

Title	Proteome analysis of human metaphase chromosomes
Author(s)	小林, 昇平
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46873
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 小 林 昇 平

博士の専攻分野の名称 博 士 (工 学)

学 位 記 番 号 第 19760 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 17 年 7 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

工学研究科応用生物工学専攻

学 位 論 文 名 Proteome analysis of human metaphase chromosomes
(ヒト分裂中期染色体のプロテオーム解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)
教 授 福 井 希 一

(副査)
教 授 原 島 俊 教 授 金 谷 茂 則 教 授 卜 部 格

論 文 内 容 の 要 旨

本論文はヒト分裂中期染色体に関する研究をまとめたものであり、第一章(緒言)、本論3章、第五章(総括)からなる。

第一章では、本研究の背景と目的、およびその意義について記述した。

第二章では、プロテオーム解析法を用いて染色体を構成する蛋白質を網羅的に同定し、分裂中期染色体を構成する蛋白質の全体像を得ることを目的とした。いくつかの調製法を組み合わせることにより、分裂中期に同調したヒト培養細胞から、精製度の異なる三種類の染色体を大量調製した。また、酢酸法を用いることにより、染色体から蛋白質を非常に効率よく抽出できることを明らかにした。電気泳動法による分離後 CBB 染色により検出した染色体蛋白質を、質量分析を利用した方法で網羅的に同定した。三種類の染色体間での蛋白質組成の比較や間接蛍光抗体法による個々の蛋白質の局在情報などをもとに、染色体構成蛋白質が Chromosome coating proteins、Chromosome peripheral proteins、Chromosome structural proteins、Chromosome fibrous proteins の 4 つのグループに分類できるとする、染色体構成蛋白質に基づく新しい染色体構造モデルを提案した。

第三章では、単離染色体および分裂中期細胞の樹脂切片に対する免疫染色結果から、プロテオーム解析により同定したカルレティキュリン (CRT) が染色体表面に局在することを明らかにした。また、生化学的解析等により、CRT がクロマチンおよびヒストンとの結合能を有しスーパーコイル活性を有することを明らかにした。以上より、CRT が染色体表面においてヒストンシャペロンとして機能することが示唆された。

第四章では、第二章で同定した蛋白質のうち染色体構造に直接的に関与している蛋白質を選定するために、単離染色体に対して NaCl 処理による解析を行った。0.4 M の NaCl を加えたときに染色体の著しい膨潤が観察され、同条件下においてヒストン H1 を含む約 20 個の蛋白質が染色体から特徴的に解離することを明らかにした。

最後に第五章では、本研究によって得られた分裂中期染色体に関する知見を総括し、分裂中期染色体に関する研究の将来の展望について記述した。

論文審査の結果の要旨

本論文はヒト分裂中期染色体に関する研究をまとめたものであり、第一章（緒言）、本論3章、第五章（総括）からなる。

第一章では、本研究の背景と目的、およびその意義について記述したものである。

第二章では、プロテオーム解析法を用いて染色体を構成する蛋白質を網羅的に同定し、分裂中期染色体を構成する蛋白質の全体像を得ることを目的としたものである。いくつかの調製法を組み合わせることにより、分裂中期に同調したヒト培養細胞から、精製度の異なる三種類の染色体を大量調製し、酢酸法を用いることにより、染色体から蛋白質を非常に効率よく抽出できることを明らかにしている。電気泳動法による分離後 CBB 染色により検出した染色体蛋白質を、質量分析を利用した方法で網羅的に同定している。三種類の染色体間での蛋白質組成の比較や間接蛍光抗体法による個々の蛋白質の局在情報などをもとに、染色体構成蛋白質が Chromosome coating proteins、Chromosome peripheral proteins、Chromosome structural proteins、Chromosome fibrous proteins の4つのグループに分類できるとする、染色体構成蛋白質に基づく新しい染色体構造モデルを提案したものである。

第三章では、単離染色体および分裂中期細胞の樹脂切片に対する免疫染色結果から、プロテオーム解析により同定したカルレティキュリン (CRT) が染色体表面に局在することを明らかにしている。また、生化学的解析等により、CRT がクロマチンおよびヒストンとの結合能を有しスーパーコイルリング活性を有することを明らかにしたものである。以上より、CRT が染色体表面においてヒストンシャペロンとして機能することが示唆されている。

第四章では、第二章で同定した蛋白質のうち染色体構造に直接的に関与している蛋白質を選定するために、単離染色体に対して NaCl 処理による解析を行ったものである。0.4 M の NaCl を加えたときに染色体の著しい膨潤が観察され、同条件下においてヒストン H1 を含む約 20 個の蛋白質が染色体から特徴的に解離することが明らかにされている。

最後に第五章では、本研究によって得られた分裂中期染色体に関する知見を総括し、分裂中期染色体に関する研究の将来の展望について論述している。

以上のように、本論文はプロテオーム解析法によりヒト分裂中期染色体を構成する 135 個の蛋白質を同定し、このうち量的には 90% 以上のものが核由来の蛋白質であることを明らかにしたものである。また、同定した蛋白質の一つであるカルレティキュリンが、染色体上でヒストンシャペロンとしての機能を有することを示唆し、加えて 0.4 M NaCl 条件下において染色体が著しく膨潤し、約 20 個の蛋白質が染色体から有意に解離することを明らかにしている。これらの研究結果により明らかにされた染色体蛋白質の全容は、染色体研究を進める上での基本的情報として大きく貢献するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。