



Title	Identification of chmadrin, a novel perichromosomal protein, and its possible implication in heterochromatinization.
Author(s)	高木, 昌俊
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39981
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

氏 名	高 木 昌 俊
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 9 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 9 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生理学専攻
学 位 論 文 名	Identification of chmadrin, a novel perichromosomal protein, and its possible implication in heterochromatinization. (分裂期染色体の構造を外側から規定する新しい蛋白質, クマドリン, の構造と機能)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 小倉 明彦 (副査) 教 授 米田 悦啓 助教授 升方 久夫

論 文 内 容 の 要 旨

私はモノクローナル抗体2A11を用いた間接蛍光抗体法による解析から分裂期染色体の周囲を縁どるように局在する分子の存在を偶然に見出した。2A11はヒトHsc70(heat shock cognate protein 70)に対して樹立したモノクローナル抗体であるがHsc70 以外の分子をより強く交叉認識し、ラットカンガルー腎由来PtK₂細胞においては特に、分裂期染色体の周囲を鋭く縁どるような特徴的な染色像を与えた。この特徴的な染色像を与えている分子の同定および機能解析を本研究の目的とした。

PtK₂細胞cDNA発現ライブラリーを2A11によりスクリーニングし目的分子の同定に成功し、同定された分子をクマドリン(chmadrin)と名付けた。クマドリンの全体構造を決定した所、クマドリンは約300kD の巨大な未知分子であり、Ki-67 抗原と限られた領域で相同性を示した。クマドリンの一次構造上の最大の特徴は蛋白質の中央部およびC末領域に見出される2種の特徴的な繰り返し構造(それぞれクマドリンリピート, RS/NK ドメインと呼ぶ)である。

細胞周期に伴うクマドリンの挙動を、アフィニティー精製した抗クマドリン抗体を用いて間接蛍光抗体法により観察した。クマドリンは間期の進行に伴って核小体に蓄積していく。G2期には核小体に加えて核質にも少量存在する。細胞が分裂期をむかえ染色体の凝縮が始まると核小体領域から染色体表層へとダイナミックに再配置する。染色体凝縮が完了し核膜の崩壊がおこる時には染色体の表層を完全に包み込んでいる。その後、分裂期を通じて染色体表層に局在する。分裂後、姉妹細胞で再構築される核小体に一部が局在するが、大部分は分解されると思われる。

クマドリンの染色体表層における機能を知る第一歩として部分的cDNAのTransient Expressionを行い、染色体表層への局在化のメカニズムを解析した。まず、蛋白質のC末期半分(クマドリンリピートおよびRS/NK ドメインを含む)が、内在性クマドリンと同様に分裂期染色体表層へ局在することが判った。さらに局在化の必須ドメインを特定するためにクマドリンリピートのみ、RS/NK ドメインのみの発現を試みた所、前者は特異的な局在性を示さないのに対し、後者は分裂期染色体上に局在した(但し、特徴的なPerichromosomal structure はとらなかった)。RS/NK ドメインは間期クロマチンの異常な凝縮および分裂後の姉妹細胞におけるクロマチンの脱凝縮阻害をひきおこし、いずれの場合も発現したRS/NK ドメインはヘテロクロマチン領域に局在していた。以上の結果は、クマドリンが高次クロマチン構造の構築または維持において重要な役割を果たすことを強く示唆する。

分裂期染色体周囲の構造は、その構成成分もほとんど同定されておらず機能も未知のままであった。本研究では構

成分の一つ(クマドリ)を新たに同定したのみならず、その蛋白質が高次クロマチン構造の構築または維持に重要な役割を果たすことを強く示唆した。高次クロマチン構造が外側からも規定されているという概念は、クロマチン構造を真に理解するために重要であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

遺伝子は、さかんに転写を行う非分裂期の細胞では不定形のゆるんだ構造をとるが、分裂時には染色体という特異な凝縮した構造をとる。この構造変化を制御する機構は、細胞学の基本課題ながらほとんど未解明である。高木昌俊君はこの問題に取り組み、ある単クローン抗体が、哺乳類培養細胞の染色体の周囲を縁どるように結合することを発見し、この抗体の抗原分子が染色体構造を制御する可能性に着目して分離と構造決定を行った。その結果分子量300 kD の新規タンパク質をえ、chmadrinと命名した。このタンパク質は2種の興味深い繰り返し構造を持ち、部分タンパクの発現実験などから、それぞれ自己集合と染色体上への配置とを担っている可能性が示唆された。chmadrinは分裂が終了するといった分解され、非分裂期に合成されて核小体に蓄積し、分裂期に染色体上に移動・結合するという興味深い挙動をとる。これはchmadrinが他の機構によってさらに制御されていることを示し、細胞生物学に新たな問題を提示した。このように高木君の研究は独創性に富み、細胞生物学研究への寄与は大きく、博士(理学)の学位論文として十分価値のあるものと認める。