

氏名	小上敬嗣
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4183 号
学位授与の日付	平成19年6月30日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文題目	Quantification of PERF 15 mRNA in Tissue Sections from Rat Testes (ラット精巣組織切片における PERF 15 mRNA の定量化)
論文審査委員	教授 大塚 愛二 教授 許 南浩 准教授 近藤 英作

#### 学位論文内容の要旨

in situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法におけるシグナル定量化のために、シグナル強度のポスタリゼーション (階調変更) を用いた方法と、蛍光シグナルを用いた定量法を、精巣の連続切片での転写産物、PERF 15 mRNA、の定量に応用し、両者の方法を比較検討した。前者の方法では、シグナルの強さを、白色 (grade 1)、淡い灰色 (grade 2)、灰色 (grade 3)、濃い灰色 (grade 4) と黒色 (grade 5) の 5 段階に分けたあと、数値化した。後者の方法では 0-255 の mean pixel intensity で表した。PERF 15 mRNA 量は後期パキテン期およびディプロテン期の精母細胞で最大であり、初期精子細胞および中期パキテン期の精母細胞がこれに続いた。両者の方法の間で、ほぼ同一の結果を得た。PERF 15 は成熟精子では頭部に存在し、頭部の構造をコンパクトにする細胞骨格成分と考えられている一方、アポトーシスへの関与が示唆されている。今回の実験で、転写産物は生理的精子発生でアポトーシスが最も多く観察されるステージ XIV の前後で高い値を示しており、減数分裂時に特定の機能を持つ可能性が明らかとなった。また、ISH シグナルの定量化は分子の未知の機能を解析する上で有力なツールとなる可能性があり、今回の定量法は ISH シグナルの絶対量の定量法の確立に大きな助けとなると考えられた。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は、組織切片上での in situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法におけるシグナル定量化のために、シグナル強度のポスタリゼーション (階調変更) と蛍光シグナルを用いて、検討したもので、精巣の連続切片に応用したところ、PERF15 mRNA 量が後期パキテン期およびディプロテン期の精母細胞で最大であることを確認し各ステージごとの増減を確認し、考察したものである。本研究において確立された ISH シグナル定量化法は、生体分子の発現について、光学顕微鏡用組織切片上での mRNA 量の増減を把握し、当該分子の機能解析に寄与するもので、細胞組織化学の分野で価値あるものである。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。