

DNA のメチル化は環境ストレス活性型トランスポゾンに正に制御する

～トランスポゾンと宿主の巧みな生存戦略を理解するうえでの新しい知見～

ポイント

- ・ DNA のメチル化を介したトランスポゾンの制御機構に新たな展開。
- ・ DNA のメチル化はトランスポゾンの活性化を負にも正にも制御。
- ・ 多様な DNA メチル化の役割についての研究が進むことを期待。

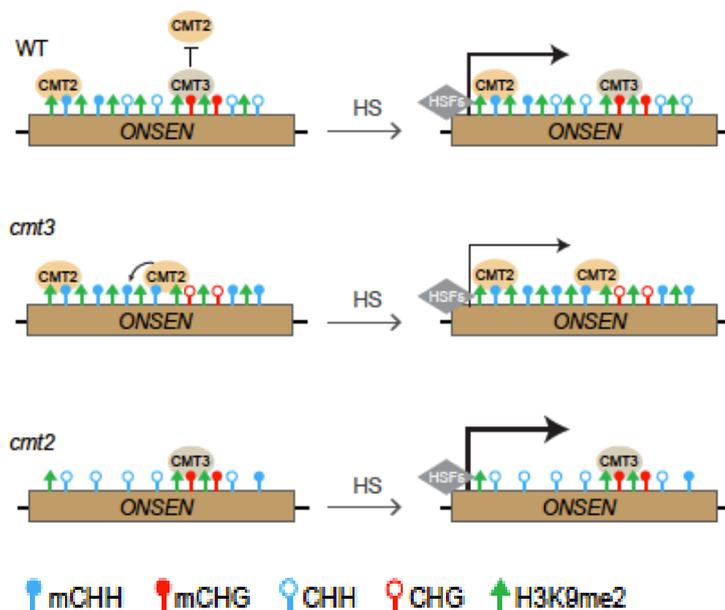
概要

北海道大学大学院理学研究院の伊藤秀臣准教授の研究グループは、ウィスコンシン大学のシュエファ・ジョン博士らとの国際共同研究で、環境ストレスで活性化する転移因子（トランスポゾン）の新しい制御機構を明らかにしました。

研究グループは、モデル植物であるシロイヌナズナを 37°C の高温条件で育てると目を覚ます、トランスポゾン「*ONSEN*」に着目しました。*ONSEN* は普段は眠っている（発現していない）のですが、高温条件下で目を覚まし（転写が活性化）します。本研究では、DNA のメチル化^{*1}を担う酵素の変異体ももちいて、*ONSEN* の転写活性を解析しました。その結果、予想に反して DNA メチル化酵素の変異体で *ONSEN* の転写量が減少しました。この現象は一般的な DNA メチル化の役割とは一見、逆の作用であり、*ONSEN* は一般的なトランスポゾンと異なり、DNA のメチル化を自らの転写抑制に対する防御機構として利用していることとなります。

本研究で得られた結果は、長年考えられてきたトランスポゾンと宿主のせめぎ合いについての新しい現象と考えられ、両者の巧みな生存戦略を理解するうえでの新しい知見を得ることができました。

なお、本研究成果は、2021年8月20日（金）午前4時公開の PLOS Genetics 誌に掲載されました。



野生型 (WT) では、*ONSEN* 領域の CMT3 が CMT2 の結合を抑制する。*cmt3* 変異体で CMT3 の機能を喪失すると、CMT2 を介して CHH のメチル化が増加する。熱ストレス (HS) を受けると、熱ショック因子 (HSF) によって *ONSEN* の転写が活性化される。*cmt2* 変異体では、CHH のメチル化と H3K9me2 レベルが低いため、熱ストレス下での *ONSEN* の転写量が増加する。

【背景】

トランスポゾンとは、あらゆる生物のゲノムに存在する”動く遺伝子”です。トランスポゾンが無秩序にゲノム内を転移すると、生物が生きていくために必要な遺伝子を破壊してしまい、生存に不利になることがあります。そのため、ほとんどのトランスポゾンは DNA のメチル化やヒストン修飾*²という修飾を受けて不活化されています。

しかし、環境ストレスによってトランスポゾンの転写抑制が一時的に解除されることが知られています。これまでの研究で、シロイヌナズナにおいて、*ONSEN* が熱ストレスによって活性化されることが明らかになってきました。熱ストレス条件下では、HSFA2 を含む熱応答性転写因子が *ONSEN* のプロモーター領域に存在するヒートショックエレメントを認識することで *ONSEN* が活性化され、さらに染色体外 DNA*³ の産生を引き起こすことがわかっています。

また、RNA ポリメラーゼ IV (Pol IV) のサブユニットであり、siRNA*⁴ の生合成や RNA 依存型 DNA メチル化(RdDM)経路の鍵となる因子である NRPD1 の変異体では、熱によって誘発される *ONSEN* の転写量が有意に増加したことから、熱ストレス下での *ONSEN* の転写抑制に siRNA 経路が関与していることが示唆されています。しかし、熱ストレス下での *ONSEN* の活性化における DNA メチル化の分子機構は明らかになっていませんでした。

【研究手法】

シロイヌナズナでは、遺伝子の機能を欠損させた変異体が数多く存在します。今回 CMT2 や CMT3 といった DNA のメチル化酵素の変異体を持ちいて、熱ストレスで活性化するトランスポゾン *ONSEN* の転写量を解析しました。

また、バイサルファイト処理をおこなった DNA の塩基配列を決定することで、DNA のメチル化率を解析しました。さらに、クロマチン免疫沈降法(ChIP)*⁵ をもちいて *ONSEN* 配列上の DNA メチル化酵素 CMT2 と CMT3 の局在を調べました。

【研究成果】

本研究では、シロイヌナズナに熱ストレスを与える実験から、熱活性型のレトロトランスポゾン *ONSEN* の転写制御に DNA のメチル化が特異的な働きをすることがわかりました (図 1)。DNA メチル化酵素である CMT3 は本来の役割とは逆に、熱ストレス下での *ONSEN* の活性化において、正の役割を果たしていることが明らかになりました。*cmt2* 変異体では *ONSEN* の転写産物が有意に増加しており、CHH のメチル化レベルの低下と一致していました。*cmt3* 変異体で *CMT2* 遺伝子をノックアウトすると、減少した *ONSEN* 転写産物は *cmt3* 変異体では *cmt2* 変異体と同程度のレベルに回復しましたが、*drm1/2 cmt3* の 2 重変異体では *ONSEN* の転写レベルがわずかに上昇したものの、*drm1/2* 変異体よりも低下していました。

これらの結果から、*cmt3* 変異体における熱ストレス(HS)下での *ONSEN* 活性化の減衰は、*CMT2* 遺伝子が介在する CHH メチル化の増加に大きく起因することが明らかになりました。つまり、CMT3 は、*ONSEN* クロマチンにおいて、DNA メチル化酵素である CMT2 が介在する CHH のメチル化と熱ストレス下での H3K9me2 の蓄積を防ぎ、*ONSEN* の転写を調節することが明らかになりました。今回の研究により、熱ストレスによる *ONSEN* の活性化における CMT3 の分子機構が明らかになり、トランスポゾンと宿主ゲノムのストレス条件下での生存メカニズムに新たな知見が得られました。

一方で、宿主のシロイヌナズナにとっては、DNA のメチル化を担う酵素が働かなくなってしまった場合のバックアップ機構として、他の DNA メチル化酵素を用いたトランスポゾンの抑制機構であると考

えられます。

【今後への期待】

DNA のメチル化は遺伝子の発現を抑制するというのが今までの定説でした。しかし、私たちの研究結果から、今まで考えられていた遺伝子の発現を OFF にする働きの他に、遺伝子の転写量を正に制御する機構が存在することが明らかになったことにより、多様な DNA メチル化の役割についての研究が進むことが期待されます。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業・基盤研究（C）（研究代表：伊藤秀臣，課題番号 18K06050），新学術領域研究（研究代表：木下俊則，課題番号 JP15K21750），特別研究院奨励費（研究代表：野沢紘佑，課題番号 18J11120），北海道大学総長奨励による若手教員海外派遣支援事業の助成を受けた成果です。

論文情報

論文名	DNA methyltransferase CHROMOMETHYLASE3 prevents <i>ONSEN</i> transposon silencing under heat stress (DNA メチル化酵素の CHROMOMETHYLASE3 は熱ストレス下でのトランスポゾン <i>ONSEN</i> のサイレンシングを防ぐ)
著者名	野沢紘佑 ¹ , Jiani Chen ^{2,3} , Jianjun Jiang ² , Sara M. Leichter ² , 山田将誉 ¹ , 鈴木孝征 ⁴ , Fengguan Liu ³ , 伊藤秀臣 ^{5*} , Xuehua Zhong ^{2*} (¹ 北海道大学大学院生命科学院, ² ウィスコンシン大学, ³ 植物保護研究所江蘇省農業学院, ⁴ 中部大学大学院応用生物学研究科, ⁵ 北海道大学大学院理学研究院, *共同責任著者)
雑誌名	PLOS Genetics (オープンアクセス科学ジャーナル)
DOI	10.1371/journal.pgen.1009710
公表日	2021 年 8 月 20 日 (金) 午前 4 時 (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院 准教授 伊藤秀臣 (いとうひでたか)

T E L 011-706-4469 F A X 011-706-4469 メール hito@sci.hokudai.ac.jp

U R L https://www.sci.hokudai.ac.jp/Cellfunction_Structure3/

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

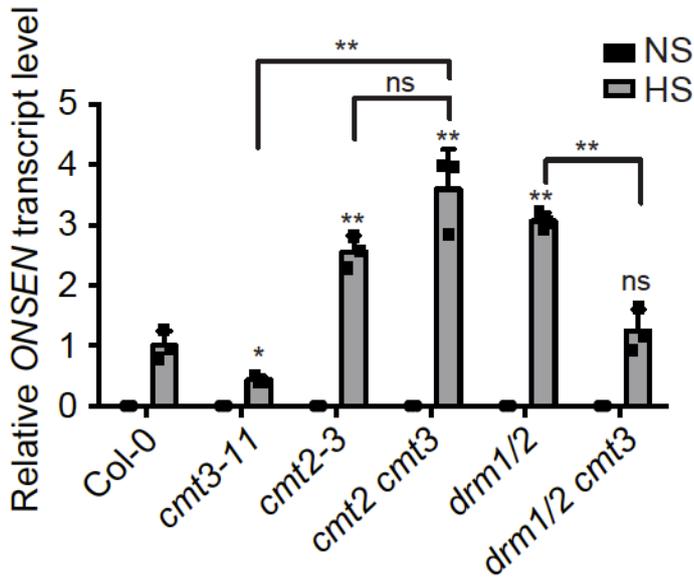


図1 熱ストレス下のシロイヌナズナの各変異体における *ONSEN* の転写レベル

【用語解説】

- *1 DNA のメチル化 … DNA メチル化酵素の働きにより、DNA を構成する A, T, G, C の塩基のうち主に C(シトシン)のピリミジン環の 5 位炭素原子にメチル基修飾が付加される化学反応。
- *2 ヒストン修飾 … ヒストンの N 末端・C 末端側の領域の翻訳後修飾。アセチル化、メチル化、リン酸化、モノユビキチン化など様々な翻訳後修飾を受ける。
- *3 染色体外 DNA … レトロトランスポゾン の転写により生成された RNA は核の外で逆転写され、DNA に合成される。この DNA は染色体外 DNA と呼ばれ、再び核内に輸送され宿主のゲノムに挿入される。
- *4 siRNA … 主に反復配列やトランスポゾンから生成される小分子 RNA のこと。遺伝子の発現制御等に関与する。
- *5 クロマチン免疫沈降法(ChIP) … 染色体 DNA に関連するタンパク質がどのように分布しているのか調べる方法。DNA に直接的または間接的に結合したタンパク質について調べることができる。