

提出日：平成 29 年 5 月 18 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	リアルタイム NMR 法による Dnmt3a の DNA メチル化反応の解析		
研究代表者	氏名	古川 亜矢子	
	所属機関名・部局名	横浜市立大学・生命医科学研究科	
	職名	特任助教	
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 のメチル化状態は、個体発生、成長などの過程で必須な役割を果たしている。生化学的な実験で、細胞内において時間経過と共に変化するメチル化状態は定性的には観測されている。しかしながら、詳細なメチル化の順序や反応性は解析されていない。そこで本研究では、NMR を用いて DNA メチル化酵素のメチル化反応を定量的に解析するための手法を構築した。DNA とメチル基供与体である SAM とメチル化酵素 M.SssI を混合して NMR 試料管に入れ、37°C で ^{13}C-HSQC スペクトルの連続測定を行った。メチル基供与体の SAM は、転移されるメチル基を ^{13}C 標識した SAM(大陽日酸)を用いた。これによって、シトシンに導入されるメチル基は、すべて ^{13}C 標識されているので、メチル化反応によって付加された ^{13}C-メチルのシグナルだけを検出できる。1 測定 10 分程度で、シグナルを検出でき、時間変化によるシグナル強度の増加を取得した。この解析から、酵素反応が最後まで終了すると 3'側から順番にメチル化されていることが分かった。また、位置によって反応速度が異なることも明らかになった。反応したメチル化シトシンのメチル基だけを検出することによって、センス鎖とアンチセンス鎖のシトシンも区別することが出来た。その結果、センス鎖とアンチセンス鎖に存在するメチル化シトシンのシグナル強度は異なっていた。これは、センス鎖とアンチセンス鎖へのメチル化導入は同時ではないということを示唆している。</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