

氏名 清成 寛

(※論文提出者の氏名を記入)

主論文審査の要旨

《本文》

発生生物学の分野において、変異マウスは遺伝子の機能を知る為の重要かつ必須なツールの一つであり、その作成技術は今日まで目覚ましい発展を遂げているが、改善すべき点も数多く残されている。本研究ではノックアウトマウス作成における新たな技術開発とその技術を利用したバイオイメーjingへの応用について検討した。

第1章では、研究の背景と目的について述べている。

第2章では、材料と方法について詳しく述べている。

第3章では、ベクター構築法及びリクローニング法の開発について述べている。変異マウス作成において最も時間を要するのはターゲティングベクターの作製であるが、学位論文提出者は、PCR法を活用する事と大腸菌の中でプラスミド同士の組換えを起こさせる技術を利用することで、ES細胞内での相同組換え効率を低下させることなく、従来よりも大幅な時間短縮と簡略化したターゲティングベクターの作製技術の開発に成功した。また、ES細胞は一般的に継代を繰り返すと生殖細胞への分化能が低下するという問題について、リクローニング法により、継代を繰り返したES細胞からも高率に生殖細胞へ分化するES細胞を得ることに成功した。

第4章では、3つのinhibitor (3i)を用いたC57BL/6/N由来ES細胞の樹立と解析について述べている。C57BL/6系統マウスは各種の実験に広く利用されている標準系統であり、またBACライブラリーなど様々なリソースが最も豊富な系統であることからC57BL/6由来のES細胞株を樹立することが期待されているが、従来の方法では効率良くES細胞株を樹立することは極めて困難であった。そこで学位論文提出者はYingら(2008)によって開発された3iを培地内に添加する方法を用いて、C57BL/6由来のES細胞株の樹立に成功した。

第5章では、Knock Inマウスの初期胚を用いたバイオイメーjingについて述べている。新開発したノックアウトマウス作成技術を駆使し、ROSA26遺伝子座にレポーター遺伝子を導入して様々な細胞小器官でその遺伝子を発現するマウスを作成した。作成したマウスについて、2細胞期から胚盤胞期までの初期胚の各細胞小器官においてレポーター遺伝子の発現を確認できた。また、着床前後の胚における細胞小器官の経時的観察を可能にする為、着床前から6.5日目胚近くまでの連続した全胚培養技術を確立した。

第6章では、第3～5章までの結果を踏まえ、本研究で確立した技術が、ノックアウトマウスを迅速かつ安定に作成することを可能にし、また、レポーター遺伝子を用いたバイオイメーjingは、初期発生中の遺伝子の働きや細胞の動きを明らかにする重要な手段になることが期待されるという考察を述べている。

【学位審査報告書の3、論文審査の結果の要旨のみを記入】

審査委員会は、学位論文提出者に対して、本論文の内容及び専門分野についての口頭試験を行った結果、論文提出者は当該研究分野について十分な知識と理解力を有していると判断した。また、本研究成果の一部は、2編の国際学術雑誌に既に掲載されており、さらに学位論文提出者の約1年間の博士後期課程在学中に国際学術雑誌にフルペーパー1編として掲載済みである。それ以外にも40編の論文を国際学術雑誌に発表している。被推薦者は、理化学研究所において日常の業務をこなしつつ、本大学院社会人学生として研究に熱心に取り組み、自立した研究者として研究を遂行できる能力を既に備えていると判断された。

審査委員	理学専攻生命科学講座担当教授	氏名	安部眞一
審査委員	理学専攻生命科学講座担当教授	氏名	瀧尾進
審査委員	理学専攻生命科学講座担当教授	氏名	高宗和史
審査委員	理学専攻生命科学講座担当准教授	氏名	北野健

(審査委員は全員記入)