

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H05963

研究課題名(和文)クロマチン長期記憶による環境応答制御機構

研究課題名(英文)Long-term chromatin memory and environmental response

研究代表者

角谷 徹仁(Kakutani, Tetsuji)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・教授

研究者番号：20332174

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 65,200,000円

研究成果の概要(和文):環境条件を反映して、遺伝子のON/OFF状態はクロマチン上に記憶される。この記憶の実体はDNAやヒストンの修飾である。これらの修飾は転写制御領域として知られるプロモーターだけではなく、遺伝子の内部にも見つかるが遺伝子内部の修飾の役割は大部分未解明である。本研究では、遺伝子内部の修飾を制御する因子とその役割を遺伝学的に調べた。その結果、ヒストンH3のリジン4のモノメチル化(H3K4me1)が、転写の恒常的抑制や、低温環境の記憶、および病害応答性に関わることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物にとって、病原応答性の記憶や季節応答性の記憶は重要であるが、その機構は大部分が未開拓である。本研究では、良く研究されているプロモーター付近でなく、遺伝子内部の修飾と表現型とのつながりを遺伝学的に調べることで、転写状態の長期記憶に関わるヒストン脱メチル化因子の役割と制御を明らかにした。

研究成果の概要(英文):Reflecting environmental conditions, ON/OFF states of gene activity are memorized on chromatin in the forms of DNA and histone modifications. These modifications are found in both promoters in internal regions of genes (gene bodies), but role of gene body modifications remains largely unexplored. We examined factors controlling gene body modifications by genetic approaches. Arabidopsis mutations of the histone demethylase gene IBM1 induces accumulation of silent mark H3K9me (methylation of histone H3 lysine 9) in gene bodies as well as developmental abnormalities and defense responses. Genetic screening of suppressor of the ibm1 mutation identified another histone demethylase gene LDL2. LDL2 mediates developmental abnormalities through removal of H3K4me1. A related H3K4 demethylase FLD mediates memory of cold by removing H3K4me1 around transcription terminations sites; and this is co-opted from the global mechanism to control bidirectional transcription.

研究分野：植物遺伝学

キーワード：ヒストン修飾 環境応答 ヒストンバリエーション DNAメチル化 非コードRNA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

環境条件を反映して、遺伝子の ON/OFF 状態はクロマチン上に記憶される。この記憶の実体は DNA やヒストンの修飾である。DNA メチル化やヒストン H3 リジン 9 のメチル化 (H3K9me) はプロモーターにおいて転写を抑制する。一方、プロモーターだけではなく、遺伝子の内部にも DNA メチル化は見つかる。遺伝子内の DNA メチル化はヒストンバリエーション H2A.Z を排除する働きがあり、遺伝子内 H2A.Z を持つ遺伝子は、環境シグナルや個体発生に伴う転写の変化を起こしやすい。これらの示唆的な知見にもかかわらず、遺伝子内修飾の役割は大部分未解明だった。

2. 研究の目的

遺伝子内のクロマチン修飾に影響する変異体を用いた遺伝学とゲノミクスによるアプローチで、環境に対する応答性や細胞増殖の文脈で遺伝子内クロマチン修飾の制御機構と役割とを理解する。この目的に向けて、以下の二つのオリジナルな素材を用いた研究を行なった。

(1) 遺伝子内クロマチン修飾による遺伝子発現制御と環境応答

シロイヌナズナの変異体 *ibm1* では、多数の活性遺伝子の内部に H3K9me や DNA メチル化が蓄積し、それにともない発生異常が引き起こされる (Saze et al 2008 Science)。*ibm1* 変異体背景であるにも関わらず発生異常が生じない新たな変異体を同定し、これを用いることで下流経路の理解を目指した。

(2) DNA メチル化消失の世代をこえた継承とその回復

ゲノム DNA におけるシトシンのメチル化には CG と non-CG コンテキストとのものがある。CG メチル化は維持メチル化酵素によって継承され、non-CG メチル化は H3K9me と相互依存的に働くことで継承される。CG メチル化、non-CG メチル化、H3K9me のそれぞれの修飾に必要な因子を失った変異体にその因子を再導入し、その回復過程を調べた。特徴的な回復動態から予想される経路を検証するため、多重変異体背景における回復過程を調べた。

3. 研究の方法

ibm1 変異における発生異常をサプレッサー変異体の同定や原因遺伝子の同定は通常の遺伝学的手法で行った。これらを含めた変異体や多重変異体、およびその後代において、ヒストン修飾は ChIP-seq 法、DNA メチル化はバイサルファイト法によりゲノムワイドに調べた。また、total RNA とともに、*fla* 変異体や DNA トポイソメラーゼ変異体を用いた解析では、クロマチンに結合した RNA もゲノムワイドに調べた。

4. 研究成果

(1) 遺伝子内クロマチン修飾による遺伝子発現制御と環境応答

活性な遺伝子の内部に抑制目印が蓄積するシロイヌナズナの変異体を用いて、遺伝子内部におけるクロマチン修飾の制御と意義にアプローチした。シロイヌナズナの変異体 *ibm1* では、多数の活性遺伝子の内部に H3K9me や DNA メチル化が蓄積し、それにともない発生異常が引き起こされる (Saze et al 2008 Science; Inagaki et al 2010 EMBO J)。今回の研究では、*ibm1* 変異体背景であるにも関わらず発生異常が生じない新たな変異体を同定し、これを用いることで下流経路の理解を目指した。*ibm1* 変異体を変異源処理した集団から、発生異常を示さない個体を選抜し複数のサプレッサー変異を得た。この中には H3K9 メチル化酵素や DNA メチル化酵素のような予想された因子とともに、予想しなかった因子として *LDL2* が同定された (図 1)。



図 1 *ibm1* 変異による発生異常は *LDL2* 遺伝子の変異でサプレッサーされた。

左から、野生型、*ibm1* 変異体、*ldl2-11* あるいは *ldl2-12* 変異を持つ二重変異体。(Inagaki et al 2017 EMBO J より)

*LDL2*はヒストン脱メチル化酵素をコードしている。ヒストン修飾解析などから、*LDL2*がH3 リジン 4 のモノメチル化 (H3K4me1) を遺伝子内部において減少させることで転写抑制を引き起こすことを明らかにした。

同様の経路が多くのトランスポゾンでも働いていた (Inagaki et al EMBO J 2017)。動物ではH3K4me1はエンハンサーの修飾と考えられているが、本研究は、遺伝子内部のH3K4me1の重要性を示した。また、*ibm1*による発生異常にともない病害応答関連遺伝子の活性化が起こる。遺伝子内抑制クロマチンと病害応答経路の関連は、今後の重要な研究課題になるとと思われる。

一方で、*LDL2*とともにヒストン脱メチル化酵素をコードする遺伝子 *FLD* は春化応答を仲介する遺伝子 *FLC* の抑制に必要であることが知られている。これまでの論文では、*FLD* の標的はH3K4me2と考察されてきたが、ゲノムワイドの解析の結果、遺伝子内部のH3K4me1が*FLC*および他の多くの遺伝子座で影響されることがわかった (図2)。

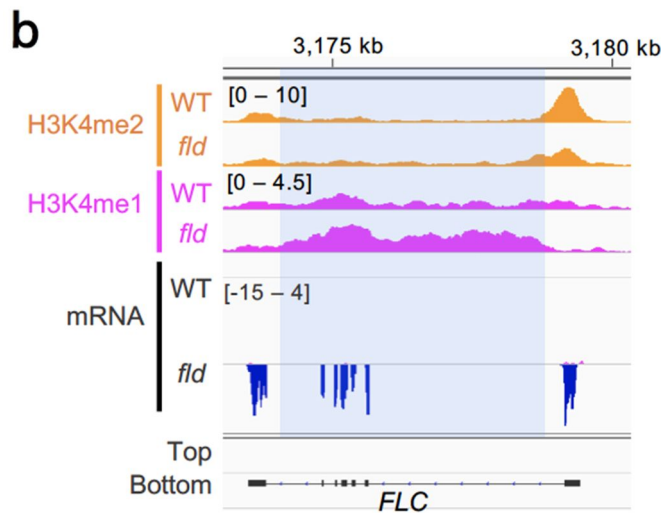


図2 *fld* 変異体では、*FLC* 座および他の多くの遺伝子座で、遺伝子内部のH3K4me1が上昇する (Inagaki et al 2020 bioRxiv より)

FLD は *FLC* の遺伝子内部、また多くの他の遺伝子の転写集結点 (TTS) 付近のH3K4me1を除く効果がある。興味深いことに、*FLD* の標的遺伝子は下流遺伝子からのリードスルーによるアンチセンス転写産物を持つことがわかった。*FLD* は、このような特徴を持つ遺伝子のH3K4me1を除くことで転写伸長を抑えるとともに、転写開始を抑制する。さらに、*fld*変異の開花抑制効果はDNAトポイソメラーゼの変異 *top1* でサプレスされることが知られている。アンチセンスの転写は正のスーパーコイルを引き起こすことから、スーパーコイルを解く働きのあるトポイソメラーゼとの遺伝的相互作用は興味深い。*fld top1*二重変異による転写装置への効果をゲノムワイドに調べたところ、*fld*変異の転写伸長への効果も *top1* でサプレスされることがわかった。双方向の転写に対応する系として、遺伝子内H3K4メチル化とDNAトポロジーが用いられている。このようなゲノムワイドの転写制御系が、低温記憶というエピジェネティックな環境応答制御系で使われていることは興味深い (Inagaki et al 2020 bioRxiv)。哺乳類のゲノムインプリンティングやX染色体不活性化のエピジェネティックな制御系においてもアンチセンス非コードRNAが働いていることが知られており、これらの系の転写制御でも転写伸長とDNAスーパーコイルが関与するか興味深い。

(2) DNAメチル化消失の世代をこえた継承とその回復

一般に、恒常的に抑制されている配列はヒストンバリエントH2A.Wを持つ。また、転写活性のある遺伝子は転写開始点付近にヒストンバリエントH2A.Zを持つ。これに加えて、遺伝子内にもヒストンバリエントH2A.Zを持つ遺伝子があり、これらの遺伝子は、環境シグナルや個体発生に伴う転写の変化を起こしやすい。恒常的な修飾を確立する機構を理解する目的で私達は、ヒストンH3K9メチル化酵素とDNAメチル化酵素遺伝子の変異体にそれらの酵素の遺伝子を戻し、その回復様式を調べている。この系において、非コード領域のDNAメチル化回復がRNAiに依存するのに対し、多くのトランスポゾンの遺伝子内部は、RNAiとは独立の機構で抑制目印が回復する (To et al 論文投稿中)。ただし一群のトランスポゾンは抑制目印を回復する機能を失っている。これらのトランスポゾンは、他のトランスポゾンと異なり、H2A.Wを失い、H2A.Zを獲得している。さらに、この系において転写開始点におけるCGメチル化が減少し、これがH2A.Zに依存する。環境に応答する因子であるH2A.Zが、より安定な修飾であるCGメチル化に影響する経路の存在は興味深い。また、H2Aバリエントが多くのエピジェネティックな修飾の確立に貢献する可能性が示唆された。環境応答の長期記憶を理解するための重要な知見が得られつつあると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Hosaka, A., and Kakutani, T.	4. 巻 49
2. 論文標題 Transposable elements, genome evolution and transgenerational epigenetic variation.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Curr Opin Genet Dev.	6. 最初と最後の頁 43～48
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gde2018.02.012.Epub	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishihara H, Sugimoto K, Tarr PT, Temman H, Kadokura S, Inui Y, Sakamoto T, Sasaki T, Aida M, Suzuki T, Inagaki S, Morohashi K, Seki M, Kakutani T, Meyerowitz EM, Matsunaga S.	4. 巻 16
2. 論文標題 Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1786
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-09386-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hosaka, A., Saito, R., Takashima, K., Sasaki, T., Fu, Y., Kawabe, K., Ito, T., Toyoda, A., Fujiyama, A., Tarutani, Y., and Kakutani, T.	4. 巻 8
2. 論文標題 Evolution of sequence-specific anti-silencing systems in Arabidopsis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2161
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-017-02150-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Inagaki S., Takahashi M., Hosaka A., Ito T., Toyoda A., Fujiyama A., Tarutani Y., and Kakutani T.	4. 巻 36
2. 論文標題 Gene-body chromatin modification dynamics mediate epigenome differentiation in Arabidopsis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 EMBO J	6. 最初と最後の頁 970-980
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.201694983	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ito Hidetaka, Kim Jong-Myong, Matsunaga Wataru, Saze Hidetoshi, Matsui Akihiro, Endo Takaho A., Harukawa Yoshiko, Takagi Hiroki, Yaegashi Hiroki, Masuta Yukari, Masuda Seiji, Ishida Junko, Tanaka Maho, Takahashi Satoshi, Morosawa Taeko, Toyoda Tetsuro, Kakutani Tetsuji, Kato Atsushi, Seki Motoaki	4. 巻 6
2. 論文標題 A Stress-Activated Transposon in Arabidopsis Induces Transgenerational Abscisic Acid Insensitivity	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 23181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep23181	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Rymen Bart, Kawamura Ayako, Lambolez Alice, Inagaki Soichi, Takebayashi Arika, Iwase Akira, Sakamoto Yuki, Sako Kaori, Favero David S., Ikeuchi Momoko, Suzuki Takamasa, Seki Motoaki, Kakutani Tetsuji, Roudier Francois, Sugimoto Keiko	4. 巻 2
2. 論文標題 Histone acetylation orchestrates wound-induced transcriptional activation and cellular reprogramming in Arabidopsis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 404
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0646-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Wollmann Heike, Stroud Hume, Yelagandula Ramesh, Tarutani Yoshiaki, Jiang Danhua, Jing Li, Jange Bhagyshree, Takeuchi Hidenori, Holec Sarah, Nie Xin, Kakutani Tetsuji, Jacobsen Steven E., Berger Francis	4. 巻 18
2. 論文標題 The histone H3 variant H3.3 regulates gene body DNA methylation in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13059-017-1221-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 To Taiko K., Saze Hidetoshi, Kakutani Tetsuji	4. 巻 168
2. 論文標題 DNA Methylation within Transcribed Regions	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 1219 ~ 1225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.15.00543	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計27件(うち招待講演 8件/うち国際学会 11件)

1. 発表者名 Tetsuji Kakutani
2. 発表標題 The gene body H3K4me1 dynamics mediate heterochromatin silencing
3. 学会等名 CSHA meeting: Chromatin, Epigenetics & Transcription (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤 紹、角谷 徹仁
2. 発表標題 Evolution of sequence-specific anti-silencing DNA demethylation systems by transposon-encoded anti-silencing factor
3. 学会等名 CSHA meeting: Chromatin, Epigenetics & Transcription (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 齋藤 紹
2. 発表標題 トランスポゾンの抗抑制因子が備える標的特異性多様化機構
3. 学会等名 第12回日本エピジェネティクス研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuji Kakutani
2. 発表標題 Evolution of sequence-specific anti-silencing systems in Arabidopsis
3. 学会等名 Annual meeting of Society for Molecular Biology and Evolution (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西澤優一郎、藤泰子、富永さやか、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナにおけるヒストンバリエーションH2A.ZとDNAメチル化の拮抗作用
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木卓、加藤夏恵、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナのトランスポゾンVANDAL21の活性制御におけるRNAと抗抑制因子の拮抗的制御
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲垣宗一、高畑信也、村上洋太、角谷徹仁
2. 発表標題 分裂酵母を用いた遺伝子内クロマチン修飾動態制御の解析
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuji Kakutani
2. 発表標題 RNAi targets sequence-specific anti-silencing systems of DNA TE in Arabidopsis
3. 学会等名 CSH meeting: Transposable Elements (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tetsuji Kakutani
2. 発表標題 Evolution of sequence-specific anti-silencing systems in Arabidopsis
3. 学会等名 International symposium of Plant Epi/Genetics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稲垣宗一、高橋まゆみ、保坂碧、伊藤佑、豊田敦、藤山秋佐夫、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 遺伝子内部のクロマチン修飾動態がシロイヌナズナのエピゲノム分化を仲介する
3. 学会等名 第11回日本エピジェネティクス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 保坂碧、斎藤紹、高嶋和哉、佐々木卓、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナの配列特異的抗抑制機構の早い進化
3. 学会等名 第11回日本エピジェネティクス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 斎藤紹、佐々木卓、保坂碧、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 トランスポゾンにコードされる抗抑制因子の特異性と多様性
3. 学会等名 第11回日本エピジェネティクス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 保坂碧、斎藤絡、高嶋和哉、佐々木卓、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナの配列特異的抗抑制系とその速い進化
3. 学会等名 日本遺伝学会第89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 角谷徹仁
2. 発表標題 Evolution of sequence-specific anti-silencing system in Arabidopsis
3. 学会等名 France・Japan Epigenetics workshop 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 角谷徹仁
2. 発表標題 DNA methylation and trans-generational inheritance in plants
3. 学会等名 Three Special Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 角谷徹仁
2. 発表標題 配列特異的抗抑制系の進化
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T Kakitani
2. 発表標題 Rapid evolution of sequence-specific anti-silencing systems in Arabidopsis.
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting “Transposable Elements” (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 藤泰子、樽谷芳明、加藤夏絵、稲垣宗一、伊藤佑、高橋まゆみ、豊田敦、藤山秋佐夫、Vincent Colot、角谷徹仁
2. 発表標題 DNAメチル化消失の世代をこえた継承とその回復
3. 学会等名 日本遺伝学会第88回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 稲垣宗一、高橋まゆみ、角谷徹仁
2. 発表標題 遺伝子内部のヒストン修飾動態がシロイヌナズナの遺伝子サイレンシングに関わる
3. 学会等名 日本遺伝学会第88回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 保坂碧、斎藤絡、高島和哉、佐々木卓、河辺昭、伊藤佑、豊田敦、藤山秋佐夫、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナの配列特異的抗抑制系とその速い進化
3. 学会等名 日本遺伝学会第88回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 齋藤 絢、高島和哉、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 VANDAL属トランスポゾンがコードする抗抑制因子の特異性と多様性
3. 学会等名 日本遺伝学会第88回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 佐々木卓、樽谷芳明、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナの転移因子VANDAL21の不活性化機構
3. 学会等名 日本遺伝学会第88回大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナのDNAメチル化とエピジェネティックな遺伝
3. 学会等名 第38回日本分子生物学会
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 角谷徹仁
2. 発表標題 Evolution of sequence-specific anti-silencing by transposable elements in Arabidopsis
3. 学会等名 染色体OS - 国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tasuku Ito, Yoshiaki Tarutani, Taiko K.To, Kazuya Takashima, Hidetoshi Saze, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Tetsuji Kakutani
2. 発表標題 Genome-wide negative feedback system for transgenerational DNA methylation dynamics in Arabidopsis
3. 学会等名 内藤コンファレンス2015 (国際学会)
4. 発表年 2015年

1. 発表者名 斎藤 紹
2. 発表標題 トランスポゾンによる配列特異的な抗抑制の進化
3. 学会等名 第57回植物生理学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 橋本佑里、角谷徹仁
2. 発表標題 Dual effects of pre-existing DNA methylation on transgenerational DNA re-methylation dynamics in Arabidopsis
3. 学会等名 CSHA meeting: Chromatin, Epigenetics & Transcription (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----