



Title	ヒト内在性レトロウイルスのLTRをマーカープローブとして用いたヒト染色体の識別
Author(s)	中村, 紀彦
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36082
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【12】

氏名・(本籍)	なか 中	むら 村	のり 紀	ひと 彦
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8 5 8 2	号	
学位授与の日付	平成元年	3月	24日	
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	ヒト内在性レトロウイルスのLTRをマーカープローブとして 用いたヒト染色体の識別			
論文審査委員	(主査) 教授	松原 謙一		
	(副査) 教授	岡田 善雄	教授	吉川 寛

論文内容の要旨

(目的)

ヒトの唾液腺型アミラーゼ、膵臓型アミラーゼ遺伝子上流には、内在性レトロウイルスのLTRがある。ヒト全ゲノムDNAをEcoR I等の制限酵素で完全消化して、このLTRをプローブとしたサザンハイブリダイゼーションを行なうと、数百本のバンドを認める。本研究は、それらのバンドがいずれの染色体に由来するのかを調べ、各染色体に固有のバンドのパターンを決定し、ヒト染色体の識別を行なうとするものである。また、げっ歯類の培養細胞中にヒト染色体が1本だけ含まれる雑種細胞は、細胞生物学、分子生物学などにおいて極めて貴重な研究材料となっている。げっ歯類の全ゲノムDNAを用いてサザンハイブリダイゼーションを行なってもまったくバンドは検出されない。そのため得られたバンドはすべて雑種細胞中のヒトDNA由来のものである。バンドのパターンを比較することにより、そのような雑種細胞に含まれるヒトの染色体を検討することができるという応用例も示したい。

(方法)

1. ヒト染色体の調製と単離

コルセミドあるいはノコダゾール処理をした正常核型を示すヒトリンパ芽球様細胞株を用いてポリアミン・ジグトニン法を行なう。調製された染色体試料をHoechst 33258, Chromomycin A₃で二重染色し、デュアルレーザー方式のセルソーターにより分離・分取する。

2. 各染色体に固有のバンドのパターンの同定

単離された染色体からDNAを抽出して制限酵素で切断し、ヒトのアミラーゼ遺伝子上流にある内在性レトロウイルスのLTRをプローブとしたサザンハイブリダイゼーションを行なう。酵素は、EcoR I

を選んだ。この際、ヒト全ゲノム DNA に対しても同じ操作をして、各染色体で得られたバンドと対応させる。

3. げっ歯類の培養細胞中にヒト染色体を 1 本だけ持つ雑種細胞におけるヒト染色体の検討

このような雑種細胞の全ゲノム DNA に対して同様なサザンハイブリダイゼーションを行なう。得られたバンドはすべてヒト DNA 由来のものであるから、バンドのパターンを比較する。

(成績)

1. 各染色体に固有のバンドのパターンの同定

18-22番染色体について行なった。明瞭なバンドとして認められる数は、いずれの染色体も10本前後(例えば、19番は11本、21番は9本、22番は9本)である。これらのバンドは2Kbから数10Kbの範囲に分布し、分布のパターンは染色体ごとに異なっていた。近接したサイズのバンドが群をなした分布を示す染色体もあれば、比較的均等に分布するものもある。濃いバンドも混在しており、その数もサイズも染色体により異なる。バンドが濃いのは、コピー数が多いためか近接したサイズのバンドが多数集中しているため、あるいは、相同性の違いと推察される。

2. げっ歯類の培養細胞中にヒト染色体を 1 本だけ持つ雑種細胞におけるヒト染色体の検討

5 番染色体、X 染色体をげっ歯類の培養細胞の中に 1 本だけ持つ雑種細胞で検討した。いずれの染色体についても、独立に樹立された 2 つの細胞株を比較した。制限酵素は EcoR I, BamH I, Hind III の 3 種選んだ。いずれの染色体に関する雑種細胞株でも、それぞれ、たかだか 3 本のバンドの違いがあった。

(総括)

1. デュアルレーザー方式のセルソーターを用いて単離された特定染色体から DNA を抽出して、制限酵素 EcoR I で切断後、ヒトの内在性レトロウイルスの LTR をプローブとしたサザンハイブリダイゼーションを行なうことにより、18-22番染色体について固有のバンドのパターンを得た。

2. この方法は、げっ歯類の培養細胞の中にヒト染色体を 1 本だけ持つ雑種細胞におけるヒト染色体の検討に有用であることを示した。

論文の審査結果の要旨

ヒトのゲノム中には数百コピー存在するような内在性レトロウイルスの LTR がある。本研究は、これらの LTR を染色体上の特定領域へ位置づける方法を示したものである。この方法により、ヒトのある種の癌や遺伝病などの疾患あるいは細胞分化などにおいて、内在性レトロウイルスがどのように関わっているかを染色体レベルで解き明かす有力な手段となり得る可能性が示され、また、ヒト染色体を少数含むげっ歯類の細胞におけるヒト染色体を検討することにも応用できることも明らかにされた。

これらの知見を基に、染色体研究の発展が大いに期待されるので、本研究は博士論文として値あるものである。