

「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」  
平成24年度採択研究代表者

H25 年度  
実績報告

仲野 徹

大阪大学大学院・生命機能研究科・教授

エピゲノム成立の分子メカニズム解明と制御

## §1. 研究実施体制

### (1)「仲野」グループ

- ① 研究代表者： 仲野 徹（大阪大学大学院・生命機能研究科、教授）
- ② 研究項目
  - ・生殖細胞におけるエピゲノム状態確立の分子機構
  - ・DNA 脱メチル化によるエピゲノム状態の確立

### (2)「中村」グループ

- ① 主たる共同研究者： 中村肇伸（長浜バイオ大学バイオサイエンス研究科、講師）
- ② 研究項目
  - ・DNA 脱メチル化によるエピゲノム状態の確立

## §2. 研究実施の概要

### <DNA 脱メチル化によるエピゲノム状態の確立>

受精卵の雄性ゲノムでは、DNA 複製を伴わない脱メチル化(能動的脱メチル化)が生じることが知られている。この能動的脱メチル化の分子機構については、長い間不明であったが、Tet3 という水酸化酵素により、5-メチルシトシン(5mC)が5-ヒドロキシメチル化シトシン(5hmC)へと変換されることにより進行することが明らかになってきた。一方、受精卵の雌性ゲノムでは、Stella が Tet3 の機能を阻害することにより、5mC を 5hmC への変換から保護することが明らかになっている。しかし、5hmC の生理的な意義については不明のまま残されていた。

Stella ノックアウトマウスの卵子から得た受精卵では、雄性ゲノムだけではなく、雌性ゲノムにおいても 5mC から 5hmC への変換が起こる。そこで、Stella ノックアウトの卵子から得た胚をライブイメージング法により観察した。その結果、Stella ノックアウトの胚では、雌性染色体の分離異常の発生率が有意に上昇することが明らかとなった。また、Stella ノックアウトの胚では、雌性クロマチンに存在するヒストン変異体 H2AX がリン酸化されること、DNA 複製が遅延すること、を明らかにした。さらに、培養細胞を用いた種々の実験から、H2AX のリン酸化には、5hmC が必要なことを明らかにした。これらのことから、受精卵において雌性ゲノムが 5hmC へと変換から阻害されるのは、ゲノムの安定性の維持と DNA 複製のタイミングの調整に必要であることが示唆された。この研究は、CREST の支援を受けた研究として、現在、論文投稿中である。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国際)

1. Yamamoto Y, Watanabe T, Hoki Y, Shirane K, Li Y, Ichiiyanagi K, Kuramochi-Miyagawa S, Toyoda A, Fujiyama A, Oginuma M, Suzuki H, Sado T, Nakano T, Sasaki H  
Targeted gene silencing in mouse germ cells by insertion of a homologous DNA into a piRNA generating locus  
*Genome Res*, 23:292-299, 2013
2. Shiromoto Y, Kuramochi-Miyagawa S, Daiba A, Chuma S, Katanaya A, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Nakamura T, Yoshinaga K, Asada N, Nakamura S, Yasunaga T, Kojima-Kita K, Itou D, Kimura T, Nakano T. “GPAT2, a Mitochondrial Outer Membrane Protein, in piRNA Biogenesis in Germline Stem Cells” *RNA*, 19:803-810, 2013
3. Nakashima H, Kimura T, Kaga Y, Nakatani T, Seki Y, Nakamura T, Nakano T  
Effects of Dppa3 on DNA methylation dynamics during primordial germ cell development  
*Biol Rep*, 88:1-9, (Journal Cover) 2013