

1. 遺伝子機能制御に向けたプログラム可能な DNA メチル化酵素の創製

Development of a programmable DNA methylase toward targeted gene silencing

○野村 渉¹, 増田 朱美^{1,2}, 奥田 毅^{1,2}, Carlos F. Barbas, III³, 玉村 啓和^{1,2} (¹東京医科歯科大・生体材料工学研究所、²東京医科歯科大・疾患生命研、³Dept. Mol. Biol., The Scripps Res. Inst.)

第3回エピジェネティクス研究会年会, 東京, 2009年5月22-23日.

Abstract: シトシン塩基のメチル化はヒストンの脱アセチル化を促進し、それによってクロマチン構造変化が誘起され、遺伝子発現の抑制を行う。DNA メチル化パターンは細胞の世代間をまたいで再生されるため、DNA のメチル化によって永久的な遺伝子発現の抑制が可能となる。そのため、特定の標的 DNA でのメチル化制御は、その標的遺伝子を抑制するために非常に有効な手段となり得る。これまで、DNA メチル化酵素と亜鉛フィンガーモチーフを融合することで、配列特異的な DNA メチル化を行う試みがなされてきた。しかし、DNA メチル化酵素に由来する DNA 認識能によって、非特異的なメチル化が高い頻度で観察されることが問題であった。

本研究では、酵素ドメインを二分割し、それぞれを亜鉛フィンガードメインとの融合体とする分割型 DNA メチル化酵素をデザインした。この酵素では、各亜鉛フィンガードメインがメチル化標的配列の両端にそれぞれ結合する。それによる近接効果によって酵素ドメインが再会合して標的配列がメチル化されると考えた。構築した分割型酵素を大腸菌内で発現させ、その DNA メチル化機能を HhaI 制限酵素切断、Bisulfite シークエンス法などによって解析した。その結果、標的遺伝子上の CpG 配列のみが高い特異性をもってメチル化されることが明らかになった。

本研究結果は、標的遺伝子配列に特異的な DNA メチル化反応、及び亜鉛フィンガーモチーフによる標的 DNA での酵素ドメインの再会合が *in vivo* で行われた初の例であり、今後の哺乳類細胞内でのメチル化反応への応用が期待される。