T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	枯草菌ゲノムベクターシステムを用いたクラスⅠ嗅覚受容体遺伝子の発現制御領域の解析
Title(English)	Studies on the cis-element for mouse class I odorant receptor genes using the Bacillus subtilis genome vector system
著者(和文)	岩田哲郎
Author(English)	Tetsuo Iwata
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9686号, 授与年月日:2014年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:廣田　順二,中村　聡,和地　正明,福居　俊昭,蒲池　利章
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9686号, Conferred date:2014/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

（博士課程）

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第　　号		学位申請者氏名	岩田　哲郎	
論文審査 審 査 員		氏　名	職　名	氏　名	職　名
	主査	廣田　順二	准教授	蒲池　利章	准教授
	審査員	中村　聡	教授		
		和地　正明	教授		
		福居　俊昭	准教授		

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は、「Studies on the *cis*-element for mouse class I odorant receptor genes using the *Bacillus subtilis* genome vector system（枯草菌ゲノムベクターシステムを用いたクラスＩ嗅覚受容体遺伝子の発現制御領域の解析）」と題し、英文で書かれ５章よりなっている。

第１章「General introduction（序論）」では、これまでの巨大 DNA クローニングシステムとそれらを用いたマウストランスジェネシス法、枯草菌ゲノム（BGM）ベクターシステムについて概説している。BGM ベクターシステムは、メガベース以上の巨大 DNA 断片のクローニングや相同組換えを利用した遺伝子改変操作が可能な新たなゲノム工学ツールである。しかし、クローニングから遺伝子改変までの一連の操作技術は未だ開発途上であり、またトランスジェネシスへの応用例もない。本研究では BGM ベクターシステムの遺伝子操作法の確立と応用技術開発のため、マウスクラスＩ嗅覚受容体遺伝子クラスター領域に着目している。特に嗅覚受容体遺伝子の発現制御機構・発現制御領域に関するこれまでの知見を概説し、本研究の目的と意義を述べている。

第２章「Development of a complete genetic manipulation method for the BGM vector system（BGM ベクターにおける遺伝子改変法の確立）」では、BGM ベクターシステムを用い、考えうる全ての遺伝子操作を確立することを目的とし、トランスジーンの構築とゲノム DNA の再構築をおこなっている。具体的には、選択マーカーを残さない挿入法とインサート領域の逆位法を新たに確立し、クラスＩ嗅覚受容体遺伝子の１つである *MOR42-3* の下流へレポーターカセット *IRES-tauEGFP* の挿入と逆位操作を介したゲノム DNA 再構築により、252 kb のインサートをもつトランスジーンを構築している。さらにトランスジーンの次世代シーケンス解析により、正しく組換えが生じていること、改変操作中に変異が生じていないことを明らかにしている。

第３章「The BGM vector-based mouse transgenesis（BGM トランスジェニックマウス作製法の確立）」では、BGM ベクターシステムを哺乳動物遺伝子改変へ応用するため、２章で構築したトランスジーンを用いたマウストランスジェネシス法の確立について述べている。BGM ベクターからのトランスジーン精製プロトコールを確立し、マウス受精卵へのマイクロインジェクション法によって、完全長のトランスジーンを有するトランスジェニックマウス系統の樹立に成功している。さらにトランスジェニックマウスにおけるレポーター遺伝子の詳細な発現解析によって、トランスジーン由来の *MOR42-3* が機能的に発現していることを示している。以上より、BGM ベクターによるマウストランスジェネシス法を確立すると同時に、初めてクラスＩ嗅覚受容体遺伝子の発現制御領域の存在を実験的に証明している。

第４章「Identification and functional analysis of *cis*-element for a class I odorant receptor gene（クラスＩ嗅覚受容体遺伝子の発現制御領域の同定と機能解析）」では、３章で示された発現制御領域の絞り込みのため、BGM トランスジーンの欠失解析および機能解析をおこなっている。トランスジェニックマウスの解析と情報学的解析を駆使し、最終的に約 3.8 kb の領域をクラスＩ嗅覚受容体遺伝子の発現制御領域として同定している。さらに同定した領域が進化的に多くの哺乳動物で保存されていることを見出している。

第５章「Conclusion（総括）」では、本研究の要点を総括し、本研究の意義と今後の展望を述べている。

これを要するに、本論文は BGM ベクターシステムの技術基盤の確立と応用技術の開発をおこない、マウスクラスＩ嗅覚受容体遺伝子の発現制御領域を同定することによって BGM ベクターシステムの有用性を明らかにし、本システムが次世代の巨大 DNA クローニングツールとなることを実証したものであり、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって本論文は、博士（工学）の学位論文として十分に価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。