

## ヒト15q11-q13およびマウス相同領域における刷り込み地図作成に関する研究

● 齊藤 伸治

北海道大学病院小児科

### 〈研究の目的と進め方〉

本研究の目的は、ヒト15q11-q13およびマウス相同領域7Cにおける刷り込み遺伝子の後成的遺伝子修飾状態を体系的に検討し、刷り込み地図を作製することにより、刷り込み遺伝子発現調節機構を明らかにし、ひいては、Prader-Willi症候群（PWS）およびAngelman症候群（AS）の発症機転の解明に寄与することである。この目標を達成するために、ヒト15q11-q13およびマウス7Cに位置する刷り込み遺伝子に関して遺伝子発現、DNAメチル化、ヒストンアセチル化などの体系的な検討を行う。

### 〈研究開始時の研究計画〉

- 1) PWS、ASおよび正常対照由来細胞株は確立されている。PWSモデルマウス、ASモデルマウス、および正常対照マウス由来細胞株を作成する。
- 2) これらの細胞を用いて、ヒト15q11-q13およびマウス7Cに位置する刷り込み遺伝子のDNAメチル化状態をメチル化PCR法、サザン法などで検討する。
- 3) 同様に、ヒストンアセチル化の状態を抗アセチル化ヒストン抗体を用いたクロマチン免疫沈降法により検討する。
- 4) 細胞株をDNAメチル化阻害剤やヒストン脱アセチル化酵素阻害剤などで処理し、前後における刷り込み遺伝子の発現とDNAメチル化、ヒストンアセチル化の変化を検討する。
- 5) PWSモデルマウスに上述した薬剤を投与し、各組織における刷り込み遺伝子の状態を検討する。

### 〈研究期間の成果〉

- 1) PWSモデルマウス、ASモデルマウス、および正常対照マウス由来細胞株の供与を受け、これらの細胞株からDNA、RNAおよびクロマチンの分離を行った。
- 2) 各刷り込み遺伝子特異的なPCRメチル化テストを開発し、検討を行った。
- 3) ヒトおよびマウスの検体を用いて抗アセチル化ヒストンH3およびH4抗体を用いたクロマチン免疫沈降法を行った。この結果、ヒトにおいてはSNURF-SNRPNにおいて親由来特異的なヒストンアセチル化を同定したが、他の刷り込み遺伝子ではこの違いははっきりしなかった。これに対して、マウスではSnurf-Snrpn以外の刷り込み遺伝子においても親由来特異的なヒストンアセチル化の違いを認めた。
- 4) ヒトにおける実験に加えて、マウス細胞を用いて薬剤の投与実験を開始した。
- 5) モデルマウス由来の細胞の供与を受けた。モデルマウスは現在輸入手続きを行っている。

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

15q11-q13における、特にSNURF-SNRPNの後成的遺伝子修飾の解析では国内外の中心的立場にある。SNURF-SNRPNにおけるヒストンアセチル化の発見は世界に先駆けて行われ、独創性が高い。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

モデルマウスの供与の許可は得ているが、輸入手続きに思いの外時間がかかっている。そのため、モデルマウス由来の線維芽細胞を用いた実験にとどまった。

### 〈今後の課題〉

モデルマウスを入手次第、組織特異的検討を進める。さらに、モデルマウスの様々な時期に種々の薬剤を投与し、組織特異的、発達特異的な変化を検討することが今後の主要な課題である。

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

#### 1) 論文

1. Meguro, M., Kashiwagi, A., Mitsuya, K., Nakao, M., Kondo, I., Saitoh, S., Oshimura, M., A novel maternally expressed gene, ATP10C, encodes a putative aminophospholipid translocase associated with Angelman syndrome. *Nature Genet* 28,19-20 (2001)