

平成25年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 特別研究員奨励費 4. 研究期間 平成25年度～平成27年度

5. 課題番号

2	5	・	9	8	7	0
---	---	---	---	---	---	---

6. 研究課題名 大脳皮質形成を制御するDNAメチル化酵素DNMT1の新規作用機序の解明

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
	ノグチ 野口 浩史	バイオサイエンス研究科	特別研究員 (DC2)

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

これまでの成果から、大脳皮質形成過程において維持型DNAメチル化酵素DNMT1が胎生後期神経幹細胞のニューロン分化を抑制し、未分化性の維持に重要な役割を担っていることが得られている。そこで本年度は、DNMT1がどのようにしてニューロン分化を抑制するのか、その分子メカニズム解明に必要となる2つの網羅的解析を行った。

1、DNMT1の標的遺伝子の探索

胎生後期神経幹細胞においてDNMT1によって発現が制御されている遺伝子を明らかにするために、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行った。胎生中期及び胎生後期神経幹細胞にDNMT1のノックダウンを誘導し、これにより発現が著しく変化する遺伝子の探索を行った。その結果、胎生中期神経幹細胞においてDNMT1は、胎生後期に発現が開始する遺伝子の発現を抑制しており、一方、胎生後期神経幹細胞では、ニューロン産生期である胎生中期において発現が観察される遺伝子の発現を抑制していることが明らかになった。これは、DNMT1が各胎生期で異なる遺伝子の発現を調節していることを示しており、胎生中期に高発現するニューロン分化誘導因子の発現調節を介してDNMT1は胎生後期神経幹細胞のニューロン分化を調節していると考えられる。

2、DNMT1の相互作用因子の探索

DNMT1のDNAメチル化非依存的な作用は、他の転写因子や、転写抑制因子との相互作用によってもたらされる。そこで、質量分析装置を用いて胎生後期神経幹細胞におけるDNMT1の相互作用因子の同定を試みた。その結果、ニューロン分化抑制作用を有する転写抑制因子REST (NRSF) や、Sal11を含む122個のタンパク質が同定された。DNMT1はこれらの因子と複合体を形成することにより、胎生後期神経幹細胞のニューロン分化を抑制していると考えられる。

10. キーワード

- (1) 神経幹細胞 (2) エピジェネティクス (3) DNAメチル化酵素 (4) 大脳皮質形成
 (5) (6) (7)

(注)・印刷に当たっては、A4判（縦長）・両面印刷し、左端を糊付けすること。

(8)

11. 現在までの達成度

下欄には、交付申請書に記載した「研究の目的」の達成度について、以下の区分により自己点検による評価を行い、その理由を簡潔に記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。
<区分>①当初の計画以上に進展している。 ②おおむね順調に進展している。 ③やや遅れている。 ④遅れている。

(区分) ②
(理由) 昨年度は、マイクロアレイによる遺伝子発現解析及び、質量分析装置を用いた DNMT1 の相互作用因子の探索を計画していた。研究実施計画の予定通り、2 つの網羅的解析を実行でき、また次の解析に進める十分な成果が得られた。

12. 今後の研究の推進方策

本研究課題の今後の推進方策について簡潔に記述すること。研究計画の変更あるいは研究を遂行する上での問題点があれば、その対応策なども記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

今後も研究実施計画に従い、DNMT1 どのような分子メカニズムで胎生後期神経幹細胞のニューロン分化を抑制しているのかを明らかにしていく。昨年度より、DNMT1 により発現が制御されている遺伝子、及び DNMT1 と相互作用している遺伝子が同定できた。本年度は、クロマチン免疫沈降法により DNMT1 の標的遺伝子の同定とともに、DNMT1 と協調して標的遺伝子の発現を制御する相互作用因子の同定を目指す。
--

13. 研究発表（平成25年度の研究成果）

※ 「13. 研究発表」欄及び「14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況」欄において記入欄が不足する場合には、適宜記入欄を挿入し、それによりページ数が増加した場合は、左端を糊付けすること。

〔雑誌論文〕 計 (0) 件 うち査読付論文 計 (0) 件

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					

著者名	論文標題				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
掲載論文の DOI (デジタルオブジェクト識別子)					

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷し、左端を糊付けすること。

【学会発表】計(3)件 うち招待講演 計(0)件

発表者名	発表標題		
○野口浩史、波平昌一、佐野坂司、辻村啓太、深尾洋一郎、五十嵐勝秀、木村文香、上坂将弘、中島欽一	神経幹細胞におけるDNAメチル化酵素DNMT1の機能解析		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第七回エピジェネティクス研究会年会	2013年5月30日	奈良県新公会堂	

発表者名	発表標題		
○NOGUCHI H, NAMIHIRA M, SANOSAKA T, TSUJIMURA K, FUKAO Y, IGARASHI K, KIMURA A and NAKASHIMA K	Maintenance DNA methyltransferase DNMT1 controls neuronal differentiation of late-gestational neural stem cells		
学会等名	発表年月日	発表場所	
Neuroscience meeting 2013	2013年11月10日	San Diego, USA	

発表者名	発表標題		
NOGUCHI H, KIMURA A, NAMIHIRA M, NAKASHIMA K	DNA methyltransferase 1 regulates the development of dentate gyrus in the hippocampus		
学会等名	発表年月日	発表場所	
第七回神経発生討論会	2014年3月14日	大阪大学	

【図書】計(2)件

著者名	出版社			
木村文香、野口浩史、中島欽一	羊土社			
書名		発行年	総ページ数	
エピジェネティクス キーワード辞典		2014	315 (152-159)	

著者名	出版社			
村尾直哉、野口浩史、中島欽一	南山堂			
書名		発行年	総ページ数	
幹細胞研究と再生医療		2014	238 (159-169)	

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出願】計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

【取得】計(0)件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
				出願年月日	

15. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--

(注)・印刷に当たっては、A4判(縦長)・両面印刷し、左端を糊付けすること。