

## 関植物エピゲノム制御研究室

主任研究員 関 原明 (Ph.D.)



### (0) 研究分野

分科会: 生物

キーワード: エピゲノム制御、ヒストン修飾、ヒストンバリエント、非翻訳型RNA、植物

### (1) 研究背景と研究目標

当研究室は、エピゲノム制御ネットワークの解明に基づいた植物生命現象の理解を目指して研究を進めています。ヒストンの翻訳後修飾および非翻訳型RNAは、遺伝子の発現制御やクロマチンの構造変化・安定性などに重要な役割を担っています。モデル植物を用いてこれらの分子機構を明らかにして、植物の生長制御、環境適応など様々な生命機能における役割を理解しようとしています。

### (2) 2022年度成果と今後の研究計画(中長期計画2025年度まで)

#### 1. ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) を介したストレス応答機構の解析

ヒストン (非ヒストンタンパク質も含む) のアセチル化修飾はヒストンアセチル基転移酵素 (HAT) とHDACの2つの酵素活性のバランスにより調節されている。これら2つの酵素活性により調節されるアセチル化レベルは、遺伝子発現制御に深く関与し、環境ストレス応答の決定因子の一つであることが知られている。我々は、クラスIに分類されるHDA19とクラスII HDACの4重変異体が、塩や乾燥ストレスに対して、それぞれが耐性と感受性の表現型を示すことをすでに明らかにしている。このクラス間で相反するストレス応答制御を可能とする分子機構の解明を進めている。

今年度は、国際共同研究により進めているHDA19と変異体とクラスII HDACの4重変異体のアセチローム解析のうち (ドイツ ミュンスター大学 Iris Finkemeier教授との共同研究)、HDA19によりアセチル化レベルが調節されていると考えられる基質候補について解析を進めた。今年度の解析から、これまでの知見に反し、HDA19は非ヒストンタンパク質の脱アセチル化調節を介し、塩ストレス応答を制御する可能性が示唆された。今後は、アセチローム解析によりHDA19の基質と考えられている複数ある候補タンパク質についての機能解析を進め、HDA19が媒介する塩、高温、乾燥等の環境ストレス応答機構の解明を目指す。クラスII HDACについても同様の解析を進める。

乾燥ストレス応答制御においては、当研究室にてHDA6がジャスモン酸シグナルを介して乾燥ストレス応答を調節していることを明らかにしている。ジャスモン酸アナログであるMeJA処理しジャスモン酸シグナルを活性化させた条件で、HDA6がその修飾レベルの調節に関わるとされているヒストンH4アセチル化とヒストン H3K27トリメチル修飾のゲノムワイドな変動を解析した。この解析から、HDA6がヒストン修飾を介し、ジャスモン酸シグナルと協調してストレス応答遺伝子の発現調節を行っていることを明らかにした(Vincent et al., 2022)。

今後は、HDACの基質同定と機能解析の他、HDACの活性調節可能な化合物を対象とした有用化合物探索を進め、環境ストレス応答や植物の生長を化合物によって操作する技術の開発を目指すと共に、有用化合物の作用機構の詳細についても解明を進める。

#### 2. ヒストンアセチル化修飾のゲノム編集酵素TALENを用いたゲノム切断効率の評価

これまでにヒストンH2Bアセチル化によるヒストン-DNA間の結合度への影響について、ヌクレオソーム再構成系を用いて解析してきた。タンパク質と結合していないDNAを優先的に切断する性質があるmicrococcus nuclease: MNaseを用いた解析で、ヒストンH2Bにアセチル化を導入したヌクレオソームにおいて、ヒストン-DNA間の結合度が低下していることを見出した(Ueda et al., in preparation)。本年度は、MNaseによる非特異的なDNA切断ではなく、特定の配列を切断できるゲノム編集酵素の一つであるTALENを用いてヌクレオソーム上DNAの切断効率を測定したところ、予想に反し、ヒストンH2Bにアセチル化を導入したヌクレオソームで

は、DNA切断効率の低下が見られた（広島大学 佐久間哲史先生との共同研究）。これはアセチル化修飾が切断酵素活性に影響を及ぼし得ることを示しており、アセチル化修飾がゲノム編集効率を決定する因子の一つであることを示唆している。

今後は、他のヒストンでも同様の解析を進め、ゲノム編集効率に影響のあるヒストンアセチル化修飾を精査する計画である。

### 3. 病害応答に関わるエピゲノム制御因子の同定と機能解析

シロイヌナズナのヒストン脱アセチル化修飾酵素の一つであるHDA6が、被食者の匂いに応答した植物の防御反応や乾燥ストレス応答制御をどのように調節するのか、その作用機序を解明した。

植物の防御反応においては、食害を受けた近隣の植物から放出される匂い物質である揮発性有機化合物(VOC)の一種であるβ-オシメンをシロイヌナズナに曝露させると、ストレス応答に関わる転写因子であるERF8およびERF104転写レベルが増加することが知られている。これらの転写因子の発現制御にHDA6が関わることを明らかにした。また、この解析ではこれらの転写因子の発現調節に、複数のアセチル化転移酵素（HAC1、HAC5、HAM1）が関わることも明らかにした（Onosato et al., 2022）。

### 3. 中長期計画

上記の研究以外にも、ヒストン修飾酵素、ヒストンバリエント、機能性RNAを対象として、植物の生殖等を含む他の生活環における新規エピゲノム制御ネットワークの解明を目指していく。特に、未だ謎の多い、アセチル化とメチル化等の制御が拮抗する化学修飾や、同一の化学修飾でもヒストンバリエント（H2BとH3）を使い分けることで緻密に最適化しているとされる遺伝子発現制御機構の実態解明をヌクレオソーム再構成系など新技術の取得を進めながら、進めていく。

### (3) 研究室メンバー

(2022年度)

(主任研究員)

関原明

(研究員)

上田実

(テクニカルスタッフ)

石田順子、高橋聡史、田中真帆

### (4) 発表論文等

1. Onosato, H., Fujimoto, G., Higami, T., Sakamoto, T., Yamada, A., Suzuki, T., Ozawa, R., Matsunaga, S., **Seki, M.**, Ueda, M., Sako, K., Galis, I., Arimura, G.I. (2022) Sustained defense response via volatile signaling and its epigenetic transcriptional regulation. **Plant Physiol** 189(2):922-933
2. Vincent, S., Kim, J.M., Pérez-Salamó, I., To, T.K., Torii, C., Ishida, J., Tanaka, M., Endo, T.A., Bhat, P., Devlin, P., **Seki, M.**, and Devoto, A. (2022) Jasmonates and histone deacetylase 6 activate Arabidopsis genome-wide histone acetylation and methylation during the early acute stress response. **BMC Biol.** 20: 83.

Laboratory Homepage

[https://www.riken.jp/research/labs/chief/plant\\_epigen\\_reg/index.html](https://www.riken.jp/research/labs/chief/plant_epigen_reg/index.html)

<http://pgn.riken.jp/>