

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：14603

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02465

研究課題名(和文)階層縦断的に機能するエピジェネティックバイオタイマーの仕組みの理解

研究課題名(英文)A histone modification-based synthetic circuit to engineer temporal gene expression in Arabidopsis floral meristems

研究代表者

山口 暢俊(Nobutoshi, Yamaguchi)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授

研究者番号：90767899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：モデル植物であるシロイヌナズナの花の幹細胞を使って実験を重ねた結果、DNAを巻き取っているヒストンというタンパク質に連結したアミノ酸の特定の位置にメチル基を3つ持つヒストンの数と、分化を引き起こす遺伝子が誘導される時期との間に高い相関があることを見出した。この相関に注目して、メチル基をもつヒストンの数と分化遺伝子の誘導時期を方程式にして、両者の関係を数学的に明らかにした。さらに、メチル基をもつヒストンの数を人為的に増やすと、方程式で計算される時期に分化遺伝子が誘導されることを突き止めた。これらの成果をまとめて、Plant Cellに投稿し、掲載が決まった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、メチル基をもつヒストンの数と分化遺伝子の誘導時期を方程式にして、花の幹細胞の自己複製と分化のバランスを決める際に起こる仕組みを数学的に明らかにし、一般的な法則を見出しました。この法則に従って、メチル基をもつヒストンの数を人為的に増やすと、方程式で計算される時期に分化遺伝子が誘導される実証実験にも成功しました。植物の幹細胞の自己複製と分化の普遍的な仕組みを知るだけでなく、その仕組みを有効に使うことで農業や園芸の分野で利用していくうえでも大きく貢献すると期待されます。

研究成果の概要(英文)：The AG regulates floral meristem termination by preventing maintenance of the histone modification H3K27me3 along the KNU coding sequence. At two days after AG binding, cell division has diluted the repressive mark H3K27me3, allowing activation of KNU transcription prior to floral meristem termination. However, how many other downstream genes are temporally regulated by this intrinsic epigenetic timer is remain unknown.

Here, we identify direct AG targets regulated through cell cycle-coupled H3K27me3 dilution in Arabidopsis thaliana. Expression of the targets occurred later in plants with longer H3K27me3-marked regions. We established a mathematical model to predict gene expression and manipulated temporal gene expression using the H3K27me3-marked del region from the KNU coding sequence. Our results suggest that AG controls the timing of expression of various target genes via cell cycle-coupled dilution of H3K27me3 for proper floral meristem termination and stamen development.

研究分野：植物生理・分子

キーワード：シロイヌナズナ 花発生 エピゲノム 遺伝子発現

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物だけでなく、植物もたくさんの種類の幹細胞を持っており、葉・茎・根・花などの異なる器官を作っています。特に花をつくるために重要な役割を果たしているのが、花の幹細胞です。この花の幹細胞は決まった回数だけ細胞分裂を行い、自分と同じ性質を持つ幹細胞を作り続ける「自己複製」をします。そこで作られた細胞が、がく・花びら・雄しべ・雌しべといった器官に変化をする「分化」をしていきます。これまでの私たちの研究で、花をつくる幹細胞が自己複製から分化を始めるために必要な因子を特定していました。その因子は、生命の営みの設計図である DNA の塩基配列から様々な mRNA という中間産物を作る役割をもつ AGAMOUS (AG) と呼ばれる転写因子です。花の幹細胞でこの AG という転写因子が機能をして、しばらく細胞分裂が行った後に、分化に必要な遺伝子から mRNA が作られるようになります。ですが、これまでにこの仕組みを使ってコントロールされる分化に必要な遺伝子がたった 1 つしか特定できておらず、その背後に潜む一般的な法則を見出すことができていませんでした。そのため、どのように植物の幹細胞の仕組みを改変すれば、自己複製能を操作することができるのか？ は不明のままでした。

2. 研究の目的

まず私たちは、AG が機能してから、しばらく細胞分裂が行った後に、誘導される分化に必要な遺伝子をたくさん見つけることにしました。数を増やすことで、「自己複製」から「分化」に切り替えるために必要な一般的な法則を見つけることができるのではないかと考えたからです。そのためその一般則を見つけることを研究の目的としました。

3. 研究の方法

中部大学の鈴木教授らと連携し、DNA の塩基配列を次世代シーケンサーという装置で大規模に並列解析するクロマチン免疫沈降法という免疫の反応を使う手法を用いて、AG が機能してから、しばらく細胞分裂が行った後に、誘導される分化に必要な遺伝子群を網羅的に同定しました。次にこれらの遺伝子群に対して、ヒストンを構成する主要なタンパク質の一つであるヒストン H3 のメチル化について調べました。このヒストン H3 タンパク質を構成する長い鎖のように連結したアミノ酸のうち、27 番目に位置するリジンに 3 つのメチル基が付与されるトリメチル化 (H3K27me3) が起こると、遺伝子は誘導されなくなります。逆に、このトリメチル化がなくなると、遺伝子は誘導されるようになることが知られています。たくさんの遺伝子のメチル化を調べることで、H3K27me3 があるヒストンの数と、分化を引き起こす遺伝子が誘導される時期との間に高い相関があることに気が付きました。

これまでに見つけていた分化遺伝子である *KNUCKLES (KNU)* 遺伝子には、H3K27me3 があるヒストンの数が 3 つあり、誘導までにかかる細胞分裂の回数を決めます。新しく見つけた分化遺伝子の 1 つである *AT-HOOK MOTIF CONTAINING NUCLEAR LOCALIZED PROTEIN 18 (AHL18)* 遺伝子にも H3K27me3 があるヒストンの数が 3 つあり、プラハ・カレル大学 Aleš Soukup 博士と一緒に誘導までにかかる細胞分裂の回数が *KNU* 遺伝子とほぼ同じであることを明らかにしました。一方で、*PLATZ10* 遺伝子は、*KNU* や *AHL18* 遺伝子よりも H3K27me3 があるヒストンの数が多く、誘導までにかかる細胞分裂の回数が多いこともわかりました。つまり、H3K27me3 があるヒストンの数によって、分化を引き起こす遺伝子が誘導される時期が決められているという法則を見出しました。九州大学の佐竹教授らと連携して、H3K27me3 があるヒストンの数と、

遺伝子が誘導される時期を方程式にすることに成功しました。

次に、この方程式が正しいかを検証する実証実験を行うことにしました。私たちが立てた仮説が正しければ、H3K27me3があるヒストンの数を増やせば、分化までにかかる細胞分裂の回数は増えて、誘導の時期は遅くなっていくはずです。そこで *KNU* 遺伝子において H3K27me3があるDNAの領域を長くすることで、H3K27me3があるヒストンの数を増やしてみました。1つ、2つと数を増やすにつれて、*KNU* 遺伝子の誘導にかかる細胞分裂の回数も除去が増えていき、遺伝子の誘導の時期は遅くなっていくことがわかりました。

4. 研究成果

本研究により、メチル基をもつヒストンの数と分化遺伝子の誘導時期を方程式にして、花の幹細胞の自己複製と分化のバランスを決める際に起こる仕組みを数学的に明らかにし、一般的な法則を見出しました。この法則に従って、メチル基をもつヒストンの数を人為的に増やすと、方程式で計算される時期に分化遺伝子が誘導される実証実験にも成功しました。植物の幹細胞の自己複製と分化の普遍的な仕組みを知るだけでなく、その仕組みを有効に使って農業や園芸の分野で利用していくうえでも大きく貢献すると期待されます。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yamamoto H, Furuta Y, Hirakawa T, Uemura A, Pelayo M, Imura H, Katagiri N, Takeda-Kamiya N, Kumaishi K, Ishiguro S, Ichihashi Y, Suzuki T, Goh T, Toyooka K, Ito T, Yamaguchi N	4. 巻 -
2. 論文標題 Local and terminal cell differentiation mediated by the jasmonic acid-mediated autophagy evokes petal abscission in Arabidopsis thaliana.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Fuji S, Yamamoto E, Tangpranomkom S, Kimura Y, Miura H, Yamaguchi N, Niidome M, Shimosato-Asano H, Kato Y, Wada Y, Ito T, Takayama S	4. 巻 -
2. 論文標題 A phase-separated transcription factor regulates an interspecific barrier.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -
1. 著者名 Sebastian Alfino, Nugroho Ilham Cahyo, Putra Herdin Surya Dwi, Susanto Febri Adi, Wijayanti Putri, Yamaguchi Nobutoshi, Nuringtyas Tri Rini, Purwestri Yekti Asih	4. 巻 28
2. 論文標題 Identification and characterization of drought-tolerant local pigmented rice from Indonesia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Physiology and Molecular Biology of Plants	6. 最初と最後の頁 1061 ~ 1075
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12298-022-01185-5	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 -
1. 著者名 Hidayah Anik, Nisak Rizka Rohmatin, Susanto Febri Adi, Nuringtyas Tri Rini, Yamaguchi Nobutoshi, Purwestri Yekti Asih	4. 巻 63
2. 論文標題 Seed Halopriming Improves Salinity Tolerance of Some Rice Cultivars During Seedling Stage	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Botanical Studies	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40529-022-00354-9	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 -

1. 著者名 Pelayo Margaret Anne, Morishita Fumi, Sawada Haruka, Matsushita Kasumi, Iimura Hideaki, He Zemiao, Looi Liang Sheng, Katagiri Naoya, Nagamori Asumi, Suzuki Takamasa, ?irl Marek, Soukup Ale?, Satake Akiko, Ito Toshiro, Yamaguchi Nobutoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 AGAMOUS regulates various target genes via cell cycle?coupled H3K27me3 dilution in floral meristems and stamens	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Plant Cell	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/plcell/koad123	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 -

1. 著者名 Nobutoshi Yamaguchi	4. 巻 -
2. 論文標題 Editorial: Epigenetics in Plant Development	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21203/rs.3.rs-1240596/v1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Margaret Anne F. Pelayo, Haruka Sawada, Kasumi Matsushita, Zemiao He, Liang Sheng Looi, Naoya Katagiri, Nobutoshi Yamaguchi, Toshiro Ito	4. 巻 -
2. 論文標題 A histone modification-based synthetic circuit to engineer temporal gene expression in Arabidopsis floral meristems	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Research Square	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21203/rs.3.rs-1240596/v1	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Wu, J., Ichihashi, Y., Suzuki, T., Shibata, A., Shirasu, K., Yamaguchi, N. and Ito T.	4. 巻 42
2. 論文標題 Abscisic acid-dependent histone demethylation during postgermination growth arrest in Arabidopsis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Cell and Environment	6. 最初と最後の頁 2198-2214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Wu, J., Yamaguchi, N. and Ito T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Histone demethylases control root elongation in response to stress-signaling hormone abscisic acid.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Signaling and Behavior	6. 最初と最後の頁 1604019
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Xu Y., Yamaguchi, N. Gan, E-S., and Ito, T.	4. 巻 70
2. 論文標題 When to stop: an update on molecular mechanisms of floral meristem termination.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 1711-1718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Sun, B., Zhou, Y., Cai, J., Shang E., Yamaguchi, N., Xiao, J., Looi, L-S., Wee W-Y., Gao, X., Wagner, D., and Ito, T.	4. 巻 31
2. 論文標題 Integration of transcriptional repression and Polycomb-mediated silencing of WUSCHEL in floral meristems.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Cell	6. 最初と最後の頁 1488-1505
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ze Hong, L., Hirakawa, T., Yamaguchi, N., Ito, T.	4. 巻 20
2. 論文標題 The roles of plant hormones and their interactions with regulatory genes in determining meristem activity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journals of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4065
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Goh, T., Toyokura, K., Yamaguchi, N., Okamoto, T., Uehara, T., Kaneko, S., Takebayashi, Y., Kasahara, H., Ikeyama, Y., Okushima, Y., Nakajima, K., Mimura, T., Tasaka, M., and Fukaki, H.	4. 巻 222
2. 論文標題 Lateral root initiation requires the sequential induction of transcription factors LBD16 and PUCHI in Arabidopsis thaliana.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Phytologist	6. 最初と最後の頁 2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ze Hong, L., Tatsumi, Y., Ichihashi, Y., Suzuki, T., Shibata, A., Shirasu, K., Yamaguchi, N. and Ito T.	4. 巻 7
2. 論文標題 CRABS CLAW and SUPERMAN coordinate hormone-, stress-, and metabolic-related gene expression during Arabidopsis stamen development.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Ecology and Evolution.	6. 最初と最後の頁 437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Wu Jinfeng, Ichihashi Yasunori, Suzuki Takamasa, Shibata Arisa, Shirasu Ken, Yamaguchi Nobutoshi, Ito Toshiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Abscisic acid-dependent histone demethylation during post-germination growth arrest in Arabidopsis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant, Cell & Environment	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pce.13547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Nobutoshi, Huang Jiangbo, Tatsumi Yoshitaka, Abe Masato, Sugano Shigeo S., Kojima Mikiko, Takebayashi Yumiko, Kiba Takatoshi, Yokoyama Ryusuke, Nishitani Kazuhiko, Sakakibara Hitoshi, Ito Toshiro	4. 巻 9
2. 論文標題 Chromatin-mediated feed-forward auxin biosynthesis in floral meristem determinacy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-07763-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Xu Yifeng, Prunet Nathanael, Gan Eng Seng, Wang Yanbin, Stewart Darragh, Wellmer Frank, Huang Jiangbo, Yamaguchi Nobutoshi, Tatsumi Yoshitaka, Kojima Mikiko, Kiba Takatoshi, Sakakibara Hitoshi, Jack Thomas P, Meyerowitz Elliot M, Ito Toshiro	4. 巻 37
2. 論文標題 SUPERMAN regulates floral whorl boundaries through control of auxin biosynthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e97499 ~ e97499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15252/embj.201797499	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 Lee Ze Hong, Yamaguchi Nobutoshi, Ito Toshiro	4. 巻 2
2. 論文標題 Using CRISPR/Cas9 System to Introduce Targeted Mutation in Arabidopsis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)	6. 最初と最後の頁 93 ~ 108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8657-6_6	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 Nishizawa-Yokoi Ayako, Yamaguchi Nobutoshi	4. 巻 2
2. 論文標題 Gene Expression and Transcription Factor Binding Tests Using Mutated-Promoter Reporter Lines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)	6. 最初と最後の頁 291 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8657-6_17	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------