

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02678

研究課題名（和文）iPS細胞の中間体を利用したリプログラミング機構の解析

研究課題名（英文）Mechanistic analysis of somatic cell reprogramming using paused iPSCs

研究代表者

久武 幸司（Hisatake, Koji）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：70271236

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、リプログラミングが一時停止した iPS細胞の中間体（Paused iPS細胞）を誘導できることを既に報告した。本研究では、このPaused iPS細胞を利用してリプログラミングの分子機構を解析した。具体的には、1）間葉上皮転換（MET）の際にOsr2の低下が重要な役割を果たすこと、2）レトロウイルスサイレンシングでILF2とILF3が翻訳段階で作用すること、3）メス細胞でのX染色体の再活性化（XCR）はテロメア近傍から開始し、KDM1Aが関与すること、4）E2F4がリプログラミングの早期には抑制、後期には促進効果を持つことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iPS細胞の中間体（Paused iPS細胞）の解析から、間葉上皮転換（MET）でのOsr2の役割、レトロウイルスサイレンシングでのILF2とILF3の作用、X染色体の再活性化へのKDM1Aの関与、E2F4のプログラミングへの影響などを明らかにした。この研究から明らかになった分子機構に関与する因子群はリプログラミング効率に影響する。各因子に作用するシグナル伝達系を薬物等によって操作することにより、高い多能性を有するiPS細胞を効率良く誘導する方法に繋げることが可能になり、iPS細胞の再生医療への実用化を促進することができる。

研究成果の概要（英文）：We have reported generation of partially reprogrammed iPSCs that have paused reprogramming during intermediate stages (Paused iPSCs). In this study, we found that 1) downregulation of Osr2 plays a critical role in mesenchymal-epithelial transition at an early stage of reprogramming, 2) ILF2 and LF3 are involved in silencing of retroviral gene expression by repressing translation of viral mRNA, 3) during reprogramming of female cells, XCR initiates near the centromere by the action of KDM1A, and 4) E2F4 impacts reprogramming at a stage-specific manner; i.e. negatively at an early stage and positively at a late stage.

研究分野：分子生物学

キーワード：iPS細胞 X染色体の再活性化 KLF4 Osr2 E2F 転写 クロマチン

1. 研究開始当初の背景

体細胞をリプログラミングして得られる iPS 細胞は、多様な細胞に分化誘導が可能であり、再生医療で有望視されている。しかし、iPS 細胞の誘導効率の低さや安全性への懸念から、iPS 細胞を用いた再生医療は、広く容易に応用できる一般的治療法にはなっていない。この一因として、リプログラミングの機構が分子レベルで十分に解明されていないことが挙げられる。

リプログラミング過程を分子レベルで明らかにする研究として、RNA-seq や ChIP-seq を用いたゲノムワイドな解析が幾つかのグループにより報告されている (Apostolou E et al. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2018)。これらの研究から、リプログラミング時に遺伝子発現やエピゲノムが大規模に変化すること、遺伝子発現が体細胞のパターンから多能性幹細胞に特徴的なものに変化すること等が明らかになってきた。

しかし、これらの成果から分かるのは、遺伝子発現やエピゲノム変化の概略のみである。リプログラミングでは細胞の構造や機能が大きく変換していくが、具体的にどの遺伝子が構造変換や機能変換を引き起こすかは、ほとんど分かっていない。このような観点から、リプログラミング途上で起こる細胞の構造や機能の変換過程で鍵となる遺伝子を明らかにし、その分子機構を明らかにすることが必要である。

持続型センダイウイルス (SeVdp) はセンダイウイルスの変異株で、細胞傷害を起こさずに持続感染する特徴がある。我々は、この株から発現ベクターを開発し、複数の遺伝子を長期的かつ安定に発現させることに成功した (Nishimura K et al. *J. Biol. Chem.* 2007)。SeVdp ベクターによって Oct4, Sox2, Klf4 及び c-myc を発現させて iPS 細胞誘導を行うと、一般的に利用されるレトロウイルス系に比して、高い効率でより均一な iPS 細胞が誘導される (Nishimura K et al. *J. Biol. Chem.* 2011)。

我々はこの SeVdp ベクターに改変を加えて SeVdp(fK-OSM)ベクターを作製した (Nishimura K et al. *Stem Cell Reports*, 2014)。このベクターは 4 つの初期化誘導遺伝子 (Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) を発現するが、Klf4 に不安定化ドメイン (DD) を融合させているため、Klf4 量は 1/3 程度に低下する。この DD は、Shield1 という化合物によって安定化するため、Shield1 濃度を変えると Klf4 の発現量が変わる。Shield1 の濃度を変えて iPS 細胞誘導を行うと、リプログラミングは Klf4 の量に応じた段階まで進行し、一時停止する (図 1)。例えば、Low-K 細胞、Mid-K 細胞、High-K 細胞は、それぞれ Shield1 が 0, 30, 100nM の時に生成する Paused iPS 細胞である。これらの Paused iPS 細胞は、比較的安定に増やすことが可能だけでなく、Klf4 の量を操作して Low-K 細胞から Mid-K 細胞、Mid-K 細胞から High-K 細胞のように、部分的にリプログラミングを進行させることもできる。

通常の iPS 細胞誘導では、リプログラミングが一部の細胞でのみ起こり、不均一かつ連続的に進行する。そのため、リプログラミングの各段階で起こる現象を個別に解析することが非常に難しく、その分子機構は依然として“ブラックボックス”状態である。我々の開発した Paused iPS 細胞 (Low-K 細胞、Mid-K 細胞、High-K 細胞など) では、Klf4 の発現量調節によってリプログラミングが一時停止し、ほぼ全ての細胞が同じ段階で存在するため、ある特定段階の現象を分割して取り出すことが出来る。このように、Paused iPS 細胞を用いる本申請の研究は、連続的かつ複雑なリプログラミング過程を、いくつかの段階に分けて単純化し解析することに独自性がある。この各段階の細胞は Klf4 量に依存して生じるが、RNA-seq データの PCA (主成分分析) より Paused iPS 細胞は他の系と同様のリプログラミング経路を辿っており、単なる Klf4 に特異的な現象が起こっているのではないことが分かっている。

従来の iPS 細胞誘導系では、遺伝子 X の発現と現象 A について、遺伝子 X のノックダウンや過剰発現をマウス胎児繊維芽細胞 (MEF) で行ったとする。この系では、現象 A がかなり時間を経てから起こるので (iPS 細胞で観察)、遺伝子 X の発現と現象 A のダイレクトな因果関係を明らかにすることが困難である。しかし Paused iPS 細胞の系を利用すると、リプログラミング過程で一過性に起こる現象 A に関して、リプログラミング途上で現象 A が観察される細胞に対して、遺伝子 X のノックダウンや過剰発現を行うことが可能であり、遺伝子 X の発現と現象 A の因果関係をよりダイレクトに検証できる。

2. 研究の目的

我々は、Klf4 の発現量を調節すると、リプログラミングが種々の段階で一時停止し、iPS 細胞の中間体 (Paused iPS 細胞) が誘導できることを報告した。本研究では、この Paused iPS 細胞を利用し、リプログラミングの分子機構の解明を目指す。具体的には、リプログラミングの各段階にある Paused iPS 細胞間で遺伝子発現を比較し、間葉上皮転換 (MET) の分子機構、レトロウイルスサイレンシング機構、X 染色体の再活性化 (XCR) の分子機構、E2F のリプログラミング過程での作用機構、について解析を行う。これら一連の解析により多能性獲得の分子機構を明

らかにし、高い多能性を有する iPS 細胞を効率良く誘導する方法に繋げ、iPS 細胞の再生医療への実用化を促進させる。

3. 研究の方法

A. 間葉上皮転換 (MET) の分子機構

MEF から Low-K 細胞への移行期では、N カドヘリン、Zeb1、Zeb2、Twist1 などの発現低下が起こり、EMT (上皮間葉変換) の逆現象である MET (間葉上皮変換) が起こる。我々は、MEF から Low-K 細胞への移行期に発現が低下する転写因子をいくつか同定し、その解析の結果、Osr2 の発現低下がリプログラミングに重要であることを見出した。本研究では、その分子メカニズムをさらに詳細に解析する。

1) リプログラミング初期での、Osr2 と TGF- β の機能的関係

リプログラミング中に Osr2 を過剰発現させて Osr2 発現を維持させた上で、阻害剤によって TGF- β シグナル伝達系を抑制し、リプログラミングの効率を解析する。

2) Osr2 過剰発現と TGF- β 阻害時の遺伝子発現の変化

Osr2 を過剰発現させてリプログラミングした細胞の RNA-seq 解析を行う。ここで、Osr2 過剰発現 (+) と TGF- β 阻害 (+)、Osr2 過剰発現 (+) と TGF- β 阻害 (-)、Osr2 過剰発現 (-) と TGF- β 阻害 (+)、Osr2 過剰発現 (-) と TGF- β 阻害 (-) の各細胞での遺伝子発現パターンを比較する。

B. レトロウイルスサイレンシング機構

これまでの解析より、レトロウイルスからの遺伝子発現が MEF から Low-K 細胞の間で抑制されることを見出している。既に iChIP 法を用いて、細胞ゲノム中に挿入されたレトロウイルス上に存在するタンパク質を網羅的に解析し (Bui PL *et al. Cell Rep.* 29, 2019)、ILF2、ILF3 を同定したのでこれらについて機能解析を行う。

1) ILF2、ILF3 ノックダウンのリプログラミングでのサイレンシングへの影響

マウス胚性繊維芽細胞 (MEF) で ILF2 と ILF3 遺伝子をノックダウン後に、SeVdp ベクターで Low-K 細胞の段階までリプログラミングを行い、サイレンシングを定量する。

2) ILF2、ILF3 のマウス胎児性がん細胞 (EC) 細胞でのサイレンシングへの影響

EC 細胞に蛍光タンパク質を発現するレトロウイルスを導入し、ILF2、ILF3 をノックダウンし、蛍光タンパク質の発現量を FACS で定量することによって、サイレンシングへの影響を明らかにする。

3) 内在性の ILF2 と ILF3 遺伝子をノックアウトした ES 細胞 (KO ES 細胞) の作製

CRISPR/Cas9 のシステムを用いて、ES 細胞の ILF2 と ILF3 遺伝子のノックアウトを行う。ノックアウトの確認はゲノム PCR にて行う。

4) ILF2 と ILF3 の機能ドメインの解析

各機能ドメインに変異を入れた ILF2 と ILF3 を KO ES 細胞に導入して、レトロウイルスからの蛍光タンパク質の発現を定量する。解析対象とする機能ドメインは、二量体形成ドメイン、二本鎖 RNA 結合ドメインである。

C. X 染色体の再活性化 (XCR) の分子機構

Mus spretus (Algerian mouse) は、通常の実験用マウス *Mus musculus* (B6 など) と異なる野生のマウスで、両者はゲノム配列が 1% 程度異なる。両マウスを交配させて得たメス細胞は、2 つの X 染色体から転写された RNA が SNP によって区別できるので、X 染色体の再活性化 (XCR) の解析に有用である。この細胞を用いて以下の方法で解析を進める。

1) アリル特異的な X 染色体の転写産物を定量的に測定する系の開発

X 染色体のいくつかの遺伝子についてアリル特異的な TaqMan プローブを作製し、標準サンプルを用いて、アリル毎の転写産物を PCR で増幅し、その定量性を解析する。

2) リプログラミング各段階での Paused iPS 細胞の作製と RNA-seq 解析

異なる Shield1 濃度の存在下で MEF のリプログラミングを行い、RNA 調整後に RNA-seq を行う。

3) Xist の発現低下と XCR 開始の因果関係

Paused iPS 細胞を FACS でソートし、一細胞から RNA を抽出する。この RNA を増幅後、TaqMan 解析を行い Xist やその他の遺伝子の発現を比較する。

4) メス MEF 細胞を用いてリプログラミングを行い RNA-seq データの解析より、XCR の開始部位と時期を明らかにする。

5) XCR 開始部位に作用する転写関連因子の解析

XCR 開始領域の各遺伝子の近傍に結合する転写関連因子を検索したところ、EP300、Kdm1a、Kdm4c、Nelfa、Otx2、Runx1、Smad2、Supt5、Tcf12、Tcf3 を同定したこれらの因子について

XCR との機能的関連を明らかにする。Paused iPS 細胞において、上述の各因子を shRNA ベクターでノックダウンし XCR の開始時期と開始部位を解析する。逆に、各因子を Mid-K 細胞で過剰発現させて、XCR が促進されるかどうか、その程度や開始部位の変化、新たな開始部位の存在等を明らかにする。

D. E2F4 によるリプログラミングの制御

リプログラミング過程での MET やカルシウムシグナリングの研究を進める過程で、E2F4 がリプログラミングの効率に大きな影響を及ぼすことを偶然見出した。E2F ファミリーの他の転写因子も同様に解析したが、この効果は E2F4 にだけ認められたので、E2F4 のみについてさらに解析を進める。E2F4 ファミリー遺伝子は、細胞周期に関係する遺伝子の発現を制御することが知られているが、リプログラミング過程で見られる E2F4 の作用には、細胞周期関連の遺伝子は関係しないようである。

1) E2F4 を Tet-ON システムでリプログラミングの任意の時期に誘導する系の作製

Tet-ON システムを持つレンチウイルスに E2F4 を挿入し、リプログラミングの任意の時期にドキシサイクリンで E2F4 を誘導し、コロニー数を定量する。

2) E2F4 の点変異体による機能ドメインの役割の解析

E2F の cDNA を用いて、各機能ドメインに点変異を入れる。対象とするのは、RB 結合ドメイン、DNA 結合ドメイン、HCF-1 結合ドメインである。

3) E2F4 が KLF4 のプロモーター結合に及ぼす影響の解析

Low-K 細胞と High-K 細胞を用いて、E2F4 を発現させ、多能性遺伝子プロモーター領域への KLF4 の結合がどのように変化するかを ChIP-PCR で解析する。

4. 研究成果

A. 間葉上皮転換 (MET) の分子機構

リプログラミング中に Osr2 を過剰発現させて、Osr2 発現を維持させると、TGF- β のシグナル伝達が低下せずに、リプログラミングの効率も低下したが、さらに阻害剤によって TGF- β シグナル伝達系を抑制しても、リプログラミングの効率は完全には戻らなかった。この現象から、Osr2 の下流には、TGF- β のシグナル伝達経路とは異なる経路も作用していることが想定された。

この経路を明らかにするために、Osr2 過剰発現 (+) と TGF- β 阻害 (+)、Osr2 過剰発現 (+) と TGF- β 阻害 (-)、Osr2 過剰発現 (-) と TGF- β 阻害 (+)、Osr2 過剰発現 (-) と TGF- β 阻害 (-) の各細胞について RNA-seq を行い、遺伝子発現の変化する遺伝子を解析した。GO 解析等の結果から、Wnt シグナル伝達系の関与が示唆された。リプログラミング中に Osr2 を過剰発現させた上で、阻害剤によって TGF- β シグナル伝達系を抑制し、さらに Wnt シグナル系を活性化させると、Osr2 の効果は相殺された。以上の結果から、Osr2 が TGF- β シグナル伝達系の誘導を介して EMT を引き起こすこと、及びリプログラミング過程において、Osr2 の発現減少は TGF- β シグナル伝達系を抑制するだけでなく、Wnt シグナル伝達系を活性化することが明らかとなった。

B. レトロウイルスサイレンシング機構

マウス胚性繊維芽細胞 (MEF) で ILF2 と ILF3 遺伝子をノックダウン後にセンダイウイルスの系でリプログラミングを行った。この MEF のゲノムには蛍光タンパク質 (hKO) を発現するレトロウイルスが挿入されている。7 日後に FACS で hKO の蛍光を定量した結果、ILF2 のノックダウン細胞では、hKO の発現量が有意に増加していたが、ILF3 のノックダウンでは変化が見られなかった。リプログラミング過程で起こるレトロウイルスのサイレンシングには主に ILF2 が関与していることが分かった。

EC 細胞を用いた解析では、ILF2 と ILF3 遺伝子をノックダウンすると、両者で hKO の発現量が増加した。EC 細胞では、ILF2 と ILF3 の両者がレトロウイルスサイレンシングに関係しているようである。ところが、hKO の mRNA を PCR で定量すると、ILF2 と ILF3 遺伝子のノックダウン前後で変化が認められなかった。このことより、ILF を介したサイレンシングは翻訳段階で起こっている可能性が考えられた。そこで、合成 mRNA を用いて同様の実験を行った結果、ILF2 と ILF3 遺伝子のノックダウンにおいて、合成 mRNA からのタンパク質翻訳が増加していることが分かった。

CRISPR/Cas9 システムを利用して、ES 細胞の内在性の ILF2 と ILF3 遺伝子をノックアウトし、ゲノム PCR にて遺伝子が破壊されていることを確認した。この細胞を KO ES 細胞と呼ぶ KO ES 細胞に Tet-ON システムで ILF2 又は ILF3 を誘導可能なレンチウイルスを導入した。これによって、ILF2 又は ILF3 の発現量を任意に調節できるようになった。この系を利用して、ILF2 と ILF3 の二量体形成ドメインの欠失変異体や、二本鎖 RNA 結合ドメインの点変異体を KO ES 細胞で発現させ、蛍光タンパク質の発現量を解析した。その結果、ILF3 の二本鎖 RNA 結合能や

ILF2とILF3の二量体形成がサイレンシングに重要であることが分かった。

C. X染色体の再活性化 (XCR) の分子機構

メス細胞の2つのX染色体からの転写産物RNAを区別するために、遺伝的に距離の離れたM. spretusとM. Musculusの2種類のマウスを用意した。両者は遺伝的にかなり離れているが交配可能なマウスであり、100塩基に1箇所以上の一塩基多型 (SNP) があるため、TaqMan probe やRNA-seqによって、アリル特異的な転写産物をそれぞれ区別して定量することができる。

まず、X染色体上の遺伝子からのアリル特異的な転写を検出するために、M. spretusとM. Musculusを交配してマウス胎児を得て、ゲノムPCRでオスとメスを区別した。これらのマウス胎児のメスより、マウス胎児性繊維芽細胞 (MEF) を調製した。次に、薬剤耐性 (HATで処理) を利用して、M. spretusのX染色体が活性X (Xa)、M. MusculusのX染色体が不活性X (Xi) となっているMEFを得た。このMEFをセンダイウイルスの系でリプログラミングし、Shield1の濃度を変えることによって、リプログラミングが異なる段階で停止したPaused iPS細胞を得た。

異なるリプログラミングのステージにあるPaused iPS細胞についてRNA-seqを行い、X染色体上の遺伝子に関して、M. spretusとM. Musculusのアリルからの転写量を解析した。Paused iPS細胞の時系列的なRNA-seq解析から、XCRがXiのセントロメア領域の近くで開始することを明らかになった。この領域は約0.5Mbの大きさで、含まれる遺伝子としては、Gpkow, Wdr45, Gm45208, Tfe3, Hdac6, Wdr13, Ftsj1などがある。これらの7個の遺伝子は、MEFが間葉上皮転換 (MET) を起こすときに活性化が始まる。また、既に報告されているHi-Cデータベースの再解析により、この領域はXi上でもクロマチン状態が比較的オープンであることも分かった。

また、Paused iPS細胞について、シングル細胞レベルでアリル特異的な転写を定量した。Paused iPS細胞をFACSでソートし、各細胞よりRNAを抽出後に増幅を行い、TaqMan probeでLamp6, Hdac6, Atrx, Xistの発現を定量した。その結果、XCRは、Xistの発現が完全になくなる前から開始することが分かった。

データベースに登録されているChIP-seqの解析によって、XCRが開始する遺伝子の調節領域に存在する転写関連因子を探し、KDM1A, KDM4C, NELFA, TCF12, OTX2などが候補に挙がった。これらの因子の中で、KDM1Aの結合量がXCRの過程でダイナミックに減少することを見出した。実際に、リプログラミングの過程でKDM1Aの阻害剤を入れるとXiでのXCRが促進された。

D. E2F4によるリプログラミングの制御

MEFをセンダイウイルスの系でリプログラミングし、E2F4をTet-ONシステムで任意の時期に誘導した。E2F4はリプログラミング前期ではリプログラミングに対して抑制効果を示すが、後期になると促進効果を示すことが分かった。

このようにE2F4がリプログラミングの時期によってその作用が真逆になるメカニズムを解明する第一歩として、各時期におけるE2F4の機能ドメインの役割を解析した。この実験では、機能ドメインに点変異を導入したものをを用いた。その結果、リプログラミング前期での抑制効果には、E2F4のDNA結合ドメインとRB結合ドメインが必要であった。しかし、リプログラミング後期での促進効果にはHCF-1結合ドメインが必要であった。

さらに、E2F4によるKLF4のプロモーターへの結合に及ぼす影響を解析するために、E2F4を発現させた後で、KLF4の結合変化をChIP-PCRで解析した。Low-K細胞では、E2F4はKLF4のプロモーターへの結合を抑制したが、High-K細胞では、E2F4はKLF4のプロモーターへの結合を促進した。

以上より、E2F4はリプログラミング過程で重要な役割を果たすが、その作用効果はリプログラミングの時期によって真逆になり、E2F4の作用メカニズムも変化することが分かった。また、E2F4の作用には、KLF4の結合変化がその役割の一部を担っている可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Anh Le Phuong Hoang, Nishimura Ken, Kuno Akihiro, Linh Nguyen Thuy, Kato Tetsuo, Ohtaka Manami, Nakanishi Mahito, Sugihara Eiji, Sato Taka-Aki, Hayashi Yohei, Fukuda Aya, Hisatake Koji	4. 巻 40
2. 論文標題 Downregulation of Odd-Skipped Related 2, a Novel Regulator of Epithelial-Mesenchymal Transition, Enables Efficient Somatic Cell Reprogramming	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cells	6. 最初と最後の頁 397 ~ 410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/stmcls/sxac012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Burransetty Arun Kumar, Nishimura Ken, Kishimoto Takumi, Hamzah Muhammad, Kuno Akihiro, Fukuda Aya, Hisatake Koji	4. 巻 23
2. 論文標題 Locus-Specific Isolation of the Nanog Chromatin Identifies Regulators Relevant to Pluripotency of Mouse Embryonic Stem Cells and Reprogramming of Somatic Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 15242 ~ 15242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232315242	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Aizawa Shiho, Nishimura Ken, Mondejar Gonzalo Seminario, Kumar Arun, Bui Phuong Linh, Tran Yen Thi Hai, Kuno Akihiro, Muratani Masafumi, Kobayashi Shin, Nabekura Tsukasa, Shibuya Akira, Sugihara Eiji, Sato Taka-Aki, Fukuda Aya, Hayashi Yohei, Hisatake Koji	4. 巻 17
2. 論文標題 Early reactivation of clustered genes on the inactive X chromosome during somatic cell reprogramming	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 53 ~ 67
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2021.11.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Borisova Evgeniia, Nishimura Ken, An Yuri, Takami Miho, Li Jingyue, Song Dan, Matsuo-Takasaki Mami, Luijckx Dorian, Aizawa Shiho, Kuno Akihiro, Sugihara Eiji, Sato Taka-aki, Yumoto Fumiaki, Terada Tohru, Hisatake Koji, Hayashi Yohei	4. 巻 25
2. 論文標題 Structurally-discovered KLF4 variants accelerate and stabilize reprogramming to pluripotency	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103525 ~ 103525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103525	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekiguchi Yuya, Fukuda Aya, Nishimura Ken, Hisatake Koji	4. 巻 41
2. 論文標題 Engineering Critical Residues of SOX9 Discovers a Variant With Potent Capacity to Induce Chondrocytes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Stem Cells	6. 最初と最後の頁 1157 ~ 1170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/stmcls/sxad066	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kishimoto Takumi, Nishimura Ken, Morishita Kana, Fukuda Aya, Miyamae Yusaku, Kumagai Yutaro, Sumaru Kimio, Nakanishi Mahito, Hisatake Koji, Sano Masayuki	4. 巻 18
2. 論文標題 An engineered ligand-responsive Csy4 endoribonuclease controls transgene expression from Sendai virus vectors	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Biological Engineering	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13036-024-00404-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Nishimura Ken, Arun Burransett, Hisatake Koji
2. 発表標題 A dCas9 based method can identify novel regulators of Nanog and pluripotency
3. 学会等名 ISSCR2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nishimura Ken, Kishimoto Takumi, Hisatake Koji
2. 発表標題 Dual function of E2F4 on iPSC generation
3. 学会等名 TGSW2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村 健、岸本 拓実、久武 幸司
2. 発表標題 iPS細胞誘導過程において二相性の機能を有するE2F4の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Seminaro Mondejar Gonzalo, Phuong Linh Bui, Nishimura Ken, Hisatake Koji
2. 発表標題 Interleukin Enhancer Binding Factors 2 and 3 inhibit retrovirus expression
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Nishimura Ken, Le Phuong Hoan Anh, Ngyuen Thuy Linh, Kato Tetsuo, Hisatake Koji
2. 発表標題 Downregulation of Odd-Skipped Related 2, a Novel Regulator of Epithelial-Mesenchymal Transition, Enables Efficient Somatic Cell Reprogramming
3. 学会等名 ISSCR2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Seminaro Mondejar Gonzalo, Nishimura Ken, Hisatake Koji
2. 発表標題 Interleukin Enhancer Binding Factors 2 and 3 inhibit retrovirus expression
3. 学会等名 Tsukuba Conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hamzah Muhammad, Nishimura Ken, Hisatake Koji
2. 発表標題 Mechanistic analysis of pluripotency acquisition by using paused iPSCs
3. 学会等名 Tsukuba Conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	福田 綾 (Fukuda Aya) (50436276)	筑波大学・医学医療系・准教授 (12102)	
研究分担者	西村 健 (Nishimura Ken) (80500610)	筑波大学・医学医療系・教授 (12102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------