

研究題目 ユビキチン-プロテアソームによるヒストンメチル化酵素の分

解経路の解明

研究組織

研究代表者：立花 誠 （大阪大学大学院生命機能研究科）

共同研究者：小迫 英尊 （徳島大学先端酵素学研究所）

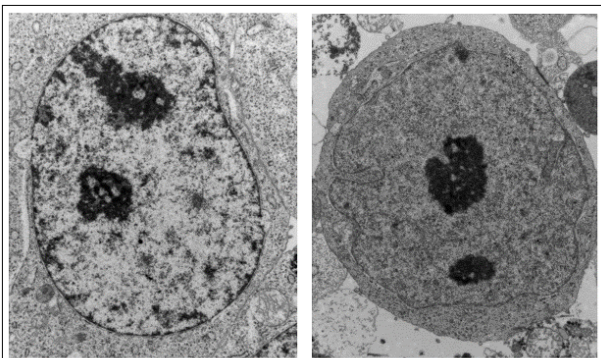
研究分担者：前田 亮 （大阪大学大学院生命機能研究科）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

真核生物の転写が抑制された染色体はヘテロクロマチンと呼ばれ、それはヒストン H3 の 9 番目のリジン (H3K9) が高度にメチル化されているという特徴を有している。私たちは、ヘテロクロマチンを構成する代表的なタンパク質である HP1 がヘテロクロマチン構築にどう関わっているのかについて解析を進めた。

HP1 パラログである HP1 α 、HP1 β 、HP1 γ の 3 重欠損したマウス ES 細胞では、ヘテロクロマチン構造が完全に崩壊した（下図を参照）。



ヘテロクロマチンの構造維持におけるHP1の役割

マウスES細胞の電子顕微鏡写真。コントロールの細胞（左）では、核膜周辺に濃く染色されたヘテロクロマチン構造が観察される。一方、HP1を欠損したマウスES細胞（右）では、ヘテロクロマチン構造が全く観察されない。核内の黒い大きな塊は核小体。

予期しなかったことに、HP1 の除去により H3K9 メチル化酵素である Suv39h と Setdb1 の

タンパク質が大幅に減少することが分かった。これらの成果を踏まえ、本研究では H3K9 メチル化酵素のタンパク質分解の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

[1-2]研究の方法・経過

2021 年度の共同研究では、H3K9 メチル化酵素のユビキチン化部位を明らかにする研究を進めた。まずは HP1 と Suv39h1、Setdb1 との相互作用に重要なアミノ酸配列について解析を行った。その結果、Suv39h1 の N 末端、Setdb1 の MBD ドメインが HP1 との相互作用に重要であることを見出した。

次に HP1 に結合できない変異型 H3K9 メチル化酵素である Δ N-Suv39h1、Setdb1-3A に Flag タグを付与したタンパク質をマウス ES 細胞と HEK293T 細胞に発現させ、抗 Flag 抗体で回収した。回収タンパク質をトリプシンで消化し、質量分析にアプライし、ユビキチン化されるリジン残基を同定した。

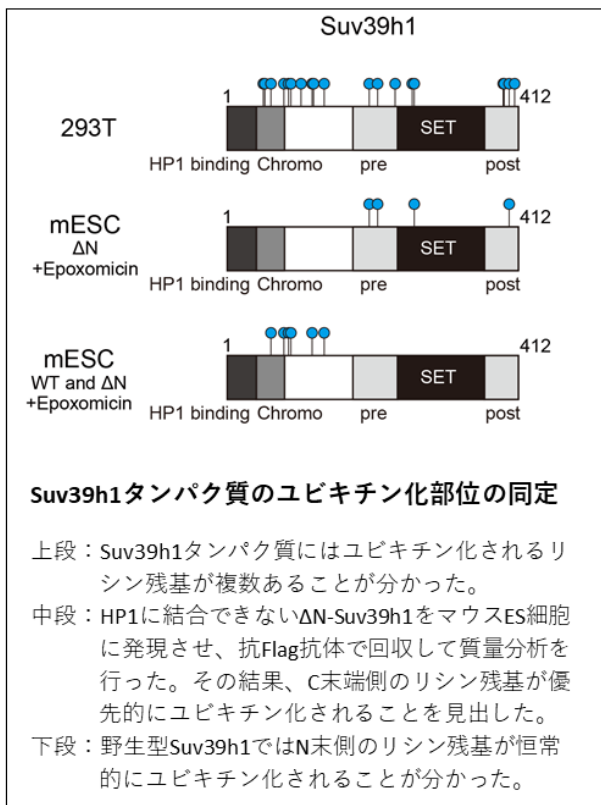
【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

Suv39h1、Setdb1 共に複数のリジン残基がユビキチン化されることを明らかにした。

Suv39h1 のユビキチン化には 2 種類が存在することが分かった（次頁の図を参照）。HP1 に結合できない Δ N-Suv39h1 では、SET ドメインに存在するリジン残基が主にユビキチン化されること、そして野生型の Suv39h1 では SET ドメインよりの N 末端側のリジン残基がユビキチン化されることが分かった。また、Setdb1-3A タ

ンパク質では C 末端の SET ドメインが主にユビキチン化されることが分かった。



[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

ほ乳類の個体発生や細胞分化の過程でヘテロクロマチンはダイナミックに変動することが報告されている。私たちの研究結果は、このヘテロクロマチンのダイナミックな変動にH3K9メチル化酵素のタンパク質分解経路が関与している可能性を提示した。これがもし証明されれば、エピゲノムの新たな制御メカニズムの発見となり、学術的インパクトは大きい。

がんや糖尿病などの生活習慣病や、早期老化症、筋ジストロフィーなどの希少疾患にもヘテロクロマチンの異所的な異常が観察されている。私たちの研究成果によってH3K9メチル化酵素の分解機構の詳細が明らかになれば、ヘテロクロマチンを人為的に操作できるような薬剤の開発が可能になるかもしれない。

以上のことから、本共同研究は、学術的にも医学的にも大きな波及効果が期待できる。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

HP1 maintains protein stability of H3K9 methyltransferases and demethylases.

Maeda R, Tachibana M. EMBO Rep. 2022 Feb 15: e53581. doi: 10.15252/embr.202153581. Online ahead of print. PMID: 35166421

[3-2]学会発表

- 1) 第43回日本分子生物学会年会
ワークショップ 3PW-07 (生殖細胞におけるレトロトランスポゾンのエピジェネティック制御と次世代への影響)
マウス ES 細胞における 2 細胞期特異的遺伝子のエピジェネティック制御
立花 誠
- 2) 第39回染色体ワークショップ
HP1-dependent heterochromatin formation in mammalian cells
Ryo Maeda and Makoto Tachibana

[3-3]成果資料等

ResPU (大阪大学研究専用ポータルサイト)

[https://resou.osaka-](https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2022/20220215_2)

[u.ac.jp/ja/research/2022/20220215_2](https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2022/20220215_2)

染色体の凝集を担うタンパク質の新たな機能-早期老化症など希少疾患やがんに対する治療法に期待-

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

2022年度以降は、Suv39h1とSetdb1のユビキチン化するE3リガーゼを同定することで、H3K9メチル化酵素のタンパク質分解の生物学的な意義を理解したい。特に、個体発生と細胞分化におけるH3K9メチル化酵素のタンパク質分解の役割を明らかにしていきたいと考えている。