

【本件リリース先】

文部科学記者会、科学記者会、広島大学関係報道機関  
神戸市政記者クラブ、神戸民間放送記者クラブ、  
大阪科学・大学記者クラブ、京都大学記者クラブ



NEWS RELEASE

本件の報道解禁につきましては、令和2年6月18日(木)午前4時以降にお願いいたします。

令和2年6月15日

哺乳類細胞における突発的遺伝子発現動態を網羅的に決定！！  
～iPS細胞の精密な分化誘導法確立に繋がる可能性～

【本研究成果のポイント】

- 細胞は、同じゲノムDNAを持ち、同じ環境にいる同一細胞種間でも、異なる性質を示し得る
- 突発的遺伝子発現がこの多様性の誘引に関与していると考えられているが、その制御機構は不明
- 本研究では、哺乳類細胞における突発的遺伝子発現動態を1細胞レベルでの遺伝子発現解析により明らかにし、突発的遺伝子発現の動態に影響を与える特徴を発見
- これらの結果は、細胞間の性質的多様性の軽減法を確立し、iPS細胞の精密な分化誘導法の開発など、再生医療への応用が期待

【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科、ゲノム編集イノベーションセンターの落合博講師、山本卓教授、理化学研究所生命機能科学研究センター（BDR）の二階堂愛チームリーダー、東京工業大学の木村宏教授、九州大学の川村恭行教授、国立国際医療研究センター研究所動物実験施設の岡村匡史室長らのグループは、マウス胚性幹細胞（マウスES細胞）における突発的遺伝子発現動態を網羅的に決定しました。

細胞は、数万ある遺伝子の情報をRNAへと「転写」し、RNAからタンパク質が合成され、生命活動を維持しています。この一連の流れを「遺伝子発現」と呼び、遺伝子の発現量は主に転写時に制御されています。多くの発現遺伝子は、常に一定の速度で転写されている訳ではなく、速い速度で転写される状態と、ほとんど転写されない状態が確率的に切り替わっていることが知られていました。これは「突発的遺伝子発現」または「転写バースト」と呼ばれ、同一環境中にある、同一のゲノムDNAを有する細胞間で遺伝子発現量の多様性を生む要因の一つであることが知られていました。しかし、哺乳類細胞における突発的遺伝子発現がどのように調節されているかは不明でした。本研究では、マウスES細胞における突発的遺伝子発現の動態を網羅的に解明するために、1細胞レベルの遺伝子発現解析を行い、転写伸長因子などが突発的遺伝子発現動態を制御することを明らかにしました。さらに、網羅的遺伝子破壊解析によって、Akt/MAPKシグナル伝達経路が転写伸長効率を調節することによって突発的遺伝子発現動態を調節することを明らかにしました。これらの結果は、哺乳類

細胞における突発的遺伝子発現と細胞間遺伝子発現量多様性の根底にある分子機構を明らかにし、突発的遺伝子発現に由来する細胞間遺伝子発現量多様性を制御する技術の確立が期待されます。これにより、iPS 細胞等の多能性幹細胞から特定細胞種への効率的な分化誘導法の確立へと繋がる可能性があり、再生医療への応用が期待されます。

本研究の成果は、アメリカ東部時間の 2020 年 6 月 17 日 14 時（日本時間:2020 年 6 月 18 日 4 時）「SCIENCE ADVANCES」オンライン版に掲載予定です。

#### 《論文情報》

論文タイトル:

Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. 著者:

Hiroshi Ochiai<sup>1,2\*</sup>, Tetsutaro Hayashi<sup>3</sup>, Mana Umeda<sup>3</sup>, Mika Yoshimura<sup>3</sup>, Akihito Harada<sup>4</sup>, Yukiko Shimizu<sup>5</sup>, Kenta Nakano<sup>5</sup>, Noriko Saitoh<sup>6</sup>, Zhe Liu<sup>7</sup>, Takashi Yamamoto<sup>1,2</sup>, Tadashi Okamura<sup>5</sup>, Yasuyuki Ohkawa<sup>4</sup>, Hiroshi Kimura<sup>8</sup>, Itoshi Nikaido<sup>3,9\*</sup> (\*責任著者)

所属:

1. 広島大学大学院統合生命科学研究科, 2. ゲノム編集イノベーションセンター, 3. 理化学研究所生命機能科学研究センター (BDR), 4. 九州大学生体防御医学研究所, 5. 国立国際医療研究センター研究所, 6. がん研究会, 7. ハワードヒューズ医学研究所, 8. 東京工業大学, 9. 筑波大学。

掲載雑誌:

Science Advances

DOI 番号:

DOI: 10.1126/sciadv.aaz6699

#### 【背景】

転写は遺伝子発現の第一段階であり、RNA ポリメラーゼ II (Pol II) によって mRNA が合成される反応である。これまでに、複数の Pol II が連続的に転写する状態と、転写されない状態が確率的に変化する、いわゆる「転写バースト」(または突発的遺伝子発現)が様々な生物種および細胞種の複数の遺伝子において見出されていた。単純化したモデルでは、転写バーストはプロモーターの転写活性状態と転写不活性状態との間の確率的スイッチにより(図 1A)、多数の mRNA が転写活性状態の間に産生される。通常、短い転写活性状態の後に、長い転写不活性状態が続くため、転写バーストによって細胞間のみならず、二倍体ゲノム(注 1)における二つの対立遺伝子間の遺伝子発現量の多様性が誘引される(図 1B、C)。ここでは、転写バーストによって誘引される遺伝子発現量の細胞間多様性の要因のことを内因性ノイズ(注 2)と呼ぶ。転写バーストの動態は、転写活性状態にあるプロモーターの頻度(バースト頻度)およびバースト当たりに産生される RNA の平均数(バーストサイズ)によって表すことができる。転写バーストが内因性ノイズの主要源であると仮定すると、バースト頻度とバーストサイズは内因性ノイズ、平均 RNA 発現レベルおよび RNA 分解速度から推定できる。

マウス ES 細胞は着床前胚の内部細胞塊に由来する。マウス ES 細胞を血清と LIF タンパク質を含む培地で培養した場合、多能性維持に重要な因子 *Nanog* を含む多数の遺伝子は細胞間で不均一な発現量を示す。落合らは以前、生細胞イメージングから、内在性ノイズがマウス ES 細胞における不均一な *Nanog* タンパク質発現の主因の一つであることを見出していた[1]。また近年、大規模な RNA 可視化技術を用いた解析から、マウス ES 細胞で多くの遺伝子が転写バーストを示すことが明らかにな

った[2]。しかし、各遺伝子の転写バーストの特性(バーストサイズ、バースト頻度、内因性ノイズ)がどのようにして制御されているのか、包括的な解明には至っていませんでした。

### 【研究成果の内容】

本研究で著者らは、網羅的に転写バーストの特性を調べるために、異なる系統のマウスをかけ合わせて得られるハイブリッドマウス ES 細胞を用いて、1 細胞 RNA 配列決定(1 細胞 RNA-seq)を行った。ここでは、理化学研究所の二階堂らが開発した、1 細胞レベルで RNA 配列全長を決定できる高感度な RNA-seq 法、RamDA-seq を利用した[3, 4, 5]。これにより、多型を利用して、1 細胞レベルで異なる系統毎の発現量の定量が可能になる。およそ 450 細胞分のデータから、各遺伝子に対し遺伝子毎の発現量分布を得ることができる。この分布から内因性ノイズと平均 mRNA レベルを決定した。また、得られた内因性ノイズから、バーストサイズおよびバースト頻度も決定することができた (図 2)。

次に、これら転写バーストの特性(内因性ノイズ、バーストサイズおよびバースト頻度)がどのように制御されているかを明らかにするために、プロモーターや遺伝子領域に結合する種々の因子の局在情報を用いた情報科学分析を実施したところ、転写伸長因子が遺伝子領域に多く局在する遺伝子ほどバースト頻度が高く、プロモーター領域にポリコム抑制複合体 2(PRC2)関連因子が局在する遺伝子ほど内因性ノイズが高い傾向があることがわかった。一方で、細胞生物学的実験から、これらのみによって転写バーストの特性が決定されている訳ではないことが示された。また多変量解析から、転写バーストの特性は複数のプロモーターまたは遺伝子領域に局在する因子の組み合わせによって制御されることがわかった。

次に、内因性ノイズを調節する遺伝子を不偏的に同定するために、CRISPR ライブラリー(注 3)による網羅的遺伝子破壊解析を行った。その結果、Akt/MAPK シグナル経路が転写伸長効率の調節を介して転写バーストを調節することを明らかにした (図 3)。

本研究成果は、科学技術振興機構さきがけ(研究課題「細胞多様性決定要因の網羅解析技術の開発」、研究代表者:落合 博(広島大学 講師)、研究開発期間:2015 年 10 月~2019 年 3 月)、科学研究費助成事業・基盤研究(C) (研究課題「高次ゲノム構造が織りなす複雑な遺伝子発現制御動態の解明」、研究代表者:落合 博(広島大学 講師)、研究開発期間:2019 年 4 月~2022 年 3 月)、新学術領域研究(研究領域提案型)(研究課題「核内 RNA ボディによるクロマチン制御機構の解明」、研究代表者:斉藤 典子(がん研究会 部長)、研究開発期間:2018 年 6 月~2023 年 3 月)、新学術領域研究(研究領域提案型)(研究課題「細胞核・クロマチン構造のダイナミクスと遺伝子制御」、研究代表者:木村 宏(東京工業大学 教授)、研究開発期間:2018 年 6 月~2023 年 3 月)、科学技術振興機構 CREST(研究課題「臓器・組織内未知細胞の命運・機能の 1 細胞オミクス同時計測」、研究代表者:二階堂 愛(理化学研究所 チームリーダー)、研究開発期間:2016 年 10 月~2021 年 3 月)、科学技術振興機構 CREST(研究課題「細胞ポテンシャル測定システムの開発」、研究代表者:大川 恭行(九州大学 教授)の一環として得られた。

### 【今後の展開】

本研究により、初めて哺乳類細胞において網羅的に転写バースト動態および転写バーストによって誘引される遺伝子発現量多様性の要因が明らかにされました。これにより、同じ環境、同じゲノム配列を有する細胞が如何にして多様な形質を生み出すのか、その一端を理解することが可能になりました。特に、iPS 細胞などの多能性幹細胞

胞では細胞間で異なる性質を示しやすいことが知られており、その多様性を生む要因を突き止めることで、それを制御できる可能性があり、より効率的な分化誘導法の開発などに繋がる可能性があります。

【参考資料】

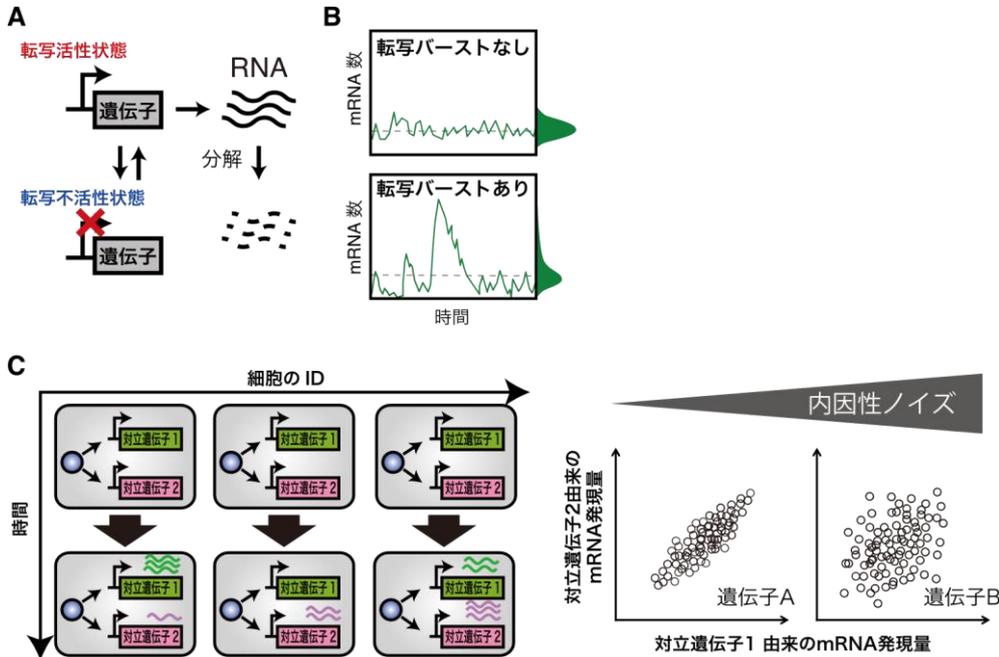


図 1： 転写バーストは遺伝子発現量の多様性を誘引する。(A) 転写活性状態と転写不活性状態は確率的に切り替わり、転写活性状態にのみ転写が盛んに行われる。このような転写様式を転写バースト（突発的遺伝子発現）と呼ぶ。(B) 転写バーストの有無による、mRNA 数動態の模式図。(C) 転写バーストは、遺伝子発現において、細胞間および対立遺伝子間の不均一性を誘引する。同じ細胞状態の細胞が複数存在する場合、転写バーストにより細胞間、さらには対立遺伝子間でも遺伝子発現の不均一性が見られる（左パネル）。右パネルは、個々の対立遺伝子由来の mRNA 数の散布図を示す。各データポイントは単一細胞からの発現データを示す。内因性ノイズが大きいほど、分布は対角線に垂直に伸びる傾向が大きくなる。

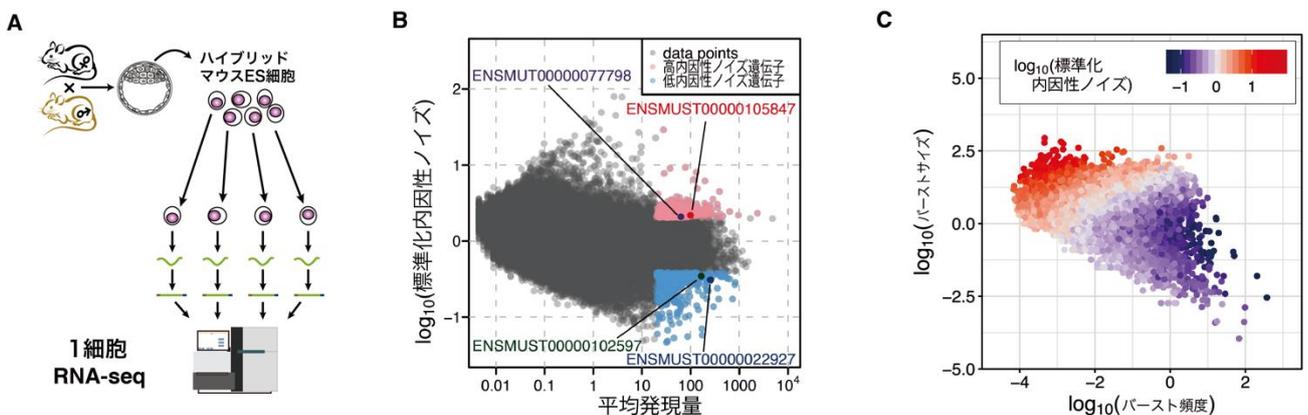


図 2： (A) ハイブリッドマウス胚性幹細胞を用いた 1 細胞 RNA-seq の模式図。(B) 1 細胞 RNA-seq によって明らかになった各遺伝子の平均発現量と(遺伝子発現量で標準化された)内因性ノイズの散布図。(C) 各遺伝子のバーストサイズとバースト頻度の散布図。カラーコードは遺伝子発現量で標準化した内因性ノイズの大きさを示す。

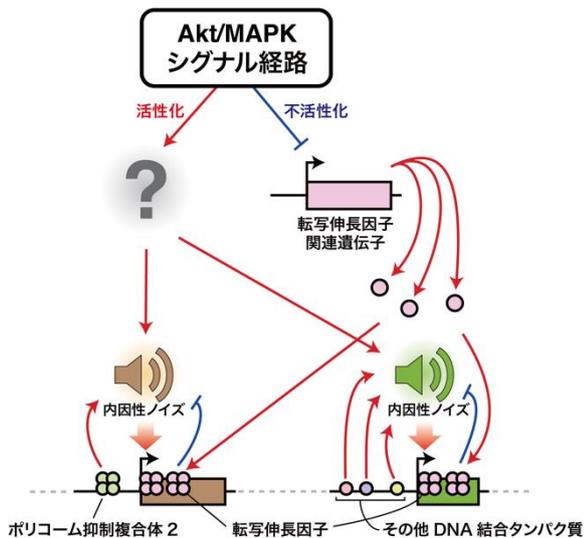


図3：本研究で明らかになった転写バースト制御機構。ポリコーム抑制複合体2および転写伸長因子を含む、プロモーターおよび遺伝子領域に結合するDNA結合タンパク質などの組み合わせによって転写バーストの特性（内因性ノイズ、バーストサイズ、およびバースト頻度）が制御されている。

#### 【用語説明】

##### （注1）二倍体ゲノム

ゲノムDNAには細胞や生物個体の設計図として遺伝子や遺伝子の働きを制御する情報が記されている。我々哺乳類などの生物を構成する細胞は通常、父親と母親由来の2つで1セットのゲノムDNAを有している。そのため、2セットのゲノムDNAのことを、二倍体ゲノムと呼ぶ。ちなみに、卵子や精子は1セットのゲノムDNAのみ有するため一倍体ゲノムのみを有する。

##### （注2）内因性ノイズ

遺伝子発現量の細胞間多様性を誘引する一つの要因。主に分子の確率的な衝突に起因するため、細胞内の遺伝子発現に関わるすべての化学反応（RNAの転写、RNAの核外輸送、RNAの分解、タンパク質の翻訳、タンパク質の分解など）で内因性ノイズが生じ得る。しかし、細胞核内に存在する多くの遺伝子は1または2個しかなく、RNAの転写の段階がもっとも確率的な反応の影響が出やすく、遺伝子発現における内因性ノイズは転写時の内因性ノイズの影響を受けていると考えられている。遺伝子発現量の細胞間多様性を誘引するもう一つの要因は外因性ノイズで、細胞毎にもともと持っている構成因子（たとえばリボソームやRNA pol IIなど）の量が最初から違うなど、内因性ノイズ以外の要因を指す。

##### （注3）CRISPRライブラリー

バクテリアのもつ獲得免疫システムCRISPR-Casを利用することで、任意のDNA領域を切断することが可能である。細胞内でこれを応用することによって、特定遺伝子領域でDNAを切断すると、それを修復する過程で高頻度に修復異常が起こり、遺伝子の機能を破壊することができる。CRISPRライブラリーとは全遺伝子を標的としたCRISPR-Casシステムの混合物のことで、1つの細胞に1種類のCRISPR-Casシステムを導入することで、多数細胞中で様々な遺伝子を破壊した細胞集団を生み出

すことができる。これにより、目的の形質を示す細胞を選び出すことで、目的の形質の発現に関連した遺伝子を決定できる。

[1] Ochiai, H., Sugawara, T., Sakuma, T., & Yamamoto, T. (2014). Stochastic promoter activation affects Nanog expression variability in mouse embryonic stem cells. *Scientific Reports*, 4, 7125.  
<http://doi.org/10.1038/srep07125>

[2] Shah, S., Takei, Y., Zhou, W., Lubeck, E., Yun, J., Eng, C.-H. L., et al. (2018). Dynamics and Spatial Genomics of the Nascent Transcriptome by Intron seqFISH. *Cell*, 174(2), 363-376.e16.  
<http://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.035>

[3] Hayashi, T., Ozaki, H., Sasagawa, Y., Umeda, M., Danno, H., & Nikaido, I. (2018). Single-cell full-length total RNA sequencing uncovers dynamics of recursive splicing and enhancer RNAs. *Nature Communications*, 9(1), 619.  
<http://doi.org/10.1038/s41467-018-02866-0>

[4] 2018年2月14日プレスリリース「1細胞から多種多様なRNAのふるまいを計測」  
[https://www.riken.jp/press/2018/20180214\\_1/](https://www.riken.jp/press/2018/20180214_1/)

[5] 2019年9月17日お知らせ「1細胞RNA解析キットの商用化へ」  
[https://www.riken.jp/pr/news/2019/20190917\\_1/](https://www.riken.jp/pr/news/2019/20190917_1/)

【お問い合わせ先】

広島大学大学院統合生命科学研究所 生命医科学プログラム  
落合 博  
Tel : 082-424-4008 FAX : 082-424-4008  
E-mail : [ochiai@hiroshima-u.ac.jp](mailto:ochiai@hiroshima-u.ac.jp)

理化学研究所 生命機能科学研究センター (BDR)  
二階堂 愛  
E-mail : [itoshi.nikaido@riken.jp](mailto:itoshi.nikaido@riken.jp)

広島大学 財務・総務室 広報部広報グループ  
E-mail : [koho@office.hiroshima-u.ac.jp](mailto:koho@office.hiroshima-u.ac.jp)

国立研究開発法人理化学研究所 広報室 報道担当  
E-mail : [ex-press@riken.jp](mailto:ex-press@riken.jp)

発信枚数：A4版 6枚（本票含む）