

ル化プロフィールが変化する。ゲノム全域のDNAメチル化状況を解析する方法は大きく二つ、

1) メチル化領域を検出する方法

2) 非メチル化領域を検出する方法

に区分される。それぞれ一長一短であるが、1) に属するメチル化シトシン抗体を用いた方法 (文献10) やメチル化シトシン結合タンパク質を利用した方法 (文献11) は、正常細胞とがん細胞の違いなど、大幅にDNAメチル化状況が異なる場合に適している。一方、正常細胞や非がん細胞での比較には困難を伴う。なぜなら、繰返し配列を主体とする非遺伝子領域はほとんど (ゲノム全体の70~90%) がメチル化されており、ゲノム全体で遺伝子領域の占める割合が極少ないため、正常細胞間でのメチル化情報の違いが埋もれてしまうことが考えられるからだ。

その欠点を補う方法として、2) の制限酵素を用い、非メチル化領域を増幅して検出するHELP (Hap II tiny fragment enrichment by ligation-mediated PCR) 法 (文献12) やMIAMI (microarray-based integrated analysis of methylation by isoschizomers) 法 (文献13)、および、D-REAM (T-DMR profiling with restriction-tag mediated amplification) 法 (文献14) が開発されている。HELP法やMIAMI法では、特定の制限酵素部位の解析が可能である。筆者らが開発したD-REAM法は、任意の制限酵素の組み合わせが可能であるため、解析領域の選択肢が広がる利点をもっている。DNAメチル化プロフィールのデータを基に、T-DMRのメチル化状況と遺伝子発現がよく相関することが最近明らかにされている (文献14)。

このように、マイクロアレイを基盤に、ゲノム全域のエピジェネティック情報 (エピゲノム) を調べることが可能となった。今後は、マイクロアレイに加え、メガ・シークエンシング技術を組合わせて、上記のヒストン修飾状況と重ね合わせ (図3)、膨大なエピゲノムデータベースがつけられることになる。そのための国際エピゲノムプロジェクト構想も動き出している (文献15)。

ES細胞に限らず組織特異的な遺伝子発現は、マスター遺伝子産物とみなすことができるいくつかの転写因子の組合せにより調節されている。ゲノム全域のDNAメチル化状況を解析したところ、成体の組織では、これらのマスター遺伝子、および下流の組織特異的な発現遺伝子は、組織特異的かつ協調的にメチル化制御されていることがわかった (文献14)。つまり、組織特異的な遺伝子発現プロフィールに重要な情報は、組織特異的な遺伝子発現を制御する転写因子と、それらによって制御される遺伝子のDNAメチル化情報の組合せからなる、組織特有のDNAメチル化プロフィールに

現れている。そして発生に重要な遺伝子の発現制御では、たとえば性決定に重要な因子であるSry遺伝子で示されているように、時期、部位特異的にT-DMRのメチル化が変化し、発現を制御している (文献16)。分化とは、ゲノムがこのような遺伝子発現の上流と下流が協調的に、時期、部位特異的DNAメチル化プロフィールを経て、最終的に組織特異的なプロフィールを形成していく過程と考えられる。

### 人工幹細胞評価法としての エピゲノム解析

これまでES細胞やiPS細胞、およびそれらを分化誘導させてつくられる分化細胞の評価には、おもに限られた数の転写産物の解析、または転写産物を網羅的に解析するトランスクリプトーム解析が用いられてきた。しかしこれまで示したように、転写はヒストン修飾とDNAメチル化によって制御されており、さらに主要な組織特異的な遺伝子発現プロフィールの根幹は、DNAメチル化プロフィールに現れている。

シトシンのメチル化は、正常DNAにみられる唯一の修飾であり、転写、ヒストンの修飾状況がDNAメチル化プロフィールに反映されていることを考え合わせると、DNAメチル化情報を中心として、ゲノム全域エピジェネティック情報の総体であるエピゲノム解析が、ES細胞やiPS細胞など人工幹細胞の重要な評価法となるであろう。

### 参考文献

1. K. Takahashiほか, *Cell*, 126, 663 (2006).
2. J. Nicholsほか, *Cell*, 95, 379 (1998).
3. H. Niwaほか, *Nat. Genet.*, 24, 372 (2000).
4. N. Hattoriほか, *J. Biol. Chem.*, 279, 17063 (2004).
5. N. Hattoriほか, *Genes Cells*, 12, 387 (2007).
6. K. Takahashiほか, *Cell*, 131, 861 (2007).
7. K. Shiotaほか, *Genes Cells*, 7, 961 (2002).
8. H. Sakamotoほか, *Genes Cells*, 12, 1123 (2007).
9. N. Maheraliほか, *Cell Stem Cell*, 1, 55 (2007).
10. T. A. Downほか, *Nat. Biotechnol.*, 26, 779 (2008).
11. E. Ballestarほか, *EMBO J.*, 22, 6335 (2003).
12. B. Khulanほか, *Genome Res.*, 16, 1046 (2006).
13. I. Hatadaほか, *Oncogene*, 25, 3059 (2006).
14. S. Yagiほか, *Genome Res.*, in Press (2008).
15. American Association for Cancer Research Human Epigenome Task Force ; European Union, Network of Excellence, Scientific Advisory Board, *Nature* (London), 454, 711 (2008).
16. K. Nishinoほか, *J. Biol. Chem.*, 279, 22306 (2004).

