

石井 俊輔

(独)理化学研究所 石井分子遺伝学研究室・上席研究員

胚細胞ヒストンによるリプログラミング機構

§1. 研究実施体制

(1)「石井」グループ

① 研究代表者: 石井 俊輔 ((独)理化学研究所、上席研究員)

② 研究項目

- ・胚細胞ヒストンによるリプログラミング誘導の効率化
- ・ヒト胚細胞ヒストンによるヒト体細胞のリプログラミング
- ・胚細胞ヒストンによるリプログラミング誘導の分子機構
- ・胚細胞ヒストンの生理機能の解析

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

卵子への核移植によるクローン個体の作製は、卵子には全能性細胞を作製できる特異的なリプログラミング因子が存在することを示唆している。しかし卵子特異的なリプログラミング因子については不明な点が多い。一方、山中因子による iPS 細胞の作製は、ES 細胞で発現の高い転写因子を発現させて、ES 細胞の遺伝子発現ネットワークを樹立する方法である。iPS 細胞は ES 細胞に比べ質的に多様であり、良質な iPS 細胞を選ぶためには高いコストと長い時間を要する。従って、卵子特異的なリプログラミング因子を用いて、全能性細胞を経て iPS 細胞を作製できれば、この問題を克服できる可能性がある。私達は卵子に多く存在する2つのヒストンバリエントに注目して、以下の研究を行った。

1) 胚細胞ヒストンによるリプログラミング誘導の効率化

これまでの研究により、2種類の胚細胞ヒストン (H2aa と H2ba)と、ヒストンシャペロンであるリン酸

化型ヌクレオプラスミン(P-Npm)を、山中4因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc)と一緒にMEFsで発現させると、山中4因子だけを発現させた場合に比べ、より早期に、かつ27倍の高い効率でiPS細胞が作製できることを明らかにした。さらに、胚細胞ヒストンとP-NpmをOct3/4とKlf4と一緒に発現させるだけで、高い効率でiPS細胞を作製することができた(米国特許出願)。また胚細胞ヒストンのノックアウトマウスを解析し、卵子に多量に存在する胚細胞ヒストンは、初期胚の発生に関与する、いわゆる「maternal effect」(母性効果)因子であることを明らかにした。この結果は、これまでに同定された母性効果因子も、胚細胞ヒストンと同様に、リプログラミングを促進する能力を有する可能性を示唆している。以上の結果は、卵子特異的なリプログラミング因子の理解に貢献し、核移植によるリプログラミングを特定の因子で実現するための重要な知見である。

2) ヒト胚細胞ヒストンによるヒト体細胞のリプログラミング

胚細胞ヒストンやヌクレオプラスミンのアミノ酸配列は、ヒトとマウスの間で大きく異なることから、核移植を真似たリプログラミングには種特異性が存在する可能性がある。そこで上記のマウス細胞の場合と同様に、ヒト細胞の場合でも、胚細胞ヒストンが山中4因子によるiPS細胞作製を促進するかどうかを検討し、ヒト胚細胞ヒストンも山中因子によるリプログラミング促進能力を有することが示された。

3) 胚細胞ヒストンによるリプログラミング誘導の分子機構

胚細胞ヒストンと体細胞ヒストンとに、異なるアフィニティーで結合する因子を同定し、いくつかの因子がリプログラミングを促進することを見出した。また胚細胞ヒストンの作用メカニズムを明らかにするため、胚細胞ヒストンを含むヌクレオソームの結晶構造を決定し、体細胞型ヒストンに比べ、不安定な構造を持つ事を明らかにした。

4) 胚細胞ヒストンの生理機能の解析

2種類の胚細胞ヒストン (H2aa, H2ba)の変異マウスを解析し、卵子の胚細胞ヒストンは初期発生に関与すること、すなわち胚細胞ヒストンは母性効果因子であることを明らかにした。また変異マウスは精子形成異常を呈し、spermatocyto での meiosis II、および spermiogenesis でのヒストンから Transition proteins (TNPs)への置換不全を示すことを明らかにした。このように胚細胞ヒストンは初期胚や精細胞形成時の生体内でのゲノムリプログラミングに関与することが示された。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. Kanei-Ishii C, Nomura T, Egoh A, and Ishii S. Fbxw5 suppresses nuclear c-Myb activity via DDB1-Cul4-Rbx1 ligase-mediated sumoylation. *Biochem. Biophys. Res.*

- Commun.* **426**, 59-64 (2012). (DOI:10.1016/j.bbrc.2012.08.032.)
2. Seong KH, and Ishii S. Su(fu) switches Rdx functions to fine-tune hedgehog signaling in the Drosophila wing disk. *Genes Cells.* **18**, 66-78 (2013). (DOI:10.1111/gtc.12018.)
 3. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Matsumoto M, Ishii S, and Miyakawa T. Deficiency of Schnurri-2, an MHC Enhancer Binding Protein, Induces Mild Chronic Inflammation in the Brain and Confers Molecular, Neuronal, and Behavioral Phenotypes Related to Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. (in press) (2013). (DOI:10.1038/npp.2013.38.)