

論文審査の結果の要旨

報告番号	博(医歯薬)甲第 76 号	氏名	吉 川 大 介
学 位 審 査 委 員	主 査	松山 俊文	
	副 査	丹羽 正美	
	副 査	伊藤 敬	
論文審査の結果の要旨 1. 研究目的の評価 プリオン (PrP) 遺伝子欠損マウスはいくつかの施設で樹立されたが小脳プルキンエ細胞の変性を起こす系統と起こさない系統があることが知られ、起こす系統で共通して見られる PrP 遺伝子下流にある Dpl 遺伝子の異所性発現が病態に関与していると考えられている。本研究は Dpl 遺伝子の異所性発現の際に起こっている PrP と Dpl 遺伝子間の異常スプライシングの解明を目指したもので、目的は十分に妥当である。 2. 研究手法に関する評価 用いられたのは培養細胞（神経芽細胞腫由来 N2a 細胞）にプラスミド DNA を導入して一過性の発現を解析する系である。PrP と Dpl 遺伝子間のスプライシングの有無を細胞レベルで可視化できるように PrP 遺伝子と Dpl 遺伝子を連結し、PrP 遺伝子 ORF と Dpl 遺伝子 ORF をそれぞれ DsRed と EGFP に置き換えたプラスミドを構築した。また異常スプライシングのおこる系統マウスコンストラクトに共通する欠損領域の解析のために欠損領域をもったプラスミドや点変異を導入したプラスミドを構築した。スプライシングの解析は蛍光顕微鏡による観察と、プラスミド導入細胞より抽出した RNA を RT-PCR 法を用いて増幅しシーケンスすることで行われた。以上の手法は妥当なものである。 3. 解析・考察の評価 本研究によって PrP 遺伝子欠損マウスにおける下流遺伝子 Dpl への異常スプライシングを細胞一個一個のレベルで検出することが可能となり、その結果、PrP-RNA のスプライシング、および転写終結に重要な領域が明らかにされた。今後の発展が大いに期待できる研究成果であり審査員は全員一致で博士(医学)の学位に値するものと判断した。			