

論文審査の要旨および学識確認結果

報告番号	甲／乙第 号	氏 名	市田 悠
論文審査担当者： 主査 慶應義塾大学教授 工学博士 佐藤 智典			
副査 慶應義塾大学教授 農学博士 井本 正哉			
慶應義塾大学准教授 博士(地球環境科学) 土居 信英			
慶應義塾大学准教授 博士(工学) 清水 史郎			
国立成育医療研究センター研究所部長 博士(医学) 小野寺 雅史			
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学士(応用生物科学)・修士(工学)市田 悠君提出の学位請求論文は「レトロウイルスベクターの抑制性因子である ZFP809 の機能および特徴解析」と題して、4章で構成されている。モロニーマウス白血病レトロウイルス MoMLV は遺伝子導入実験や遺伝子治療におけるウイルスベクターとして利用されている。ところが、MoMLV は胚性幹細胞のような未熟細胞においてその遺伝子発現活性が強力に抑制されており、その抑制因子としてマウスでは未熟細胞に高発現している Zn フィンガー (ZF) タンパク質 809 (ZFP809) が同定されている。ZFP809 は Kruppel associated box (KRAB) と呼ばれるドメインを N 末端に有し、C 末端に 7 個の ZF ドメインを有している。これまでの ZFP809 の機能解析から、ZF ドメインが MoMLV の末端の長い反復配列である LTR 下流にあるプライマー結合サイト (PBS) に結合し、同時に KRAB ドメインが他の核内転写抑制因子と複合体を形成することで、LTR 周辺のヒストンのメチル化と LTR DNA のメチル化を促し、MoMLV 由来の遺伝子発現を抑制していると考えられている。しかしながら、遺伝子発現を抑制するために必要な ZFP809 の結合ドメインは十分に解析されていない。そこで本論文では、ZFP809 の遺伝子発現抑制効果を経時的に解析するためにフローサイトメトリーや蛍光顕微鏡を併用した実験系が構築され、これを用いて、遺伝子発現抑制効果に寄与する ZFP809 ドメインの解明が行われている。</p> <p>第一章では、レトロウイルスベクターの利点と問題点および ZFP809 の構造と機能についての知見が総括的にまとめられており、本研究を行うことの意義と目的が述べられている。</p> <p>第二章では、ZFP809 によるレトロウイルスベクターの発現抑制効果を経時的に解析するための実験系が構築されている。2種類の蛍光タンパク質を用いることで、ZFP809 の発現に依存した MoMLV 由来の蛍光タンパク質の発現推移が経時的にモニタリングされ、長期間に亘る発現抑制効果が可視的に解析されている。さらに、蛍光タンパク質発現が ZFP809 により抑制された細胞を用いて、エピジェネティクス解析が行われ、ヒストンへのメチル化は使用するプロモーターに依存しなかったが、DNA のメチル化はレトロウイルスを使用した細胞でのみ検出されることを見いだしている。このことから、レトロウイルスベクターでは 2 段階の発現抑制が起きており、これにより強固な防御機構が働いていると述べている。</p> <p>第三章では、遺伝子発現抑制効果に関与する ZFP809 のドメイン解析が行われている。ZFP809 の欠損変異体が作製され、細胞内局在、遺伝子発現抑制効果および PBS への結合能の解析が行われている。その結果、ZFP809 が核内に局在するには KRAB ドメインと 2 個以上の ZF ドメイン、遺伝子発現抑制効果には KRAB ドメインと 5 個以上の ZF ドメイン、さらに PBS への結合には 5 個以上の ZF ドメインが必要であることを明らかにしている。</p> <p>第四章では本研究の結論が述べられている。</p> <p>本論文では、未熟細胞におけるレトロウイルスベクターの遺伝子発現抑制に関わる ZFP809 の新たな性質を見いだしており、これらの知見は遺伝子治療や再生医療において有効なウイルスベクターの開発に貢献するものと考えられる。よって、本論文の著者は博士(理学)の学位を受ける資格があるものと認める。</p>			
学識確認結果	学位請求論文を中心にして関連学術について上記審査委員で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。 また、語学(英語)についても十分な学力を有することを確認した。		