

第2回 北陸銀行若手研究者助成金 研究実績報告書

氏名	所属・職名		助成金額
赤木紀之	医学系再生分子医学・助教		900,000 円
研究課題名	万能細胞の根幹をつかさどる分子メカニズムの解明		
研究の概要	<p>マウスの万能細胞 (ES 細胞) は、培養する際に白血病阻害因子 (LIF) を添加しておくことで、万能性を維持したまま増殖させることが可能である。しかし LIF を除去すると、ES 細胞は自然に様々な細胞へと分化してしまう。私の最終目標は、2つの状態を取りうる ES 細胞において、LIF による切り換えがいかに行なわれているのか、その制御機構を分子レベルで明らかにすることである。これまでの様々な研究から、LIF 刺激によって ES 細胞の内部にある因子 STAT3 や Oct3/4 が、自己複製に重要であることが示されている。更なる下流の因子を探索することで、未分化と分化の境界線の分子メカニズムの解明が期待される。以前の解析から、ES 細胞において STAT3 や Oct3/4 の下流因子として、核内ホルモン受容体である Dax1 を同定した。そこで本研究は、酵母 two hybrid 法を用いて、Dax1 に相互作用する新規因子の同定を試み、自己複製への関与を解析した。</p>		
研究の成果	<p>Dax1 と相互作用を持つ因子を同定するために、酵母 two hybrid 法を用いて未分化なマウス ES 細胞由来の cDNA ライブラリーをスクリーニングした。その結果、Dax1 と相互作用を持つ因子として核内受容体 Estrogen-related receptor beta (Esrrb) が高頻度で得られた。哺乳動物細胞を用いた Pull-down Assay から両者の相互作用は確認でき、Dax1 は Esrrb の転写活性化領域とリガンド結合領域に、Esrrb は Dax1 の DNA 結合領域に結合していることが判明した。ES 細胞における Esrrb の発現制御機構を解析したところ、Esrrb は Oct3/4 によってコントロールされていることを見出した。Dax1、Esrrb、および Oct3/4 の三者の相関関係を解析した結果、Esrrb は Dax1-Oct3/4 複合体から Dax1 を引き剥がすことによって、Oct3/4 の活性を亢進している可能性を見出した。加えて、Dax1 遺伝子のプロモーター領域には、Esrrb 結合様配列が 2 か所 (ERRE1、ERRE2) 存在していたことから、Esrrb を介した Dax1 の発現制御機構の解析を遂行した。その結果、Esrrb は ERRE1 に作用して ES 細胞内における Dax1 の発現を亢進し、その転写活性化能は Dax1 自身によって抑制されることが分かった。以上の解析から、Dax1、Esrrb、Oct3/4 の三者が相互作用することで、「Oct3/4 の適切な活性化状態」を維持し、ES 細胞の自己複製維持に貢献していると考えられる。これらの研究成果は現在、投稿準備中である。</p>		
研究成果発表状況	<p>浦西洸介, <u>赤木紀之</u>, 孫伝海, 小出寛, 横田崇. 未分化な ES 細胞特異的に発現している Dax1 と Esrrb の相互作用. BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会 第 83 回日本生化学会大会 合同大会. 神戸ポートアイランド (2010/12/10)</p>		
経費の執行状況	区 分	執行額 (円)	備 考
	実験器材消耗品	456,990 円	
	実験試薬消耗品	443,010 円	