



Title	Quantitative visualization of stable isotope-labeled chromosome using isotope nanoscope [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	永田, 康祐
Citation	北海道大学. 博士(理学) 甲第14366号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81965
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Kosuke_Nagata_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理 学） 氏 名 永田 康祐

	主 査	教 授	塚 本 尚 義
審査担当者	副 査	教 授	中 川 光 弘
	副 査	准教授	川 野 潤
	副 査	助 教	馬 上 謙 一

学 位 論 文 題 名

Quantitative visualization of stable isotope-labeled chromosome using isotope nanoscope
(同位体ナノスコープによる安定同位体標識された染色体の定量的な可視化)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

染色体は DNA と染色体タンパク質(主にヒストン)の複合体であり，DNA 損傷に対する応答や染色体の変異を調べるために放射性同位体や核酸のアナログを標識として用いて可視化されてきた。しかし，これらの標識は，DNA に取り込まれた場合に変異源として機能し，細胞の突然変異を引き起こすため，複数の細胞周期を経過するような長期間の実験には適さない。外的要因のない状態で染色体内での標識の動態を追跡するためには，変異原性のない標識を使用する必要がある。これを達成するためには，安定同位体を使用した標識手法が適すると考えられる。一方で，染色体に取り込まれた安定同位体標識の分布を可視化するためには，ナノメートルオーダーの空間分解能をもつ質量分析装置でのみ可能となるため，従来の方法では安定同位体標識を用いた細胞小器官レベルの標識動態解析は困難であった。

本論文では，細胞小器官である染色体における，安定同位体標識の詳細な分布を解析する手法を開発し，分析装置の開発及びその性能評価と実際の染色体を分析した際の定量性の評価を行なった。

高空間分解能同位体イメージングを行うために同位体ナノスコープを適用した。同位体ナノスコープの一次イオン光学系の収差補正を行い，収差補正なしに比べて，空間分解能を 1.4 倍向上させることができた。また，イオンイメージの空間分解能が加速電圧 20 kV，一次イオン電流 3 pA の一次イオンビームによって 20 nm を達成したことから，従来に比べて低い加速電圧かつ高いイオン電流密度のビームによる高空間分解能イオンイメージングが可能であることを示した。

このイオンイメージング技術を用いて，安定同位体置換グルコース($U\text{-}^{13}\text{C}_6\text{-Glucose}$)で段階的に標識したヒト培養細胞の染色体がもつ標識量を，炭素同位体存在度 $[\text{}^{13}\text{C}/(\text{}^{12}\text{C} + \text{}^{13}\text{C})]$ 画像から定量した。その結果，2 本鎖 DNA の炭素同位体標識状態と対応する 3 つの同位体存在度ピークが得られた。これらのピークは等間隔に分布しなかったが，染色体に含まれるヒストンの影響を考慮して DNA のみの同位体存在度を計算したところ，3 つのピークは等間隔に分布し，DNA の半保存的複製が再現された。以上から，細胞分裂に伴う安定同位体標識量の変化を定量的に可視化できることが示された。

以上を要するに，著者は，高い電流密度のイオンビームによる安定同位体分布の高空間分解能で定量的なイメージング法を確立した。そして，染色体の炭素同位体イメージングを行うことで，細胞小器官内に発生した標識量の変化を，安定同位体のみを用いて追跡する新手法を確立した。これは，細胞生物学的研究にユニークかつ強力な手段を加えるものであり，生体機能の解明に対してその貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。