

2014/02/27

株式会社 DNA チップ研究所

TEL:045-500-5211

E-mail:dnachip-supporttl@dna-chip.co.jp

マウス胚性幹細胞（ES 細胞）における転写因子 Oct3/4 のヘテロな転写活性と Gli2 との相互作用を遺伝子発現解析より明らかにした。

Li Y et al.らは、Oct3/4 遺伝子の転写活性がマウス ES 細胞で特徴的であり、特にヘッジホッグシグナル伝達経路と関連しダイナミックに変化することを発見しました。さらに Gli2 タンパク質が ES 細胞の核上で不均一に発現していることが確認され、これらの発現は Oct3/4 タンパク質の発現と相関していました。

本成果は国際誌「Genomics」に掲載されました。（イリノイ大学、ノートルダム大学、DNA チップ研究所の共同研究）

概要

マウス胚性幹細胞（マウス ES 細胞）の未分化能維持を遺伝子レベルで検討するために、Oct3/4(Pou5f1)転写活性を調べました。まず、Oct3/4 プロモーターと蛍光タンパク質 Venus とピューロマイシン耐性遺伝子がプロモーターとして働く転写発現ベクターを構築しました。この組み換え遺伝子を含むマウス ES 細胞を、ピューロマイシンの有無の条件下でそれぞれ単離、培養し、それぞれのサンプルから RNA を抽出後、マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行いました。その結果、有意に差を認める約 4600 プローブ（遺伝子）を同定しました。ピューロマイシン存在下で培養した細胞において、核酸合成に関与する遺伝子が過剰発現する事象が認められました。対照的に、ピューロマイシン非存在下で培養した細胞では、細胞分化に関与する遺伝子が過剰発現する事象が認められました。これらのデータから、マウス ES 細胞では Oct3/4 の転写活性が変動することが示され、さらには Oct3/4 が細胞複製に必要な転写活性を維持する上で重要な役割を果たしていることが示されました。さらに、ヘッジホッグシグナル伝達経路に関与する遺伝子が、マウス ES 細胞において特有の発現プロファイルを示すことが RT-PCR 法により明らかとなりました。他の多能性幹細胞において、Gli2、Ptch1 および Smo（ヘッジホッグシグナル伝達経路関連遺伝子）の発現は常に検出され、さらに Gli2 タンパク質が ES 細胞の核上で不均一に発現していることが確認され、その発現は Oct3/4 タンパク質と相関していました。また、マウス ES 細胞において Gli2 タンパク質の強制発現を行うと増殖速度を亢進することが示されました。以上より、Gli2 は多能性幹細胞の未分化能維持に対し新規の役割を果たす可能性が示唆されました。

題名 :

Gene expression profiling reveals the heterogeneous transcriptional activity of Oct3/4 and its possible interaction with Gli2 in mouse embryonic stem cells.

掲載 URL:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754313001857>

Genomics. 2013 Nov-Dec;102(5-6):456-67. doi: 10.1016/j.ygeno.2013.09.004. Epub 2013 Oct 8.

Abstract

We examined the transcriptional activity of Oct3/4 (Pou5f1) in mouse embryonic stem cells (mESCs) maintained under standard culture conditions to gain a better understanding of self-renewal in mESCs. First, we built an expression vector in which the Oct3/4 promoter drives the monocistronic transcription of Venus and a puromycin-resistant gene via the foot-and-mouth disease virus self-cleaving peptide T2A. Then, a genetically-engineered mESC line with the stable integration of this vector was isolated and cultured in the presence or absence of puromycin. The cultures were subsequently subjected to Illumina expression microarray analysis. We identified approximately 4600 probes with statistically significant differential expression. The genes involved in nucleic acid synthesis were overrepresented in the probe set associated with mESCs maintained in the presence of puromycin. In contrast, the genes involved in cell differentiation were overrepresented in the probe set associated with mESCs maintained in the absence of puromycin. Therefore, it is suggested with these data that the transcriptional activity of Oct3/4 fluctuates in mESCs and that Oct3/4 plays an essential role in sustaining the basal transcriptional activities required for cell duplication in populations with equal differentiation potential. Heterogeneity in the transcriptional activity of Oct3/4 was dynamic. Interestingly, we found that genes involved in the hedgehog signaling pathway showed unique expression profiles in mESCs and validated this observation by RT-PCR analysis. The expression of Gli2, Ptch1 and Smo was consistently detected in other types of pluripotent stem cells examined in this study. Furthermore, the Gli2 protein was heterogeneously detected in mESC nuclei by immunofluorescence microscopy and this result correlated with the detection of the Oct3/4 protein. Finally, forced activation of Gli2 in mESCs increased their proliferation rate. Collectively, it is suggested with these results that Gli2 may play a novel role in the self-renewal of pluripotent stem cells.