

182 TET2が司るDNA脱メチル化メカニズムの解明	山崎 淳平
-----------------------------	-------

【目的】 DNA メチル化は、近傍遺伝子発現の低下と相関し、生物学的に重要な機構である。DNA 脱メチル化を担う酵素として TET ファミリーが同定されたが、このうち TET2 がどのようにエンハンサー領域特異的に DNA メチル化の恒常性を維持しているかは不明である。そこで、TET2 をリクルートする因子による領域特異性の存在という仮説を立て、TET2 の影響が顕著であるエンハンサー領域特異的 TET2 結合因子の同定を突破口として DNA 脱メチル化の制御メカニズムを解明し、変異による腫瘍化メカニズムおよび真の TET2 の生物学的重要性を解明することを目的とした。

【方法】 K562 への TET2 の発現導入にて TET2 結合因子群を得た。TET2 結合因子を含む沈降物を nanoLC-MS/MS 解析に供した。同定された *EWSR1*、*PAPBC1*、*PFPR36*、*ILF3* 遺伝子を K562 に発現導入した。発現導入後クロマチン免疫沈降を行い、2 つの *tet2*-DMCs 領域に対するエンリッチメントを解析した。*EWSR1* 遺伝子発現干渉を K562 用いて行い、細胞増殖能を検討した。

【結果】 K562 への TET2 過剰発現により、約 200 KDa の TET2 タンパクが検出された。可溶性タンパク質液に対し、抗 FLAG 抗体にて免疫沈降を行い nanoLC-MS/MS 解析に供したところ、*EWSR1*、*PAPBC1*、*PFPR36*、*ILF3* タンパクなどが同定された。これら候補タンパクに対するクロマチン免疫沈降を行い、*tet2*-DMCs 領域への結合を検討したところ、*EWSR1* を過剰発現させた場合に、*MTSS1* 近傍の *tet2*-DMCs 領域における *EWSR1* のエンリッチメントが認められ、*EWSR1* がこの領域に存在することが示唆された。一方、*MCCC1* 領域における *EWSR1* 結合や *GAPDH* を用いたプロモーターへの *EWSR1* の結合は認められなかった。またその他の候補タンパクを過剰発現させた場合には、*MTSS1*、*MCCC1* 領域への結合が認められなかった。*EWSR1* の発現を siRNA により発現抑制を誘導したところ、本細胞の細胞増殖の増加に顕著な変化は認められなかった。

TET2 のエンハンサーにおける特異的 DNA 脱メチル化メカニズム

