

氏名(本籍)	Chamila Deshani Ranawakage (スリランカ)		
学位の種類	博士(学術)		
学位記番号	甲第355号		
学位授与年月日	令和元年9月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項		
研究科・専攻名	工学研究科・基盤工学専攻		
学位論文題目	CRISPR-mediated epitope tagging of Sox proteins for ChIP-seq		
論文審査	(主査) 高知工科大学	教授	蒲池 雄介
	高知工科大学	教授	大濱 武
	高知工科大学	教授	堀沢 栄
	高知工科大学	教授	田中 誠司
	高知工科大学	教授	池 雅之

審査結果の要旨

1. 論文の評価

本論文は、転写因子とゲノムとの相互作用を網羅的に解析できる ChIP-seq 法について、転写因子に対する抗体が入手できない場合のすぐれた解決法についての総合的な研究である。ChIP-seq 法は、転写因子の発現過程における機能をあきらかにするための効果的な手法の一つであるが、高品質の抗体が要求されたため適用できない場合が多い。この問題を解決するため、本論文ではエピトープタグを内在の Sox 因子にゲノム編集を用いて導入し、タグ抗体による免疫沈降を可能にした。論文の前半では、HiBiT というあたらしい発光タグを用いて、抗体の親和性の測定を免疫沈降の条件下で出来るようにした。これにより、クロマチン免疫沈降に適したタグと抗体の組合せが明らかになった。この手法は、汎用性が高い抗原抗体反応の定量解析法であることから、抗体研究に関する幅広い分野に対する貢献が大きいと言える。論文の後半では、Crispr-Cas9 を用いたゲノム編集によるノックイン法を用いることで、エピトープタグを *sox3* 遺伝子に導入した。ゼブラフィッシュにおけるノックイン法は、これまで必ずしも効率がよいものではなかったが、long ssDNA をノックインのドナーとして利用することで、生殖系列においても比較的長いタグ配列が効率よくノックインされることが分かった。この研究で発展させたノックイン法は、ゼブラフィッシュの研究において幅広い応用が考えられることから、本論文のこの分野における貢献は大きいと判断される。

2. 審査の経過と結果

- (1) 令和元年7月3日 博士後期課程委員会で学位論文の受理を決定し、5名がその審査委員として指名された。
- (2) 令和元年8月23日 公開論文審査発表会及び最終試験を実施した。
- (3) 令和元年9月4日 博士後期課程委員会で学位授与を可とし、教育研究審議会で承認された。