

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 5 日現在

機関番号：63801

研究種目：特定領域研究

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 function

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

研究成果の概要（和文）：

*ddm1* 変異下で誘発される *bonsai* とよばれる発生異常は、原因遺伝子の DNA メチル化が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。遺伝解析の結果、RNAi 関連の DNA メチル化誘導因子はこのメチル化に不要であることがわかった。また、この遺伝子のメチル化上昇を指標に新奇因子 *IBM1* を同定した。ゲノムワイドの解析によって、*IBM1* は転写される配列からヘテロクロマチン修飾を除くことにより正常な発生を保證することがわかった。

研究成果の概要（英文）：

DNA hypomethylation mutation *ddm1* (decrease in DNA methylation) induces several types of developmental defects through heritable effects on other loci. One of them, which we named *bonsai*, was due to transcriptional repression of the responsible gene, which is associated with local increase in DNA methylation. Genetic analyses revealed that the methylation does not depend on RNAi machinery. We also screened mutants inducing *BONSAI* methylation and identified a novel factor *IBM1* (increase in *BONSAI* methylation). Genome-wide analyses revealed that *IBM1* ensures normal plant development by removing heterochromatin marks from transcribed sequences.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	13,800,000	0	13,800,000
2008 年度	13,800,000	0	13,800,000
2009 年度	13,800,000	0	13,800,000
2010 年度	13,800,000	0	13,800,000
2011 年度	13,800,000	0	13,800,000
2012 年度	13,800,000	0	13,800,000
総計	82,800,000	0	82,800,000

研究分野：植物遺伝学

科研費の分科・細目：植物生理

キーワード：DNA メチル化、クロマチン

## 1. 研究開始当初の背景

植物の発生におけるエピジェネティックな制御の役割を知るため、DNA 低メチル化突然変異体 *ddm1* (*decrease in DNA methylation 1*)を用いている。この突然変異は他の遺伝子座を変化させることにより種々の発生異常を誘発する。そのうち、私達が *bonsai* とよぶ発生異常は、節間伸長の阻害と葉序の乱れを示す。遺伝解析の結果、この発生異常は、これまで調べられていない細胞周期制御遺伝子の発現抑制によることがわかっていた。

## 2. 研究の目的

*BONSAI* 遺伝子によるメリステム制御など、植物発生におけるエピジェネティックな制御の機構を理解する。

## 3. 研究の方法

*BONSAI* 遺伝子によるメリステム制御の機構を知るため、分子遺伝学的なアプローチをとる。この遺伝子の発現抑制に伴い、*BONSAI* 領域をカバーする small RNA が蓄積する。本研究では、small RNA 形成やクロマチン制御に関与する遺伝子の変異体を材料に用い、この情報統御機構を遺伝的に解剖する。また、この遺伝子のメチル化を制御する新たな突然変異体を選抜する。

## 4. 研究成果

(1) *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ため、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、RNAi 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

RNAi 関連の DNA メチル化誘導因子は *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 KYP 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 (Sasaki et al 2012 Plant J)。

(2) *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新奇因子 *IBM1* (*increase in BONSAI methylation 1*) を同定した。*ibm1* 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 (Saze et al 2008 Sciences)。ゲノムワイドの解析によって、数千の転写される遺伝子において、ゲノム DNA メチル化とヒストン修飾が変化することがわかった (Miura et al 2009 EMBO J; Inagaki et al 2010 EMBO J)。

(3) *ibm1* 変異体ではさまざまな発生異常が誘発される。発生異常の機構にアプローチするため、*ibm1* による発生異常を抑圧する変異体を選抜した。DNA メチル化酵素遺伝子の変異体やヒストン H3K9 メチル化酵素変異体に加え、新奇因子のサプレッサーが得られた。興味深いことに、DNA メチル化酵素遺伝子や H3K9 メチル化酵素の変異体と異なり、この新奇サプレッサー変異は、グローバルな DNA メチル化や H3K9 メチル化にはほとんど影響しないことがわかった。局所的に働くか、あるいは、DNA メチル化の下流の修飾に影響することで表現型をサプレッスしている可能性がある。

(4) *ddm1* 突然変異と RDR (RNA dependent RNA polymerase) 遺伝子の突然変異体において、強い発生異常が引き起こされることを見いだした (Sasaki et al 2012 Plant J)。また、*ddm1* 突然変異と *ibm1* 突然変異との 2 重突然変異体でも強い発生異常が見られる (Saze et al 2008 Science)。これらの発生異常の誘発機構が興味深い。

(5) *ddm1* 突然変異で誘発される別の発生異常を遺伝解析することにより、これが新規トランスポゾンの挿入突然変異であることがわかった。またゲノムワイドな解析によって低メチル化状態で転移する多様なトランスポゾンを同定した (Tsukahara et al 2009 Nature)。このうちのひとつと類似したセイヨウミヤマハタザオの因子が動原体に特異的に挿入する性質を持っていた (Tsukahara et al 2012 Genes Dev)。

#### 5. 主な発表論文等

(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 14 件)

- ① Tsukahara S, Kawabe A, Kobayashi A, Ito T, Aizu T, Shin-i T, Toyoda A, Fujiyama A, Tarutani Y, and Kakutani T (2012) Centromere-targeted de novo integrations of an LTR retrotransposon of Arabidopsis lyrata. *Genes Dev* 26, 705-713. 査読有
- ② Sasaki T, Kobayashi A, Saze H, and Kakutani T (2012) RNAi-independent de novo DNA methylation revealed in Arabidopsis mutants of chromatin remodeling gene DDM1. *Plant J* 70, 705-713. 査読有
- ③ Ikeda Y, Kinoshita Y, Susaki D, Ikeda Y, Iwano M, Takayama S, Higashiyama T, Kakutani T, Kinoshita T. (2012) HMG domain containing SSRP1 is required for DNA demethylation and genomic imprinting in Arabidopsis *Dev Cell* 21, 589-596 査読有
- ④ Kawagoe T, Shimizu KK, Kakutani T, Kudoh H. (2011) Coexistence of trichome variation in a natural plant population: a combined study using ecological and candidate gene approaches. *PLoS One* 6, e22184 査読有
- ⑤ To TK, Kim JM, Matsui A, Kurihara Y, Morosawa T, Ishida J, Tanaka M, Endo T, Kakutani T, Toyoda T, Kimura H, Yokoyama S, Shinozaki K, Seki M (2011) Arabidopsis HDA6 regulates locus-directed heterochromatin silencing in cooperation with MET1. *PLoS Genet* 7, e1002005 査読有
- ⑥ Fujimoto R, Sasaki T, Kudoh H, Taylor JM, Kakutani T, Dennis ES (2011) Epigenetic variation in the FWA gene within the genus Arabidopsis. *Plant J* 66, 831-843 査読有
- ⑦ Toyota M, Matsuda K, Kakutani T, Terao Morita M, Tasaka M (2011) Developmental changes in crossover frequency in Arabidopsis. *Plant J* 65, 589-599 査読有
- ⑧ Inagaki S, Miura-Kamio A, Nakamura Y, Lu F, Cui X, Cao X, Kimura H, Saze H, Kakutani T (2010) Autocatalytic differentiation of epigenetic modifications within the Arabidopsis genome. *EMBO J* 29, 3496-3506 査読有
- ⑨ Tsukahara S, Kobayashi A, Kawabe A, Mathieu O, Miura A, and Kakutani T (2009) Bursts of retrotransposition reproduced in Arabidopsis. *Nature* 303, 423-426 査読有
- ⑩ 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 査読有
- ⑪ 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 査読有
- ⑫ 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 査読有
- ⑬ 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 査読有
- ⑭ 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 査読有

[学会発表] (計43件)

- ① Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" Cold Spring Harbor Asia Meeting: Plant epigenetics, stress response and evolution (invited speaker, 2 October 2012, Suzhou, China)
- ② Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons" The 23rd International Conference on Arabidopsis Research (invited co-chair and speaker for the session, "Epigenetics", 4 July 2012, Vienna, Austria)
- ③ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" The 77<sup>th</sup> Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology: The Biology of Plants (Invited speaker, 2 June 2012, Cold Spring Harbor, NY, USA)
- ④ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" 2012 International Symposium on Epigenetic Regulation in Higher Plants (invited speaker, 20 April 2012, Beijing, China)
- ⑤ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons" Keystone Symposium on Nuclear Events in Plant Gene Expression and Signaling (invited speaker, 8 March 2012, Taos, NM, USA)
- ⑥ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons" Gordon Research Conference: Epigenetics (invited speaker, 15 August 2011, Stonehill College, MA, USA)
- ⑦ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" CDB symposium: Epigenetic Landscape in Development and Disease (invited speaker, 4 March 2011, Kobe, Japan)
- ⑧ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" Cold Spring Harbor Asia Meeting: From Plant Biology to Crop Biotechnology (invited speaker, 27 October 2010, Suzhou, China)
- ⑨ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" The 21st International Conference on

Arabidopsis Research (invited speaker, 8 June 2010, Yokohama, Japan)

- ⑩ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis" ASM Conference: Mobile DNA (invited speaker, 27 April 2010, Montreal, Canada)
- ⑪ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis thaliana" Gordon Research Conference: Epigenetics (invited speaker, 12 August 2009, Holderness, NH, USA)
- ⑫ Kakutani, T. "Genetics of DNA methylation in genes and Transposons in Arabidopsis" EMBL Conference on Chromatin and Epigenetics (invited speaker, 15 May 2009, Heidelberg, Germany)

他

## 6. 研究組織

### (1) 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

### (2) 研究分担者なし

### (3) 連携研究者なし