

論文審査の結果の要旨

氏名 岩川 外史郎

本学位論文は、細胞表層分子を標的とした RNA アプタマーの取得およびその有用性、また、細胞表層受容体に対する細胞外シグナル分子を標的とした RNA アプタマーの新規な作用メカニズムの解明について述べられており、5章から構成される。

第1章は序論であり、細胞機能解析・制御技術研究において、細胞表層分子や細胞外分子が重要な標的であることが述べられ、既知の解析・制御技術の例が取り上げられている。既知の技術として、抗体が有用なツールとして用いられているが、開発にかかるコストや品質の均一性などの点において、改善の余地があることが指摘されている。そして、これらの点を克服する有望な技術として、本論文の研究課題である RNA アプタマーの応用例について解説している。

第2章では、マウス ES 細胞の細胞表層分子を標的とした RNA アプタマーの取得とその分子プローブとしての有用性について述べられている。マウス ES 細胞に特異的に発現する細胞表層分子は多数同定されており、対応する抗体分子も存在するが、これらの積極的な応用例の報告は少なかった。そこで、論文提出者は、マウス ES 細胞の細胞表層分子に対する RNA アプタマーの取得と応用を試みている。

一般的に、RNA アプタマーは、単一種の精製された分子を標的とした SELEX 法によって取得されるが、本研究では、細胞表層に自然な形で発現している分子に対する RNA アプタマーを効率良く取得するために、生細胞をそのまま標的として用いる SELEX 法が採用され、選別方法の工夫がなされた。その結果、マウス ES 細胞に特異的で、かつ異なる標的部位を認識していると考えられる3グループの RNA アプタマーの取得に成功している。また、得られたアプタマーの末端を蛍光色素で標識することにより、従来の抗体による方法と同様に、細胞の蛍光染色法に応用可能であることを示している。

これらの結果から、生細胞を用いた SELEX 法において、選別条件を工夫することで目的の活性を持った RNA アプタマーが取得可能であることや、このように取得された RNA アプタマーが、従来の抗体を利用した方法の問題点を克服する手法として、有用なツールとなり得ることが結論され、議論されている。

第3章では、先行研究において取得された、FGF-1 の細胞増殖作用を亢進させる作用を持つ抗 FGF-1 アプタマー (ap.aF) の作用メカニズムの解析について述べられている。先行研究では解析されなかった、ap.aF の作用メカニズムに関して、本論文で詳細な解析を行い、その解明を試みている。

まず、FGF-1 の細胞増殖作用を促進させる効果は、酸性ムコ多糖類のヘパリンにも認められていることから、リボ核酸である ap.aF との物性的な類似性に着目し、ap.aF とヘパリンの FGF-1 に対する結合競合性が検証され、実証された。また、ap.aF はヘパリ

ンと同様に、FGF-1 刺激による FGF シグナルの活性化を維持することで、細胞増殖作用の促進に寄与することも示された。さらに、表面プラズモン共鳴法による、種々の FGF 受容体との詳細な比較解析により、ap.aF は、ヘパリンとは異なり、複数種ある FGF 受容体と FGF-1 との相互作用のうち、特定の FGF 受容体に特異的に作用する可能性が示唆された。ap.aF のように、標的分子の機能を亢進させるアプタマーは珍しく、また、FGF-1 の特定の受容体を介したシグナル経路の解析手法はこれまでに報告はなかった。

本章では、これらの結果に基づき、ヘパリンとの違いに注目した FGF-1 の作用メカニズムや、標的分子の機能の促進に働くアプタマーの取得戦略について議論されている。

第 4 章では、第 2 章、第 3 章を総括し、本論文で得られた知見の有用性や意義、今後の展開について述べられている。

第 5 章では、本論文で行われた実験の材料と方法について過不足なく記載されている。

本論文の成果は、細胞表層分子や細胞外分子を標的とする RNA アプタマーを用いた新規な細胞機能解析・制御技術の発展において重要な知見を含んでおり、関連研究分野に大きく寄与する。

なお、本論文の第 2 章は、大内将司、渡邊すみ子、中村義一、第 3 章は、大内将司、中村義一との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析、検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。