

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25291025

研究課題名(和文) ゲノムDNAのメチル化模様維持機構に関する研究

研究課題名(英文) Mechanism of genome DNA maintenance methylation

研究代表者

田嶋 正二 (Tajima, Shoji)

大阪大学・たんぱく質研究所・教授

研究者番号：50132931

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：脊椎動物ゲノムのCpG配列ではシトシン塩基がしばしばメチル化修飾を受けている。DNAメチル化は、遺伝情報の読み取りに抑制的に働く“エピジェネティクス”の主要要因であり、発生・分化に重要な役割を担っている。DNAメチル化模様は複製過程で次世代の細胞に正確に伝えられる。この世代を越えたメチル化模様の伝達はDnmt1と呼ばれるDNAメチル基転移酵素の一つが責任酵素として働いている。研究では、X線結晶構造解析により明らかにしたDnmt1の立体構造情報をもとにして、次世代の細胞への維持メチル化機構について、構造生物学的、生化学的考察を加えた。

研究成果の概要(英文)：The CpG sequence in vertebrate genome is often methylated. DNA methylation is one of the factors that suppresses gene expression, and is crucial for development. DNA methylation patterns of genome are inherited to next generation during replication. DNA methyltransferase called Dnmt1 is responsible for faithful propagation of DNA methylation patterns. In the project we have provided structural and biochemical insights into the maintenance DNA methylation.

研究分野：DNAメチル化の生化学

キーワード：DNAメチル化 DNAメチルトランスフェラーゼ 維持メチル化

1. 研究開始当初の背景

哺乳類では、初期胚と生殖細胞でゲノムのメチル化模様は大きく書き換えられ、一旦樹立した DNA メチル化模様は細胞系列特異的に維持される。DNA メチル化模様の次世代細胞への継承は胚発生にとり必須であり、乱されると多くの場合細胞や個体は死に至る。

ゲノムに書き込まれたメチル化模様は、複製時に形成される、片鎖の CpG だけがメチル化された (ヘミメチル) DNA のメチル化されていない新生鎖の CpG が Dnmt1 により選択的にメチル化されることで維持される。マウス Dnmt1 は 1,620 アミノ酸残基からなる大分子であり、種間で配列はよく保存されている (Tajima et al, JB, 1995; Kimura et al, JB 1996)。Dnmt1 はその RFTS (replication foci targeting sequence) 領域により複製フォークに局在する。Dnmt1 は増殖期の細胞で高発現し、S 期には半減期が延びる (Suetake et al, CSF, 1998, 2001)。ツメガエル初期胚の Dnmt1 の働きを阻害すると G2-M 期で停止する (Hashimoto et al, ECR, 2003)。このことは Dnmt1 が細胞周期チェックポイント機構に深くかかわっていることを示す。しかし一方で例外的に、分裂が停止している卵母細胞とニューロンで高発現しており、しかも、細胞質に大部分が留まっている (Kimura et al, JB, 1999; Inano et al, JB, 2000)。細胞質に Dnmt1 が留まる機構は不明である。我々は Dnmt1 の N-末端領域に結合し、リン酸化するキナーゼ CDKL5 (Kameshita et al, BBRC, 2008) とカゼインキナーゼ 1 δ/ϵ (Sugiyama et al, BJ, 2010) を同定している。Dnmt1 の、例えばリン酸化修飾などが細胞内での局在化に寄与している可能性が考えられる。Dnmt1 の N 末端約 250 アミノ酸残基は独立の領域構造を形成し (Suetake et al, JB, 2006) DNA や複製に必須な因子である PCNA、転写抑制因子の DMAP1 などを結合するプラットフォームとなっている。

我々は N 末端領域を欠くが、それ以降の配列全てを含む Dnmt1(291-1620)を X 線結晶構造解析により立体構造を明らかにした (Takeshita et al, PNAS, 2011)。それによると、Dnmt1(291-1620)の N 末端から、RFTS 領域、Zn-finger 様構造の CXXC、2 つの BAH (bromo-adjacent homology) 領域、それと触媒領域がそれぞれ独立の領域構造をとり、お互いに緩やかに相互作用していた。もっとも注目すべき構造は、RFTS 領域がヘミメチル DNA の結合するべき触媒ポケットに嵌まり込んでいて、その位置は触媒領域との間の 4 本の水素結合で安定化されていたことである。水素結合で存在位置が安定化していることは、RFTS が触媒ポケットに位置するのが結晶化過程でのアーティファクトではないことを示し

ており、したがって、Dnmt1 が維持メチル化活性を発揮するためには、RFTS は何らかの機構により触媒ポケットから除かれなければならないことを示している。

Dnmt1 の触媒領域は、バクテリアの DNA メチル基転移酵素からよく保存されている 10 のモチーフをもつ。モチーフ VIII と IX の間にはバクテリアで標的塩基配列を認識する TRD (target recognition domain) が存在するが、Dnmt1 ではこの TRD が他の DNA メチル基転移酵素に比べて異常に長い。予想される DNA との複合体の構造をもとに、ヘミメチル DNA の位置を調べたところ、TRD 内の W1500、ないし、W1512 がメチル化したシトシンを保持していることが推定された。この残基に変異を入れたところ活性が著しく低下し、TRD でヘミメチル化 CpG を認識していることを支持する結果となった (Takeshita et al, PNAS, 2011)。2012 年になり、Dnmt1 の触媒領域断片とヘミメチル DNA との複合体の構造解析が米国から報告され、我々の予想が正しかったことが証明された。

Dnmt1 は試験管内では単独でヘミメチル DNA 選択的なメチル化活性を示すが、生体内で維持メチル化活性を発揮するためには Np95/Uhrf1 (以下 Np95) と呼ばれる因子が必要である (Sharif et al, Nature, 2007)。生体内で維持メチル化に必須な Np95 の SRA 領域はヘミメチル DNA に特異的に結合するが、その結合した構造と Dnmt1 の触媒領域がヘミメチル DNA と結合した構造から、Dnmt1 と SRA (Np95) は同時にヘミメチル DNA に結合できないことがわかる。さらに、我々が解いた Dnmt1 の立体構造では RFTS が触媒ポケットを塞いでいる (Takeshita et al, PNAS, 2011)。以上のことから、細胞内での維持メチル化は、Dnmt1 の触媒ポケットから RFTS が除去されるステップ、Np95 から Dnmt1 の触媒中心にヘミメチル DNA が受け渡されるステップという、多段階に進行すると考えられる。生体内では DNA メチル化模様は忠実に次世代の細胞に継承されるのに対して、試験管内では組換え Dnmt1 は比較的高頻度 (5%) にヘミメチル CpG をフルメチル化し損なうことを我々は観察している (Vilkaitis et al, JBC, 2005)。生体内では Dnmt1 と Np95 が共役して厳密な維持メチル化が進行していることを予想させる。

2. 研究の目的

哺乳類ゲノムの CpG 配列では、シトシン塩基の 5 位の炭素がしばしばメチル化修飾を受けている。このメチル化修飾は、遺伝情報の読み取りに抑制的に働く“エピジェネティクス”の主要要因であり、発生・分化に重要な役割を担っている。DNA のメチル化模様は複製過程で次世代の細胞に正確に伝達され、保

持される。この世代を越えたメチル化模様の伝達には DNA メチル基転移酵素 Dnmt1 が責任酵素として働いている。

本研究計画では、2011年に我々が X 線結晶構造解析より明らかにした、Dnmt1 の立体構造情報をもとにして、次世代への DNA メチル化模様伝達の機構について、Dnmt1 がどのような構造基盤によりヘミメチル DNA をメチル化するのかを生化学的に明らかにするとともに、細胞内における各領域の機能解析をおこなう。DNA 維持メチル化活性に必須である因子 Np95 (Uhrf1) との相互作用は、Np95 から Dnmt1 へのヘミメチル DNA の受渡しに関わる最も重要な段階であるが、Np95 の DNA 維持メチル化活性の寄与についても明らかにする。

3. 研究の方法

構造情報に基づいて作成した Dnmt1 並びに Np95 の欠失・変異について、1) 組換え体を用いて試験管内での相互作用と、Dnmt1 の DNA 維持メチル化活性を解析するとともに、2) *Dnmt1* ないし *Np95* 遺伝子、あるいは、両遺伝子をノックアウトしたマウス胚性幹細胞で発現させ、細胞内でのゲノム維持メチル化活性を解析する。これにより、Dnmt1 による DNA 維持メチル化活性の責任領域と、それに果たす Np95 の役割を明らかにする。

Dnmt1 が複製フォークや修復直後に出現するヘミメチル DNA をメチル化するにはヌクレオソーム構造と構成するヒストンの修飾が寄与している。複製後どのタイミングで Dnmt1 による維持メチル化が起きるのかについて、3) ヘミメチル DNA からヌクレオソームを再構成して Dnmt1 による維持メチル化活性を解析する。これにより、Dnmt1 が DNA 維持メチル化活性を発揮する基質 DNA の状態を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 組換え体を用いて試験管内での Dnmt1 と Np95 の相互作用、それと、Dnmt1 の DNA 維持メチル化活性を解析した。その結果、Np95 中のヘミメチル DNA に結合する SRA 領域が Dnmt1 の RFTS 領域と直接相互作用し、Dnmt1 の触媒領域を覆っている RFTS を除去して、DNA が触媒中心にアクセスしやすくさせていることを明らかにした。また、RFTS 領域と触媒領域の水素結合に関わるアミノ酸残基に変異を入れた組換え Dnmt1 の DNA メチル化活性を測定し、この水素結合が RFTS を触媒ポケットに繋ぎとめるうえで重要であることを示した。さらに、ヘミメチル DNA に結合した SRA 領域は RFTS と相互作用することで DNA を遊離することを明らかにした(業績)。

(2) *Dnmt1* ないし *Np95* 遺伝子、あるいは、両遺伝子をノックアウトしたマウス胚性幹細胞

に Dnmt1 の変異体を発現させ、細胞内でのゲノム維持メチル化活性を解析した。内在的な *Dnmt1* を薬剤で欠失させることができるように細工した胚性幹細胞に、N 末端側から順次欠失させた Dnmt1 変異体を発現させ、N 末端領域、特に RFTS の維持メチル化に果たす役割を解析した。その結果、細胞内での維持メチル化には N 末端に存在する PCNA 結合ドメインは必要ないこと、RFTS が維持メチル化に必要不可欠であることを明らかにした。さらに、RFTS は触媒ポケットに嵌まりこむことによって、複製期以外の時期にゲノムをメチル化しないようにしている、安全弁の役割を果たしていることを明らかにした(業績)。

(3) Dnmt1 が複製フォークや修復直後に出現するヘミメチル DNA を、ヌクレオソームが再構築される前後いずれの時期にメチル化しているのかを解析するための手始めとして、ヘミメチル DNA からヌクレオソームを再構成して Dnmt1 による維持メチル化活性を解析した。Dnmt1 は Dnmt3a が示したのと同様、裸の DNA 領域であるリンカーは効率良くメチル化するが、ヌクレオソームのコア領域の DNA はほとんどメチル化できないことが明らかになった。このことは、Dnmt1 は複製が進行したあと、裸のヘミメチル DNA 状態の時に維持メチル化していることを示している(学会発表、2015)。

(4) ゲノムのメチルシトシンはオキシゲナーゼである TET によりヒドロキシル化修飾を受けるが、この修飾は能動的な脱メチル化の中間体であることが報告されている。胚性幹細胞ではヒドロキシルメチルシトシン含量が一般の体細胞に比べて高いが、これは新規型メチル基転移酵素 Dnmt3a と Dnmt3b によりメチル化されたシトシンが選択的に標的となってヒドロキシル化修飾を受けていることによる。ヒドロキシル化されたシトシンは、複製過程で Dnmt1 と Np95 の SRA 領域により認識されないことにより消去されることを明らかにした。胚性幹細胞では、メチルシトシンのヒドロキシル化とそれに続く塩基除去修復という能動的な脱メチル化機構に必ずしも依存しないで、複製を経ることで、ヒドロキシル化修飾を受けたメチルシトシンは受動的に脱メチル化されている(業績)。

(5) RFTS と触媒領域表面が接触する部位の変異により遺伝性の知覚神経疾患症例が報告されている。この疾患の発症機構を理解するために、マウス Dnmt1 に対応するアミノ酸残基、A560V、G595A、あるいは V596F に変異を入れた Dnmt1 を胚性幹細胞に発現させ、疾患と関係の深い小脳プルキンエ細胞に分化させたところ、変異 Dnmt1 を発現しているプルキンエ細胞は有意にアポトーシスが誘導された。RFTS と触媒ポケットの相互作用は疾患に関連

した細胞の分化と安定性に重要であると推察される(学会発表、2014)。

5. 主な発表論文等

(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9件)

Georgia R. Kafer, Xuan Li, Takuro Horii, Isao Suetake, Shoji Tajima, Izuho Hatada, and Peter M. Carlton. 5-hydroxy-methylcytosine marks sites of DNA damage and promotes genome stability. *Cell Reports* **14**, 1283-1292, 2016. doi: 10.1016/j.celrep.2016.01.035. 査読有

Seketsu Fukuzawa, Kazuo Tachibana, Shoji Tajima, Isao Suetake. Selective oxidation of 5-hydroxymethylcytosine with micelle incarcerated oxidants to determine it at single base resolution. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **25**, 5667-5671, 2015. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.11.017. 査読有

Saori Takahashi, Isao Suetake, Jan Engelhardt, Shoji Tajima. A novel method to analyze 5-hydroxymethylcytosine in the CpG sequence using maintenance DNA methyltransferase DNMT1. *FEBS Open Bio* **5**, 741-747, 2015. doi: 10.1016/j.fob.2015.09.003. 査読有

Yuichi Mishima, Chanika Jayasinghe, Kai Lu, Junji Otani, Masahiro Shirakawa, Toru Kawakami, Hironobu Kimura, Hironobu Hojo, Peter Carlton, Shoji Tajima, Isao Suetake. Nucleosome compaction facilitates HP1 binding to methylated H3K9. *Nucl. Acids Res.* **43**, 10200-10212, 2015. doi: 10.1093/nar/gkv841. 査読有

Ronald Garingalao Garvilles, Takashi Hasegawa, Hironobu Kimura, Jafar Sharif, Masahiro Muto, Haruhiko Koseki, Saori Takahashi, Isao Suetake, Shoji Tajima. Dual functions of the RFTS domain of Dnmt1 in replication-coupled DNA methylation and in protection of the genome from aberrant methylation. *PLoS ONE* **10**, e0137509, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0137509. 査読有

Ryota Mizushima, Ju Yaen Kim, Isao Suetake, Hiroaki Tanaka, Tomoyo Takai, Narutoshi Kamiya, Yu Takano, Yuichi Mishima, Shoji Tajima, Yuji Goto, Kenji Fukui, Young-Ho Lee. NMR characterization of the interaction of the endonuclease

domain of MutL with divalent metal ions and ATP. *PLoS ONE* **9**, e98554, 2014. 査読有

Yuuki Obata, Yukihiko Furusawa, Takaho A Endo, Jafar Sharif, Daisuke Takahashi, Koji Atarashi, Manabu Nakayama, Satoshi Onawa, Yumiko Fujimura, Masumi Takahashi, Tomokatsu Ikawa, Takeshi Otsubo, Yuki I Kawamura, Taeko Dohi, Shoji Tajima, Hiroshi Masumoto, Osamu Ohara, Kenya Honda, Shohei Hori, Hiroshi Ohno, Haruhiko Koseki, Koji Hase. The epigenetic regulator Uhrf1 facilitates functional expansion of colonic regulatory T cells. *Nat. Immun.* **15**, 571-579, 2014. doi: 10.1038/ni.2886. 査読有

Ahmet Can Berkyurek, Isao Suetake, Kyohei Arita, Kohei Takeshita, Atsushi Nakagawa, Masahiro Shirakawa, Shoji Tajima. The DNA methyltransferase Dnmt1 directly interacts with the SET and RING finger associated (SRA) domain of the multifunctional protein Uhrf1 to facilitate accession of the catalytic center to hemi-methylated DNA. *J. Biol. Chem.* **289**, 379-386, 2014. doi: 10.1074/jbc.M113.523209. 査読有

Junji Otani, Hironobu Kimura, Jafar Sharif, Takaho A. Endo, Yuichi Mishima, Toru Kawakami, Haruhiko Koseki, Masahiro Shirakawa, Isao Suetake, Shoji Tajima. Cell cycle-dependent turnover of 5-hydroxymethylcytosine in mouse embryonic stem cells. *PLoS ONE* **8**, e82961, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0082961. 査読有

[学会発表](計36件)

田嶋 正二、エピジェネティクスと生化学。第10回日本エピジェネティクス研究会年会、2016年5月19日20日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)(招待)

首浦 武作志他、マウス ES 細胞の分化開始を制御する Dnmt1 の重要な役割。第10回日本エピジェネティクス研究会年会、2016年5月19日20日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)

堀居 拓郎他、ES 細胞の多能性には Tet による Nr2f2 プロモーター領域の脱メチル化が必要である。第10回日本エピジェネティクス研究会年会、2016年5月19日20日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府豊中市)

金田 健作他、Dnmt1 の T1505 は W1512 を支えることにより Dnmt1 の触媒中心のメチルシトシン認識に寄与している。第10回日本

エピジェネティクス研究会年会、2016年5月19日20日 千里ライフサイエンスセンター（大阪府豊中市）

田嶋 正二他、DNA メチルトランスフェラーゼによる DNA メチル化模様の形成・維持。第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会年会、ワークショップ「POK ファミリーが司る組織分化の複雑性 - 転写抑制とクロマチン制御」、2015年12月1~4日、神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）（招待）

Georgia R, Kafer 他、5-hydroxymethylcytosine marks sites of DNA damage and is required for genome stability. 2015年12月1~4日、第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会年会、神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）

三島 優一他、維持型メチル化酵素 Dnmt1 による再構成ヌクレオソーム内のヘミメチル DNA のメチル化特性。第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会年会、2015年12月1~4日、神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）

堀居 拓郎他、Tet 遺伝子シングル、ダブルおよびトリプルノックアウト ES 細胞株の特性。第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会年会、2015年12月1~4日神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）

首浦 武作志他、マウス ES 細胞の初期分化過程での Dnmt1 による新規 DNA メチル化獲得。第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会年会、2015年12月1~4日、神戸ポートアイランド（兵庫県神戸市）

Toru Kawakami 他、Synthesis of modified histone proteins by CPE ligation using a recombinant peptide. The 7th International Peptide Symposium, December 9-11, 2015. Auditorium, Matrix Biopolis, Singapore.

Toru Kawakami 他、Synthesis of modified histone proteins by CPE ligation using a recombinant peptide. 第52回ペプチド討論会、2015年11月16日~18日、神奈川県平塚中央公民館（神奈川県平塚市）

Isao Suetake 他、Nucleosome compaction allows HP1 the H3K9 methylation binding. The 40th Naito Conference on "Epigenetics-From Histone Code to Therapeutic Strategy" September 15-18, 2015. Chatraise Gateaux Kingdom Sapporo, Hokkaido（北海道札幌市）

Yuichi Mishima 他、Nucleosome compaction allows HP1g the H3K9 methylation binding. International Symposium on Chromatin Structure, Dynamics, and Function. August 23 to 26, 2015. Awaji Yumebutai, International Conference Center（兵庫県淡路市）

金田 健作他、DNA メチル化模様が保持した状態で増幅する新規蛋白質科学的技術につながる、Dnmt1 の基質認識機構の解明。第15回蛋白質科学学会年会、2015年6月24~26日、あわぎんホール（徳島県徳島市）

Isao Suetake 他、Relative positioning of 5-hydroxymethylcytosine to 5-methylcytosine at promoters correlates with gene expression level. The 3rd Awaji International Workshop on Electron Spin Science & Technology: Biological and Materials Science Oriented Applications June 14 - 17, 2015. Awaji Yumebutai, International Conference Center（兵庫県淡路市）（招待）

三島 優一、HP1 はヒストン H3K9me3 修飾とヌクレオソームの高次構造を同時に認識している。第9回日本エピジェネティクス研究会年会、2015年5月25、26日、学術総合センターーツ橋講堂（東京都千代田区）

川上 徹他、組換えペプチドをC末端側合成ブロックとして用いたライゲーション法によるヒストン H3 の合成。第9回日本エピジェネティクス研究会年会、2015年5月25、26日、学術総合センターーツ橋講堂（東京都千代田区）

堀居 拓郎他、ES細胞の初期分化には Tet による *Nr2f2* プロモーター領域の脱メチル化が必要である。第9回日本エピジェネティクス研究会年会、2015年5月25、26日、学術総合センターーツ橋講堂（東京都千代田区）

木村 博信他、細胞周期阻害剤による 5hmC 産生機構の解明。第9回日本エピジェネティクス研究会年会、2015年5月25、26日、学術総合センターーツ橋講堂（東京都千代田区）

金田 健作他、ゲノムメチル化模様が維持する Dnmt1 の基質認識機構の解明。第9回日本エピジェネティクス研究会年会、2015年5月25、26日、学術総合センターーツ橋講堂（東京都千代田区）

②首浦 武作志他、マウスES細胞での5hmC化を介した脱メチル化後のDnmt1の役割。第37回日本分子生物学会年会、2014年11月25日~27日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

- ②高橋 沙央里他、組換え DNMT1 を用いたヒドロキシメチルシトシンの一塩基解像度の検出方法の開発。第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 25 日～27 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
- ③三島 優一他、HP1 によるヌクレオソーム構造依存的なヒストン H3K9me3 の認識機構。題 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 25 日～27 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）
- ④ Jan Engelhardt 他、The relative positioning of 5-hydroxymethylcytosine and 5-methylcytosine at promoters correlates with gene expression. Keystone Symposium Epigenomics, March 29 - April 3, Keystone Resort, Keystone, Colorado, USA.
- ⑤ Yuichi Mishima 他、Nucleosome compaction allows HP1 the H3K9 methylation binding. Keystone Symposium Epigenomics, March 29 - April 3, Keystone Resort, Keystone, Colorado, USA.
- ⑥ アーメット・キャン・ベルキュレック他、Dnmt1 (RFTS) と Uhrf1 (SRA) の相互作用により DNA は触媒中心に近づくようになる。第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会 2014 年 5 月 22～24 日、東京大学伊藤国際会館（東京都文京区）
- ⑦ ロナルド・G・ガルビレス他、遺伝性知覚神経疾患の原因となる Dnmt1 の RFTS 内の変異が DNA 維持メチルに及ぼす影響。第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会、2014 年 5 月 22～24 日、東京大学伊藤国際会館（東京都文京区）
- ⑧ 末武 勲他、組換え DNMT1 を利用したヒドロキシメチル化シトシンの 1 塩基レベルの新規解析方法の開発。第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会、2014 年 5 月 22-24 日、東京大学伊藤国際会館（東京都文京区）
- ⑨ 木村 博信、プロモーター領域でのヒドロキシメチルシトシンのメチルシトシンに対する相対位置は遺伝子発現と相関する。第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会、2014 年 5 月 22～24 日、東京大学伊藤国際会館（東京都文京区）
- ⑩ 首浦 武作志、マウス ES 細胞における 5mC と 5hmC の連続変換によるメチル化制御。第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会、2014 年 5 月 22～24 日、東京大学伊藤国際会館（東京都文京区）
- ⑪ Chiara Soldati 他、Effect of DNMT1

mutation in neuronal differentiation of neural stem cell. 第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会、2014 年 5 月 22～24 日、東京大学伊藤国際会館（東京都文京区）

⑫ ロナルド G. ガルビレス他、Dnmt1 の RFTS と触媒領域間の水素結合の DNA メチル化に果たす役割。第 7 回日本エピジェネティクス研究会年会、2013 年 5 月 30 日、31 日、奈良県新公会堂（奈良県奈良市）

⑬ アーメット・キャン・ベルキュレック他、DNA 鎖長と Np95 の SRA 領域は Dnmt1 の RFTS を触媒ポケットから除去するステップに寄与する。第 7 回日本エピジェネティクス研究会年会、2013 年 5 月 30 日、31 日、奈良県新公会堂（奈良県奈良市）

⑭ 木村 博信他、マウス ES 細胞におけるヒドロキシメチルシトシンの産生と消去。第 7 回日本エピジェネティクス研究会年会、2013 年 5 月 30 日、31 日、奈良県新公会堂（奈良県奈良市）

⑮ 岡 翔太他、ヘミメチル化 DNA によるヌクレオソーム再構成と Dnmt1 によるメチル化。第 7 回日本エピジェネティクス研究会年会、2013 年 5 月 30 日、31 日、奈良県新公会堂（奈良県奈良市）

⑯ Hironobu Kimura 他、Relative positions of 5-hydroxymethylcytosine and 5-methylcytosine at promoter correlates with the level of gene expression. International Symposium on Transcription and Metabolism, November 12, 2013. Awaji Yumebutai, International Conference Center（兵庫県淡路市）

〔図書〕(計 1 件)

Shoji Tajima, Hironobu Kimura, Isao Suetake. Establishment and maintenance of DNA methylation. *In* DNA replication, recombination, and repair, edited by Fumio Hanaoka and Kaoru Sugawara, pp 489-516, eBook, 2016, Feb, Springer Japan. doi: 10.1007/978-4-431-55873-6.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田嶋 正二 (TAJIMA SHOJI)
大阪大学・蛋白質研究所・教授
研究者番号：50132931

(2) 研究分担者

末武 勲 (SUETAKE ISAO)
大阪大学・蛋白質研究所・准教授
研究者番号：80304054