

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：63904

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25291067

研究課題名(和文) 分化細胞を幹細胞に変えるマスターレギュレーター-STEMINの機能解析

研究課題名(英文) Functional analyses of the master regulator of reprogramming STEMIN

研究代表者

長谷部 光泰 (HASEBE, Mitsuyasu)

基礎生物学研究所・生物進化研究部門・教授

研究者番号：40237996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヒメツリガネゴケの転写因子STEMIN1は、茎葉体に単独で発現させるだけで、葉細胞から幹細胞を直接誘導することができる。本研究により、STEMIN1とSTEMIN1パラログ遺伝子は、傷害刺激によって誘導される幹細胞化だけでなく、通常発生過程での幹細胞化も制御していることが明らかになった。またSTEMIN1直接標的遺伝子には、転写抑制に機能しているヒストンH3K27me3が局在しており、STEMIN1誘導後には、その修飾レベルが低下したことから、STEMIN1はヒストン修飾制御を介して、幹細胞化に必要な遺伝子の発現を制御していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In *Physcomitrella patens*, ectopic expression of STEMIN1 transcription factor in gametophores induces reprogramming of leaf cells to chloronema apical stem cells. In this study, we found that STEMIN1 and its paralogs participate in formation of chloronema apical stem cells in protonema development, but not in maintenance of chloronema apical stem cells. To understand roles of STEMIN1 in stem cell formation, we identified STEMIN1-direct target genes with ChIP-seq and RNA-seq analyses. Unexpectedly, we found that the STEMIN1-direct target genes were marked by the H3K27me3 and transcriptionally repressed in leaf cells. On the other hand, after STEMIN1 induction in gametophores, H3K27me3 level in these genes decreased and their transcriptional activation was induced. These results suggest that STEMIN1 binds to the promoter regions of the direct target genes and recruits factor(s) involved in removal of the H3K27me3 to activate the gene expression for stem cell formation.

研究分野：進化学

キーワード：幹細胞 再生 ヒメツリガネゴケ

1. 研究開始当初の背景

多細胞生物にみられる幹細胞は、自己複製能力と分化した細胞を生み出す能力の両方をもった細胞であり、多細胞体制の起点となる細胞である。幹細胞は、生物個体の特定の場所に維持されており、種子植物ではメリステムで維持されている。また分化した細胞から幹細胞を誘導すること(幹細胞化)も可能である。一般的に植物は、動物よりも高頻度に幹細胞化を引き起こすことができ、その能力の高さが植物の大きな特徴の一つとしてとりあげられてきた。しかしながら、幹細胞化の分子機構は、まだほとんど明らかになっていない。

これまでにシロイヌナズナを用いた解析から、幹細胞誘導に関わる因子が単離されている。例えば、AP2/ERF型の転写因子WIND1は、その異所的発現により植物ホルモン無しでカルスを誘導でき(Iwase et al. 2011 Curr. Biol. 21, 508) 同様にAP2/ERF型転写因子であるENHANCER OF SHOOT REGENERATION (ESR1)/DORNROSCHE (DRN)は、カルスからサイトカイニン添加無しでシュートを誘導することができる(Banno et al. 2001 Plant Cell 13, 2609; Ikeda et al., 2006 Plant Cell Physiol. 47, 1443) したが、これら因子がどのような制御系で機能しているのか不明である。また、LEAFY COTYLEDON1 (Lotan et al. 1998 Cell 93, 1195)、LEAFY COTYLEDON2 (Stone et al. 2001 Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98, 11806)、PICKLE (Ogas et al. 1997 Science 277, 91)、RWP-RK DOMAIN4 (Waki et al., 2011 Curr. Biol. 21, 1277) を、それぞれ異所的に発現させることで体細胞から不定胚を誘導することができるが、これらの因子が分化細胞から幹細胞を直接誘導しているのか、それとも胚発生の初期過程へリプログラムし、その後の過程で幹細胞が形成されるのかは不明である。

我々は、幹細胞化能が高く、遺伝子ターゲットによる遺伝子機能解析が容易なコケ植物ヒメツリガネゴケを用いて、過去10年間にわたり選択マーカー、形質転換法などの基盤技術開発を行い、逆遺伝学的遺伝子機能解析を可能とするとともに、国際コンソーシアムを結成しゲノム解読を遂行した(Rensing et al. 2008 Science 319, 64)。ヒメツリガネゴケは、茎葉体から葉を切り出すと、約36時間目までには、切断面に接した葉細胞がカルスを経ずに幹細胞(原系体頂端幹細胞)へと変化する(Ishikawa et al., 2011 Plant Cell 23, 2924)。そして、葉は1層の細胞層からなっているため、幹細胞化の過程を細胞レベルで経時的に観察することが可能である。

これまでに我々は、この過程における経時的トランスクリプトーム解析に基づき(Nishiyama et al. 2012 PLoS ONE 7, e36471) 発現変動する約200個の転写因子、約100個のクロマチン修飾関連因子、約20個の細胞周期制御因子の機能獲得や機能喪失実験を

行ってきた。その結果、茎葉体から葉を切断しなくても、葉で1遺伝子を異所発現させるだけで無傷の葉細胞を幹細胞に変えることができる、STEM CELL INDUCING FACTOR 1 (STEMINI) 遺伝子を発見した。STEMINI は転写因子をコードし、その転写産物量は葉切断後、幹細胞化が進行する6時間目から上昇し、24時間目で最大となり、幹細胞化が完了すると思われる36時間目までには最初の量と同じくらいまでに減少する。さらにSTEMINI 欠失変異体での切断葉における幹細胞化は野生型と区別できないが、パラログ関係にある2つの遺伝子(STEMIN2, STEMIN3)との三重遺伝子欠失変異体では幹細胞形成が抑制される。これらのことから、STEMINI は冗長性を持ちながら、分化細胞の幹細胞化で機能するマスターレギュレーターであることが明らかになった。一方、STEMINI とそのパラログの葉切断時の幹細胞化と通常発生過程における機能、および、STEMINI の異所的発現による無傷の茎葉体葉細胞の幹細胞化の分子機構は不明であった。

2. 研究の目的

これまでの研究から、(i)STEMINI を単独で発現誘導すると、無傷の茎葉体葉細胞が幹細胞化する、(ii)STEMINI を単独で欠失させても葉切断後の幹細胞化に影響しないが、STEMINI のパラログ遺伝子STEMIN2、STEMIN3 を同時に欠失させた3重欠失変異体では、葉切断後の幹細胞化が抑制される、(iii)qPCR解析により、STEMINI 転写産物は葉切断後6時間から上昇し24時間で最大となり36時間目で減少する、(iv)STEMINI プロモーターにGFP遺伝子を融合して、幹細胞化過程におけるプロモーター活性を調べると、幹細胞化する細胞で同様の時間スケールでプロモーター活性が上昇することがわかった。一方、通常発生過程においては、原系体幹細胞から産み出された原系体細胞は、原系体幹細胞から数細胞離れると幹細胞化して分裂を開始し、新たな原系体幹細胞を形成するが、(v)STEMINI プロモーター活性はこの原系体での幹細胞化過程で上昇した。(vi)またSTEMIN遺伝子の3重欠失変異体では原系体での幹細胞化が抑制され、逆にSTEMINI 過剰発現では幹細胞化が促進されることがわかった。

さらに、幹細胞化の遺伝子ネットワークの解明が進むにつれ、STEMINI は幹細胞化初期応答性遺伝子ではなく、切断刺激によって誘導された複数のカスケードによって制御される遺伝子であることが分かってきた。

そこで本研究では、(1)葉切断時における幹細胞化過程、および通常発生過程におけるSTEMINI とそのパラログ遺伝子の機能、(2)STEMINI 単独で幹細胞化を誘導する分子機構を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 切断葉および通常発生時の幹細胞化における *STEMIN* 遺伝子の機能解明

STEMIN1 と 2 つのパラログ遺伝子 (*STEMIN2* と *STEMIN3*) について、切断葉における幹細胞化過程、および通常発生における原系体細胞の幹細胞化過程における機能を明らかにするため、それらのプロモーター活性、タンパク質発現解析、cDNA の発現誘導による幹細胞化能の有無を調べる。また、 $\Delta stemin1\Delta stemin2\Delta stemin3$ 三重欠失変異体において葉切断後の RNA-シークエンス (RNA-seq) 解析を行い、野生型と比べて、発現変動している遺伝子を調べるとともに、クロマチン免疫沈降シークエンス (ChIP-seq) を行い、幹細胞化過程におけるそれぞれの *STEMIN* 直接標的遺伝子を同定する。また、標的遺伝子の機能解析を行い、幹細胞化における *STEMIN* 標的遺伝子の機能を明らかにする。さらに、各 *STEMIN* タンパク質と相互作用する因子の探索を行う。以上の実験から、幹細胞化過程における *STEMIN1* とパラログ遺伝子の遺伝子制御ネットワークを明らかにし、それらの機能を推定する。

(2) *STEMIN1* 単独で幹細胞化を誘導する分子機構の解明

STEMIN1 単独で幹細胞化を誘導できる分子機構について、これまでの研究成果に基づいて 3 つの仮説をたてた。(仮説 1) 葉切断時の幹細胞化過程において *STEMIN1* が制御している遺伝子だけで幹細胞化に十分であるというものである。*STEMIN1* 発現を制御する複数の因子は *STEMIN1* 以外の因子の発現制御もしているが、幹細胞化には *STEMIN1* によって制御される下流遺伝子だけで十分であるという可能性である。(仮説 2) *STEMIN1* は転写因子であることから、切断していない葉で異所発現させると、葉切断時に制御している下流遺伝子に加え、*STEMIN1* の上流で機能している因子を発現誘導する可能性が考えられる。(仮説 3) *STEMIN1* が多くの遺伝子発現を一括して調整するような因子 (small RNA 分解酵素、オーキシン関連タンパク質、ヒストン修飾酵素など) を制御し、上流因子を含む多くの因子の発現を間接的に変動させることで、幹細胞化を誘導するという可能性である。

そこで上記の仮説を検証するため、*STEMIN1* を無傷の茎葉体で発現誘導したときに発現変動する遺伝子を RNA-seq で解析し、切断葉での幹細胞化過程での遺伝子発現変動 (Nishiyama et al., 2012) と比較する。また、*STEMIN1* にタグを融合したタンパク質を発現誘導し、タグに対する抗体を用いて ChIP-seq を行い、*STEMIN1* が直接結合している DNA 領域を特定する。*STEMIN1* がプロモーター領域に直接結合し、*STEMIN1* の発現誘導体・欠失変異体で発現変動している遺伝子を *STEMIN1* 直接標的遺伝子とする。以上

の実験により、上記に挙げた仮説を検証する。

4. 研究成果

(1) 切断葉および通常発生時の幹細胞化における *STEMIN* 遺伝子の機能解明

STEMIN2 および *STEMIN3* 遺伝子は、*STEMIN1* と協調して幹細胞化を制御する

STEMIN2 および *STEMIN3* プロモーター配列に、核移行シグナルがついた GFP-GUS 融合遺伝子を連結させ、そのコンストラクトをヒメツリガネゴケに導入し、切断葉と原系体でのそれぞれのプロモーター活性について調べた。切断葉での幹細胞化過程では、*STEMIN1* プロモーターと同様に、切断後 24 時間目で切断面に接した葉細胞で *STEMIN2*、*STEMIN3* プロモーター活性が上昇した。

原系体では、幹細胞化する細胞で *STEMIN2* プロモーター活性が上昇したが、*STEMIN3* プロモーター活性を検出することができなかった。原系体での *STEMIN3* 遺伝子の発現レベルが *STEMIN1*、*STEMIN2* 遺伝子よりも低いことが原系体のトランスクリプトームデータから分かったため、*STEMIN3* プロモーター活性が低く、レポーターである GFP のシグナルが検出限界以下ということが考えられた。そこで、同調的に原系体から原系体幹細胞を誘導することができる赤色光を用いた誘導系を用いて (Uenaka et al., 2005 *Planta* 222, 623; Aoyama et al., 2012 *Development* 139, 3120) qRT-PCR 解析を行なったところ、原系体幹細胞が誘導される時期に *STEMIN3* 転写産物が蓄積することが分かった。また、 $\Delta stemin1$ 欠失変異体、 $\Delta stemin1\Delta stemin2$ 二重欠失変異体では、原系体での幹細胞化は野生型と同様であったが、 $\Delta stemin1\Delta stemin2\Delta stemin3$ 三重欠失変異体では幹細胞化が遅れた。これらのことから、*STEMIN3* 遺伝子も原系体での幹細胞化を制御していることが分かった。このように、*STEMIN1* パラログ遺伝子は、切断葉での幹細胞化だけでなく、通常発生の原系体においても *STEMIN1* と協調して幹細胞化を制御していることが明らかになった。

一方、通常発生時の原系体幹細胞では、どの *STEMIN* 遺伝子のプロモーター活性を検出することができなかった。また $\Delta stemin1\Delta stemin2\Delta stemin3$ 三重欠失変異体において、原系体幹細胞の細胞分裂は野生型と区別できなかったことから、*STEMIN* 遺伝子は、原系体幹細胞の維持に機能しているというよりは、分化細胞から原系体幹細胞への誘導に機能していることが示唆された。

次に *STEMIN2* および *STEMIN3* 遺伝子を、エストロジェン発現誘導系 (Kubo et al., 2013 *PLoS ONE* 8, e77356) を用いて茎葉体と原系体でそれぞれに異所的に発現させたが、*STEMIN1* 遺伝子と異なり、葉細胞および原系体の幹細胞化を誘導しなかった。これらのことから、*STEMIN1* パラログ遺伝子は切断葉と原系体での幹細胞化に必要であるが、十分に

はないことがわかった。そのため、単独で幹細胞化を誘導することができる *STEMIN1* の機能に焦点をあてた。

STEMIN1 タンパク質の不安定性が幹細胞化に必要である

幹細胞化における *STEMIN1* タンパク質の発現解析を行うため、*STEMIN1* 遺伝子のスタートコドン直前に *YFP* 遺伝子をノックインし、YFP-*STEMIN1* 融合タンパク質を発現する形質転換体 (YFP-*STEMIN1* ライン) を作製した。しかしながら、切断葉および原系体での幹細胞化過程において、YFP-*STEMIN1* の蛍光が観察されなかった。

STEMIN1 の推定アミノ酸配列には、ユビキチン-プロテアソーム分解系の標的配列である D-ボックス配列が存在していることから、*STEMIN1* タンパク質は非常に不安定的であることが予想された。そこで、エストロゲン発現誘導系を用いて、*STEMIN1*-YFP タンパク質と D-ボックス配列に変異を入れた m*STEMIN*-YFP タンパク質を茎葉体にそれぞれ発現誘導させた。*STEMIN1*-YFP の発現誘導は、無傷の葉での幹細胞化を誘導したが、その蛍光は観察されなかった。一方、m*STEMIN*-YFP を発現させた場合、茎葉体全体から YFP の蛍光が観察されたが、幹細胞化が誘導されなかった。以上のことから、*STEMIN1* による幹細胞誘導には、*STEMIN1* タンパク質の不安定性 (分解) が必要であることが示唆された。

幹細胞化過程における *STEMIN* の直接標的遺伝子・相互作用因子の探索

野生型と $\Delta stemin1\Delta stemin2\Delta stemin3$ 三重欠失変異体の切断葉を用いて、RNA-seq を行う予定であったが、切断葉では幹細胞化する細胞と幹細胞化しない細胞が混在しているため、1 細胞レベルでのトランスクリプトーム解析が必要であった。本研究期間中に、基礎生物学研究所の特別協力研究員とドイツ・フライブルク大学の Ralf Reski 教授との共同研究により、ヒメツリガネゴケを用いた 1 細胞トランスクリプトームの基本技術を確立することができたので、野生型と三重欠失変異体のトランスクリプトーム比較解析を行うことが可能となり、*STEMIN* の下流で機能する遺伝子の特定が期待できる。

切断葉での幹細胞化における *STEMIN1* の直接標的遺伝子を同定するため、予備実験として、YFP-*STEMIN1* ラインを用いて YFP と交差する GFP 抗体で免疫沈降を行なったが、沈降産物に YFP-*STEMIN1* タンパク質が含まれていなかった。このことは *STEMIN1* タンパク質の不安定性に起因することが考えられた。相同組み替えにより *STEMIN1* 遺伝子の D-ボックスをコードする配列に変異を入れた安定型 *STEMIN1* を発現する形質転換体の作出を検討したが、の結果より原系体での幹細胞化が抑制され、通常の発生が抑制さ

れることが推察された。そのため、アミノ酸置換により *STEMIN1* タンパク質を若干安定化させ、かつ幹細胞化もある程度誘導することができる変異型 *STEMIN1* の作出が必要であると考え、*STEMIN1* タンパク質のどのアミノ酸に変異を入れれば良いのか、現在検討を行なっている。

(2) 単独で幹細胞化を誘導する *STEMIN1* 遺伝子の制御ネットワークの解明

STEMIN1 により発現変動する遺伝子の制御ネットワークの解明

エストロゲン発現誘導系を用いて、*STEMIN1* を無傷の茎葉体に発現誘導した後、12 時間目でサンプリングを行い RNA-seq を行った。その結果、*STEMIN1* 発現誘導により 384 遺伝子が発現上昇し、109 遺伝子が発現減少することがわかった。これらの遺伝子について、葉切断後の RNA-seq 解析結果 (Nishiyama et al., 2012) と比較したところ、*STEMIN1* 遺伝子の異所的発現によって発現上昇する 384 遺伝子は、葉切断後、6 時間目から 24 時間目にかけて発現が上昇し、*STEMIN1* によって発現抑制される 109 遺伝子は、切断後 6 時間目までは上昇傾向にあるが、6 時間目以降でそれらの発現が減少に転じることが分かった。葉切断後 6 時間目は、*STEMIN1* 遺伝子の発現が起こる時期であることから、葉切断後の幹細胞化過程においても、*STEMIN1* がこれらの遺伝子発現を直接的、間接的に制御することで、幹細胞化誘導に機能していることが示唆された。

次に *STEMIN1* により発現変動を示した遺伝子を個々に調べたところ、多くの遺伝子発現を一括して調整することが考えられる因子、例えば、small RNA 分解酵素、オーキシン関連タンパク質、ヒストン修飾酵素などをコードする遺伝子は含まれていなかった。また、切断葉での幹細胞化過程で *STEMIN1* 遺伝子の下流で機能すると考えられるホメオドメイン転写因子をコードしている *WOX13* 遺伝子 (Sakakibara et al., 2014 Development 141, 1660) や、RNA 結合タンパク質をコードしている *CSP* 遺伝子 (Li et al., 2017 Nat. Commun. 8, 1) などの幹細胞化関連因子についても、*STEMIN1* の発現誘導による発現変動は見られなかった。*CSP* 遺伝子は、切断葉の幹細胞化過程で *STEMIN1* 遺伝子よりも早く発現し、幹細胞化の促進に機能しているが (Li et al., 2017) *CSP* 遺伝子欠失変異体の茎葉体に *STEMIN1* を発現させると幹細胞化が誘導された。

以上の結果から、*STEMIN1* 単独で幹細胞化を誘導できる分子機構として、(仮説 1) の「葉切断時の幹細胞化過程において *STEMIN1* が制御している遺伝子だけで幹細胞化に十分である。」という可能性が高いと考えている。

STEMIN1 標的遺伝子の同定

STEMIN1 がどのような遺伝子の発現を直接制御して幹細胞化を誘導するのかを明らかにするために ChIP-seq 解析を試みた。まず ChIP の実験条件を検討したところ、Myc タグを融合した STEMIN1-Myc タンパク質を茎葉体に発現誘導させると、幹細胞化が誘導できるとともに、Myc 抗体を用いた免疫沈降で STEMIN1-Myc タンパク質が沈降することが分かった。また、通常の超音波破砕法では ChIP-seq を行えるだけの DNA 断片を回収できなかったが、エンドヌクレアーゼである Micrococcal Nuclease でゲノム DNA を断片化すると、回収率が上昇することが分かった。

そこで STEMIN1-Myc ラインを用いて、独自に開発した方法を組み込んだ ChIP-seq を行なったところ、ゲノム DNA 上の STEMIN1 結合部位 2291 箇所を同定することに成功した。その中でプロモーター領域に結合し、STEMIN1 の発現誘導により発現変動を示す遺伝子を探索したところ、幹細胞化に関わる細胞壁関連遺伝子や細胞周期制御遺伝子を含む 104 遺伝子を STEMIN1 の直接標的遺伝子として同定することに成功した。これらの遺伝子は、葉切断後の幹細胞化過程で発現が上昇することが分かった。また、転写因子をコードする複数の遺伝子も含まれていたことから、転写因子ネットワークが存在していることが示唆された。

ヒストン修飾制御を介した幹細胞化誘導機構

STEMIN1 の直接標的遺伝子領域の特徴について調べたところ、それら多くの遺伝子は、転写抑制に機能する 27 番目のリジンがトリメチル化されたヒストン H3 (H3K27me3) と、転写活性に機能する 4 番目のリジンがトリメチル化されたヒストン H3 (H3K4me3) が共局在している状態、すなわちバイバレントな状態であることが分かった。

動物の多能性幹細胞では、分化関連遺伝子がバイバレントの状態では遺伝子発現が抑制されており、分化開始時に H3K27me3 修飾レベルが低下することで、それら遺伝子の発現がおこり多能性幹細胞が分化する (Azuara et al., 2006 Nat. Cell Biol. 2006 8, 532; Bernstein et al., 2006 Cell 125, 315)。STEMIN1 直接標的遺伝子領域もバイバレントな状態であることから、STEMIN1 がヒストン修飾制御を介して、幹細胞化に必要な遺伝子の発現を制御している可能性が考えられた。STEMIN1 の機能を解明するうえで、この仮説の検証が必要不可欠であると考え、当初の研究計画になかったが、STEMIN1 発現誘導後のヒストン修飾変化を調べた。そこで STEMIN1 発現誘導後の H3K27me3 修飾レベルを H3K27me3 抗体を用いた ChIP-seq 解析で調べたところ、多くの STEMIN1 標的遺伝子において H3K27me3 修飾レベルが低下することが分かった。以上のことから、幹細胞化における STEMIN1 の機能として、(i) バイバレントな状態にある幹

細胞化制御に関わる遺伝子のプロモーター領域に STEMIN1 が結合する、(ii) STEMIN1 に結合する何らかの因子がリクルートされる、(iii) その因子の働きによって H3K27me3 修飾レベルを低下させる、(iv) 幹細胞化に必要な遺伝子発現を活性化させ、幹細胞化を誘導するという可能性が考えられた。

なお、STEMIN1 誘導後の経時的な RNA-seq 解析を行なう予定であったが、上記の仮説の検証が優先課題であると考え、いくつかの標的遺伝子について、STEMIN1 誘導後の経時的な遺伝子発現と H3K27me3 修飾レベル変化について解析を行っている。

STEMIN1 結合因子の探索

STEMIN-Myc ラインを用いてインタラクトーム解析を計画していたが、STEMIN1-Myc タンパク質は ChIP-seq 解析には有効であったが、質量分析を行うための十分量の免疫沈降産物を得ることができないことが分かった。そこで、安定型 STEMIN1 と Myc タグを融合したタンパク質 (mSTEMIN1-Myc) を用いることにした。mSTEMIN1-Myc は幹細胞化を誘導することができないが、幹細胞化に関わる因子、例えば、で挙げたような因子には結合することができるのではないかと考えた。そこで mSTEMIN1-Myc を発現させた茎葉体から核タンパク質を抽出し、Myc 抗体を用いて免疫沈降を行い、質量分析計で解析したところ、免疫沈降産物に含まれているいくつかのタンパク質を特定することに成功した。今後、幹細胞化におけるこれらの因子の機能を明らかにし、の仮説を検証することが今後の研究課題である。

(3) 今後の展望

STEMIN 遺伝子をはじめ、我々がこれまでに明らかにした CSP 遺伝子や WOX13 遺伝子などのヒメツリガネゴケの幹細胞化関連遺伝子のオルソログは、被子植物のゲノムに存在している。シロイヌナズナの STEMIN オルソログの解析はこれからであるが、将来的にヒメツリガネゴケと被子植物との STEMIN を中心とした制御系を比較することで、植物全体の幹細胞化を制御する共通の分子機構の解明へ繋がることが期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

(1) Sato, Y., Sugimoto, N., Hirai, T., Imai, A., Kubo, M., Hiwatashi, Y., Nishiyama T., and Hasebe, M. (2017) "Cells reprogramming to stem cells inhibit the reprogramming of adjacent cells in the moss *Physcomitrella patens*." **Sci. Rep.** 7: 1909 査読有

DOI:10.1038/s41598-017-01786-1

(2) Li, C., Sako, Y., Imai, A., Nishiyama, T., Thompson, K., Kubo, M., Hiwatashi, Y., Kabeya, Y., Karlson, D., Wu, S.-H., Ishikawa, M., Murata, M., Benfey, P.N., Sato, Y., Tamada, Y., and Hasebe, M. (2017) "A Lin28 homolog reprograms differentiated cells to stem cells in the moss *Physcomitrella patens*." **Nat. Commun.** 8, 14242 査読有
DOI: 10.1038/ncomms14242

(3) Ishikawa, M. and Hasebe, M. (2015). "Cell cycle reentry from the late S phase: implications from stem cell formation in the moss *Physcomitrella patens*." **J. Plant Res.** 128, 399-405. 査読有
DOI:10.1007/s10265-015-0713-z

(4) Sakakibara, K., Reisewitz, P., Aoyama, T., Friedrich, T., Ando, S., Sato, Y., Tamada, Y., Nishiyama, T., Hiwatashi, Y., Kurata, T., Ishikawa, M., Deguchi, H., Rensing, R. A., Werr, W., Murata, T., Hasebe, M., and Laux, T. (2014) "WOX13-like genes are required for reprogramming of leaf and protoplast cells into stem cells in the moss *Physcomitrella patens*." **Development**, 141, 1660-1670. 査読有
DOI: 10.1242/dev.097444

(5) Kofuji, R., and Hasebe, M. (2014). "Eight types of stem cells in the life cycle of the moss *Physcomitrella patens*." **Curr. Opin. Plant Biol.** 17, 13-21. 査読有
DOI:10.1016/j.pbi.2013.10.007

(6) Tomescu, A.M., Wyatt, S.E., Hasebe, M., and Rothwell, G.W. (2014). Early evolution of the vascular plant body plan - the missing mechanisms. **Curr. Opin. Plant Biol.** 17, 126-136. 査読有
DOI:10.1016/j.pbi.2013.11.016

〔学会発表〕(計 4 件)
(海外)

(1) Masaki Ishikawa. A molecular network that concomitantly regulates cell cycle and cellular change during reprogramming of differentiated cells to stem cells in the moss *Physcomitrella patens*. Plant Cell Cycle Workshop. Trebon (Czech Republic) 2014.6.27

(国内)

(1) 森下美生、石川雅樹、長谷部光泰「転写因子 STEMIN1 は幹細胞化に関わる遺伝子のヒストン H3K27me3 レベルを制御する」第 58 回 日本植物生理学会年会 平成 29 年 3 月 16 日 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市)

(2) 石川雅樹「ヒメツリガネゴケの細胞リプログラミングを誘導する分子機構」日本植物学会第 77 回大会 シンポジウム 沖縄コン

ベンションセンター (沖縄県・沖縄市) 平成 28 年 9 月 17 日

(3) 石川雅樹、長谷部光泰「ヒメツリガネゴケにおける幹細胞の誘導と維持」日本植物学会第 80 回大会 シンポジウム 北海道大学 (北海道・札幌市) 平成 25 年 9 月 13 日

〔図書〕(計 1 件)

(1) Sparks, E.E., Imai, A., Hasebe, M., and Benfey, P.N. (F. Calegari, and C. Waskow, eds., CRC press) Developmental regulation and *de novo* formation of stem cells in plants. In Stem Cells: From Basic Research to Therapy, Volume 1: Basic Stem Cell Biology, Tissue Formation during Development, and Model Organisms (2014) 405-434.

〔その他〕

ホームページ

<http://www.nibb.ac.jp/evodevo/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷部 光泰 (HASEBE, MITSUYASU)
基礎生物学研究所・生物進化研究部門・教授
研究者番号: 40237996

(2) 研究分担者

村田 隆 (MURATA, TAKASHI)
基礎生物学研究所・生物進化研究部門・准教授

研究者番号: 00240224

玉田 洋介 (TAMADA, YOUSUKE)
基礎生物学研究所・生物進化研究部門・助教
研究者番号: 50579290

石川 雅樹 (ISHIKAWA, MASAKI)
基礎生物学研究所・生物進化研究部門・助教
研究者番号: 00586894

西山 智明 (NISHIYAMA, TOMOAKI)
金沢大学・学際科学実験センター・助教
研究者番号: 50390688