

## 分子動力学計算で解明する維持メチル化酵素 DNMT1 の活性化メカニズム

保田 拓範 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 原田 隆平 (筑波大学 計算科学研究センター)

### 【導入】

全身の細胞は原則として同じ塩基配列を有するにも関わらず、細胞は異なる性質を持つ。この理由は細胞ごとに DNA 修飾が異なるためである。例えば、DNA のメチル化は遺伝子の発現を制御するため、メチル化のパターンが異なれば発現する遺伝子は異なる。つまり、メチル化パターンは細胞固有の性質を決定する要因の一つである。ゲノム刷り込みや X 染色体の不活性化は DNA メチル化によって引き起こされる代表例である。哺乳類において、DNA のメチル化は主にシトシン (C) とグリシン (G) が豊富に含まれる配列 (CpG island) で生じ、シトシンがメチル化される。また、DNA のメチル化は役割に応じて 2 種類に分別される。1 つは、メチル化パターンを確立する *de novo* メチル化である。*de novo* メチル化は配偶子形成中および初期胚発生時に、非メチル化 DNA を新規にメチル化する。一方で、DNA は半保存的に複製されるため、新生鎖では 2 本鎖の片側のみがメチル化されている (ヘミメチル化)。そこで、細胞の性質を引き継ぐためには、ヘミメチル化 DNA を 2 本鎖ともメチル化する必要がある。このような過程を維持メチル化と呼び、メチル化パターンを娘細胞に引き継ぐ役割を担う。

DNMT1 (維持メチル化酵素 1) は維持メチル化の中心として働く酵素であり、DNA にメチル基を付加する酵素である。DNMT1 の活性は DNA 複製時のみ要求されたため高度に制御される必要がある。具体的には、DNA 複製時以外は DNMT1 の DNA 結合部位が露出しておらず活性がない。そのため、活性化には DNMT1 の構造変化が必要であると考えられてきた。<sup>[1]</sup> 近年、ユビキチン化されたヒストンが DNMT1 を活性化することが明らかになった (図 1)。<sup>[2]</sup> しかし、ユビキチンとヒストンの複合体が DNMT1 の構造変化を誘起する活性化メカニズムは不明であった。本研究では、分子動力学シミュレーション (MD) を用いて DNMT1 の活性化におけるユビキチンとヒストンの機能解明を目的として研究を行った。

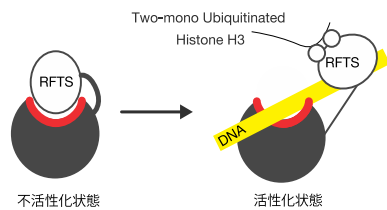


図 1. DNA 結合部位の露出と活性化

### 【方法】

タンパク質は生体内で絶えず揺らいでおり、構造変化と生体機能は深く関係している。つまり、生体機能を知る上でタンパク質ダイナミクスを調べることは重要である。MD はタンパク質の動きをコンピューターにより追跡する計算手法であり、生体機能を理解する上で有効である。具体的には、MD で得られる構造 (スナップショット) を映画のコマ撮りのようにつなぎ合わせることで、構造変化を追跡する。近年では、コンピューターの計算性能と計算方法の発展<sup>[3]</sup>により、生体機能に関する重要な構造変化を追跡できるようになってきた。

### 【結果と考察】

DNMT1 の活性化におけるユビキチンとヒストンの機能を解明するため、DNMT1 の結晶構造 (PDB ID: 4wxx) と DNMT1、ユビキチン、ヒストンの複合体結晶構造 (PDB ID: 5wvo) を用いて以下①-④の初期構造を作製した。コントロールとして、ユビキチンやヒストンの影響を受けない環境下における DNMT1 の構造変化を確認するため①を作製した。次に、ユビキチンとヒストンが DNMT1 に与える影響を観察するため②と③を作製した。更に、溶液中でのヒストンとユビキチンの安定構造を探索するため④を作製した。以上より①-④を初期構造として MD を実行した。

- ① DNMT1 のみ
- ② DNMT1 + ユビキチン 2 量体
- ③ DNMT1 + ヒストン
- ④ ユビキチン 2 量体 + ヒストン

②から得られた構造の時系列データ (トラジェクトリ) を解析した結果、ユビキチンと DNMT1 の間で安定した水素結合が頻繁に観測された。故に、ユビキチンと DNMT1 の結合は安定しているという結論に至った。更に、②におけるユビキチン 2 量体の配置は④から得られた 2 つのユビキチンの配置と一致していた。一方で、先行研究よりユビキチン単体では DNMT1 に結合できないことが示されていることから、ヒストンはユビキチン 2 量体が DNMT1 に結合しやすい配置を保つ働きをしていると推察される。また、③で得られたトラジェクトリからヒストンと DNMT1 の結合過程を抽出、解析した。その結果、DNMT1 がヒストンと結合する際に構造変化を起こしていることが明らかになった。具体的には、DNA が結合すると推測される領域の揺らぎが大きくなっていった。以上の結果から、ヒストンは (I) ユビキチンの配置を維持し、(II) DNMT1 の構造変化を誘起するという 2 つの働きを持つことが示唆された。

一方で、ヒストン単体では DNMT1 を活性化できず、ユビキチンも必要であることが実験的に示されており、ユビキチンも DNMT1 の構造変化に関係していることが示唆される。以上より、初期段階においてヒストンにより構造変化が誘起され、以降はユビキチンにより大規模な構造変化が誘起される活性化モデルを提案した。現在、活性化モデルを実証する MD を計算中である。

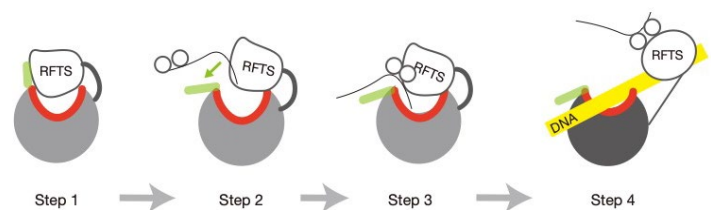


図 2. DNMT1 の活性化モデル

### 【参考文献】

1. Z.-M. Zhang, et al., *J. Mol. Biol.*, **15**, 2520-2531 (2015)
2. S. Ishiyama et al., *Mol. Cell.*, **68**, 350-360 (2017)
3. T. Yasuda et al., *J. Chem. Inf. Model.*, **60**, 4020-4029 (2020)