

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成29年度研究進捗評価用〕

平成26年度採択分
平成29年2月27日現在

抑制と抗抑制によるエピゲノム動態制御機構の解明

Controlling mechanisms of epigenome by silencing and anti-silencing

課題番号：26221105

角谷 徹仁 (KAKUTANI TETSUJI)

国立遺伝学研究所・総合遺伝研究系・教授



研究の概要： シロイヌナズナの抗抑制に働くヒストン脱メチル化酵素遺伝子 *IBM1* の変異体と、*ibm1* 変異による発生異常をサプレスする変異である *ldl2* の解析から、エピゲノム分化における遺伝子内 H3K4me1 の重要性を示した。また、配列特異的に DNA メチル化喪失を引き起こすタンパク質である VANC のゲノム内局在と、その進化様式を示した。VANC による新奇抗抑制経路理解のため、これと相互作用する宿主因子を同定し、解析している。

研究分野： 遺伝・染色体動態

キーワード： エピジェネティクス、DNA メチル化、シロイヌナズナ、クロマチン

1. 研究開始当初の背景

エピゲノム動態を理解するには抑制と抗抑制の両面を知る必要がある。しかしながら後者（抗抑制）の理解は遅れている。私達は、DNA メチル化に影響するシロイヌナズナ変異体を用いた遺伝学とゲノミクスによるアプローチで、ゲノム動態や個体発生に影響する新奇のエピゲノム抗抑制機構を見いだしていた。

2. 研究の目的

本課題では、私達のこれまでの研究蓄積を生かし、抑制/抗抑制によるエピゲノム形成と個体発生制御機構、および新奇 DNA 脱メチル化因子の分子機構という新たな問題を解明する。独自の研究素材とアプローチを生かしながら、エピゲノム制御という普遍的な生命現象の理解に貢献する。

3. 研究の方法

課題1「ヘテロクロマチン制御様式と発生への影響の理解」 ヒストン脱メチル化酵素 *IBM1* 遺伝子の変異体では、遺伝子にヘテロクロマチンの目印が蓄積する。これにともない、多くの発生異常が誘発される (Saze et al 2008 Science; Miura 2009 EMBO J; Inagaki et al 2010 EMBO J)。興味深いことにヘテロクロマチンの蓄積は世代を超えて漸進的に進み、これにともない発生異常も強くなる。発生を指標に抑圧変異を選抜したところ、DNA メチル化酵素やヒストンメチル化酵素遺伝子の変異体とともに、ヘテロク

ロマチンを維持したまま発生異常を抑圧するものが見いだされた。これらの素材を用いた遺伝解析およびゲノム解析によって、ヘテロクロマチン蓄積の機構とそれが発生に影響する経路を理解する。

課題2「新奇 DNA 脱メチル化の分子機構解

DNA 脱メチル化効果を持つタンパク質 VANC は、末端の逆位反復配列の崩れた DNA 型トランスポゾン解析を進める中で見いだした新奇因子である (Fu et al 2013 EMBO J)。VANC を発現させると、一群のトランスポゾンで全長にわたる脱メチル化が誘発される (図)。

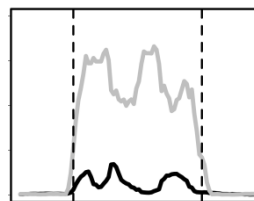


図 VANC 発現個体におけるトランスポゾン全長の脱メチル化 (黒色)。灰色はメチル化された対照系統

VANC による低メチル化の誘導は、配列特異性が高いにもかかわらず、数 Kb にわたる領域の全長でおこる点が興味深い (図)。この機構を知るため、染色体における VANC の分布を知る。また、VANC と結合するタンパク質を回収、同定する。また、エピジェネティックな過程に影響するシロイヌナズナ変異体下における VANC の効果を調べるとともに、その活性に影響する新たな変異体を選抜する。

4. これまでの成果

(i)「ヘテロクロマチン制御様式と個体発生への影響の理解」ヒストン H3 の第9リジンのメチル化 (H3K9me) は多くの真核生物で抑制クロマチンの目印として働き、トランスポゾンなどの反復配列を抑制することが知られている。不思議なことに H3K9me は、プロモーターだけでなく、転写が抑制された配列の内部にも分布する。シロイヌナズナの変異体 *ibm1* (increase in BONSAI methylation 1)では、遺伝子内部に H3K9me が蓄積するとともに、発生異常が誘発される。この発生異常をサプレッサー変異体を調べることで、遺伝子内部のクロマチン動態の意義にアプローチした。まず、このサプレッサー変異の原因遺伝子は、ヒストン H3 リジン 4 の脱メチル化酵素をコードする *LDL2* だった。この変異体および H3K9 メチル化酵素の変異体を用いた遺伝解析とエピゲノム解析によって、遺伝子内部の H3K9me は、遺伝子内部の H3K4me1 (モノメチル化) の脱メチル化を介してトランスポゾンの転写抑制を行っていることを見出した (Inagaki et al 2017 *EMBO J*)。H3K4me1 は動物ではエンハンサーに特徴的な修飾として知られているが、遺伝子内 H3K4me1 は、ほとんど注目されていない。本研究は、この修飾が多くのトランスポゾンの抑制を仲介することを示した。また、この発生異常誘発の鍵となっている遺伝子を見出し、これが病原体応答を仲介する経路であることを見出した (論文未発表)。これらの解析とも組み合わせることで、遺伝子内修飾の生物学的意味についての理解を今後大きく進められると考える。

また、ゲノム DNA 低メチル化変異体 *ddm1* (decrease in DNA methylation 1)の背景で局所的な高メチル化がみられることに着目し、ゲノム全体での抑制クロマチンのレベルを制御する負のフィードバックの存在を示した (Ito et al 2015 *PLoS Genet*)。

(ii)「新奇 DNA 脱メチル化の分子機構理解」トランスポゾン *VANDAL21* のコードするタンパク質の一つ VANC21 は、*VANDAL21* コピーに特異的な DNA メチル化喪失と転写脱抑制を引き起こす(図) (Fu et al 2013 *EMBO J*)。この機構の理解を目指している。

これまでに、このタンパク質のゲノム中での局在とその標的の進化に関する結果を得ている (未発表)。また、VANC と相互作用する宿主タンパク質をいくつか同定した (未発表)。

5. 今後の計画

短期的には、上記(ii)の抗抑制因子 VANC の結果を早めに論文にまとめる。また、VANC

と相互作用するタンパク質をいくつか同定しているため、その機能解析を進める。

(i)に関しては、これまでの結果から、遺伝子内の H3K4me1 がクロマチン動態に重要であることがわかった (Inagaki et al 2017 *EMBO J*)。今回の解析で同定した *LDL2* のパラログの中には、異なる標的特異性を持つものがあるので、これらの変異体のエピゲノム解析と遺伝学的解析によってその生物学意義を明らかにする。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

1. Inagaki S, Takahashi M, Hosaka A, Ito T, Toyoda A, Fujiyama A, Tarutani Y, Kakutani T (2017) Gene-body chromatin modification dynamics mediate epigenome differentiation in Arabidopsis. *EMBO J*. on line.

2. Ito H, Kim JM, Matsunaga W, Saze H, Matsui A, Endo TA, Harukawa Y, Takagi H, Yaegashi H, Masuta Y, Masuda S, Ishida J, Tanaka M, Takahashi S, Morosawa T, Toyoda T, Kakutani T, Kato A, Seki M (2016) A stress-activated transposon in Arabidopsis induces transgenerational abscisic acid insensitivity. *Sci Rep*. 15: 23181.

3. Ito T, Tarutani Y, To TK, Kassam M, Duvernois-Berthet E, Cortijo S, Takashima K, Saze H, Toyoda A, Fujiyama A, Colot V, Kakutani T (2015) Genome-wide negative feedback drives transgenerational DNA methylation dynamics in Arabidopsis. *PLoS Genet* 11:e1005154

4. To TK, Saze H, Kakutani T (2015) DNA Methylation within Transcribed Regions. *Plant Physiol*. 168:1219-25.

5. Ito H, Kakutani T. (2014) Control of transposable elements in Arabidopsis thaliana. *Chromosome Res*. 22, 217-2.

ホームページ等 :

<http://www.biol.s.u-tokyo.ac.jp/users/iden/index.html>