

## MCE-202 “ MultiNA ” によるDNAメチル化の解析

### Analysis of DNA Methylation with MCE-202 "MultiNA"

#### はじめに

##### Introduction

塩基配列の変化を伴わない、細胞分裂後も継承される遺伝子機能を研究する領域は、エピジェネティクスとよばれています。近年、エピジェネティクスに関する研究により、癌や多くの疾患において様々な遺伝子のエピジェネティックな異常が病態に関連していることも明らかになりつつあり、重要性が高まっています。

DNAメチル化はエピジェネティック遺伝子制御の一つであり、病態診断や再生医療に向けた胚性幹細胞（ES細胞）、あるいはiPS細胞のスクリーニングのためのバイオマーカーとしても期待されています。

ここでは、MultiNAを用いたDNAメチル化の解析例を紹介いたします。

#### 結果

##### Results

COBRA\*法による*Nanog*, *Hnf4a* 遺伝子のES細胞および脳、肝臓におけるDNAメチル化の解析結果（ゲルイメージおよびエレクトロフェログラム）をFig.1に示します。ES細胞の多能性維持に重要な*Nanog*遺伝子はES細胞で低メチル化、脳では高メチル化であり、肝臓特異的な遺伝子発現に関与する*Hnf4a*遺伝子は肝臓で低メチル化、脳では高メチル化であることが分かります。

\*Combined Bisulfite Restriction Analysis

O. Motokawa T. Inagaki

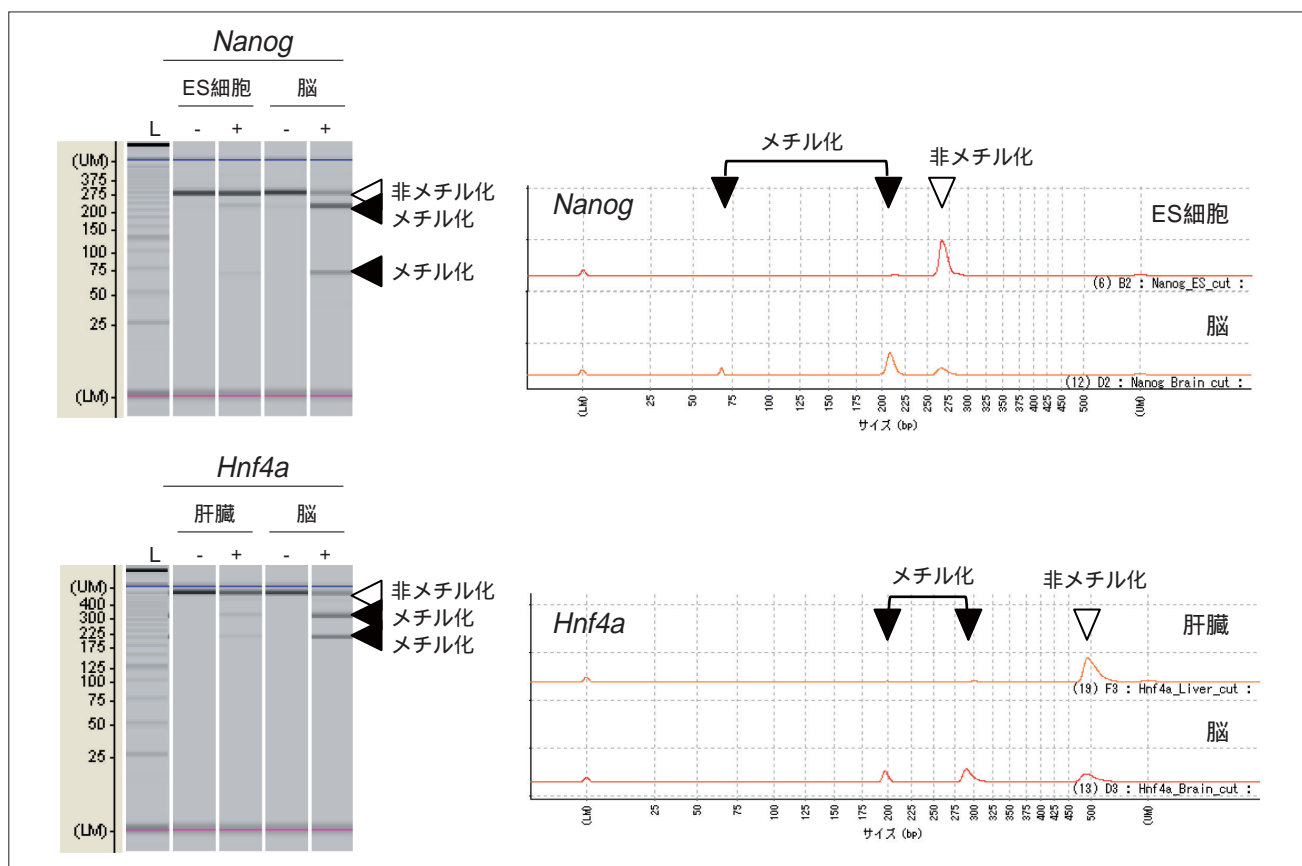


Fig.1 COBRA法による*Nanog*, *Hnf4a*遺伝子のDNAメチル化の解析結果  
DNA Methylation Analysis Data of *Nanog* and *Hnf4a* Genes by COBRA Assay  
L: ラダーマーカ, +/-: 制限酵素処理の有/無

(データご提供: 東京大学大学院農学生命科学研究科 塩田邦郎教授)

## 分析手順

Experimental Procedure

分析装置：MCE-202 "MultiNA"

分析モード：DNA-500 オンチップモード

試薬：

DNA-500 Reagent Kit for MultiNA

(島津製作所) P/N 292-27910-91

SYBR® Gold nucleic acid gel stain

(インビトロジェン) S-11494

25bp DNA ラダー

(インビトロジェン) 10597-011

## 解析手法 (COBRA法)

Analytical Method (COBRA Assay)

ゲノムDNAをBisulfite処理するとシトシンはウラシルに変換され、メチル化シトシンは変換されません。Bisulfite処理後のDNAを鋳型にPCR反応を行うと、非メチル化シトシンはチミン、メチル化シトシンはシトシンとして増幅されます。

得られたPCR産物をCpGを含む配列を認識する制限酵素で切断すると、メチル化DNAのみ切断されるので、制限酵素処理後のDNA断片のサイズを調べることで、用いた制限酵素認識部位のDNAメチル化の程度を解析することができます。

今回は3種の細胞・組織 (ES細胞および脳、肝臓) を用いて、COBRA法による2種類の遺伝子 (*Nanog*, *Hnf4a*) の転写開始点上流の配列のメチル化解析を行い、MultiNAを用いてDNA断片を解析しました。

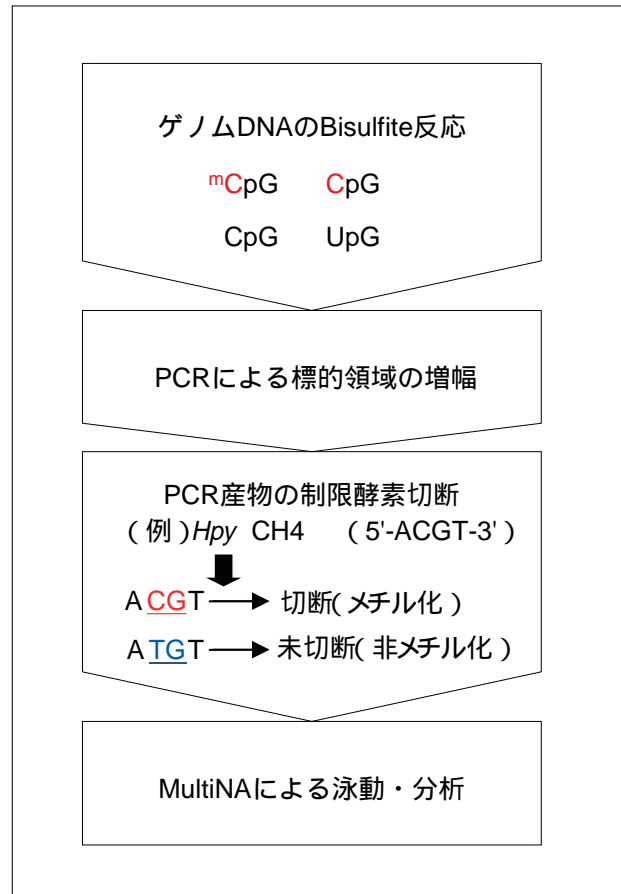


Fig.2 COBRA法によるDNAメチル化の分析手順  
Experimental Procedure of DNA Methylation by COBRA Assay

### [参考文献]

- Hattori N., et al., (2007) Epigenetic regulation of *Nanog* gene in embryonic stem and trophoblast stem cells. *Genes Cells* 3, 387-396
- Yagi S., et al. (2008) DNA methylation profile of tissue-dependent and differentially methylated regions (T-DMRs) in mouse promoter regions demonstrating tissue-specific gene expression. *Genome Res.* 18, 1969-1978

初版発行：2009年3月

 島津製作所 分析計測事業部  
応用技術部

島津分析コールセンター

- ☎ 0120-131691(携帯電話不可)
- 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>  
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。