

## 研究 成果 報告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		超解像度顕微鏡を用いたヒト iPS 細胞エピジェネティック修飾の 1 細胞解析学			
研究テーマ (欧文) AZ		Using superresolution microscopy to analyze epigenetic modifications in single human iPS cells			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)カールトン	名)ピーター	研究期間 B	2011 ~ 2013 年
	漢字 CB			報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	CARLTON	Peter	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学 物質－細胞統合システム拠点・特定拠点助教			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>体細胞の iPS 細胞への誘導、また、自発的もしくは誘導による iPS 細胞の分化は、確率論的に起こる場合が多く、同じ条件で誘導された細胞群の一部のみが、予想されたリプログラム・分化経路を辿る。このような確率過程性は、細胞ごとのエピジェネティック修飾が異なるのが一因であることが示唆されているが、その詳細は未知である。従来の生化学的手法では、多数の細胞のエピジェネティック修飾を平均化した情報しか得られず、また核内のどこにあるのか？という3次元情報が失われる。私は、近年開発された超解像度顕微鏡(3D-SIM)が、核内のヒストン修飾分布を、より高解像度で定量的に解析できることに注目し、1細胞レベルで特定のヒストン修飾の局在分布や分布相関を調べ、ヒト ES、iPS 細胞を用いて、その分化過程に特異的な核内構造を探索した。ヒト ES、iPS 細胞を細胞系譜特異的に分化させ、9種類のヒストン修飾に対する免疫染色を行い、幹細胞、分化途中、分化細胞での経時的変化を探索した。その結果、ヒト ES 細胞を、栄養膜幹細胞系譜もしくは、中胚葉細胞系譜に特異的に分化させた時、分化誘導直後に限って、アセチル化されたヒストンバリエント H2A. Z (H2A. Zac) の局在が、一過的に核膜付近へ移ることを明らかにした。分化が進むと、この H2A. Zac 核膜局在は、失われることから、この核膜局在は、分化に先駆けて起こる、一時的な核内動態の変化であると考えられる。先行の生化学的実験より、H2A. Z は、転写抑制型、活性化型のクロマチン状態の双方と共局在することが知られている。一方、H2A. Zac は、特に活性型クロマチンと共局在することが知られている。我々は、分化誘導に伴い、それまで核膜付近で転写抑制型の環境にあった遺伝子に、H2A. Zac がとりこまれることで、活性化され、核膜付近の転写抑制的環境から分化に必要な遺伝子が解放されるのではないかと仮説を立てるに至った。この仮説を検証するため、現在、H2A. Z のアセチル化を薬剤により阻害することで、これが分化に与える影響を解析中である。平行して、H2A. Zac が取り込まれる遺伝子座の分化誘導前後での核内局在も解析中である。</p>					
キーワード FA	ヒストンバリエント	幹細胞	超解像度顕微鏡	細胞分化	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード* TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	現在、投稿論文準備中です。							
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Reprogramming of differentiated cells as well as differentiation of stem cells typically occur in a stochastic manner. Rather than every cell adopting identical fates in response to developmental cues, only a fraction of a given cell population follows any particular cell fate. It has been suggested that variability of epigenetic modifications in each cell in a population gives rise to this stochastic response upon differentiation or reprogramming. However, the manner in which epigenetic modifications and higher-order chromatin organization affect gene expression and thus cell fate in human iPS and ES cells upon induction of differentiation is poorly understood. While biochemical approaches such as ChIP-Seq using histone modification antibodies provide high genomic resolution, they fail to distinguish variation between cells, nor do they reveal any aspects of subnuclear organization of chromatin carrying epigenetic modifications. We decided to approach the question of epigenetic control of cell fate using three-dimensional imaging, which can potentially circumvent these limitations. To this end, we applied high-resolution fluorescence microscopy, including the superresolution technique of 3-Dimensional Structured Illumination Microscopy (3D-SIM) to human iPS and ES cells, and assessed the spatial distributions of 9 important histone modifications before, during and after differentiation into various cell lineages. We found that immunofluorescence signals of acetylated histone H2A.Z (H2A.Zac), a highly conserved variant histone protein, transiently localize to the nuclear periphery immediately after human ES cells are induced to differentiate along either the trophoblast stem cells or mesoderm pathways. This relocation to the nuclear periphery is lost once differentiation progresses past the first 24 hours. Previous studies have shown that H2A.Z is localized to both transcriptionally active and repressive chromatin, whereas H2A.Zac is associated with only transcriptionally active chromatin. Since the nuclear periphery is a generally transcriptionally repressive sub-compartment in the nucleus, incorporation of H2A.Zac into chromatin at the nuclear periphery could potentially alter gene expression through induced changes in higher order chromatin organization. Our observation raised the possibility that H2A.Zac is part of a mechanism to activate previously transcriptionally silenced genes at the nuclear periphery upon induction of differentiation. Currently we are testing this hypothesis by preventing the acetylation of H2A.Z and assessing the outcome of this change on correct differentiation.