

## 研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	SUMO化E3酵素SIZ1の植物特有PHDドメインを介したエピジェネティック制御				
研究テーマ (欧文) AZ	Epigenetic regulation through plant specific PHD domain in the SUMO E3 ligase SIZ1				
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)ミウラ	名)ケンジ	研究期間 B	2009 ~ 2010 年
	漢字 CB	三浦	謙治	報告年度 YR	2011年
	ローマ字 CZ	Miura	Kenji	研究機関名	筑波大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	筑波大学大学院生命環境科学研究科・助教				
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>翻訳後修飾 SUMO 化は動植物において、転写調節など重要な役割を果たしている。その最終ステップにおける E3 酵素は動植物全般に保存されている。ただ、植物における SIZ1 タンパク質には PHD(plant homeodomain; C4HC3 型 Zn フィンガー)ドメインを持つことが、アミノ酸配列の比較から明らかにされている。しかし、SIZ1におけるPHDドメインが何故植物にしかないのか、どのような役割を持っているかは分かっていない。まず、本研究では PHD を欠損させた SIZ1(<math>\Delta</math>PHD)又は PHD ドメイン内のシステインをセリンに置換した SIZ1(C162S)を <i>siz1</i> 変異株に導入したところ、相補することが出来なかった。このことから、PHD ドメインは植物体内で重要な役割を担っていることが示唆された。そこで、PHD ドメインの生化学的な機能を明らかにするため、様々なメチル化されたヒストン H3 との相互作用をプルダウンアッセイにより確認した。すると、この PHD ドメインはトリメチル化ヒストン H3K4(H3K4me3)を特異的に認識することが明らかになった。また、PHD ドメインの機能を調べるため、PHD ドメインに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により単離したところ、H3K4 のメチル化に関わる Trithorax 様タンパク質(ATX)と相互作用することが明らかとなった。ATX 内に存在する SET ドメインがメチル化に重要なドメインであり、PHD は SET と特異的に相互作用した。</p> <p>通常 H3K4me3 は転写活性化に関わっていると考えられている。一方ヒストンは SUMO 化されることが明らかになっており、転写抑制に働いている。今回 SUMO 化 E3 酵素 SIZ1 に存在する PHD ドメインが H3K4me3 及び ATX を認識したことから、転写活性化領域を PHD ドメインが認識し、その領域を SUMO 化することによって転写の抑制を行っていることが考えられる。その際に、メチル化が起きないように ATX の SET ドメインを PHD がマスクして活性の阻害に関わっていると考えられる。現在、ヒストンの SUMO 化による転写抑制及び <i>atx</i> 変異株に関して解析を行っている。</p>					
キーワード FA	SUMO 化	メチル化ヒストン	Trithorax 様タンパク		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	SIZ1, a small ubiquitin-related modifier ligase, controls cold signaling through regulation of salicylic acid accumulation							
	著者名 <sup>GA</sup>	Miura, Ohta	雑誌名 <sup>GC</sup>	Journal of Plant Physiology					
	ページ <sup>GF</sup>	555~560	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	167
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	SIZ1 controls cell growth and plant development in Arabidopsis through salicylic acid							
	著者名 <sup>GA</sup>	Miura, Lee, Miura, Hasegawa	雑誌名 <sup>GC</sup>	Plant & Cell Physiology					
	ページ <sup>GF</sup>	103~113	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	51
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Sumoylation and other ubiquitin-like post-translational modifications in plants							
	著者名 <sup>GA</sup>	Miura, Hasegawa	雑誌名 <sup>GC</sup>	Trends in Cell Biology					
	ページ <sup>GF</sup>	223~232	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	20
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Sumoylation is an important post-translational modification in animals and plants. The final step of sumoylation is catalyzed by SUMO E3 enzymes, including SIZ1/PIAS proteins. Interestingly, plant SIZ1 proteins specifically contain the PHD (plant homeodomain; C4HC3-type zinc finger), based on comparison of amino acid sequences. However, it is still unknown why only plant SIZ1 contain the PHD domain and what function the PHD domain has. In this study, we identified that SIZ1( $\Delta$ PHD; deletion of PHD domain) or SIZ1(C162S; substitution of cysteine to serine) was not able to complement the *siz1* mutation, suggesting that the PHD domain is biologically important in plants. To identify biochemical function of PHD, we investigated interaction of PHD with several kinds of histones by pull-down assay and screened PHD-interactors by yeast 2-hybrid. The PHD domain recognized trimethylated histone H3K4 (H3K4me3). Furthermore, the PHD domain interacted with the SET domain in trithorax-like proteins (ATX), which are important domain for methylation of H3K4.

H3K4me3 is thought to be involved in transcriptional activation. On the other hand, sumoylation of histone leads to transcriptional repression. In this study, we identified PHD in SUMO E3 ligase SIZ1 recognized H3K4me3 and ATX. It is plausible that transcriptional activated region (H3K4me3 region) could be recognized by PHD domain and SIZ1 may enhance sumoylation of histone to repress transcription. In addition, PHD may inhibit methyltransferase activity of ATX by interaction of SET domain. Now we are investigating histone-sumoylation and biological function of ATX.