

[別紙 2]

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 黄 嘯

本研究は真核細胞の機能に重要な役割を演じていると考えられる細胞内物質輸送の生物学的重要性を明らかにするため、キネシンスーパーファミリータンパク質(KIFs)の一員である KIF16A 分子について、Cre/loxP システムを用いた標的遺伝子組み換え法によってノックアウト ES 細胞株を樹立したものであり、この KIF16A を欠失した ES 細胞株を *in vitro* の環境で分化させ、*embryoid body* における三胚葉の初期分化を観察して、下記の結果を得ている。

1. Cre/loxP テクノロジーを利用して、KIF16A のヘテロ組換えコンディショナルアレルをもった細胞株に対して Cre 発現ベクター、ターゲティングベクター、Cre 発現ベクターの順にトランスフェクションとサブクロニングを繰り返した結果、KIF16A アレルを完全に欠失したノックアウト ES 細胞株を樹立した。ノックアウト ES 細胞株は、コントロールと比較して外見上大きな異常はなく、また増殖の速度にも大きな差は認められなかった。

2. この KIF16A を欠失した ES 細胞株、あるいはその由来するヘテロ組換えコンディショナルアレル株あるいは野生型株をそれぞれ *in vitro* の環境で *embryoid body* を形成させ、三胚葉の初期分化を観察したところ、*embryoid body* 形成から 10 日程度の段階において、ノックアウト株の *embryoid body* の発育が有意に遅れていることが明らかとなった。そこで、固定標本をパラフィン包埋し切片を観察したところ、ノックアウト群では *cystic cavity* の周囲の塩基好性の外胚葉細胞による円柱上皮の形成がほとんど見られなかった。そこで、TUNEL 法によりこの切片を染色してみると、対象群では少数のアポトーシス

細胞の点在が見られたが、ノックアウト群では、60%以上の **embryoid body** において、中心部の空隙の近傍に集積した細胞塊にアポトーシス像が観察された。すなわち、**KIF16A** 遺伝子の欠失によって、**embryoid body** 中心部での外胚葉の分化に問題を生じ、空隙を裏打ちする外胚葉性の上皮組織の形成が不全であり、またアポトーシスが亢進していた。したがって、**KIF16A** は初期胚の形成において、外胚葉性細胞系譜の分化および維持の重要な因子として働くと考えられた。

以上、本論文は遺伝子ターゲティングの先端的手法を独創的に組み合わせて、マウスの **ES** 細胞の初期分化において、微小管系分子モーターである **KIF16A** タンパク質が外胚葉上皮の分化および維持に必須であることを明らかにした。本研究は分子モーター**KIF16A** の初期分化におけるシグナル伝達への関与を示唆し、再生医学的な見地における分子モーターの重要性をはじめ強く明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。