



Title	核膜及び染色体周囲と共に抗原をもつ細胞質顆粒のモノクロナル抗体による同定
Author(s)	金田, 真理
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34654
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	金	田	眞	理
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6807	号	
学位授与の日付	昭和	60	年	3月25日
学位授与の要件	医学研究科	内科系専攻		
	学位規則	第5条第1項該当		
学位論文題目	核膜及び染色体周囲と共に抗原をもつ細胞質顆粒のモノクロナル抗体による同定			
論文審査委員	(主査) 教授	吉川	邦彦	
	(副査) 教授	岡田	善雄	教授
		内田	驥	

論文内容の要旨

(目的)

核膜は細胞質側から、外膜、内膜とその内側に存在する lamin よりなる。外膜と内膜は nuclear pores によってつながれ、外膜は ER と連結し、内膜は lamin を介してクロマチンと接触していると考えられている。しかしながら核膜を構成している蛋白質や、核膜の機能に関しては現在でも不明のまま残されている。又、一連の細胞周期における核膜の形成に関して、さらには、細胞周期の進行に伴なつておこる核膜増大に關係する核膜構成成分の新生や核膜へのとりこみに関しては全く不明である。

著者は、核膜成分に対するモノクローナル抗体を分離精製し、その抗体の1つを用いて、細胞質顆粒、核膜及び染色体周囲に共通の抗原が存在する事、細胞周期に伴なう共通抗原の分布状態の変化を明らかにした。

(方法ならびに成績)

ラット肝細胞の核成分で免疫したマウス脾細胞と SP2/0細胞とを融合し、限界稀釀法を用いて2回以上クローニングを施行、6種類の核に対するモノクローナル抗体産生株を得た。スクリーニングはラジオイムノアッセイと細胞の間接蛍光抗体法の併用にて施行した。抗体の精製には Sepharose CL-6B, Sephadex G-200 を用いた gel-filtration 及び affinity chromatography, ion exchange chromatography を用いた。又、オクタロニー施行にて、6種類のモノクローナル抗体のクラスを決定した。その結果5つは IgG, 1つのみ IgM であった。1 mM チミジン、あるいは 2.5 mM ハイドロキシウレアを用いて、3T3 細胞、FL 細胞を同調させ、各周期における抗原の分布状態を間接蛍光抗体法にて追跡した。その結果6種類のモノクローナル抗体のうちの1種 (M 108) は、以下に述べる様な細胞周期に

特異的な抗原の分布を示した。すなわち、G₁期には核周囲の核膜に相当する部位に細くくっきりとし、S期には核全体が微細顆粒で覆われ、G₂期には細胞質顆粒と核周囲の太いはっきりとした帯状の像、としてあらわされる抗原の分布を認めた。(同時に、細胞質顆粒が核膜と融合していると思われる像をもとらえる事ができた。) 細胞質顆粒の出現時期をより一層明確にする為にFL細胞、3T3細胞のAutoradiographyと間接蛍光抗体法の併用を施行。その結果、主としてG₂期に細胞質顆粒が出現する事を確かめた。又、間接蛍光抗体法とローダミン6Gの二重染色により、細胞質の抗原がミトコンドリアと無関係である事も判明した。

通常の方法で、染色体標本を作製し、間接蛍光抗体法にてM期の染色体周囲に抗原が存在する事を見い出した。さらにPCCを施行し、その染色体標本の観察よりG₂、M期の染色体周囲には抗原が存在するが、G₁、S期の染色系には抗原が認められない事が判明した。

抗原の分子量決定の為にImmunoprecipitation後SDSPAGEを施行した。その結果、約5万ダルトンのところに、単離された細胞の細胞質抗原を加えると消失する蛋白バンドの出現を認めた。さらにImmunoblottingを施行し、FL細胞、3T3細胞の染色体、G₂期の細胞質の一分画、ラット肝細胞細胞質の一分画に、約5万ダルトンの共通な蛋白バンドの出現を認めた。

(総括)

核膜に対するモノクローナルIgM抗体を精製し、それを用いて、分子量約5万の核膜の構成成分が、細胞周期に応じて、細胞質顆粒として存在し、又核膜消失の際には染色体周囲に認められる事を明らかにした。

この事は、核膜形成や核構成成分の核内移行のメカニズム解明に寄与するものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

本研究は、核に対するモノクローナル抗体を用いて、細胞質、核膜、及び染色体周囲に共通の抗原が存在する事を明らかにした。これは、現在不明である、核膜の分裂期における動態、あるいは、核膜成分の新生および核膜へのとりこみの機構解明に寄与しうるものである。よって本論文は学位論文に値するものである。