

エピジェネティクスを基盤とした遺伝子機能の調節の基本メカニズムの解析

●中尾 光善

熊本大学医学部腫瘍医学講座（現所属：熊本大学発生医学研究センター再建医学部門器官制御分野）

〈研究の目的と進め方〉

ゲノムのエピジェネティック制御による遺伝子機能の調節機構を明らかにするために、DNAメチル化およびメチル化DNA結合タンパク質に焦点を当てて研究を行った。遺伝情報の発現は、DNAの塩基配列に加えて、DNAのメチル化、DNAに対するDNA・RNA・タンパク質の多分子間相互作用によって調節されている。ヒトなどの哺乳類における巨大なゲノムの構造と機能を理解するために、エピジェネティクスの視点から研究を進めた。

〈研究開始時の研究計画〉

[1] DNAメチル化酵素およびメチル化DNA結合タンパク質の同定、[2] メチル化DNA結合タンパク質の機能解析のための発現ベクターや抗体等の作製、[3] メチル化DNA結合タンパク質のメチル化DNA結合性および遺伝子の転写調節能の解析、[4] メチル化DNA結合タンパク質の相互作用分子の同定、[5] DNAメチル化酵素の機能解析、等について計画した。

〈研究期間の成果〉

メチル化DNA結合タンパク質のMBD1およびそのファミリー（MBD2, MBD3, MBD4, MeCP2）の転写抑制機能を検討して、MBD1はメチル化CpGが高密度にあるゲノム領域に対する抑制分子であることを見出した1)。タンパク質構造解析およびMBD変異体解析から、メチル化DNA結合ドメインとメチル化CpGの結合モデルを提唱したことが特記すべき成果であった10)。その他、エピジェネティクスに関する数多くの研究を行った。

〈国内外での成果の位置づけ〉

メチル化DNA結合タンパク質のファミリーが同定されつつある時機であり、その中のひとつであるMBD1の機能を詳細に明らかにした最初の研究であった。また、メチル化DNA結合タンパク質がどのようにメチル化CpGを認識しているのかは長年の謎であったが、MBD1のメチル化DNA結合ドメインとメチル化CpGの結合構造をNMRで証明できたことは、国際的にも高い評価を受けることができた。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

メチル化DNA結合タンパク質および多数の研究プロジェクトが急展開したことから、DNAメチル化酵素に関する研究は本研究期間の1年では強くは推進できなかった。

〈今後の課題〉

ゲノム上の遺伝子配列等が明らかにされてきたが、多数の遺伝子発現がどのようにエピジェネティックに統合的に制御されているかという、ゲノム情報の活用メカニズムに関しては不明な点が多く、今後研究を展開していきたい。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) N. Fujita, N. Shimotake, I. Ohki, T. Chiba, H. Saya, M. Shirakawa, and M. Nakao. Mechanism of transcriptional regulation by methyl-CpG binding protein MBD1. *Mol. Cell. Biol.* 20: 5107-5118, 2000.
- 2) M. Nogami, A. Kohda, H. Taguchi, M. Nakao, T. Ikemura, and K. Okumura. Relative locations of the centromere and imprinted SNRPN gene within chromosome 15 territories during the cell cycle in HL60 cells. *J. Cell Sci.* 113: 2157-2165, 2000.
- 3) M. Nakao. Epigenetics: interactions of DNA methylation and chromatin. *Gene* 278: 25-31, 2001.
- 4) M. Nakao, S. Matsui, S. Yamamoto, K. Okumura, M. Shirakawa, and N. Fujita. Regulation of transcription and chromatin by methyl-CpG binding protein MBD1. *Brain Dev.* 23 Suppl 1: S174-176, 2001.
- 5) S. Kudo, Y. Nomura, M. Segawa, N. Fujita, M. Nakao, J. Dragich, C. Schanen, M. Tamura. Functional analyses of MeCP2 mutations associated with Rett syndrome using transient expression systems. *Brain Dev.* 23 Suppl 1: S165-173, 2001.
- 6) T. Takizawa, K. Nakashima, M. Namihira, W. Ochiai, A. Uemura, M. Yanagisawa, N. Fujita, M. Nakao, and T. Taga. DNA methylation is a critical cell-intrinsic determinant of astrocyte differentiation in the fetal brain. *Dev. Cell* 1: 749-758, 2001.
- 7) M. A. EL-Gazzar, K. Maeda, K. Kuwahara, H. Nomiya, M. Nakao, and N. Sakaguchi. PU.1 is involved in the regulation of B lineage-associated and developmental stage-dependent expression of the germinal center-associated DNA-primase GANP. *J. Biol. Chem.* 276: 48000-48008, 2001.
- 8) T. Kino, H. Takeshima, M. Nakao, T. Nishi, K. Yamamoto, T. Kimura, Y. Saito, M. Kochi, J. Kuratsu, H. Saya, Y. Ushio. Identification of the cis-acting region in the NF2 gene promoter as a potential target for mutation and methylation-dependent silencing in schwannoma. *Genes Cells* 6: 441-454, 2001.
- 9) S. Takebayashi, M. Nakao, N. Fujita, T. Sado, M. Tanaka, H. Taguchi, and K. Okumura. 5-aza-2'-deoxycytidine induces histone hyperacetylation of mouse centromeric heterochromatin by a mechanism independent of DNA demethylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288: 921-926, 2001.
- 10) Ohki, N. Shimotake, N. Fujita, J-G. Jee, T. Ikegami, M. Nakao, and M. Shirakawa. Solution structure of the methyl-CpG-binding domain of human MBD1 in complex with a methylated DNA. *Cell* 105: 487-497, 2001.
- 11) M. Meguro, A. Kashiwagi, K. Mitsuya, M. Nakao, I. Kondo, S. Saitoh, and M. Oshimura. A novel maternally expressed gene, ATP10C, encodes a putative aminophospholipid translocase associated with Angelman

syndrome. *Nature Genet.* 28: 19-20, 2001.

12) M. Meguro, K. Mitsuya, N. Nomura, M. Kohda, A. Kashiwagi, R. Nishigaki, H. Yoshioka, M. Nakao, M. Oishi, and M. Oshimura. Large-scale evaluation of imprinting status in the Prader-Willi syndrome region: an imprinted direct repeat cluster resembling small nucleolar RNA genes. *Hum. Mol. Genet.* 10: 383-394, 2001.