

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23770131

研究課題名(和文)細胞分化を制御するヒストン脱メチル化酵素の構造機能解析

研究課題名(英文)Structural and functional analyses of a histone demethylase that regulates cell differentiation

研究代表者

仙石 徹 (Sengoku, Toru)

独立行政法人理化学研究所・横山構造生物学研究室・研究員

研究者番号：60576312

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：H3K27特異的脱メチル化酵素UTXは、転写抑制マークのH3K27me3を脱メチル化することにより動物細胞の分化・運命決定に関与する。本研究では、UTXのH3K27特異性決定機構を解明するため、X線結晶構造解析によりUTXとH3ペプチドとの複合体の立体構造を決定した。その結果、UTXは触媒ドメイン(Jumonjiドメイン)の他に固有の亜鉛結合ドメインを持つことが分かった。JumonjiドメインはH3K27とその周辺の残基を、亜鉛結合ドメインはH3L20とその周辺の残基を認識しており、2つのドメインを介してH3の幅広い領域を認識することにより厳密な特異性を獲得していることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Functions of eukaryotic chromatin are regulated by various post-translational modification. Methylations of histone lysine residues have distinct functions depending on their positions: H3K27 trimethylation (H3K27me3) marks repressive genes. UTX/KDM6A is an H3K27 specific demethylase involved in animal cell differentiation and cell fate decision. To elucidate the structural basis for H3K27 specific demethylation by UTX, we determined the crystal structure of its H3 complex, which showed that UTX contains a novel zinc-binding domain in its C-terminus as well as the catalytic Jumonji domain. The jumonji domain accommodates H3 residues around H3K27, whereas the zinc-binding domain recognizes H3L20 and its neighboring residues. Biochemical analysis of mutant UTX showed that these interactions are required for demethylation. Our study

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学、構造生物化学

キーワード：X線結晶構造解析 エピジェネティクス 分化 ケミカルバイオロジー

### 1. 研究開始当初の背景

ヒストンは、アセチル化・メチル化・リン酸化・ユビキチン化などの様々なエピジェネティック修飾を受け、それにより転写・複製・修復など DNA が関わる様々な生命現象が制御されている。リジン残基のメチル化はヒストンの様々な位置で起こり、その位置とメチル化状態（モノ・ジ・トリメチル化）によって異なる生物学的応答を引き起こす。例えば、ヒストン H3 リジン 27 のトリメチル化 (H3K27me3) は条件的ヘテロクロマチン形成を伴う転写抑制に、H3K9me3 はセントロメアやテロメアなどの恒久的ヘテロクロマチン形成に、H3K4me3 は転写活性化にそれぞれ働いている。これらの異なる生物学的応答を遺伝子座特異的に厳密に制御するために、ヒストン修飾酵素は高い反応特異性を持っている。

これまでに約 20 種類のヒストンリジン脱メチル化酵素が同定されている。その多くは Jumonji ドメインを触媒ドメインとして持ち、共通の反応機構（鉄イオンとケトグルタル酸を補因子とする）を持ちながら、それぞれ異なったリジン残基に働く。UTX/KDM6A は線虫からヒトまで広く保存された H3K27 特異的な Jumonji 型ヒストン脱メチル化酵素である。動物の発生において、UTX は標的遺伝子座にリクルートされ、メチル化 H3K27 を脱メチル化することにより、標的遺伝子の転写活性化に働く。その生物学的機能から、UTX には高い残基特異性（すなわち、H3K27 のみを認識し脱メチル化すること）が求められる。ところが、ヒストン上のメチル化リジンは互いによく似た配列中に位置している。特に、H3K9 と H3K27 は、”A-R-Kme-S” という同一の 4 残基モチーフ中に存在し、近傍残基のみを認識することでは区別は不可能である。UTX がどのように H3K27 のみを脱メチル化するかは分かっていなかった。

### 2. 研究の目的

UTX がどのように H3K27 特異的に脱メチル化を行うか、特にどのようにして H3K9 と区別しているか、を明らかにする

### 3. 研究の方法

ヒト UTX の触媒ドメインを含む C 末端領域（アミノ酸残基 880-1401）を結晶化し、ヒストン H3 ペプチド（アミノ酸残基 17-38）との複合体の X 線結晶構造解析を行った。また、同ドメインとヒストン H3 ペプチド（トリメチル化 K27 を含む）を用いて脱メチル化反応を生化学的に解析した。

### 4. 研究成果

UTX と H3 ペプチドの複合体構造を 1.85 Å 分解能で決定した（図 1）。UTX は触媒ドメインである Jumonji ドメインに加えて、新規フォールドである亜鉛結合ドメインを持つことが明らかになった（図 1）。Jumonji ドメインは H3K27 の周囲の残基（H3A25 から H3G33 まで）を、また亜鉛結合ドメインはよりアミノ末端側の領域（H3R17 から H3A21 まで）を結合していた。メチル化 H3K27 側鎖と補因子アナログは共に Jumonji ドメインの活性中心に結合しており、本構造は UTX が H3K27 をメチル化する直前の構造をとらえたものと

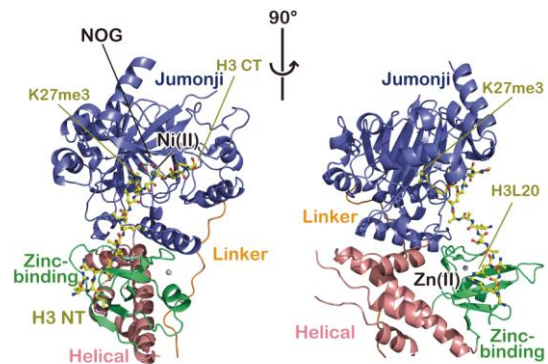


図 1 UTX の C 末端領域とヒストン H3 ペプチド、N-oxalylglycine（補因子アナログ）、Ni イオン（触媒に必要な鉄イオンのアナログ）複合体の立体構造。Jumonji ドメインを青、亜鉛結合ドメインを緑、ヘリカルドメインをピンク、H3 ペプチドを黄で示す。



Genes Dev. 2011 Nov  
1;25(21):2266-77. doi:  
10.1101/gad.172296.111. 査読有

- ② Shpargel KB, Sengoku T, Yokoyama S, Magnuson T. UTX and UTY demonstrate histone demethylase-independent function in mouse embryonic development. PLoS Genet. 2012 Sep;8(9):e1002964. doi: 10.1371/journal.pgen.1002964. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① Toru Sengoku and Shigeyuki Yokoyama, “Structural Basis for Histone H3 Lys27 demethylation by UTX/KDM6A” Fujihara Seminar 2013 年10月1日～10月4日 苫小牧
- ② Toru Sengoku and Shigeyuki Yokoyama, “Structural Basis for Histone H3 Lys27 demethylation by UTX/KDM6A” ICSG2013 2013年7月29日～8月3日 札幌
- ③ 仙石 徹、横山茂之 “Structural Basis for Histone H3 Lys27 demethylation by UTX/KDM6A” 日本分子生物学会年会 2011年12月16日 横浜
- ④ 仙石 徹、横山茂之 “Structural Basis for Histone H3 Lys27 demethylation by UTX/KDM6A” 日本エピジェネティクス研究会年会 2011年5月20日 熊本

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

理化学研究所のホームページ  
(<http://www.riken.jp/pr/press/2011/20111014/>) で、本研究発表のプレスリリースを行った。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

仙石 徹 (SENGOKU, Toru)

理化学研究所横山構造生物学研究室・研究員

研究者番号 : 60576312