

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究 (S)

研究期間：2008～2012

課題番号：20678002

研究課題名 (和文) 受精後ゲノム刷り込みはいかにして確立するのか？

研究課題名 (英文) Mechanisms for methylation imprinting establishment after fertilization

研究代表者

谷本 啓司 (TANIMOTO KEIJI)

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・准教授

研究者番号：90261776

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：発現制御、エピジェネティクス

## 1. 研究計画の概要

ゲノム刷り込みは哺乳動物のみに見られる、世代を超えた現象であるため、すべての実験は酵母人工染色体導入マウス (YAC TgM) を用いて行う。

- (1) YAC TgM の初期胚を用いて、受精後メチル化刷り込みの確立時期を決定する (H20)
- (2) 受精後メチル化刷り込み確立におけるインシュレータータンパク質・CTCF の必要性を検証するために YAC TgM を作製・解析する (H20)
- (3) 受精後メチル化刷り込み確立における、特定の cis 制御配列の関与を検証するために YAC TgM を作製・解析する (H21以降)
- (4) 受精後メチル化刷り込み確立に必要な十分な要素を決定するために YAC TgM を用いた再構築実験を行う (H21以降)
- (5) 受精後メチル化刷り込み確立に必要な最小領域を決定するために、欠失変異体を用いて YAC TgM を作製・解析する (H21以降)
- (6) YAC TgM を用いた母親由来メチル化刷り込み再現の検討を行う (H21以降)

## 2. 研究の進捗状況

- (1) 解析を終了し、学会発表 [研究成果 2, 3] を行った。現在、論文投稿準備中。
- (2) 作製・解析を終了し、学会発表 [6, 7, 9, 10]・論文発表 [1] を行った。
- (3) 2 種類の YAC TgM の作製を終了し、現在、解析中。
- (4) 作製・解析を終了し、学会発表 [1, 4] を行った。現在、論文投稿準備中。
- (5) 現在、YAC TgM を作製中。

(6) 現在、YAC TgM を作製中。

- (7) 上記に加え、H19 ICR 断片のみがマウス染色体上にランダムに挿入された TgM を作製・解析することにより、受精後メチル化刷り込みが優性に確立し得ることを示し、学会発表 [5, 8]・論文発表 [2] を行った。
- (8) 加えて、受精後メチル化刷り込み確立・維持への酵素・転写因子の関与を明らかにするため、これらのノックアウト・マウスを入手し、交配・解析を行う予定である。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由) 当初計画で H20 年に実施予定であった実験については終了、発表済み。H20 年以降の実験については、終了したもの、TgM 作製済み・解析待ちのもの、作製中のものがあり、また、当初計画にはなかった実験も追加 (一部終了) しているため。

## 4. 今後の研究の推進方策

(5, 6, 8) については、YAC TgM の作製が終わり次第、解析に移る予定である。(3) については、DNA メチル化状態の解析に移る予定である。実験を終了したもの (1, 4) については成果発表の準備を進めていく予定である。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

1. Matsuzaki, H., Okamura, E., Shimotsuma, M., Fukamizu, A., and Tanimoto, K.

CTCF binding is not the epigenetic mark that establishes

post-fertilization methylation imprinting in the transgenic H19 ICR *Hum. Mol. Genet.* **19**, 1190-1198 (2010) (査読有り)

2. Matsuzaki, H., Okamura, E., Shimotsuma, M., Fukamizu, A., and Tanimoto, K.

A randomly integrated transgenic H19 imprinting control region acquires methylation imprinting independently of its establishment in germ cells *Mol. Cell. Biol.* **29**, 4595-4603 (2009) (査読有り)

3. Hou, C., Zhao, H., Tanimoto, K., and Dean A.

CTCF-dependent enhancer-blocking by alternative chromatin loop formation *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **105**, 20398-20403 (2008) (査読有り)

[学会発表] (計17件)

1. BMB2010 (第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会) (2010年12月7日～10日: 神戸ポートアイランド)

「ヘテロな遺伝子座におけるH19-ICRの受精後刷り込みメチル化確立機構の解析

(Analysis of post-fertilization methylation imprinting at the H19-ICR in YAC transgenic mice)」(口頭・ポスター) 岡村永一、松崎仁美、坂口龍太、谷本啓司

2. International Symposium on “Epigenome Network, Development and Reprogramming of Germ Cells”

November 22-24, 2010 (Kyusyu University School of Medicine Centennial Hall, Fukuoka, Japan)

“Establishment of imprinted DNA methylation at the transgenic H19 ICR in early mouse embryos” (poster)

H. Matsuzaki and K. Tanimoto

3/4. 日本エピジェネティクス研究会第4回年会 (2010年5月28日～29日: 米子市文化ホール、鳥取県米子)

「ヘテロな遺伝子座に移植したH19 ICRの発生初期胚におけるアレル特異的DNAメチル化の解析 (Analysis of allele-specific DNA methylation at the H19 ICR in early embryos of YAC transgenic mice)」(ポスター)

松崎仁美、谷本啓司

「ヘテロな遺伝子座におけるH19 ICRメチル化可変領域 (DMR) 形成メカニズムの解析 (Analysis of DMR (differentially

methylation region) formation at the H19 ICR in YAC transgenic mice)」(ポスター) 岡村永一、松崎仁美、谷本啓司

5/6. epigenetics 2009 ~Australian Scientific Conference~ (December 1-4, 2009: The Sebel, Albert Park, Melbourne, Australia)

“Post-fertilization methylation imprinting in the randomly integrated transgenic H19-ICR fragment” (poster)

H. Matsuzaki and K. Tanimoto

“Possible role of CTCF binding in the post-fertilization methylation imprinting at the transgenic H19-ICR in beta-globin YAC” (poster)

K. Tanimoto and H. Matsuzaki

7. 日本生化学会関東支部例会「若手が担う次世代型生化学研究」(2009年6月20日: 茨城県つくば国際会議場)

「遺伝子導入マウスを用いたゲノム刷り込み確立機構の解析」(ポスター)

松崎仁美、岡村永一、深水昭吉、谷本啓司

8/9. EMBO World Workshop on Genomic Imprinting (September 21-24, 2008: Temasek Life Science Laboratory, Singapore)

“Acquisition of parent-of-origin-specific methylation in the transgenic mouse carrying 2.9-kbp H19 ICR DNA fragment” (oral)

H. Matsuzaki and K. Tanimoto

“Possible role of CTCF binding in the establishment and/or maintenance of methylation imprinting in the H19 ICR at heterologous beta-globin loci in YAC transgenic mice” (poster)

K. Tanimoto and H. Matsuzaki

10. 日本エピジェネティクス研究会第2回年会 (2008年5月9日～10日: 東レ総合研修センター、静岡県三島)

「ヘテロな遺伝子座を用いた刷り込み制御領域の機能解析 (Functional analysis of the imprinting control region in the heterologous loci)」(ポスター) 松崎仁美、谷本啓司

[その他]

ホームページ

<http://web.me.com/tanik3//Keijis/Welcome.html>