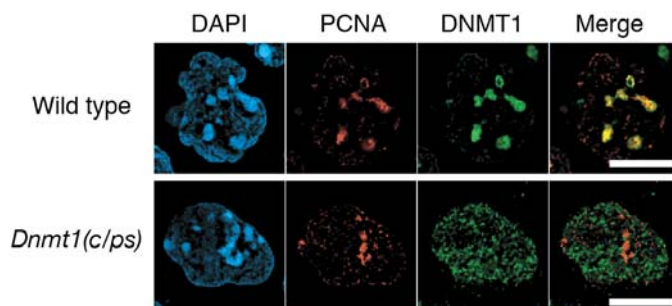


## DNA のメチル化維持機構に新たな発見

平成 20 年 1 月 28 日

DNA のメチル化は一般的に、遺伝子の発現抑制の維持や、ヘテロクロマチンと呼ばれる凝集したクロマチン構造の安定性に重要な役割を果たす。哺乳類の発生では受精直後にゲノム全体のメチル化レベルが低下し、その後それぞれの細胞において異なるパターンでメチル基が付加される。そのため、メチル化パターンの確立と維持が遺伝子発現の制御と運命決定した分化細胞(体細胞)の形質の安定性に極めて重要な役割を果たしていると考えられている。これまでに、哺乳類においては 3 つのメチル基転移酵素が知られており、DNMT3A および DNMT3B がメチル化パターンの確立に、DNMT1 が DNA 複製に伴うメチル化パターンの維持に働いていることが示されていた。

この度、理研 CDB の竹林慎一郎研究員(哺乳類エピジェネティクス研究チーム、岡野正樹チームリーダー)らは、DNMT1 の酵素活性ドメインがマウスの正常な発生に必須であることを明らかにした。また、DNMT1 が DNA 複製部位に結合して機能するには、親鎖のメチル基が必須であることを示している。この研究は、*MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY* 誌の 2007 年 12 月号に発表された。



ゲノムDNAのメチル化をほとんど消失した *Dnmt1<sup>ps</sup>* 変異マウスの核では、DNMT1 が複製部位に局在できない。胎生 9.5 日胚、複製中期核におけるDNMT1 と複製補助因子PCNAの細胞免疫蛍光染色像。(scale bar, 10 μm)

DNMT1 は細胞分裂の DNA 合成期に入ると複製部位へ局在し、親鎖のメチル化パターンに従って新たに合成された娘鎖にメチル基を導入する。DNMT1 蛋白質を完全に欠損するマウスは胚性致死となることから、DNMT1 が胚発生に必須であることが示されている。しかし、DNMT1 は複数の転写制御因子結合ドメインを持つことから、複数の機能を持つことが予測され、欠損した際の表現型がどの機能に由来しているのかは明らかでなかった。

そこで竹林らは、1 アミノ酸置換によってメチル基転移活性のみを欠損したマウス ES 細胞とマウス胚を作成した。これらの細胞および胚では、*Dnmt1* を完全欠損した場合と同様に、ゲ

ノム全体に渡ってメチル化レベルが大幅に低下していることが確認された。また、メチル基転移活性を失った胚では、原腸形成の直後に胚発生が停止し、体節が形成されない、神経管が閉じないなど、完全欠損と同様の異常が見られた。これらの結果から、Dnmt1 完全欠損で起こる胚性致死は、メチル基転移活性の欠損に起因するものと結論付けられた。

さらに詳細に調べると、メチル基転移活性を失った胚では、通常抑制されているインプリント遺伝子やレトロトランスポゾン遺伝子など、複数の遺伝子に発現異常が見られた。そこで、ヘテロクロマチンマーカの局在を調べたところ、調べた全ての体細胞において、通常見られる動原体近傍への局在が減少していた。また、クロマチンの活性化を示す高アセチル化ヒストンの異所的な分布も一部の細胞で見られた。これらのことから、DNMT1 のメチル基転移活性の欠損により、クロマチン構造と遺伝子発現の制御が乱れ、その結果胚性致死となることが強く示唆された。

続いて、DNMT1 の局在を調べたところ、通常であれば DNA 複製部位に局在するはずが、変異体では DNA 合成期を通して核内に拡散していた。この局在消失は、DNMT1 分子の構造変化によるものではなく、メチル基転移活性を失ったことによる親鎖メチル基の消失に起因していた。また、DNMT1 の複製部位への局在には親鎖のメチル基が必要である一方で、両方の鎖にメチル基が導入されると DNMT1 の結合能が低下することが示された。DNMT1 の様々な部位に変異を導入した実験では、N 末端ドメインがヘテロクロマチンへの局在に重要な働きを持つことや、C 末端を失った DNMT1 はメチル基非依存的にヘテロクロマチンに局在し得ることが示された。このことから、C 末端の酵素活性ドメインが N 末端の非特異的なクロマチン結合を抑制的に制御していることが示唆された。

これらの結果は、親鎖 DNA に付加されたメチル基が DNMT1 の複製部位への局在と機能に必須であり、ひいては正常な胚発生に必須であることを明らかにしている。岡野チームリーダーは、「これまで曖昧であった胚発生における DNA メチル化“標識”の意義について理解を深めることができた。親細胞のゲノム DNA メチル化パターンが細胞分裂後の娘細胞ゲノムにどのようにしてコピーされるのか、その分子機構を調べていきたい」とコメントする。