2^{-/-}における雄の生殖細胞におけるアクロソームの形成異常がみとめられていた。アクロソームの形成は、精子細胞特異的な構造である TGN から核側にプロアクロソーム小胞が分泌され、核付近でアクロソーム小胞がゆっくりと融合し始める。その後アクロソームが形成し、核、鞭毛というように精子細胞が、成熟した精子へ変化していくのである。今回はターゲットマウスにおける精巣の成熟における形態変化を観察したところ、ターゲットマウスにおけるアクロソーム形成不全に関与しうる、アクロソーム小胞の分泌異常が認められた。野生型マウスにおけるアクロソームの形成は核付近で均一な小胞が見られたが、ターゲットマウスにおけるアクロソーム小胞の肥大が見られた。またアクロソームの分泌側である TGN の構造異常も見られた。このような構造異常や、分泌顆粒の違いは光顕レベルではなかなか知り得ない像であった。



- ※ 出張後 10 日以内に報告書を提出してください。HP に掲載することがあります。
- ※ 技術解説・プロトコルに焦点をあてたものを記載してください。
- ※ 可能であれば写真も添付してください。
- ※ 用紙が不足する場合は、適宜加えてください。