

令和元年5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18838

研究課題名(和文) プロテアソームによるDNAメチル化バランス制御機構の解明

研究課題名(英文) DNA methylation regulated by plant proteasome

研究代表者

佐古 香織 (Sako, Kaori)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・特別研究員

研究者番号：60722395

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではプロテアソームによるDNAメチル化制御機構解明を目的として研究を実施した。プロテオミクスによって、DNAメチル化関連因子のユビキチンリガーゼを同定した。また、トランスクリプトーム解析からDNAメチル化関連因子はカルスからの再生時に機能する遺伝子発現を負に制御することを明らかにした。本研究によって、プロテアソームによるDNAメチル化関連因子の分解が適切な遺伝子発現に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

組換え作物に導入した有用遺伝子がDNAメチル化の過剰促進によってサイレンシングされる現象が問題となっている。本研究ではプロテアソームによるタンパク質分解が適切な遺伝子発現制御に寄与することを明らかにした。本研究を発展させることによって過剰なメチル化を抑制し、食糧生産性増進など、応用面への貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：DNA methylation plays an important role in gene regulation. On the other hand, hyper methylation gives an adverse effect in plants. We showed that a DNA methylation related protein was degraded by ubiquitin/proteasome system. And this protein negatively regulated gene expression in callus regeneration. Thus, proteasome degrades this protein for proper gene expression.

研究分野：植物科学

キーワード：プロテアソーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

植物をはじめとする真核生物の遺伝子発現抑制には、エピジェネティックな化学修飾であるヒストン修飾と DNA メチル化が関与することが知られている。DNA メチル化はトランスポゾンの不活性化することによって、ゲノムを保護し、遺伝情報を次世代へと安定的に伝達する役割を担う。一方で、DNA メチル化が過剰に促進すると、トランスポゾン近傍に存在する遺伝子や、形質転換した有用遺伝子の抑制を引き起こすなど悪影響を及ぼす。また、トランスポゾンの転移は進化の一因となっているため、完全に不活性化してしまうと生存に不利となると考えられる。従って、植物はゲノム中の DNA メチル化レベルを適切な量に保つよう制御していると推測されるが、そのメカニズムは未解明であり、重要な課題となっている。一方で、ユビキチン・プロテアソーム系はユビキチンリガーゼによってユビキチン化されたタンパク質を、プロテアソームが選択的に分解する機構である。ユビキチン・プロテアソーム系による能動的タンパク質分解は、細胞周期やシグナル伝達など様々な生命現象において必須の役割を担っている。申請者は、現在までに、植物プロテアソームが、i) 葉などの器官サイズ制御に関与すること [Plant J. 2009]、ii) プロテオミクス解析によってプロテアソームが核コードの葉緑体タンパク質を分解し、ホメオスタシスの維持に機能すること [J Proteome Res. 2014] など、プロテアソームの新規機能について研究を進めてきた。こうした中で、申請者はプロテアソームを構成するサブユニットの一つ RPT2a の欠損変異体が、DNA メチル化の過剰促進を原因とした、外生遺伝子のサイレンシングを生じることを明らかにした [PLoS ONE 2012]。さらに、これ迄の申請者の解析から DNA メチル化酵素と機能未知の DNA メチル化関連因子がプロテアソームによって分解される可能性を見出していた。これらの結果からユビキチン・プロテアソーム系が DNA メチル化制御に関わる因子を適切に分解制御することで DNA メチル化レベルの調節に機能している可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本研究は、プロテアソームによる DNA メチル化制御機構解明を目的として研究を実施した。遺伝学的解析からプロテアソームと DNA メチル化酵素との関連性が示唆されていた。また、申請者が実施したプロテオミクス解析から機能未知の DNA メチル化関連因子をプロテアソーム相互作用因子として同定していた。そこで本研究ではプロテアソームがこれらの DNA メチル化関連因子をいつ・どこで・どのように分解することで DNA メチル化を制御しているかを明らかにすることを目的に研究を実施した。

多くの作物において様々な有用形質を持った遺伝子導入植物の作出が試みられている。しかし、植物に導入された外来遺伝子において、DNA メチル化による有用遺伝子の発現抑制が生じ、有用形質転換体の作出が阻害されることが知られている。本研究によって DNA メチル化制御機構の一翼が明らかとなれば、こうした有用遺伝子の効率的な作成につながる事が期待できる。

3. 研究の方法

DNA メチル化関連因子の分解メカニズムを解明するために、プロテオミクスによって DNA メチル化関連因子のユビキチンリガーゼの探索を実施した。また、DNA メチル化関

連因子の機能を明らかにするために、そのノックアウト変異体を作製しトランスクリプトーム解析を実施した。

4 . 研究成果

プロテオミクスによって、DNA メチル化関連因子のユビキチンリガーゼを同定した。同時に DNA メチル化関連因子がユビキチン化されることを確認した。また、遺伝学的解析ならびにトランスクリプトーム解析から DNA メチル化関連因子変異体はカルスからの再生時に葉器官形成に機能する遺伝子の発現が早期に誘導されることによって、カルスからの再生が促進されることを明らかにした。これらの結果から、プロテアソームは DNA メチル化関連因子を適切に分解することによって、カルス再生時における正常な遺伝子発現を維持している可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

(1) Sako K, Sunaoshi Y, Tanaka M, Matsui A, Seki M. (2018) The duration of ethanol-induced high-salinity stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav.*13(8):e1500065 査読有

(2) 上田実, 佐古香織, 伊藤昭博, 吉田稔, (2018) 関原明ヒストン脱アセチル化酵素が担う植物の環境ストレス応答制御 植物をストレスに強くする標的タンパク質の発見, *化学と生物* 56 巻 797-803 査読有

(3) Nguyen HM, Sako K, Matsui A, Ueda M, Tanaka M, Ito A, Nishino N, Yoshida M, Seki M. (2018) Transcriptomic analysis of *Arabidopsis thaliana* plants treated with the Ky-9 and Ky-72 histone deacetylase inhibitors. *Plant Signaling & Behavior* 13:e1448333 査読有

(4) Ueda M, Matsui A, Tanaka M, Nakamura T, Abe T, Sako K, Sasaki T, Kim JM, Ito A, Nishino N, Shimada H, Yoshida M, Seki M. (2017) The distinct roles of class I and II RPD3-like histone deacetylases in salinity stress response. *Plant Physiology* 175:1760-1773 査読有

(5) Nguyen HM, Sako K, Matsui A, Suzuki Y, Mostofa MG, Ha CV, Tanaka M, Tran LP, Habu Y, Seki M. (2017) Ethanol Enhances High-Salinity Stress Tolerance by Detoxifying Reactive Oxygen Species in *Arabidopsis thaliana* and Rice. *Frontiers in Plant Science* 8:1001 査読有

(6) Kurita K, Sakamoto T, Yagi N, Sakamoto Y, Ito A, Nishino N, Sako K, Yoshida M, Kimura H, Seki M, Matsunaga S. (2017) Live imaging of H3K9 acetylation in plant cells. *Scientific Reports* 7:45894 査読有

(7) 佐古香織, 関原明 (2016) エピジェネティック制御の改変によって植物の耐塩性を高める, *バイオサイエンスとインダストリー誌*, 74: 312-313 査読無

(8) Sako K, Kim JM, Nakamura K, Matsui A, Tanaka M, Kobayashi M, Saito K, Nishino N, Kusano M, Taji T, Yoshida M, Seki M. (2016) Ky-2, a histone deacetylase inhibitor, enhances high-salinity stress tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology* 57:776-83 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) 佐古香織, チエン・バン・ハ, 松井章浩, 田中真帆, 佐藤綾人, 関原明, Chemical screening of compounds enhancing salinity stress tolerance 第 60 回日本植物生理学会 2019 年 3 月 13-15 日

(2) 佐古香織, 二村友史, 清水猛, 平野博之, 松井章浩, 青野晴美, 清水謙志朗, 川谷誠, 上田実, 田中真帆, 野口航, 長田裕之, 関原明(2018) A novel compound FSL0260 enhances salinity stress tolerance via mitochondrial respiration in Arabidopsis thaliana, 第 59 回日本植物生理学会

(3) 佐古香織, 清水猛, 清水謙志朗, 平野博之, 松井章浩, 上田実, 田中真帆, 長田裕之, 関原明 (2017) Identification of a novel compound enhancing salinity stress tolerance, 第 58 回日本植物生理学会

〔図書〕(計 1 件)

Minoru Ueda, Kaori Sako and Motoaki Seki, (2018) Epigenetic regulations and modifications for enhanced salinity stress tolerance in plants. "Salinity Responses and Tolerance in Plants, Volume 2: Exploring RNAi, Genome Editing and Systems Biology", Springer, p77-91

〔産業財産権〕

出願状況 (計 3 件)

(1) 名称: 植物の環境ストレス耐性向上剤、エタノール

発明者: 関原明, 佐古香織, Huong Mai Nguyen, Khurram Bashir, Sultana Rasheed, 砂押裕司, 松井章浩

権利者: 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2016-252242

出願年: 2016

国内外の別: 国内

(2) 名称: 植物の耐塩性向上剤、FSL0260 およびその類縁化合物

発明者: 関原明, 佐古香織, 長田裕之, 清水猛, 平野博之

権利者: 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2016-193311

出願年: 2016

国内外の別: 国内

(3) 名称: 耐塩性を付与する FAMT 遺伝子および代謝産物

発明者: 関原明, 上田実, 佐古香織, Nguyen Mai Huong, 吉田稔

権利者: 理化学研究所

種類: 特許

番号: 特願 2016-007190

出願年: 2016

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: なし

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号 (8 桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。