

エピゲノム解析とエピ遺伝学による反復配列動態 制御機構の解明

Characterization of repetitive sequences by epigenetic
and epigenomic approach

角谷 徹仁 (KAKUTANI TETSUJI)

国立遺伝学研究所・総合遺伝研究系・教授



研究の概要

反復配列は、染色体の挙動や進化に大きなインパクトを持つとともに、エピジェネティックな制御の主要な標的でもある。本課題では、トランスポゾンを中心に、反復配列の挙動をゲノムワイドに調べるとともに、宿主が反復配列と通常の遺伝子を区別する機構の理解を目指す。これまで、これらの機構に関与する新奇因子を宿主およびトランスポゾンから同定している。

研究分野：植物遺伝学

科研費の分科・細目：遺伝・染色体動態

キーワード：トランスポゾン、DNAメチル化、クロマチン、進化

1. 研究開始当初の背景

塩基配列以外の形で遺伝子の ON/OFF 情報が分裂後の細胞に継承される「エピジェネティック」な制御は個体発生、老化、癌形成などとともに、染色体挙動やゲノム進化にも貢献し、反復配列がその主要な標的になりうる。私達はこれまで、シロイヌナズナの DNA 低メチル化突然変異体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で研究を進めてきた。シロイヌナズナの低メチル化突然変異 *ddm1* (decrease in DNA methylation) は、トランスポゾンの転移誘発や、世代を超えて継承される遺伝子発現の攪乱により、種々の発生異常を誘発する。また、遺伝子のメチル化を負に制御する因子 IBM1 (increase in BONSAI methylation1) を同定し、この因子の関与する新奇経路の解析をはじめていた。

2. 研究の目的

(i) 「遺伝子から DNA メチル化を排除して反復配列と区別する機構の解明」および (ii) 「全ゲノムレベルでのトランスポゾン動態の理解」

3. 研究の方法

(i) 「遺伝子から DNA メチル化を排除して反復配列と区別する機構の解明」 DNA メチル化

はトランスポゾン抑制によってゲノム安定化に貢献する。一方、遺伝子をメチル化しないためには、*jmjC* タンパク質である IBM1 が必要である。ただし、このタンパク質がトランスポゾンと遺伝子とを区別する機構は未知である。この経路で正や負の方向に働く因子の変異体を用いた解析と、エピゲノム解析によって、この機構を理解する。

(ii) 「全ゲノムレベルでのトランスポゾン動態の理解」ゲノムレベルでトランスポゾンのコピー数と修飾を調べることによりトランスポゾンの動態を知る。またシロイヌナズナの変異体を用いることで分子機構を知る。さらに、野生系統や同属近縁種を用いることで、自然集団中でのトランスポゾンの挙動とゲノム進化を理解する。

4. これまでの成果

(i) 「遺伝子から DNA メチル化を排除して反復配列と区別する機構」構成的ヘテロクロマチンの目印であるヒストン H3 リジン 9 のメチル基 (H3K9me) を遺伝子から除去する酵素 IBM1 の効果を様々な遺伝背景で調べた。その結果、IBM1 は、転写される配列から特異的に H3K9me を除去することがわかった (Inagaki et al EMBO J 2010)。これにもとづいて、2つの正のフィードバックによって、遺伝子とトランスポゾンのクロマチン状態の分化が

起こるといふモデルを提案した。さらに、トランスポゾンと遺伝子の分化の最初のひきがねとして、両者での発現制御シス因子の分布の違いが重要であるというモデルを提案した (Inagaki and Kakutani 2013)。

また、*ibm1* 変異体における発生異常をサプレスする変異体を選抜したところ、H3K9 メチル化酵素 KYP, DNA メチル化酵素 CMT3 および S アデノシルホモシステイン加水分解酵素 HOG1 の遺伝子変異体が得られた。これらは、遺伝子における DNA メチル化とヒストンメチル化を阻害することにより、*ibm1* の効果をサプレスすると考えられる。これに加え、新奇因子の変異が *ibm1* の効果をサプレスすることがわかった (未発表)。興味深いことに、この新奇変異は DNA やヒストン H3K9me に影響しない。

(ii) 「全ゲノムレベルでのトランスポゾン動態の理解」 タイリングアレイを用いて、ゲノムレベルでのトランスポゾンのコピー数と修飾を調べることで、可動性のトランスポゾンを幾つかシロイヌナズナで同定している。そのうちのひとつ *COPIA93* は、シロイヌナズナの近縁種 *A. lyrata* のゲノムでは動原体に局在する。この *A. lyrata* 因子を形質転換でシロイヌナズナに導入したところシロイヌナズナの動原体に特異的に挿入した (Tsukahara et al 2012 Genes Dev)。多くの生物で、動原体のまわりにはトランスポゾンが高密度で分布するが、動原体に特異的に挿入するトランスポゾンはこれまで見つかっていなかった。染色体の進化を考えるうえで強力な研究材料が得られたと考える。また、別の可動性トランスポゾン *VANDAL21* は、形質転換で活性のある因子を野生型に導入したところ、もとはサイレントだった内在因子の脱メチル化と転写活性化、および転移を引き起こした。興味深いことに、この効果はトランスポゼースとは別のタンパク質によるものだった (Fu et al, 論文投稿中)。

5. 今後の計画

「遺伝子から DNA メチル化を排除して反復配列と区別する機構」に関しては、これまでの結果から、すでに妥当性のあるモデルを提案できていると考える (Inagaki and Kakutani 2013)。この新奇経路の理解をさらに進めるため、*ibm1* における発生異常をサプレスする変異体の解析をさらに進める。具体的には、いくつかのヒストン修飾についてこの変異による変化をゲノムワイドに調べる。また、このタンパク質の染色体上での分布を調べる。また、転写解析の結果との関連

を知る。これらの解析によって、構成的ヘテロクロマチンの制御と個体発生に関連を統合的に理解したい。

「ゲノムレベルでのトランスポゾン動態の理解」に関しては、タイリングアレイを用いた実験系から、次世代性シーケンサーを用いた配列解析の系への切換えをさらに進め、可動性トランスポゾンをさらに高精度で同定し解析したい。特に、トランスポゾン *VANDAL21* のコードする新奇の抗サイレンシング因子の機能解析に関しては、エピジェネティックな修飾や発現に対する効果についてのゲノムワイドの解析を進める。また、その結合特性や生化学活性についての分子レベルでの研究を進めたい。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Tsukahara S, Kawabe A, Kobayashi A, Ito T, Aizu T, Shin-i T, Toyoda A, Fujiyama A, Tarutani Y, Kakutani T (2012) Centromere-targeted de novo integrations of an LTR retrotransposon of Arabidopsis lyrata. *Genes Dev* 26:705-713.

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.

Sasaki T, Kobayashi A, Saze H, Kakutani T (2012) RNAi-independent de novo DNA methylation revealed in Arabidopsis mutants of chromatin remodeling gene DDM1. *Plant J* 70: 750-758.

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.

Inagaki S, Kakutani T (2013) What triggers DNA methylation in genes and TEs: contribution of body methylation? *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* (published online)

Saze H, Kakutani T (2011) Differentiation of epigenetic modifications between transposons and genes. *Curr Opin Plant Biol* 14: 81-87. (総説)

ホームページ等

<http://www.nig.ac.jp/labs/AgrGen/home-j.html>