

DNA の四重らせん構造が誘起する相分離に対するエピジェネティック修飾の影響の検討

○鶴田充生¹・取井猛流¹・川内敬子¹・杉本直己^{1,2}・三好大輔¹ (1 甲南大 FIRST、
2 甲南大 FIBER)

Effect of epigenetic modification on liquid-liquid phase separation induced by DNA G-quadruplex (Graduate School of Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology (FIRST), Konan University¹, Frontier Institute for Biomolecular Engineering Research (FIBER), Konan University²) TSURUTA, Mitsuki¹; TORII, Takeru¹; KAWAUCHI, Keiko¹; SUGIMOTO, Naoki²; MIYOSHI, Daisuke¹

核酸とタンパク質の液液相分離 (LLPS: Liquid-liquid phase separation) によって形成される液滴は、セントラルドグマを重層的に制御する新たな機構として注目を集めている¹⁾。LLPS は、細胞内環境に応答して誘起されるだけでなく、タンパク質や RNA に対するエピジェネティックな化学修飾によっても制御されている。神経変性疾患の代表例である筋萎縮性側索硬化症 (ALS: Amyotrophic lateral sclerosis) の原因遺伝子上では、四重らせん構造 (G4: G-quadruplex) を形成可能であるグアニンに富んだ繰り返し配列が反復拡張されることで LLPS が誘起される。興味深いことに、反復拡張されることで、配列に含まれているシトシンは高度にメチル化修飾を受ける。これらのことからメチル化シトシンは、G4 形成配列が誘起する LLPS に対して影響を及ぼす可能性がある。そこで我々は、DNA G4 に含まれるシトシンに対するメチル化が LLPS に及ぼす効果を検討した (図 1)。

本研究では、ALS の原因遺伝子 (C9orf72) で異常伸長する繰り返し配列 (d(G₄C₂)₄) と G4 に結合するカチオンリッチなペプチドからなる LLPS モデルシステム²⁾を用いることでメチル化シトシンの影響を検討した。相分離能は、溶液の濁度測定と顕微鏡観察で評価した。シトシンに対するメチル化修飾により、RGG ペプチドとの混合溶液の濁度が減少し、顕微鏡で観測される液滴数が減少した。このことから、シトシンに対するメチル化が、LLPS を抑制することが明らかとなった。さらにメチル化シトシンを含む DNA 鎖の構造を検討した結果、メチル化シトシン数に依存して G4 のトポロジーが変化することも明らかとなった。発表では、DNA G4 構造と LLPS 能の相関について報告する。

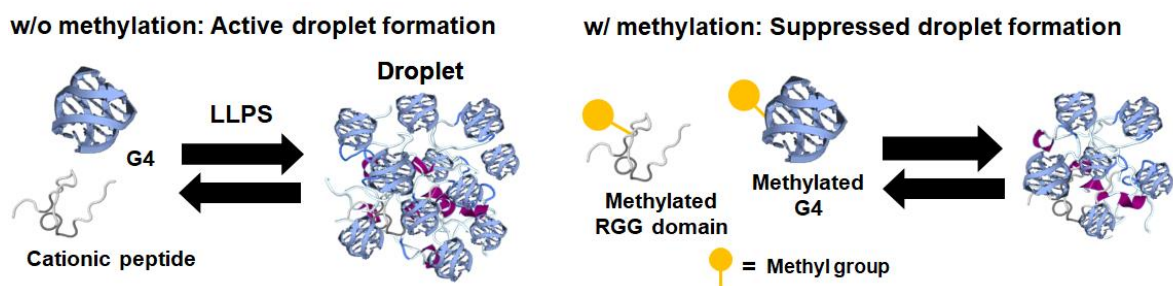


Fig. 1 Schematic illustration of effect of methylation on LLPS induced by G4 DNA and cationic peptide.

- 1) R. L. Kan *et al.*, *Trends. Genet.* **38**, 182 (2022).
- 2) M. Tsuruta *et al.*, *Chem. Commun.* **58**, 12931 (2022).