

ERATO 長谷部分化全能性進化プロジェクト事後評価報告書

【研究総括】 長谷部 光泰 （自然科学研究機構基礎生物学研究所／教授）

【評価委員】（あいうえお順）

篠崎 一雄（理化学研究所植物科学研究センター／センター長）

田坂 昌生（委員長；奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科／教授）

中村 研三（名古屋大学大学院生命農学研究科／教授）

西村 いくこ（京都大学大学院理学研究科／教授）

評価の概要

ERATO 長谷部分化全能性進化プロジェクトは植物が有する高いリプログラミング能の根源を探求することを目的に、基礎生物学研究所長谷部教授を研究総括として 2005 年 9 月に発足した。

本プロジェクトはヒメツリガネゴケでみられる切断による茎葉体細胞からの幹細胞の分化に着目したユニークな研究テーマであり、プロジェクト研究の前半でヒメツリガネゴケの全ゲノムの決定とこの植物を用いた分子遺伝学的テクニックの確立をおこなった。その過程で積極的かつ迅速に次世代シーケンサーなどの最先端の技術を取り込み、この生物材料で利用できる高度の分子生物学的な実験手法・解析系を短期間で一挙に確立した。これは本プロジェクトの大きな成果の一つであり、ヒメツリガネゴケがモデル植物の一つとして確固たる地位を築くことに繋がった。本プロジェクトの基盤技術は広く公開・提供され、この分野の発展に大きく貢献している。そして、本プロジェクトチームは国際的にも研究コミュニティーをリードする研究グループとして高く評価されている。さらに、基盤技術の開発を迅速に進めつつ、次々に確立した研究手法を用いて多能性幹細胞分化のメカニズムの解明に向けた基礎的データの収集を行い、研究の初期から重要な現象や因子を次々と見いだしていった。そして、研究の中盤から後半にかけて多能性幹細胞分化に関連する分子過程を加速度的かつ多面的に解析し、遺伝子ネットワークにおけるインテグレーター候補の発見など当初予想もされなかったような重要な発見を含めてヒメツリガネゴケの分化全能性にかかる多くの知見が得られている。

なお、プロジェクトに集結した若手研究者は、長谷部研究総括の高い指導力とリーダーシップのもと、最先端の技術を持った次世代を担う人材として成長しており、人材育成という面からも本プロジェクトは大きく貢献したといえる。

これらのことから、本プロジェクトでは、戦略目標「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御に関する基盤技術の創出」に資する成果が得られたと評価される。

1. 研究プロジェクトの設定および運営

1-1. プロジェクトの全体構想

多細胞生物の分化した細胞が、リプログラミングにより再び多分化能を獲得するメカニズムの解明は、生命科学の重要課題の1つであり、再生医療や農産物の育種などへの応用の面からも研究の進展が期待されている。中でも植物細胞が示す分化全能性は古くから注目されており、様々な植物種を使ってその分子機構について多くの研究が進められてきた。しかし、決定的な進展は得られていないのが現状であった。

本プロジェクトは基礎生物学研究所の長谷部光泰教授を研究総括としてそのリーダーシップの下に、ヒメツリガネゴケが示す高いリプログラミング能に着目しこの命題を解明すべく、植物生理学、分子生理学、バイオインフォマティクスなど出身分野の異なる優秀な若手研究者が集められて、分野融合的な研究体制が構築された。本研究において、傷害により高効率に多能性幹細胞化するヒメツリガネゴケをモデルとして、(1) リプログラミング研究の対象として極めて有利かつオリジナルな実験系が確立されたと同時に、(2) 長谷部研究総括を含む国際チームにより達成された全ゲノム解読情報に加えて、バイオイメージング、逆遺伝学、バイオインフォマティクス、オミクスなど最新の解析法を導入し、これらを効果的に組み合わせることにより、多能性幹細胞化の分子機構の解明を目指した新規性の高い先導的な研究が行なわれ、多くの重要な知見が得られた。さらに、(3) 植物の進化の過程で要となるコケ植物であるヒメツリガネゴケで得られた知見を基に、他の高等植物や動物と比較することでリプログラミングの進化的側面までも明らかになる従来にない新しい展開が期待できる意欲的な研究内容となったと総括できる。これらの成果から、本研究領域が戦略目標「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御に関する基盤技術の創出」に資するプロジェクトであったといえる。

1-2. プロジェクトの枠組みや研究体制、および研究活動の状況

本プロジェクトは、「バイオイメージンググループ」、「逆遺伝学グループ」、「インフォマティクス・進化グループ」、「オミクスグループ」という研究手法を基にした4つのグループから構成され、それぞれのグループが得意とする切り口で「実験系の確立」、「外部刺激の影響」、「細胞内環境変化」、「細胞周期との関連」の全ての研究項目に取り組んだ。本プロジェクトの進行過程で、基礎生物学研究所内のERATO研究実施場所に設置された「バイオイメージング」、「逆遺伝学」および「オミクス」の3グループと、金沢大学に設置された「インフォマティクス・進化グループ」は密な連携を図りながら研究を推進し、長谷部総括のリーダーシップのもとウェットの実験科学者と情報系の研究者が一体となった領域融合的な研究体制が構築された。

プロジェクトの初期には視点や手法の異なる4つの若手研究者グループは独自性を存分に発揮して迅速な研究基盤の整備を成し遂げた。そしてプロジェクト研究の期間を通じて、各グループは常に密接なコミュニケーションのもと研究を進め、研究の展開に従ってグループが柔軟に連携・融合することで強力に研究全体が統一的に運営され、多くの独創的な研究成果が創出された。

本プロジェクトで導入・改良された解析技術の多くは汎用性が高いものであり、これらの技術を確立すると同時に素早く Web や技術指導を通じて国内外に積極的に広めた。この取り組みは、植物科学の幅広い領域を発展させる重要な活動であり、評価委員一同、敬意を表したい。とりわけ、プロジェクト研究に次世代シーケンサーをいち早く導入し、データ解析に関連したインフォマティクスも含めてその機能を最大限引き出す研究手法の開発に成功した点は大きな成果のひとつであり、植物分野のみならず我が国でのバイオインフォマティクス分野の基盤整備と人材育成に対する本プロジェクトの寄与は大きいと認められる。

これらの結果として、ヒメツリガネゴケが様々の最先端技術・解析手法を使える優れたモデル植物として国際的にも認知され、本プロジェクトが世界のヒメツリガネゴケ研究コミュニティを最先端でリードしていく研究グループとして高く評価されている。

【研究プロジェクトの設定および運営】 a (的確かつ効果的であった)

【研究活動の状況】 a (良好な研究活動・展開を示した)

2. 研究成果

本プロジェクトでは葉細胞多能性幹細胞化の分子機構を解明するために、「実験系」(2-1)、「外部刺激」(2-2)、「細胞内環境変化」(2-3)、「細胞周期」(2-4)の全ての研究項目に、バイオイメージンググループ、逆遺伝学グループ、インフォマティクス・進化グループ、オミクスグループの4グループがそれぞれ得意とする切り口で取り組み、常に綿密な連携のもと研究を共同で推進した。ここでは、研究項目ごとに研究成果を概観し、評価を述べることにする。

2-1. ヒメツリガネゴケ実験系の洗練・開発

本テーマで高いリプログラミング能を有する理想的な研究材料としてヒメツリガネゴケを取り上げ、この植物がモデル植物として世界的に認知されリプログラミングだけでなく種々の研究に使用されるために必要な一連の実験系の開発を行った。最初の3年ほどで、ハイスループットな観察系の確立、全ゲノム配列の決定及びゲノム情報の整備、幾つかの順遺伝学的解析法の確立、多量の遺伝子の網羅的な解析法の確立、逆遺伝学的な手法の確立、並びに遺伝子ネットワーク解析法の確立など、現在の分子生物学的な研究に必須の主要な実験系と解析技術をヒメツリガネゴケで確立した。プロジェクト期間前半でこれら一連の実験系の迅速な立ち上げに成功したことの意義は大きく、後半での研究の爆発的な発展に効率的に繋がった。特に、次世代シーケンサーの導入による遺伝子の網羅的解析手法、およびハイスループットで多検体を長時間自動継続顕微観察できるシステムの構築に成功した事により、葉細胞の幹細胞化を一細胞レベルで多量に解析できる系が開発出来た事は大きなブレークスルーである。

本プロジェクトによって、ヒメツリガネゴケを対象とした最先端の研究基盤が整備され、世界水準の技術を持つ人材も育成されていることから、当初目標である「植物分化全能性研

究にかつてない斬新な成果が期待できる新しい研究基盤の確立」は十分に達成されたと考えられる。加えて、これらの技術や成果を世界へ惜しみなく公開・提供する事で、当該分野における日本のリーダーシップを向上させ、世界的な研究の発展に大きく貢献している。

2-2. 多能性幹細胞化に必要な外部刺激の解明

本テーマでは、ヒメツリガネゴケの葉細胞の幹細胞化過程において必要となる細胞外からの刺激とその受容ならびに信号伝達経路を明らかにすることを目指し、イメージングやオミクス解析を用いた生理学的・分子生物学的な解析から、茎葉体の葉細胞の幹細胞化には切断刺激と光シグナルの両方が重要であることを明らかにした。そして、切断に伴うジャスモン酸信号伝達系、赤色並びに青色光の受容からの信号伝達系が葉細胞の多能性幹細胞化の初期で働くことを示したのは重要な成果の一つである。また、次世代シーケンサーを用いた Chip シークエンス解析により主要な転写ネットワーク系の解析が進み、外部刺激によるリプログラミング誘導の分子機構について新たな知見が得られた点は高く評価できる。特に傷害応答に伴う信号伝達系と光シグナルからの信号伝達系の両者を結ぶ鍵となる転写因子 **SBP** (SQUAMOSA promoter binding protein-box 遺伝子) の発見は非常に興味深く重要な成果の一つと言える。今後のさらなる研究により、**SBP** の機能を明らかにするとともに、ネットワークを構成する他の制御因子の発見とネットワークの全体像の解明が待たれる。

1 葉細胞がそれ単独で幹細胞へとリプログラミングされること、および幹細胞化した細胞は周辺の葉細胞の幹細胞化を抑制している可能性が高いことを明らかにした。これらの重要な知見は、1 細胞を追跡することが可能なヒメツリガネゴケ実験系でこそなしたユニークな研究成果である。1 細胞系での遺伝子発現解析やプロテオーム解析、阻害物質の生化学的探索などの今後の研究の進展により、その分子実態の解明が期待される。

2-3. 多能性幹細胞化時におこる細胞内環境変化の解明

本テーマでは、幹細胞化時に機能する遺伝子ネットワークを主として明らかにすることを目指した。葉細胞から細胞分裂を伴わず幹細胞が分化する過程は比較的単純で短い時間内に起こる現象であるにも関わらず、従来ほとんど解析が進んでおらずそこで機能する遺伝子ネットワークに関しては全く未解明であった。そこで、次世代シーケンサーや分子遺伝学的手法、バイオインフォマティクスと細胞生物学的手法を組み合わせるここに踏み込み、非常にオリジナリティーの高い研究が推進された。

まず、次世代シーケンサーを使って現象全体の経時的な全体像の網羅的把握を行い、それによって多能性幹細胞分化に関連した転写発現ネットワークの概要を捉え、特にその中でも転写因子間のネットワークを重点的に解析した。そして、ここで明らかにされた転写因子ネットワークと傷害応答や光シグナル等の下流で働く遺伝子群の相関を有機的に結びつける試みを行った。これらの解析の過程で適宜、Chip シークエンス解析、small RNA 解析、ヒストン制御などエピゲノム解析の手法を取り入れて、リプログラミングに関わる因子を総合的に解析した。これにより、幹細胞化に関連したバイバレントヒストンマーク形成の分子機構、Cold Shock Domain Proteins による mRNA 安定化モデルなど、期待通りに多くの斬新な

研究成果が得られている。こうした成果の多くは、幹細胞化の分子機構に止まらず、基礎的な遺伝子発現の制御機構という視点からもユニークで重要な成果である。さらに、植物ホルモンの関与に関してオーキシンの役割を明確に示し、さらに幹細胞化のインテグレーター候補としての **PpAP2/ERF2** を発見し、これを単独で発現誘導するだけで幹細胞化が引き起こされることを示した。これらの点は、ネットワークの全体像を理解する上で特筆に値する。

多くの解析技術を駆使して多面的かつ総合的に解析を進める事で得られた研究成果は、将来リプログラミングのメカニズムの全貌を解明するための優れた基盤的データとなり得ると考えられる。また、次世代シーケンサー解析に利用されたバイオインフォマティクスのレベルは高く、本プロジェクトの大きな特徴となっている。現時点で、個々の解析結果の中には各論でとどまっているものもあるが、引き続き系統的な解析を進めることでこれらの成果の現象全体の中での位置づけも明らかにされてくると期待でき、それによって多能性幹細胞分化の全体像が明らかになる可能性が高い。

2-4. 多能性幹細胞化による細胞周期の再開機構の解明

細胞分裂を止めた葉細胞は細胞周期を停止していると考えられる。この細胞から多能性細胞が分化する過程で細胞の分裂は見られない。しかし、生じた多能性幹細胞はすぐに細胞分裂を行うので、分化に伴って細胞周期が再開して分裂を始める様に変化したと考えられる。そのため、細胞分裂の再開が幹細胞化の最終段階に位置する重要なイベントの一つであり、これを幹細胞化のひとつの指標として捉える事が出来る。本研究テーマでは、幹細胞化にともなう細胞周期の再開に焦点をあて、その分子機構を明らかにすることを目指した。

本プロジェクトで新たに開発した逆遺伝学、イメージングの技術をもとに研究を進め、まず茎葉体の葉細胞が **2C** の核相であることを明らかにし、幹細胞化時に見られるユニークな細胞周期制御と **DNA** 合成を発見し、幹細胞化には細胞周期制御因子 **CDKA** と転写因子 **E2F** が重要な役割を担うことを明らかにするなど興味深い成果が得られている。

もともと、本研究テーマは端緒に付いたところであり、今後の方向性が示された段階であるとも言える。今後この研究を押し進める事で、ヒメツリガネゴケの葉細胞から幹細胞が生じる過程の制御ネットワーク全体の中での細胞周期制御の役割が明らかになると共に、他種生物におけるリプログラミング機構にしめる細胞周期の役割と比較することで、幹細胞化能の生物種ごとの違いや進化的側面を解析する重要な知見が得られるものと期待される。

本プロジェクトにおいて、ゲノム情報整備と多くの基盤技術の整備により、ヒメツリガネゴケをモデル植物とすることに成功した意義は大きい。また、ゲノム解読から次世代シーケンサなどを使った迅速なゲノムワイドでの解析に進んだ。生物学全般においてポストゲノム解析の新しいハード面の開発やバイオインフォマティクス分野の人材育成が急務とされているが、本プロジェクトはまさにこの面で時代を先取りしたモデルケースとして研究開発を行い、その過程で多くと成果と優秀な人材を輩出しており、我が国の植物科学の発展に多大の貢献をした。

ヒメツリガネゴケはシロイヌナズナにない様々な特徴を備えることから、分化全能性研究のみならず、植物の発生分化、細胞分裂、植物ホルモン、代謝、遺伝子発現制御など様々

な分野の研究にも貢献するよう一層の努力を期待したい。今まさに解析の端緒に着いたと言える新知見も多く、今後の更なる研究の進展が待たれる。

〔研究成果（科学技術的側面）〕 a（成果として良好である）

〔研究成果（産業社会的側面）〕 a（成果として良好である）

3. 総合所見

本プロジェクトはヒメツリガネゴケを材料に、傷害によって多能性幹細胞を誘導する実験系を用いて幹細胞分化の分子過程を解析し、植物の有する高いリプログラミング能の原因の解明を目指して研究を推進した。

プロジェクト発足から3年半のうちにヒメツリガネゴケをモデル植物として研究するための基盤技術の確立をほぼ終了させたことは予想以上の進捗であり、後半の加速度的な研究の進展にも繋がるものであった。中でも、次世代シーケンサーの導入と解析法の開発は先駆的な技術導入であり、転写ネットワークの解析が飛躍的に進む事で多能性幹細胞化のメカニズム解明のための基幹がしっかりと定められ、それを中心に多くの重要な結果が生み出された。そして、本プロジェクトで創出された基盤技術は研究者に広く公開・提供されており、ヒメツリガネゴケ研究コミュニティをリードするグループとして国際的にも高く評価されていると同時に、最先端の技術を持った次世代を担う人材の育成にも成功した。

ヒメツリガネゴケを用いた系統的かつ網羅的な解析により、リプログラミング制御に関わる多くの候補因子が同定された。そして、その中でも幾つかの特に重要な因子が決められると共に、それらを中心とした遺伝子ネットワークの概要が示されつつある。これらの斬新な成果に今後のさらなる解析を加える事でより詳細にリプログラミングの分子機構が解明されると期待できる。そして、他の生物種と比較する事で多細胞生物における幹細胞化に関する共通メカニズムの解明や概念の構築あるいは進化におけるリプログラミングの位置付けが明確になると期待される。

本プロジェクトでは、戦略目標「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御に関する基盤技術の創出」に資する成果が得られたと評価される。

〔総合評価〕 A（戦略目標に資する成果が得られた）

以上