

研究種目：特定領域  
研究期間：2007～2012  
課題番号：19060014  
研究課題名（和文） メリステム機能のエピジェネティックな統御系

研究課題名（英文） Epigenetic control of meristem functions.

研究代表者

角谷 徹仁 (KAKUTANI TETSUJI)

国立遺伝学研究所 総合遺伝研究系・教授

研究者番号：20332174

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：植物生理学

キーワード：DNA メチル化、small RNA、ヒストン修飾

1. 研究計画の概要

遺伝子発現情報が塩基配列以外の形（染色体蛋白質や DNA の修飾）で細胞分裂後も染色体上に保持される「エピジェネティック」な制御は、多細胞生物の発生過程で大きな役割をもつことが明らかになりつつある。私達はこれまで、DNA 低メチル化突然変異下で誘発される発生異常を連鎖解析することによってエピジェネティックな発生制御の標的となる遺伝子を同定するという独自のアプローチをとり、DNA メチル化で制御されるインプリント遺伝子など、いくつかの興味深い遺伝子を同定してきた。このようにして見いだした遺伝子の一つである *BONSAI* は、メリステム機能に関与し、その抑制が葉序の異常を引き起こす。本研究では、*BONSAI* 遺伝子など、DNA メチル化で発現が影響される遺伝子を研究素材として、これらの遺伝子における遺伝子発現を制御する機構と、個体発生に対するインパクトを研究する。

2. 研究の進捗状況

*ddm1* 突然変異下で数世代を経ることで誘発される *bonsai* とよばれる発生異常は、この原因遺伝子 (*BONSAI* 遺伝子) の DNA メチル化が数世代の間に上昇し、発現が抑制されたせいであることがわかっている (Saze and Kakutani 2007 *EMBO J*)。この奇妙な現象の機構を知ることを目指した。まず *ddm1* 突然変異と様々な DNA メチル化酵素遺伝子、ヒストン修飾酵素遺伝子、small RNA 関連遺伝子の突然変異体のバックグラウンドで *ddm1* の自殖の効果を調べた。その結果、既知の *de novo* DNA メチル化酵素である *DRM2* や RNA による DNA メチル化誘

導因子である *RDR2* や *DCL3* や *AGO4* は *BONSAI* のメチル化に不要であることがわかった。一方で、ヒストン H3K9 メチル化酵素である *KRYPTONITE* と非 CG 配列の DNA メチル化酵素である *CMT3* が必要であることがわかった。さらにこの新奇経路に関与する複数の新たな突然変異体を得ている (Sasaki, Kobayashi, Saze, Kakutani, 論文準備中)。また、*BONSAI* 遺伝子のメチル化が上昇する突然変異体を選抜することによりヒストン脱メチル化酵素と構造の類似した新奇因子 *IBM1* (increase in *BONSAI* methylation 1) を同定した。*Ibm1* 突然変異は、*bonsai* 様の表現型以外にも種々の発生異常を示す。興味深いことに、これらの発生異常は、ヒストン H3K9 メチル化酵素遺伝子である *KRYPTONITE* や非 CG メチル化酵素遺伝子である *CMT3* の突然変異で抑圧される。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 上記のように当初の計画を大部分達成しており、また、予想をこえる成果が得られている。small RNA 関連の既知の因子がこの過程に関与すると予想していたが、実際には、これらの因子は不要であることがわかった。一方で、非 CG メチル化酵素 *CMT3* やヒストン H3K9 メチル化酵素の関与が明らかになった。さらに、*BONSAI* 座のメチル化を制御しうる新奇の因子として *IBM1* を同定した。*ibm1* 突然変異も発生異常を示すため、この機構が興味深い。

4. 今後の研究の推進方策

*ibm1* 突然変異も発生異常を示し、これが

H3K9 メチル化酵素や非 CG メチル化酵素に依存するため、これらのエピジェネティックな修飾の異常が発生異常の原因と考えられる。ただし、発生異常を直接引き起こす *ibm1* の標的遺伝子は、まだ同定できていない。遺伝学的アプローチおよび発生生物学的アプローチによって、まず標的遺伝子を同定したい。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件、すべて査読有)

- ① Tsukahara S, Kobayashi A, Kawabe A, Mathieu O, Miura A, and Kakutani T (2009) Bursts of retrotransposition reproduced in Arabidopsis. *Nature* 461, 423-426
- ② Miura A, Nakamura M, Inagaki S, Kobayashi A, Saze H, and Kakutani T (2009) An Arabidopsis *jmjC* domain protein protects transcribed genes from DNA methylation at CHG sites. *EMBO J.* 28, 1078-1086
- ③ Schoft V, Chumak N, Mosiolek M, Slusarz L, Komnenovic V, Brownfield L, Twell D, Kakutani T and Tamaru H (2009) Induction of RNA-directed DNA methylation upon decondensation of constitutive heterochromatin. *EMBO Rep.* 10, 1078-1086
- ④ Saze H, Shiraishi A, Miura A, and Kakutani T (2008) Control of Genic DNA methylation by a *jmjC* domain-containing protein in Arabidopsis thaliana. *Science* 319, 462-465
- ⑤ Fujimoto R, Kinoshita Y, Kawabe A, Kinoshita T, Takashima K, Nordborg M, Nasrallah M, Shimizu K, Kudoh H, Kakutani T (2008) Evolution and control of imprinted FWA genes in the genus Arabidopsis. *PLoS Genet.* 4, e1000048
- ⑥ Saze H, and Kakutani T (2007) Heritable epigenetic mutation of a transposon-flanked gene due to lack of the chromatin-remodeling factor DDM1. *EMBO J.* 26, 3641-3652

[学会発表] (計 28 件)

- ① Kakutani T (2009) Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis. Gordon Research Conference; Epigenetics (Holderness, NH, 招待講演)
- ② Kakutani T (2009) Genetics of DNA methylation in Arabidopsis thaliana. The 24<sup>th</sup> Naito Conference on Nuclear Dynamics and RNA. (札幌、招待講演)
- ③ Kakutani T (2009) Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis thaliana. EMBL conference on Chromatin and Epigenetics. (Heidelberg,

Germany, 招待講演)

- ④ Kakutani T (2008) Epigenetic inheritance of developmental variation, transposon activity, and DNA methylation in Arabidopsis thaliana. The 6<sup>th</sup> NIBB-EMBL Conference; Epigenetics. (Heidelberg, Germany, 招待講演)
- ⑤ Kakutani T (2008) Genetics of DNA methylation in the BONSAI locus. The 55<sup>th</sup> NIBB Conference; Frontier of Plant Science in the 21<sup>st</sup> Century. (岡崎、招待講演)
- ⑥ Saze H and Kakutani T (2007) Genetic dissection of DNA methylation at the BONSAI locus. Gordon Research Conference; Epigenetics (Holderness, NH,)
- ⑦ 角谷徹仁 (2007) シロイヌナズナにおけるエピジェネティックな遺伝 日本エピジェネティクス研究会第 1 回年会
- ⑧ Kakutani T (2007) Epigenetic inheritance of developmental variation, transposon activity, and DNA methylation in Arabidopsis thaliana. 日本分子生物学第 7 回春期シンポジウム (淡路島、招待講演)

(他)

[図書] (計 5 件)

- ① 角谷徹仁、河邊昭 (2009) 「シロイヌナズナにおける DNA メチル化とトランスポゾン制御—半数体世代での制御とゲノム機能進化」実験医学 27, 3075-3079 (総説)
- ② Saze H, Sasaki T, and Kakutani T (2008) Negative regulation of DNA methylation in plants. *Epigenetics* 3, 122-124. (総説)
- ③ 佐々木卓、佐瀬英俊、角谷徹仁 (2008) 「シロイヌナズナを用いた DNA メチル化制御機構の研究」蛋白質核酸酵素 53, 809-814. (総説)
- ④ 中村みゆき、佐瀬英俊、角谷徹仁 (2008) 「DNA メチル化とエピジェネティックな発生異常」細胞工学別冊 細胞工学シリーズ 24 植物のエピジェネティクス 57-63. (総説)
- ⑤ 角谷徹仁 (2007) 「DNA メチル化とエピジェネティックな多様性とトランスポゾン」実験医学 24, 1220-1224. (総説)

[その他]

ホームページ

<http://www.nig.ac.jp/labs/AgrGen/home-j.html>