

Title	Interaction of the RFTS domain of Dnmt1 with the SRA domain of Uhrf1 for the maintenance DNA methylation
Author(s)	Berkyurek, Ahmet Can
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/54037
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (Berkyurek Ahmet Can)

Title

Interaction of the RFTS domain of Dnmt1 with the SRA domain of Uhrf1 for the maintenance DNA methylation
 (Dnmt1のRFTS領域とUhrf1のSRA領域の相互作用がDNAの維持メチル化に果たす役割)

Abstract of Thesis

DNA methylation plays an essential role in development through regulating gene expression. Genome-wide DNA methylation patterns are established during early stage of embryogenesis and germ cells, and are faithfully propagated to next generations during replication by Dnmt1, which preferentially methylates hemi-methylated DNA that transiently appears during replication and repair step. Dnmt1 is recruited to replicating region by its “replication foci targeting sequence” (RFTS) (Leonhardt et al., 1992). Interestingly, three-dimensional structure of Dnmt1 solved by our group exhibited that the RFTS forms independent domain and is plugging the catalytic pocket. The position is stabilized by four hydrogen bonds between the RFTS and catalytic domains (Takeshita et al., 2011). For this, DNA cannot access the catalytic center, and thus the RFTS should be removed from the catalytic pocket for the active DNA methylation.

Up to the present we have successfully published the following results (Berkyurek et al., 2014). DNA methylation activity of Dnmt1 is DNA length-dependent. In addition, the SRA domain of Uhrf1, which is a prerequisite factor for maintenance methylation and selectively binds to hemi-methylated DNA (Arita et al., 2008; Sharif et al., 2007), stimulates DNA methylation activity of Dnmt1 in a dose dependent manner. Since the mutation in the SRA that cannot bind to DNA stimulates DNA methylation activity by Dnmt1, the SRA domain of Uhrf1 directly interacts with the RFTS domain. I have also shown that the interaction between the SRA and RFTS domains facilitates DNA accession to the catalytic pocket. At the same time, hemi-methylated DNA is released from the SRA upon interaction with the RFTS. These results indicate that the SRA removes the RFTS domain from the catalytic pocket and handovers the DNA bound to the SRA domain to the catalytic pocket of Dnmt1. Thus the interaction between the RFTS domain of Dnmt1 and the SRA domain of Uhrf1 plays a crucial role in the maintenance DNA methylation.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Berkyurek, Ahmet Can)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	田 嶋 正 二
	副 査	教 授	長 谷 俊 治
	副 査	教 授	篠 原 彰
論文審査の結果の要旨			
<p>ゲノムの DNA メチル化は遺伝情報発現制御のエピジェネティック機構の主要な要因として機能している。ゲノムのメチル化模様は新たにメチル化模様を形成する型の DNA メチル化酵素である Dnmt3a と Dnmt3b により初期胚と生殖細胞で樹立され、その後は細胞系譜ごとに維持型の DNA メチル化酵素 Dnmt1 により次世代の細胞へと継承されている。Dnmt1 は複製期に出現する、片鎖だけがメチル化された“ヘミメチル DNA”を選択的にメチル化する性質を担うことなどから、ゲノムのメチル化維持に寄与していると考えられている。最近、Dnmt1 によるゲノムの維持メチル化にはもう一つの因子である Uhrf1 が必要であることが明らかになった。Uhrf1 のもつ SRA 領域はヘミメチル DNA に選択的に結合することにより、複製されたばかりのヘミメチル化状態にある DNA 鎖に結合して存在し、Dnmt1 と協調して維持メチル化していると考えられている。しかし、その詳しい分子機構については良くわかっていない。</p> <p>本論文では、Dnmt1 を複製領域にリクルートすることが報告されている、Dnmt1 の複製領域標的化シグナル (RFTS) 領域が Uhrf1 内の SRA 領域と直接相互作用すること、それに伴って、RFTS の相対的な配置が変化し基質であるヘミメチル DNA が Dnmt1 の触媒中心に近づくようになり、メチル化されることを試験管内で明らかにした。すなわち、複製直後に出現するヘミメチル DNA を Dnmt1 が Uhrf1 と相互作用して達成する分子機構の中心的な部分を明らかにしている。</p> <p>以上のように、Dnmt1 の RFTS 領域と Uhrf1 の SRA 領域の直接的な相互作用により維持メチル化が達成される点を解明した本論文は、Dnmt1 によるゲノムの維持メチル化機構の解明に貢献するものである。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>			

