

## 論文審査の要旨および学識確認結果

報告番号	甲 第 号	氏 名	中村 允
論文審査担当者：	主査	慶應義塾大学教授	工学博士 岡 浩太郎
	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（工学） 舟橋 啓
		慶應義塾大学准教授	医学博士 松本 緑
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>学士（理学）、修士（理学）中村允君提出の博士学位論文は、「3次元尾芽胚モデルの構築とラマン顕微分光法によるホヤ胚形態形成過程の解析」と題し、5章より成っている。</p> <p>尾索動物ホヤの尾芽胚は脊索動物固有の体制を備えており、脊索動物に固有の体制がどのように形成されるかを解明する手掛かりになる。ホヤ胚は細胞数が少なく、構造は単純であるため、全構成細胞の数・形態・配列といった解剖学的情報、および分化状態の情報の取得は比較的容易である。しかしながら、これまで尾芽胚の1細胞レベルでの解剖学的情報を取得した報告はなかった。また分化状態の識別に用いる既存手法には、同定に用いる分子の発現時期や領域に依存すること、また同時に識別できる組織数が限られること等の問題点があった。一方、形態形成メカニズムを分子レベルで理解する上では胚内の分子組成や分布の情報が重要である。特に小分子化合物は標識が困難なため、胚内の分布を標識しないで可視化する手法が求められる。以上のような背景から、ホヤ胚の形態形成過程を解析する上で有用な、尾芽胚の解剖学的情報と、各発生段階にある胚の分化状態、そして胚内の分子組成・分布に関する情報をイメージング手法により取得・可視化することを本論文の目的としている。</p> <p>第1章では、形態形成過程を研究する上でのホヤ胚の利点と従来研究をまとめ、3次元胚の構築およびラマン顕微分光法の知見について記し、最後に本論文の目的と構成を説明している。</p> <p>第2章では、共焦点顕微鏡画像からカタユレイボヤ尾芽胚の3次元的な形態を反映した3D virtual mid-tailbud embryo (3DVMTE) を構築し、ホヤ尾芽胚に関する解剖学的情報を網羅的に取得・解析したことを報告している。これにより野生型ホヤ尾芽胚各組織の細胞数が初めて判明した。また胚の3次元的な解剖学的特徴が1細胞レベルで明らかになり、カタユレイボヤでは従来報告のなかった細胞群を、体幹側および尾部側に1群ずつ見出している。加えて細胞系譜情報と解剖学的情報を対応付けるために3D PDF形式の3DVMTEを構築し、胚を構成する約1500細胞全てに対してこれらの情報を記載している。</p> <p>第3章では、ラマン顕微分光法を用いた細胞分化状態の可視化と胚内の分子組成・分布の検出について報告している。ホヤ胚から取得したラマンスペクトルの解析から、分子組成が組織間で異なる様子を明らかにした。さらにスペクトルの違いから、1002 cm<sup>-1</sup>と1526 cm<sup>-1</sup>のそれぞれのラマンバンドに注目することで、尾芽胚期までの筋肉および内胚葉それぞれの位置と形を非標識で可視化することに成功した。これらの組織の識別に寄与した要素（細胞小器官や分子種）を推定し、カロテノイドおよびレチノイドの胚内分布をラマン顕微分光法により可視化できることを示唆した。また細胞分化過程において、未分化細胞から分裂した2つの娘細胞の内、筋肉または内胚葉へ分化した娘細胞を、もう一方の別の分化運命をたどる娘細胞から識別することに成功した。</p> <p>第4章は総括で、本研究成果である3次元胚モデルの構築およびラマン顕微分光法による、尾芽胚の形作りを含むホヤ胚の発生メカニズムについてまとめ、将来どのような解析が可能であるか議論している。さらにこれらの手法の課題と改善点について考察している。</p> <p>第5章では本論文の結言を述べている。</p> <p>以上本論文はホヤ尾芽胚を材料として、その細胞構築を詳細に記載する3次元モデルとラマンイメージング手法を併用し、発生生物学研究に資する新たな知見を得ることに成功している。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	<p>学位請求論文を中心にして関連学術について上記審査会委員で試問を行い、当該学術に関し広く深い学識を有することを確認した。</p> <p>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。</p>		