

RNA 指令型 DNA メチル化によるトランスポゾンの転移制御機構を解明

～環境ストレス応答で活性化するトランスポゾンの制御機構についての新しい知見～

ポイント

- ・ DDR 複合体のいずれかのタンパク質を欠失させると、*ONSEN* の転写量が上昇。
- ・ *ONSEN* の活性には熱ストレスの継続時間が影響。
- ・ DRD1 が DDR 複合体依存的な *ONSEN* の転移制御に重要な役割。

概要

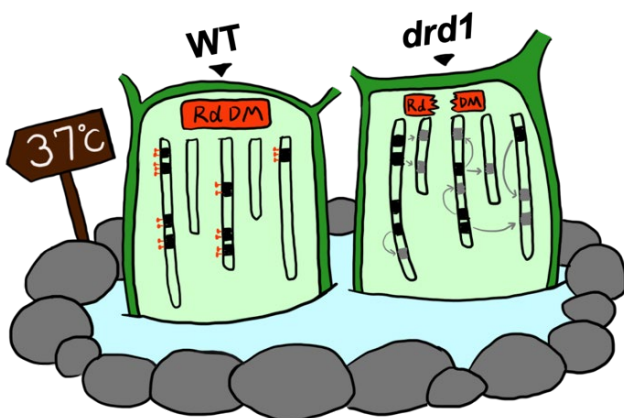
北海道大学大学院理学研究院の伊藤秀臣准教授の研究グループは、環境ストレスで活性化するシロイヌナズナの転移因子（トランスポゾン）の制御機構について明らかにしました。

トランスポゾンのサイレンシング機構には、RNA-directed DNA methylation (RdDM^{*1})経路が必須であり、DRD1、DMS3、RDM1 からなる DDR 複合体は RdDM 経路の必須構成要素であることが知られています。シロイヌナズナで同定された *ONSEN* は 37°C の熱ストレスで活性化するレトロトランスポゾンですが、その制御に関する研究は限られていました。

本研究では、シロイヌナズナにおける DDR 複合体による *ONSEN* 活性の制御を解析しました。その結果、DDR 複合体のいずれかの構成要素を欠損させると、*ONSEN* の転写レベルが上昇することを明らかにしました。さらに、DDR 複合体構成要素である DRD1、DMS3、RDM1 は、*ONSEN* の転写と転写の抑制に独立した役割を果たすことが分かりました。さらに、熱ストレスの持続時間が *ONSEN* の活性に影響を与えることを見出しました。

本研究の結果は、RdDM 経路における DDR 複合体のレトロトランスポゾン制御機構に新たな知見を与えるものです。

なお、本研究成果は、2022 年 12 月 21 日（水）公開の *Frontiers in Plant Science* 誌に掲載されました。



- Endogenous *ONSEN* copies in the Columbia accession
- New *ONSEN* insertions
- DNA methylation

RdDM 経路は *ONSEN* 領域に DNA メチル化を誘導することにより、*ONSEN* の活性を抑制する。野生型（左）で *ONSEN* の転移は見られない。

【背景】

転移因子（トランスポゾン）はあらゆる生物に存在する“動く遺伝子”であり、トランスポゾンの転移はゲノムに悪影響を与える可能性があります。そのため、トランスポゾンの転移制御は、宿主にとって自身のゲノムの安定性を守るために重要です。ほとんどのトランスポゾンは DNA のメチル化^{*2}やヒストン修飾などのエピジェネティックな修飾により転写が抑制されているため、その転移制御機構の詳細は明らかになっていませんでした。

シロイヌナズナにおける熱活性型レトロトランスポゾン *ONSEN* は 37°C の熱ストレスで転写が活性化し、染色体外 DNA を産生します。siRNA を介したトランスポゾンの転写制御機構である RdDM 経路の変異体では、熱ストレスにより *ONSEN* の世代を超えた転移が観察されました。

DDR 複合体は、DRD1、DMS3、RDM1 からなり、RdDM 経路の重要な構成要素となっています。DDR 複合体は RNA polymerase V (Pol V) に依存する転写に必要で、Pol V の上流で機能し、Pol V の活性を調節し、クロマチンへの Pol V 結合を安定化させることが知られています。この研究では、レトロトランスポゾンのサイレンシングのメカニズムにおける DDR 複合体の役割を解析しました。

【研究手法】

RdDM 経路因子を欠損させた変異体である *drd1*、*dms3*、*rdm1* 又はその多重変異体を用いて、*ONSEN* の転写量と転移を解析しました。DNA メチル化レベルは Bisulfite sequencing 法を用いて *ONSEN* 領域のメチル化レベル、特にプロモーター領域が存在する LTR 領域を調べました。次に、DAPI(4',6-diamidin0-2-phenylindole)染色により、ヘテロクロマチンの凝縮レベルを観察しました。AI の技術を取り入れることで、得られた顕微鏡画像に機械学習を行い、学習した AI によるアノテーションを用いて、ヘテロクロマチンの状態を自動的に識別し、グループ分けを行いました。

【研究成果】

本研究では、DDR 複合体による *ONSEN* の活性制御について解析しました。DDR 複合体のいずれかのタンパク質の機能を欠損させると、*ONSEN* の転写量が上昇しました。48 時間の熱ストレス処理をした DDR 複合体の三重変異体で *ONSEN* の世代を超えた転移が見られました。しかし、DDR 複合体の構成要素である DRD1、DMS3、RDM1 それぞれの変異体では、*drd1* のみで *ONSEN* の転移を観察されました。このことから、DRD1 が DDR 複合体依存的な *ONSEN* の転移抑制に重要な役割を担っていることが示唆されました。

DRD1 は植物に特異的な SNF2 様タンパク質であり、クロマチンリモデリング因子として、遺伝子座への Pol V の物理的な結合に寄与して、抑制的なヘテロクロマチンを構築することで隣接するトランスポゾンの転写を抑制しています。RdDM の上流段階では、Pol II や Pol IV によって作られた転写物が siRNA を生成します。RdDM による DNA のメチル化に対して、Pol V によって作られる lncRNA が重要です。トランスポゾンのサイレンシングは Pol V 転写産物と siRNA の生成の複合的な効果が必要です。先行研究で Pol V の機能損失変異体である *nrpe1* において、*ONSEN* の転移が観察されました。また、DRD1 が NRPD1b (NRPE1) の局在に影響を与え、NRPD1a(NRPD1)の活性に影響を与える可能性があり、間接的に siRNA 量の蓄積量を減少させました。

研究グループは、DRD1 の欠失により Pol V と Pol IV の機能が損なわれ、間接的に lncRNA と siRNA の存在量の減少につながり、RdDM プロセスが損なわれるという仮説を提唱しました(図 1)。そして、lncRNA と siRNA は完全には消失されないため、*ONSEN* の活性化には長期の環境ストレスが必要であることを示しました。

【今後への期待】

この研究では、レトロトランスポゾンのサイレンシングのメカニズムにおける DDR 複合体の役割を解析しました。その結果、DRD1 が DDR 複合体依存的な *ONSEN* の転移抑制に重要な役割を担っていることが示唆されました。*ONSEN* のサイレンシング機構における lncRNA と siRNA の役割については、今後さらに研究が必要です。

【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 21K06008) アンビシャス博士人材フェローシップ (研究代表:牛小蛸) の助成を受けた成果です。

論文情報

論文名	Regulatory mechanism of a heat-activated retrotransposon by DDR complex in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナにおける DDR 複合体による熱活性型レトロトランスポゾンの制御機構)
著者名	牛 小蛸 ¹ , 陳 露 ¹ , 加藤敦之 ² , 伊藤秀臣 ^{2*} (1 北海道大学大学院生命科学院, 2 北海道大学大学院理学研究院 *責任著者)
雑誌名	Frontiers in Plant Science (オープンアクセス科学ジャーナル)
DOI	10.3389/fpls.2022.1048957
公表日	2022 年 12 月 21 日 (水) (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

北海道大学社会共創部広報課 (〒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】

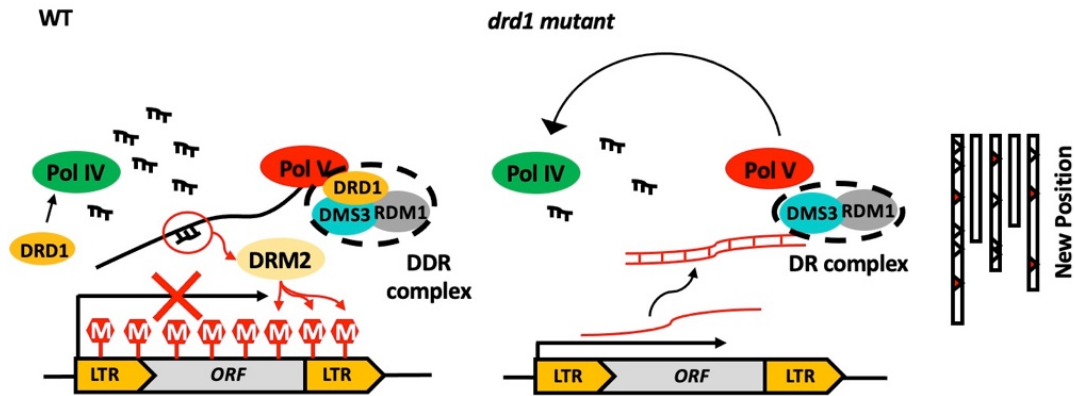


図 1. DDR 複合体による ONSEN のサイレンシングのモデル。野生型 (WT) では、Pol IV と Pol V がそれぞれ siRNA と lncRNA を生成し、ONSEN のメチル化レベルが高くなる。DNA 高メチル化により、ONSEN の転写が抑制される。WT では ONSEN の転移は起きない。drd1 変異体では、DRD1 の欠失により、DR 複合体が Pol V に結合できなくなり、NRPD1b の局在にも影響を及ぼすと考えられる。これにより、Pol IV と Pol V の機能の一部が失われ、間接的に生体内の siRNA と lncRNA の蓄積量に影響を与え、ONSEN 転写と転移の抑制経路が不制御になると予想される。

【用語解説】

*1 RdDM … RNA 指令型 DNA メチル化機構。植物で最初に見つかった機構で小分子二本鎖 RNA を介して DNA のメチル化が誘導される。メチル化 DNA はヒストン修飾と共にテロクロマチン化を促進し、トランスポゾンや反復配列の制御に重要な役割を担っている。

*2 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。