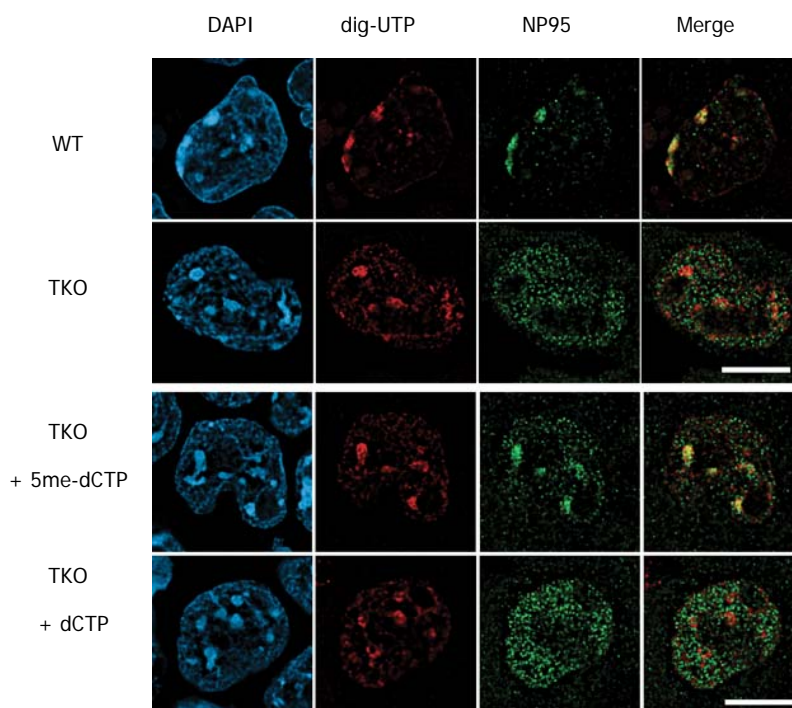


メチル化 DNA の維持機構を解明

2007 年 11 月 30 日

DNA のメチル化は、一般的にクロマチン構造の変化や転写因子の結合阻害をもたらし、その領域に含まれる遺伝子の発現を抑制する。哺乳類の発生では、精子と卵子は高度にメチル化されているが、受精直後から胚盤胞期にかけてそのレベルが大きく低下し、その後それぞれの細胞系列で新たなメチル化パターンが確立される。これらのことから、DNA のメチル化は、細胞系列特異的な遺伝子発現パターンの確立、すなわち細胞分化に重要な働きをもつと考えられる。しかし、一旦メチル化パターンが確立された後、細胞分裂に伴ってどのようにそのパターンが維持されるかについては、未解明のままだった。

理研 CDB の岡野正樹チームリーダーと竹林慎一郎研究員（哺乳類エピジェネティクス研究チーム）らはマウスをモデルにした研究で、Np95 と呼ばれるタンパク質が、DNA の複製部位で親鎖のメチル基を認識し、娘鎖のメチル化を誘導するメカニズムを明らかにした。この研究は、理研免疫・アレルギー科学総合研究センターの古関研究グループ、東北大学の三ツ矢研究グループとの共同で行われ、科学誌 *Nature* に 11 月 11 日付けでオンライン先行発表された。



Np95 はメチル化 DNA 依存的に複製部位に局在する：複製中期のマウス ES 細胞核において、DNA を DAPI で、複製部位を dig-UTP で、Np95 をモノクローナル抗体で可視化した。メチル化修飾が消失している *Dnmt1*^{-/-}*Dnmt3a*^{-/-}*Dnmt3b*^{-/-} のトリプルノックアウト (TKO) 細胞では、Np95 が複製部位に局在しない。TKO 細胞に 5me-dCTP を取り込ませてメチル化部位を導入すると、Np95 は再び複製部位に局在した。

DNA のメチル化には、新たにメチル基を導入する「新規メチル化」と、DNA 複製に伴ってそれを維持する「維持メチル化」の 2 種類がある。哺乳類では 3 つのメチル基転移酵素が知られ、Dnmt3a および Dnmt3b は新規メチル化に、Dnmt1 は維持メチル化に機能する。竹林らは最近、Dnmt1 が DNA メチル化を認識して DNA の複製点に局在することを見いだしていた。(科学誌 *Molecular and Cellular Biology* に 9 月 24 日付けでオンライン発表) しかし、Dnmt1 がどのようにして DNA メチル化を認識するのか、その分子機構については不明であった。

彼らは今回、メチル化 DNA に結合するタンパク質 Np95 と Dnmt1 との関係について研究を進めた。まず、DNA を盛んに複製している細胞で Np95 の局在を調べたところ、DNA の複製点で Dnmt1 と共局在していることがわかった。続いて、Dnmt 遺伝子を欠損した細胞を作成して観察すると、DNA のメチル化が全く起こらないだけでなく、Np95 が細胞全体に分散してしまっていた。そこで、複製中の DNA 鎖の一方を人為的にメチル化すると、興味深いことに、Np95 は再び複製点に局在した。これらの結果は、複製点で 2 本鎖 DNA の一方のみがメチル化された状態が生じると、Np95 がそれを認識し、結合することを示唆していた。

また、Np95 を欠損したマウスでは、DNA のメチル化は起こらず、胚発生が途中で停止してしまうこともわかった。さらに、Np95 を欠損した細胞を調べると、Dnmt1 が複製点に局在できず、DNA の維持メチル化が起こらないことが示された。

彼らはこれらの結果から、Np95 が DNA の複製点で親鎖のメチル基を認識し、Dnmt1 を呼び寄せて娘鎖のメチル化を誘導する、というモデルを提唱している。受精に伴うゲノムリプログラミングと多能性の獲得、細胞分化は表裏一体の現象と考えられ、これらを制御する DNA メチル化の維持機構が明らかになったことは意義深い。