別紙２

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名　　安西　悠

本論文は、ES 細胞や iPS 細胞などを用いた再生医療などで重要となってくる無標識精製分化細胞の選択的回収技術について、従来の不可逆な抗体法に替わる可逆修飾標識による細胞精製法を提案するものである。そして、本研究では、実際に、核酸からなるＤＮＡアプタマーの抗体と同様な特性に着目し、また、ＤＮＡ分解酵素によって細胞に一切の損傷を与えること無く、細胞表面に一旦結合したＤＮＡアプタマーを分解することが可能となったことを報告したものである。

第 1 章では、本研究の背景と目的、本論文の構成を述べている。まず、本研究の背景として、このような精製方法の開発の必要性を再生医療の観点等から議論し、さらに、機能性核酸についての分類、アプタマーの一般的性質、従来のタンパク質に対する精製法（SELEX法）、細胞に対する精製法（Cell-SELEX 法）、アプタマーの特性について紹介を行い、本研究の概要について述べている。

第２章では、実際にＤＮＡアプタマーと磁気ビーズを組み合わせて細胞を回収して、その回収後の細胞にＤＮＡ分解酵素を付加して、細胞表面に結合した磁気ビーズを除去することができたことを述べている。ここでは、実際に用いた磁気ビーズとアプタマーとの結合性能の最適化、アプタマー付き磁気ビーズによる細胞標識の量比の最適化、細胞精製後の DNA 分解酵素の効率の評価、そして、DNA 分解酵素の細胞への影響の検討を行っている。本研究の結果、実際に細胞を精製した後に、磁気ビーズ付きアプタマーは DNA 分解酵素で除去することができ、細胞への毒性については、増殖能で見る限り問題が見られないことが述べられている。

第３章では、第２章で開発したＤＮＡアプタマーと磁気ビーズの手法を、ＤＮＡアプタマーと蛍光色素を組み合わせた手法に発展させ、実際にどの程度の蛍光標識ＤＮＡアプタマーが細胞表面に結合し、また、結合したアプタマーがＤＮＡ分解酵素によって消化されるかを評価している。ここでは第 2 章では、十分に検討できなかったアプタマー自体の分解、細胞からの乖離について蛍光色素ベースでの検討がなされている。その結果、アプタマーは蛍光標識ベースで観察しても十分に除去されていることが確認されたことが述べられている。

第４章では、本研究の成果を総括し、本研究のまとめと結論、今後の展開を述べている。特に、分離法についての議論、アプタマーの性能についての議論を行い、さらに現時点ではまだ開発中の細胞表面に特異的に結合するアプタマーの選別技術の今後の開発について議論をしている。

これら本論文で述べられている研究は、これからますます重要になる ES 細胞塊、iPS 細胞塊から分化したヘテロな細胞塊からいかに、標的細胞を精製して人体に戻すか、という

問題についての解決を目指した方法論の検討である。細胞の分化を評価するために細胞表面の抗原に対して抗体に代わってアプタマーを用い、標識分離後にその標識を DNA 分解酵素で完全消去できることは、従来困難であり、いまだに国内のみならず世界的に見ても実現されていない「分化細胞の人体への還元」を可能にすることを示唆しており、ES 細胞、iPS 細胞の再生医療への実用化のためには非常に意義のあるものと考えられる。また、本論文の内容ついて特許をすでに複数提出しており、その中で、EU 特許庁のサーチレポートからは、その特許の概念そのものが特許侵害の可能性なしという回答があり、基本特許が成立する可能性も見出されている。

いずれの研究内容も単純ではあるが、原理そのものの検証であり、従来の抗体法や染色法に替わる細胞標識回収法の提案となっており、このこと自体が、その研究水準の高さを示すものと考えられる。

したがって本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。