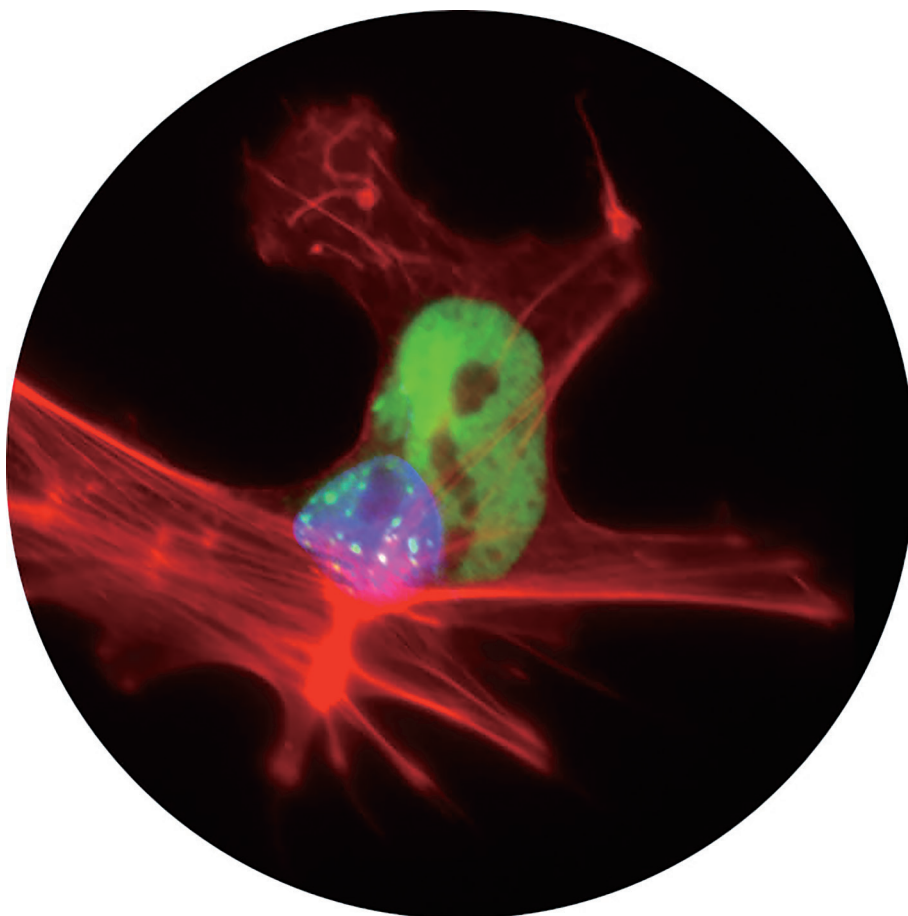


多能性幹細胞を維持するしくみ

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）を持つ細胞群が一過的にのみ出現する。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をはじめとする多くの点で特徴的で、これらが分化多能性という特有の性質の維持にと密接に関わっていると考えられている。幹細胞生物学研究室では、このようなES細胞に特徴的な性質ひとつひとつが多能性幹細胞の維持に与える影響、またその連携をどのように関わっているかを理解することで、多能性を司るメカニズムの分子基盤を明らかにすることを目指している。



Staff

准教授
坪内 知美

特任助教
倉島 公憲

マウス ES 細胞とヒト B 細胞の融合細胞（赤；F-Actin, 青 + 緑斑点；ヒト B 細胞核, 緑；ES 細胞核）。ES 細胞と融合した B 細胞には 1 日以内に多能性制御因子の発現上昇が起こる。我々の研究室では、融合細胞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。私たちの研究室では、マウス ES 細胞と細胞融合を用いた多能性誘導系を用いて、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、この過程で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。私たちの研究室では、ES 細胞における低速な DNA 複製速度が、ES 細胞の多能性とゲノム恒常性維持に重要な役割を持つことを示しつつある。



図 1. ES 細胞と線維芽細胞の DNA 複製フォーク速度

細胞に核酸（ヌクレオチド）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、分化細胞の核に多能性幹細胞特異的な因子の発現が誘導される。私たちは、融合細胞を顕微鏡下で追跡し、多能性幹細胞特異的な因子の発現量を個々の細胞で評価することを可能にしたことで細胞周期の進行と多能性誘導が密接に関わっていることを見出している。多能性誘導過程を高い時間精度で理解することで、効率の良い多能性誘導とより安全な再生医療への応用貢献できると考えている。

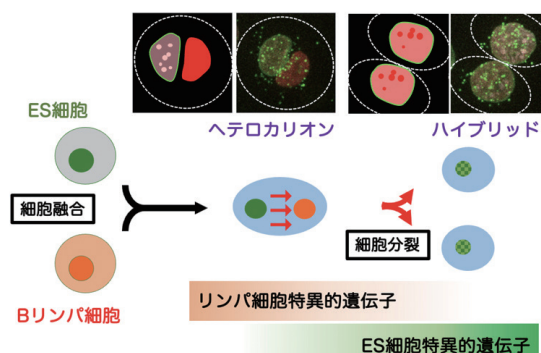


図 2. 細胞融合を使ったリンパ細胞への多能性導入

細胞融合直後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となり、細胞分裂時に二つの核の情報が混ざり合い単一の核を有する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。図では白点線で示す単一細胞の中に B リンパ細胞由来の核（赤）と ES 細胞由来の核（緑）がヘテロカリオン・ハイブリッドの状態で共存する様子を示す。点状に局在する緑のシグナルはリンパ細胞由来の mRNA (Gapdh) 分子を可視化したもの。

参考文献：

1. Kumazaki, T., Yonekawa, C., and Tsubouchi, T. (2023). Microscopic analysis of cell fate alteration induced by cell fusion. *Cell. Reprogram.* 25, 251-259.
2. Tsubouchi, T. and Pereira, C.F. (2021). Reprogramming Stars #1: Genome Programming Through the Cell Cycle. *Cell Reprogram.* 23, 153-157.
3. Kobayashi, M., Ogawa, K., Isobe, M., Nishitani, T., Kamio, S., Fujiwara, Y., Tsubouchi, T., Yoshihashi, S., Uritani, A., Sakama, M., Osakabe, M., and LHD experiment group (2019). Thermal neutron flux evaluation by a single crystal CVD diamond detector in LHD deuterium experiment. *J. Instrum.* 14, C09039.
4. Argunhan, B., Leung, W.-K., Afshar, N., Terentyev, Y., Subramanian, V., 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 During Meiosis. *EMBO J.* 36, 2488-2509. * corresponding authors
5. Tsubouchi, T. and Fisher, A.G. (2013). Reprogramming and the Pluripotent Stem Cell Cycle. *Curr. Top. Dev. Biol.* 104, 223-241.3.
6. 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.

准教授
坪内 知美

特任助教
倉島 公憲

