The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Chinese hamster ovary (CHO) 細胞の染色体物理地図の構築と応用
Author(s)	曹, 溢華
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59181
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

【77】

氏　　名	曹（ソウ）　溢（エキ）　華（カ）（YIHUA CAO）
博士の専攻分野の名称	博　士（工学）
学 位 記 番 号	第　２５４６８　号
学位授与年月日	平成24年３月22日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 工学研究科生命先端工学専攻
学 位 論 文 名	Chinese hamster ovary (CHO) 細胞の染色体物理地図の構築と応用
論文審査委員	(主査) 教　授　大竹　久夫 (副査) 教　授　福井　希一　　教　授　藤山　和仁　　招聘教授　大政　健史

論 文 内 容 の 要 旨

第1章　序論

Chinese hamster ovary (CHO)細胞は樹立されて以来、様々な分子細胞生物学的研究やタンパク質医薬品生産に利用されてきた。しかし、重要な宿主動物細胞であるにも関わらず、それに対する基盤的な解明は十分にはなされていなかった。そこで、本研究ではCHO DR1000L-4N細胞から構築されたgenomic BACライブラリーを用いてCHO DG44細胞株の染色体物理地図の構築を行い、産業応用されているCHO細胞における染色体変化について解析した。

第2章　CHO細胞genomic BAC libraryを用いた染色体識別同定法の構築

第2章では、CHO細胞の染色体物理地図構築に必要な染色体の識別同定法を検討した。染色体上におけるセントロメアの相対位置および染色体の一部領域を含むBACクローンをプローブとして用いたfluorescence *in situ* hybridization (BAC-FISH)法により得られた蛍光画像に基づいて、対応する染色体における蛍光標識プローブの相対位置を測定することにより、染色体の凝縮状態などの調製条件に左右されない染色体識別同定法を構築した。構築した手法を用いることで、従来法に比較してより簡便にCHO細胞の染色体が同定可能であった。

第3章　CHO DG44細胞における染色体物理地図の構築

第3章では、構築した染色体識別同定法を用いて合計303個のBACクローンを各染色体上にマッピングすることにより、基礎研究と産業応用において汎用されているCHO DG44細胞株の染色体物理地図を構築した。次に、これらクローンの相対位置情報を元に染色体間の相同領域を分類し、DG44細胞株における染色体再配列を明らかにした。さらに、BACクローンの挿入末端配列情報をマウスのゲノム情報と比較し、CHO細胞染色体におけるマウスゲノム相当領域を明らかにした。

第4章　染色体物理地図を用いたCHO細胞株間の染色体再配列解析

第4章では、雌のチャイニーズハムスター肺組織から分離した初代細胞およびCHO K1細胞株の染色体に対してBAC-FISH法を行い、染色体再配列を解析した。185個のBACクローンをCHO K1細胞の染色体に、94個を正常チャイニーズハムスター細胞の染色体にマッピングすることにより、CHO細胞間及び正常チャイニーズハムスター細胞との染色体再配列において安定的に保持されている11本の染色体のうち7本は正常の染色体に近似していること、並びに再配列に関与する染色体変動を明らかにした。

第5章　結論

第5章においては、本論文で得られた結果を総括し、今後のCHO細胞研究における展望について述べた。本研究で得られた結果は、CHO細胞における安定発現細胞株構築など今後多方面でのCHO細胞に関わる研究への応用が期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

第１章　序論

Chinese hamster ovary (CHO)細胞は樹立されて以来、様々な分子細胞生物学的研究やタンパク質医薬品生産に利用されてきた。しかし、重要な宿主動物細胞であるにも関わらず、それに対する基盤的な解明は十分にはなされていなかった。そこで、本研究ではCHO DR1000L-4N細胞から構築されたgenomic BACライブラリーを用いてCHO DG44細胞株の染色体物理地図の構築を行い、産業応用されているCHO細胞における染色体変化について解析した。

第２章　CHO細胞genomic BAC libraryを用いた染色体識別同定法の構築

第２章では、CHO細胞の染色体物理地図構築に必要な染色体の識別同定法を検討した。染色体上におけるセントロメアの相対位置および染色体の一部領域を含むBACクローンをプローブとして用いたfluorescence *in situ* hybridization (BAC-FISH)法により得られた蛍光画像に基づいて、対応する染色体における蛍光標識プローブの相対位置を測定することにより、染色体の凝縮状態などの調製条件に左右されない染色体識別同定法を構築した。構築した手法を用いることで、従来法に比較してより簡便にCHO細胞の染色体が同定可能であった。

第３章　CHO DG44細胞における染色体物理地図の構築

第３章では、構築した染色体識別同定法を用いて合計303個のBACクローンを各染色体上にマッピングすることにより、基礎研究と産業応用において汎用されているCHO DG44細胞株の染色体物理地図を構築した。次に、これらクローンの相対位置情報を元に染色体間の相同領域を分類し、DG44細胞株における染色体再配列を明らかにした。さらに、BACクローンの挿入末端配列情報をマウスのゲノム情報と比較し、CHO細胞染色体におけるマウスゲノム相当領域を明らかにした。

第４章　染色体物理地図を用いたCHO細胞株間の染色体再配列解析

第４章では、雌のチャイニーズハムスター肺組織から分離した初代細胞およびCHO K1細胞株の染色体に対してBAC-FISH法を行い、染色体再配列を解析した。185個のBACクローンをCHO K1細胞の染色体に、94個を正常チャイニーズハムスター細胞の染色体にマッピングすることにより、CHO細胞間及び正常チャイニーズハムスター細胞との染色体再配列において安定的に保持されている11本の染色体のうち７本は正常の染色体に近似していること、並びに再配列に関与する染色体変動を明らかにした。

第５章　結論

第５章においては、本論文で得られた結果を総括し、今後のCHO細胞研究における展望について述べた。本研究で得られた結果は、CHO細胞における安定発現細胞株構築など今後多方面でのCHO細胞に関わる研究への応用が期待される。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。