

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007 ～ 2009

課題番号：19207002

研究課題名(和文) 植物ゲノムにおける反復配列動態のエピジェネティックな制御

研究課題名(英文) Epigenetic control of repetitive sequences in plant genome

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)：

脊椎動物や高等植物のゲノムは多くの反復配列を含む。これらは潜在的なゲノム不安定化要因であり、DNA のメチル化を始めとするエピジェネティックな修飾でその動態を制御されている。本研究では、シロイヌナズナを用いて、反復配列のエピジェネティックな制御機構を調べた。遺伝子のメチル化を負に制御する *jmjC* ドメイン因子 *IBM1* を遺伝学的アプローチで同定した (Saze et al 2008 *Science*)。さらに、*ibm1* 突然変異体を用いたゲノムワイドの DNA メチル化プロファイリングを行ない、この因子が、転写される遺伝子の DNA メチル化を防ぐことでトランスポゾンと遺伝子のメチル化の区別に貢献していることを示した (Miura et al 2009 *EMBO J*)。また、インプリント遺伝子 *FWA* の進化にレトロトランスポゾン配列が重要であることを示した (Fujimoto et al 2008 *PLoS Genet*)。さらに、遺伝解析とゲノミクスを組合せることで、転移能を持つ、多様な動態のシロイヌナズナの内在トランスポズンを同定した (Tsykahara et al 2009 *Nature*)。

研究成果の概要(英文)：

Genomes of vertebrates contain large proportion of repetitive sequences. The repetitive sequences are potential threat to genome stability and controlled by epigenetic modifications, such as DNA methylation. In this project, we examined epigenetic controls of repetitive sequences using a flowering plant *Arabidopsis*. Through forward genetic approaches, we identified a *jmjC*-domain-containing protein *IBM1*, which controls methylation in genes in negative manner (Saze et al 2008 *Science*). Genome-wide methylation profiling of the *ibm1* mutant revealed that *IBM1* protein is necessary for excluding DNA methylation from transcribed genes (Miura et al 2009 *EMBO J*). We also showed that a retrotransposon sequence is critical for imprinted expression of *FWA* gene (Fujimoto et al 2008 *PLoS Genet*). In addition, by combination of genetics and genomics, we identified diverse families of mobile endogenous transposons in the *Arabidopsis* genome (Tsykahara et al 2009 *Nature*).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	12,500,000	3,750,000	16,250,000
2008 年度	11,400,000	3,420,000	14,820,000
2009 年度	10,600,000	3,180,000	13,780,000
年度			
年度			
総計	34,500,000	10,350,000	44,850,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：ゲノム構築・機能・再編・発現・維持

## 1. 研究開始当初の背景

塩基配列によらない「エピジェネティック」な遺伝は、多細胞生物の発生過程における遺伝子発現の維持、老化、癌形成、などの重要な生命現象との関連が明らかになりつつある。一方、私達の結果を含めた最近の知見は、エピジェネティックな制御が、染色体挙動やゲノム進化にも貢献し、特に、トランスポゾンなどの反復配列がその主要な標的になりうることを示している。さらに、当初は発生をエピジェネティックに制御する遺伝子と考えられていたものが、反復配列からその制御機構を進化させたことを示す証拠が見つかってきている。

反復配列は、高等植物や脊椎動物の巨大なゲノムの大部分をしめ、ゲノム構造の安定性に対する潜在的脅威であるだけでなく、多種類の非コード RNA が見いだされるなど、その生物学的重要性が近年再認識されている。しかしながら、反復配列のエピジェネティックな制御に関しては、分野が若く、研究者人口が少ないせいもあり、普遍的な現象であるにもかかわらず、まだその全貌は明らかになっていない。

私達はこれまで、シロイヌナズナの DNA 低メチル化変異で誘発される発生異常を連鎖解析するという独自のアプローチをとることにより、DNA メチル化が反復配列抑制によってゲノム構造を安定するとともに、トランスポゾン由来のプロモーターを活用することにより、組織特異的遺伝子発現やインプリントされた遺伝子発現を保証していることを明らかにしてきた。

## 2. 研究の目的

私達のこれまでの研究結果をふまえて、本課題では、以下の新たな問いに答えることを目指した。(1)「遺伝子とトランスポズンを区別する機構の遺伝解析」と(2)「インプリント遺伝子 *FWA* の制御機構進化の解明」

## 3. 研究の方法

(1) として、一般にトランスポズンは遺伝子に比べ DNA メチル化レベルが高い。これまでトランスポズンのメチル化に必要な因子は多数同定されているが、遺伝子をメチル化しないために必要な因子はわかっていなかった。本研究では、遺伝子メチル化の上昇する突然変異体を選抜した。このため、突

然変異原処理したシロイヌナズナの集団を材料に、メチル化感受性の制限酵素と PCR を用いて直接メチル化を調べる方法を用いた。得られた突然変異体の表現型原因遺伝子の同定やメチル化の解析は通常の方法を用いた。

(2) として、*Arabidopsis* 属の多くの種を用いて、プロモーター領域の構造多様性を調べるとともに、遺伝子発現パターンを調べた。

またこれとは別に、低メチル化状態でコピー数の増えるシロイヌナズナのトランスポズンを同定するために、低メチル化突然変異体下で何世代か経た個体のゲノム DNA とゲノムタイリングアレイを用いて、直接コピー数を定量化した。コピー数の増加や転移部位の解析は通常の方法を用いた。

## 4. 研究成果

3年間の研究で、当初の想定を超える大きな進展があった。(1)として、遺伝子のメチル化を負に制御する *jmjC* ドメイン因子 *IBM1* を遺伝学的アプローチで同定した (Saze et al 2008 *Science*)。さらに、*ibm1* 突然変異体を用いたゲノムワイドの DNA メチル化プロファイリングを行ない、この因子が、転写される遺伝子の DNA メチル化を防ぐことでトランスポゾンと遺伝子のメチル化の区別に貢献していることを示した (Miura et al 2009 *EMBO J*)。(2)では、インプリント遺伝子 *FWA* の進化にレトロトランスポゾン配列が重要であることを示した (Fujimoto et al 2008 *PLoS Genet*)。また、遺伝解析とゲノミクスを組合せることで、転移能を持つシロイヌナズナの内在レトロトランスポズンをはじめ同定でき、その中には、遺伝子の少ない領域に特異的に挿入するものが含まれた (Tsukahara et al 2009 *Nature*)。

## 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6件)

1. Tsukahara S, Kobayashi A, Kawabe A, Mathieu O, Miura A, and Kakutani T (2009) Bursts of retrotransposition reproduced in *Arabidopsis*. *Nature* 査読有

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.* 査読有 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.* 査読有 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* 査読有 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.* 査読有 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.* 査読有 26, 3641-3652

[学会発表] (計 26 件)

1. Kakutani, T., Saze, H., Miura, A., Inagaki, S., Kobayashi, A., Nakamura, M., Tsukahara, S., Fu, Y. 「Genetics of DNAmethylation in genes and transposons in Arabidopsis」 第 3 2 回分子生物学会年会シンポジウム Emerging power of epigenomics in life science 横浜 2009 12/10

2. 稲垣宗一、三浦明日香、中村みゆき、小林啓恵、佐瀬英俊、角谷徹仁 「シロイヌナズナの jumonji ドメイン蛋白質が転写されている遺伝子の DNA メチル化を防ぐ」 日本遺伝学会第 8 1 回大会 松本 2009 9/16-9/18

3. 佐々木卓、小林啓恵、佐瀬英俊、角谷徹仁 「シロイヌナズナの ddm1 変異体自殖系統における DNA メチル化制御の解析」 日本遺伝学会第 8 1 回大会 松本 2009 9/16-18

4. 付焜、小林啓恵、角谷徹仁 「シロイヌナズナの転移するトランスポゾン VANDAL21 のエピジェネティックな制御」 日本遺伝学会第 8 1 回大会 松本 2009 9/16-9/18

5. 小林啓恵、塚原小百合、河辺昭、三浦明日香、角谷徹仁 「アラビドプシス属における爆発的レトロトランスポジションの再現」 日本遺伝学会第 8 1 回大会 松本 2009 9/16-9/18

6. 塚原小百合、小林啓恵、河辺昭、三浦明日香、角谷徹仁 「シロイヌナズナにおいて転移するレトロトランスポゾンの制御機構」 日本遺伝学会第 8 1 回大会 松本 2009 9/16-9/18

7. Kakutani, T. 「Genetics of DNA Methylation in Genes and Transposons in Arabidopsis」 Gordon Research Conference on Epigenetics Holderness, NH, USA 2009 8/9-8/14

8. Kakutani, T. 「Genetics of DNA methylation in Arabidopsis thaliana」 The 24th Naito Conference on Nuclear Dynamics and RNA 札幌 2009 6/23-6/26

9. Kakutani, T. 「Genetics of DNA methylation in Arabidopsis」 発生生物学会シンポジウム 新潟 2009 5/29-5/31

10. Kakutani, T. 「Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis thaliana」 EMBL conference on Chromatin and Epigenetics Heidelberg, Germany 2009 5/13-5/17

11. Saze, H., Shiraishi, A., Miura, A., Kakutani, T. 「Genetics of DNA methylation in Arabidopsis」 Decoding Epigenetic Code 東京 2008 12/15-12/16

12. 角谷徹仁 「シロイヌナズナを用いたエピジェネティクスの遺伝学」 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 シンポジウム「クロマチンを基盤とした遺伝情報の収納と発現」神戸 2008 12/10

13. Kakutani, T. 「Genetics of DNA methylation in the BONSAI locus」 The 55th NIBB Conference: Frontiers of Plant Science in the 21st Century 岡崎 2008 9/13-15

14. 三浦明日香、角谷徹仁 「トランスポゾ

ン CACTA の転移を制御するクロマチン因子」  
日本遺伝学会第 80 回大会 名古屋 2008  
9/5

15. 佐瀬英俊, 白石明子, 三浦明日香, 角谷  
徹仁 「シロイヌナズナにおける高メチル化  
変異体の解析」 日本遺伝学会第 80 回大会  
ワークショップ 名古屋 2008 9/5

16. kakutani, T., Saze, H., Shiraishi, A.,  
Miura, A. 「Genetics of DNA methylation in  
the BONSAI locus」 第 60 回日本細胞生物  
学会大会シンポジウム 横浜 2008 6/30

17. 中村みゆき, 三浦明日香, 木下由紀, 木  
下哲, 加藤正臣, 角谷徹仁 「シロイヌナズ  
ナにおける CACTA トランスポゾンの自己活  
性制御機構」 第 49 回日本植物生理学会年会  
札幌 2008 3/21

18. Fujimoto, R., Kinoshita, Y., Kawabe,  
A., Kinoshita, T., Takashima, K., Nordborg,  
M., Nasrallah, M. E. Shimizu, K. K., Kudoh,  
H., Kakutani, T. 「Evolution and control  
of imprinted FWA genes in Arabidopsis」  
6<sup>th</sup> NIBB-EMBL Joint Meeting: Evolution of  
epigenetic regulation.  
Heidelberg, Germany 2008 3/17-3/19

19. Kakutani, T. 「Genetics of DNA  
methylation in the BONSAI locus」  
6<sup>th</sup> NIBB-EMBL Joint Meeting: Heidelberg,  
Germany 2008 3/17-19

20. Kakutani, T. Epigenetic inheritance of  
developmental variation, transposon  
activity, and DNA methylation in  
Arabidopsis thaliana. Developmental  
Biology and Biomedical Research  
Agra, India 2007 10/18-10/19

21. 角谷徹仁 「シロイヌナズナにおけるエ  
ピジェネティックな遺伝」「オミックスワ  
ールドの全貌ーゲノミクスからメタボロミク  
スまで」 生駒 2007 9/27-9/28

22. 藤本龍、河邊昭、木下由紀、高嶋和也、  
木下哲、三浦明日香、角谷徹仁 「シロイヌ  
ナズナのインプリント遺伝子 FWA の進化」  
日本遺伝学会 岡山 2007 9/19-9/21

23. Saze, H., Kakutani, T. Genetic  
dissection of DNA methylation at the  
BONSAI locus Holderness, USA 2007  
8/5-8/10

24. 藤本龍、木下由紀、高嶋和也、木下哲、

三浦明日香、角谷徹仁 「インプリント遺伝  
子 FWA の構造と発現制御の進化：反復配列の  
役割について」 第 1 回日本エピジェネティ  
クス研究会年会 大阪 2007 6/15-6/16

25. 角谷徹仁 「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 大阪 2007  
6/15-6/16

26. Kakutani, T. 「Epigenetic inheritance of  
developmental variation, transposon  
activity, and DNA methylation in  
Arabidopsis thaliana」 日本分子生物学会年  
会第 7 回春期シンポジウム 淡路市 2007  
4/23-4/24

〔その他〕  
研究室ホームページ  
[http://www.nig.ac.jp/labs/AgrGen/home-j  
.html](http://www.nig.ac.jp/labs/AgrGen/home-j.html)

## 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