

「生命機能メカニズム解明のための光操作技術」
平成 29 年度採択研究者

2018 年度 実績報告書

山吉 麻子

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科(薬学系)
教授

眠れる遺伝子機能を呼び起こす革新的光操作技術の開発

§ 1. 研究成果の概要

遺伝子発現の調節過程で最も重要な役割を果たすものの1つが「DNAのメチル化修飾」である。DNA中のシトシン塩基(C)がメチル化を受けることによって5-methylcytosine(5mC)となると、その部分の遺伝子発現が抑制される。つまり、「5mCは遺伝子発現のOFFスイッチ」になっている。DNAのメチル化状態を変化させることで、細胞の分化状態を制御し、万能性を持つ細胞を作製することが可能であると推測される。しかしながら、体細胞での脱DNAメチル化を人為的かつ配列特異的に制御する手法に関しては殆ど報告例が無い。これまでに我々は、光応答性分子であるPsoralenを含む人工核酸「Methyl-Tracker」の開発に成功し、シトシン塩基のメチル化の有無によって、標的遺伝子に対するMethyl-Trackerの架橋効率が大きく異なることを見出した(Yamayoshi et al., *Photochem, Photobiol.*, 2014)。そこで本研究では、Methyl-Trackerの5mCへの選択的反応性と、細胞の持つ遺伝子修復機構とを組み合わせることで、「DNAの配列特異的な脱メチル化」を達成することを目的とした。

試験管内にて標的遺伝子とMethyl-Trackerとを反応させた後、DNA修復酵素による標的DNAの脱メチル進行度合いについて評価した。Methyl-Trackerと標的DNAとを生理食塩水中にて混合し、光照射により5mCとの架橋体を生成させた後に、HeLa細胞核抽出液を用いたDNA de-modification assay(Schomacher et al., *Nat. Struc. Mol. Biol.*, 2015)によって脱メチル化の進行度合いを確認した。その結果、Methyl-Trackerによって約20%(5-hydroxymethyl cytosineと同程度)脱メチル化が進行することが明らかとなった。このデータは、本法によって5mCの脱メチル化を細胞内で誘導することが可能であることを支持するものであり、極めて有望なデータであると考えられる。

§ 2. 研究実施体制

①研究者:山吉 麻子 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科(薬学系) 教授)

②研究項目

- 新規光応答性核酸の設計・合成(山吉)
- エクソソーム随伴導入型核酸導入システムの本法への有効性の検証(山吉)
- 脱メチル化アッセイ評価系の構築(山吉)