

## 특강 4

## DNA 메틸화 Code와 발생의 Epigenetics

## - DNA 메틸화 전이효소(Dnmt1) 발현의 Epigenetics 제어 -

고 응 규

축산연구소 응용생명공학과

## 개요

DNA 메틸화는 chromatin의 remodeling에 관여하고 유전자의 silencing·안정화 등, epigenetics 조절기구로서 중요하다. 포유류의 몸을 구성하는 다양한 조직과 세포는 각각 고유의 DNA 메틸화 패턴을 형성하고 있는 것이 최근의 연구에서 밝혀지고 있다. 개체발생·세포의 분화에 DNA 메틸화가 중요한 역할을 하고 있는 것이다.

본 강연에서는 DNA 메틸화 시스템에 대하여 개설하고, DNA 메틸화 전이효소(Dnmt1) 발현의 epigenetics 제어에 대하여 설명한다. Dnmt1은 제1exon의 구분에 따라 만들어지는 3종류의 iso-form이 존재한다. 난모세포 특이적으로 발현하는 Dnmt1o, Pachytene기 정모세포 특이적인 Dnmt1p, 그리고 체세포에서 폭넓게 보이는 Dnmt1s가 있다. 본 강연에서는 이러한 Dnmt1 iso-form의 발현이 DNA 메틸화에 의해서 제어되는지 검토하기 위하여 각 iso-form 전사개시점 상류영역의 DNA 메틸화 상태를 난자·정자형성과정 및 초기배발달 과정에서 해석하였다.

## 머리말

Clone 기술이 급후 생물학의 발전과 재생의학 의로의 응용, 축산자원의 확보·개량 등 많은 분야에서 인류에 공헌 할 기술이란 것은 의심의 여지가 없다. 그러나 한편으로 clone기술이 사람 생식의료에 있어서 응용에 대해서는 윤리적인 문제가 대두되어지고 있다. 현재로서 정상으로 출생까지 이르는 clone 동물은 극히 일부이고, 태어난 clone 동물도 태어난 후 곧바로 죽거나, 여러 가지 이상을 나타내는 개체가 있는 등 많은 경우에 이상이 있는 것으로 알려져 있다. 체세포 핵이식에 따른 clone 동물 탄생은, 일부의 예외를 제외하고 포유류의 체세포가 모든 유전자 set를 계승하고 있는 것을 증명하고 있다. 한편 clone 동물에서 보이는 이상은 포유류 세포핵이 유전자 배열에 기초를 둔 모든 유전자 정보와 다른 유전정보도 보유하고 있고, 체세포 핵이식 후의 초기배 발생에서는 이 정보의 체세포형으로부터 초기배 형으로의 전환이 불완전함에 따라서 이상이 발생하는 것을 시사하고 있다. 그렇다면 이 유전정보와 다른 계놈상의 정보라는 것은 도대체 어떠한 것일까? 염기배열에 따라서 code 된 유전정보(genetic information)는 단백질이나 기능 RNA 분자 등의 주형으로서, 몸을 구성하는 모든 부품의 설계도라고 할 수 있다. 한편 개체의 유전정보는 각 조직·세포로서 언제 어떻게 사용될 것인지 지정되어져, 설계도상에 쓰인 작업수순 같은 것이 필요하다. 즉, 수정란으로부터 태아발생을 경유하여 개체가 탄생하기까지는, 각각의 세포가 분화하는 방향에 필요한 유전자의 발현을 on으로 하고, 불필요한 유전자의 발현을 off로 하는 과정을 반복하는 것이 불가결하다. 이러한 유전자 발현조절의 일부는 전사인자의 발현을 통해서 일어나지만, 전사인자 그것만의 on·off 문제나 한정된 수의 전사인자 만으로 모든 것을 조절하는 것은 불가능하기 때문에 계놈 DNA 그 자체에 각 유전자 발현에 관한 제어정보가 존재할 것으로 생각되어지고 있다. 이러한 계놈 DNA 안에 쓰인, 염기배열과 다른 유전자 기능제어 정보는 epigenetic 정보(epigenetic information)라고 불려진다. Epigenetics의 의미는 「DNA염기배열의 변화를 수반하지 않고 유사분열이나 감수분열 후에도 계승되는 유전자 기능의 변화를 연구하는 학문영역」으로 정의되어지고 있다. 이중 DNA 메틸화는 이제까지 가장 많이 연구되어지고 있는 epigenetic 분자기구의 하나이다. 시토신의 5위 탄소가 메틸화 된 메틸화 cytosine이 소 흥선 유래의 DNA로부터 발견된 것은 1948년이고, 그 후 반세기를 경과해서 계놈 DNA의 메틸화 시스템은 대장균으로부터 식물 척추동물까지 광범위한 생물 종에서 보이는 다양한 생명현상에 관계하고 있는 것이 밝혀졌고, 특히 포유류에 있어서 메틸화는 genome imprinting이나 X염색체 불활성화에서 중심적인 기능을 하고, 또 최근에는 조직특이적인 유전자의 발현에 깊게 관련하고 있는 것이 확실히 밝혀지고 있다.

## 1. DNA 메틸화에 따른 유전자 발현조절

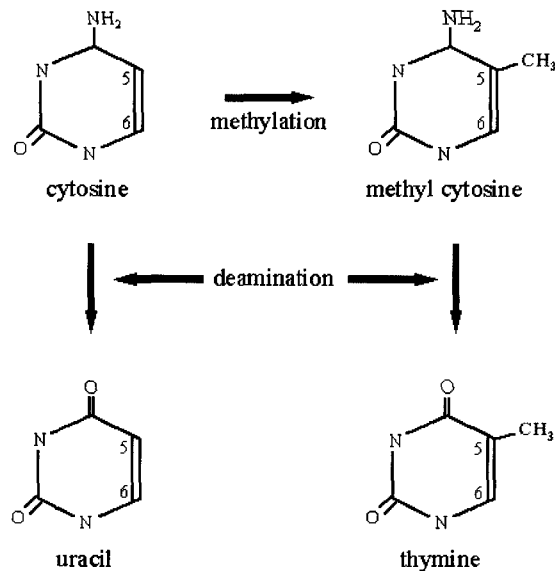


Fig. 1. Methylation of cytosine in genomic DNA.

### 1) DNA 메틸화와 DNA 메틸화 전이효소

포유류 세포에서 보이는 DNA 메틸화는 cytosine과 guanine이 연속된 배열, 5'-CG-3' 배열(CpG)을 갖는 cytosine에 한정되는 것으로 알려졌다. 최근에는 CpG 배열 이외의 5'-CNG,-3'의 cytosine도 메틸화 되어지는 non-CpG메틸화에 대해서 보고되어지고 있다(N은 어떤 염기라도 좋다). 이때 cytosine 5위의 탄소에 메틸기가 전이되어지는데 이 반응은 DNA 메틸화 전이효소(DNA methyltransferase; Dnmt)에 의해서 이루어진다(Fig. 1). 시토신의 메틸화는 세포분열에 앞서 DNA 복제 시 S기에 DNA 메틸화 전이효소에 의해서 기존의 메틸화 되어 있는 친쇄 DNA의 메틸화 cytosine을 새로운 낭쇄 DNA에 메틸화 하는 것으로 새로운 세포에 메틸화 패턴이 계승되어진다(Fig. 2). 이러한 DNA 복제 시의 DNA 메틸화는 유지메틸화 활성화라고 불려진다. 이 반응에 관련하는 포유류의 DNA 유지 메틸화 전이효소(Dnmt1)는 분자량 약 190KDa (Rat Dnmt1은 1623개 아미노산으로 구성되어 있다.)으로, N 말단 측에 활성화조절 부위를 갖고 glycine/lysine의 반복구조를 사이에 두고, C 말단 측에는 메틸기 공여체인 S-adenosyl-L-methionine과의 결합부위를 두고, C 말단 측에는 메틸기 공여체인 S-adenosyl-L-methionine과의 결합부위를 포함하는 효소활성 부위를 갖고 있다. 이러한 메틸화 유지에 관련하는 Dnmt1의 cDNA는 1988년 마우스에서 클로닝 되어졌고(Bestor 등, 1998), 그 후 사람과 Rat 등 다양한 동물에서도 보고되어지고 있다(Yen 등 1992; Kimura 등, 1998). 비메틸화 DNA를 메틸화 하는 DNA 메틸화 전이효소로서 Dnmt3a와 Dnmt3b가 1998년에 발견되었다. 흥미롭게 이러한 효소는 유지 메틸화 활성을 거의 갖고 있지 않다(Okano 등, 1998). Dnmt1은 유지 메틸화 활성이 극히 높아서 유지 메틸화 전이효소로 불려지고 있지만, *de novo* 활성화에 대해서도 Dnmt3a, Dnmt3b와 같은 정도의 활성을 나타내고 있다(Okano 등, 1998). Dnmt1과 Dnmt3b의 결손마우스 또는 Dnmt3a와 Dnmt3b를 동시에 결손시킨 마우스는 배성치사로서 배 발생에 cytosine의 메틸화가 필수임을 알 수 있다(Li 등, 1992; Okano 등, 1999). 포유류의 Dnmt에는 앞에서 서술한 이외에도 Dnmt2(Okano 등, 1998), Dnmt3L(Aapola 등, 1998)이 단리동정되어 있다. 이러한 단백질은 촉매부분의 일부가 변이 또는 결손이 있어 메틸화 전이효소로서는 기능하고 있지 않는 것으로 생각되어지고 있다. 실제로 ES세포에서 Dnmt2의 결손변이를 도입해도 유지와 *de novo* 어떠한 메틸화 활성화에 변화를 보이지 않고 세포의 생존과 변화에 영향이 없다(Okano 등 1998). 또 Dnmt3L에 대해서도 homo 결손 마우스 수컷은 정자형성 부전에 따른 생식능력의 결여, 암컷은 임신하지만 wild type 수컷과 교배해도 임신중기에는 모든 태자가 사멸하는 것이 밝혀졌다(Bourc & his 등, 2001; Hata 등, 2002). Homo 결손 암컷유래 태자에서는, imprinting 유전자의 메틸화 이상이 관찰되어지고 생식세포에서 한시적으로 발현한 Dnmt3L이 Dnmt3a와 Dnmt3b와 복합체를 형성하여 imprinting 유전자의 메틸화에 깊이 관련하는 것이 시사되고 있다(Hata 등 2002). Dnmt1에도 체세포형과 다른 exon으로부터 생식세포 특이적으로 발현하는 Dnmt1o, Dnmt1p가 존재하는 등 Dnmt1과 Dnmt3b가 상보적으로 작용하는 것이 보고되는 등(Mertineit 등, 1998) Dnmt family 분자가 복잡하게 협조해 가면서 genome DNA상의 메틸화를 형성하는 것으로

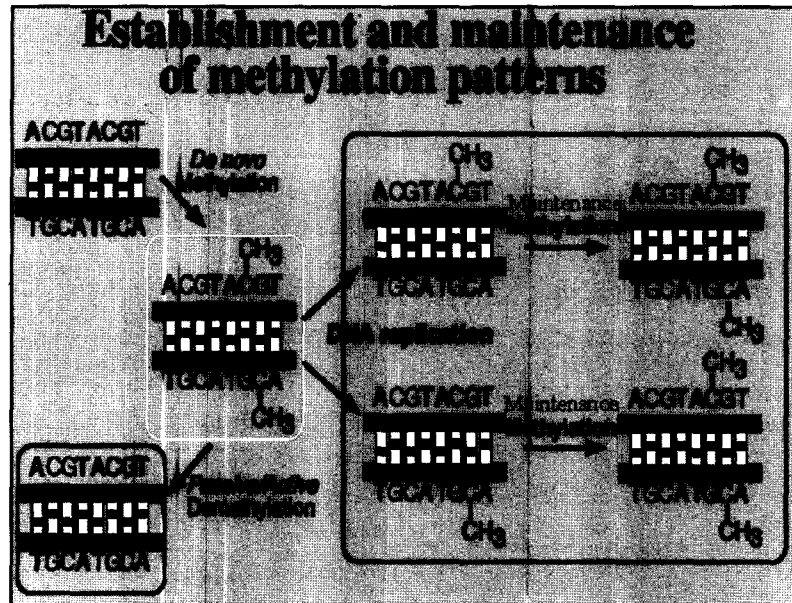


Fig. 2. Establishment and maintenance of methylation patterns.

알려져 있다(Rhee 등, 1998). 이러한 의미에서 앞에 서술한 유지형과 *de novo*형의 각 Dnmt 구별에 기초를 둔 개념은 애매하게 계속 남는다.

2) DNA 메틸화에 따른 전사조절 작용과 chromatin remodeling

Genome 상의 유전자영역 특히 promoter 일부의 cytosine이 메틸화 되어지면 많은 경우에 유전자 발현을 억제하는 것이 알려지고 있다(Bird 등, 1992). 메틸화에 따른 전사조절 기구서 메틸화 cytosine을 인식해서 결합하는 메틸 CpG 결합단백질인 MeCP2가 유전자의 제어영역에 결합해서 전사인자의 결합을 억제하는 suppressor로서 기능하고 있는 것이 보고되고 있다(Nan 등, 1997). 또 메틸화 cytosine은 MeCP2 및 Sin3와 함께 히스톤 탈아세틸화효소와의 복합체를 형성하는 것이 밝혀졌다. 게다가, MeCP2의 cloning 이전부터 메틸화 CpG 결합 활성을 갖는 단백질로서 알려져 있는 MeCP1은 그 자신이 히스톤 탈아세틸화효소를 subunit로서 갖는 복합체인 것이 밝혀져 있다(Ng 등, 1999). MeCP1 복합체나 MeCP2에 의해서 메틸화 genome 영역의 chromatin 구조가 응집해서 불활성 heterochromatin 으로서 안정화 하는 것으로 유전자의 전사가 shut off되는 것으로 생각되어지고 있다. 이 같은 cytosine메틸화와 히스톤아세틸화에 따른 chromatin 구조의 변화가 서로 독립한 현상이 아니라 양자가 서로 밀접하게 연속하면서 genome 중의 각 좌위의 유전자의 발현을 제어하고 있는 것이 밝혀지고 있는 중이다.

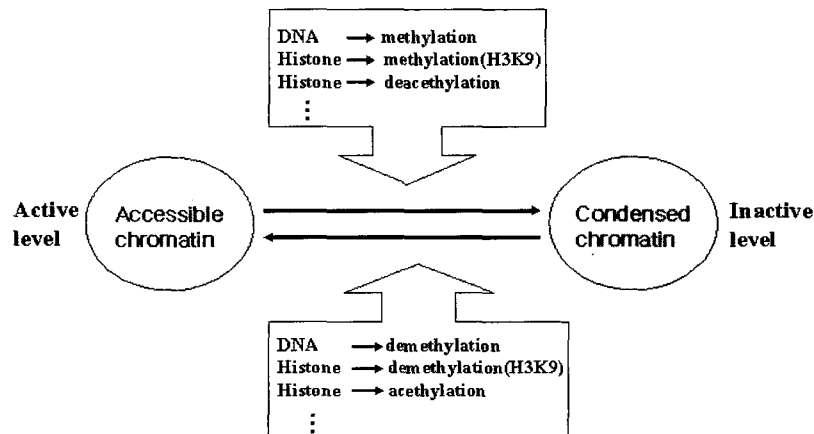


Fig. 3. DNA methylation and chromatin remodeling are the main Epigenetic mechanism for gene control.

또 최근의 보고로서 histone의 메틸화(H3K9)도 chromatin 구조변화에 관여하며, DNA의 메틸화와의 관련성도 보고되어지고 있다 (Li, 2002; Xin 등, 2003). 메틸화 패턴의 형성은 전사인자의 유무에 관계없이 유전자 발현의 스위치를 꺼진 상태로 유지하고 세포특이적인 유전자 발현패턴의 제한을 가능하게 하고 있는 것으로 생각되어지고 있다. Genome DNA의 메틸화에 따른 전사의 제어는 유전자 발현조절 기구의 최상위에 위치하게 된다 (Fig.3).

### 3) 포유류 genome 중의 CpG Island

포유류 게놈 DNA 중의 GC 함량은 40% 정도로 낮고 CpG 출현빈도는 확률적으로 기대되어지는 수치의 1/5~1/4정도밖에 존재하지 않는다. 그러나 genome상에는 CpG 배열이 치밀하게 존재하는 영역이 존재하고 CpG Island라고 불려지고 있다. CpG Island는 진화의 과정에서 DNA 손상의 결과와 도태압력에 의해서 형성되어진 것으로 생각되어진다. 즉, 대표적인 DNA 손상의 하나인 탈아미노화 반응에서는 cytosine은 uracil로 변화하지만 메틸화 cytosine은 thymine으로 변화한다(Fig. 1). Uracil은 DNA 구성요소가 아니기 때문에 용이하게 원래의 cytosine으로 수복되어지지만 thymine은 DNA에 존재하기 때문에 수복되지 못하고 세포분열 과정에서 그대로 변이가 genome DNA안에 cytosine 비율이 감소하게 되어진다. 그러나 CpG 배열이 생존에 불가결한 부위에 존재하고 있는 경우에, 변이를 일으켰던 세포 혹은 그것에서 유래하는 개체는 사멸하게 된다. 결과로서 유전자의 전사 조절 영역 등에 존재하는 중요한 CpG 배열이 보존되어 CpG Island를 형성하게 된 것으로 생각되어지고 있다 (Bird 등, 1992; Antequera 등, 1993). 실제로 CpG Island는 housekeeping 유전자나 많은 조직특이적인 발현을 하는 유전자의 전사조절 영역, 혹은 그 근방에 존재하는 것이 알려져 있고 전 게놈영역으로부터 유전자의 영역을 찾아 낼 때의 target으로 되어 있다. 그런데 CpG Island는 메틸화 되지 않는 것으로 알려져 있지만 반드시 CpG Island 모두가 메틸화를 받지 않는 것은 아니다. 예를 들면 포유류 수컷세포에서 발생하는 X염색체 불활성화에서는 발생의 이른 시기에 메틸화를 받는 것이 알려지고 있다. 또 많은 imprinting 유전자에서는 부친 유래 또는 모친 유래 한쪽의 염색체측의 CpG Island 중에 메틸화를 받는 영역(differentially methylated region; DMR)을 보유하고, 한쪽의 부모로부터 계승된 염색체에만 유래하는 유전자 발현의 조절기구를 담당하는 장소로 되어 있다. 이에 더하여 최근 다음에 기술하는 조직특이적 유전자의 CpG Island도 메틸화 되어지는 것이 보고되어지고 있다.

### 4) CpG Island를 갖는 조직특이적인 유전자

CpG Island를 갖는 조직특이적인 유전자로서는 rat의 sphingosine kinase1 gene (rSphk1)의 예를 들 수 있다. Sphk1 유전자는 sphingosine 인산의 생산을 촉매하는 효소이다. Sphk1 유전자는 promoter 영역에 CpG Island 보유하고, 그 CpG Island 내에 T-DMR이 존재하는 것이 밝혀졌다(Imamura 등, 2001). Sphk1 유전자는 적어도 6종류의 비번역 exon이 CpG Island내에 존재하고 조직에 따라 a~f의 어떠한 exon을 이용할지가 선택되어 있다. T-DMR의 메틸화는 subtype중 Sphk1a의 발현과 관련하고 있다. Sphk1 유전자의 T-DMR의 메틸화 패턴은 개체 발생의 경과에 따라서 형성되어 간다. 뇌에서는 저메틸화 상태가 태자기에서 성체까지 계속 유지되어지는 한편 심장에서는 태자기에 저메틸화 상태이지만 발달에 따라서 서서히 메틸화 되어 성체에서는 고메틸화 되어진다. 이 유전자의 T-DMR은 CpG Island의 국한된 영역에서 약 200 염기에 지나지 않는다. Sphk1 유전자 이외 다른 T-DMR을 갖는 CpG Island를 갖는 조직특이적인 유전자가 보고되고 있다. 따라서 CpG Island를 보유하며 조직 특이적으로 발현하고 있는 유전자의 경우에는 DNA의 메틸화가 유전자 발현을 제어하고 있는 가능성을 고려하여야만 한다. CpG Island를 갖는 유전자는 전유전자의 약 반수를 차지하고 있다. 따라서 발생·분화과정에 있어 유전자 발현제어로서 CpG Island의 메틸화는 극히 중요한 역할을 하게 된다.

### 5) 조직특이적인 유전자의 DNA 메틸화에 따른 발현 제어

포유류 genome에는 전사개시점의 상류영역에 TATA box를 갖는 조직특이적인 유전자가 존재하고 있다. 이러한 type의 유전자에는 CpG Island도 존재하지 않고 있다. 예를 들면 태반성호르몬의 하나인 rat의 태반성 lactogene(PL-1)의 유전자는 TATA box형의 유전자이고 임신중기의 유전자에서만 발현되고 기타 조직에서는 전혀 발현이 검출되지 않는 조직특이적인 유전자이다. PL-1 유전자 5' 상류에는 GATA-1과 AP-1결합 element가 동정되어 있고 이러한 전사인자에 의해 PL-1 유전자의 발현이 활성화되는 것으로 생각되고 있다. 그러나 이러한 전사인자는 특히 태반의 영양막세포에 특이적으로 발현하고 있는 것은 아니기 때문에, PL-1 유전자의 발현이 태반 영양막세포 이외에는 엄밀하게 억제되고 있는 이유는 의문으로 남아 있었다. PL-1 유전자의 promoter 영역을 포함하는 상류 약 2.6 kb에는 불과 12개의 CpG 배열밖에 존재하지 않는다. 이 상류에는 메틸화 가변영역(tissue dependently differentially methylated region : T-DMR)이 존재하고, 태반에서는 특이적으로 저메틸화 상태에 있고 기타의 조직에서는 고메틸화 상태였다. 불과 7개의 CpG 메틸화가 PL-1 유전자의 발현을 억제시키고 있는 것이다.

난포자극호르몬(FSH) 수용체의 promoter 영역에 CpG Island는 존재하지 않고 320 bp의 promoter 영역안에 있는 3개의 전사조절 영역에 의해서 전사가 억제되고 있다. 이 영역에 7개의 CpG 배열이 존재하고 그중 4개의

CpG 배열이 3개의 전사조절 영역 안에 존재하고 있다. 이 유전자의 발현세포 및 어떠한 Sertoli 세포에서만 이러한 CpG 배열은 비메틸화 상태이고 한편, 다른 발현하지 않는 조직에서는 메틸화 되어 있는 것을 증명하였다 (GrisDNAwold 등, 2001).

Oct-4 유전자는 포유류의 POU family 전사인자의 하나이고 전능성·다분화능이 있는 세포에서 발현하고 있어서 세포의 다분화능 유지에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 생각되고 있다. 배반포에 있어서 내부세포피와 영양외배엽으로의 분화는 배발생에 있어 최초 분화의 과정이지만, 이때 Oct-4 유전자의 발현은 promoter와 2개의 enhancer영역이 관여하고 있는 것으로 보고되고 있다(Yoem 등, 1996). Promoter 영역에는 Sp1 element가 동정되어 있지만 이러한 인자에 따른 움직임만으로는 Oct-4 간세포 특이적인 발현의 이유를 설명할 수 없다. Oct-4 유전자의 상류영역에는 CpG Island는 아니지만 다수의 CpG배열이 존재하고 있다. ES 세포 및 TS 세포를 이용하여 Oct-4 유전자의 상류영역의 메틸화 상태를 해석한 결과 promoter 근방으로부터 enhancer에 이르는 1.1kb에 있어서 T-DMR이 존재하는 것이 밝혀졌다(Hatori 등, 2004). 이러한 영역은 Oct-4가 발현하고 있는 ES세포에서는 저메틸화 상태가 유지되고 있는데 반하여 TS세포에서는 고빈도로 메틸화 되어 발현을 억제하고 있다.

## 2. DNA 메틸화 전이효소(Dnmt1) 발현의 Epigenetics 제어

제 1exon의 구분에 따라 난모세포 특이적으로 발현하는 Dnmt1 $\alpha$ , Pachytene기 정도세포 특이적인 Dnmt1 $\beta$ , 그리고 체세포에서 폭넓게 보이는 Dnmt1s의 3종류의 iso-form이 존재하는 Dnmt1 iso-form의 발현이 DNA 메틸화에 의해서 제어되는지 검토하기 위하여 각 isoform 전사 개시점 상류영역의 DNA 메틸화 상태를 난자·정자형성과정 및 초기배발달과정에서 해석하였다.

Dnmt1s와 1 $\beta$ 의 전사개시점은 근접하여 존재하는데 이러한 600bp의 영역은 CpG 출현빈도가 genome의 다른 영역에 비하여 고빈도로 출현하는 CpG Island를 이루고 있다. 이 영역의 CpG 빈도는 mouse(C57BL/6) 간장, 신장, 정자, 난자 및 초기배에 있어서 항상 탈메틸화 상태를 보였다(Fig. 4). 그러나 Dnmt1 $\alpha$ 의 상류영역에는 CpG Island가 존재하지 않지만 난자에 있어 특이적으로 탈메틸화 상태인 여러 개의 CpG 배열의 존재가 확인되었다. 이에 주목하여 초기배의 각 stage에서 메틸화 상태를 bi-sulfite sequencing 법에 의해 상세히 조사한 결과 이러한 CpG 배열을 포함하는 영역은 발생과정에서 변화하는 영역, 즉 메틸화가변영역(tissue dependently differentially methylated region : T-DMR)이 존재하는 발견하였다. 이러한 T-DMR은 Dnmt1 $\alpha$ 가 발현하는 1-cell, 2-cell 및 morula stage에서는 저메틸화 상태인 반면 기타의 시기 및 ES 세포를 포함하는 체세포계열이나 정자에서는 고메틸화 상태였다. 더욱이 해석한 초기배의 각stage에서 서로 다른 메틸화 패턴을 이루고 있었다. 이것은 Dnmt1 $\alpha$  유전자의 발현이 상류영역의 메틸화에 의해서 제어받고 있으며, 이러한 메틸화 패턴은 초기배 각 stage에서 능동

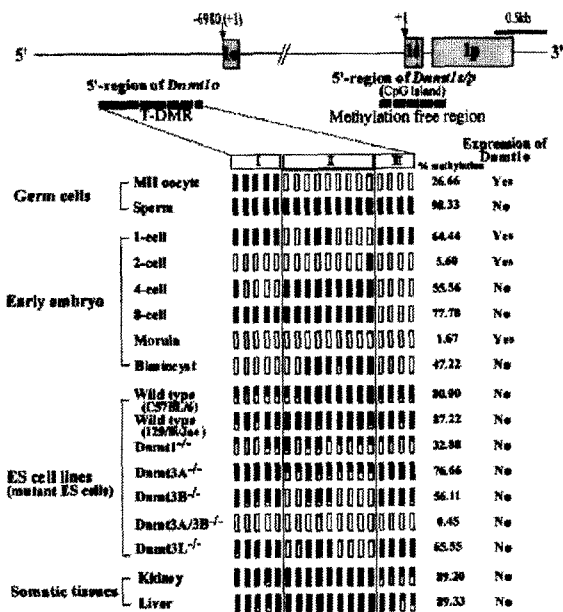


Fig. 4. Schematic representation of CpG methylation status and RNA expression of Dnmt1 $\alpha$  T-DMR.

적인 메틸화·탈메틸화에 의해 형성되고 있는 것을 시사하고 있다. 이러한 초기배 발달과정에서 Dnmt1 단백질은 세포질에 존재하고 8세포기에서만 일시적으로 핵에 존재한다. 한편, Dnmt3a와 Dnmt3b의 세포질내 국재를 면역염색에 의해 조사해본 결과 Dnmt3a와 Dnmt3b 모두 또는 어느 한쪽이 초기배에서 항상 핵에 존재하고 있었다. 또 Dnmt 결손 ES 세포를 이용 메틸화를 해석한 결과 Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b 각각 결손한 ES 세포에서 다른 패턴으로 Dnmt1o T-DMR의 저메틸화가 관찰되었다. 게다가 Dnmt3a와 Dnmt3b 양쪽 모두를 결손한 ES 세포에서는 이 영역이 완전히 탈메틸화 되어 있었다. 이러한 결과로부터 Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b 각각이 Dnmt1o T-DMR 메틸화의 유지에 작용하고 또 Dnmt3a, Dnmt3b는 이영역의 *de novo* 메틸화에 있어서도 상호협조적으로 작용하고 있음을 시사하고 있다.

앞서 설명한 연구의 과정에서 난자와 초기배에 있어서 Dnmt1o T-DMR 내에 CpG 배열 이외의 배열(non-CpG)의 cytosine에도 메틸화 되어지는 것을 발견하였다. 초기배의 각 stage에서 non-CpG와 CpG 배열의 메틸화를 비교한 결과 non-CpG의 메틸화가 증가하면 다음 stage의 CpG의 메틸화가 증가하고, 역으로 non-CpG의 메틸화가 감소하면 다음 stage의 CpG의 메틸화가 감소하였다. 이러한 결과는 CpG 배열의 *de novo* 메틸화가 non-CpG 메틸화 상태에 의존하고 있을 가능성을 시사하는 흥미로운 결과이다. non-CpG 메틸화는 또한 생기기 쉬운 영역이 있는 것을 발견하였다. Dnmt1o T-DMR내에서 CpG의 출현빈도가 낮은 영역에서 non-CpG 메틸화가 고빈도로 발생하였다. non-CpG 안에서 최근 전사역제에 기능하는 것으로 보고가 있는 CC(A/T)GG 배열의 메틸화도 마찬가지로 CpG 배열이 적은 영역보다 고빈도의 메틸화가 보였다. Dnmt1o T-DMR의 non-CpG 메틸화에는 Dnmt3a가 중심적인 역할을 담당하고 있음이 시사되어진다.

이상의 결과로 DNA 메틸화에 중심적인 역할을 하는 효소의 유전자 자신이 DNA 메틸화에 의한 epigenetic제어를 받고 있음을 확실히 증명하였다.

## 맺음말

개체발생의 분화과정에 있어서, 정자·난자 각각의 고유한 DNA 메틸화 패턴은 발생과정의 메틸화 탈메틸화를 복잡하게 반복하고, 각 조직 세포특이적인 DNA 메틸화 패턴을 형성해 간다. 유전자 영역의 DNA 메틸화 패턴은 유전자 발현에 크게 관여하고, DNA 메틸화 이상은 발생하는 영역이나 빈도에 따라서 세포의 성질을 크게 변화시키게 된다.

체세포 핵이식 clone 동물에서는 분화에 따른 메틸화의 변화에 앞서 혹은 메틸화를 변화시키면서 donor 체세포 핵의 메틸화 패턴으로부터 초기배형의 메틸화 패턴으로 전환시킬 필요가 있다. 그러나 앞에서 설명하였듯이 조직특이적인 CpG의 메틸화 부위는 수없이 많이 존재하리라고 생각되어지고 그러한 모든 것을 초기배 형태로 되돌리는 상당히 곤란하고 또한 드문 예일 것이다. DNA 메틸화 이상은 유전자 발현과 genome 안전성에 영향을 미치기 때문에 그러한 경우 발생정지나 발생이상 및 암의 발생을 야기할 것이다. CpG Island의 DNA 메틸화와 genome wide DNA 메틸화 상태는 표현형과도 직접적으로 관련되리라고 생각되어지기 때문에 clone 생산기술을 포함하여 금후 각광받는 생식의료 분야에 있어서도 그 안전성 확립을 위해서라도 genome wide DNA 메틸화 정보의 해석이 필요하고 극히 중요한 지표가 될 것이다.

금후의 연구로 발생 및 정상과 질병의 DNA 메틸화 data가 축적됨으로서, 세포 각각의 genome 정보와 특이적인 유전자 발현의 전체상이 밝혀질 것으로 기대되어지고 있다. 또 사람, mouse 전염기배열의 결정에 따라 post genome 시대를 향한 approach로서 DNA 메틸화 data의 축적이 가속화 될 것이며, 점차 DNA 메틸화 연구는 중요도를 더해 갈 것이다. DNA 메틸화 연구는 발생 program의 이해를 가속화시키고, 이제까지 수수께끼로 남아 있던 많은 의문에 해답을 주는데 있어 의심의 여지가 없을 것이다.

## 참고문헌

1. Aapola, U., R. Lyle, et al. (2001). "Isolation and initial characterization of the mouse Dnmt3l gene." *Cytogenet Cell Genet* 92(1-2): 122-6.
2. Antequera, F. and A. Bird (1993). "Number of CpG islands and genes in human and mouse." *Proc Natl Acad Sci U S A* 90(24): 11995-9.
3. Bestor, T., A. Laudano, et al. (1988). "Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells. The carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferases." *J Mol Biol* 203(4): 971-83.
4. Bird, A. (1992). "The essentials of DNA methylation." *Cell* 70(1): 5-8.
5. Bourc'his, D., G. L. Xu, et al. (2001). "Dnmt3L and the establishment of maternal genomic imprints." *Science* 294(5551): 2536-9.
6. Cho, J. H., H. Kimura, et al. (2001). "DNA methylation regulates placental lactogen I gene expression." *Endocrinology* 142(8): 3389-96.
7. Griswold, M. D. and J. S. Kim (2001). "Site-specific methylation of the promoter alters deoxyribonucleic

- acid-protein interactions and prevents follicle-stimulating hormone receptor gene transcription." *Biol Reprod* 64(2): 602-10.
8. Hata, K., M. Okano, et al. (2002). "Dnmt3L cooperates with the Dnmt3 family of *de novo* DNA methyltransferases to establish maternal imprints in mice." *Development* 129(8): 1983-93.
  9. Hattori, N., K. Nishino, et al. (2004). "Epigenetic control of mouse Oct-4 gene expression in embryonic stem cells and trophoblast stem cells." *J Biol Chem* 279(17): 17063-9.
  10. Imamura, T., J. Ohgane, et al. (2001). "CpG island of rat sphingosine kinase-1 gene: tissue-dependent DNA methylation status and multiple alternative first exons." *Genomics* 76(1-3): 117-25.
  11. Kimura, H., T. Takeda, et al. (1998). "Expression of rat DNA (cytosine-5) methyltransferase (DNA MTase) in rodent trophoblast giant cells: molecular cloning and characterization of rat DNA MTase." *Biochem Biophys Res Commun* 253(2): 495-501.
  12. Li, E., T. H. Bestor, et al. (1992). "Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality." *Cell* 69(6): 915-26.
  13. Li, E. (2002). "Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development." *Nat Rev Genet* 3(9): 662-73.
  14. Mertineit, C., J. A. Yoder, et al. (1998). "Sex-specific exons control DNA methyltransferase in mammalian germ cells." *Development* 125(5): 889-97.
  15. Nan, X., F. J. Campoy, et al. (1997). "MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin." *Cell* 88(4): 471-81.
  16. Ng, H. H., Y. Zhang, et al. (1999). "MBD2 is a transcriptional repressor belonging to the MeCP1 histone deacetylase complex." *Nat Genet* 23(1): 58-61.
  17. Okano, M., S. Xie, et al. (1998). "Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases." *Nat Genet* 19(3): 219-20.
  18. Okano, M., S. Xie, et al. (1998). "Dnmt2 is not required for *de novo* and maintenance methylation of viral DNA in embryonic stem cells." *Nucleic Acids Res* 26(11): 2536-40.
  19. Okano, M., D. W. Bell, et al. (1999). "DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for *de novo* methylation and mammalian development." *Cell* 99(3): 247-57.
  20. Rhee, I., K. E. Bachman, et al. (2002). "DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells." *Nature* 416(6880): 552-6.
  21. Xin, Z., M. Tachibana, et al. (2003). "Role of histone methyltransferase G9a in CpG methylation of the Prader-Willi syndrome imprinting center." *J Biol Chem* 278(17):14996-5000.
  22. Yen, R. W., P. M. Vertino, et al. (1992). "Isolation and characterization of the cDNA encoding human DNA methyltransferase." *Nucleic Acids Res* 20(9): 2287-91.
  23. Yeom, Y. I., G. Fuhrmann, et al. (1996). "Germline regulatory element of Oct-4 specific for the totipotent cycle of embryonal cells." *Development* 122(3): 881-94.