

令和元年6月7日現在

機関番号：63904

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07118

研究課題名(和文)植物のエピジェネティクス：遺伝子発現制御と経世代伝達の分子機構

研究課題名(英文)Plant epigenetics: molecular mechanisms controlling gene expression and transgenerational inheritance

研究代表者

星野 敦 (Hoshino, Atsushi)

基礎生物学研究所・多様性生物学研究室・助教

研究者番号：80312205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：花の模様は、花の色を決める遺伝子のはたらきが花弁の一部で抑制されることにより現れることがある。この抑制にかかわる仕組みの1つに「エピジェネティクス」がある。ソライロアサガオの刷毛目絞(はけめしぼり)という模様をつくり出す遺伝子のエピジェネティックな抑制は、DNAのメチル化によるDNAとタンパク質の結合阻害が実体であった。さらにDNAのメチル化は、アサガオの刷毛目絞が世代を超えて遺伝することにも関わることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エピジェネティクスは遺伝子のはたらきを調節する仕組みで、生物や細胞に個性と多様性を与えている。アサガオの刷毛目絞は、エピジェネティクスの変動が模様としてあらわれるユニークな材料である。その特性を活かして、エピジェネティクスの主要な役者であるDNAのメチル化が遺伝子を抑制し、世代を越えた遺伝にかかわるメカニズムに迫ることができた。エピジェネティクスや花の模様の明快なモデルになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Floral pigmentation patterns are often caused by partial suppression of genes affecting flower petal coloration. We call one of the mechanisms for such gene suppression "epigenetics." Some morning glory cultivars show flowers with particular stripes. From molecular analyses of the striped flowers, we found that DNA methylation that is a key player of epigenetics suppresses the expression of the genes for flower coloration by inhibition of interaction between DNA and a protein. In addition, it was suggested that DNA methylation is involved in transgenerational inheritance of flower pigmentation.

研究分野：分子遺伝学

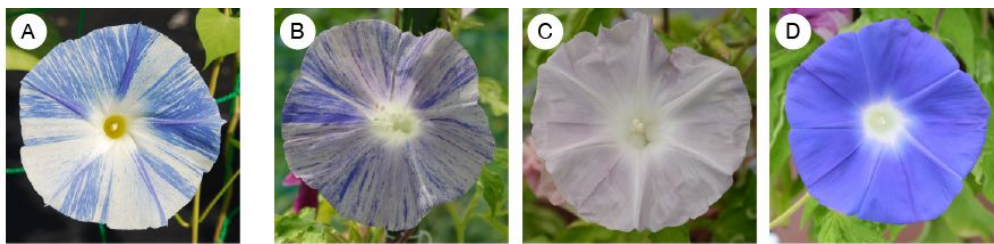
キーワード：エピジェネティクス 植物 クロマチン DNAのメチル化 アサガオ ヒストン トランスポゾン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

エピジェネティクスとは、DNA のメチル化やヒストンタンパク質の修飾などが遺伝情報としてはたらいて、遺伝子発現を調節する仕組みである。一般的に DNA のメチル化は遺伝子の発現抑制に関連しているが、発現抑制の具体的な分子機構については知見が少ない。一方、エピジェネティクスにより新たに生じた遺伝子の発現状態は世代を超えて遺伝することがあり「経世代エピジェネティック伝達」と呼ばれる。これは、獲得形質の遺伝との関連からも近年注目されているが、動植物を通じてほとんど例がない。

アサガオ (*Ipomoea nil*) とその近縁種にはさまざまな模様にかかわる変異が知られている。そのうち刷毛目絞 (はけめしぼり) は、淡い色の花弁に濃い色のストライプが入る模様である (図 1A、B)。これまでの研究からアサガオとソライロアサガオ (*I. tricolor*) の刷毛目絞は、いずれも花色遺伝子のプロモーター配列 (制御領域) に、動く遺伝子とも呼ばれるトランスポゾンが挿入した変異であることを突き止めている。また、ソライロアサガオの刷毛目絞 (図 1A) では、DNA メチル化が花色遺伝子を発現抑制することも見いだしている。一方、アサガオの刷毛目絞 (図 1B) では、変異型 (図 1C) あるいは野生型 (図 1D) の花色で模様のない花だけを咲かせる個体が分離する。これらの分離個体も刷毛目絞変異をもっていることから、エピジェネティックな変異体 (エピ変異体) であると考えられる。このエピ変異では、花色が安定に次世代に遺伝する経世代エピジェネティック伝達が観察される。予備的な解析から DNA メチル化の関与する可能性は低いことが示されており、ヒストン修飾の関与が考えられていた。



ソライロアサガオの刷毛目絞  
(DNA メチル化を解析)

アサガオの刷毛目絞  
(ヒストン修飾を解析)

図 1 本研究の材料とした刷毛目絞変異体

### 2. 研究の目的

ソライロアサガオの刷毛目絞を用いて、DNA メチル化が花色遺伝子を抑制する分子機構を明らかにする。

アサガオの刷毛目絞を用いて、花色と模様の経世代エピジェネティック伝達にヒストン修飾が寄与するかどうかを明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) DNA メチル化が花色遺伝子のプロモーター配列と転写因子の相互作用を阻害するという仮説のもとに研究を進める。花色遺伝子の発現を活性化する転写因子の組換えタンパク質を作成し、ゲルシフトアッセイによりプロモーター配列との相互作用を検討する。すでに転写因子が結合するプロモーター配列上の塩基配列が、近縁種のマルバアサガオで特定されている。そこで、この配列についてメチル化された DNA とメチル化されていない DNA を合成して、転写因子との相互作用を検討する。

(2) 花色遺伝子のプロモーター配列に、特定の修飾を受けたヒストンが高度に集積して安定に遺伝することが、経世代エピジェネティック伝達をおこすという仮説に沿って研究を行う。野生型のような青い花を咲かせるエピ変異体と、変異型のような淡色の花を咲かせるエピ変異体を材料に、花色と関連したヒストン修飾が集積しているかどうかを、クロマチン免疫沈降 (ChIP) により検討する。新学術領域・先進ゲノム支援によるサポートを受けることができたので、当初は ChIP により回収した DNA を定量 PCR で解析する計画であったが、これを変更してより詳細な結果が期待される次世代シーケンサー (NGS) による解析 (ChIP-seq) を行った。

### 4. 研究成果

(1) ソライロアサガオの転写因子の組換えタンパク質を作成し、花色遺伝子のプロモーター上の特定配列に相互作用することを確認した。さらに、この配列のシトシンがメチル化されている場合には相互作用が阻害されることも確認した。この結果は、プロモーター配列と転写因子の相互作用を阻害することが、DNA メチル化による花色遺伝子の発現抑制の分子機構であることを示す有力証拠である。DNA メチル化による遺伝子の発現抑制と模様形成機構を端的に説明するモデルを提唱できた。

(2) アサガオの刷毛目絞変異体から分離した変異型の花のエピ変異体(図1C)野生型の花のエピ変異体(図1D)と野生型標準系統を育成した。開花前日の花弁を大量にサンプリングして、これを材料にChIPの条件検討を行った。当初はゲノムDNAとヒストンタンパク質の相互作用が強固であるためネイティブChIPを試みた。免疫沈降には、ヒストンH4のアセチル化など5種類のヒストン修飾に対する抗体を用いた。ChIPにより回収したDNA断片は、先進ゲノム支援のサポートによりNGSで解読した。アサガオ標準系統のゲノム配列も解読し、これをリファレンス配列としてNGSで得られた配列を計算機で解析した。しかし、ネイティブChIPでは再現性のある結果が得られなかった。とくに変異型のエピ変異体では、ChIPによるDNA回収も難しく、良好な結果が得られなかった。そこで、ゲノムDNAとヒストンを架橋するクロスリンクChIPに方法を変更し、独自の工夫も加えることでDNA断片を回収したのち、改めてNGSと計算機による解析を行った。その結果、ヒストンのアセチル化など、いくつかの抗体を用いた場合には再現性の良い結果を得ることができるようになった(図2)。花色遺伝子のプロモーター配列については、ヒストンのアセチル化と着色、花色遺伝子発現のあいだに正の相関がみられた。さらに、花色遺伝子に挿入しているトランスポゾンに転移酵素を供給するトランスポゾンについても解析したところ、トランスポゾン内部の転移酵素遺伝子のプロモーター配列にアセチル化されたヒストンが集積し、さらに、変異型のようなエピ変異体ではより広い領域に集積している傾向がみられた。一方、アサガオのDNAのメチル化に関する研究から、このトランスポソンのプロモーター配列は、野生型に比べて刷毛目絞変異体では脱メチル化されていることが示唆されている。これまでのトランスポソンのエピジェネティックな制御に関する知見を踏まえると、刷毛目絞にかかわる花色遺伝子ではなく、転移酵素を供給するトランスポソンのDNAメチル化の状態が、2つのエピ変異体の出現と、その表現型の経世代エピジェネティック伝達において中心的な役割を果たしている可能性が高い。また、花色遺伝子と転移酵素遺伝子にみられるヒストンのアセチル化も、エピ変異体の出現と経世代エピジェネティック伝達にかかわる可能性が残されており、今後さらなる検証が必要である。本研究では花色遺伝子のヒストン修飾のみを解析する予定であったが、先進ゲノム支援のサポートを受けたことでトランスポソンのヒストン修飾やDNAメチル化も含めて総合的かつ詳細な解析を行うことができたため、当初の計画以上に経世代エピジェネティック伝達に関する理解が深まった。

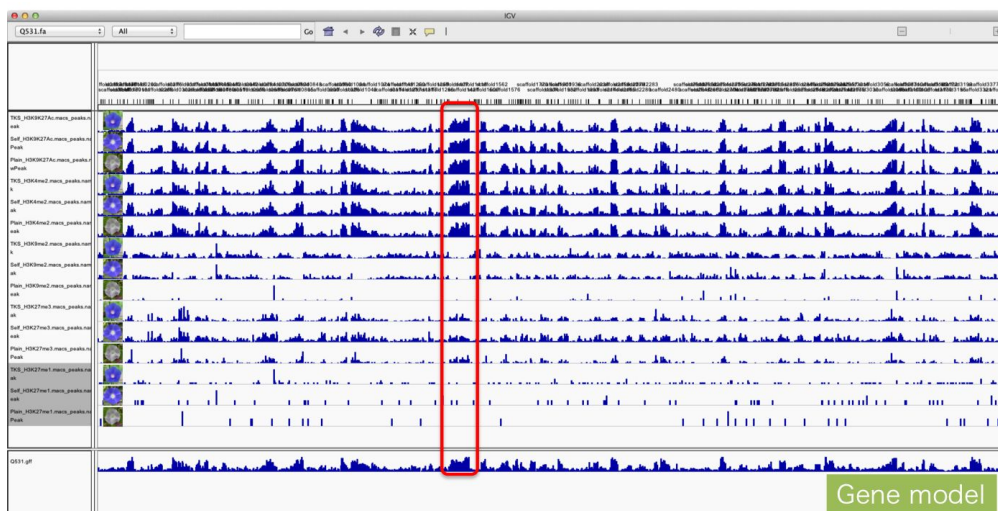


図2 ChIP-seqによるアサガオ全ゲノム配列のヒストン修飾の概要

## 引用文献

- Y. Morita, K. Ishiguro, Y. Tanaka, S. Iida and A. Hoshino: Spontaneous mutations of the UDP-glucose: flavonoid 3-O-glucosyltransferase gene confers pale and dull colored flowers in the Japanese and common morning glories. *Planta* 242, 2015, 575-587  
 星野敦、飯田滋、植物の花の色、エピジェネティクス-その分子機構から高次生命機能まで - DOJIN BIOSCIENCE SERIES 12 (田嶋正二編) 化学同人、2015、217-232

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

- Y. Morita and A. Hoshino: Recent advances in flower color variation and patterning of Japanese morning glory and petunia. *Breeding Science* 68, 2018, 128-138  
 査読有、DOI: 10.1270/jsbbs.17107  
 星野敦、仁田坂英二、V. Jayakumar、榊原康文、新たなステージに入ったアサガオ研究、

高精度なゲノム解読と幻の黄色いアサガオの再現、化学と生物 56、2018、39-46

査読有、<https://katosei.jsbba.or.jp/index.php?aid=912>

星野敦、受けつがれる伝統のアサガオ研究 ゲノム解読にもとづく大航海時代の幕開け、科学 87、2017、522-527

査読無、<https://www.iwanami.co.jp/kagaku/KaMo201706.html>

A. Hoshino, V. Jayakumar, E. Nitasaka, A. Toyoda, H. Noguchi, T. Itoh, T. Shin-I, Y. Minakuchi, Y. Koda, A. Nagano, M. Yasugi, M. Honjo, H. Kudoh, M. Seki, A. Kamiya, T. Shiraki, P. Carninci, E. Asamizu, H. Nishide, S. Tanaka, K.I. Park, Y. Morita, K. Yokoyama, I. Uchiyama, Y. Tanaka, S. Tabata, K. Shinozaki, Y. Hayashizaki, Y. Kohara, Y. Suzuki, S. Sugano, A. Fujiyama, S. Iida, and Y. Sakakibara: Genome sequence and analysis of the Japanese morning glory *Ipomoea nil*. *Nature Communications* 7, 2016, 13295

査読有、DOI: 10.1038/ncomms13295

A. Hoshino, Y. Yoneda and T. Kuboyama: A *Stowaway* transposon disrupts the *InWDR1* gene controlling flower and seed coloration in a medicinal cultivar of the Japanese morning glory. *Genes & Genetic Systems* 91, 2016, 37-40

査読有、DOI: 10.1266/ggs.15-00062

〔学会発表〕(計6件)

星野敦、森田裕将、長岐清孝、アサガオの刷毛目紋を司るエピジェネティックな遺伝子発現御、第60回日本植物生理学会年会、2019

星野敦、森田裕将、長岐清孝、アサガオの刷毛目紋とエピゲノム解析、第10回アサガオ研究集会、2019

星野敦、アサガオの花の模様とエピジェネティクス、平成29年度遺伝研研究会「エピジェネティクスの基盤となるクロマチン・細胞核の動的構造変換、2017

星野敦、アサガオのゲノム解読～古典遺伝学とロングリードNGSの融合～(シンポジウム:ポストゲノム時代のヒルガオ科研究)、植物学会第81回大会、2017

仁田坂英二、磯田和杜、星野敦、Vasanthan Jayakumar、榊原康文、久保山勉、アサガオの主要な変異原:自律性Tpnトランスポソンの系統間解析、三学会合同大分大会2017、日本動物学会九州支部(第70回)、九州沖縄植物学会(第67回)、日本生態学会九州地区(第62回)、2017

磯田和杜、星野敦、Vasanthan Jayakumar、榊原康文、仁田坂英二、アサガオにおける汎用分子マーカー作成と変異遺伝子同定の試み、三学会合同大分大会2017、日本動物学会九州支部(第70回)、九州沖縄植物学会(第67回)、日本生態学会九州地区(第62回)、2017

〔図書〕(計2件)

山内卓樹、星野敦、遺伝子のノックアウトとノックダウン。植物学の百科事典、丸善出版(日本植物学会編)、2016、608-609

星野敦、アサガオの模様を生み出すエピジェネティクス、エピジェネティクスの生態学環境に回答して遺伝子を調節する仕組み、文一総合出版(種生物学会編・荒木希和子責任編集)、2017、63-80

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/hoshino/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：榭原 康文

ローマ字氏名：SAKAKIBARA YASUBUMI

研究協力者氏名：Vasanthan Jayakumar

ローマ字氏名：Vasanthan Jayakumar

研究協力者氏名：長岐 清孝

ローマ字氏名：NAGAKI KIYOTAKA

研究協力者氏名：森田 裕将

ローマ字氏名：MORITA YASUMASA

研究協力者氏名：仁田坂 英二

ローマ字氏名：NITASAKA EIJI

研究協力者氏名：伊藤 多世

ローマ字氏名：ITO KAZUYO

研究協力者氏名：中村 涼子

ローマ字氏名：NAKAMURA RYOKO

研究協力者氏名：竹内 友世

ローマ字氏名：TAKEUCHI TOMOYO

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、研究者個人に帰属されます。