

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		多能性を維持する転写因子間の機能重複を規定する分子機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of the molecular mechanism governing overlapping functions of pluripotency-associated transcription factors			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)ニワ	名)ヒトシ	研究期間 B	2016～ 2017年
	漢字 CB	丹羽	仁史	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	Niwa	Hitoshi	研究機関名	熊本大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		熊本大学・発生医学研究所・教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>マウス胚性幹細胞(embryonic stem cells: ES 細胞)は、着床前胚に由来する多能性幹細胞である。マウス ES 細胞は、血清含有培地においては、IL6 ファミリーサイトカイン LIF に依存して自己複製し、多能性を維持したまま増殖する。近年、ヒト多能性幹細胞においても、マウス ES 細胞に対応する、着床前胚相当の多能性状態(ナイーブ状態)においては、LIF 依存性を示すことが報告されており、LIF シグナルは種を超えて普遍的にナイーブ型多能性維持に寄与していると考えられている。</p> <p>では、LIF シグナルはどのようにして多能性維持に寄与しているのだろうか？我々は以前マウス ES 細胞における解析から、LIF シグナルにより活性化される3つの細胞内シグナル伝達経路が、それぞれ異なる様式で標的転写因子の発現ないしは活性制御として入力し、これらが多能性関連転写因子ネットワークの維持に寄与していることを明らかにした(Niwa et al, Nature, 2009)。このとき、転写因子 Klf4 と Tbx3 は LIF シグナル入力の標的として並列的に機能していると考えられた。しかし、我々の共同研究や、他グループの研究から、マウス ES 細胞では、少なくとも3つの Klf ファミリー転写因子(Klf2, Klf4, Klf5)が機能しており、これらは部分的に重複して働いていることが示唆された。</p> <p>ならば、Klf ファミリーの重複機能と、Tbx3 を介した LIF シグナル入力の関係は、どのようになっているのだろうか？我々は、2009-2013 年に JST-CREST 研究においてこの問題に取り組んだ。そして、これら4つの転写因子の機能冗長性(functional redundancy)を厳密に解くために、4 遺伝子の全ての組み合わせ(15通り)について、Cre-loxP システムを用いた誘導型ノックアウト ES 細胞を作成した。その結果、これら4つの転写因子のうち、任意の1つないしは2つを破壊しても、マウス ES 細胞は自己複製を維持することが可能であった。しかし、3 因子ノックアウトでは、Klf5 ないしは Tbx3 だけが残った状態では自己複製を維持できず、Klf2 ないしは Klf4 だけが残った状態では、自己複製は可能であった。この結果は、Klf ファミリーの重複機能(overlapped function)と、Klf ファミリーと Tbx3 の並列機能による頑健性(robustness)が、ともに多能性維持に機能的に組み込まれていることを示す。</p> <p>本助成を受けた研究として、Klf2, Klf4, Klf5, Tbx3 の4 遺伝子の全ての組み合わせ(15通り)について、RNA-seq ならびに ChIP-seq による網羅的検討を提案した。本研究を進める過程で、培養条件による表現型の差異についての再検討が必要となり、血清含有培地、低血清培地、無血清培地での比較培養を行った結果、自己複製能においては、同一の結果を得た。これに基づき、すべてのケースで、低血清培地を用いたサンプル調整を進めた。また、本助成により、次世代シーケンス解析試薬の購入も進めたので、現在、実施可能な範囲での解析を進めている。また、培養条件の検討の過程で、条件の確認のために、野生型 ES 細胞を用いたキメラ形成実験を行い、多能性維持を確認した。</p>					
キーワード FA	胚性幹細胞	多能性	転写因子		

(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>								
	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 EZ

Mouse embryonic stem cells are pluripotent stem cells derived from inner cell mass of blastocyst-stage embryos. They continue self-renewal in the presence of leukemia inhibitory factor (LIF). The LIF signal stimulates transcription of multiple genes encoding transcription factors. Among them, it was demonstrated that Klf4 and Tbx3 work in parallel cascades. Moreover, three Klf family members Klf2, Klf4 and Klf5 share overlapping function to support self-renewal. To dissect this complex overlapping function of these 4 transcription factors, we aim to perform RNA-seq and ChIP-seq analyses with Cre-loxP-mediated inducible knockout ES cell lines. To confirm the culture-condition-dependency of their phenotypes, we compared serum-containing, low-serum and serum-free cultures to capture the inducible knockout ES cells. As the results, we confirmed that their phenotypes are not affected by the culture conditions. We prepared the samples from ES cells cultured in low-serum medium and started a part of the NGS analyses.