

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06008

研究課題名(和文)新規トランスポゾン転移制御機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of a novel regulatory mechanism of transposon transposition

研究代表者

伊藤 秀臣 (Ito, Hidetaka)

北海道大学・理学研究院・准教授

研究者番号：70582295

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)：我々の先行研究から、ONSENの転移効率と転移頻度は転写レベルと必ずしも相関しないことが明らかになった。これにより、転写レベル以外に転移制御に関わる重要な因子が存在することが示唆された。変異体スクリーニングを行った結果、ONSENの転写レベルは野生型と変わらないが、世代を超えた転移が観察される変異体screen1を同定した。この変異体は既知のエピジェネティック修飾に關与する遺伝子とは異なり、新規の転移制御機構の存在を示唆する。現在、TED-seqを用いてscreen1の原因因子を解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、トランスポゾンの転移制御メカニズムを解明し、ゲノムの安定性や進化の理解を深める点にある。特にエピジェネティクス非依存的な制御機構の解明は新たな視点を提供し、植物の環境応答メカニズムの理解に寄与する。社会的意義としては、高温ストレスに強い作物の育成に役立ち、気候変動対策に貢献するほか、遺伝子編集技術の安全性向上にも寄与する。また、生物多様性や進化の理解を促進する。

研究成果の概要(英文)：Transposons and repetitive sequences are usually suppressed by DNA methylation or histone modifications, preventing transposition. However, our previous study found that ONSEN transposition efficiency and frequency do not always correlate with transcription levels, suggesting other factors are involved in its regulation. We identified a mutant, screen1, where ONSEN transcription levels are unchanged from the wild type, but transgenerational transposition occurs. This indicates a novel regulatory mechanism at the genomic insertion level. We screened candidate genes for this mechanism but found no ONSEN transposition. The causative factor for screen1 is located between 5.3 Mb and 8.9 Mb on chromosome 3, and we are currently analyzing TED-seq results to identify the responsible genes.

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 シロイヌナズナ

## 1. 研究開始当初の背景

内在性の転移因子トランスポゾンあらゆる生物のゲノム中に存在し、近年のゲノム解析研究から、多くの高等生物においてゲノムの主要な構成要素であることが明らかとなってきた。トランスポゾンが活性化すると、近隣の遺伝子発現に影響を与えるなど、宿主に与える影響は大きい。さらに、トランスポゾンの転移が生殖細胞に伝わると、世代を超えて転移の影響が子孫に伝わるため、トランスポゾンの転移制御は宿主にとって非常に重要である。そのため、多くのトランスポゾンはエピジェネティックな修飾により発現が抑制されている。

一方で、本申請者らはシロイヌナズナを用いた解析から、高温ストレス活性型のトランスポゾン *ONSEN* が、DNA のメチル化非依存的に転写が活性化することを報告した (Ito et al. 2011)。本申請者の今までの研究で、転写制御機構は次第に明らかになりつつあるが、転移を制御するメカニズムは不明な点が多い。そこで本研究の目的は、*ONSEN* の転移制御に関わる新たな因子を同定し、その機能を解析することで、トランスポゾンの転移抑制機構を明らかにすることであった。

## 2. 研究の目的

申請者は最近、シロイヌナズナにおいて高温ストレス活性型のレトロトランスポゾン *ONSEN* が世代を超えて転移する新たな変異体を見つけた。この変異体は、既知の抑制的エピジェネティック修飾に關与する遺伝子の変異体とは異なり、*ONSEN* の転写レベルは野生型と変わらない。このことは、*ONSEN* の転移をゲノムの挿入レベルで制御する新規の制御機構の存在を示唆している。本研究では、シロイヌナズナの変異体を用いてトランスポゾンの新規の転移制御機構を解明することが目的であった。

## 3. 研究の方法

*screen1* は、高温ストレス処理後の *ONSEN* の転写レベルが野生型と比較して高くないという特徴がみられた。野生型と同程度の *ONSEN* の発現量であるにも関わらず、世代を超えて転移するという特徴は、先行研究で *ONSEN* の転移制御への関与が明らかになっている RNA 誘導型 DNA メチル化 (RdDM) 経路の因子の変異体の特徴とは異なる。これまで知られている *ONSEN* 転移制御に關与する因子と異なる特徴を持つ *screen1* の原因遺伝子の同定、及びその機能解析は、未だ明らかになっていない *ONSEN* の転移制御機構の解明、ひいてはトランスポゾンの転移抑制機構の全体像を理解する上で役に立つと考える。本研究ではトランスポゾンの新しい転移制御機構を解明することが目的であり、以下の通り研究を進めた。

### (1) T-DNA挿入変異体を用いた*screen1*の原因遺伝子の同定

遺伝子マッピングの結果をもとに選出した *screen1* の原因遺伝子候補の変異体を用いた転移解析を行う。HS を与えた変異体の次世代個体での *ONSEN* の転移を検出する。変異体を選抜する際には、できる限り遺伝子マッピングで検出された SNPs の位置に近い T-DNA 挿入を持つものを選抜した。

### (2) クラシカルマッピングによる*screen1*の原因遺伝子の同定

原因遺伝子が存在する領域をさらに絞り込むために、クラシカルマッピングを用いた解析を行う。クラシカルマッピングでは、Col-0 バックグラウンドである *screen1* を、シロイヌナズナの別のエコタイプである *Landsberg(Ler)* に交配し、遺伝子マッピングにより明らかになった領域以外を、全て *Ler* のゲノムに置換した系統を作成する。現在は、1 回戻し交配後の選抜が終了し、再度 *Ler* への戻し交配を行い、解析に用いる系統を作成した。作成した系統を用いて、*ONSEN* の転移解析を行うとともに、さらに Col-0/*Ler* 領域を区別することができる DNA Marker にて転移と原因領域の関係を確認することで、*screen1* の原因遺伝子が座乗すると予想される染色体領域を狭めた。狭めた領域内で再度候補遺伝子を選出し、それらについて *ONSEN* の転移解析を行うことで *screen1* の原因遺伝子を同定を試みた。

## 4. 研究成果

トランスポゾンや反復配列は、一般的に DNA のメチル化やヒストン修飾によってヘテロク

ロマチン化され、転写が抑制されている。そのため、転移に必要なタンパク質が発現できず、転移が抑制されている。しかし、我々の先行研究(Hayashi et al. 2020)によると、ONSENの転移効率と転移頻度は転写レベルと必ずしも相関していないことが明らかになった。これにより、ONSENの転移制御には転写レベル以外の重要な因子が存在することが示唆された。

そこで、未知の転移制御機構の存在を仮定し、変異体スクリーニングを実施した。その結果、ONSENの転写レベルは野生型と変わらないが、世代を超えた転移が観察される変異体 screen1 を同定した。この変異体は、既知の抑制的エピジェネティック修飾に関与する遺伝子の変異体とは異なり、ONSENの転写レベルは野生型と同じであった。これにより、ONSENの転移をゲノムの挿入レベルで制御する新規の制御機構の存在が示唆された。

本研究の目的は、シロイヌナズナの変異体を用いてトランスポゾンの新規の転移制御機構を解明することである。ONSENの転移制御に関与する新規の因子を同定するため、多数の候補遺伝子を選出し、サザンブロットを用いて転移解析を行ったが、全ての変異体でONSENの転移は検出されなかった。これまでの結果から、screen1の原因因子は第3染色体の5.3Mbから8.9Mbの領域に存在することが判明した。そのため、48時間の熱ストレスをかけたこの領域にある17個の原因遺伝子を用いてTED-seqを実施し、ONSENの転移を検出した。現在、TED-seqの結果を解析中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nozawa Kosuke, Masuda Seiji, Saze Hidetoshi, Ikeda Yoko, Suzuki Takamasa, Takagi Hiroki, Tanaka Keisuke, Ohama Naohiko, Niu Xiaoying, Kato Atsushi, Ito Hidetaka	4. 巻 13
2. 論文標題 Epigenetic regulation of ecotype-specific expression of the heat-activated transposon ONSEN	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1048957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.899105	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 -
1. 著者名 Ito Hidetaka	4. 巻 97
2. 論文標題 Diversity and strategies of environmental stress-responsive transposons in plants	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 167 ~ 167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.97.167	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 -
1. 著者名 Ito Hidetaka	4. 巻 97
2. 論文標題 Environmental stress and transposons in plants	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes & Genetic Systems	6. 最初と最後の頁 169 ~ 175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1266/ggs.22-00045	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 -
1. 著者名 Niu Xiaoying, Chen Lu, Kato Atsushi, Ito Hidetaka	4. 巻 13
2. 論文標題 Regulatory mechanism of a heat-activated retrotransposon by DDR complex in Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 899105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2022.1048957	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 -

1. 著者名 Niu Xiaoying, Ge Zhiyu, Ito Hidetaka	4. 巻 15
2. 論文標題 Regulatory mechanism of heat-active retrotransposons by the SET domain protein SUVH2	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1355626
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2024.1355626	査読の有無 無
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 -

[学会発表] 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 牛 小蛭、陳 露、加藤 敦之、伊藤 秀臣
2. 発表標題 DDR複合体による熱活性化型レトロトランスポソンの制御機構
3. 学会等名 日本遺伝学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 牛 小蛭、竹平 佳菜子、加藤 敦之、伊藤 秀臣
2. 発表標題 Search for novel transcriptional regulators of heat-activated retrotransposons in Arabidopsis thalian
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 牛小蛭、竹平佳菜子、加藤敦之、伊藤秀臣
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける熱活性化型レトロトランスポソンの新規転移制御因子の探索
3. 学会等名 日本遺伝学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 牛小蛭、竹平佳菜子、加藤敦之、伊藤秀臣
2. 発表標題 Investigating a novel regulator of heat-responsive retrotransposons in Arabidopsis thaliana.
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ito, H, Niu, X, Ikeda, Y, Saze, H, Kanehira, R, Son, N
2. 発表標題 Novel mechanism of transposon repression by histone deacetylases.
3. 学会等名 The 33rd International Conference on Arabidopsis Research
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 SUN XIN, Hidetaka Ito
2. 発表標題 DNA methylation mediates transcriptional regulation of heat-active retrotransposons by HDAC
3. 学会等名 日本遺伝学会第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Zhiyu Ge, Xiaoying Niu, Hidetaka Ito
2. 発表標題 Exploration of the association between HSFA2 and ONSEN expression
3. 学会等名 日本遺伝学会第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 牛小蛭, 伊藤秀臣
2. 発表標題 シロイヌナズナにおける熱活性型レトロトランスポソンの制御機構の解明
3. 学会等名 日本遺伝学会第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 SUN XINGYU, Yui Hayshi, Hidetaka.Ito
2. 発表標題 The transpositional activity of ONSEN transposons varies among different mutants in the RdDM-related pathways
3. 学会等名 日本遺伝学会第95回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryu Hasegawa, Hidetaka Ito
2. 発表標題 熱応答性トランスポソンONSENの転移による胚軸異常伸長変異体の解析
3. 学会等名 第65回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2024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
---------	---------