

ABSTRACT

Project Code : BGJ/ 37/ 2543

Project Title : Male Germ Cell Maturation and Chromatin Condensation of the Asian Bandicoot Rat (*Bandicota indica*)

Investigator : Assoc. Prof. Prapee Sretarugsa, Miss Pakawadee Worawittayawong. Department of Anatomy, Faculty of Sciences, Mahidol University

E-mail Address : scpsr@mahidol.ac.th and pkwd18@yahoo.com

Project Period : 4 Years

Bandicoot rat, *Bandicota indica* is one of the rodent species that commonly occurs in the rice fields of Thailand. It causes considerable damage to the rice fields crops and is thus of considerable economic importance to the country. The knowledge of its reproductive biology could be useful for controlling number of the animals. The aims of this study are, therefore: 1) to investigate the cycle of seminiferous epithelium by light microscopy; 2) to study the organization and chromatin condensation of germ cells during spermiogenesis by electron microscopy; 3) to localize the basic nuclear proteins during spermiogenesis by immunocytochemistry and immunoelectron microscopy; 4) to characterize the sperm basic nuclear proteins profile by acid urea triton-X gel electrophoresis.

Seminiferous tubules of *B. indica* could be characterized into nine stages based on the morphological changes of spermatogenic cells along with the pattern of cellular association. This seminiferous cycle was considerable of heterogenous type, i.e., more than one cellular association pattern could be found in a cross section of seminiferous tubule. During maturation process, epididymal sperm exhibited more than seven types of head morphology as assessed by propidium iodide staining. Further attempt was launched to study the nucleoprotein components in the sperm nuclei that modulate chromatin condensation. Immunocytochemical analysis clearly demonstrated that histones remained throughout late spermiogenesis. This histone remnant was not detected within the nuclear vacuoles. Histones were also present in epididymal sperm as demonstrating by acid urea gel. It was also apparent that there were transition protein (TP) and protamines in epididymal sperm, however, the amount of TP proteins seem to be much higher than protamine as compared by the intensity of Coomassie Blue staining. These results were in marked contrast to other mammals studied so far, where protamine was shown to be a predominant basic protein in mature sperm. The functional implication of the abundance of TP and lower amount of protamines need further investigation.

Keywords : germ cell association, seminiferous epithelium, chromatin condensation, spermiogenesis, *Bandicota indica*

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : BGJ/ 37/ 2543

ชื่อโครงการ : การศึกษาการสร้างและการพัฒนาที่สมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ของหนูพุกใหญ่

ชื่อนักวิจัย : รศ. ดร. ประพีร์ เศรษฐรักษ์ และ น.ส. ภควดี วรวิทยาวงศ์

E-mail Address : scpsr@mahidol.ac.th and pkwd18@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 4 ปี

หนูพุกใหญ่ *Bandicota indica* จัดอยู่ในพวกสัตว์แทะ (rodent) ที่พบได้ในนาข้าว หนูพวกนี้เป็นตัวการที่สำคัญที่ทำลายพืชเศรษฐกิจในไร่นา ซึ่งมีผลกระทบไปถึงเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศ การศึกษาหาความรู้ทางด้านชีววิทยาของระบบสืบพันธุ์ของหนูพุกใหญ่นี้ น่าจะเป็นประโยชน์ในการควบคุมจำนวนประชากรของสัตว์ประเภทนี้ได้ ในกรณีที่มีจำนวนมากเกินไป วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้คือ 1. ศึกษาวงจรของเซลล์สืบพันธุ์ในหลอดสร้างอสุจิโดยกรรมวิธีจุลทรรศน์ธรรมดา 2. ศึกษาการจัดเรียงตัวและการขดตัวของเส้นใยโครมาตินของเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงของการพัฒนาที่สมบูรณ์โดยกรรมวิธีจุลทรรศน์อิเล็กตรอน 3. หาดำแหน่งและการกระจายตัวของโปรตีนในนิวเคลียสของอสุจิในช่วงการพัฒนาระยะต่างๆ จนถึงขั้นสมบูรณ์โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ (immunocytochemistry) และอิมมูโนอิเล็กตรอน (immunoelectron microscopy) 4. เพื่อหาลักษณะเฉพาะของโปรตีนที่เกิดขึ้นในนิวเคลียสของอสุจิโดยการแยกโปรตีนด้วยกระแสไฟฟ้า

การจัดเรียงตัวของเซลล์สืบพันธุ์ภายในหลอดสร้างอสุจิของหนูพุกใหญ่สามารถแบ่งได้เป็น 9 กลุ่ม ตามความสัมพันธ์ของเซลล์สืบพันธุ์ชั้นต่างๆ ที่จัดเรียงตัวกันในระหว่างการสร้างเซลล์อสุจิ ในภาพตัดขวางของหลอดสร้างอสุจิพบเซลล์สืบพันธุ์มีการจัดเรียงตัวมากกว่าหนึ่งกลุ่ม ซึ่งแตกต่างกับพวกหนู rat หรือหนู mouse แต่จะคล้ายกับในคน ในขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์พบว่ารูปร่างหัวของเซลล์อสุจิจากอภิตติไคมิส มีมากกว่า 7 ชนิด เมื่อศึกษาด้วยการย้อมด้วย propidium iodide จากการวิเคราะห์ด้วย อิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ พบว่าโปรตีนฮิสโตนยังคงมีอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์สืบพันธุ์ชั้นต่างๆ จนถึงขั้นที่พัฒนาสมบูรณ์ แต่ไม่พบโปรตีนชนิดนี้ในช่องว่างที่อยู่ในนิวเคลียส ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อศึกษาด้วยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส พบว่าโปรตีนฮิสโตนยังอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์อสุจิที่ได้จากท่ออภิตติไคมิส และยังพบโปรตีนทรานสลิซัน และโปรตีนโปรตามีน เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสีย้อม Coomassie Blue ดูเหมือนปริมาณของโปรตีนทรานสลิซันมีมากกว่าโปรตีนโปรตามีน จากผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าหนูพุกใหญ่ มีความแตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ ที่มีโปรตีนโปรตามีนเป็นโปรตีนหลักสำคัญในหัวอสุจิที่เจริญเต็มวัย การที่นิวเคลียสของอสุจิของหนูพุกใหญ่มีปริมาณโปรตามีนค่อนข้างต่ำ จากการศึกษานี้ยังไม่สามารถหาคำอธิบายได้ ซึ่งควรจะต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป