

平成14年度採択分

平成19年 3月31日現在

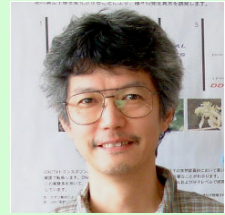
研究課題名 (和文) 植物発生とゲノム構造のエピジェネティックな制御

研究課題名 (英文) Epigenetic control of plant genome and development

研究代表者

角谷徹仁 (KAKUTANI TETSUJI)

情報システム研究機構 国立遺伝学研究所 総合遺伝研究系 教授



研究の概要：エピジェネティックな制御の役割を知るため、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アプローチをとった。このうち、花成遅延形質の連鎖解析によって同定されたホメオボックス遺伝子 *FWA* は、DNA メチル化で制御されるインプリント遺伝子だった。*FWA* 遺伝子はプロモーターの低メチル化にともなって異所的発現をし、花成制御因子 *FT* を阻害することにより花成遅延を引き起こしていた。また別の発生異常の連鎖解析で同定されたトランスポゾン *CACTA* は、野生型においては DNA メチル化に依存した機構で抑制されていた。遺伝解析の結果、DNA メチル化は、世代を超えて維持されるトランスポゾン抑制のエピジェネティックな目印として働くことがわかった。

研究分野／科研費の分科・細目／キーワード：遺伝学／遺伝・ゲノム動態／エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

遺伝子発現情報が塩基配列以外の形（たとえば染色体蛋白質や DNA の修飾）で細胞分裂後も染色体上に保持される現象が哺乳類から酵母まで普遍的に観察される。このような「エピジェネティック」な制御は、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、などとの関連が示唆されていた。一方、私達の結果を含めた最近の知見は、トランスポソンの制御やゲノム進化におけるエピジェネティックな現象の役割を示していた。普遍的な現象であり、かつ、幅広い研究分野の注目を集めているにもかかわらず、この現象の分子機構および生物学的な意味は未開拓の研究領域だった。

2. 研究の目的

突然変異体を用いたアプローチによって、DNA メチル化とエピジェネティックな制御の機構と生物学的意味を知ることにより、この遺伝現象の理解に貢献する。

3. 研究の方法

シロイヌナズナの *ddm1* (decrease in DNA methylation) 突然変異は、ゲノム DNA のメチル化頻度を下げるとともに、種々の発生異常を誘発する。私達は、この突然変異下で誘発される発生異常を連鎖解析するという系を用いて、

DNA メチル化で制御されるホメオボックス遺伝子 *FWA* と内在転移因子 *CACTA* を同定していた。本課題では、私達がこれまでに確立した系とシロイヌナズナのゲノム機能学とを組み合わせることにより、植物の発生とゲノム構造のエピジェネティックな制御を遺伝的に解剖し、その経路を分子レベルおよび染色体レベルで明らかにする。

4. 研究の主な成果

研究目的として提案した課題の大部分で、予想外の結果も含め、大きな進展があった。

(1)「DNA メチル化による *FWA* 遺伝子の制御」野生型個体では、この遺伝子が胚乳で特異的に発現し、またインプリントされた発現をすること、これらの発現特異性は維持型 DNA メチル化酵素遺伝子および DNA グリコシラーゼ遺伝子 *DEMETTER* によって制御されていることを明らかにできた (Science 303, 521-)。また、*FWA* だけでなく、もう一つのインプリント遺伝子 *FIS2* も DNA メチル化による制御を受けていた (Plant Cell 18, 1360-)。また、荒木グループの研究で、*FT* が個体内を移行する花成誘導因子であることが示された (Science 309, 1052-)。また、インプリント遺伝子 *FWA* は、この *FT* の活性を蛋白質レベルで阻害することによって花成に影響することが示された (Plant Cell Physiol 48, 205-)。

[4. 研究の主な成果 (続き)]

(2) 「DNA メチル化によるトランスポゾンの制御とゲノム動態」 *ddm1* 突然変異による転写誘導が DNA メチル化の下流にあるか否かを検討するため、我々の同定した転移因子 *CACTA* の挙動を DNA メチル化酵素遺伝子の突然変異下で調べた。その結果、CG 配列のメチル化酵素遺伝子 *MET1* と非 CG 配列のメチル化酵素 *CMT3* の二重突然変異下で高頻度の転移が観察された。これらの単独突然変異では転移は誘導されず、CG 配列のメチル化と非 CG 配列のメチル化の両者がこのトランスポゾンの転移抑制に働いていることがわかった (*Curr Biol* 13, 421-)。さらに、DNA メチル化酵素遺伝子、ヒストン修飾酵素遺伝子を含むクロマチン関連遺伝子の突然変異、および RNAi に必要な遺伝子の突然変異体で *CACTA* トランスポゾンの転写および転移を調べた結果、*ddm1* 以外に、CG メチル化酵素遺伝子 *MET1* およびクロマチン集合因子 *FAS* の突然変異で転写誘導が観察された (*Curr Biol* 13, 421-, *Genes to Cells* 18, 153-)。興味深いことに、これらの突然変異体は *CACTA* の転写は誘導するが転移は誘導しなかった。転写以外の段階での転移抑制機構が関わっていると考えられる。さらに、自律型のコピーと非自律型コピーとを共存させた条件での非自律型コピーの転移を観察した結果からも、シスのみに働く要因がメチル化依存的にトランスポゾンの転移抑制に働いていることがわかった (論文準備中)。また、このトランスポゾンの自然集団中での挙動を知るため、19種の野生系統でこの *CACTA* のゲノム中での分布を調べた。系統間でゲノム中での位置が大きく異なり、その大部分がセントロメア近くのヘテロクロマチン領域に分布することがわかった (*MGG* 270, 524-)。*ddm1* 突然変異は、*CACTA* トランスポゾンやセントロメア付近のヘテロクロマチン形成を解除し、この状態が野生型でも継承される (*EMBO J.* 21, 6549-)。この系を用いて *CACTA* トランスポゾンの転移先特異性を調べた結果、個々の転移はヘテロクロマチンターゲットされていないことがわかった。トランスポゾンの蓄積によるヘテロクロマチンの進化を考える上で興味深い (*Genetics* 168, 961-)。

また、柴原、荒木グループが共同研究者として参加した研究で、DNA 修復関連遺伝子の突然変異がエピジェネティックな遺伝子抑制に関与するという興味深い結果が得られた (*Genes & Dev* 18, 782-)。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

世界的にみて、シロイヌナズナを用いたエピジェネティクス分野は、この5年間に大きく成長し、特にその分子機構の研究が進んで来た。この中で私達は、独自のアプローチで同定したトランスポゾンとインプリント遺伝子を研究材料として、エピジェネティックな制御の生物学的役割についての結果を出してきた。いくつかの論文発表とともに、Gordon 会議や CSH シンポジウムに招待されるなど、国際的にも評価されるインパクトがあったと考える。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

- (1) Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T (2005) FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science* 309, 1052-1056.
- (2) Kinoshita T, Miura A, Choi Y, Kinoshita Y, Cao X, Jacobsen S, Fischer R, **Kakutani T** (2004) One-way control of *FWA* imprinting in *Arabidopsis* endosperm by DNA methylation. *Science* 303, 521-523.
- (3) Kato M, Takashima K, **Kakutani T** (2004) Epigenetic control of *CACTA* transposon mobility in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 168, 961-969
- (4) Takeda S, Tadele Z, Hofmann I, Probst A, Angelis K, Kaya H, Araki T, Mittelsten-Scheid O, Shibahara K, Scheel D, Paszkowski J (2004) BRU1, a novel link between responses to DNA damage and epigenetic gene silencing in *Arabidopsis*. *Genes Dev.* 18, 783-793
- (5) Kato M., Miura A., Bender J., Jacobsen S.E., and **Kakutani T.** (2003) Role of CG and non-CG methylation in immobilization of transposons in *Arabidopsis*. *Current Biology* 13, 421-426
- (6) Soppe W., Jasencakova Z, Hauben A, **Kakutani T**, Meister A, Huang M, Jacobsen S, Schubert I, Fransz P (2002) DNA methylation controls histone H3 lysine 9 methylation and heterochromatin assembly in *Arabidopsis*. *EMBO J* 21, 6549-6559.

ホームページ等

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