

1. ハイライトポスター番号：27PH-04

亜鉛フィンガーの DNA 配列認識を用いた分割型メチル化酵素による配列特異的シトシンメチル化反応

(英名) : **In vivo site-specific DNA methylation with a zinc finger tethered split DNA methylase.**

野村 渉, 玉村啓和, Carlos F. Barbas, III.

日本薬学会第 128 年会、横浜、2008 年 3 月 26 - 28 日

【要旨】

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 配列上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。

この問題を解決する試みとして、本研究では、DNA メチル化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酵素をデザインした。これにより、亜鉛フィンガードメインの DNA 結合によってのみ標的配列上で酵素ドメインの再会合、メチル化機能が発揮されることが予想された。これらの分割型酵素ドメインを大腸菌内で発現させ、そのメチル化機能を制限酵素切断、Bisulfite シークエンス法などによって解析した。その結果、標的配列中の CpG 配列のみがメチル化されていることが明らかになった。

今回の研究結果は、配列特異的な 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 上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。