

提出日：平成 29 年 4 月 26 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	染色体上の DNA メチル化領域を決定する機構解明 IV		
研究代表者	氏名	多田 政子	
	所属機関名・部局名	鳥取大学染色体工学研究センター	
	職名	教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	末武 勲		
<p>DNAのメチル化修飾は、それを担う酵素Dnmtのタンパク質修飾、ターゲットとなるゲノム領域のクロマチン構造、協調的に働く因子、細胞周期などによって総合的に制御されている。マウスゲノムは、着床前胚では低メチル化状態、エピブラスト時期に高メチル化状態、生殖系列で再び低メチル化状態となる。この生殖系列でのDNAメチル化変動の制御機構を明らかにする目的で、DNAメチル化酵素を全て欠損したマウスES細胞にDnmt1のみを発現させた(TKO+1) ES細胞を生殖系列の細胞に分化誘導し、細胞内のDNA修飾の局在性やDNA修飾の総量変化などを解析した。結果、Dnmt1が単独で生殖系列においてDNAメチル化レベルを増加させる方向に働くことを見出した。このことは、生殖系列での分化過程において、(1)Dnmt1のDNA結合能が増加する、または、(2)酵素活性自体が亢進する可能性が考えられる。また、(1)については、発生段階特異的に(a)Dnmt1のタンパク質修飾が変化する、(b)コファクターが変化する、または、(c)Dnmt1結合を阻害している因子がなくなる可能性が考えられる。これまで、これらの可能性について、あまり議論されてこなかった。</p> <p>本共同研究では、まず、(1)-(a)の可能性を検討するため、Dnmt1のタンパク質修飾状態を解析することを目的とした。材料として、マウスTKO+1 ES細胞を分化誘導し、その分化細胞から抽出したタンパク質を用いた。方法として、大阪大学蛋白質研究所に持参した細胞抽出液を抗Dnmt1抗体で免疫沈降(IP)し、Dnmt1タンパク質を濃縮した。結果、IP産物のwestern blot解析によって、Dnmt1は電気泳動の移動度に影響を与えるような修飾を受けていないことがわかった。今後、研究代表者のグループでは、持ち帰ったIP産物を用い、Dnmt1のクロマチン結合能に影響を与えることが知られているSUMO化やユビキチン化について更なる解析を実施する予定である。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 29 年 5 月 19 日（金） ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp