
家禽の輸卵管成分を用いた家禽および家畜精子の運動制御

静岡大学・農学部 笹浪 知宏

■ 目的

ウズラやニワトリの輸卵管には、精子貯蔵管と呼ばれる特殊な組織が存在し、射精された精子は精子貯蔵管内で数週間～数ヶ月もの間貯蔵され、受精能を維持することが知られている。これまでの研究で、輸卵管の抽出物は、ウズラの射出精子をインビトロで長期間生存させる能力を有していることが判明した。また、この抽出物は、鳥類だけでなく、ヒトやブタといったほ乳類精子をもインビトロで長期間生存させることが分かった。本研究は、鳥類の輸卵管で精子の運動を制御する生理活性物質単離・同定を目的として遂行したものである。

■ 方法

ウズラの輸卵管をキャピテーションにより破碎し、遠心分離によって抽出物を回収した。回収した抽出物をマウスに免疫し、抽出物に対するモノクローナル抗体ライブラリーを構築した。精子貯蔵に関係する分子を認識する抗体を Dot blot assay 及びウェスタンブロットを用いたスクリーニングにより選抜した。また輸卵管抽出部の精子運動継続時間延長効果を中和するような抗体を選抜することで、貯精に重要な生理活性物質の同定を試みた。

■ 結果および考察

抽出物をマウスに免疫し、計 61 種類のハイブリドーマからなるモノクローナル抗体ライブラリーを取得することが出来た。Dot blot assay、ウェスタンブロットおよび精子の運動に及ぼす影響によりハイブリドーマのスクリーニングを進めたところ、輸卵管抽出物の精子運動継続延長効果を打ち消す働きを持つ 16B2B2 と名付けた抗体を得ることに成功した。この抗体は分子量約 200kDa の分子を認識しており、この分子が輸卵管における精子の貯蔵に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。現在、抽出物を電気泳動で分離し、16B2B2 の認識するスポットを同定し、in-gel digestion 法と LC-MS/MS 解析による de novo sequencing により、分子を同定するための実験を遂行中である。

■ 結語

本研究では、モノクローナル抗体ライブラリーを用いた研究により、家禽の輸卵管由来精子運動調節生理活性物質の単離・同定を試みた。その結果、分子量 200kDa の分子をその候補タンパク質として同定することが出来た。この分子の実体解明および作動機序の解明は今後の研究課題であるが、ウズラの輸卵管の抽出物は、鳥類だけでなく、ヒトやブタといったほ乳類精子の運動に影響を与えることが分かっており、本研究成果は、将来的に様々な家禽・家畜精子のインビトロでの液状保存技術の開発にも応用可能であると考えられる。