

SET1 ドメインタンパク質 SUVH2 によるトランスポゾンの制御機構を解明

～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

- ・ SUVH2 タンパク質を欠失させると、*ONSEN* の転写量が上昇。
- ・ SUVH2 タンパク質を欠失させても、*ONSEN* の転移は見られない。
- ・ siRNA が *ONSEN* の転移制御に重要な役割。

概要

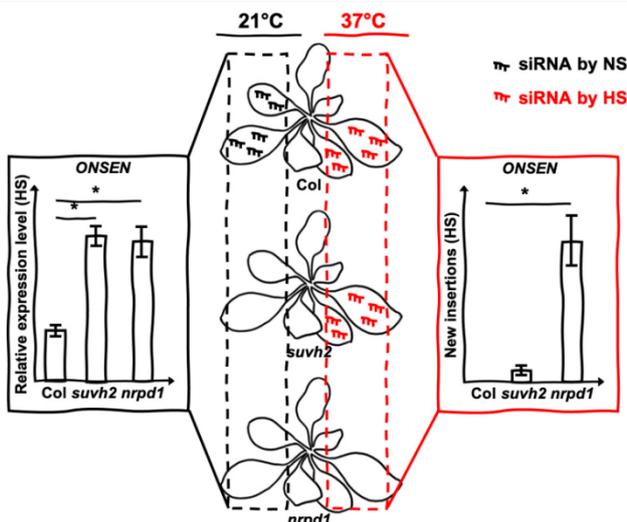
北海道大学大学院理学研究院の伊藤秀臣准教授の研究グループは、環境ストレスで活性化するシロイヌナズナの転移因子（トランスポゾン）の制御機構について明らかにしました。

研究グループは、環境ストレス、特に熱ストレスで活性化するトランスポゾン(*ONSEN*)に着目し、その活性を制御する植物側の因子について長年研究してきました。その中で、*ONSEN* は RNA 誘導型の DNA メチル化 (RdDM^{*1}) によって転写活性が制御されていることを明らかにし、RdDM がうまく機能しないような変異体では、*ONSEN* の転写活性が増加し、次の世代に *ONSEN* が転移することも分かりました。RdDM 経路の因子の一つである SUPPRESSOR OF VARIATION 3-9 HOMOLOG (*SUVH*) ファミリータンパク質の一つ *SUVH2* の変異体に高温ストレスを与えると、他の RdDM 経路の変異体同様、*ONSEN* の高発現が見られました。

ところが、興味深いことに、*SUVH2* の変異体では *ONSEN* の世代を超えた転移は観察されませんでした。本研究では、*SUVH2* 変異体では *ONSEN* の配列相補的な小分子 RNA (siRNA^{*2}) が生成されることが分かりました。

一方、*ONSEN* の世代を超えた転移が観察される変異体では siRNA が検出されませんでした。このことから、siRNA が *ONSEN* の転移を制御していることが示唆されます。今回の研究結果から、高温で活性化するトランスポゾン *ONSEN* の制御には転写レベルでの制御と転移レベルでの制御が独立に存在していることが明らかになりました。そして、転移の制御には siRNA が重要な役割を担っているという新しい知見を得ることができました。

なお、本研究成果は、2024 年 2 月 8 日（木）公開の *Frontiers in Plant Science* 誌に掲載されました。



野生型、*suvh2* 変異体、*nrpd1* 変異体における *ONSEN* の転写量と転移数。RdDM 経路の重要な因子である *SUVH2* と *NRPD1* はそれぞれ独立の役割を担っており、*SUVH2* は *ONSEN* の転写制御、*NRPD1* は siRNA を介した転移制御を行っている。

【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。

これまでの報告から、シロイヌナズナには 10 種類の suppressors of variegation 3-9 homolog (SUVH) ファミリータンパク質が存在し、そのうち SUVH2 と SUVH9 が RdDM の DNA メチル化活性と密接に関連していることが示されていました。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 SUVH2 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 SUVH2 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-diamidino-2-phenylindole) 染色と FAIRE-qPCR 法により、ヘテロクロマチンの凝縮レベルを観察しました。また、Northern blot 法で *ONSEN* の siRNA の蓄積量を調べました。

【研究成果】

本研究では、SUVH2 変異体における *ONSEN* の活性制御について解析しました。SUVH2 の機能を欠損させると、*ONSEN* の転写量が上昇しました。

次に、世代を超えた *ONSEN* の転移活性を調べました。RdDM 経路の変異体では、世代を超えた *ONSEN* の転移が観察されますが、SUVH2 変異体では *ONSEN* の転移は観察されませんでした。転移が観察されなかった原因を調べるために、*ONSEN* の DNA メチル化を調べました。その結果、*ONSEN* 配列上の DNA メチル化は野生型と比較して低下していました。この DNA の脱メチル化は、*ONSEN* の転写活性と相関があることが分かりました。

さらに、クロマチンの凝縮度合いが *ONSEN* の転移と関係があるかどうか調べるために、SUVH2 変異体におけるオープンクロマチン状態を FAIRE-qPCR 法と DAPI 染色法を用いて解析しました。その結果、SUVH2 変異体は野生型と同様のクロマチン状態であることが分かり、*ONSEN* の転移とクロマチンの凝縮の関連性は見られませんでした。次に、SUVH2 変異体における小分子 RNA の蓄積量を調べたところ、*ONSEN* 配列と相補的な小分子 RNA の蓄積が検出されました。

一方、*ONSEN* の世代を超えた転移が見られる RdDM 経路の変異体ではこの小分子 RNA が見られないことから、*ONSEN* 由来の小分子 RNA が世代を超えた *ONSEN* の転移制御に関与していることが示唆されました。

以上の結果から、SUVH2 は熱ストレスで活性化する *ONSEN* の転写活性制御に重要であるが、転移制御には小分子 RNA を介した機構が関与していることが明らかになりました(図 1)。

【今後への期待】

この研究では環境ストレスで活性化するトランスポゾンと宿主の関係について、エピジェネティックな因子が重要な役割を果たしていることを明らかにしました。トランスポゾンの制御には転写の制御と転移の制御が存在します。転写制御については DNA のメチル化やヒストン修飾が重要であることが分かってきましたが、転移制御については、まだ分からないことだらけです。

今回明らかになった小分子 RNA がどのようにトランスポゾンの転移を制御しているのか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・国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（A）（研究代表：伊藤秀臣、課題番号 21KK0263）、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 heat-active retrotransposons by the SET Domain Protein SUVH2 (SET ドメインタンパク質 SUVH2 による熱活性レトロトランスポゾンの制御機構)
著者名	牛 小蛸 ¹ , 葛 智宇 ¹ , 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.2024.1355626
公表日	2024年2月8日(木) (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】

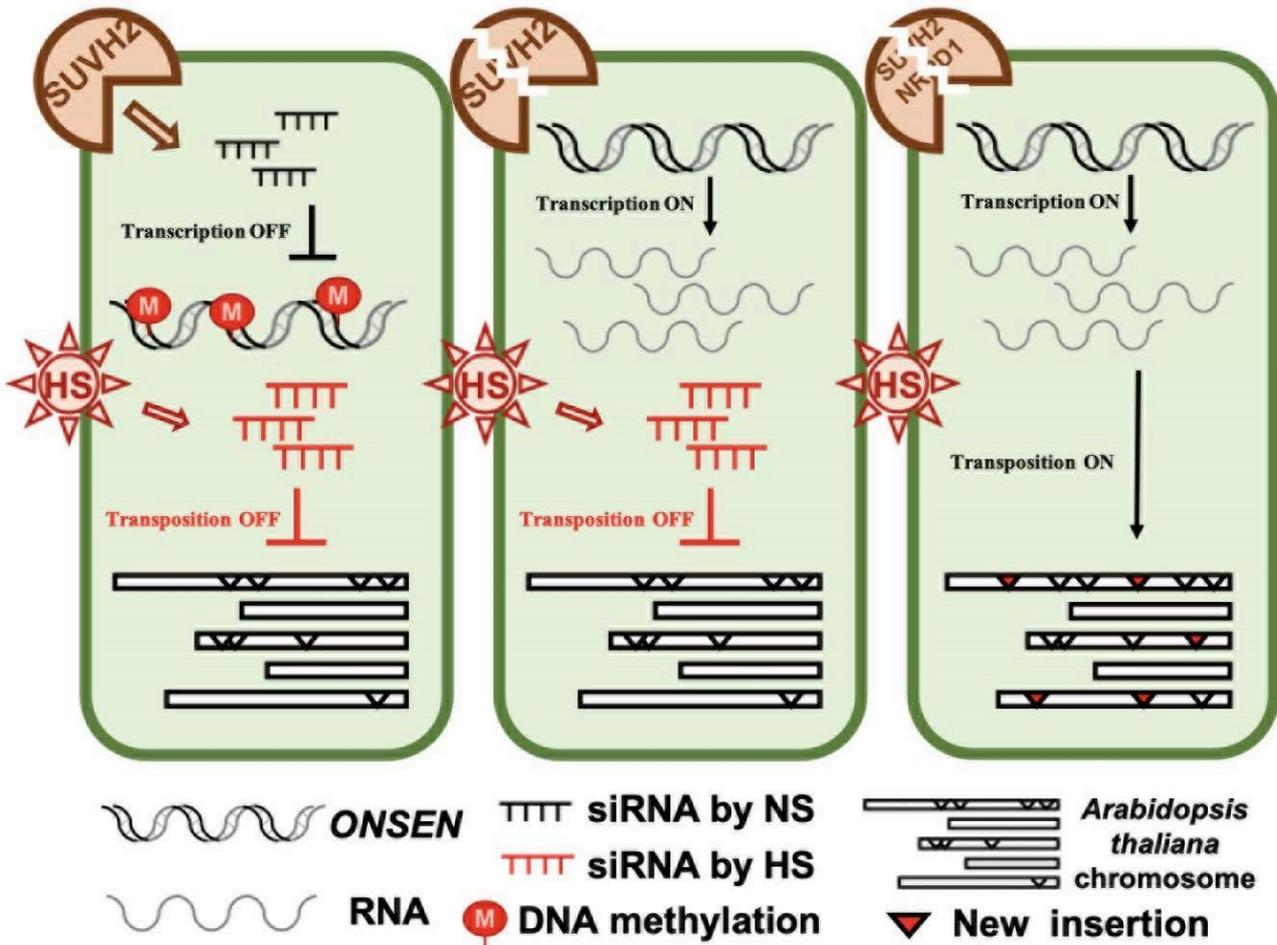


図 1. *ONSEN* のサイレンシングのモデル。野生型では、RdDM 経路で siRNA が産生され、*ONSEN* の転写を抑制する。*suvh2* 変異体では、RdDM 経路が破壊され、熱ストレスによって *ONSEN* の転写が解放される。熱ストレス下では、植物は *SUVH2* に依存する経路をバイパスして新しい siRNA を産生し、熱ストレスによって産生されたこれらの siRNA は、*ONSEN* の転写を抑制する。*suvh2/nrpd1* 二重変異体では、熱ストレス条件下で siRNA を合成することができず、*ONSEN* の転写制御が解除される。

【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。なお、DNA のメチル化とは、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のことを言う。

*2 siRNA … 21-24 塩基対から成る低分子二本鎖 RNA。siRNA は RNA 干渉 (RNAi) と呼ばれる現象に関与しており、伝令 RNA (mRNA) の破壊によって配列特異的に遺伝子の発現を抑制する。植物においては RdDM 経路を介して DNA の新規メチル化を誘導する。