

文部科学記者会・科学記者会 同時発表

2025 年 10 月 2 日
横浜市立大学

植物 DNA メチル化酵素 MET1 の働きを クライオ電顕で可視化 ～動物とは異なる“植物ならではの”の仕組みを発見～

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）の菊地杏美香さん（博士課程2年）、有田恭平教授、東京大学医科学研究所の西山敦哉准教授、東京科学大学の藤泰子准教授らを中心とした研究グループは、植物の DNA メチル化を維持する DNA 維持メチル化酵素 MET1 の構造を、クライオ電子顕微鏡（クライオ電顕）単粒子解析法^{*1}で明らかにしました（図1）。本研究成果は、植物独自の DNA メチル化維持の理解を深め、温度変化や乾燥などの環境ストレスに強い植物の創出に貢献する可能性があります。本研究成果は、「Nature Communications」に掲載されました（2025 年 9 月 26 日公開）。

研究成果のポイント

- クライオ電顕で植物の DNA 維持メチル化酵素 MET1 の活性化状態と自己阻害状態の構造の可視化に成功。
- MET1 は片鎖メチル化 CG 配列を含む DNA^{*2}を特異的にメチル化し、DNA の認識やメチル化の反応機構は動植物間で高度に保存されていた。
- 動物と植物のメチル化酵素で、自己阻害の機能は保存されているものの、その分子メカニズムは全く異なることを発見した。
- MET1 の自己阻害解除の因子の一つとしてユビキチン化^{*3}されたヒストン H3^{*4}タンパク質を同定した。
- 立体構造に基づいた改変型 MET1 の設計は、農業や食料問題への解決に貢献できると期待される。

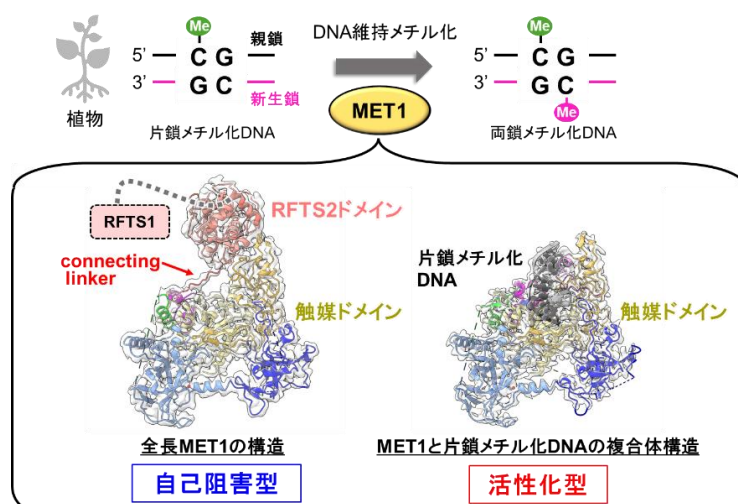


図1: 本研究の概要

本研究では、植物の DNA 維持メチル化酵素 MET1 の全長構造（左）と片鎖メチル化 DNA が結合した MET1 の複合体構造（右）をクライオ電子顕微鏡で明らかにした。

研究背景

多くの生物において、遺伝子の使い方はエピジェネティクスとよばれる生命現象が制御しています。DNA のシトシン塩基にメチル基を付加する DNA メチル化は、遺伝子のはたらきを抑制するエピジェネティクスの一つです。我われの身体を構成する細胞が、同じ DNA 配列を持ちながらも多種多様な形や働きを持つのは、DNA メチル化により働く遺伝子が細胞ごとに決められているからです。細胞が一度獲得した DNA メチル化情報は、細胞分裂後も「DNA 維持メチル化^{*5}」とよばれる生命現象によって、個体の生涯に渡って正確に継承されます。DNA 維持メチル化の破綻は、細胞のがん化や老化などのさまざまな疾患の原因となり、この研究分野は重要な社会問題の解決につながります。

動物の DNA 維持メチル化は CG 配列中のシトシン塩基に起こり、その情報は DNA 維持メチル化酵素 DNMT1 が維持します。我われの研究などによって、DNMT1 の構造生物学^{*6}的な研究が進み、動物における DNA 維持メチル化の仕組みの大半を理解できるようになってきました (Kikuchi et al., Nat. Commun. 2022: [2022 年 11 月記者発表: 細胞運命を決定するタンパク質 DNMT1 の活性制御機構を解明](#))。一方、植物では DNMT1 のオルソログ^{*7}である MET1 が DNA 維持メチル化に重要な役割を果たします。DNMT1 と MET1 はドメイン^{*8}構成が似ていることから、植物と動物における DNA メチル化は同様の仕組みによって維持されていると、多くの研究者が長年に渡って考えてきました。しかし、MET1 の立体構造が解明されていなかったことから、植物の MET1 が動物の DNMT1 と同じ原理で働くのかは、未解決の重要な問題として残されていました。植物の DNA メチル化が正しく維持されないと、発育異常や熱などのストレス応答制御の異常を引き起こすことが知られています。そのため、MET1 が制御する DNA 維持メチル化のメカニズムを明らかにすることは、植物の環境適応による生存戦略を理解する上で重要です。今回研究グループは、シロイヌナズナの MET1 単体の構造、および片鎖メチル化 DNA が結合した複合体構造を、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法で決定し、MET1 による植物の DNA メチル化維持の原理を解明することを目指しました。

研究内容

本研究では、まず植物の DNA メチル化酵素 MET1 の DNA メチル化活性の特性を調べるために、試験管内で MET1 の機能を評価しました。その結果、MET1 は片鎖メチル化 CG 配列を含む DNA だけを特異的にメチル化することが分かりました。これまでの研究から、動物の DNMT1 は、N 末端にある RFTS ドメインが C 末端にある DNA 結合ポケットに蓋をして DNA 結合を妨げる、いわばブレーキが掛けられた自己阻害状態を取ることが報告されています。植物 MET1 は 2 つの RFTS ドメインを持っているため、これらが DNMT1 と同じように DNA 結合を阻害するかを確かめました。その結果、2 つの RFTS ドメインを取り除いた触媒ドメインだけの MET1 は、全長 MET1 と比較して DNA メチル化活性が 15 倍高いことが分かりました。つまり、植物のメチル化酵素も動物と同様に自己阻害状態をとり、それには 2 つの RFTS ドメインが関与していることが分かりました (図 2)。

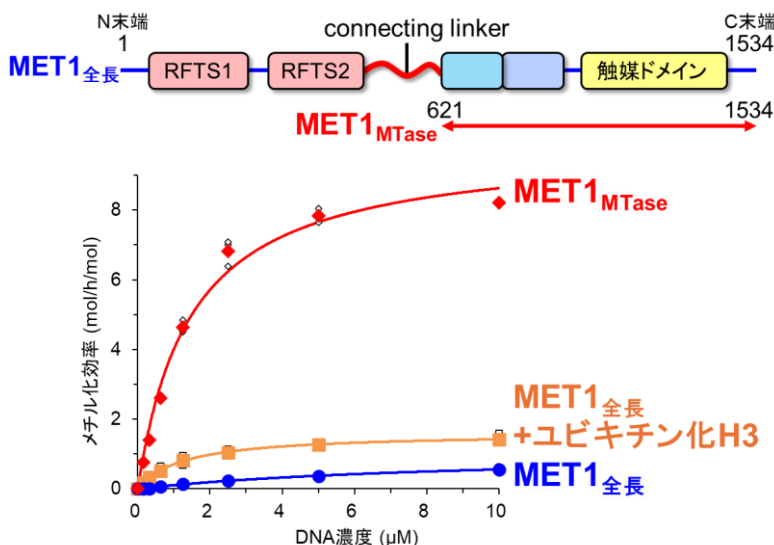


図2 MET1 のドメイン構造 (上) と DNA メチル化活性の評価 (下)

活性実験で使用した触媒ドメインのみの MET1 (MET1_{MTase}) は、ドメイン構造下部の赤矢印で示した領域から構成される。活性実験では、MET1 の片鎖メチル化 DNA に対するメチル化効率を、全長 MET1 (MET1_{全長}, 青) とユビキチン化 H3 存在下の全長 MET1 (MET1_{全長} + ユビキチン化 H3, オレンジ)、そして MET1_{MTase} (赤) で比較した。

次に、基質である片鎖メチル化 DNA が結合した MET1 と MET1 単体の立体構造を、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法で決定し、MET1 の活性化状態と自己阻害状態を可視化しました。測定は理化学研究所（横浜キャンパス）の加速電圧 300 kV のクライオ電子顕微鏡を使用し、原子レベルの分解能で MET1 の立体構造を決定しました。この構造解析により、植物と動物のメチル化酵素でどのような原理が保存され、どのような原理が植物独自なのかが明らかになりました。

活性化型 MET1 と DNMT1 の構造を比較すると、基質である片鎖メチル化 DNA の結合様式や、メチル化反応に働くアミノ酸の配置が、MET1 と DNMT1 でよく一致していることがわかりました。このことから、DNA メチル化を付加するメカニズムは、動物と植物の間で高度に保存されていることがわかりました。次に、自己阻害型の MET1 と DNMT1 の構造を比較すると、自己阻害に関与する RFTS ドメインの触媒ドメインへの入り方が上下逆向きであることがわかりました。DNMT1 では、RFTS ドメインの C 末端領域（図 3 のオレンジ色）が触媒ドメイン（図 3 の黄色）に入り込んで自己阻害構造を取る一方で、MET1 では、RFTS2 ドメインの N 末端領域（図 3 の青色）が触媒ドメインに入り込んでいました。さらに構造を詳しく見ると、MET1 には DNMT1 にはない、DNA 結合を阻害する新たな領域 (connecting linker、図 3 の赤色) があることを発見しました。

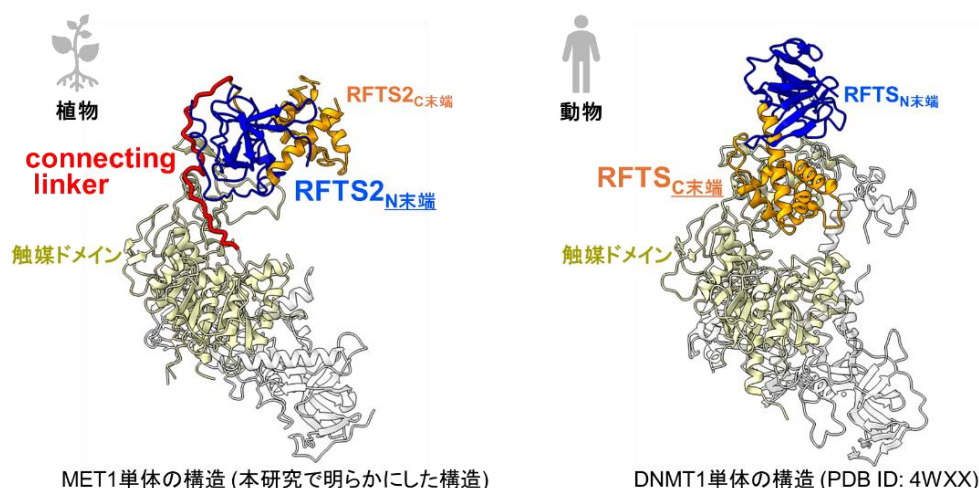


図3 植物のメチル化酵素 MET1 単体（左）と動物のメチル化酵素 DNMT1 単体（右）の構造比較
MET1 の触媒ドメイン（黄）には RFTS2 ドメインの N 末端領域（青）が、DNMT1 の触媒ドメインには RFTS ドメインの C 末端領域（オレンジ）が入り込んでいる。さらに、MET1 における DNA 結合の阻害は、RFTS2 ドメインだけでなく connecting linker（赤）も関与することを発見した。

動物の DNMT1 の自己阻害の解除には、ユビキチン化ヒストン H3 の RFTS ドメインへの結合が重要であることが知られています（Ishiyama et al., Moll Cell 2017: [2017 年 10 月記者発表: 細胞固有の性質が遺伝する仕組みを解明](#)）。植物 MET1 もユビキチン化 H3 により自己阻害が解除され、DNA メチル化活性が促進されるか調べるために、ユビキチン化 H3 存在下での全長 MET1 の DNA メチル化活性を評価しました。その結果、ユビキチン化 H3 は MET1 の DNA メチル化活性を促進し、自己阻害の解除に働くものの、その活性は触媒ドメインのみの MET1 の DNA メチル化活性には至らないことがわかりました（図 2）。このことから、ユビキチン化 H3 は部分的に MET1 の自己阻害を解除するものの、MET1 の完全な活性化には動物とは異なる新たな因子が必要である可能性が示されました。

今後の展開

これまでの植物の DNA メチル化の研究は、遺伝子を欠損させた際に生じる形質変化を解析する遺伝学的研究が中心に行われ、その機能を担う実体であるタンパク質分子の詳細な構造や作用機序に関する研究は、ほとんど手つかずの領域として残されていました。本研究では、クライオ電子顕微鏡によって、植物の DNA メチル化で重要な働きをする MET1 の働きを可視化することに成功しました。MET1 の立体構造情報から、植物と動物の DNA メチル化酵素間で自己阻害の機能は保存されているものの、そのメカニズムは全く違うことを明らかにしました。植物の DNA メチル化は、環境変化に適応するために世代を超えて継承されるので、植物の生存に重要であると考えられています。今回の研究成果に基づいて、例えば CG 配列以外の DNA 配列もメチル化できるなどの、新しい機能を付加した改変型 MET1 が作成できれば、乾燥や高温といった様々なストレスに強い植物を生み出せる可能性があります。これにより、将来的には農業や食料問題への解決に貢献できることが期待されます。

研究費

本研究は、JSPS 科研費 (JP19H05741, 24K01967, 24K21950, 25H01301) 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 (SK201904)、次世代研究者挑戦的研究プログラム (JPMJSP2179)、笹川科学研究助成などの助成を受けて行われました。

論文情報

タイトル：Cryo-EM reveals evolutionarily conserved and distinct structural features of plant CG maintenance methyltransferase MET1

著者：Amika Kikuchi, Atsuya Nishiyama, Yoshie Chiba, Makoto Nakanishi, Taiko Kim To, Kyohei Arita

掲載雑誌：Nature Communications

DOI：<https://doi.org/10.1038/s41467-025-63765-9>



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 クライオ電子顕微鏡（クライオ電顕）単粒子解析法：タンパク質などの生体分子の立体構造を明らかにする手法の一つ。生体分子を急速に凍結させ、その状態を電子顕微鏡で観測する。単粒子解析法により、異なる向きから撮影された多数の粒子像をもとに3次元に再構成することで、生体分子の立体構造を明らかにする。2017年にノーベル化学賞を受賞した技術である。
- *2 片鎖メチル化 DNA：CG 配列は回文構造をとるため、DNA の両鎖に対称的にメチル化が起こり、これが DNA メチル化として機能する。DNA が複製する際、新たに合成される新生鎖には DNA メチル化の情報が引き継がれないため、親鎖のみがメチル化された片鎖メチル化 DNA が一過的に生じる。
- *3 ユビキチン化：基質となるタンパク質のリジン残基に、球状タンパク質のユビキチンが共有結合で付加される翻訳後修飾。基質に付加されたユビキチンのリジン残基には、さらにユビキチンが数珠状に付加されることがあり、タンパク質分解やシグナル伝達、DNA 損傷修復などのタンパク質の機能を制御する。

- *4 ヒストン H3：ヌクレオソームを構成する 5 種類のヒストンタンパク質のうちの一つであり、ゲノム DNA を巻き付かせて核内に収納させる役割をもつ。ヒストン H3 の N 末端はメチル化やアセチル化などの化学修飾を受け、遺伝子発現の制御に関与する。
- *5 DNA 維持メチル化：DNA 複製期で産出された片鎖メチル化 DNA を両鎖メチル化 DNA に戻す生命現象。細胞が分化の過程で獲得した DNA メチル化情報は、細胞分裂を経ても娘細胞に正確に継承される。DNA 維持メチル化により、細胞の形質を保ったまま増殖することができる。
- *6 構造生物学：タンパク質や DNA、およびその複合体などの生体分子の立体構造を決定し、その立体構造情報に基づいて生命現象を理解する学問。X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡などの手法を用いて、原子レベルで生体分子を観察する。生命現象の理解に加えて、創薬研究に直結する基盤的な研究分野である。
- *7 オルソログ：共通の祖先遺伝子に由来し、種分化により異なる生物に受け継がれた相同の機能を持つ遺伝子。多くの場合、異なる種間でも同様の機能を持つ。
- *8 ドメイン：タンパク質の中に存在する構造単位で、その部分だけで安定した立体構造をとり、独立した機能を持つ。複数のドメインが組み合わさることで、タンパク質全体の多様な構造と機能が決まる。