

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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	SIEW SOKE LEE	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 櫻井 実	教授	三重 正和	准教授
	近藤 科江	教授		
	丸山 厚	教授		
	小島 英理	教授		

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、以下の5章より構成されている。

第1章「序論」では、組織工学における細胞分化制御の重要性、細胞分化における転写因子の役割、転写因子を用いた分化誘導法について概説し、本研究の目的と意義について述べている。

第2章「Olig2 タンパク質を固定化した細胞外マトリックスによる P19 細胞の神経分化誘導」では、細胞膜透過能を有する神経特異的な転写因子 Olig2 タンパク質を固定化した細胞外マトリックスを構築し、その機能評価を行っている。細胞膜透過能を有することが報告されている Olig2 タンパク質は、coiled-coil 構造を形成するヘリックスペプチドを利用し、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 回繰り返した配列を融合した細胞外マトリックスタンパク質(EAEC)に固定化している。ヘリックスペプチドを融合した Olig2 と EAEC タンパク質を構築し、それぞれの融合タンパク質の機能を評価している。固定化のためにヘリックスペプチドを融合した Olig2 タンパク質は、ヘリックスペプチドを融合しても Olig2 の有している細胞膜透過能と分化誘導能を保持していることを明らかにしている。同様にヘリックスペプチドを融合した細胞の足場となる EAEC タンパク質も、ヘリックスペプチドを融合しても細胞接着能を保持していることを明らかにしている。また、ELISA 法で、coiled-coil 構造を介した転写因子タンパク質の細胞外マトリックスへの固定を評価している。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 細胞を培養すると、神経細胞分化が誘導されることを明らかにしている。

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方向の制御」では、神経組織特異的な転写因子タンパク質 Olig2、NeuroD2、筋組織特異的な転写因子タンパク質 MyoD の導入によるマウス人工多能性幹細胞 (miPS) の神経あるいは筋細胞への分化を評価している。単層培養した miPS 細胞に、神経分化を誘導する転写因子 Olig2 あるいは NeuroD2 タンパク質を添加すると、転写因子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ている。また、胚様体を形成した miPS 細胞においても、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ている。一方、筋分化の制御を担う MyoD タンパク質の導入では、単層培養している miPS 細胞での分化は起こらないこと、それに対して胚様体を形成した miPS 細胞においては、分化が誘導されることを明らかにしている。

第4章「MyoD タンパク質を固定化した細胞外マトリックスによる miPS 細胞の筋分化誘導」では、転写因子タンパク質 MyoD を固定化した細胞外マトリックスタンパク質を構築し、その機能評価を行っている。MyoD タンパク質は、coiled-coil 構造を形成するヘリックスペプチドを利用し、フィブロネクチン由来の細胞接着ペプチド (RGD) と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 回繰り返した配列を融合した細胞外マトリックスタンパク質 (ERE) に固定化している。ヘリックスペプチドを融合した MyoD と ERE タンパク質を構築し、それぞれの融合タンパク質の機能を評価している。固定化のためにヘリックスペプチドを融合した MyoD タンパク質は、ヘリックスペプチドを融合しても MyoD の有している細胞膜透過能と分化誘導能を保持していることを明らかにしている。同様にヘリックスペプチドを融合した ERE タンパク質も、細胞接着能を保持していることを明らかにしている。また、ELISA 法で、coiled-coil 構造を介した転写因子タンパク質の細胞外マトリックスへの固定化を評価している。MyoD タンパク質固定化細胞外マトリックス上で胚様体を形成した miPS 細胞を培養すると、筋細胞への分化誘導が可能であることが明らかにしている。

第5章「結論」では、各章で得られた結果を総括するとともに、今後の展望が述べられている。

以上を要するに、本論文は、転写因子タンパク質を固定化するという新たな細胞外マトリックス構築法を示し、今後の組織工学の発展に資する多くの知見を得たものであり、工学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な価値があるものと認められる。