

# エピジェネティクス はじめの一歩

## 三毛猫にメスがが多いのは、なぜ？

いきなり質問から始まりましたが、この話題は遺伝の仕組みを説明する際によく取り上げられる例なので、少し遺伝学の知識をお持ちの方なら答えはご存じのことと思います。猫には毛の色を茶または黒にする遺伝子があり、この遺伝子は X 染色体上に対立遺伝子として存在しています。オスの性染色体は XY の組合せなので茶または黒のどちらか一色になりますが、メスの性染色体は XX ですので茶と黒の両方の遺伝子を持つことがあり、この場合、茶と黒の 2 色となります。しかし、ここで新たな疑問が湧いてきませんか？

## 三毛猫らしい茶と黒のモザイク柄になるのは、なぜ？

茶と黒の遺伝子が共存するなら、両方の色を混ぜ合わせたこげ茶の猫になりそうなものですが……。実は、この現象に深く関わっているのが、X 染色体不活化というエピジェネティックな現象です。哺乳類のメスではオスに比べて X 染色体が 2 倍量存在するので、その量を調節するために片方が不活化されます。この X 染色体不活化は発生の初期に起こり、2 本の X 染色体の内、どちらが不活化されるかはランダムに決まります。一旦不活化されるとその状態は細胞分裂を通じて維持されていきますので、先ほどの三毛猫の例に戻ると、茶の遺伝子を持つ X 染色体が不活化された部分は黒に、逆に黒の遺伝子を持つ X 染色体が不活化された部分は茶になり、モザイク柄が出来上がります。

エピジェネティクスは、三毛猫のような身近な例から癌などの疾患まで、実にさまざまな生命現象に関わっています。ここでは、その基本的な仕組みとエピジェネティックな現象のいくつかを最近の知見も織り交ぜてご紹介します。どうぞエピジェネティクスの多様な世界をお楽しみください。

2011 年 6 月

## 目次

### <エピジェネティクスの仕組み>

- 1 エピジェネティクスとは？
- 2 エピジェネティック修飾の3本柱  
DNAメチル化  
ヒストン修飾 –複雑な暗号“ヒストンコード”–  
ヌクレオソームとクロマチン –より高次元の制御–
- 3 エピジェネティック修飾の読み書き  
DNAメチル化酵素  
ヒストン修飾酵素  
クロマチン結合タンパク質
- 4 エピジェネティック修飾因子の広がる輪 –最近の知見から–  
5hmC (5-hydroxymethylcytosine)  
lncRNA (Long non-coding RNA)
- 5 エピジェネティクス制御機構の全体像

### <エピジェネティクスと生命現象>

- 疾患との関わり
- 癌とエピジェネティクス

## <エピジェネティクスの仕組み>

### 1 エピジェネティクスとは？

エピジェネティクスは「DNA 配列の変化を伴わず、後天的な修飾により遺伝子発現が制御され維持される仕組み」を表す用語で、その研究分野を指すこともあります。また、エピジェネティクスの機構には DNA メチル化やヒストン修飾が関わっており、このような修飾を受けたゲノムは「エピゲノム」と呼ばれます。

私たちヒトは 1 個の受精卵から始まり、細胞分裂を経てさまざまな組織や器官が分化していきます。その際、基本的にゲノムの DNA 配列には変化が生じませんが、エピゲノムは組織や細胞の種類によって異なっています。このことから、エピゲノムの変化は、組織特異的な遺伝子発現に重要な役割を担っているのではないかと考えられています。現在、エピゲノムの解読は、発生分化に伴う転写制御機構の理解の他、疾患に伴うエピゲノム異常の発見のためにもその重要性が高まりつつあります。

### 2 エピジェネティック修飾の 3 本柱

エピジェネティック修飾の中で最も代表的なものは DNA メチル化とヒストン修飾です。また、これらの修飾はヌクレオソームやクロマチンの形成にも影響を及ぼし、より高次のエピジェネティックな制御に関与しています。

#### DNA メチル化

動物のゲノム DNA では 3'-CG-5'の並び (CpG 配列) のシトシンがメチル化修飾を受けます。CpG 配列は、多くのゲノム DNA 領域では散在的に存在しますが、例外的に遺伝子の転写開始点上流には高頻度に存在する領域があり、CpG アイランドと呼ばれています。CpG アイランドの DNA メチル化は転写活性と相関しており、ハウスキーピング遺伝子のような転写活性の高い遺伝子では低メチル化状態に、逆に転写が抑制されている遺伝子では高メチル化状態になっています。また、ゲノム DNA に多数存在するリピート配列中の CpG も高度にメチル化されており、これらはリピート配列の転移を抑制してゲノムの安定性に寄与すると考えられています。

さらに、最近では CpG が低頻度に存在する領域の DNA メチル化も重要であることが明らかになりつつあります。例えば、組織特異的に DNA メチル化状態が異なる領域の多くは“CpG island shore”と呼ばれる CpG アイランドの周辺領域に存在しており、リプログラミングに関与する DNA メチル化の約 70%もこれらの領域に存在すると報告されています。また、CpG アイランドのような転写開始点上流域ではなく、遺伝子の領域内 (“Gene body”) にも DNA メチル化が認められる場合があります、これらは遺伝子領域内からの異常な転写開始を防止する機能があると考えられています。

◇参考文献

Portela A, Esteller M.: Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;**28**(10):1057-1068.

Doi A *et al.*: Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. *Nat Genet.* 2009 Dec;**41**(12):1350-1353. Epub 2009 Nov 1.

### ヒストン修飾 —複雑な暗号“ヒストンコード”—

ヒストンはクロマチンを構成する主要なタンパク質で、H2A、H2B、H3、H4の4種がそれぞれ2分子ずつ集まり8量体を形成しています。この8量体ひとつにつき約147bpのゲノムDNAが巻き付いたものがヌクレオソームでクロマチンの最小単位です。

ヒストンのアミノ末端はヒストンテールと呼ばれ、アセチル化やメチル化などさまざまな修飾を受けます。これらの修飾の組合せは、転写活性やクロマチン動態に影響を及ぼすことが分かっており“ヒストンコード”と呼ばれています。例えば、ヒストンH3の9番目のリジンがメチル化(H3K9me)されると、HP1というタンパク質がリクルートされヘテロクロマチン化が促進されます。また、H3の27番目のリジンがメチル化(H3K27me)されると近傍の遺伝子の転写が抑制されます。逆に転写が活性化される修飾としては、アセチル化やH3の4番目のメチル化(H3K4me)などが知られています。

ヒストン修飾による転写制御の仕組みは複雑で、ヒストンのアセチル化はほぼすべて転写活性化に関与しますが、メチル化は修飾される位置によってその作用が異なり、さらにメチル化の個数(モノ、ジ、トリメチル化)によっても異なります。H3の4番目のメチル化を例にとってみると、モノメチル化(H3K4me1)はエンハンサー領域に、トリメチル化(H3K4me3)はプロモーター領域に、ジメチル化(H3K4me2)はエンハンサーとプロモーター両方の領域に、と存在領域が異なります。このように修飾の種類によりその分布も異なっており、H3の36番目のトリメチル化(H3K36me3)は転写活性の高いエクソンに存在するという特徴的な分布を示します。

また、ヒストン修飾の組合せによって作用が決まる例もあります。通常、H3K4me3は転写活性が高い領域に、H3K27me3は転写活性が低い領域に多く存在する修飾ですが、ES細胞にはこれらの相反する修飾が共存する領域が認められ、“bivalent domain”と呼ばれています。多分化能の高いES細胞では、発生分化に伴い発現ON/OFFのスイッチを迅速に切り替えるために、その必要性が高い遺伝子は“bivalent domain”により待機状態にあるということのようです。

さて、前項でご紹介したDNAメチル化も本項のヒストン修飾も両方とも転写制御に関わっています。この両者の関係はどうなっているのでしょうか？DNAメチル化とヒストン修飾は密接に関係しており、ヘテロクロマチン形成時のようにDNAメチル化をきっかけとし

てヒストンが修飾されることもありますし、逆にヒストン修飾により DNA メチル化が促進される例も知られています。一見、双方の機能は重複しているように思われますが、そこには精巧な住み分けがあると考えられており、それを表す用語が“rigid”と“plastic”です。DNA メチル化はエピジェネティック修飾を堅牢に維持するための“rigid”な修飾であり、ヒストン修飾は環境変化等に応じて素早く対応するための“plastic”な修飾で、前述の ES 細胞における“bivalent domain”はヒストン修飾の“plastic”な性質を上手く活用された例と言えるでしょう。

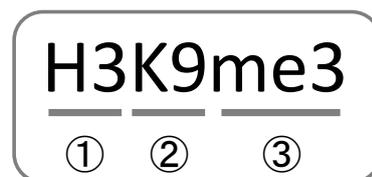
◇参考文献

Chen Z, Wang L, Wang Q, Li W.: Histone modifications and chromatin organization in prostate cancer. *Epigenomics*. 2010 Aug 1;2(4):551-560.

### TOPICS : ヒストン修飾の表記法

ヒストン修飾は多岐にわたるため、それらをコンパクトに表記する方法が定められています。例えば、H3K9me3 はヒストン H3 の 9 番目のリジンがトリメチル化されていることを表します。

- ① ヒストンタンパク質の種類 (H3、H4 など)
- ② アミノ酸の種類と位置 (K: リジン、R: アルギニンなど)
- ③ 化学修飾の種類 (ac: アセチル化、me1/2/3: モノ/ジ/トリメチル化、ph: リン酸化、ub: ユビキチン化など)



◇参考文献

Doi A *et al*.: Differential methylation of tissue- and cancer-specific CpG island shores distinguishes human induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and fibroblasts. *Nat Genet*. 2009 Dec;41(12):1350-3. Epub 2009 Nov 1.

### ヌクレオソームとクロマチン —より高次元の制御—

ヌクレオソームは、前述の通りヒストンコアにゲノム DNA が巻き付いたもので、クロマチンを構成する最小単位です。実は、ヌクレオソームはゲノム DNA 上に一定間隔に存在しているのではなく、その存在位置は転写制御やクロマチンの構造に大きく影響を及ぼします。ヌクレオソームの位置“Nucleosome Positioning”はエピジェネティック修飾の第 3 の柱と言えるでしょう。

転写が活性化されている遺伝子では、プロモーター領域にヌクレオソームが存在せず、転写開始に必要な因子が結合できるようになっています。ところが、この領域の DNA がメチル化されるとそこにヌクレオソームが形成され、基本転写因子が結合できなくなり転写が抑制されます。しかし、ヌクレオソームは転写を抑制するだけではありません。転写が活性化されている遺伝子でも、その領域内には部分的にヌクレオソームが存在しています。

タカラバイオ

エピジェネティクス実験のススメ

特にエキソンの両端（つまり、エキソンとイントロンの境界）に多く存在しており、エキソン領域を正しく認識するのに役立っていると考えられています。

さらに大きな目で見てみると、クロマチンの高次構造も転写制御に関与しています。X染色体の不活化やヘテロクロマチン化による転写抑制もその例ですし、LOCKs と呼ばれる最大 4.9 Mb にも渡る広大な領域の挙動が癌などの疾患に関わることも報告されています。

◇参考文献

Chodavarapu RK *et al.*: Relationship between nucleosome positioning and DNA methylation. *Nature*. 2010 Jul 15;466(7304):388-392. Epub 2010 May 30.

Feinberg AP: Epigenomics reveals a functional genome anatomy and a new approach to common disease. *Nat Biotechnol*. 2010 Oct;28(10):1049-1052.

### 3 エピジェネティック修飾の読み書き

DNA メチル化やヒストン修飾などのエピジェネティックな修飾は、それぞれ特定の酵素によって担われています。また、これらの修飾に特異的に結合するタンパク質が存在し、エピジェネティック修飾の読み出しが行われます。

#### DNA メチル化酵素

哺乳類には、DNMT1、DNMT3a、DNMT3b の 3 種の DNA メチル化酵素があり、DNMT1 は DNA メチル化の維持に、DNMT3a と DNMT3b は新しく DNA メチル化を入れる際に働いています。

通常、ゲノム DNA は相補的にメチル化されていますが、DNA 複製時に新生鎖には修飾のないシトシンが取り込まれますので、一時的にヘミメチル化の状態（2 本鎖の内、片方だけがメチル化された状態）になります。DNMT1 はこのヘミメチル化 CpG 配列を認識して、相補鎖である新生鎖にメチル化を入れます。こうして、ゲノムの DNA のメチル化状態は細胞分裂を通じて維持されていきます。

DNMT3a と DNMT3b の新規 DNA メチル化の例としては、受精卵の DNA メチル化パターンの確立が挙げられます。哺乳類では、受精直後に DNA メチル化レベルが大幅に低下し、その後、新しいメチル化パターンが書き込まれることが知られています。ここで活躍するのが DNMT3a と DNMT3b です。

#### ヒストン修飾酵素

ヒストン修飾は、修飾の種類（アセチル化やメチル化等）と修飾されるアミノ酸（リジンやアルギニン等）との組合せで多岐にわたりますが、それぞれの修飾を触媒する酵素が見つかっています。アセチル化酵素は複数のアミノ酸残基を修飾するのに対し、メチル化酵素やリン酸化酵素は非常に特異性が高く、特定の位置のアミノ酸残基を修飾するものが

ほとんどです。例えば、G9a は H3K9 の、EZH2 は H3K27 のメチル化を触媒する酵素です。

先にも「ヒストン修飾」の項で触れましたが、ヒストンのメチル化修飾は修飾されるアミノ酸位置によって転写制御に及ぼす作用が異なるのに対し、アセチル化修飾はほぼすべてが転写活性化に作用します。ヒストンメチル化酵素は特異的で、アセチル化酵素は汎用的なのは、その作用の違いとリンクしているように見えます。なお、アセチル化がユニバーサルに転写活性化に作用するのは、アセチル化がリジンの正電荷を中和して DNA とヒストンの結合を緩めるためと考えられています。

#### ◇参考文献

Kouzarides T.: Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007 Feb 23;**128**(4):693-705. Review. The role of chromatin during transcription.

Li B, Carey M, Workman JL.: The role of chromatin during transcription. *Cell*. 2007 Feb 23;**128**(4):707-719. Review.

### クロマチン結合因子

メチル化された DNA や修飾されたヒストンには特定のタンパク質が結合して、さらに他のタンパク質をリクルートしたり、クロマチンの構造変化を引き起こしたりします。例えば、ポリコーム群 (PcG) とトライソラックス群 (Trx) は、古くからよく解析されているクロマチン結合タンパク質でホメオティック遺伝子の発現制御に関与しています。ポリコーム群 (PcG) は転写抑制を維持する役割を担っており、Polycomb Repressive Complex 2 (PRC2) に含まれる EZH2 による H3K27 メチル化に続き、これを認識して Polycomb Repressive Complex 1 (PRC1) がリクルートされ、PRC1 に含まれる RING1A/1B により H2AK119 がユビキチン化され転写が抑制されます。逆に、トライソラックス群 (Trx) は H3K4 や H3K36 メチル化による転写活性化の働きがあり、PcG と競合的な関係にあります。

ヒストン修飾に結合するタンパク質の他に、インスレーター配列を認識して結合する CTCF (CCCTC-binding factor) のようなタンパク質も存在し、さまざまな因子が複雑に相互作用してクロマチンの構造を制御しています。

## 4 エピジェネティック修飾因子の広がる輪 —最近の知見から—

ここまで、DNA メチル化とヒストン修飾を中心に見てきましたが、最近では、その他にもエピジェネティック制御に関わる重要な因子が発見されています。ここでは、その中から 5hmC と lncRNA についてご紹介します。

### 5hmC (5-hydroxymethylcytosine)

5hmC は、最近発見された修飾でその重要性を示す報告が相次ぎ、注目を集めています。

5hmC は、通常メチル化 DNA である 5mC (5-methylcytosine) に OH 基が付加されたものです。このわずかな違いにより、メチル化 DNA 結合ドメイン (MBD: methyl binding domain) は 5hmC を認識できなくなり、5hmC は非メチル化 DNA と同じように作用すると推測されています。また、5hmC が非分裂組織である脳や神経に多いことと考え合わせて、非分裂組織で DNA 脱メチル化の代わりに利用されているとの説や、DNA メチル化維持酵素である DNMT1 が 5hmC を認識しないため受動的な DNA 脱メチル化につながるなどの説があります。

5mC と 5hmC は構造的によく似ているため、これらを区別して解析するには工夫を要します。5hmC の発見以来、続々と新しい解析法が報告されていますが、5hmC の詳細な解析にはさらに特異性が高く高感度な解析法が求められています。

#### ◇参考文献

Kriaucionis S, Heintz N.: The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain. *Science*. 2009 May 15;324(5929):929-930. Epub 2009 Apr 16.

Tahiliani M *et al.*: Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science*. 2009 May 15;324(5929):930-935. Epub 2009 Apr 16.

### lncRNA (Long non-coding RNA)

近年、高速シーケンサーの登場により、細胞内で発現している RNA を網羅的に解析することが可能となり、その結果、驚くことにその大半を non-coding RNA (ncRNA) が占めていることが明らかになりました。現在、これまでジャンクと思われていた ncRNA の生物学的意義について注目が集まっています。

lncRNA は、200 bp 程度から大きいものでは 10 kbp を超える長鎖の ncRNA です。ゲノム構造は、イントロンを含むマルチエキソンのものもありますが、半数近くがシングルエキソンで、RNA Polymerase II により転写されます。また、その配列は進化的に保存されており、発分化や免疫系など広範な生命現象に関与していることが明らかになりつつあります。

よく知られている lncRNA には、X 染色体の不活化に関与する Xist、PRC2 と相互作用して HOXD クラスターの遺伝子の発現を抑制する HOTAIR、G9a と相互作用しインプリンティング遺伝子のアレル特異的サイレンシングに関与する Air 等があります。植物においても、COLDAIR という lncRNA が PRC2 を介して花芽形成に関与する FLC 遺伝子の転写を抑制するとの報告があり、lncRNA による転写抑制は動物と植物に共通のメカニズムのようです。一方で、少数ながら転写の活性化に関与する lncRNA も報告されています。

lncRNA の作用機序も多種多様で、前述のように PRC2 等をゲノムの特定領域にリクルートする他、逆にゲノムに結合しているタンパク質が lncRNA に乗り移り “displace” されるケースもあります。また、変わった例では、HOTAIR は 3' 端に PRC2、5' 端に LSD1

を結合し両者を橋渡ししています。以前からゲノム DNA 上で PRC2 と REST (LSD1 と結合) の局在が一致することは知られていましたが、そのメカニズムは不明でした。実は HOTAIR がその鍵を握っていた、ということのようです。lncRNA は、その二次構造によりタンパク質と相互作用し、DNA とは一次構造で相互作用すると考えられており、lncRNA の多様な機能は柔軟な RNA ならではの技と言えそうです。

lncRNA と生命現象との関わりについては、その他に体細胞のリプログラミングや癌の進行との関係も報告されています。このように lncRNA が多様な生命現象に関与しているのは、turnover が速く迅速かつ精密な環境応答に適しているためではないか、と推測されています。また、その制御機構は直接的かつ特異的なので、将来的には治療への応用も期待されています。

#### ◇参考文献

Ørom UA *et al.*: Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*. 2010 Oct 1;143(1):46-58.

Tsai MC *et al.*: Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science*. 2010 Aug 6;329(5992):689-693. Epub 2010 Jul 8.

Huarte M, Rinn JL.: Large non-coding RNAs: missing links in cancer? *Hum Mol Genet*. 2010 Oct 15;19(R2):R152-61. Epub 2010 Aug 20.

Loewer S *et al.*: Large intergenic non-coding RNA-RoR modulates reprogramming of human induced pluripotent stem cells. *Nat Genet*. 2010 Dec;42(12):1113-1117. Epub 2010 Nov 7.

Heo JB, Sung S.: Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science*. 2011 Jan 7;331(6013):76-79. Epub 2010 Dec 2.

Ponting CP, Oliver PL, Reik W.: Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell*. 2009 Feb 20;136(4):629-641. Review.

## 5 エピジェネティクス制御機構の全体像

### “Epigenetics: Unfinished symphony”

ここまで、エピジェネティック制御の基本的な仕組みを見てきました。ゲノム DNA 配列の上にさまざまな修飾を施して、遺伝子発現を柔軟かつ精密にコントロールする仕組みは、2006 年の Nature 誌で “Epigenetics: Unfinished symphony” として紹介されました。現在、世界中でエピゲノムプロジェクトが進行しています。近い未来にこの交響曲が完成し、エピジェネティクス制御の全貌が明らかになることを期待したいと思います。

## <エピジェネティクスと生命現象>

### 疾患との関わり

エピジェネティクスはさまざまな生命現象と深く関わっていますので、その異常は癌を始めとしたさまざまな疾患の原因となります。また、エピジェネティクス機構そのものの異常も深刻な疾患につながり、例えば、レット症候群の原因遺伝子はメチル化 DNA 結合タンパク質の一種である MeCP2 であることが知られています。また、その他の神経疾患や自己免疫疾患についてもエピジェネティクス異常が多数見つかっています。

現在、これらのエピジェネティクス修飾の異常は、診断マーカーとしての応用が模索されています。また、ゲノム DNA の変異とは異なり、エピジェネティックな修飾は後天的で可逆的でもあるため、治療のターゲットとして有望視されており、実際に DNA メチル化阻害剤やヒストン脱アセチル化阻害剤の臨床試験が行われています。

### 癌とエピジェネティクス

癌細胞に特徴的なエピジェネティクス異常は、全体的な DNA 低メチル化と特定の CpG アイランドの高メチル化です。前者は染色体の不安定化を引き起こし、後者は癌抑制遺伝子の発現低下の原因になると考えられています。また、最近では、DNA メチル化異常の他に、H4K16ac と H4K20me3 の低下といったヒストン修飾の異常や PRC1 に含まれる BMI1 と PRC2 に含まれる EZH2 の発現上昇が認められており、これらはいずれも転写抑制につながる変化です。

癌細胞における CpG アイランドの DNA メチル化異常は、癌の分類や進行度の判定への応用が試みられています。また、DNA メチル化異常は発癌以前の早期から発生するため、発癌リスク診断への利用も期待されています。

### ◇参考文献

実験医学増刊号 Vol.29 No.2 秒進分歩する癌研究と分子標的治療

1-5. 癌におけるエピジェネティック異常 竹島秀幸、牛島俊和

Kelly TK, De Carvalho DD, Jones PA.: Epigenetic modifications as therapeutic targets. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct 13;**28**(10):1069-1078.

Portela A, Esteller M.: Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;**28**(10):1057-1068.

### TOPICS : 生物種により異なるエピジェネティクス機構

これまで哺乳類のエピジェネティクス機構を中心にご紹介してきましたが、実は、その他の生物には少し違った仕組みを持っているものもあります。哺乳類では通常 CpG のシトシンがメチル化されますが、植物では CpG の他に CpNpG や CpNpN のシトシンもメチル化されます。また、哺乳類では重要な役割

を果たす DNA メチル化ですが、出芽酵母や線虫にはまったく DNA メチル化が存在しません。一方で、ヒストン修飾は、出芽酵母や線虫にも広く認められており、より汎用的なエピジェネティック機構のようです。

さて、話は変わりますが、獲得形質が遺伝するか？という問題は、ラマルク説の用不用説以来その真偽が議論されてきました。セントラルドグマ全盛期には、この説を否定する考えが主流でしたが、最近では、植物においてエピジェネティクス機構を介して獲得形質が遺伝するケースがあることが報告されています。一方、哺乳類では、受精直後に DNA メチル化レベルが大幅に低下し、その後、新しいメチル化パターンが書き込まれるので、世代ごとに DNA メチル化模様にはリセットがかかり、通常その状態が遺伝することはありません。この点でも哺乳類と植物のエピジェネティクス機構は大きく異なっています。動物と異なり自由に動き回ることができない植物は、環境応答にエピジェネティクス機構を利用し、さらにそれを次世代に受け継いでいく巧みな戦略を編み出したのかもしれない。

◇参考文献

エピジェネティクス入門 (佐々木裕之著、岩波科学ライブラリー)

## 最後に

これで「エピジェネティクスはじめの一歩」はおしまいです。最後にエピジェネティクス解析技術の現状について少しお話ししたいと思います。一般的な解析手法としては、DNA メチル化についてはバイサルファイト処理やメチル化 DNA を濃縮する手法等が、ヒストン修飾についてはクロマチン免疫沈降法 (ChIP) が用いられています。(これらの手法については、「エピジェネティクス実験のススメ」で詳しくご紹介していますので、どうぞご参照ください。) そして、最近ではこれらの手法と高速シーケンズとの組み合わせにより、網羅的なエピゲノム解析が可能となり、世界中で各種エピゲノムプロジェクトが進行しています。UCSC のゲノムブラウザー (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>) では、ゲノム情報に加えてエピジェネティック修飾の情報も公開されており、プロジェクトの一端を垣間見ることができます。こうした一步一步の積み重ねによりエピジェネティクスへの理解がより深まることを期待したいと思います。

### TOPICS : どの DNA メチル化解析手法でも同じ結果が得られるか？

高速シーケンサーの登場によりゲノムワイドな DNA メチル化解析の報告が相次ぐと共に、異なる解析手法間で結果の相関性があるのか？という疑問が浮上してきました。主な手法としては、①バイサルファイト処理による塩基置換と②抗体またはメチル化 DNA 結合タンパク質によるメチル化 DNA の濃縮の 2 種類が挙げられます。実際にこれらの結果を比較した文献によると双方の結果はよく相関することが分かりました。どちらの手法を用いても良いとのことで一安心ですが、それぞれに特徴があり目的に応じて上手く使い分けるのが上策です。

タカラバイオ

[エピジェネティクス実験のススメ](#)

まず、バイサルファイト処理による方法のメリットとしては、何といても 1 塩基単位の高解像度の結果が得られることが挙げられます。ただし、バイサルファイト処理後の配列はゲノムへのアライメントが難しく、多数のリードを得る必要があるため莫大なコストがかかり、あまり現実的ではありません。また、解像度が高いに越したことはないのですが、通常、ゲノムの近傍領域(～1,000 bp)では DNA メチル化状態は同じであることが多いので、必ずしも 1 塩基単位の解像度は必要ではありません。その際、有効な手法となるのがメチル化 DNA を濃縮する方法です。この方法のメリットとしては、低コストであること、(バイサルファイト処理とは異なり)元の塩基配列のまま解析可能なため SNP との相関解析も容易であること等が挙げられます。しかし、この方法にも少々癖があり、低頻度の DNA メチル化領域は濃縮されにくい傾向があるため、解析や結果の解釈には注意を要することが指摘されています。

なお、これらの手法間の比較の際に、最も信頼性の高い手法として Reference に採用されたのが Infinium HumanMethylation27 BeadChip です。この手法では、バイサルファイト処理を利用しますが、解析対象を絞ることにより高解像度かつ低コストでの解析を実現しています。さらに、現在では解析対象を 45 万個の CpG サイトに拡大した BeadChip も提供されています。タカラバイオでは、この Infinium BeadChip を用いた DNA メチル化の受託解析サービスも実施しております。

◇参考文献

Harris RA *et al.*: Comparison of sequencing-based methods to profile DNA methylation and identification of monoallelic epigenetic modifications. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;**28**(10):1097-105. Epub 2010 Sep 19.

Beck S.: Taking the measure of the methylome. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;**28**(10):1026-1028.

Bock C *et al.*: Quantitative comparison of genome-wide DNA methylation mapping technologies. *Nat Biotechnol.* 2010 Oct;**28**(10):1106-1114. Epub 2010 Sep 19.