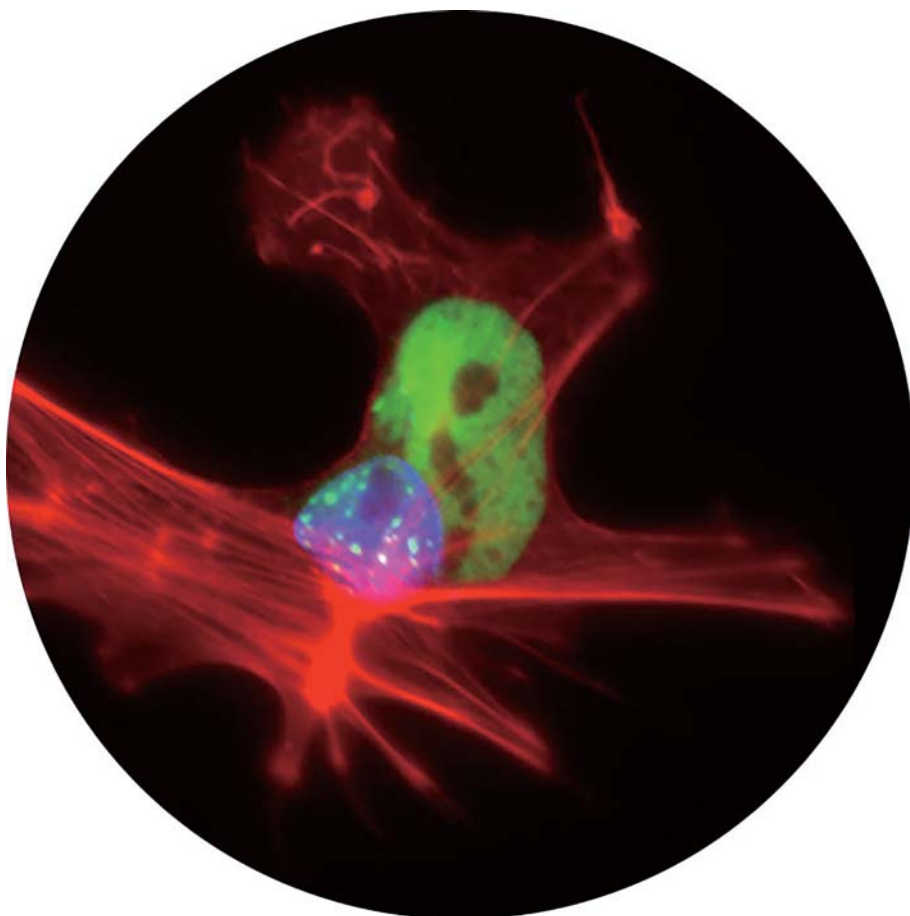


多能性細胞のゲノム恒常性

個体発生初期には、体を構成する全ての細胞種に分化する能力(多能性)を持つユニークな細胞群が一過的に出現する。この時期から樹立された胚性幹(ES)細胞は、染色体構造や細胞周期制御など、いくつもの点で他の細胞と異なっており、多能性の維持と密接な関係があると考えられている。一方で、染色体構造や細胞周期制御は、遺伝情報の維持に中心的役割を果たしている。幹細胞生物学研究室では、ES細胞における染色体構造・細胞周期制御・ゲノム恒常性維持機構の連携を紐解くことで、多能性維持の分子基盤を理解することを目指している。



Members

准教授
坪内 知美

NIBB リサーチフェロー
上川 泰直

博士研究員
坪内 英生

総合研究大学院大学
大学院生
熊崎 泰成

技術支援員
安井 尚美

マウス ES 細胞(右)とヒト B 細胞(左;青く染色されている)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、他の細胞種と異なり、DNA複製期と分裂期を殆ど休みなく短い周期で自己複製している。また、この過程で、他の細胞種とは異なる戦術でゲノム恒常性を維持していることが明らかになりつつある。私たちの研究室では、マウス 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機構とその生物学的意義を明らかにすることを目指している。特に、以前は困難だった ES 細胞の細胞周期同調法を確立し、特異的な細胞周期ステージに着目した解析を可能にした。

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。特に、自己複製に必須な DNA 複製の過程ではゲノムが不安定化しやすく、DNA 複製が阻害されると、1 本鎖 DNA の露出や二重鎖切断を引き起こす。細胞には、通常、これらの損傷を保護・修復し、DNA 複製を再開する機構が備わっている。

しかし、ES 細胞では DNA 複製が阻害されると、簡単に細胞死が引き起こされる。このことから私たちは、1. ES 細胞の DNA 複製は不安定なのではないか、2. ES 細胞は生じた損傷を修復しない（できない）のではないかと、という二つの可能性を検討し、DNA 複製期の異なるステージ（図 1）を詳細に解析している。

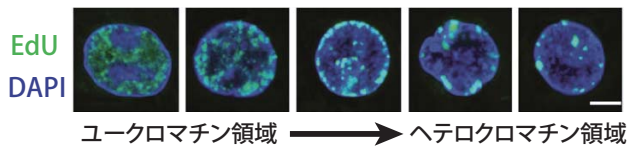


図 1. DNA 複製の進行
ヌクレオチドアナログである EdU を取り込ませ複製中の領域を可視化すると、DNA 上 (DAPI 染色領域) の異なる領域が順次複製されることがわかる。

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の分化した細胞を融合させると、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、多能性誘導の鍵を握る核内制御が、DNA 複製と密接な関係を持つことがわかった。多能性誘導の結果得られる iPS 細胞では、DNA 複製過程に生じたと思われるゲノム上の傷が見つかった。したがって、多能性誘導過程は、DNA 損

傷と生存のバランスの上に成り立っていると考えられる。私たちは、細胞融合の系を使って、多能性誘導過程における DNA 複製の安定性とゲノム恒常性を調べている。このことで多能性細胞特異的な自己複製機構をよりよく理解すると共に効率の良い多能性誘導とより安全な再生医療への応用に貢献できると考えている。

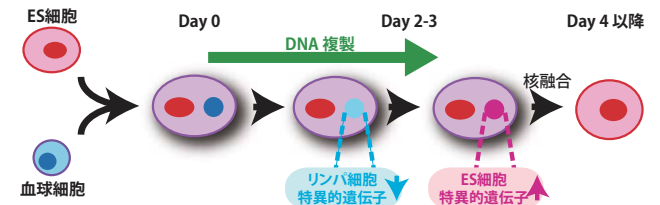


図 2. 細胞融合を使ったリンパ細胞への多能性導入
細胞融合後、数時間以内に DNA 複製が起こり、数日以内にリンパ細胞特異的遺伝子の抑制、ES 細胞特異的遺伝子の発現が起こる。この間、融合した細胞の核は別々に存在する。

参考文献

1. Argunhan, B., Leung, W.K., Afshar, N., Terentyev, Y., Vijayalakshmi V. Subramanian, Murayama, Y., Hochwagen, A., Iwasaki, H., Tsubouchi T. and Tsubouchi, H. (2017). Fundamental Cell Cycle Kinases Collaborate to Ensure Timely Destruction of the Synaptonemal Complex. EMBO in press.
2. Leung, W.K., Humphries N., Afshar, N., Argunhan, B., Terentyev, Y., Tsubouchi, T. and Tsubouchi, H. (2015). The Synaptonemal Complex is Assembled by a PolySUMOylation-Driven Feedback Mechanism in Yeast. J Cell Biol. 211, 785-793.
3. Tsubouchi, T. and Fisher, A.G. (2013). Reprogramming and the Pluripotent Stem Cell Cycle. Curr. Top. Dev. Biol. 104, 223-241.
4. Tsubouchi, T., Soza-Ried, J., Brown, K., Piccolo, F.M., Cantone, I., Landeira, D., Bagci, H., Hoehegger, H., Merckenschlager, M. and Fisher A.G. (2013). DNA Synthesis Is Required for Reprogramming Mediated by Stem Cell Fusion. Cell 152, 873-883.
5. 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., Merckenschlager, 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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

