

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		ニューロンの成熟・発達における DNA メチル化酵素の機能解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Functional analysis of DNA-methyltransferase in mammalian developmental neurons			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) ナミヒラ	名) マサカズ	研究期間 B	2010 ~ 2011 年
	漢字 CB	波平	昌一	報告年度 YR	2012 年
	ローマ字 CZ	Namihira	Masakazu	研究機関名	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科
研究代表者 CD 所属機関・職名		奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科分子神経分化制御学講座・助教			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>哺乳類の遺伝子情報発現を調節するゲノム DNA のメチル化は、DNA メチル化酵素(DNMT)群によって制御されている。維持型 DNA メチル化酵素 DNMT1 は、細胞分裂時の DNA メチル化パターンの維持に必須であるが、既に分裂を終えた神経細胞(ニューロン)においてもその発現が観察される。ところが、ニューロンにおける DNMT1 の役割については全く明らかにされていない。そこで私は、ニューロンにおける DNMT1 の機能を解明することを目的とし、研究を開始した。</p> <p>まず、shRNA の発現による Dnmt1 のノックダウンを誘導し、ニューロンの形態的变化の有無を観察した。その結果、DNMT1 をノックダウンしたニューロンでは、コントロールと比較すると、軸索がより伸長する傾向にあることがわかった。一方で、DNMT1 の過剰発現したニューロンにおいては、軸索伸長が抑えられる傾向にあった。また、メチル化活性を持たない変異型 DNMT1 を過剰発現させたニューロンにおいても、同様の軸索伸長の抑制効果が観られた。これらにより、DNMT1 はメチル化活性非依存的に、ニューロン軸索伸長を制御する機能を持つ可能性が示唆された。次に、DNMT1 のノックダウンを誘導したニューロンから培養上清を回収し、野生型ニューロンに添加する実験をおこなった。コントロールと比べ、DNMT1 欠損ニューロン由来の培養上清を用いた培養においては、軸索伸長がより促進されたことから、DNMT1 欠損ニューロンにおける軸索伸長の促進は、ニューロンが培養液中に産生する細胞外因子によるものであることを示唆した。</p> <p>ニューロンの軸索伸長には、NGF 等の神経栄養因子の発現や、それらの受容体であるチロシンリン酸化受容体群(Trk ファミリー)の活性化が重要である。そこで、DNMT1 欠損ニューロンにおけるそれらの因子の発現をマイクロアレイにて検討した。その結果、野生型ニューロンに比べ、DNMT1 欠損ニューロンにおいては Trk ファミリーの活性化に関与する遺伝子の発現上昇が観察された。さらに、それらの受容体の活性化をリン酸化アレイにて検討したところ、DNMT1 をノックダウンしたニューロンでは、TrkB、TrkC が活性化していることがわかった。これらの結果は、DNMT1 がそれらの受容体の活性化調節を介して軸索伸長を制御することを示唆している。現在、DNMT1 の欠損に伴う TrkB と TrkC 活性化の機構について、詳細に解析している。</p>					
キーワード FA	DNA メチル化	DNA メチル化酵素	神経発達	ニューロン	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

Maintenance methyltransferase, DNA methyltransferase 1 (DNMT1) is one of the enzymes catalyzing DNA methylation, and is essential to maintain the methylation pattern on newly synthesized genomic DNA in proliferating cells. Although neurons are postmitotic cells, which completely have exited cell cycle, the expression of DNMT1 is observed in the cells. However, the function of DNMT1 in postmitotic neurons is unclear. To address this issue, we deleted Dnmt1 gene in neurons and examined the resultant phenotype in vitro. We found that the axonal elongation of DNMT1 deficient cortical neurons tend to be promoted compared to that of wild-type neurons, suggesting that DNMT1 regulates neurite outgrowth during neuronal maturation. Furthermore, the genome-wide gene expression profiling showed that up-regulated genes in DNMT1 deficient neurons exhibited the overrepresentation of neurotrophic factors, Ntf3 and Ntf5, and some genes involved in the nervous system development and neurological system processes. In addition, we found that the tyrosine-phosphorylation of neurotrophin receptors, such as TrkB and TrkC, in DNMT1 deficient neurons was induced in phosphorylation array analysis. Thus, these results suggest that DNMT1 plays an important role in cortical development through the regulation of neurite outgrowth mediated by neurotrophic factor signaling. Further analysis of the DNMT1 function in post-mitotic neurons is currently underway.