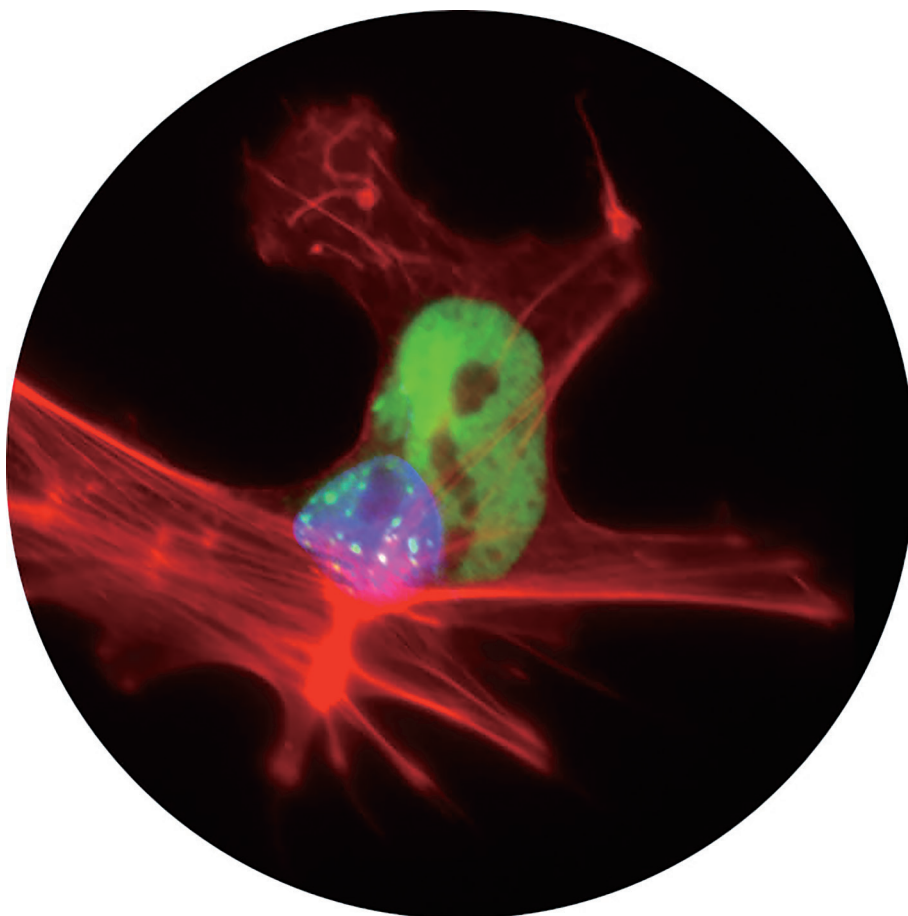


多能性細胞のゲノム恒常性

個体発生の初期には、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、多能性を司るメカニズム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

特任助教
倉島 公憲

総合研究大学院大学
大学院生
熊崎 泰成
松本 陽乃
吉田 啓貴

技術支援員
浅井 友理子
長沼 麻衣

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

多能性幹細胞は、DNA 複製期と分裂期を休みなく繰り返し自己複製する特徴がある。このような盛んな細胞増殖を可能にするためにはどのような制御が働いているのか、また、多能性の維持に直接的にどのように関わっているのか、その全貌は明らかではない。また、一般的に盛んな細胞増殖はゲノム情報の維持に負荷となるが、多能性幹細胞では他の細胞種とは異なる戦略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、多能性幹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。

ES 細胞と DNA 複製

自己複製には DNA 複製が必須であるが、DNA 複製の進行は様々な要因で阻害されるため、ゲノム情報が損なわれやすい。近年の解析から、ES 細胞の DNA 複製装置が他の細胞種と比較して低速で進行することが明らかになっている（図 1）が、その分子的背景及び生物学的意義は不明である。そこで私たちは、ES 細胞において DNA 複製装置が遅延する要因を特定し、これを操作することで ES 細胞特有の DNA 複製制御の意義を理解しようとしている。

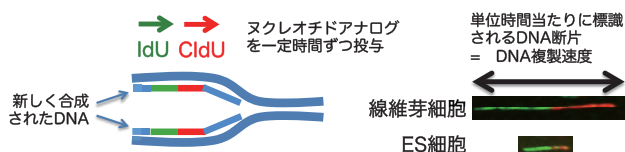


図 1. ES 細胞と線維芽細胞の DNA 複製フォーク速度

細胞にヌクレオチド (dNTP) のアナログを一定時間投与することで合成中の DNA に取り込ませ、取り込まれたアナログを可視化することで DNA 複製フォークの進行速度を測定することができる。ES 細胞では線維芽細胞と比較して DNA 複製フォーク速度が遅いことが知られている。

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。これらのことは、多能性誘導過程が DNA 損傷と生存のバランスの上に成り立っていることを示してい

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とで、多能性細胞特異的な自己複製機構を紐解こうとしている。また、将来的には効率の良い多能性誘導とより安全な再生医療への応用が貢献できると考えている。

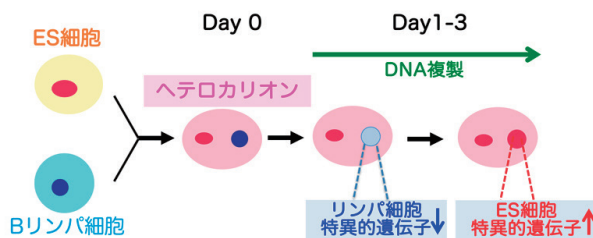


図 2. 細胞融合を使ったリンパ細胞への多能性導入

細胞融合後数日間はそれぞれの細胞由来の核が単一の細胞内で独立に存在するヘテロカリオンの状態が続き、その後細胞分裂時に二つの核の情報が混ざり合いハイブリッド細胞となる。融合細胞内ではリンパ細胞核におけるリンパ細胞特異的な遺伝子の抑制、ES 細胞特異的な遺伝子の発現開始が 1 細胞周期内に起こると考えられている。

参考文献

- 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* 36, 2488-2509.
- 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.
- 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., Merckenschlager, 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., 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.
- 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.
- 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

特任助教
倉島 公憲

