

## ヒストンタンパク質の新たな翻訳後修飾としてヒスチジンメチル化を発見

生物の設計図であるゲノム DNA は、真核生物では球状タンパク質（ヒストン）に巻き付いて、コンパクトに核内に納められています。ヒストンにはさまざまな翻訳後修飾が起こり、それによって遺伝子の発現が調節されていますが、本研究では、新たにヒスチジン残基のメチル化修飾を発見しました。

真核生物のすべての遺伝情報が記されたゲノム DNA は、非常に長い二重らせんであり、ヒストンと呼ばれる球状のタンパク質に巻きつき幾重にも折りたたまれて、核内に収められています。ヒストンにはさまざまな翻訳後修飾（化学基の付加）が起きますが、中でも、ヒストンを構成するアミノ酸の一つであるリジン残基のメチル化は、ゲノム DNA の折りたたみ具合を調節し、遺伝子の転写を ON/OFF するスイッチとして働きます。

本研究グループは、タンパク質のメチル化修飾の有無や様式を高精度に見分ける独自の技術を駆使し、これまで確認されていなかったヒストンの翻訳後修飾として、ヒスチジン残基のメチル化を見いだしました。ヒストンは、H2A、H2B、H3、H4 という4種類のコアヒストンタンパク質が二つずつ集まった8量体で構成されますが、このうちヒスチジンメチル化は、ヒストン H2A の82番目と H3 の39番目のヒスチジン残基に起こることが分かりました。またヒストン H3 のすべてのメチル化状態を調べた結果、メチル化修飾のほとんどはリジン残基に集中していたことから、ヒストンのヒスチジン残基のメチル化は、限られた特定の遺伝子領域に存在するヒストンに起こることが示唆されました。

ヒストンには多くのリジン残基があり、メチル化やアセチル化などの多様な翻訳後修飾が起こります。その組み合わせパターンはヒストンコードと呼ばれ、転写調節を指令する暗号と考えられており、今回のヒスチジン残基のメチル化修飾の発見は、ヒストンコードの解読につながる新たな一歩になると期待されます。

### 研究代表者

筑波大学生存ダイナミクス研究センター（TARA）

大徳 浩照 講師

深水 昭吉 教授

## 研究の背景

真核生物の核内には、全遺伝情報が書き込まれた長大なゲノム DNA が、極めてコンパクトに収められています。その仕組みはヒストンと呼ばれる球状のタンパク質が担っており、ゲノム DNA は一つのヒストンに 1.7 周分巻き付いたヌクレオソーム構造を基本単位とし、これがさらに幾重にも折りたたまれたクロマチン構造という凝集体を形成しています（図 1 左）。しかし、遺伝情報が読み取られる転写の場面では、その遺伝子周辺のクロマチン構造がいったんほどかれる必要があります。このとき、ヒストンの多様な翻訳後修飾<sup>注1)</sup>、中でもメチル化が重要な役割を果たしています。これまでの研究から、ヒストンを構成するアミノ酸の一つであるリジン残基のメチル化様式の組み合わせが、転写の ON/OFF を決める暗号(ヒストンコード)であることが明らかになりつつあります。一方、半世紀以上前から、ヒストンのヒスチジン残基にもメチル化修飾の存在が示唆されていましたが、その真偽は不明のままでした。

## 研究内容と成果

DNA が巻き付くヒストンは、H2A、H2B、H3、H4 とよばれる 4 種類のコアヒストンタンパク質が二つずつ集まった 8 量体で構成されます（図 1 右）。本研究では、初めに、ウシの胸腺から精製したヒストンをアミノ酸レベルまで分解し、これを LC-MS/MS<sup>注2)</sup> という質量分析装置を用いて分析したところ、ヒストン 8 量体のいずれかのヒスチジン残基がメチル化されていることを見いだしました。次に、その位置を明らかにするため、メチル化が強く検出されたヒストン H2A と H3 を生化学的手法で分離・精製し、これらをタンパク質分解酵素により短いペプチド断片（アミノ酸が複数結合したもの）に切断した後、MALDI-TOF/MS<sup>注3)</sup> という質量分析装置で解析しました。その結果、H2A では球状部分にある 82 番目のヒスチジン残基、H3 では N 末端側の天然変性領域内（立体構造を取らない部分）にある 39 番目のヒスチジン残基がメチル化されていることを同定しました。またこの 2 カ所のメチル化は、ヒトの培養細胞株から精製したヒストンでも同様に見られたことから、哺乳類に共通のヒストン修飾であることが示唆されました。さらに、ヒストン H3 のすべてのメチル化状態を LC-MS/MS を用いて調べたところ、メチル化修飾のほとんどがリジン残基に集中していたことから、少なくとも通常環境下では、ヒストンのヒスチジン残基のメチル化は、特定の限られた遺伝子領域に存在していると考えられました。

## 今後の展開

ヒストンの翻訳後修飾として、新たにヒスチジンメチル化が見つかったことで、転写調節を指令するヒストンコードにさらなる多様性と複雑性が加わりました（図 2）。特に H3 のヒスチジンメチル化部位の近くに存在する 36 番目のリジン残基のメチル化は、転写活性化の目印として知られており、これらのメチル化部位が互いに干渉し合う可能性を検討する必要があります。また今回の研究から、細胞内にはヒストンのヒスチジンメチル化を担う酵素が存在することが強く示唆されます。現時点では、既知のヒスチジンメチル化酵素によるヒストンのメチル化は検出できないことから、ヒストンを手掛かりとした新たなヒスチジンメチル化酵素の探索にも取り組む予定です。

参考図

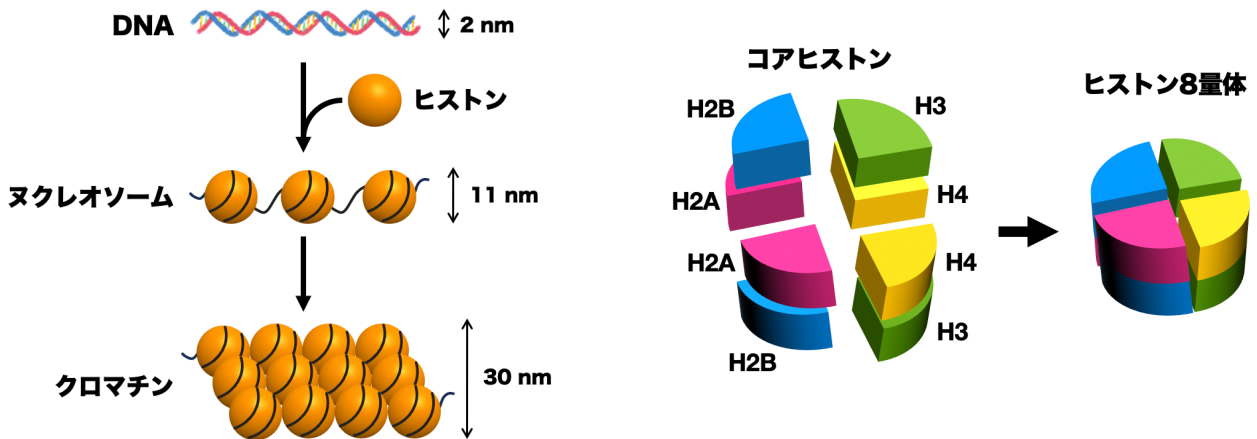


図1 ゲノム DNA はヒストンに巻き付いて凝縮する

真核生物のゲノム DNA は、球状のタンパク質であるヒストンに巻き付いてヌクレオソームという基本単位となり、これがさらに折りたたまれて凝縮し、クロマチンを形成する（左図）。球状のヒストンは、4つのコアヒストンタンパク質 H2A、H2B、H3、H4 が2分子ずつ集まった8量体で構成される（右図）。

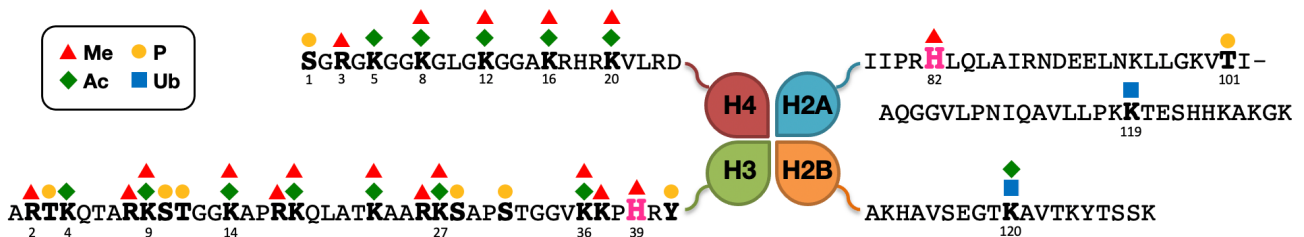


図2 ヒストンは多様な翻訳後修飾を受ける

図中のアルファベットは、コアヒストンを構成する各アミノ酸を表す。メチル化を赤色の△、リン酸化を黄色の○、アセチル化を緑色の◇、ユビキチン化を青色の□で示した。H2A の82番目の H と H3 の39番目の H が、今回発見したメチル化されるヒスチジン残基である。

用語解説

注1) 翻訳後修飾

遺伝子から転写、翻訳された後のタンパク質に、リン酸基やアセチル基、メチル基などの化学修飾、または小さなタンパク質であるユビキチンなどが、酵素によって付加されること。これによりタンパク質の構造や化学的性質が変化し、その機能に多様性が生まれる。

注2) LC-MS/MS

分離能力に優れた液体クロマトグラフ (LC) と定性能力に優れた質量分析計 (MS) を組み合わせた装置で、本研究では、タンパク質の分解物に含まれるメチルアミノ酸の同定および定量に用いた。

注3) MALDI-TOF/MS

マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析計。タンパク質の配列決定や翻訳後修飾の種類や部位の同定が可能であり、本研究では、ヒストン H2A と H3 のヒスチジンメチル化部位の同定に用いた。

## 研究資金

本研究は、JST の次世代研究者挑戦的研究プログラム (JPMJSP2124 : 林岳宏)、日本学術振興会の科学研究費補助金 (科研費) : 基盤研究 (B) (20H029947 : 大徳浩照)、基盤研究 A (23H00321 : 深水昭吉) および、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の革新的研究開発支援事業 (CREST) 「プロテオスタシスの理解と革新的医療の創出」研究開発領域の研究開発課題「不可逆的タンパク質メチル化を介した進行性および加齢性心腎障害の分子基盤」(JPgm1410010 : 深水昭吉) の支援によって実施されました。

## 掲載論文

【題名】 Histidine *N*<sub>ε</sub>-methylation identified as a new post-translational modification in histone H2A at His-82 and H3 at His-39.

(新たなヒストンの翻訳後修飾としてヒストン H2A の His-82 とヒストン H3 の His-39 のヒスチジン *N*<sub>ε</sub> メチル化修飾を同定)

【著者名】 Takahiro Hayashi, Hiroaki Daitoku, Toru Uetake, Koichiro Kako, and Akiyoshi Fukamizu

【掲載誌】 *The Journal of Biological Chemistry*

【掲載日】 2023 年 8 月 4 日

【DOI】 10.1016/j.jbc.2023.105131

## 問合わせ先

【研究に関すること】

深水 昭吉 (ふかみず あきよし)

筑波大学生存ダイナミクス研究センター (TARA) 教授

URL: [https:// akif2.tara.tsukuba.ac.jp/Top\\_iweb/Welcome.html](https://akif2.tara.tsukuba.ac.jp/Top_iweb/Welcome.html)

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: [kohositu@un.tsukuba.ac.jp](mailto:kohositu@un.tsukuba.ac.jp)