

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15059

研究課題名（和文）遺伝子とトランスポゾンの識別基盤となるエピジェネティック修飾および制御因子の探索

研究課題名（英文）Search for epigenetic modifications and regulators on the mechanism of the discrimination between genes and transposons

研究代表者

藤 泰子 (TO, TAIKO)

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・助教

研究者番号：10623978

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：真核生物は、ゲノムにコードされる遺伝子とトランスポゾンとの違いを正確に識別し、異なるクロマチン修飾を付加して転写制御する。この識別は個体発生やゲノム維持に不可欠であるが、この識別が何に起因するのか、その識別メカニズムは不明であった。この問いに答えるため、分子遺伝学とエピゲノミクスを駆使して、シロイヌナズナの抑制エピゲノム情報の喪失と再構築の過程を観察した。その結果、トランスポゾンにおける抑制修飾の回復は、転写開始点近傍のCGメチル化やヒストンバリエーションH2A.Wの局在と相関していたことから、これら因子の抑制修飾標的識別機構への関与が示唆された。これら成果をNature Plantsに発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

環境応答や発生、分化など植物における様々な生物学的イベントには、エピジェネティクスが深く関与する。本研究は、近年注目されているエピジェネティクス分野の中でも、エピゲノムの構築過程に焦点を当て、植物が抑制遺伝子を識別し、制御する仕組みの一端を明らかにすることに成功した。本研究で得られた成果は、植物におけるエピジェネティクス研究分野に限定されず、発生や分化、ストレス応答など植物の多様なイベントにおける分子理解につながり、基礎科学的理解だけでなく農学や医学にも発展しうる重大な効果を持つと考える。

研究成果の概要（英文）：Eukaryotes accurately identify differences between genes and transposons, and add different chromatin modifications to control transcription. This discrimination is essential for proper development and genome maintenance, but the mechanism was unknown. To answer this question, we used molecular genetics and epigenomics to observe the process of loss and reconstruction of Arabidopsis repressive epigenetic information. As a result, the recovery of repressive modification in the transposon was correlated with CG methylation near the transcription start site and the localization of histone variant H2A.W, suggesting the involvement of these factors in the repressive modification target identification mechanism. These results were published in Nature Plants.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：エピジェネティクス クロマチン DNAメチル化 植物 抑制修飾 エピゲノム

1. 研究開始当初の背景

真核生物は、ゲノムにコードされる機能遺伝子とトランスポゾンなどにコードされる有害配列の違いを正確に識別し、それぞれ異なるクロマチン修飾を付加して転写状態を変化させる。遺伝子とトランスポゾンとの正確な識別と明確な区別は、生命維持に不可欠な根本機能であるが、何がこの識別の鍵となるのか不明であった。

シロイヌナズナにおいてトランスポゾンは、抑制修飾（ヒストン H3K9 メチル化および non-CG 配列の DNA メチル化）を受け転写抑制される。この抑制修飾の起点は siRNA と呼ばれる短鎖 RNA が新規 DNA メチル化機構を標的配列に誘導することと考えられてきた。

2. 研究の目的

本研究は、真核生物がどのように機能遺伝子とトランスポゾンの違いを正確に識別するのか、その識別機構に焦点を当て、シロイヌナズナをモデルとした分子遺伝学とエピゲノミクスにより遺伝子とトランスポゾンの識別機構を理解することを目的とした。具体的には、シロイヌナズナにおいてトランスポゾン特異的な修飾として知られる抑制エピゲノム修飾の喪失とその後の再構築過程の観察を行うとともに、その抑制修飾再構築に必要な因子を様々な修飾酵素の欠損導入などを通じて探索することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、遺伝子とトランスポゾンの識別に必要なクロマチン修飾の同定と、その制御機構の解明を目指し、抑制修飾を回復できないトランスポゾン GLT(Gene Like Transposon)に着目して、GLT が抑制修飾変異体において消失あるいは獲得したクロマチン修飾の同定を試みた。また GLT は転写開始点(TSS)における CG メチル化を特異的に消失するため、TSS の CG メチル化が鍵を握ると考える。そこで、GLT の TSS における CG メチル化を消失する他の因子のスクリーニング、脱メチル化酵素の同定、他のクロマチン修飾との相互作用を遺伝学的、分子生物学的に調べた。

4. 研究成果

植物の DNA メチル化は、トランスポゾンと遺伝子で大きくパターンが異なる。このパターンの異常は植物のシビアな表現型に繋がることが知られることから、適切なメチル化の確立と維持は植物の正常な発生と個体の維持に不可欠と言える。

シロイヌナズナの DNA メチル化は、RNAi 経路を介して作られた siRNA をガイドとし、新規 DNA メチル化酵素 DRM2 が新規 DNA メチル化を行うことが知られる。この新規メチル化は、CG 配列にも、non-CG 配列（以降、CH とする）においても起こり、CG 配列については MET 1 が、CH メチル化については植物特異的 CH メチル化酵素である CMT が H3K9me 酵素 SUVH と協調的に維持する。本研究では、トランスポゾン特異的メチル化確立の過程を配列毎に調べるため、各配列が 2 つの因子でペアになって制御されているのを利用して、分子遺伝学的アプローチを試みた。

具体的には、各配列において特異的にメチル化を消失する変異体を 2 つずつ用意し、それぞれの交配をおこなって、得られた F1 個体のメチル化を調べた。F1 個体では、親から配列特異的にメチル化を消失したゲノムを引き継ぐとともに、メチル化に必要な遺伝子は全て揃うことになる。

親世代で消えていた CG メチル化は、F1 ではトランスポゾンで回復するが、その回復は世代とともに大きくなり、完全な回復までには時間が必要であること、また CG メチル化の回復は siRNA 依存的であることが確認された。これは既知の知見と一致する結果である。次に、CH メチル化についても同様に 2 つの変異体を用意し、その F1 個体でのメチル化を調べたところ、CH メチル化はたった 1 世代で非常に早く、かつ正確に回復することが明らかとなった。また、siRNA が検出されない TE についてもメチル化の回復が観察され、これまで唯一の新規メチル化経路として考えられていた RNAi 経路に非依存的な新規 CH メチル化経路が示唆された。

そこでこれを検証するために、RNAi 経路の変異体背景で同様の交配実験を行ったところ、CH メチル化の回復は RNAi 経路がなくても、WT とほぼ遜色ない回復がみられ、CH メチル化の回復は RNAi 経路には依存しないことが確認された。

また、トランスポゾンには、トランスポゼースなどの遺伝子をコードするトランスポゾンと、SINE などのコード領域をもたないトランスポゾンが存在します。興味深いことに、RNAi 経路は、ノンコーディングトランスポゾンにおいて働き、本研究でみられた RNAi 非依存的な CH メチル化経路は、トランスポゾンの遺伝子をコードする領域（トランスポゾン遺伝子）で特異的に働くということが示唆された。しかも、この経路はゲノム中の普通の遺伝子に異所的に働くことはな

かった。

この新規 CH メチル化経路が、何を手がかりにトランスポゾン遺伝子と普通の遺伝子を識別しているのか、という問いに答えるため、CH メチル化が回復しない一部のトランスポゾンに着目した。これらトランスポゾンは、野生型では強い CH メチル化を持つものの、CH メチル化変異体では、TE としての何かしらアイデンティティを失い、そのため回復できなかったと考えた。すると、GLT は CG メチル化を遺伝子の TSS および TTS 特異的に消失することが明らかとなった。このパターンをシロイヌナズナの全遺伝子やトランスポゾンのメチル化パターンと比較すると、野生型ではトランスポゾンの端から端までメチル化があるのに対し、CH メチル化変異体では、TSS のメチル化が減少し、通常遺伝子のメチル化パターンに酷似する。すなわち、この遺伝子様のメチル化パターンが遺伝子と TE の識別に重要ではないか、と考えている。さらに本研究により、GLT の TSS における CG メチル化消失に関与する脱メチル化酵素の同定に成功している。また、CG メチル化以外に、GLT ではヒストン H2A のバリエーションの局在にも変化が見られた。シロイヌナズナには 4 種の H2A バリエーションが存在するが、そのうち、ヘテロクロマチンに特異的なバリエーション H2A.W が、WT では GLT に高度に局在していたのに対し変異体では消失し、代わりに遺伝子に局在するバリエーションの H2A.Z が取り込まれていることが示された。すなわち GLT では H2A.W から H2A.Z への局在シフトが観察されたが、この変化はその他 TE では起きなかった。このことより、これら H2A バリエーションも、トランスポゾンと遺伝子の識別に関与する候補として考えられる。

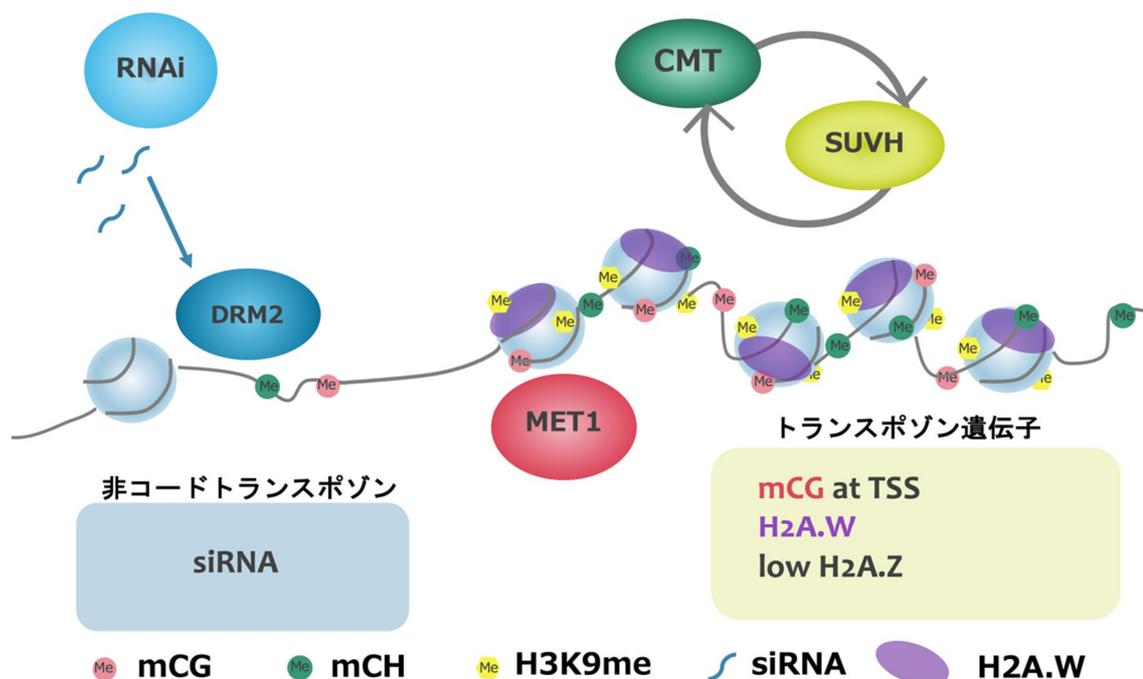


図 1. 新規 CH メチル化経路がトランスポゾン識別する機構モデル

以上より、シロイヌナズナでは、これまで新規 DNA メチル化は全て RNAi 経路に依存すると考えられてきたが、トランスポゾンの、特に遺伝子コード領域においては、RNAi 経路に依存しない新規 CH メチル化経路が存在することが示されました。また、この系がはたらく条件として、遺伝子 TSS 近傍の CG メチル化、または H2A.W の局在、あるいは、H2A.Z が局在しないことが示唆されたことから、これらの情報がトランスポゾン遺伝子から識別する因子の候補であると考えられる (図 1)。以上の結果をまとめて、半年ほど前に Nature Plants で報告した。

< 引用文献 >

① To TK, Nishizawa Y, Inagaki S, Tarutani Y, Tominaga S, Toyoda A, Fujiyama A, Berger F, Kakutani T. RNA interference-independent reprogramming of DNA methylation in *Arabidopsis*. *Nature Plants*. 6, 1455–1467. (2020)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 To Taiko Kim, Nishizawa Yuichiro, Inagaki Soichi, Tarutani Yoshiaki, Tominaga Sayaka, Toyoda Atsushi, Fujiyama Asao, Berger Frédéric, Kakutani Tetsuji	4. 巻 6
2. 論文標題 RNA interference-independent reprogramming of DNA methylation in Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 1455 ~ 1467
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41477-020-00810-z	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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 藤泰子、西澤優一郎、稲垣宗一、樽谷芳明、富永さやか、角谷徹仁
2. 発表標題 トランスポゾンの遺伝子コード領域および非コード領域における ヘテロクロマチンの消失とその継世代的回復
3. 学会等名 日本遺伝学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤泰子、西澤優一郎、稲垣宗一、樽谷芳明、富永さやか、角谷徹仁
2. 発表標題 トランスポゾンの遺伝子コード領域および非コード領域における ヘテロクロマチンの消失とその継世代的回復
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Taiko K To, Soichi Inagaki, Yoshiaki Tarutani, Kae Kato, Sayaka Tominaga, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Tetsuji Kakutani
2. 発表標題 Transgenerational heterochromatin dynamics in coding and noncoding regions of transposons
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Meeting, "Transposable Elements"（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤泰子、稲垣宗一、樽谷芳明、加藤夏絵、富永さやか、豊田敦、藤山秋佐夫、角谷徹仁
2. 発表標題 トランスポゾンの遺伝子コード領域および非コード領域におけるヘテロクロマチンの消失とその継世代的回復
3. 学会等名 第41回 日本分子生物学会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤泰子、稲垣宗一、樽谷芳明、豊田敦史、藤山秋佐夫、角谷徹仁
2. 発表標題 シロイヌナズナにおけるRNAiに依存しない抑制クロマチンの確立機構
3. 学会等名 日本遺伝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤 泰子
2. 発表標題 トランスポゾンの遺伝子コード領域および非コード領域におけるヘテロクロマチンの消失とその継世代的回復
3. 学会等名 第38回染色体ワークショップ・第19回核ダイナミクス研究会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 To TK, Kim JM.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 CABI, England	5. 総ページ数 in press
3. 書名 Plant Omics: Advances in Big Data Biology Chapter 9, Plant Epigenetics	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学大学院理学系研究科 角谷研究室ホームページ
<http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~iden/>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
オーストリア	Gregor Mendel Institute		