

胚性幹(ES)細胞やiPS細胞などの多能性細胞と呼ばれる細胞群は、個体を構成する全ての細胞種に分化する能力を持ち、再生医療への応用が期待されている。しかし、多能性細胞が自己複製を行う過程はよくわかっていない。幹細胞生物学研究室では、多能性細胞がいかにして正しいゲノム情報を娘細胞に継承しているのかを明らかにするため、マウスのES細胞をモデルに解析を進めている。また、多能性細胞特異的なゲノム恒常性機構の意義に関して理解を深めるために、非多能性細胞に多能性を誘導し、その過程でのゲノム恒常性も調べている。

(左写真) マウスES細胞(緑)とヒトB細胞(青)の融合細胞(赤はF-Actin; 細胞の境界を示す)。ES細胞と融合したB細胞には数日以内に多能性が誘導される。我々の研究室では、この系を使って多能性獲得過程を解析している。

多能性細胞の自己複製

多能性細胞は、自己複製の過程で、DNA複製期と分裂期を殆ど休みなく長い周期で分裂する、という点で、他の細胞種と大きくことなっている。又、その過程で生じる様々なDNA損傷に対して非常に感受性が強く、容易に分化したり細胞死を引き起こす。このように、多能性細胞は他の細胞種とは異なる戦術で自己複製し、またゲノム恒常性を維持していると考えられる。私たちの研究室では、マウスのES細胞をモデルに、このような多能性細胞特異的な自己複製の機構を明らかにすることを目指している。

ES細胞とDNA複製

我々の細胞は、絶えず外的、内的DNA損傷要因にさらされている。この中で、自己複製に必須なDNAの複製過程では、DNAが不安定化しやすく、なんらかの理由でDNA複製が阻害されると、1本鎖DNAが露出したり二重鎖の切断が起こる。細胞には、通常、これらの損傷を保護・修復し、

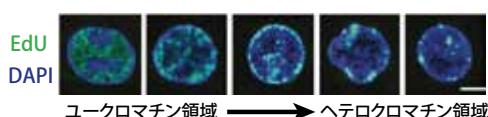


図1. DNA複製の進行

ヌクレオチドアナログであるEdUの取り込みで複製中の領域を可視化すると、DNA上(DAPI染色領域)の異なる領域が順次複製されることがわかる。

ES細胞にDNA複製阻害剤を投与すると、他の細胞種に比べて簡単に細胞死が引き起こされる。このことが、ES細胞のDNA複製が不安定なことを示すのか、もしくはES細胞には生じた損傷を修復する能力がないことを示すのかはよくわかっていない。私たちは、様々なレベルの複製阻害剤をDNA複製開始前に同調したES細胞に与え、DNA複製の進行と、DNA損傷、細胞死・分化誘導との関係を詳細に調べている。

多能性誘導過程におけるDNA複製

ES細胞に線維芽細胞やリンパ細胞などを融合させると、非

ES細胞の核内に多能性が誘導されることが知られている。私たちは、この系を使って、ヒトBリンパ細胞に多能性が誘導される過程を調べてきた。この中で、多能性誘導には、DNA複製が重要な役割を果たすことがわかった。現在、この系を使って、多能性誘導過程におけるDNA複製の安定性と複製阻害に対する応答を調べている。

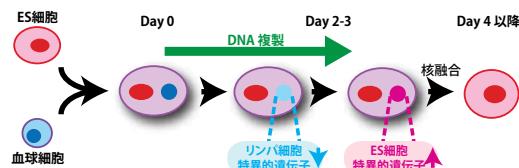


図2. 細胞融合を使ったリンパ細胞への多能性導入

細胞融合後、数時間以内にDNA複製が起こり、数日以内にリンパ細胞特異的遺伝子の抑制、ES細胞特異的遺伝子の発現が起こる。この間、融合した細胞の核は別々に存在する。

参考文献

- Tsubouchi, T. and Fisher A.G. (2013). Reprogramming and the Pluripotent Stem Cell Cycle. *Curr. Top. Dev. Biol.* 104, 223-241.
- Tsubouchi, T., Soza-Ried, J., Brown, K., Piccolo, F.M., Cantone, I., Landeira, D., Bagci, H., Hochegger, H., Merkenschlager, M. and Fisher A.G. (2013). DNA Synthesis Is Required for Reprogramming Mediated by Stem Cell Fusion. *Cell* 152, 873-883.
- Pereira, C.F., Piccolo, F.M., Tsubouchi, T., Sauer, S., Ryan, N.K., Bruno, L., Landeira, D., Santos, J., Banito, A., Gil, J., Koseki, H., Merkenschlager, M. and Fisher, A.G. (2010). ESCs Require PRC2 to Direct the Successful Reprogramming of Differentiated Cells toward Pluripotency. *Cell Stem Cell* 6, 547-556.
- Tsubouchi, T., MacQueen, A.J. and Roeder, G.S. (2008). Initiation of Meiotic Chromosome Synapsis at Centromeres in Budding Yeast. *Genes Dev.* 22, 3217-3226.
- Chen, S.Y., Tsubouchi, T., Rockmill, B., Sandler, J.S., Richards, D.R., Vader, G., Hochwagen, A., Roeder, G.S. and Fung, J.C. (2008). Global Analysis of the Meiotic Crossover Landscape. *Dev. Cell* 15, 401-415.
- Tsubouchi, T., Zhao, H. and Roeder, G.S. (2006). The Meiosis-Specific Zip4 Protein Regulates Crossover Distribution by Promoting Synaptonemal Complex Formation together with Zip2. *Dev. Cell* 10, 809-819.
- Tsubouchi, T. and Roeder, G.S. (2005). A Synaptonemal Complex Protein Promotes Homology-Independent Centromere Coupling. *Science* 308, 870-873.

准教授
坪内 知美



NIBB リサーチフェロー
上川 泰直

技術支援員
安井 尚美

