

(様式 3 号)

学位論文の要旨

氏名 天川 玄太

〔題名〕

Quantitative analysis of centromeric FISH spots during the cell cycle by image cytometry

(イメージサイトメトリーを用いた細胞周期におけるFISHスポット解析)

〔要旨〕

背景：

In situ hybridization (FISH) は間期の核の染色体コピー数を可視化できることで知られている。FISH法は培養細胞だけではなく、パラフィン包埋組織やホルマリン固定組織でも応用することができ、広く研究や臨床分野で使われている。また、サイトメトリー分野ではフローサイトメトリーにより、細胞の発現解析や、細胞周期の統計解析が可能になっている。我々はイメージサイトメトリーを用いて細胞周期中のFISH定量解析を試みた。FISHスポット数の解析は報告があるが、FISHスポットの強度解析はこれまで報告がない。本研究では、細胞周期とFISHシグナルの解析方法の確立から確立、そこからFISHシグナルの強度解析についての評価を目指した。

材料と方法：

細胞材料として、乳癌細胞株であるCAL-51細胞を用いた。同一標本を用いてPI染色、FISH染色を行い、それぞれイメージサイトメーター (CELAVIEW-RS100, Olympus) を用いて解析を行った。各染色の画像を位置情報により重ね合わせ、PI染色により細胞周期解析を行い、その上にFISH解析のデータを重ね合わせた。これらにより、多染色より1細胞より複数の細胞情報を解析する方法を開発した。

結果：

本法を用いて、DNA含有量とFISHシグナル強度が細胞周期の同位置でリンクしていることが確認できた。また、1細胞において、同一染色体の2つのFISHシグナルにも強度差があることが同定できた。

結論：

細胞周期を染色体レベルで変化を定量することができた。また、S期をさらに細胞分化するこのS期の後期に急激に染色体複製が行われていることも確認でき、細胞周期を染色体レベルでの細胞の変化を追うことが可能となり、細胞周期異常や染色体毎の疾患区別化の研究に有用であると考えられる。

作成要領

1. 要旨は、日本語で800字以内、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用分子生命科学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1329 号	氏 名	天川 玄太
論文審査担当者	主査教授	岡 正朝	
	副査教授	坂井 功	
	副査教授	伊藤 浩史	
学位論文題目 (題目が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Quantitative analysis of centromeric FISH spots during the cell cycle by image cytometry (イメージサイトメトリーを用いた細胞周期における FISH スポット解析)			
学位論文の関連論文題目 (題目が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Quantitative analysis of centromeric FISH spots during the cell cycle by image cytometry (イメージサイトメトリーを用いた細胞周期における FISH スポット解析) 掲載誌名 Journal of Histochemistry & Cytochemistry 第 巻 第 号 P. ~ (2013 年掲載予定)			
(論文審査の要旨) Fluorescent <i>in situ</i> hybridization (FISH)は間期の核の染色体コピー数を可視化できることで知られている。FISH 法は培養細胞だけではなく、パラフィン包埋組織やホルマリン固定組織でも応用することができ、広く研究や臨床分野で使われている。また、サイトメトリー分野ではフローサイトメトリーにより、細胞の発現解析や、細胞周期の統計解析が可能になっている。これまで FISH スポット数の解析は報告があるが、FISH スポットの強度解析についての報告はない。本研究では、細胞周期と FISH シグナルの解析方法の確立、そこから FISH シグナルの強度解析についての評価を行なった。細胞材料として乳癌細胞株 CAL-51 細胞を用い、同一標本上で、PI 染色、FISH 染色を行い、それぞれイメージサイトメーターを用いて解析を行なった。各染色の画像を位置情報により重ね合わせ、PI 染色により細胞周期解析を行い、その上に FISH 解析のデータを重ね合わせた。こうすることによって 1 細胞から複数の細胞情報を解析する方法を開発した。さらに本法を用いて、DNA 含有量と FISH シグナル強度が細胞周期の同位置でリンクしていることが確認できた。また、1 細胞において、同一染色体の 2 つの FISH シグナルにも強度差があることも確認できた。以上の結果から、細胞周期を染色体レベルでの変化をもって定量することができ、また、S 期をさらに細分化することで S 期の後期に急激に染色体の複製が行われていることが確認された。今回確立した方法を用いることで、染色体レベルでの細胞の変化を追うことが可能となり、細胞周期異常や染色体毎の疾患区別化の研究に有用であると考えられた。 本研究はイメージサイトメーターを用いた FISH スポットの解析方法を確立し、FISH シグナルの新たな知見を得た論文であり、今後染色体レベルでの細胞周期解析の研究に飛躍的進歩をもたらすことが期待され、学位論文として十分に価値あるものであると認められた。			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。