

令和 4 年 4 月 7 日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06619

研究課題名(和文)植物ゲノムにおける転移因子由来非コードRNAの転写制御

研究課題名(英文)Regulation of TE-derived non-coding RNAs in plant genomes

研究代表者

佐瀬 英俊(Hidetoshi, Saze)

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：植物ゲノムでは進化の過程で遺伝子内部の非翻訳領域(イントロンやUTR配列)に転移因子(トランスポゾン)が大量に蓄積されている。本研究において我々はシロイヌナズナにおけるゲノムワイドな転写開始点の解析を行い、普段はエピジェネティック修飾によって抑制されているCrypticな転写開始点から発現するRNAクラスターを3000以上新たに同定し、その多くが転移因子配列由来であることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで理解されていなかった植物ゲノムにおける遺伝子の転写開始点制御と転移因子配列のエピジェネティック制御について本研究結果から明らかになった。

研究成果の概要(英文)：In plant genomes, many transposable elements (TEs) are accumulated in genic regions including intron and untranslated regions (UTR) of genes. In this study, we investigated cryptic promoters that are regulated by epigenetic modifications. In *Arabidopsis thaliana*, we identified more than 3000 novel transcription start sites (TSS) that are epigenetically regulated, most of which are derived from TE sequences.

研究分野：植物遺伝学

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

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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転移因子(トランスポゾン)などのリピート配列により形成されている。例えば植物ゲノムの場合、ゲノムサイズはゲノム中の転移因子の割合と強い相関があることが知られている。転移因子は時に自らの配列を移動または増幅して転移し、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)は転移因子を不活性化するため RNAi やヒストン修飾、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転移因子はゲノム中で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一般的に排除されており、ヒストンアセチル化など活性化エピジェネティック修飾が 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活発に転写されている遺伝子配列内、特に非翻訳領域であるイントロンや 5' -, 3' -UTR に大量の転移因子配列が入り込んでいる現象 (intragenic transposon) 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、ゲノムの 20% 程度を構成するイントロン内にゲノム中のおよそ 60% もの転移因子が存在していると報告されている。また我々は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、特にイントロンに存在し、その多くがヘテロクロマチン化していることを明らかにしている (Le 2015)。遺伝子領域に挿入されたトランスポゾンは、プロモーター近傍では遺伝子の発現抑制、遺伝子内では転写装置の通過の阻害やミスプライシング、内在性のプロモーターによるアンチセンス RNA 生成などによる遺伝子発現の阻害といった遺伝子発現にネガティブな影響を引き起こすことが知られているが、「遺伝子領域でトランスポゾンはどのような転写制御を受けているのか?」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検証されていない。

2. 研究の目的

本研究課題では遺伝子領域に存在するトランスポゾン由来の非コード RNA の同定とその機能を植物モデルシステムを用いて明らかにすることを目的とする。具体的にはシロイヌナズナゲノムにおいて遺伝子内外領域のトランスポゾン由来の非コード RNA の転写開始点を CAGE (Cap Analysis of Gene Expression) 解析によりゲノムワイドに同定する。加えてイントロンにトランスポゾン配列の挿入がある遺伝子で転写異常が起こる変異体の遺伝的、生化学的解析から遺伝子内トランスポゾンの転写制御の分子メカニズムの解明を目指す。

3. 研究の方法

これまでのシロイヌナズナを用いた我々の先行研究から、遺伝子内トランスポゾン配列から遺伝子とは独立な非コード RNA の転写が起こっていることを RNA-seq データより見出し、5' -RACE などにより実際にトランスポゾン配列内に存在する cryptic promoter からの転写開始を示唆する予備データを得ている。そもそも植物ゲノムにおいては遺伝子内 cryptic promoter の存在や遺伝子内部からの転写開始に必要な配列の情報を報告した先行研究がほとんど存在しない。そこで本計画ではシロイヌナズナゲノムの遺伝子内に存在する cryptic promoter の存在を CAGE (Cap Analysis of Gene Expression) 法によってゲノムワイドに同定することを試みる。この際、野生型に加えて維持性 DNA メチル化酵素 MET1 変異体や H3K9 メチル化酵素変異体、RNAi 変異体などトランスポゾン抑制に異常をきたす変異体も同時に比較解析することで、野生型では抑制されて捕捉できないトランスポゾン由来の cryptic promoter を網羅的に同定する。さらに CRISPR-Cas9 システムを用いて非コード RNA を転写する cryptic promoter を特異的に欠失させることで遺伝子機能への重要性を検証する。これら解析から遺伝子内トランスポゾンの非コード RNA 制御と遺伝子発現との相互作用を明らかにする。

4. 研究成果

本研究で我々は野生型シロイヌナズナとさまざまなエピゲノム修飾に異常をきたす変異体におけるゲノムワイドな転写開始点の解析を CAGE (Cap Analysis of Gene Expression) 解析によって行なった。その結果、普段はエピジェネティック修飾によって抑制されている cryptic な新規

の転写開始点を 3000 以上新たに同定した (Le et al., 2020)。また、その多くがトランスポゾン配列由来であることを見出した。さらに、cryptic な転写開始点を持つトランスポゾン配列は、持たないトランスポゾン配列と比較して高度に DNA のメチル化を受けていることを明らかにした。また、cryptic な転写開始点を持つトランスポゾン配列はより凝集したクロマチン構造を持つこと、small RNA 生成のターゲットになっていることも明らかになった。こうした Cryptic な転写開始点からの異所的な RNA の発現は近傍の遺伝子の転写に影響を与えることも見出している。この研究の成果を国際誌に発表した (Le et al., 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 1件）

1. 著者名 Le NT, Harukawa Y, Miura S, Boer D, Kawabe A, Saze H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Epigenetic regulation of spurious transcription initiation in Arabidopsis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-16951-w	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐瀬英俊
2. 発表標題 植物における遺伝子内トランスポゾン配列の抑制的クロマチン修飾の維持機構
3. 学会等名 日本植物学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐瀬英俊
2. 発表標題 植物における環境要因によるエピゲノム変化と継世代伝達の可能性
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hidetoshi Saze
2. 発表標題 Epigenetic regulation of intragenic transposons and gene transcription in plant genomes
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021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
--	---------------------------	-----------------------	----

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