

【若手研究(S)】

生物系 (生物学)



研究課題名 多彩な細胞系譜の運命決定・恒常性を制御する 転写因子 Blimp1 の統合的機能解明

京都大学・大学院医学研究科・教授 さいとう みちのり
齋藤 通紀

研究分野：生物系・生物学・生物科学・発生生物学

キーワード：細胞分化・幹細胞・生殖細胞・エピジェネティクス

【研究の背景・目的】

細胞の運命決定・機能維持機構の解明は、生命科学の中で最も重要な課題の一つである。細胞の運命及び機能はそれぞれの細胞に特異的な転写因子群とそれらの結合部位を規定するエピゲノム状態（クロマチンの後成的修飾状態）により制御される。ところが実際の生体における細胞の運命決定・機能維持過程においてこの両者を高い解像度で解明した研究は極めて少ない。これは、実際の生体における細胞運命決定や機能維持が少数の細胞を起点にして起こる現象で、これまで少数の細胞においてこの両者を定量的に解析する技術が存在しなかったことに起因する。本研究は、少数（ 10^3 ）の細胞のエピゲノム状態を Chromatin immunoprecipitation-DNA Chip 法（ChIP-Chip 法）もしくは ChIP-Sequence 法により定量的に測定する技術を開発し、その技術を用いて、多彩な細胞の運命決定・恒常性維持に必須の働きをする転写因子 Blimp1 の作用発現機序を生殖細胞系列と B 細胞系列をモデルに解明、統合的に理解することを目的とする。

【研究の方法】

10^3 程度の少数細胞を出発材料とした ChIP 法の技術的制約は以下の 2 点、1) ヒストン等のゲノム中に多数の結合部位を持つタンパク質を対象としており、転写制御因子に適用困難、2) 免疫沈降したゲノム DNA が少量でゲノムワイドな解析に適用困難、に要約される。本研究では、1) を解決するため、個々の転写制御因子に対する抗体による ChIP 法に替えて、タグ付き Blimp1 を発現するノックインマウスを作出し、タグを標的とした少数の細胞からの高効率 ChIP 法のプロトコール確立を目指す。また、2) を解決するため、免疫沈降されたゲノム DNA 断片の網羅的かつ高精度な増幅を、単一細胞 cDNA 増幅法の一部を直接応用することで行う。開発した技術を用いて、生殖細胞系列と B 細胞系列における Blimp1 の作用機序を統合的に解明する。

【期待される成果と意義】

少数細胞におけるゲノムワイドな転写因子の結合部位及びエピゲノム状態の測定技術開発は、本研究の目的達成はもちろんのこと、発生・組織生

物学及び幹細胞生物学における最重要課題の一つであると考えられ、その目的が達成されれば、生体に存在する多彩な細胞群や組織幹細胞のエピゲノム状態を直接測定することが可能となる。この技術開発は、組織幹細胞の機能維持機構の解明や長期培養技術の開発、多能性幹細胞もしくは組織幹細胞から調整された細胞の品質評価にも大きな貢献をすることが期待される。

本研究の目的が達成されれば、Blimp1 による生殖細胞系列及び形質細胞の運命決定・機能維持過程がこれまでにない高精度で描出されることになり、両分野の発展に貢献する。特に始原生殖細胞におけるエピジェネティックリプログラミングの分子機構解明の基盤となる。さらに、Blimp1 はこれら 2 つの細胞系譜以外においても極めて重要な働きをしており、本研究の成果は、細胞運命決定・機能維持機構一般に内在する基盤原理の同定につながると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ohinata, Y., Ohta, H., Shigeta, M., Yamanaka, K., Wakayama, T., and Saitou, M. (2009). A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. *Cell*, 137, 571-584.
- Kurimoto, K., Yabuta, Y., Ohinata, Y., Shigeta, M., Yamanaka, K., and Saitou, M. (2008). Complex genome-wide transcription dynamics orchestrated by Blimp1 for the specification of the germ cell lineage in mice. *Genes & Development*, 22, 1617-1635.

【研究期間と研究経費】

平成 21 年度 - 25 年度

76,100 千円

ホームページ等

http://www.med.kyoto-u.ac.jp/J/grad_school/introduction/1103/