

令和 4 年 2 月 14 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06050

研究課題名(和文) DNA脱メチル化依存的な新規トランスポゾン制御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of a novel transposon regulatory mechanism depending on DNA demethylation

研究代表者

伊藤 秀臣 (Ito, Hidetaka)

北海道大学・理学研究院・准教授

研究者番号：70582295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：シロイヌナズナにおいてCHG配列のメチル化を担うDNAメチル化転移酵素であるCMT3の変異体で高温活性化型のトランスポゾン(TE)の発現が低下することを見いだした。この現象は今まで考えられてきたDNAのメチル化や抑制的ヒストン修飾によるTEの制御機構とは異なる制御機構の存在を示唆している。このTEの転写活性化は、CMT3に依存しており、CMT3の機能喪失変異によりCHHメチル化が増加するが、このメチル化はCMT2が仲介していることが明らかになった。さらに、CMT3がTE配列上のCMT2の結合を阻害してCHHのメチル化を抑制し、TEの転写を促進していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

トランスポゾンの生存戦略の観点から、この高温活性化型トランスポゾンはCMT3を利用して、CMT2が介在するCHHの過剰なメチル化を防ぎ、宿主植物による転写抑制から逃れている可能性がある。トランスポゾンの宿主ゲノムへの転移を伴うTEの生存は、厳しいストレス条件に対する植物の応答に新たな制御メカニズムを提供する可能性がある。今後、ストレス応答におけるこのトランスポゾンの影響を明らかにすることで、トランスポゾンに基づく制御メカニズムに光が当てられるだろう。

研究成果の概要(英文)：In Arabidopsis, a mutant of CMT3, a DNA methyltransferase responsible for the methylation of CHG sequences, reduced the expression of high-temperature activated transposons (TEs). This phenomenon suggests the existence of a regulatory mechanism that is different from the previously considered regulation of TEs by DNA methylation and repressive histone modifications. The transcriptional activation of TE is dependent on CMT3, and the loss-of-function mutation of CMT3 increases CHH methylation, which is mediated by CMT2. Furthermore, it was found that CMT3 inhibits the binding of CMT2 on the TE sequence, thereby suppressing CHH methylation and promoting TE transcription.

研究分野：植物遺伝学

キーワード：トランスポゾン エピジェネティクス シロイヌナズナ DNAメチル化 環境ストレス 高温ストレス ゲノム進化 環境適応

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

内在性の転移因子トランスポゾンにはあらゆる生物のゲノム中に存在し、近年のゲノム解析研究から、多くの高等生物においてゲノムの主要な構成要素であることが明らかとなってきた。トランスポゾンが環境ストレスなどにより活性化すると、近隣の遺伝子発現に影響を与えるなど、宿主に与える影響は大きい。さらに、トランスポゾンの転移が生殖細胞に伝わると、世代を超えて転移の影響が子孫に伝わるため、トランスポゾンの転写及び転移制御は宿主にとって非常に重要である。そのため、多くのトランスポゾンは DNA のメチル化などのエピジェネティックな修飾により発現が抑制されている。DNA のメチル化は動物では大部分が CG 配列における C のメチル化であるのに対し、植物では CG 配列、CHG 配列、CHH 配列 (H: A, T, G) における C のメチル化という 3 つのタイプがあり、それぞれ異なる分子機構により制御されている。植物では、全ゲノム DNA メチル化解析から、一般的に遺伝子をコードしている領域においてはおもに CG 配列が、トランスポゾンや繰り返し配列などのヘテロクロマチン領域では CHG 配列と CHH 配列が高くメチル化されていることが知られている。

一方で、本代表研究者らはシロイヌナズナを用いた解析から、高温ストレス活性型のトランスポゾン *ONSEN* が、DNA のメチル化非依存的に活性化することを報告した (Ito et al. Nature 2011)。興味深いことに、このトランスポゾンは、CHG 配列のメチル化を担う DNA メチル化転移酵素である Chromomethylase 3 (CMT3) の変異体において、高温ストレス下での発現量が 3 分の 1 程度に減少した。「DNA の脱メチル化がトランスポゾンの抑制にはたらく」という、今まで考えられてきたトランスポゾンの抑制機構とは逆の現象であり、このような DNA の脱メチル化依存的なトランスポゾンの制御機構についてはほとんど知られていなかった。

2. 研究の目的

本代表研究者は最近、シロイヌナズナにおいて CHG 配列のメチル化を担う DNA メチル化転移酵素である Chromomethylase 3 (CMT3) の変異体やヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の阻害剤処理で複数のトランスポゾンの発現が低下することを見いだした。この現象は、今まで考えられてきた DNA のメチル化や抑制的ヒストン修飾によるトランスポゾンの制御機構とは異なる新規の制御機構の存在を示唆している。本研究では、シロイヌナズナのエピジェネティックな変異体を用いてトランスポゾンの新規の制御機構を解明することを目的とした。

本研究では、この新規の制御機構を解明するため、制御への関与が示唆される CMT3 や HDAC と相互作用する因子をそれぞれ探索し、この制御の作用経路を明らかにすることを目的とした。また、この制御の分子メカニズムを明らかにするため、CMT3 や同定された因子の変異体においてヒストン修飾や DNA のメチル化を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

cmt3 変異体における DNA メチル化解析およびヒストン修飾解析

cmt3 変異体において DNA メチル化を網羅的に解析し CG 配列、CHG 配列、CHH 配列のメチル化レベルと標的遺伝子の発現制御との関連性を明らかにする。さらに、遺伝子発現が何によって制御されているかを調べるため、標的配列上でのクロマチン修飾を解析する。

CMT3 と相互作用する因子の同定

本研究で対象とするトランスポゾンの発現量の低下は CHG 配列の DNA メチル化を担う CMT3 の変異体で観察されるため、CMT3 と相互作用するタンパク質を同定する。

トランスポゾンの新規発現制御に関わる HDAC の同定

HDAC の阻害剤である TSA でトランスポゾンの発現量が低下したことから、HDAC がこの発現制御に関与している可能性が高い。シロイヌナズナには 10 種類以上の HDAC が存在し、機能分化が考えられるため、HDAC ファミリーから、制御に関与する因子を同定する。

HDAC と相互作用する因子の同定

研究計画 で同定した HDAC と相互作用するタンパク質を同定する。

トランスポゾンの新規発現制御メカニズムの解明

研究計画 、 で同定した相互作用因子の機能を解析し、トランスポゾンの発現制御メカニズムを解明する。

4. 研究成果

熱によるレトロトランスポゾン *ONSEN* のトランスポゾン活性化において、CHROMOMETHYLASE3 (CMT3) が予想外の役割を果たしていることを明らかにした。研究の結果、熱ストレス下での *ONSEN* の転写活性化には CMT3 が必要であることがわかった。興味深いことに、CMT3 の機能喪失変異により、*ONSEN* の CHH メチル化 (H=A, C, T) が増加した。この増加は CMT2 によって媒介されており、*cmt2 cmt3* の二重変異体では CHH メチル化が大きく減少し、*ONSEN* の転写が増加することが明らかになった。さらに、*cmt3* 変異体では、野生型に比べて *ONSEN* のクロマチンに CMT2 が多く結合しており、H3K9me2 の量も増加していた。このことから、CMT3 は *ONSEN* における CMT2 の結合と CHH のメチル化修飾を制御し、その結果、*ONSEN* のサイレンシングを妨げていると考えられる。以上の結果から、CMT3 が転移可能なトランスポゾンの活性化において非正規の役割を果たしていることが明らかになり、DNA メチル化酵素がストレス条件下でどのように転写を制御するかについての新しい知見が得られた。これらの結果より、トランスポゾンの生存戦略の観点から、この高温活性型トランスポゾンは CMT3 を利用して、CMT2 が介在する CHH の過剰なメチル化を防ぎ、宿主植物による転写抑制から逃れている可能性がある。トランスポゾンの宿主ゲノムへの転移を伴う TE の生存は、厳しいストレス条件に対する植物の応答に新たな制御メカニズムを提供する可能性がある。今後、ストレス応答におけるこのトランスポゾンの影響を明らかにすることで、トランスポゾンに基づく制御メカニズムに光が当てられるだろう。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Nozawa Kosuke, Chen Jiani, Jiang Jianjun, Leichter Sarah M., Yamada Masataka, Suzuki Takamasa, Liu Fengquan, Ito Hidetaka, Zhong Xuehua	4. 巻 17
2. 論文標題 DNA methyltransferase CHROMOMETHYLASE3 prevents ONSEN transposon silencing under heat stress	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS Genetics	6. 最初と最後の頁 e1009710
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1009710	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 伊藤 秀臣
2. 発表標題 利己的な遺伝子トランスポゾンと宿主植物の生存戦略
3. 学会等名 北海道植物学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masataka Yamada, Kosuke Nozawa, Atsushi Kato, Hidetaka Ito
2. 発表標題 A novel regulation of transposon expression via DNA methylation
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masahiro Fukuda, Kosuke Nozawa, Kato Atsushi, Hidetaka Ito
2. 発表標題 A novel regulation of transposon via DNA methylation
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

〔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			
米国	University of Wisconsin-Madison			