

文部科学記者会・科学記者会 同時発表

2025 年 12 月 2 日  
横浜市立大学

## UHRF1 によるヌクレオソーム認識と ヒストン H3 ユビキチン化の構造基盤を解明

横浜市立大学大学院生命医科学研究科 構造生物科学研究室（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）らの研究グループは、DNA メチル化<sup>\*1</sup>維持に必須な E3 ユビキチンリガーゼ UHRF1<sup>\*2</sup>が、ヌクレオソーム（DNA とヒストンの複合体）に結合し、ヌクレオソーム中のヒストン H3<sup>\*3</sup>をユビキチン化<sup>\*4</sup>する構造的しくみをクライオ電子顕微鏡<sup>\*5</sup>（cryo-EM）により解明しました。本成果は、DNA メチル化の安定維持機構を分子レベルで理解するうえで重要な知見であり、がんをはじめとするエピジェネティック異常疾患の治療標的探索にも貢献することが期待されます。

本研究成果は、米国生化学・分子生物学会誌 Journal of Biological Chemistry に掲載されました（2025 年 11 月 4 日オンライン公開）。

### 研究成果のポイント

- DNA メチル化の維持にかかわる E3 ユビキチンリガーゼ UHRF1 の TTD ドメイン<sup>\*6</sup>がヌクレオソームの acidic patch と相互作用することを発見した。
- TTD と acidic patch 相互作用は UHRF1 による、効率的なヒストン H3 のユビキチン化に寄与することが明らかとなった。

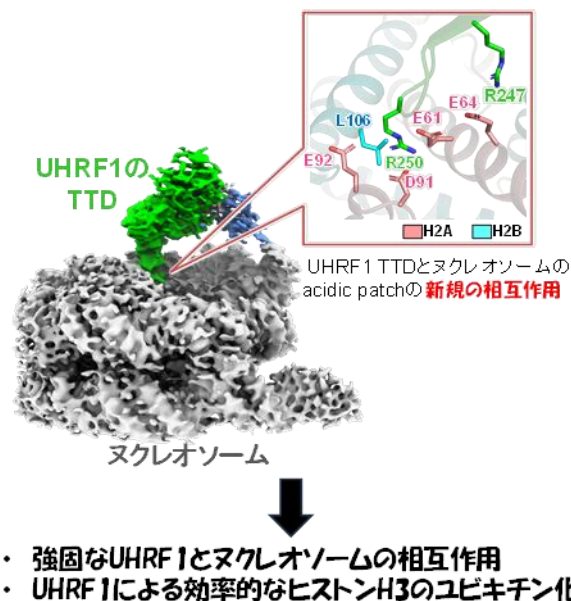


図1 UHRF1-ヌクレオソーム複合体のクライオ電子顕微鏡による構造解析。右上の拡大図は、UHRF1 TTD ドメインのアルギニンアンカーとヌクレオソームの Acidic patch との相互作用

## 研究背景

哺乳類ゲノムの約 70~80% の CpG サイト中のシトシン塩基に起こる代表的なエピジェネティック修飾である DNA メチル化は、遺伝子発現の抑制、転移因子のサイレンシング、X 染色体不活性化、ゲノム安定性の維持に寄与します。DNA 複製後には一過的に、新生鎖がメチル化されないヘミメチル化サイトが生じますが、その後、E3 ユビキチンリガーゼ UHRF1 と DNA メチルトランスフェラーゼ DNMT1 が協働してメチル化パターンを再構築します。この DNA 維持メチル化により、細胞は個体の生涯を通してその形質を維持し、正常に細胞増殖ができます。DNA メチル化の異常は、がん抑制遺伝子のサイレンシングやトランスポゾンの脱抑制によるゲノムの不安定化を起こし、がんなどの様々な疾患の発症に関与します。

UHRF1 は、UBL, TTD, PHD, SRA, RING の 5 つのドメインから構成され、SRA ドメインがヘミメチル化 DNA を認識する一方で、TTD および PHD はヒストン H3 の N 末端や 9 番目のリジンのメチル化状態 (H3K9me3) を読み取ります。特に、UHRF1 は H3K9me3 を有するヌクレオソーム上でヒストン H3 の複数のリジン残基をモノユビキチン化し (マルチプルモノユビキチン化)、その結果生じるユビキチン修飾が DNMT1 の RFTS ドメインに読み取られ、DNMT1 はクロマチンに局在します。これまでの研究では「UHRF1 がどのようにヌクレオソーム上のヒストンおよび DNA を同時に認識し、マルチプルモノユビキチン化を実行しているのか」という立体構造的機構は未解明でした。

## 研究内容

研究グループは、ヒストン H3 tail のメチル化修飾 (H3K9me3) と、異なる DNA 上の部位に片鎖のみがメチル化されたヘミメチル化 CpG サイトを 1 か所持つヌクレオソームを 3 種類作成しました。これらのヌクレオソームと UHRF1 複合体をクライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) を用いた単粒子解析 (single-particle analysis) により、2.7~2.9 Å の分解能で再構成しました。

その結果、ヌクレオソーム表面にある acidic patch に対し、UHRF1 の TTD 中の Arg247 および Arg250 が入り込むアルギニンアンカーとして機能し、相互作用が形成されていることを見出しました。TTD ドメインはこれまで H3K9me3 修飾と結合することが知られていたが、UHRF1 の TTD とヌクレオソームの acidic patch との相互作用は、ヌクレオソームスケールでの複合体を観察したことによって初めて示された相互作用でした。また、UHRF1 のアルギニンアンカーをアラニンに置換した TTD 変異体では、UHRF1 のヒストン H3 に対するユビキチン化活性が減少しました。これにより、acidic patch との相互作用は、UHRF1 による効率的なユビキチン化に寄与していることが明らかになりました。さらには、TTD の H3K9me3 結合領域と acidic patch 相互作用領域は重複しないことから、TTD は H3 tail と結合した状態で acidic patch と相互作用していると考えられます。これにより H3 tail の flexibility が低下し、UHRF1 の H3 tail へのユビキチン化効率が上昇するという DNA メチル化部位とヒストン修飾情報を統合的に認識する UHRF1 の全体的な空間配置モデルが提示さ

れました。

## 今後の展開

今回の研究により、UHRF1 がヒストン修飾と DNA メチル化の橋渡しを行う際の立体構造的基盤が明らかになりました。特に、TTD と acidic patch の相互作用は、これまで想定されていなかった UHRF1 の第 4 の結合モードであり、DNA メチル化の「維持シグナル」を効率よく生成するための新しい仕組みであると考えられます。

UHRF1 や DNMT1 の異常は、多くのがん細胞で観察される DNA メチル化パターンの乱れと密接に関連しています。そのため、今回の構造情報は、UHRF1 を標的とする新規エピジェネティック治療薬の設計においても重要な足がかりになると期待されます。

## 研究費

本研究は、JSPS 科研費（18H02392, 19H05294, 19H05741, 24K21950, 24K01967, 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）の助成、日本医療研究開発機構（AMED）生命科学・創薬研究支援基盤事業（BINDS）（JP23ama121009）の支援を受けて行われました。

## 論文情報

タイトル：Structural basis for E3 ubiquitin ligase UHRF1 binding to nucleosome core particle and histone H3 ubiquitination

著者：Reia Shikimachi, Shun Matsuzawa, Hiroki Onoda, Tsuyoshi Konuma, Atsushi Yamagata, Mikako Shirouzu, Kosuke Yamaguchi, Kyohei Arita

掲載雑誌：JBC

DOI：https://doi.org/10.1016/j.jbc.2025.110894



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（CH<sub>3</sub>-）が付加される  $\alpha$ -ヘリックス反応。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ユビキチン化酵素。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 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。
- \*4 ユビキチン化：基質となるタンパク質内の特定のリジン残基に、球状タンパク質である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、タンパク質分解をはじめシグナル伝達や DNA 損傷修復などのタンパク質の機能を制御する。
- \*5 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。
- \*6 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。