



Title	Substrate and nucleus connections to actin filament mediate embryonic stem cell differentiation
Author(s)	David, Brit
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/67084
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (Brit Gracy David)	
Title	Substrate and nucleus connections to actin filament mediate embryonic stem cell differentiation (アクチンフィラメントと基盤および核膜の連結が胚性幹細胞の分化を調節する)
<p>Abstract of Thesis</p> <p>Embryonic stem cells (ESCs) are pluripotent cells with the capabilities to self-renew and differentiate into any cell type in the body, and these remarkable abilities promise wide-ranging therapeutic applications. Mechanism of pluripotency of the stem cells has been investigated by the regulation of the three core transcription factors, Oct4, Nanog and Sox2. Here, I have instead investigated the mechanism of the pluripotency maintenance of ESCs from the view of mechano-sensing. In this study, I found that mouse ESCs spontaneous differentiation can be attenuated using polyacrylamide gels as soft substrates: ESCs on soft substrates continued to form round and compact colonies, with high alkaline phosphatase (AP) activity, a marker for pluripotency activity, and with high expression levels of Oct4, Nanog and Sox2, even in the absence of leukaemia inhibitory factor (LIF), which maintains the stable expression of these factors. In these cells, both talin and alpha catenin structures were absent and actin filaments (F-actin) were disrupted, indicating that the transmission of mechanical forces from the substrates trigger downstream signaling cascades that lead to a force-dependent change in the expression of the pluripotent genes. Moreover, disrupting Nesprin-mediated connection between F-actin and the nucleus through overexpression of the dominant negative KASH (Klarsicht/ANC-1/Syne-1 homology) domain of Nesprin 1 and Nesprin 2 showed high expression of Oct4, Nanog and Sox2 levels even in the absence of LIF at day 4 of culture. In conclusion, pluripotency of ESCs can be sustained through mechano-stress mediated by Nesprin, a protein linking F-actin and nuclear membrane, and is controllable by external mechanical perturbation such as elasticity of the substrate.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Brit Gracy David)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
主 査	教授	柳田 敏雄
副 査	教授	平岡 泰
副 査	教授	上田 昌宏
副 査	教授	深川 竜郎
副 査	招へい准教授	渡邊 朋信

論文審査の結果の要旨

Brit Gracy David君は、胚性幹細胞の未分化能を力学的摂動により安定かつ簡易に維持する方法論を確立することを最終的な目的として、博士課程期間内において力学刺激による未分化能維持機構の関連を調べた。上記の方法論が義実現できれば、例えば、人工多能性幹細胞の安価な安定培養が提供できるなど、当該研究は基礎科学のみならず応用に向けても重要な課題である。

当該博士論文は、マウス胚性幹細胞を観察材料として、まず培養時に細胞が接着している基板の硬さにより細胞の未分化能が変化することを示し、そのメカニズムを細胞生物学的手法を用いて解明しようとする内容である。当該論文内にてBrit Gracy David君は、細胞と基盤との接着状態は、細胞骨格のひとつであるアクチンフィラメントを介して細胞核膜に伝わり、関連転写因子の発現の変化を引き起こす、と仮説を立てている。上記仮説に基づき、細胞核とアクチンフィラメントを架橋するタンパク質であるNesprinが、細胞外部の力学刺激を細胞核に伝える役割をしていることを発見した。残念ながら、その詳細な分子メカニズムの解明には至らず、今後のさらなる研究が待たれる。

総評として、課題は残されているものの、本研究は、博士学位論文として評価できるものであり、学位を授与するに値すると認める。