

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

H26 年度
実績報告書

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(研究機関別)

- 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(研究機関別)

- 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

レトロトランスポゾンとは、いわゆる「動く遺伝子」であり、ほ乳類のゲノムの約40%もがレトロトランスポゾンに関連した遺伝子で占められている。レトロトランスポゾンの遺伝子は、RNA に転写された後、逆転写酵素の働きにより DNA へと変換され、ゲノムへと挿入される。レトロトランスポゾンの挿入は突然変異を引き起こす可能性があるため、その発現=転写は、プロモーター領域の DNA メチル化によって強く抑制されている。

すべての細胞に分化できる全能性細胞である受精卵における DNA メチル化レベルは非常に低いが、発生・分化過程において、細胞系列特異的な DNA メチル化が導入されていく。しかし、生殖細胞だけは状況が異なっており、未分化な生殖細胞の段階において、DNA メチル化が一旦消去され、再度 DNA メチル化が生じる。そして、このメチル化は *de novo* DNA メチル化と呼ばれる。

レトロトランスポゾン遺伝子も、他の遺伝子と同様に *de novo* DNA メチル化をうける。しかし、大量に存在するレトロトランスポゾン遺伝子のメチル化には、他の遺伝子とはちがって、piRNA (PIWI interacting RNA) という小分子 RNA に依存した分子機構が存在する。我々の研究室は、その分子機構についての研究に長年たずさわってきた。

piRNA 依存的な *de novo* DNA メチル化を、レトロトランスポゾン以外の遺伝子に適応できれば、生殖細胞の発生・分化において、特定の遺伝子に *de novo* DNA メチル化を生じさせ、遺伝子発現を抑制できるのではないかと、という仮説のもと、実験を遂行した。

まず、モデル実験として、EGFP トランスジェニックマウスを用いた研究から開始した。胎生期の雄性生殖細胞において EGFP を発現するトランスジェニックマウスに、アンチセンス鎖の EGFP を発現させると、EGFP の発現が piRNA 依存的に抑制されること、また、その抑制が DNA メチル化を介したものであること、を明らかにした。

ついで、トランスジーンではなく、内在性の遺伝子にもこの方法論が適用できるかどうかを確かめるため、胎生期の雄性生殖細胞において発現する *de novo* DNA メチル化に関与する遺伝子 DNMT3L をターゲットにした実験をおこなった。その結果、アンチセンス鎖の DNMT3L を発現させると、DNMT3L に対する piRNA が産生され、DNA メチル化が誘導されることが明らかとなった。

胎生期雄性生殖細胞における piRNA 産生には、MILI と MIWI2 という二つのマウス PIWI ファミリータンパクが必須であり、MIWI2 に結合した piRNA が「ガイド」として機能し、*de novo* DNA メチル化に関与すると考えられている。我々の研究成果は、胎生期雄性生殖細胞において発現する遺伝子であれば、アンチセンス鎖を発現させることにより、遺伝子特異的に、その遺伝子の、次いで、そのプロモーター領域に *de novo* DNA メチル化と遺伝子発現のサイレンシングをもたらすことを明らかにした。

