

## エピジェネティック制御遺伝子の進化

陸上植物のさまざまな群においてエピジェネティックな現象が知られている。近年、コケ植物ヒメツリガネゴケ、シダ植物イヌカタヒバのゲノム解析の進展によって、エピジェネティック制御に関わる遺伝子が陸上植物全体で広く保存されていることがわかってきた。

倉田哲也\*†・程朝陽\*・長谷部光泰\*\*,\* Tetsuya Kurata, Chaoyang Cheng, Mitsuyasu Hasebe

\*科学技術振興機構 ERATO長谷部分化全能性進化プロジェクト, \*\*自然科学研究機構 基礎生物学研究所

†E-mail: tekurata@nibb.ac.jp

### はじめに

被子植物におけるエピジェネティックな現象については、メカニズムの解明が進み複雑な制御様式がわかってきた。被子植物以外の植物においてもエピジェネティックな現象が報告されている。例えば、シダ植物では倍数体化後、いくつかの対立遺伝子座からの遺伝子発現が抑制されるようになる2倍体化と呼ばれる現象が知られている<sup>1)</sup>。また、高糖濃度培養などのストレス条件によって1倍体世代から受精なしに2倍体世代を誘導したり、逆に2倍体世代から減数分裂なしに1倍体世代を誘導することができる<sup>2)</sup>。

さらに、植物は動物と比べて高い分化全能性もしくは分化多能性を示し、分化細胞からの個体再生が容易であるが、この過程もエピジェネティックな制御が関連していると考えられている。植物のなかでも、分類群によって再生能力は異なっており、一般的にコケ植物は維管束植物に比べて、再生能力が著しく高いことが知られている<sup>3)</sup>。被子植物の茎頂や根端分裂組織にある幹細胞システムは、複数の幹細胞群から成る多細胞性である。一方、コケ植物は単一の頂端細胞が幹細胞として機能する単細胞性分裂組織を持っている<sup>4)</sup>。そして、コケ植物の再生過程では、分化した茎や葉の1細胞が頂端幹細胞へと変化する。この過程においてエピジェネティックな変化が起り、分化細胞核が幹細胞核へとリプログラムされると推定されている。さらに、RNAi (RNA interference) や DNAi \*<sup>1</sup> と呼ばれ

る実験技術も開発されている<sup>5), 6)</sup>。しかしながら、メカニズムに関する分子レベルでの研究はほとんど行われておらず、植物全般におけるエピジェネティックな現象の共通性や多様性についてはまだ未解明な問題が多く残されている。

最近、コケ植物のヒメツリガネゴケ (*Physcomitrella patens*) の概略ゲノム解読が報告され<sup>7)</sup>、シダ植物のイヌカタヒバ (*Selaginella moellendorffii*) の配列情報も公開されている (<http://wiki.genomics.purdue.edu/index.php/Selaginella>)。そこで本稿では、これらのゲノム情報をもとに、エピジェネティックな現象に関わる遺伝子が、陸上植物でどの程度保存されているかについて概略を解説する。

### 1. ヒストンコード\*<sup>2</sup>

クロマチンの最小単位であるヌクレオソームは、4種類の塩基性タンパク質ヒストンH2A, H2B, H3, H4がそれぞれ2分子ずつで8量体のコアヒストン複合体に146 bpのゲノムDNAが左巻きに巻き付く構造をとっている。それぞれのヒストンには、8量体形成のためのタンパク質間相互作用に必要なC末端側(ヒストンフォールド)と、ヌクレオソームの外側に突出したりジン残基に富んだN末端側(ヒストンテール)の特徴的な構造が存在する。N末端側ヒストンテールは特定の側鎖がアセチル化、メチル化、リン酸化の化学修飾を受け、クロマチンのパッケージング、およびそれに引き続く遺伝子発現の制御に関与しているほか、ヒストンフォールド部位よ

#### \*1 DNAi (DNA interference)

二本鎖RNAを用いた遺伝子発現の抑制(RNAi)は動植物で共通して観察されているが、DNAiは用いる核酸が二本鎖DNAであり、タバコ、リチャードミズワラビ、ホウライシダで報告されている。

\*2 ヒストンコード Allis<sup>24)</sup>らにより提唱された仮説。それまでの解析においては、転写制御はDNAに由来する情報(DNAコード)が重要であると考えられていたが、それでは説明できない遺伝子発現の変化について特異的なヒストン修飾を介したクロマチン構造の変換が規定している(ヒストンコード)と説明した仮説。現在では、多数の遺伝子発現系において、その仮説を支持する結果が得られている。

りC末端側のリジン残基でのユビキチン化も報告されている<sup>8)</sup>。また、SUMO化やADP-リボシル化等も報告されている<sup>9), 10)</sup>。このうちアセチル化、メチル化は、シロイヌナズナなどの被子植物において、いくつかの発生・環境応答に関与していることがわかってきた(第3章-1参照)<sup>11), 12)</sup>。そこで、ヒメツリガネゴケにおいてH3K4<sup>me3</sup>, H3K9<sup>me2</sup>, H3K27<sup>me2</sup>, H3K27<sup>me3</sup>, H3K9<sup>ac</sup>の修飾状態を、それぞれの修飾に対する特異抗体を用いたChIP-PCR法<sup>\*3</sup>でシロイヌナズナと比較して調べてみた。恒常的に転写が活性化しているチューブリンやアクチン遺伝子、逆に不活性化しているトランスポゾン領域を用いたところ、活性化状態を示すH3K4<sup>me3</sup>, H3K9<sup>ac</sup>, または不活性化状態の指標になるH3K9<sup>me2</sup>, H3K27<sup>me2</sup>は、ヒメツリガネゴケとシロイヌナズナでは同様であった。ユークロマチンの不活性化領域に存在すると考えられているH3K27<sup>me3</sup>は<sup>13)</sup>、筆者らが調べた限りでは検出されていないが、今後のゲノムワイドな解析が必要である。

このような特異的なヒストン修飾は、それぞれの修飾について特異的な酵素が引き起こしていることが知られている。ヒストンタンパク質の特定アミノ酸残基のメチル化、アセチル化は、それぞれヒストンメチル化酵素(HMT)、ヒストンアセチル化酵素(HAT)により進行する。逆に、脱メチル化、脱アセチル化は、ヒストン脱メチル化酵素(HDM)、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)により起こり、これらのヒストン修飾酵素遺伝子は動植物問わず広く保存されている<sup>11), 12), 14), 15)</sup>。これらの遺伝子についてDNAデータベースでホモログを探索し、ヒメツリガネゴケ、イヌカタヒバを加えて系統樹解析をしてみると、陸上植物全体においてHMT, HDM, HAT, HDACが保存されていることがわかった。

## 2. その他のエピジェネティック制御

ヒストン修飾以外のエピジェネティック制御因子について系統解析を行った結果、維持型および*de novo*型DNAメチラーゼ<sup>16)</sup>、脱DNAメチル化に関与するDNAグリコシラーゼDME1<sup>17)</sup>、ヒストンシャペロンであるCAF-1構成因子、HIRA<sup>18), 19)</sup>、リモデリング因子のDDM1、

SYD, PKL, MOM<sup>20)</sup>なども陸上植物全体で保存されていることがわかった。しかし、被子植物以外の陸上植物におけるこれらの因子の機能解析は進んでいないため、機能が保存されているかどうかは今後の課題である。

比較的大きなタンパク質複合体として、エピジェネティックな遺伝子発現抑制に関与することが知られているポリコムグループ複合体(Polycomb Repressive Complex; PRC)を構成するタンパク質をコードする遺伝子も、陸上植物全体で保存されている。動物ではPRC1, PRC2の2種類の複合体が存在しているが、配列比較によって調べられた限りでは、陸上植物においてはPRC2のみが見いだされている<sup>21)</sup>。PRC2を構成しているタンパク質はE(z), ESC, Su(z), p55であるが、シロイヌナズナとヒメツリガネゴケを比べると、E(z)以外はよく保存されている。シロイヌナズナのE(z)にはCLF, MEA, SWNの3つがあるが、ヒメツリガネゴケとイヌカタヒバにはCLFのオーソログしか存在していない。PRC2は、シロイヌナズナにおいて花成や胚珠形成などの成長相の転換時に機能していることが報告されている(第3章-1参照)<sup>21)</sup>。E(z)の数の増減については、被子植物の進化に伴う発生様式の複雑化と関連しているのかもしれない。

## 3. ヘテロクロマチン形成とsmall RNA

近年、機能性RNAの研究が活発に行われているが、small RNA(低分子RNA)については多くの知見が蓄積されてきている<sup>22)</sup>。エピジェネティクスの観点においても、small RNAの1つのカテゴリーであるsiRNA(small interfering RNA)が、DNAメチル化とヒストンメチル化を介してヘテロクロマチン形成のガイド役として機能していることが報告されている。これまでに、siRNAの生成および機能発現に必要なDCL3(Dicer like 3), AGO4(Argonaute 4), RDR2(RNA-dependent RNA polymerase 2)などのコンポーネントが明らかにされ<sup>22)</sup>、これらはすべて陸上植物全体で保存されている。実際、ヘテロクロマチン化していることが想定されるrepetitiveなゲノム配列<sup>\*4</sup>由来のsiRNA産物が、ヒメツリガネゴケのsmall RNAの大規模シー

### \*3 ChIP-PCR法

DNAに結合しているタンパク質に対してのクロマチン免疫沈降(chromatin immunoprecipitation; ChIP)後に、特異的な遺伝子領域の濃縮についてPCRで調べる方法。ChIPに用いたサンプル(Input)や、IgG(Mock)との比較で濃縮の程度を検討する。ChIP産物を大規模にシークエンスして(ChIP-Seq)ゲノムワイドな検出を行う方法も開発されている。

### \*4 repetitiveなゲノム配列

ゲノム中の反復配列を指す。染色体構造に関わり、セントロメアやテロメアに見られるタンデムな反復配列や、トランスポゾン等から成る散在性の反復配列である。このような領域は通常、ヘテロクロマチン化されている。

クエン酸解析から数多く見いだされている<sup>23)</sup>。

## おわりに

比較ゲノム解析から、陸上植物全般においてエピジェネティック制御に関わる遺伝子が広く保存されていることがわかった。今後の課題は、これらの因子の機能が陸上植物全般でどの程度保存されているのか、また本稿の最初で述べたような、生活史の転換などの興味深い生物現象がどのように制御されているかを明らかにする

ことにある。被子植物以外の陸上植物は、遺伝子機能解析が難しいものが多い、そのなかで、コケ植物セン類のヒメツリガネゴケは遺伝子ターゲット効率が酵母と同じくらい高いことから、今後、エピジェネティクス研究において有用な材料であろうと考えられる。また、コケ植物タイル類のゼニゴケも全ゲノム解読が進行しており、アグロバクテリアを介した形質転換も可能となり今後の研究が期待されている。

## ▽ 必読文献

- 1) Rensing, S.A. et al.: *Science* 319, 64-69 (2008)
- 2) 中山潤一: クロマチンと遺伝子機能制御, pp.81-90, シュプリンガー・ジャパン (2003)

## ◆ 引用文献

- 1) Soltis, P.S. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 7051-7057 (2000)
- 2) DeYoung, B. et al.: *Genetics* 147, 809-814 (1997)
- 3) Chopra, R.N. et al.: *Biology of Bryophytes*. Wiley Eastern Ltd. (1988)
- 4) Schneider, H. et al.: *Developmental Genetics and Plant Evolution*, Cronk, Q.C. et al. eds., pp. 330-364, Taylor & Francis, London (2002)
- 5) Rutherford, G. et al.: *BMC Plant Biol.* 4, 6 (2004)
- 6) Kawai-Toyooka, H. et al.: *Plant Cell Physiol* 45, 1648-1657 (2004)
- 7) Rensing, S.A. et al.: *Science* 319, 64-69 (2008)
- 8) 中山潤一: クロマチンと遺伝子機能制御, pp.81-90, シュプリンガー・ジャパン (2003)
- 9) Nathan, D. et al.: *Genes Dev.* 20, 966-976 (2006)
- 10) Hassa, P.O. et al.: *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 70, 789-829 (2006)
- 11) Chen, Z.J. et al.: *Biochim. Biophys. Acta* 1769, 295-307 (2007)
- 12) Ng, D.W. et al.: *Biochim. Biophys. Acta* 1769, 316-329 (2007)
- 13) Zhang, X. et al.: *PLoS Biol.* 5, e129 (2007)
- 14) Shi, Y.: *Nat. Rev. Genet.* 8, 829-833 (2007)
- 15) Jiang, D. et al.: *Plant Cell* 19, 2975-2987 (2007)
- 16) Rangwala, S.H. et al.: *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14, 686-691 (2004)
- 17) Gehring, M. et al.: *Cell* 124, 495-506 (2006)
- 18) Kaya, H. et al.: *Cell* 104, 131-142 (2001)
- 19) Phelps-Durr, T.L. et al.: *Plant Cell* 17, 2886-2898 (2005)
- 20) Berger, F. et al.: *Chromosome Res.* 11, 277-304 (2003)
- 21) Guitton, A.E. et al.: *Int. J. Dev. Biol.* 49, 707-716 (2005)
- 22) Chapman, E.J. et al.: *Nat. Rev. Genet.* 8, 884-896 (2007)
- 23) Axtell, M.J. et al.: *Cell* 127, 565-577 (2006)
- 24) Strahl, B.D. et al.: *Nature* 403, 41-45 (2000)