

果樹が季節に応答して休眠から目覚めるしくみを解明

—果樹の休眠と発芽におけるヒストン修飾の寄与を解析—

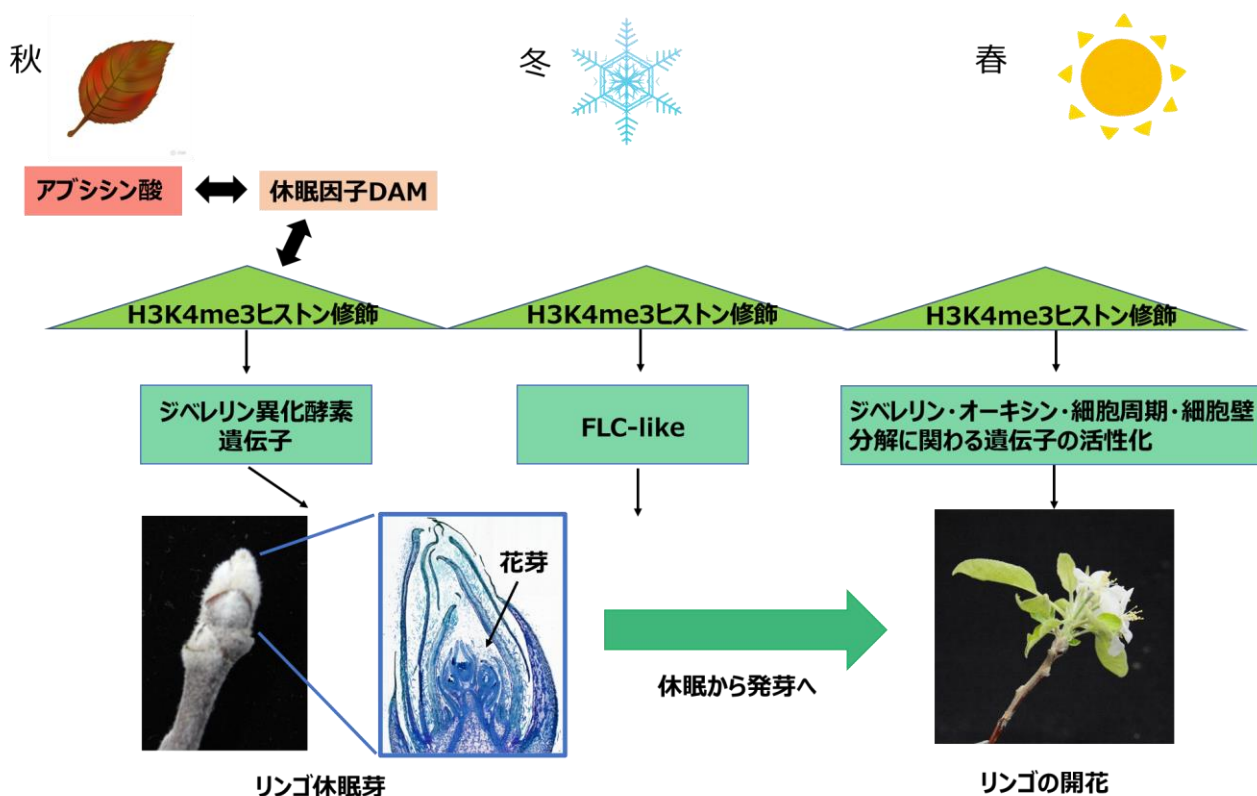
概要

京都大学大学院農学研究科 山根久代 准教授、Wenxing Chen 同博士課程学生（研究当時：華中農業大学大学院交換留学生、現：華中農業大学ポスドク）、松下美和子 同修士課程学生（研究当時）、玉田洋介 宇都宮大学工学部准教授（研究開始時点：基礎生物学研究所・総合研究大学院大学 助教）の研究グループは、主要果樹であるリンゴ花芽の休眠と発芽において、ヒストンタンパク質^{※1}の化学的修飾のひとつである H3K4me3^{※2}が重要な役割を果たしていることを発見しました。

本研究ではクロマチン免疫沈降法^{※3}と次世代シーケンサー^{※4}を組み合わせた技術である ChIP-seq 解析^{※5}と RNA-seq 解析^{※6}を組み合わせ、休眠から発芽における遺伝子発現のグローバルな変化とヒストン修飾レベルの変化を調べました。その結果、すでに発見していた休眠制御因子からなる休眠制御の中心経路に H3K4me3 が寄与することを発見しました。

地球温暖化はすでに果樹の休眠や開花に影響を及ぼしていますが、本研究成果は、このまま地球温暖化が進行したとしてもその環境に適応できる新たな果樹栽培技術の確立や育種につながることを期待されます。

本研究成果は、2022 年 6 月 14 日（現地時刻）に国際学術誌 The Plant Journal にオンライン掲載されました。



リンゴが季節に応答して休眠から発芽・開花へ移行する過程における H3K4me3 ヒストン修飾の寄与の概略図

1. 背景

リンゴなどバラ科に属する温帯落葉果樹は、春に開花する花の元となる花芽を前年夏に分化させたのち、休眠して越冬します。休眠とは、樹木が成長に不適な冬に備え自発的に成長を抑制する防御システムであり、休眠中は花芽の発達が緩やか、あるいは停滞した状態で、発芽・開花が抑えられています。植物が冬に一定量の低温（一般的には 5°C 程度）を経験すると花芽は休眠から目覚め、その後春に適温の環境となることで発芽・開花へとステージが進行していきます。ヒストン修飾によるエピジェネティック制御^{※7}が植物の季節応答に重要な役割を果たしていることは、モデル植物シロイヌナズナの春化^{※8}でよく知られています。春化とよく似た季節応答のしくみである木本植物の休眠と開花におけるヒストン修飾の関与についてもそれを示唆する研究成果は報告されていましたが、どのように関与するのかについては、限られた情報しか得られていませんでした。

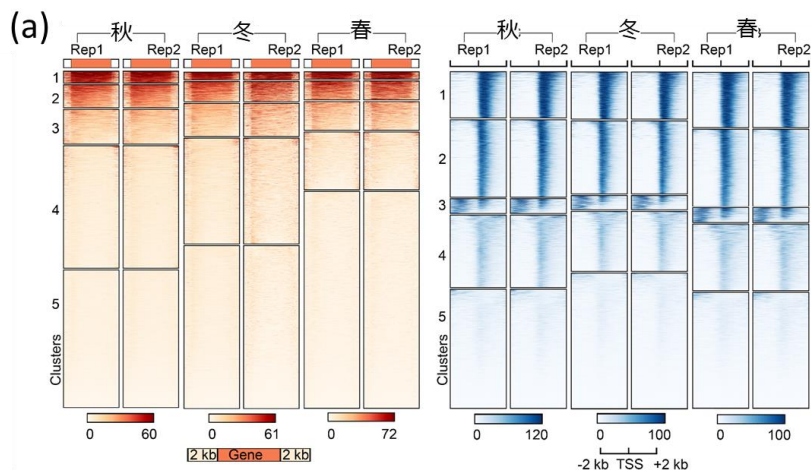
2. 研究手法・成果

研究グループは、遺伝子発現に影響を与える一般的なヒストン修飾である、H3K4me3, H3K27me3^{※2} に対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降法と次世代シーケンサーを組み合わせた技術である ChIP-seq 解析と、RNA-seq 解析をおこない、秋の花芽休眠芽、一定量の低温に遭遇した花芽休眠芽（冬の花芽）、その後適温に遭遇した花芽休眠芽（発芽直前の早春の花芽）の間で比較しました。

その結果、以下 6 点を発見しました。

- ① モデル植物と同様に、リンゴにおいても H3K4me3 と H3K27me3 によるヒストン修飾は、それぞれ遺伝子の転写活性化、転写抑制と関連すること（図 1）。
- ② 休眠（秋）から開花（春）にかけてのグローバルな遺伝子発現変化は、H3K27me3 のレベル変化とは相関しないが、H3K4me3 のレベル変化とは強く相関すること（図 2）。
- ③ これまで報告されていたとおり、休眠の主要な制御因子と考えられている「DORMANCY-ASSOCIATED MADS-box (DAM)」の高発現は H3K4me3 レベル上昇と関連すること。さらに、最近発見した、冬に発現する休眠・発芽制御候補因子「FLOWERING LOCUS C-like (FLC-like)」の高発現にも H3K4me3 が関連すること。
- ④ DAM の標的遺伝子群と今回発見した H3K4me3 ヒストン修飾を受ける遺伝子群は有意にオーバーラップすることから、DAM とアブシシン酸^{※9} からなる休眠制御の中心経路に H3K4me3 が寄与すること。
- ⑤ 春に暖かくなるにつれ、発芽を促進すると考えられている植物ホルモン、細胞周期、細胞壁修飾関連遺伝子の発現が、H3K4me3 レベルの上昇とともに活性化されること。
- ⑥ 冬から春に発現が変動する遺伝子の一部は、秋から冬の H3K4me3 レベル変化が先立つことから、H3K4me3 は“冬の記憶”として春の発芽に寄与する可能性があること。

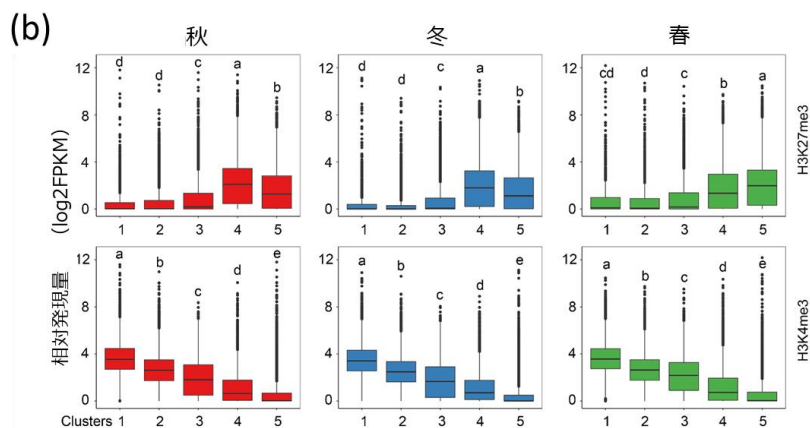
すなわち、秋から春にかけて、果樹が休眠から目覚め開花するという季節応答には、H3K4me3 ヒストン修飾による遺伝子発現制御が寄与することが示されました。



(左) 図1 H3K27me3 は発現の低い遺伝子座に、H3K4me3 は発現の高い遺伝子座に局在した。

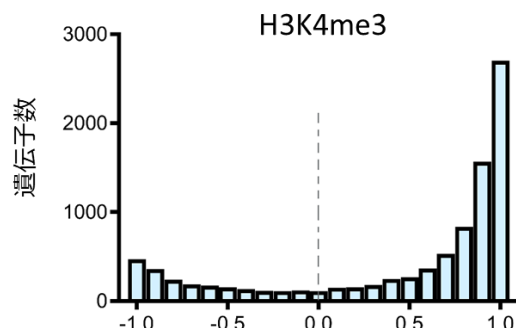
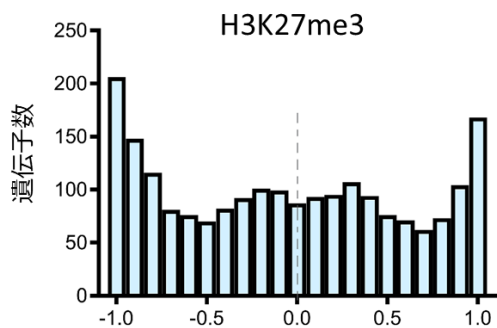
(a) リンゴ全遺伝子座における H3K27me3 (左、橙色) と H3K4me3 (右、藍色) のパターン。Rep1, 2: 生物学的反復。ヒストン修飾のパターンに応じて、全遺伝子を 5 つのグループに分けた。

(b) (a) で得られた各グループにおける遺伝子の発現量 (上段が H3K27me3、下段が H3K4me3)。



(下) 図2 H3K4me3 の変動は遺伝子発現の変動とよく相関した

横軸がステージ間におけるヒストン修飾の変動と遺伝子発現の変動の相関係数、縦軸が遺伝子の数をそれぞれ示す。左が H3K27me3、右が H3K4me3 の結果をそれぞれ示す。



3. 波及効果、今後の予定

本研究成果は、植物の季節応答におけるエピジェネティック制御の役割に関して新たな知見を提供するものです。特に休眠制御因子である DAM の機能については未解明な点が多かったのですが、DAM がヒストン修飾を受けるだけでなく、間接的にヒストン修飾に関与する可能性を示しました。この可能性についてはさらなる検証が必要ですが、樹木の休眠制御においてエピジェネティック制御機構が重要な役割をもつことをさらに支持する発見と考えられます。

温暖化はすでに果樹の休眠や開花に影響を及ぼしていますが、本研究成果は、このまま温暖化が進行したとしてもその環境に適応できる新たな果樹栽培技術の確立や育種につながることを期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

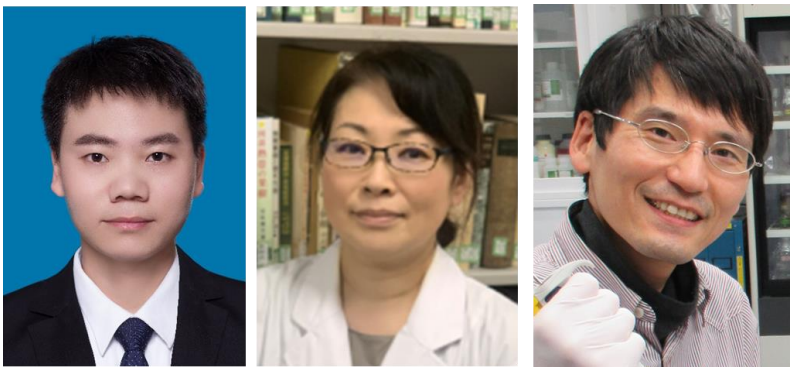
本研究は科学研究費・基盤研究（A）「バラ科果樹の休眠および季節的成長制御における DAM 遺伝子の機能解明（26252005）」、（B）「バラ科果樹の低温要求性マスターレギュレーターの制御経路解明と新規休眠制御技術開発（18H02198）」の支援を受けて実施しました。

<用語解説>

- ※1 **ヒストンタンパク質**：真核生物において DNA と結合してクロマチン（染色質）を構成するタンパク質。化学修飾を受けて遺伝子の転写制御やクロマチンの構造制御などに機能する。
- ※2 **H3K4me3, H3K27me3**：H3K4me3 はヒストン修飾の一種で、ヒストン H3 タンパク質の N 末端から 4 番目のリジン残基のトリメチル化。主に遺伝子の転写開始点近傍に局在し、転写活性化に寄与する。H3K27me3 もヒストン修飾の一種で、ヒストン H3 タンパク質の N 末端から 27 番目のリジン残基のトリメチル化。植物では主に遺伝子転写領域全域に存在し、転写抑制および時期・組織特異的な転写に寄与する。
- ※3 **クロマチン免疫沈降法**：タンパク質に対する抗体を用いて、タンパク質が結合する DNA 断片を得る方法。
- ※4 **次世代シーケンサー**：DNA の塩基配列を高速・大規模に解読する装置。
- ※5 **ChIP-seq 解析**：クロマチン免疫沈降法により得られた DNA 断片の塩基配列を次世代シーケンサーにより決定しデータ解析すること。
- ※6 **RNA-seq 解析**：全転写産物の塩基配列を次世代シーケンサーにより決定しデータ解析すること。
- ※7 **エピジェネティック制御**：DNA の塩基配列変化によらない細胞分裂を通じて安定な遺伝子発現制御機構。
- ※8 **春化**：植物が冬の低温に一定期間さらされることによって花芽の形成が誘導されること。アブラナ科やイネ科植物などの草本植物でよくみられる。
- ※9 **アブシシン酸**：植物ホルモンの一種で、多くの木本植物種において休眠との関連が示されている。

<研究者のコメント>

休眠制御候補転写因子 DAM を発見して以来その役割について研究を進めてきましたが、休眠芽において DAM がヒストン修飾を介して標的遺伝子群の転写制御に関与することを示唆する成果を得ることができました。この考えは仮説の段階で、立証するにはさらなる研究が必要です。果樹生産において開花の人為制御は喫緊の課題ですが、木本植物の休眠と開花に関しての基礎的知見は限られています。今回の発見を礎に、これからも地道に研究を続けていきたいと考えています。（山根久代）



（左より：Chen 研究員、山根准教授、玉田准教授）

<論文タイトルと著者>

タイトル：H3K4me3 plays a key role in establishing permissive chromatin states during bud dormancy and bud break in apple (H3K4me3 ヒストン修飾はリンゴ休眠芽におけるクロマチン状態の確立に重要な役割を果たす)

著 者：Wenxing Chen, Yosuke Tamada, Hisayo Yamane, Miwako Matsushita, Yutaro Osako, Mei Gao-Takai, Zhengrong Luo, Ryutaro Tao

掲 載 誌： *The Plant Journal* DOI : 10.1111/tpj.15868