



Title	DNA methyltransferase in <i>Xenopus laevis</i>
Author(s)	木村, 博信
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3178512">https://doi.org/10.11501/3178512</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	木村 博信
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第15720号
学位授与年月日	平成12年9月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	DNA methyltransferase in <i>Xenopus laevis</i> (アフリカツメガエルにおけるDNAメチルトランスフェラーゼの研究)
論文審査委員	(主査) 教授 田嶋 正二
	(副査) 教授 関口 清俊 助教授 井上 明男 教授 吉川 和明

## 論文内容の要旨

脊椎動物の染色体DNA中のCpG配列の多くは、メチル化という塩基修飾を受けている。このDNAのメチル化は、生理的条件下で受ける唯一の塩基修飾であり、遺伝子の刷り込み、X染色体の不活性化、組織特異的な遺伝子発現、ガン化などの生理的現象に関与していることが知られている。DNAにメチル基を導入するDNA methyltransferase(Dnmt)には、一旦形成されたメチル化模様を維持するDnmt1と新たにメチル化模様を形成するDnmt3(3a, 3b)がある。Dnmt1欠損マウスは、8.5日胚で致死であると共に、遺伝子の刷り込みを受けている遺伝子の発現の差が解消しており、(Dnmt3a, 3b)欠損マウスは、11.5日胚以前で致死であると共に、メチル化パターンの形成ができないという報告がある。今回、胚発生におけるDNAのメチル化の生理的意義を明らかにする目的で、私は胚を容易に扱えるアフリカツメガエルの系を用いて、DNAメチルトランスフェラーゼの役割を調べた。

最初に、マウスDnmt1の活性中心を含むcDNA断片を用いて、アフリカツメガエル卵母細胞cDNAライブラリーからアフリカツメガエルDnmt1(xDnmt1)cDNAをクローニングした。アミノ酸配列で比較すると他の脊椎動物のDnmt1と高い相同意を示し、またxDnmt1cDNAがDNAのメチル化活性を持っているxDnmt1をコードしていることを示した。

次に、卵母細胞形成過程におけるxDnmt1の蓄積およびstage VI卵母細胞での局在を示した。卵形成過程が進むに連れ、xDnmt1の合成および蓄積が増大し、stage VI卵母細胞では、培養細胞に比べて約1x10<sup>4</sup>倍のxDnmt1が存在していた。また、stage VI卵母細胞では核と細胞質に約50%の割合で両方に存在していた。

アフリカツメガエルの初期の胚発生でのDNAのメチル化の生理的意義を明らかにするために、xDnmt1と活性欠損型xDnmt1のmRNAを合成し、アフリカツメガエル胚に微量注入した。微量注入したmRNAから翻訳されたxDnmt1もしくは活性欠損型xDnmt1が大量に存在するにもかかわらず、胚発生に異常は見られなかった。

次に染色体DNAのメチル化模様を乱す目的で、マウスDnmt3a, 3b1, 3b2, 3b3のmRNAを微量注入した。マウスのDnmt3a, 3b1, 3b2, 3b3についてmRNAをそれぞれ合成し、ツメガエル胚に微量注入したところ、Dnmt3a, 3b1, 3b2については、原腸陷入時に泡状の細胞塊が出現する形態異常が認められた。メチル化導入活性がないDnmt3b3では、上記の形態異常が認められなかった。また、この形態異常はメチル化活性には依存していないことを示した。

今回、私は初期の胚発生でDNAのメチルトランスフェラーゼの生理的意義を調べる上で、アフリカツメガエル胚

が有用な系であることを示した。

#### 論文審査の結果の要旨

木村博信君は、生殖細胞と胚発生の過程で染色体DNAのメチル化がどの様な意義を持つのかを明らかにする目的で、アフリカツメガエルを材料として、DNAメチルトランスフェラーゼ(Dnmt1)のcDNAを単離してその構造を決定し、卵母細胞の形成過程でのDnmt1の生成・蓄積・局在を明らかにし、さらに、Dnmt1の初期胚での役割を明らかにした。これらの結果は、卵形成過程と初期胚でのDNAメチルトランスフェラーゼの意義を明らかにした点で、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。