

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K18578

研究課題名(和文)レトロトランスポゾン転写制御機構の解析

研究課題名(英文)Analysis for transcriptional regulation mechanism of retrotransposon

研究代表者

池田 陽子 (Ikeda, Yoko)

岡山大学・資源植物科学研究所・特任助教

研究者番号：80467688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：レトロトランスポゾンの転写制御機構を明らかにするため、シロイヌナズナを用いたトランスポゾンサイレンシングに異常がみられる変異体を単離解析し、トランスポゾン抑制に関わる新規因子 KUMONOSU(KUN)を明らかにした。KUNは植物に特有のトランスポゾン関連ドメインであるPlant mobile domainを有し、DNAメチル化や主要なクロマチン修飾とは異なる新規の機構でペリセントロメア領域の凝集に関わることでサイレンシングを制御することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：To reveal the transcriptional regulation mechanism of retrotransposons, we carried out a screen of the mutants affected in the silencing at a transgene. We identified Arabidopsis gene affecting heterochromatin-associated silencing, KUMONOSU (KUN). KUN encodes a plant-specific retrotransposon related plant mobile domain (PMD), and affects silencing pathway by impaired condensation of pericentromeric heterochromatin. KUN acts for silencing independent of DNA methylation and known chromatin modifications.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：トランスポゾン エピジェネティクス サイレンシング

1. 研究開始当初の背景

レトロトランスポゾン配列は、多くの生物のゲノム上に多数存在し、ヒトでは全ゲノム中、約50%に及ぶ。トランスポゾンの転移は、転移先の遺伝子に影響を与え、生存に必要な遺伝子を破壊する可能性もあることから、生物はトランスポゾンの抑制機構を発達させてきた。これまでに、シロイヌナズナを用いた遺伝学解析を中心に、トランスポゾンの抑制機構には、RNA-directed DNA methylation (RdDM)経路などのエピジェティックな制御が重要であることが明らかになってきた。さらに、トランスポゾンと機能遺伝子の間には、遺伝子領域特異的ヒストン脱メチル化酵素が存在することなど、異なる制御を受けていることが示唆されていたが、まだその制御機構には不明な点が多かった。

一方、トランスポゾンの挿入は、個体間の多様性をもたらすことから、トランスポゾンの活性化と進化との関わりが議論されてきた。しかし、現存するレトロトランスポゾンの多くは転移活性を失っており、活性化機構に関する報告は少ない。植物では、イネ、タバコなどで外界のストレスに応答したレトロトランスポゾンの活性化が報告されている。しかしながら、どのような機構によりトランスポゾンが活性化するのかについてはまだ明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、どのような分子機構でレトロトランスポゾンの転写が制御されるのかを明らかにするため、トランスポゾンの転写状態をマーカー遺伝子により可視化する系を用い、トランスポゾンの抑制または活性化に異常を示すシロイヌナズナ変異体のスクリーニングを行った。その結果、トランスポゾンサイレンシングが解除される変異体及び、熱ストレスによるトランスポゾン活性化が異常なシロイヌナズナの新規変異体を単離する

ことに成功した。本研究では、これら変異体の解析によって、レトロトランスポゾンの抑制および活性化制御のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

スクリーニングで得られた変異体についてマッピングと既知の因子のシーケンスを行なったところ、レトロトランスポゾンの転写抑制に関わる変異体の中に、新規の因子を見出した。そこで、この変異体を *kumonosu* (*kun*) と名付け、中心に解析を進めることとした。*kun* 変異体では、他の既知のサイレンシングに関わる変異体と異なり、維管束及び茎頂組織特異的なサイレンシングの解除が見られた。*kun* 変異体の原因遺伝子候補をゲノムワイドシーケンスにより調べ、原因遺伝子を明らかにした。さらに、ゲノムワイドな発現解析やDNAメチル化及びクロマチン状態の解析を行い、*KUN* がどのような分子機構でトランスポゾンの転写制御に関わるかを解析した。

4. 研究成果

*kun*変異体について、ゲノムワイドRNAシーケンスを行いターゲット遺伝子及びトランスポゾン等を同定した。その結果、トランスポゾンが蓄積しているペリセントロメア領域の発現が全体的に上昇していることが明らかになった。また、ユークロマチン領域についても、特定の遺伝子の発現上昇がみられた。一方、ゲノムワイドバイサルファイトシーケンスを行い、DNAメチル化状態について解析を行った結果、*kun*変異体ではDNAメチル化に変化が見られないことが明らかになった。さらに、ヒストンメチル化抗体による免疫組織染色及びクロマチンIPにより、*kun*変異体におけるヒストン修飾について解析したところ、これまで知られている既知のヒストン修飾に影響する変異体と比較すると、非常に影響が小さいことが判明した。これらを踏まえて、DNAメチ

ル化やヒストン修飾を通してサイレンシングに関わる既知の変異体との遺伝学的相互作用を解析した。その結果、*kun*変異体はいずれの変異体とも相乗的効果を示した。これらのことから、KUNは、DNAメチル化やRdDMなど既知の経路とは異なる未知の機構でサイレンシングを制御することが示唆された。

一方、FISH法により、ペリセントロメア領域のリピートの核内の局在の検証や、クロマチンの凝集レベルの観察により、*kun*変異体ではクロモセーターが拡大し、ペリセントロメアを含むヘテロクロマチンの凝縮が緩んでいることを明らかにした。すなわち、KUNは、DNAメチル化やヒストン修飾といった、現在知られているサイレンシング経路とは異なる新規の機構でクロマチン構造を変化させることで、サイレンシングに寄与していると考えられた。

*kun*の原因遺伝子をゲノムワイドシーケンズにより同定したところ、植物に特有のPlant mobile domainタンパク質をコードしていた。さらに、シロイヌナズナで*kun*と最も相同性の高い遺伝子の変異体を解析したところ、*kun*同様にトランスポゾンのサイレンシングが解除されることが明らかになった。PMDは種子植物特異的に保存されているドメインであり、祖先種では、トランスポゾン活性によりPMDがゲノム上に広がったと考えられる。その一方で、進化過程の比較的近年、PMDタンパク質自身がサイレンシング能を獲得したことが我々の解析により明らかになった。さらに、特定の種では、PMDタンパク質が新たに別のトランスポゾンに取り込まれているケースを複数見いだしており、PMDが現在もトランスポゾンを介した進化過程にあることが示唆された。

KUNはトランスポゾンに関連したドメインをもつサイレンシング因子として植物で初めての報告であり、トランスポゾンによって伝播したタンパク質が、一方の宿主側のゲノムに有利なサイレンシングに利用され、宿主ゲ

ノムの安定性を確保するように働いたと考えられ、ゲノム進化の例として非常に興味深い。

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 9件)

Ikeda Y., Pélissier T, Bourguet P, Becker C, Pouch-Pélissier MN, Pogorelcnik R, Weingartner M, Weigel D, Deragon JM, Mathieu O. Arabidopsis proteins with a transposon-related domain act in gene silencing. *Nature Communications*. 査読有, Article no.15122, (2017).

Rigal, M., Becker, C., Pélissier, T., Pogorelcnik, R., Devos, J., Ikeda, Y., Weigel, D., Mathieu, O. Epigenome confrontation triggers immediate reprogramming of DNA methylation and transposon silencing in Arabidopsis thaliana F1 epihybrids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 査読有, vol. 113 no. 14, (2016).

[学会発表](計 14件)

Ikeda, Y., Pélissier, T., Bourguet, P., Becker, C., Pouch-Pélissier, M. N., Pogorelcnik, R., Weingartner, M., Weigel, D., Deragon, J. M. and Mathieu, O. トランスポゾン関連ドメインをもつ新規遺伝子サイレンシング因子の同定. 日本遺伝学会第89回大会, 岡山, 9月13-16日, 2017.

Ikeda, Y., Pélissier, T., Bourguet, P., Becker, C., Pouch-Pélissier, M. N., Pogorelcnik, R., Weingartner, M., Weigel, D., Deragon, J. M. and Mathieu, O. トランスポゾン関連ドメインをもつ新規遺伝子サイレンシング因子の同定. 日本植物学会第81回大会, 野田, 9月8-10日, 2017.

Ikeda, Y. The role of plant mobile domain family protein in gene silencing. 国立遺

伝学研究所 研究集会: A consortium of plant epigenetics in Japan- Second Meeting, 三島, 8月24-25日, 2017.

Ikeda, Y., Pélissier, T., Bourguet, P., Becker, C., Pouch-Pélissier, M. N., Pogorelcnik, R., Weigel, D., Deragon, J. M. and Mathieu, O. KUMONOSU protein harboring a transposon-related domain acts in gene silencing in Arabidopsis. 第58回日本植物生理学会年会, 鹿児島, 3月16-18日, 2017.

Ikeda, Y. Epigenetic response to various environments in plants and its mechanism. 33rd IPSR International Symposium and 9th Symposium on Plant Stress Sciences. 3月6-7日, 2017.

池田陽子・Olivier Mathieu:シロイヌナズナ KUMONOSU 遺伝子はヘテロクロマチンサイレンシングに参与する. 第38回日本分子生物学会年会ワークショップ「植物エピゲノム研究の最前線」, 神戸, 12月1-4日, 2015.

〔図書〕(計 1件)

Ikeda, Y., Nishimura, T. The role of DNA methylation in transposable element silencing and genomic imprinting. Nuclear Functions in Plant Transcription, Signaling and Development, 査読有, Springer, (2015)

〔産業財産権〕
該当なし

出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
(アウトリーチ活動)

池田陽子:植物の色や形などを支配する動く遺伝子‘トランスポゾン’平成27年度岡山大学資源植物科学研究所公開講座(倉敷市大学連携講座), 倉敷, 10月17日, 2015.

池田陽子:環境によって変わる遺伝子のはたらき. 平成27年度おかやまサイエンス・トーク, 岡山県立倉敷中央高校, 倉敷, 10月26日, 2015.

6. 研究組織

(1)研究代表者

池田 陽子 (IKEDA, Yoko)
岡山大学・資源植物科学研究所・特任助教
研究者番号: 80467688

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

Olivier Mathieu (MATHIEU, Olivier)
仏国・クレルモンフェラン大学・Principal investigator