

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	WHOLE GENOME SEQUENCING-BASED MUTATION ANALYSIS OF HUMAN CELLS IN CULTURE
著者(和文)	MILAIEnkhbaatar
Author(English)	Enkhbaatar Milai
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第252号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:松本 義久,塚原 剛彦,片淵 竜也,鷹尾 康一郎,山村 雅幸
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第252号, Conferred date:2025/3/26, 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

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	MILAI ENKHBAATAR		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	松本 義久	教授	審査員	山村 雅幸	教授
	審査員	塚原 剛彦	教授			
		片渕 竜也	准教授			
鷹尾 康一朗		准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「Whole genome sequencing-based mutation analysis of human cells in culture」と題し、全6章から構成されている。

第1章「GENERAL INTRODUCTION」では、本研究の背景と目的を述べている。まず、DNA損傷と修復機構、放射線の生体影響の概要を述べている。その中で特に、しきい値がないと仮定され、いかに小さな線量でも起こる可能性があり、低線量・低線量率放射線影響の中で重要と考えられるがん遺伝性影響については、それぞれ体細胞、生殖細胞における変異が原因と考えられる。変異の定量的解析は古くから視認が容易な表現型の変化を与える遺伝子に注目した研究(特定座位(SLT)法)によって行われてきたが、近年、次世代シーケンサーによる全ゲノム解読(WGS)が可能となり、変異研究に変革がもたらされつつある。以上の現状を踏まえ、体細胞においてはWGSの特長を生かした研究が十分に行われていないことを指摘するとともに、これによって低線量・低線量率放射線影響の解明に大きな進歩がもたらされる可能性を述べている。そして、本研究の目的は、単一細胞由来クロソンの作製とWGSを組み合わせることににより、放射線誘発体細胞変異を解析することであると、さらに第3-5章各章の目的について述べている。

第2章「GENERAL MATERIALS AND METHODOLOGY」では、本研究を通して用いられる材料、方法について述べている。具体的には、用いた細胞や培養操作ならびに条件、放射線照射の方法や条件、ゲノムDNA試料の調製方法、全ゲノム塩基配列解析法の概略について述べている。

第3章「MUTATION ANALYSIS OF HUMAN FIBROBLAST NB1RGB CELLS EXPOSED TO LOW DOSE RATE GAMMA IRRADIATION BY WHOLE GENOME SEQUENCING」では、ヒト新生児皮膚由来線維芽細胞NB1RGBを用いて、低線量率 γ 線照射による変異の解析を行っている。具体的には、NB1RGB細胞を単一細胞となるように96ウェルに播種し、非照射、1日あたり1mGyあるいは20mGy照射の3条件で21日間培養後、クロソンを単離している。これらのクロソんと、クロソン化していないNB1RGB細胞集団からそれぞれゲノムDNAを抽出し、WGSを行っている。3条件各2個、計6個のクロソんで平均888個の単塩基置換が得られているが、照射細胞と非照射細胞の間で単塩基置換の数に違いは見られていない。また、パターンにも違いが見られないという結果を得ている。

第4章「MUTATION ANALYSIS OF HUMAN LYMPHOBLASTOID TK6 CELLS EXPOSED TO X-RAY AND NUCLEAR REACTOR RADIATION BY WHOLE GENOME SEQUENCING」では、ヒトリンパ芽球TK6細胞を用いて、X線および原子炉照射による変異の解析を行っている。具体的には、まず、TK6細胞を単一細胞となるように96ウェルに播種し、第一次クロソンを形成させ、X線1Gy照射あるいは原子炉で中性子0.5Gyおよび γ 線0.5Gy照射後、再び単一細胞となるように96ウェルに播種し、第二次クロソンを形成させ、WGS解析を行っている。その結果、X線照射細胞において、非照射細胞より単塩基置換が増えるという結果を得ている。一方、原子炉照射細胞においては、単塩基置換数では非照射細胞と違いは見られていない。このことについて、中性子による細胞致死効果や、照射中の回復の可能性を挙げている。

第5章「MUTATION ANALYSIS OF HUMAN LYMPHOBLASTOID TK6 CELLS EXPOSED TO LOW DOSE RATE GAMMA RADIATION BY WHOLE GENOME SEQUENCING」では、TK6細胞を用いて、低線量率 γ 線照射による変異の解析を行っている。具体的には、TK6細胞を単一細胞となるように96ウェルに播種し、第3章と同じ3条件で10日間培養後、第一次クロソンを単離している。さらにこれらのクロソんと、クロソン化していないNB1RGB細胞集団からそれぞれゲノムDNAを抽出してWGS解析を行い、線量率による変異の質的、量的差異の有無を明らかにしている。

第6章「CONCLUSION AND PERSPECTIVES」では、以上で得られた結論をまとめ、今後の展望を述べている。

これを要するに、本論文は、独自の単一細胞由来クロソン作製法と全ゲノム解読の組合せにより、放射線誘発体細胞変異を解析する新たな手法を確立し、これを用いて種々の放射線照射条件での変異を明らかにしており、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認められる。