

文部科学記者会・科学記者会

2024年6月21日
横浜市立大学

ヒトとマウスでは違う？ 卵子・初期胚で働くヒト DPPA3 による UHRF1 の機能阻害機構を解明

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（エビジェネティクス構造生命科学）有田恭平教授、白石奈央さん（2023年度博士前期課程修了）、同研究科 構造エピゲノム研究室 小沼剛助教、東京大学医科学研究所 西山敦哉准教授らを中心とした研究グループは、DNA メチル化*1 の維持に関与するヒト由来のタンパク質 UHRF1*2 との母性因子 DPPA3*3 の複合体構造を、X 線結晶構造解析法*4 で決定しました。本研究成果は、卵子や初期胚での DPPA3 による UHRF1 の機能阻害がヒトとマウスでは異なる可能性を明らかにし、ヒトの正常な卵子形成や受精、初期胚発生の基礎的なメカニズムの解明に貢献します。本研究成果は、「Communications Biology」に掲載されました（2024年6月19日）。

研究成果のポイント

- X 線結晶構造解析法でヒト由来の UHRF1 と DPPA3 の複合体構造を決定。
- DPPA3 と UHRF1 の相互作用はマウスとヒトで異なることを発見。
- ヒト DPPA3 はマウスと比べて UHRF1 の機能阻害効果が弱いことから、異なる分子機構で UHRF1 の機能を制御する可能性を示唆。

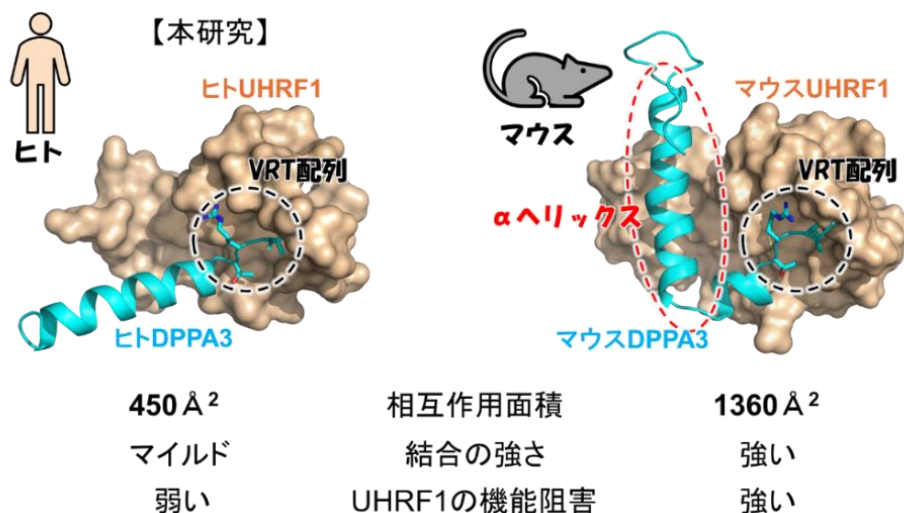


図1 左：今回決定したヒト由来 DPPA3 と UHRF1 の結晶構造。右：マウス由来 DPPA3 と UHRF1 の NMR 構造。ヒト由来 DPPA3 はマウス由来 DPPA3 と異なる様式で UHRF1 に結合することを明らかにした。ヒト由来 DPPA3 はマウス由来 DPPA3 よりも UHRF1 との接触面積が小さく、その結果 UHRF1 の機能を阻害する効果も弱い。

研究背景

マウスを用いた研究から、母性因子 DPPA3 の機能不全は卵子形成の異常を引き起こすことが報告されています。卵子において DPPA3 は DNA メチル化に関与する UHRF1 の働きを制御します。DPPA3 は UHRF1 のクロマチンへの結合を阻害し、輸送タンパク質と連携して UHRF1 を核外に輸送して細胞質に局在させます。DPPA3 を遺伝学的にノックアウトしたマウスでは UHRF1 の異常な細胞質局在や DNA メチル化異常を引き起こし、不妊になることが報告されています。このことから、DPPA3 による UHRF1 の機能や局在の制御は正常な生殖に必須です。

研究グループは、これまでにマウス DPPA3 とマウス UHRF1 の複合体構造を溶液 NMR 法^{*5}で決定し、詳細な結合様式から DPPA3 による UHRF1 の機能阻害機構を明らかにしました（横浜市立大学プレスリリース：[卵子形成に必須なタンパク質 DPPA3 による UHRF1 の機能阻害の分子機構を解明](#)、Hata et al., *Nucleic Acids Research* 2022）。しかし、DPPA3 は特定の立体構造を取らない天然変性タンパク質^{*6}であり、マウスとヒトではアミノ酸配列の保存度が非常に低いことがわかっていました。従って、ヒト DPPA3 がマウス DPPA3 と同じような働きで UHRF1 の機能を阻害するかどうかは不明でした。

研究内容

研究グループはまず、以前の研究で明らかにしたマウス DPPA3:UHRF1 複合体構造をもとにして、ヒト DPPA3 の C 末端領域とヒト UHRF1 PHD finger^{*7}が相互作用に重要であることを明らかにしました。しかし試験管内での実験から、マウス DPPA3 は UHRF1 PHD finger に非常に強く結合しますが、ヒト DPPA3 はマウス DPPA3 に比べて UHRF1 PHD finger との結合が約 30 倍も弱いことがわかりました。この相互作用の強さの違いを調べるために、X 線結晶構造解析法でヒト DPPA3 とヒト UHRF1 PHD finger の複合体構造を 2.45 Å 分解能で決定しました。以前に報告したマウス DPPA3:UHRF1 PHD finger 複合体では、DPPA3 間で保存されたアミノ酸配列である Val-Arg-Thr (VRT) 配列に加えて、その C 末端の 2 本の α -ヘリックス^{*8}構造が UHRF1 PHD finger と相互作用し、強固な結合を実現していました。今回決定したヒト DPPA3 と UHRF1 PHD finger の構造では、ヒト DPPA3 の VRT 配列はマウス DPPA3 と同じ様式で相互作用に寄与していました。しかし、ヒト DPPA3 の C 末端には α -ヘリックスは 1 本しか形成されていませんでした。また、このヒト DPPA3 の α -ヘリックスは UHRF1 PHD finger との相互作用には直接的に関与していないことがわかりました。これにより、マウス DPPA3 に比べてヒト DPPA3 は UHRF1 PHD finger との相互作用面積が少なく（ヒト: 450 Å², マウス: 1360 Å²）、このことがヒト DPPA3 とマウス DPPA3 の結合の強さに反映されていることがわかりました。

さらにヒト DPPA3 による UHRF1 の機能阻害を調べるために、アフリカツメガエルの卵抽出液を用いた解析を行いました（東京大学 西山敦哉准教授との共同研究）。その結果、マウス DPPA3 は UHRF1 のクロマチン局在を阻害し、DNA メチル化を抑制する働きがありました。しかし、ヒト DPPA3 は UHRF1 のクロマチン局在をあまり阻害できず、DNA メチル

化の抑制もほとんどできないことがわかりました。これらの結果から、ヒト DPPA3 は UHRF1 の機能阻害を起こす十分な働きを発揮できず、卵子や初期胚ではヒト DPPA3 はマウス DPPA3 とは異なる分子機構で UHRF1 の機能阻害を起こすことが示唆されました。

今後の展開

本研究では、卵子形成や生殖に必須なヒト由来 DPPA3 と UHRF1 の相互作用様式について、X線結晶構造解析法を用いて構造生物学的な観点から解明しました。さらに、これまでにマウスで得られていた知見とは異なるメカニズムで、ヒト DPPA3 が UHRF1 の機能阻害をする可能性を提唱しました。それでは、ヒト DPPA3 はどのような機構で UHRF1 の機能阻害をするのでしょうか？ 興味深いことに、アミノ酸配列の解析からヒト DPPA3 はマウス DPPA3 よりも液-液相分離^{*9}を起こしやすいことが示唆されました。このことから、液滴という特殊な環境下でヒト DPPA3 は UHRF1 の機能阻害を起こす可能性が考えられます。また、天然変性タンパク質は翻訳後修飾^{*10}を受けやすいことから、ヒト DPPA3 とマウス DPPA3 では異なる翻訳後修飾が導入されることで、その機能が制御される可能性が考えられます。

今後、ヒト DPPA3 の液滴形成能や翻訳後修飾を解析し、その細胞機能を明らかにすることで、卵子形成や生殖の基本原理の理解、DPPA3 や UHRF1 の制御不全が起こす不妊の原因に関する知見が得られることが期待されます。

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)」、ケモテクノロジーが拓くユビキチンニューフロンティア (19H05294, 19H05285)、基盤研究 B「DNA メチル化酵素の包括的な理解に向けた構造生命科学研究とその応用 (24K01967)」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： Structure of human DPPA3 bound to the UHRF1 PHD finger reveals its functional and structural differences from mouse DPPA3

著者： Nao Shiraishi, Tsuyoshi Konuma, Yoshie Chiba, Sayaka Hokazono, Nao Nakamura, Md Hadiul Islam, Makoto Nakanishi, Atsuya Nishiyama, Kyohei Arita

掲載雑誌： Communications Biology

DOI： 10.1038/s42003-024-06434-9

SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS
 横浜市立大学は、
 様々な取り組みを
 通じてSDGsの達
 成を目指します。



用語説明

*1 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。

*2 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。

*3 DPPA3：母親由来の遺伝子から発現する母性因子であり、卵子形成に重要な働きをする。卵子形成の過程で UHRF1 に結合して、クロマチン局在の抑制と異常な DNA メチル化を防ぐ働きをする。

*4 X線結晶構造解析法：精製したタンパク質を結晶化し、放射光から発生する高輝度な X 線を照射し、得られた回折イメージから結晶中のタンパク質の電子密度の情報を得る。得られた電子密度にアミノ酸をモデリングして、タンパク質の詳細な立体構造情報を得る方法。

*5 溶液 NMR 法：核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 法は、強い磁場中に置かれた原子核から発せられる信号 (NMR 信号) を観測し、分子の構造を解析する手法。

*6 天然変性タンパク質：特定の立体構造を形成しないタンパク質の事を天然変性タンパク質と呼び、結合相手の形に合わせて自身の構造を変化させて結合する。

*7 PHD finger : UHRF1 の一部の領域で、タンパク質間相互作用に関与する。DPPA3 に加えてヒストンタンパク質など様々なタンパク質の結合の足場となる。

*8 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。

*9 液-液相分離 : 細胞内で特定の生体分子が液滴状に凝集し、他の液体部分と分離する現象。これにより、細胞内で局所的な反応環境が形成され、特定の生化学的プロセスが効率的に進行する。天然変性タンパク質は液滴を形成しやすいことが知られている。

*10 翻訳後修飾 : 細胞内で合成（翻訳）されたタンパク質が受ける化学的な修飾。リン酸化、アセチル化、メチル化などの化学修飾がタンパク質の構造や機能を制御する。