

2024年8月26日
 横浜市立大学
 東京大学医科学研究所
 ロックフェラー大学

新しいメチル化 DNA 結合タンパク質を発見 ～DNA メチル化継承の新しい概念を提唱～

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（エピジェネティクス構造生命科学）有田恭平教授、敷町怜愛さん（2023年度修士課程修了）、蛭田萌理さん（修士課程2年）、菊地杏美香さん（博士課程1年）、東京大学医科学研究所 癌防御シグナル分野 西山敦哉准教授、中西真教授、ロックフェラー大学 Isabel E. Wassing 博士研究員、船引宏則教授らを中心とした国際共同研究グループは、免疫不全・セントロメア不安定症候群（ICF症候群*¹）の原因遺伝子であるCDCA7 とHELLSが、ヘテロクロマチン領域のDNAメチル化*²の維持に働く分子機構を明らかにしました。本成果は、CDCA7-HELLSリモデリング複合体がDNA維持メチル化に果たす役割についての新たな洞察を提供するとともに、ICF症候群の病態メカニズムの解明に貢献する可能性があります。

本研究成果は、「Science Advances」に掲載されました（日本時間 2024年8月24日午前3時）。

研究成果のポイント

- ICF 症候群の原因遺伝子 CDCA7 が、新規の片鎖メチル化 DNA 結合タンパク質であることを同定。
- クライオ電子顕微鏡単粒子解析によって、CDCA7 によるヌクレオソーム中の片鎖メチル化 DNA の認識機構を解明。
- ヘテロクロマチン領域特有の DNA 維持メチル化の分子機構の新しい概念を発見。
- CDCA7 変異で発症する ICF 症候群の DNA 低メチル化の原因を解明。

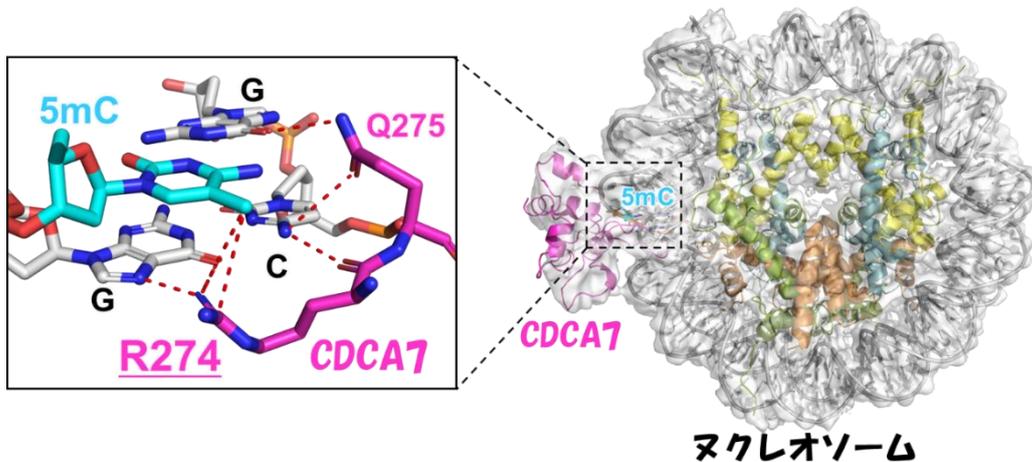


図1 片鎖メチル化 DNA を含むヌクレオソームと CDCA7 の複合体構造

研究背景

哺乳類のCG配列中のシトシンに起こるDNAメチル化は遺伝子発現のオン・オフを決め、細胞の形質を決める細胞記憶として働きます。従って、細胞増殖に伴うDNAメチル化パターンの正確な継承は、細胞の形質を維持するために不可欠です。この仕組みの破綻は異常な発生・分化に加えて、細胞のがん化や染色体不安定化を引き起こすことで、様々な疾患の原因になると考えられています。したがって、DNAメチル化維持の分子機構の全貌を明らかにすることは、科学的にも社会的にも重要な課題です。

DNAのメチル化異常が関与する疾患の一つとして、ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, Facial anomaly) 症候群が知られています。ICF症候群はクロマチンリモデリング因子^{*3}HELLSとその活性化因子CDCA7の変異を原因とし、ヘテロクロマチンの低メチル化を特徴としています。CDCA7が持つジンクフィンガードメイン (ZnFドメイン) は真核生物に広く保存されていますが、DNAメチル化やDNAメチルトランスフェラーゼが欠如している種では見られないことから、DNAメチル化との関連が示唆されていました。しかし、CDCA7がDNAメチル化にどのように関与し、ICF症候群で見られるCDCA7変異がなぜDNA低メチル化を引き起こすのかはよくわかっていませんでした。

研究内容

研究グループは、アフリカツメガエルの卵抽出液を用いた実験から、CDCA7のZnFドメインが片鎖メチル化DNAに特異的な結合能を持つことを明らかにしました。これまでに、DNAメチル化維持に関与するUHRF1^{*4}のSRAドメインが唯一の片鎖メチル化DNA結合タンパク質として報告されていましたが、CDCA7は第2の片鎖メチル化DNA結合タンパク質であることが明らかになりました。興味深いことに、UHRF1はヌクレオソーム中の片鎖メチル化DNAに結合できませんが、CDCA7はヌクレオソーム中の片鎖メチル化DNAに強固に結合できることがわかり、UHRF1とは異なる結合特性を持つことがわかりました。この認識機構を明らかにするために、片鎖メチル化サイトを持つヌクレオソームとCDCA7の複合体構造をクライオ電子顕微鏡単粒子解析^{*5}で決定しました (図1)。その結果、CDCA7がヌクレオソーム中の片鎖メチル化サイトに結合している様子を捉えることに成功しました。興味深いことに、ICF症候群に関与するCDCA7のアルギニン274は、直接的に片鎖メチル化サイト中の5メチルシトシンの認識に関与し、さらにアルギニン304はDNAのリン酸骨格の認識に関与していました (図1)。実際にアルギニン274をヒスチジンに置換すると片鎖メチル化DNA結合能が消失したことから、ICF症候群で見られるDNA低メチル化はCDCA7の片鎖メチル化DNA結合能の喪失によることが明らかになりました。

なぜCDCA7の機能喪失がDNA低メチル化につながるのでしょうか？ アフリカツメガエルの卵抽出液を用いた実験から、CDCA7はアミノ末端領域の α -ヘリックス^{*6}を使ってHELLSと直接的に結合することがわかりました。さらにCDCA7を欠損させた卵抽出液では、クロマチンへのHELLSの集積が阻害され、その結果ヒストンH3のユビキチン化の効率が減少し、DNMT1のクロマチン局在量も低減することがわかりました。このことから、CDCA7

がクロマチン中の片鎖メチル化 DNA を認識して HELLS を呼び込み、DNA メチル化を触媒する DNMT1 の片鎖メチル化 DNA への局在に重要であることがわかりました。つまり、片鎖メチル化 DNA の結合能を失った CDCA7 は、下流で働く維持メチル化因子の正しい局在に異常をきたすので、DNA 低メチル化が起こることがわかりました。

本研究により、ICF 症候群の原因遺伝子である CDCA7 が片鎖メチル化 DNA を認識することを明らかにし、DNA メチル化維持の制御の新しい分子メカニズムを提唱しました。これまで DNA 維持メチルでは、DNA メチル化酵素 DNMT1 とその呼び込みタンパク質 UHRF1 が重要な働きをすることが知られていました。UHRF1 は複製時に一時的に生じる片鎖メチル化 DNA に特異的に結合し、ヒストン H3 をユビキチン化します。このユビキチン化 H3 が DNMT1 の DNA メチル化部位局在に不可欠な役割をします。これに加えて新たにヘテロクロマチン領域の維持メチル化では、次のことが起こることがわかりました (図2)。

- 1) CDCA7 はヌクレオソーム中の片鎖メチル化 DNA に結合して HELLS を呼び込む。
- 2) HELLS のクロマチンリモデリング活性によって片鎖メチル化サイトがヌクレオソームからずらされて、リンカーDNA 上に露出する。
- 3) UHRF1 がリンカーDNA 上の片鎖メチル化サイトに結合しヒストン H3 をユビキチン化して、DNMT1 をクロマチンに呼び込む。

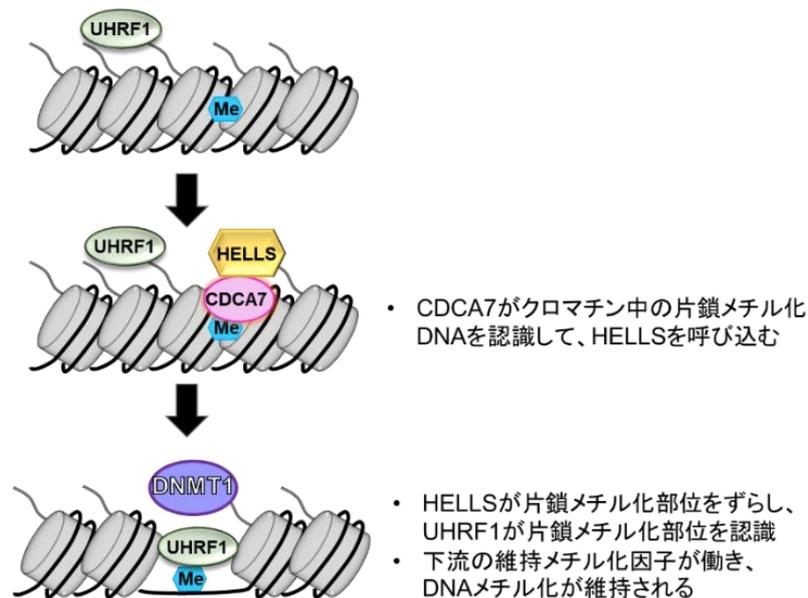


図2：本研究で明らかにしたヘテロクロマチン領域の DNA 維持メチル化の新しい分子機構

今後の展開

セントロメアやペリセントロメアで見られるヘテロクロマチンは染色体構造の安定化に寄与する他に、進化の過程で取り込まれたトランスポゾン（動く遺伝子）の抑制にも働きます。本研究で発見した CDCA7-HELLS の機能はこのような領域に特有の DNA メチル化維持の制御に重要であることが考えられます。クライオ電子顕微鏡単粒子解析によって、ICF 症候群の発症に関与する CDCA7 のアミノ酸残基が片鎖メチル化 DNA を認識することが分か

り、ICF 症候群で見られる CDCA7 変異によってもたらされる DNA 低メチル化の分子機構が明らかになりました。この知見は、ICF 症候群の病態メカニズム解明や将来的な治療法開発に貢献する可能性があります。

研究費

本研究は、JSPS 科研費 新学術領域「多様かつ堅牢な細胞形質を支える非ゲノム情報複製機構 (19H05741, JP19H05740)」(JP19H03143, JP19H05285) をはじめ、横浜市立大学 (学長裁量事業) 戦略的研究推進事業などの助成を受けて行われました。

論文情報

タイトル： CDCA7 is an evolutionarily conserved hemimethylated DNA sensor in eukaryotes

著者： Isabel E. Wassing†, Atsuya Nishiyama*†, Reia Shikimachi, Qingyuan Jia, Amika Kikuchi, Moeri Hiruta, Keita Sugimura, Xin Hong, Yoshie Chiba, Junhui Peng, Christopher Jenness, Makoto Nakanishi, Li Zhao, Kyohei Arita*, Hironori Funabiki*

† Equal contribution, * Corresponding authors

掲載雑誌： Science Advances

DOI： 10.1126/sciadv.adp5753

お問い合わせ先

<研究成果に関する窓口>

横浜市立大学 大学院生命医科学研究科 教授 有田恭平

<https://www.yokohama-cu.ac.jp/researcher/aritakyohei.html>

国立大学法人東京大学医科学研究所

癌防御シグナル分野 准教授 西山敦哉

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/cancerbiology/section04.html>

<取材対応に関する窓口>

横浜市立大学 プロモーション担当

<https://www.yokohama-cu.ac.jp/>

国立大学法人東京大学医科学研究所

プロジェクトコーディネーター室 (広報)

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/>

用語説明

- *1 ICF 症候群：免疫不全、染色体の不安定性、軽度の顔貌異常を特徴とした先天性の免疫不全症候群に分類される常染色体劣性遺伝病。
- *2 DNA メチル化：DNA 中のシトシン塩基の 5 位の炭素にメチル基 (CH₃-) が付加される反応。ヒトでは主に CG 配列中のシトシン塩基がメチル化される。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（多細胞の形質）を形成するために必須であり、DNA メチル化異常はがん化の原因の一つである。
- *3 クロマチンリモデリング因子：DNA がヒストンタンパク質に巻き付いた構造体をヌクレオソームと呼び、ヌクレオソームが集合してさらに高次の構造をとったものをクロマチンと呼ぶ。クロマチンリモデリング因子は、ヌクレオソームの配置替えをして、転写の状態を調節する因子である。
- *4 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、9 番目のリジンがメチル化されたヒストン H3 への結合、ヒストン H3 や複製因子 PAF15 のユビキチン化など様々な機能を発揮することで、DNA メチル化パターンの複製を誘導する。がん細胞では過剰発現しており、異常な細胞増殖に関与する。
- *5 クライオ電子顕微鏡単粒子解析：タンパク質の立体構造を明らかにする手法の一つ。生体分子をマイナス 180 °C 近い極低温状態の氷の中に包埋し、その状態で電子顕微鏡により観測する。観測した生体分子の粒子像を大量に撮影し、得られた数十万の粒子像から 3 次元に再構成することで立体構造を明らかにする手法のこと。
- *6 α-ヘリックス：タンパク質中の局所的な構造体で、左巻きのらせん状の構造を形成している領域。