

平成 30 年 5 月 8 日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04405

研究課題名(和文) 植物ゲノムにおける遺伝子内トランスポゾンのエピジェネティック制御

研究課題名(英文) Epigenetic regulation of intragenic transposon in plants

研究代表者

佐瀬 英俊 (Saze, Hidetoshi)

沖縄科学技術大学院大学・植物エピジェネティクスユニット・准教授

研究者番号：70510006

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 9,700,000円

研究成果の概要(和文)：動植物を含む真核生物のゲノムの大部分はトランスポゾンなどのリピート配列によって形成されており、その一部は遺伝子内に挿入されている。本研究課題では植物ゲノムにおいて遺伝子内トランスポゾンがどう制御されているのかを明らかにすることを目的とした。我々の解析からシロイヌナズナではおよそ3%のトランスポゾンが遺伝子内、特にイントロンに挿入されていることを見出した(Le et al., 2015)。さらこれらリピート配列のサイレンシングにはRNA-directed DNAメチル化という経路に関与する因子とMET1, DDM1といった因子が必要であることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Genomes of vertebrates and plants contain a substantial number of transposable elements (TEs), which are often inserted in genic regions. In this study, we aimed to analyze genome-wide distribution of transposable elements in the model plant *Arabidopsis thaliana*. We showed that about 3% of TEs are intragenic, especially are inserted in intronic regions. Further study showed that epigenetic silencing of intronic repeats requires RNA-directed DNA methylation pathway, MET1 and DDM1.

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：エピジェネティクス トランスポゾン 植物ゲノム

1. 研究開始当初の背景

動植物を含む真核生物のゲノムの大部分はトランスポゾンなどのリピート配列によって形成されている(参考文献1)。トランスポゾンは時に“寄生因子”とも呼ばれ、自らの配列を増幅して転移し遺伝子に変異を導入するなど宿主ゲノムに悪影響を及ぼす。このため、生物(宿主)はトランスポゾンを不活性化するためRNAiや抑制的なヒストン修飾、DNAメチル化といったエピジェネティック制御機構を進化させてきた。こうしたエピジェネティック修飾により一般にトランスポゾンはヘテロクロマチンと呼ばれる不活性化クロマチン構造をとり転写が抑制されている。一方、生存に必要な通常の遺伝子領域からはこうした抑制的な修飾は排除されており、活性化エピジェネティック修飾であるヒストンH3K4メチル化やH3K36メチル化などがmRNAの転写伸張やスプライシングなど遺伝子発現の過程に重要な働きをしていることが知られている。

しかしながら、興味深いことに多くの生物ゲノムで遺伝子内に大量のトランスポゾン配列が入り込んでいる現象が観察されている。例えばマウスやヒトなどの哺乳類ゲノムの場合、ゲノム中のおよそ60%ものトランスポゾンは遺伝子内に存在していると報告されている。遺伝子内に挿入されたトランスポゾンは転写装置の通過を阻害したり内在性のプロモーターからアンチセンスRNAを生成したりすることで遺伝子の適切な発現を阻害する事が知られているが、「生物がどのような機構でこうした遺伝子内トランスポゾン配列を認識・制御し、適切な遺伝子発現を保証しているのか?」という問題については、多くの生物に共通しているにも関わらずほとんど理解がすすんでいない。

2. 研究の目的

本申請課題がとりくむ“遺伝子内トランスポゾンのエピジェネティック制御”については他モデル生物においてもほとんど知見が蓄積していない。これまでの観察結果から申請者は特に以下の三つの課題に注目し研究を進める。

(課題1) 生物はどのような分子機構で遺伝子内トランスポゾン配列を認識しているのか?

(課題2) 遺伝子内トランスポゾンは遺伝子の発現と表現型にどう影響を与えているのか?

(課題3) 遺伝子間領域と遺伝子領域でトランスポゾンはどのように分布・構成が違うのか?

これらの問題に取り組むため、本研究課題ではモデル植物シロイヌナズナを用いて遺伝子内トランスポゾン配列の制御メカニズムを解析する。具体的には遺伝学的手法を用

いて遺伝子内トランスポゾン配列の転写に異常をきたす変異体の解析や、生化学的に同定する事でこのメカニズムに直接関与する因子とその経路に関わる因子群を同定する事を目指す。また、バイオインフォマティクス的手法に習熟した研究連携者と協力してシロイヌナズナを含む植物種のゲノム中のトランスポゾンの分布やエピジェネティック修飾などを網羅的に解析する。これらの解析を通して生物学的に未知の部分が多い遺伝子内トランスポゾンの存在様式と制御メカニズムの問題をモデル植物において明らかにする。

3. 研究の方法

上述の3つの相互に関連した課題に焦点を絞り平成27年度と平成28年度以降の研究を行う。

<研究計画1> シロイヌナズナゲノム中の遺伝子内トランスポゾンに特異的に蓄積しているクロマチン修飾を検出することでその特異的認識メカニズムを明らかにする。モデル植物のシロイヌナズナにおいてすでに公開されているヒストン修飾、ヒストンバリエーション、ヌクレオソーム密度などの情報をもとに遺伝子内トランスポゾンのクロマチン状態が他のゲノム領域とどのように異なるのかをバイオインフォマティクス的手法で解析する。また生化学的解析から遺伝子内トランスポゾン特異的なクロマチン修飾を同定する。

<研究計画2> トランスポゾンの挿入の有無により遺伝子発現がどのように変化するのか、シロイヌナズナの表現型にどのように影響するのかを解析する。シロイヌナズナゲノム中においてトランスポゾン配列が入り込んでいる遺伝子座をすでに複数同定しており、これら遺伝子の発現と機能にトランスポゾンがどのような影響を与えるのかを解析する。具体的にはシロイヌナズナの様々な野生系統間での挿入多型を利用し、挿入の有無により遺伝子発現がどう変化するか、表現型へどのような影響があるか解析する。

<研究内容3> 植物ゲノムを用いて遺伝子間領域と遺伝子領域でのトランスポゾンの分布・構成について解析する。まずはゲノムサイズが小さく、ゲノム情報と遺伝子・トランスポゾンのアノテーションが充実しているシロイヌナズナの標準系統についてバイオインフォマティクス的手法を用いて解析し、遺伝子内トランスポゾンの分布様式を解析する。具体的にはエキソン、イントロン内の分布、ファミリー構成、長さ、挿入方向、挿入遺伝子のGene Ontology、遺伝子発現状態、エピゲノム情報などに関してゲノムワイドに解析し、遺伝子間領域と遺伝子領域でどのような違いを示すのか明らかにする。

4. 研究成果

我々の研究からモデル植物シロイヌナズナにおいておよそ3%のトランスポゾンが遺伝子内に存在していることが明らかになっている。また、抑制的なヘテロクロマチン状態の維持が遺伝子の適切なスプライシングに重要であることも明らかにした。これにはMET1やDDM1といったヘテロクロマチン構造の維持に必要な因子が関与していた。さらに、遺伝子内のイントロン内に挿入された外来遺伝子のエピジェネティック的解析により、遺伝子内に挿入された外来遺伝子も同様のエピジェネティック制御を受け、ヘテロクロマチン化されることで遺伝子のスプライシングが適切に引き起こされることも明らかにした。こうした成果は論文、あるいは学会発表として一般に公表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

Ito T, Tarutani Y, To TK, Kassam M, Duvernois-Berthet E, Cortijo S, Takashima K, Saze H, Toyoda A, Fujiyama A, Colot V, Kakutani T. (2015). Genome-wide negative feedback drives transgenerational DNA methylation dynamics in *Arabidopsis*. *PLoS Genet.* 11(4):e1005154.

To TK, Saze H, Kakutani T. (2015). DNA Methylation within Transcribed Regions. *Plant Physiol.*, 168(4):1219-25. doi: 10.1104/pp.15.00543. Epub 2015 Jul 4. (Review)

Ito H, Kim JM, Matsunaga W, Saze H, Matsui A, Endo TA, Harukawa Y, Takagi H, Yaegashi H, Masuta Y, Masuda S, Ishida J, Tanaka M, Takahashi S, Morosawa T, Toyoda T, Kakutani T, Kato A, Seki M. (2016). A Stress-Activated Transposon in *Arabidopsis* Induces Transgenerational Abscisic Acid Insensitivity. *Sci Rep.* 6:23181.

Espinosa NA, Saze H, Saijo Y. (2016). Epigenetic Control of Defense Signaling and Priming in Plants. *Front Plant Sci.* 2016 Aug 11;7:1201. doi: 10.3389/fpls.2016.01201. (Review)

Osabe K, Harukawa Y, Miura S, Saze H. (2017). Epigenetic Regulation of Intronic Transgenes in *Arabidopsis*. *Sci Rep.* Mar 24;7:45166.

佐瀬英俊 植物における遺伝子とトランスポゾンとの相互作用と環境への適応
ライフサイエンス領域融合レビュー、7, e001
(2018) 10.7875/leading.author.7.e001

[学会発表](計 5 件)

Saze H. Epigenetic regulation of intragenic transposons impacts gene transcription in *Arabidopsis*. Cutting Edge Developments in RNA biology for the Control of Gene Expression OIST, Okinawa, Japan. Nov 16, 2017. (Invited talk)

Saze H. Epigenetic regulation of intronic repeats in plants. Taiwan-Japan Plant Biology 2017. Academia Sinica, Taipei, Taiwan. Nov 5, 2017. (Invited talk)

Saze H. Epigenetic regulation of genes and transposable elements in plants. The 33rd Annual Meeting of the Society of Population Ecology. Kyushu University, Fukuoka, Japan. Oct 13, 2017. (Invited talk)

Saze H. Epigenetic regulation of intragenic repeats in the plant genomes. The 88th annual meeting of the genetics society of Japan. Nihon University, Mishima, Japan. Sep 7, 2016. (Invited talk)

Saze H. Epigenetic control of genes and transposable elements in *Arabidopsis*. RIKEN, Yokohama, Japan. Sep 8, 2015. (Invited Seminar)

[その他]

ホームページ等

<https://groups.oist.jp/peu>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐瀬 英俊 (Saze Hidetoshi)

沖縄科学技術大学院大学 植物エピジェネティクスユニット

研究者番号: 70510006

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者

レ トゥゴ (LE TuNgc)

沖縄科学技術大学院大学 植物エビジェ

ネティクスユニット

研究者番号：30748249

宮崎裕土 (Miyazaki Yuji)

沖縄科学技術大学院大学 植物エビジェ

ネティクスユニット

研究者番号：40708773