

植物の環境ストレス応答における遺伝子発現調節機構に不可欠な因子を解明
～植物だけが持つタンパク質部分構造の役割～

研究成果のポイント

1. タンパク質の翻訳後修飾の1つである SUMO 化^{注1}に関わる因子(合成酵素)SIZ1 内に存在する部分構造の PHD フィンガー^{注2}が、トリメチル化されたヒストン H3(染色体を構成するタンパク質)を特異的に認識することがわかりました。
2. また、SIZ1 は、遺伝子発現にヒストンのメチル化に関わる ATX タンパク質(酵素タンパク質)と相互作用することが明らかになりました。
3. これらのことから、SIZ1 による遺伝子発現調節に、トリメチル化ヒストン H3 や ATX タンパク質との相互作用が重要であることが示されました。

国立大学法人筑波大学生命環境系の三浦謙治教授、寿崎拓哉准教授らの研究グループは、植物における環境ストレス応答の遺伝子発現調節において、タンパク質の翻訳後修飾の1つであるSUMO化に関わる因子のSIZ1(SUMO E3リガーゼ)が持つPHD(plant homeodomain)フィンガーが、遺伝子発現に関わるトリメチル化ヒストンH3を特異的に認識することを明らかにしました。

SUMO化は、植物の環境ストレス応答や、植物ホルモン応答といったシグナル伝達や遺伝子発現調節に重要な役割を担っていることが知られています。SUMO化にはE1, E2, E3タンパク質が必要であり、E3リガーゼ(合成酵素)はSUMO化による遺伝子発現調節において鍵となるタンパク質です。植物では、SIZ1と呼ばれるタンパク質がSUMO E3リガーゼとして働くことが既に知られていますが、動物のSIZ1とは異なり、植物SIZ1はPHDフィンガーと呼ばれる、C₄HC₃型ジンクフィンガーを持っています。

本研究グループは、このPHDフィンガーがSIZ1の機能において重要不可欠であり、トリメチル化されたヒストンH3を特異的に認識することを見出しました。また、ヒストンのトリメチル化に関わるATXタンパク質と相互作用することがわかりました。本研究により、SIZ1による遺伝子発現調節に、PHDフィンガーを通じたトリメチル化ヒストンH3やATXタンパク質との相互作用が重要な役割を果たすことが明らかとなりました。

これらの研究により、ヒストン状態を認識する新たな因子が明らかになり、植物の環境ストレス応答における遺伝子調節に関わる詳細なメカニズムの解明につながることを期待されます。

本研究の成果は、2020年1月10日付「Communications Biology」誌で公開される予定です。

* 本研究は、新学術領域(平成28年度～29年度および平成31年度～令和2年度)およびT-PIRC遺伝子実験センター「形質転換植物デザイン研究拠点」の一部によって実施されました。

研究の背景

タンパク質の翻訳後修飾因子であるSUMOは、E1、E2、E3タンパク質によって、基質タンパク質に結合しますが、この現象はSUMO化と呼ばれています。本研究グループでは、これまでにE3タンパク質合成酵素(E3リガーゼ)であるSIZ1が、環境ストレス応答や植物ホルモンへの応答に重要な役割を果たしていることを明らかにしています。SIZは酵母や植物における名称で、動物ではPIASと呼ばれており、これらのタンパク質は動植物において広く保存されています。SIZとPIASを比較すると、SUMO E3リガーゼ活性に重要とされるSP-RINGなど、いくつかのドメインは共通で保存されていますが、植物SIZではPHDフィンガーと呼ばれるC₄HC₃型ジンクフィンガーを有しています。PHDフィンガーは、エピジェネティックコードと呼ばれるヒストンの修飾状況を認識するドメインの1つとして考えられており、PHDフィンガーをもついくつかのタンパク質において、ヒストンH3の4番目リジン(H3K4)のメチル化を認識することが報告されています。これまでの先行研究から、ヒストンH3K4のメチル化は転写活性化に関与していることがわかっています。

そこで、本研究では、植物由来のSUMO E3リガーゼのみが持つPHDフィンガーが、どのような機能を持ち、タンパク質の活性にどのような役割を果たすかを明らかにする目的で、シロイヌナズナSIZ1を用いた解析を行い、その重要性を明らかにしました。

研究内容と成果

本研究グループは、SIZ1タンパク質が持つPHDフィンガーの重要性を明らかにする目的で、PHDフィンガーに変異を導入したSIZ1が *siz1* 変異体を相補^{注3)}するかを調べました。具体的には、PHDフィンガーを欠損させたSIZ1(ΔPHD)、およびPHDフィンガー内のアミノ酸を置換したSIZ1(C162S)、SIZ1(C117S)を *siz1* 変異体に導入しました。*siz1* 変異体は、これまでの研究から、成長が遅延する、低温ストレスに弱い、乾燥ストレスに強いといった表現型を示すことがわかっています。そこで、SIZ1(ΔPHD)、SIZ1(C162S)、SIZ1(C117S)を導入した *siz1* 変異体において、これらの表現型が相補されるか調べたところ、野生型SIZ1あるいはSIZ1(C117S)を導入した場合、全ての表現型が野生型と同様の表現型に戻ったのに対し、SIZ1(ΔPHD)あるいはSIZ1(C162S)を導入した場合、相補されずに、*siz1* 変異体と同様の表現型を示しました(図1)。このことから、PHDフィンガーはSIZ1タンパク質が生体内で機能する際に、重要な役割を果たすことが示唆されました。

次に、このPHDフィンガーがエピジェネティックコードの認識に関わっているかを明らかにするため、PHDフィンガーを作製し、様々なメチル化ヒストンH3と相互作用するかを調べました。その結果、PHDフィンガーは4番目リジンがトリメチル化されたヒストンH3(H3K4me3)と特異的に相互作用することが示されました(図2A、B)。また、PHDフィンガーに変異を導入したPHD(C162S)ではH3K4me3との相互作用が見られなかった(図2C)ことから、PHDとしての本来の機能を消失したことにより、図1に示したような *siz1* 変異体を相補できなかったものと考えられます。

PHDフィンガーの役割を更に調べるため、PHDフィンガーと相互作用するタンパク質を、酵母2ハイブリッドスクリーニングという手法により単離したところ、ヒストンのメチル化に関与する酵素ATX1が単離されました。また実際に、植物内においてSIZ1とATX1が相互作用することが示されました(図2D)。

これらの結果から、PHDフィンガーはヒストンH3K4me3を特異的に認識するとともに、ヒストンのメチル化に関与するATX1との相互作用も行うことが明らかとなりました(図3)。すなわちSIZ1は、エピジェネティックコードを認識するとともに、ヒストンメチル化酵素にも作用することで、植物の環境ストレス応答において、厳密な転写調節を担っていることが示唆されました。

今後の展開

本研究により、PHDフィンガーによるヒストン修飾の違いを認識することができましたが、SIZ1はSUMO E3リガーゼでもあることから、ヒストンH3K4me3の認識とSUMO化活性がどのように関わりがあるかを明らかにする必要があります。これによって、SIZ1の詳細な機能解明につながるものと期待されます。

また、ATX1がSIZ1によって認識されましたが、ATX1はSUMO化されるのか、SUMO化された場合にどのような機能調節を行うかを調べることで、ATX1の詳細な機能についても明らかにできます。

参考図

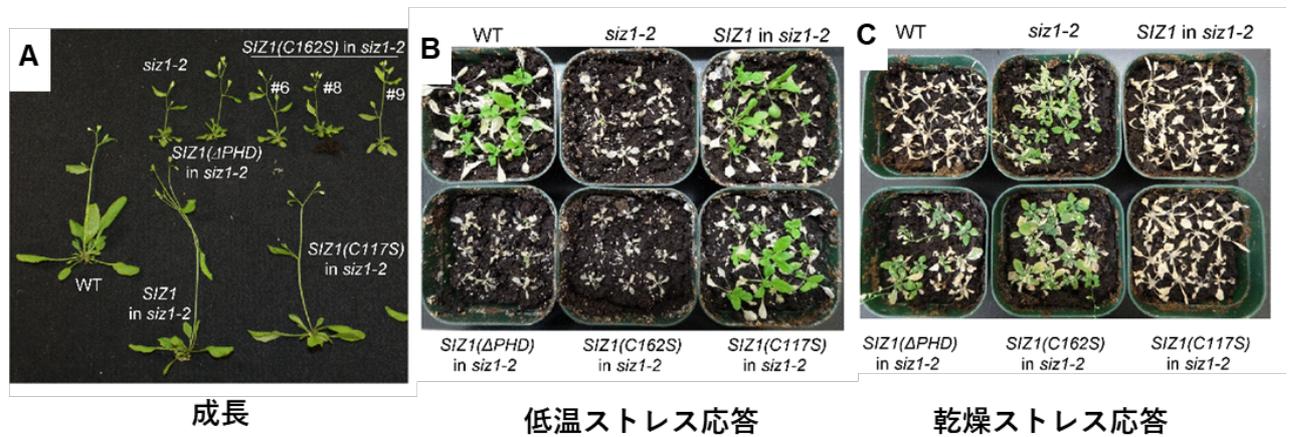


図1. PHD フィンガーを欠損させた SIZ1(ΔPHD)、PHD フィンガーに変異を導入した SIZ1(C162S)では *siz1* 変異体
 が示す成長遅延(A)、低温ストレス感受性(B)、乾燥ストレス耐性(C)を相補することができなかったことから、PHD
 フィンガーは SIZ1 タンパク質において、生体内で重要な役割を果たすことが示唆されました。

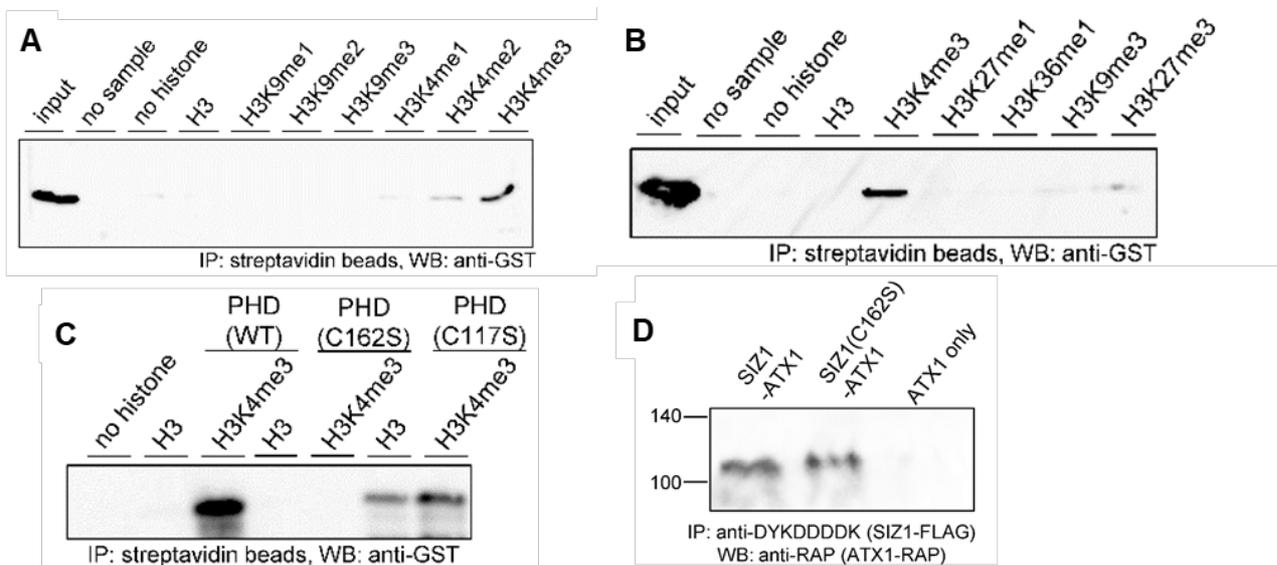


図2. SIZ1 内の PHD フィンガーは 4 番目リジンがトリメチル化されたヒストン H3(H3K4me3)を特異的に認識。様々な
 メチル化ヒストン H3 との相互作用を調べた(A、B)ところ、H3K4me3 ではっきりとしたバンドが見られました。また、PHD
 に変異を導入した PHD(C162S)では、H3K4me3 との相互作用が見られないことが示されました(C)。PHD フィンガー
 は H3K4me3 に加え、ヒストンのメチル化に関与する ATX1 と相互作用することが示されました(D)。

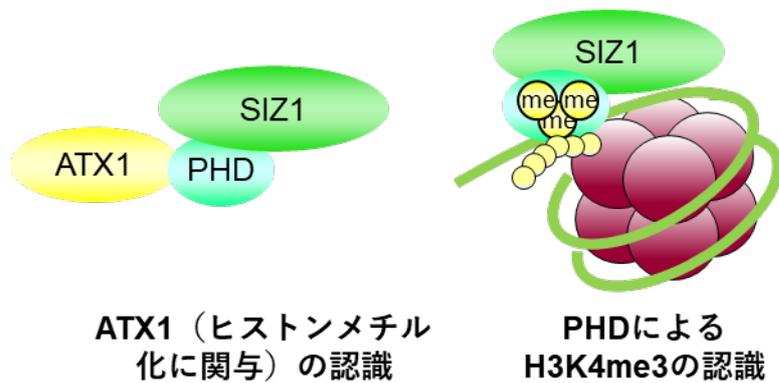


図3. SIZ1 のもつ PHD フィンガーの役割図。ヒストン H3K4me3 を認識(結合)するとともに、ヒストンメチル化に関与する ATX1 とも結合します。

用語解説

注1) SUMO (Small Ubiquitin-related Modifier) 化

翻訳後修飾の1つで、転写調節に関わっている。植物では、SUMO 化されるタンパク質がいくつか明らかにされており、SUMO 化されるタンパク質の種類によって様々な表現型を示す。

注2) PHD (plant homeodomain) フィンガー

C₄H₃ 型ジンクフィンガー。システイン(C)、ヒスチジン(H)のキレート側鎖により2ケの亜鉛を保持している。

注3) 相補

変異体で見られる表現型が野生型表現型に回復することを示す。本研究では、変異体に野生型遺伝子を遺伝子組換えにより導入することで、変異体で見られる表現型が野生型で見られる表現型に回復したことを示す。

掲載論文

【題名】 The PHD finger of Arabidopsis SIZ1 recognizes tri-methylated histone H3K4 mediating SIZ1 function and abiotic stress responses

(シロイヌナズナ SIZ1 内に存在する PHD フィンガーはトリメチル化されたヒストン H3K4 を認識することで、SIZ1 の機能および環境ストレス応答に関与する)

【著者名】 Kenji Miura, Na Renhu, Takuya Suzaki

【掲載誌】 Communications Biology (DOI: 10.1038/s42003-019-0746-2)

問合わせ先

三浦 謙治 (みうら けんじ)

筑波大学 生命環境系 教授 / つくば機能植物イノベーション研究センター 副センター長