

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	転写因子タンパク質を固定化した細胞外マトリックスによる細胞分化誘導
Title(English)	
著者(和文)	蕭淑麗
Author(English)	Judy Siew
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10594号, 授与年月日:2017年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:櫻井 実,近藤 科江,丸山 厚,小島 英理,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10594号, Conferred date:2017/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

(論文博士)

## 論 文 要 旨 (和文2000字程度)

報告番号	乙 第	号	氏 名	シウ ソックリー SIEW SOKE LEE
<p>(要 旨)</p> <p>本論文は、「転写因子タンパク質を固定化した細胞外マトリックスによる細胞分化誘導」と題し、5章より構成されている。</p> <p>第1章「序論」では、現在の再生医療における、組織工学の重要性について概説し、細胞分化の制御における転写因子の重要性、より腫瘍化リスクの少ないタンパク質の導入法について述べている。また、coiled-coil構造を形成するペプチド配列を介して、細胞膜透過能を有する組織特異的転写因子タンパク質を固定化した細胞外マトリックスを構築することが可能であることを述べており、最後に本研究の目的と意義を明らかにしている。</p> <p>第2章「Olig2タンパク質を固定化した細胞外マトリックスの構築」では、細胞膜透過能を有する組織特異的な転写因子タンパク質を固定化した細胞外マトリックスの構築を目的としている。当研究室は、細胞接着及び神経突起伸長促進能を有するラミニン由来配列AG73ペプチド(RKRLQVQLSIRT)と神経細胞接着分子(NCAM)結合配列であるC3ペプチド(ASKKPKRNIKA)と疎水性ヘキサペプチド(APGVGV)を12回繰り返した配列(E)と組み合わせたものを構築して、神経分化誘導に適した足場タンパク質材料である細胞外マトリックスタンパク質EAECの構築に成功した。また、膜透過能を有している組織特異的な転写因子Olig2を用いて、神経細胞への分化を制御できる転写因子タンパク質として作製した。細胞外マトリックスタンパク質EAECを用いて、coiled-coil構造を形成するペプチドを介して、神経細胞の分化制御を持つ組織特異的な遺伝子タンパク質Olig2を非共有結合により固定化することが可能となる。そこで、helix Aを融合した転写因子タンパク質Olig2の膜透過能と分化能を評価して、helix Bを融合した細胞外マトリックスタンパク質EAECの細胞接着能を評価した。また、ELISA法で、coiled-coil構造を形成するペプチドの結合能も評価した。その結果、この転写因子を固定化した細胞外マトリックス上で胚性腫瘍細胞であるp19細胞は、神経細胞へ分化誘導能することが明らかとなった。</p> <p>第3章「マウスiPS細胞への転写因子タンパク質導入による細胞分化の誘導」では、マウス人工多能性幹細胞(miPS)を用いて、神経組織特異的転写因子タンパク質Olig2、NeuroD2、筋組織特異的転写因子タンパク質MyoDにおける細胞分化誘導能の評価を目的としている。当研究室では、神経分化制御を担う転写因子Olig2にマウス胚性腫瘍細胞株p19細胞を用い、同じく神経分化制御を担う転写因子NeuroD2にマウス神経芽細胞腫N1E-115細胞を用い、筋分化制御を担う転写</p>				

因子MyoDにマウス筋芽細胞株C2C12細胞を用いて、それぞれのタンパク質導入による細胞分化誘導が可能であることを明らかにした。そこで本章では、当研究室では実績のないmiPS細胞を用いて、神経分化制御を担う転写因子Olig2および転写因子NeuroD2、または筋分化制御を担う転写因子MyoDを用いて、転写因子タンパク質導入によるマウスiPS細胞の分化誘導が可能であるかを評価した。miPS細胞の単層培養で、神経分化の制御を担うOlig2、NeuroD2タンパク質導入による神経細胞への分化誘導が可能であることを明らかにした。また、胚様体を形成したmiPS細胞においても、神経細胞への分化誘導が可能であることを明らかにした。一方、筋分化の制御を担うMyoDタンパク質導入では、単層培養での分化誘導は見られず、胚様体形成時にのみ分化誘導ができた。その結果、マウスiPS細胞においても、転写因子タンパク質導入による分化誘導が可能であることが明らかとなった。

第4章「MyoD固定化細胞外マトリックスによるmiPS細胞からの筋分化誘導」では、細胞外マトリックスタンパク質EREにcoiled-coil構造を形成するペプチドを介して転写因子タンパク質MyoDを固定化し、マウスiPS細胞からの筋分化の誘導が可能であるかを検討することを目的とした。本章では、当研究室で構築済みのエラスチン由来の安定なβスパイラル構造を有する疎水性ヘキサペプチド（APGVGV）を12回繰り返した配列（E）の間に、フィブロネクチン由来の細胞接着ペプチド（RGD）が挿入された人工細胞外マトリックスタンパク質EREを用いて、coiled-coil構造を形成するペプチドを介して、筋組織特異的な転写因子タンパク質MyoDを固定化して、筋細胞への分化誘導能を有するかを評価した。ここで、helix Aを融合した転写因子タンパク質MyoDの分化能を評価し、helix Bを融合した細胞外マトリックスタンパク質EREの接着能を評価した。さらに、転写因子タンパク質MyoDを1日だけを投与して、そのシグナルは継続的に必要なのか、あるいは1回のシグナルで十分であるかの評価を行った。その結果、MyoDタンパク質固定化細胞外マトリックス上に胚様体を形成したmiPS細胞を培養すれば、筋細胞への分化誘導が可能であることが明らかとなった。

第5章「結論」では、各章を統括するとともに、coiled-coil構造を形成するペプチドを介して、転写因子タンパク質を固定化した細胞外マトリックスの構築における可能性と有用性について述べている。

以上

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、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。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(論文博士)

## 論 文 要 旨 ( 英 文 )

(300語程度)

(Summary)

報告番号	乙 第	号	氏 名	シウ ソックリー SIEW SOKE LEE
<p>( 要 旨 )</p> <p>Tissue engineering is a combination of cells, signaling factors and scaffolds. Therefore, extracellular matrix (ECM) is one of the important factor in scaffold materials, as it is needed to support cell attachment and maintain the function of signaling factor for cell differentiation and cell growth. In the previous study, a new concept of artificial ECM protein was designed by using the combination of those functional domains from ECMs. Furthermore, we succeed to immobilize growth factor to the designed artificial ECM through noncovalent associations by helix A and helix B via coiled-coil formation. We confirmed the ability of cell differentiation in these combination too. As we know, tissue-specific transcription plays an important role in cell differentiation control. And, we succeeded to induce the cell differentiation with using basic helix-loop-helix (bHLH) tissue-specific transcription factors proteins.</p> <p>In this study, we suggested the construction of tissue-specific transcription factor-tethered ECM protein via coiled-coil formation. The helix A-fused tissue-specific transcription factors Olig2 was designed to tether with the helix B-fused ECM protein EAEC via coiled-coil formation. We succeeded to induce neural cell differentiation with these tethered proteins. Next, we also confirmed the ability of cell differentiation with several cell lines, such as neuroblastoma tumor cells, embryonal carcinoma cells, and myoblast cells. In this study, we decided to use mouse induced pluripotent stem cells (miPS ) to determine the ability of cell differentiation with neuron tissue-specific transcriptions factor proteins, Olig2 and NeuroD2; muscle tissue-specific transcriptions factor protein, MyoD. We succeeded to induce the miPS cells in neuron cells and muscle cells respectively. Subsequently, we designed the helix A-fused tissue-specific transcription factors protein MyoD tethering to ECM protein ERE via coiled-coil formation. With these tethered proteins, we succeeded induce the muscular differentiation by using miPS cells.</p> <p>In this study, a tissue-specific transcription factor protein was tethered to an artificial ECM protein via coiled-coil formation and it showed the ability of cell differentiation.</p>				

備考：論文要旨は、和文2000字と英文300語を1部ずつ提出するか、もしくは英文800語を1部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、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。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).