

|         |                         |
|---------|-------------------------|
| 取 扱 注 意 |                         |
| 解<br>禁  | テレビ・ラジオ・<br>通信社・インターネット |
|         | 新聞                      |

日本時間 10 月 20 日 (金)  
午前 1 時以降  
日本時間 10 日 20 日 (金) 朝刊

平成 29 年 10 月 18 日  
横浜市立大学  
東京大学  
科学技術振興機構(JST)

## 細胞固有の性質が遺伝する仕組みを解明

### ～DNA メチル化酵素の正確な配置と活性化を制御する仕組み～

～『Molecular Cell』に掲載 (米国東時間 10 月 19 日正午付 : 日本時間 10 月 20 日午前 1 時付)～

横浜市立大学 大学院生命医科学研究科 構造生物学研究室 有田恭平准教授、石山 怜 (博士前期課程)、東京大学医科学研究所 中西 真教授、西山敦哉講師らの研究グループは、DNA メチル化<sup>\*1</sup>の維持に関与する DNA メチル化酵素 DNMT1<sup>\*2</sup>が、ユビキチン化<sup>\*3</sup>されたヒストン<sup>\*4</sup>H3 を認識する機構を解明しました。

#### 研究成果のポイント

- ◆DNA メチル化酵素 DNMT1 と、DNA メチル化部位へ DNMT1 を呼び込む目印となるユビキチン化されたヒストン H3 との複合体の立体構造を解明し、その制御の仕組みを明らかにしました。
- ◆DNMT1 とユビキチン化されたヒストン H3 との結合が、DNMT1 の DNA メチル化酵素活性を上昇させることを発見しました。
- ◆この成果により、細胞の性質を遺伝する分子メカニズムの一端が明らかとなったのに加え、新たな DNMT1 活性化阻害剤の開発にもつながることが期待されます。

#### 研究の背景

生体内に存在する 200 種類以上の細胞は、一部の例外を除いてすべて同じゲノム情報を持ちながらそれぞれ固有の性質を持ちます。これは細胞分化の過程で確立される DNA メチル化によって、細胞の種類固有の遺伝子発現パターンが決まっているからです。

ゲノム DNA は細胞分裂の前に正確に複製されますが、DNA メチル化も親細胞から娘細胞に正確に受け継がれていきます。これを DNA 維持メチル化といいます。DNA 維持メチル化が破綻すると、細胞のがん化など様々な不具合が生じるので、DNA メチル化のパターンは厳密に制御され受け継がれるようになっています。

DNA 維持メチル化には 2 つのタンパク質、UHRF1<sup>\*5</sup>と DNMT1 が必須です。UHRF1 は DNA 複製後に生じた片鎖メチル化 DNA を認識して、近傍のヒストン H3 をユビキチン化します。DNMT1 はユビキチン化ヒストン H3 を認識することで作用の場である片鎖メチル化 DNA へと呼び込まれます。しかし、DNMT1 が、ユビキチン化されたヒストン H3 をどのような分子機構で認識するのかはよくわかっていませんでした。

## 研究の内容

今回研究グループは、DNA 維持メチル化の過程を再現する試験管内染色体複製系と質量分析解析を組み合わせることで、DNMT1 が N 末端部の 2 か所にモノユビキチン化を受けたヒストン H3 と特異的に結合することを発見しました。また、このヒストン H3 の複数個所のモノユビキチン化は UHRF1 に依存的であり、H3 のリジン 14, 18, 23 を標的とするものであることもわかりました。

一般的にタンパク質のユビキチン化は、付加されたユビキチンがつながってポリマー化 (=ポリユビキチン化) されることで様々な生命現象のシグナルとして働くことが知られていました。しかし、今回の研究成果から、DNA 維持メチル化の過程では、ポリユビキチン化ではなく複数個所のモノユビキチン化がシグナルとして働き、これらを DNMT1 の RFTS ドメイン\*6 が同時に認識することを明らかにしました。(図 1)

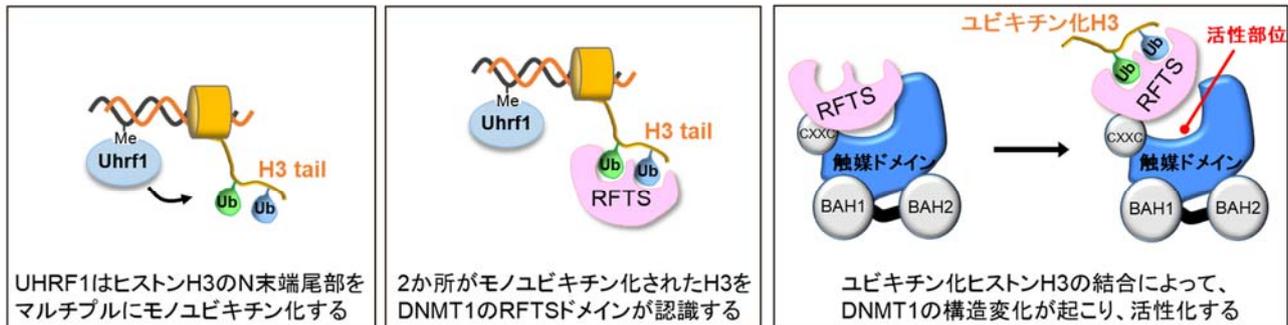


図1. 本研究で明らかになったこと

この珍しいユビキチン化修飾の認識機構の詳細を明らかにするために、リジン 18 とリジン 23 がモノユビキチン化されたヒストン H3 と DNMT1 の RFTS ドメインの複合体の立体構造を X 線結晶構造解析法で決定しました。その結果、ヒストン H3 上の 2 つのモノユビキチンは、RFTS ドメインによって同時に認識されることがわかりました。ユビキチンは他のタンパク質と結合するとき I44 パッチという分子表面を例外なく使います。今回決定した立体構造によると、RFTS ドメインは、これに加えて、ユビキチン認識ループ (ubiquitin recognition loop:URL) によってユビキチンの他の分子表面も認識しており、非常に広範囲に渡って相互作用していることがわかりました。この RFTS ドメインの URL は‘左手’のような特徴的な形をしており、‘手のひら’でリジン 18 に付加されたユビキチンを、‘手の甲’でリジン 23 に付加されたユビキチンを認識するという特徴を持っていました。さらに、ユビキチン化されたヒストン H3 は 2-20 番目までのアミノ酸が RFTS ドメインと相互作用しており、今まで見られないような非常に広範囲に渡って RFTS ドメインと相互作用していることがわかりました。(図 2)

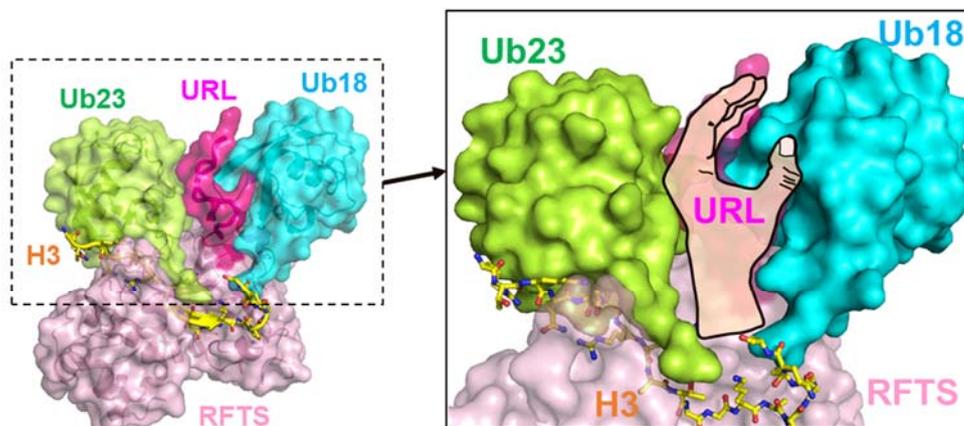


図2. DNMT1 RFTSドメインとK18/K23ユビキチン化ヒストンH3の複合体構造  
RFTSをピンク、URLをマゼンタ、H3を黄色、18, 23番目のリジン残基に付加されたユビキチンを水色、黄緑で示す。右図はURLによるユビキチンの認識を拡大して示しており、左手のような形をしたURLが2つのユビキチンを完全に隔てて認識している。

DNMT1は、通常の状態では RFTS ドメインと DNA メチル化活性を持つ触媒ドメインが相互作用しており、活性阻害型の立体構造をとることが知られていました。しかし、今回の研究でさらに大阪大学蛋白質研究所 末武准教授らの生化学的な実験により、DNMT1はユビキチン化ヒストン H3 に結合すると DNA メチル化活性が大幅に亢進されることが分かりました。さらに、横浜市立大学大学院 生命医科学研究科 木寺教授らの分子動力学計算によって、ユビキチン化ヒストン H3 が結合すると DNMT1 の RFTS ドメインと触媒ドメインの相互作用が弱くなる過程をシミュレーションでき、ユビキチン化ヒストン H3 による DNMT1 の新規の酵素活性化機構を解明しました (図 1)。

## 今後の展開

この研究成果は、DNA メチル化維持機構の仕組みの一端を詳細に解明するとともに、細胞のがん化や脱分化などの生命現象の理解と、その制御に重要な知見を与えます。例えば、DNMT1 の触媒ドメインを標的にした抗がん剤はありますが、その使用は限定的であり副作用が生じる問題があります。しかし、DNMT1 に特徴的である RFTS ドメインを標的に高選択的な薬剤を開発できれば、がん細胞や神経変性疾患で見られる異常な DNA メチル化を制御できる可能性があります。今回の研究成果は DNA 維持メチル化という重要な生命現象の解明に加えて、この分野の応用に寄与するものと期待されます。

## 用語説明

### \*1, DNA メチル化

DNA に含まれるシトシン塩基にメチル基 (CH<sub>3</sub>-) が付加される反応。DNA メチル化により、遺伝子の発現が抑制されると考えられている。生物の体を形成するために必須である。

### \*2, DNMT1

DNA にメチル基を転移する反応を触媒する酵素。DNMT1 は DNA2 重らせんの片方の鎖のみがメチル化された片鎖メチル化 DNA を反応の基質として好む。

### \*3, ユビキチン (化)

76 アミノ酸からなるタンパク質で、基質となるタンパク質のリジン残基に共有結合を介して付加される。基質に付加されたユビキチンはさらにユビキチンが付加されていくことによってポリマー化し、タンパク質分解や DNA 損傷修復、炎症などの様々な生命現象を制御する。

### \*4, ヒストン

ヒストン H1、H2A、H2B、H3、H4 の 5 種類からなる。ゲノム DNA はヒストンタンパク質に巻き付き、ヌクレオソームという構造体を形成することで、核の中で折りたたまって収納される。ヒストンはアセチル化、メチル化などの様々な化学修飾を受け、遺伝子発現を調節すると考えられている。

### \*5, UHRF1

DNA メチル化維持に必須の役割をするタンパク質。片鎖メチル化 DNA への結合や、ヒストン H3 のユビキチン化など様々な機能することで、DNA メチル化パターンの複製を誘導する。

### \*6, ドメイン

タンパク質中に存在する独立に立体構造を持ち機能する領域。

※本研究は、『Molecular Cell』に掲載されます。(米国東部時間 10 月 19 日正午付：日本時間 10 月 20 日午前 1 時付オンライン)

※本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 個人型研究 (さきがけ) 「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術」研究領域の一環で行われました。

## 掲載論文

### Structure of the Dnmt1 reader module complexed with a unique two-mono-ubiquitin mark on histone H3 reveals the basis for DNA methylation maintenance

Satoshi Ishiyama\*, Atsuya Nishiyama\*, Yasushi Saeki, Kei Moritsugu, Daichi Morimoto, Luna Yamaguchi, Naoko Arai, Rumie Matsumura, Toru Kawakami, Yuichi Mishima, Hironobu Hojo, Shintaro Shimamura, Fuyuki Ishikawa, Shoji Tajima, Keiji Tanaka, Mariko Ariyoshi, Masahiro Shirakawa, Mitsunori Ikeguchi, Akinori Kidera, Isao Suetake\*, Kyohei Arita\*, and Makoto Nakanishi\*

\* These authors contributed equally

*Molecular Cell*, October 19, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.09.037>

## <お問い合わせ先>



(本資料の内容に関するお問い合わせ)

公立大学法人横浜市立大学 大学院生命医科学研究科 構造生物学  
准教授 有田恭平

TEL : 045-508-7227

E-mail : [aridak@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp](mailto:aridak@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp)

(取材対応窓口、詳細の資料請求など)

公立大学法人横浜市立大学 研究企画・産学連携推進課長 渡邊 誠

TEL : 045-787-2510

E-mail : [kenki@yokohama-cu.ac.jp](mailto:kenki@yokohama-cu.ac.jp)



(本研究の内容に関するお問い合わせ)

国立大学法人東京大学医科学研究所癌・細胞増殖部門癌防御シグナル分野  
教授 中西 真 (なかにし まこと)

TEL : 03-5449-5341 FAX:03-5449-5731

E-mail: [mkt-naka@ims.u-tokyo.ac.jp](mailto:mkt-naka@ims.u-tokyo.ac.jp)

講師 西山 敦哉 (にしやま あつや)

Tel: 03-5449-5731 FAX:03-5449-5731

E-mail: [anishiya@ims.u-tokyo.ac.jp](mailto:anishiya@ims.u-tokyo.ac.jp)

(取材対応窓口、詳細の資料請求など)

国立大学法人東京大学医科学研究国際学術連携室

Tel: 03-6409-2027 FAX:03-5449-5496

E-mail: [koho@ims.u-tokyo.ac.jp](mailto:koho@ims.u-tokyo.ac.jp)



(JSTの事業について)

国立研究開発法人 科学技術振興機構 (JST)

戦略研究推進部 川口 哲

TEL : 03-3512-3525 Fax : 03-3222-2064

E-mail : [presto@jst.go.jp](mailto:presto@jst.go.jp)

URL : <http://www.jst.go.jp/kisoken/presto/>