

【研究背景と内容】

私たちの体で細胞が様々な種類へ分化していく過程では、指令転写因子が DNA に結合して遺伝子発現を制御します。しかしながら、正常な発生過程では、一般に指令転写因子は特定の時期や場所でのみ働き暴走しないと考えられています。これにはゲノム DNA の物理的状態（エピゲノム）が深く関わっており、細胞分化の決定は、指令転写因子とエピゲノムとの協調によって遂行されると考えられています。エピゲノムの制御は、ゲノム上のオープンクロマチン領域^{注6)}と強い相関があり、その動態は、ATAC シークエンス法^{注7)}によって網羅的に解析できます。

植物の気孔は、一对の孔辺細胞が穴を囲んだ構造の細胞装置で、葉など光合成器官の表皮に無数に散在し、植物のガス交換と蒸散を担っています。気孔の発生は、未分化な原表皮細胞から幹細胞（メリステモイド細胞と呼ばれる）状態を経た後、分化状態へと切り替わり、孔辺母細胞が一回だけ対称分裂することにより完成します。この細胞状態の切り替わりは、一連の指令転写因子によって行われます。気孔系譜の誕生と幹細胞の維持は SPEECHLESS (SPCH) という転写因子によって、孔辺母細胞への分化の切り替えは、SPCH の姉妹転写因子である MUTE によって行われます(図 1)。これら転写因子の下流因子は既に知られていたものの、気孔系譜の細胞が幹細胞状態から分化状態へどうやって切り替わるのかは分っていませんでした。

今回、研究グループは、気孔の発生過程における、全ゲノム上のオープンクロマチン領域のゲノム状態の変化（クロマチン・アクセシビリティ）を、INTACT^{注8)}-ATAC シークエンス法を用いて解析しました。その結果、幹細胞状態から分化状態への転換時に、クロマチン・アクセシビリティ部位が大きく変動することが分かりました(図 1)。興味深いことに、幹細胞に特異的なクロマチン・アクセシビリティ部位の大多数(7~8割)に、指令転写因子である SPEECHLESS と MUTE が結合していることも分かりました。

前述したように、SPEECHLESS は気孔系譜の幹細胞の誕生と維持を担い、MUTE は幹細胞を分化させます。一見、相反する姉妹転写因子が、同じオープンクロマチン領域に結合しているのは何故なのでしょう。研究グループは、それを明らかにするため、気孔の幹細胞に特異的なクロマチン・アクセシビリティ部位における転写因子の結合部位 DNA 配列（シス制御領域とも呼ばれる）を抽出したところ、bHLH (E-box) と BPC (GAGA 反復配列) という 2 つの異なる DNA 配列が高い確率で共存することが分かりました。bHLH (E-box) という配列には、SPEECHLESS と MUTE が結合します。一方で、BPC (GAGA 反復配列) には、BPC と呼ばれる転写因子が結合することが分かっています。さらなる解析から、SPEECHLESS は BPC と結合しない一方で、MUTE は BPC と強く結合することが分かりました。BPC は、抑制型のクロマチンを惹起する PRC2^{注9)}（ヒストンに抑制型の印をつける酵素）を、ゲノム上に連れてくることが知られています。実際に、気孔の幹細胞状態から分化への決定時に、MUTE と BPC が一緒に SPEECHLESS 遺伝子の DNA に結合し、BPC が PRC2 を介して SPEECHLESS 遺伝子周辺のクロマチン構造を抑制型にしてしまうことにより、

物理的に幹細胞状態の遺伝子発現が起こらないようにして、分化状態へと転換させることが分かりました（図2）。

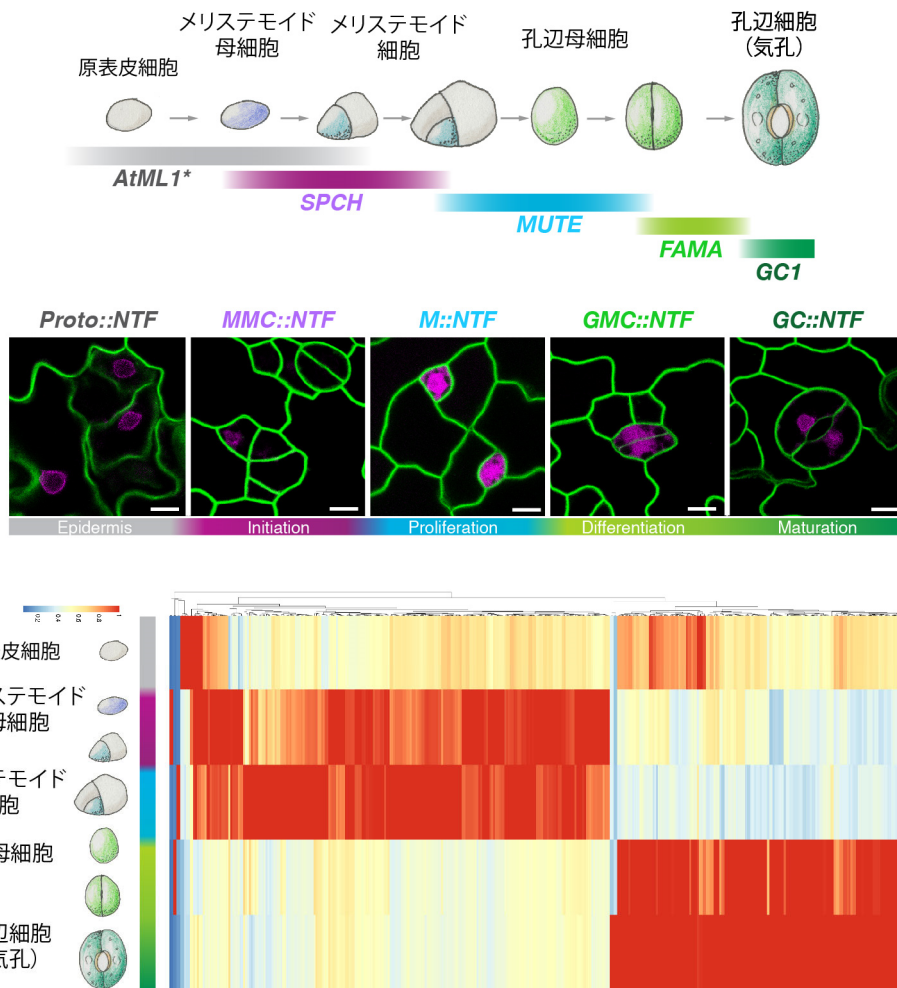


図1：INTACT ATAC シーケンス法による気孔の発生過程におけるクロマチンアクセシビリティ領域の解析
 (上) 原表皮細胞から孔辺細胞（気孔）ができるまでの発生過程と段階的に働く指令転写因子
 (中) INTACT ATAC シーケンス法で赤色蛍光タンパク質標識された気孔系譜の細胞の核
 (下) 気孔の発生過程でダイナミックに変動するクロマチンアクセシビリティサイトのヒートマップ

【成果の意義】

気孔の細胞が発生していく過程では、最初に *SPEECLESS*、次に *MUTE* と指令転写因子が順番に、かつ多くはゲノム DNA 上の同じ部位に結合することが分かっています。本研究から、一見、*SPEECLESS* と *MUTE* は同じように結合している姉妹の指令転写因子ですが、*MUTE* は BPC (GAGA 反復配列) という DNA 領域に結合する BPC 転写因子と結合することにより、ゲノム状態を物理的に変化させ幹細胞から分化へと切り換えることが分かりました。本研究成果は、指令転写因子が現存するエピゲノム（クロマチン状態）を利用し、かつ能動的に変化させることが細胞分化の鍵と

なることを明確に示しています。動物の筋肉や神経など重要な細胞の分化も、SPEECLESS や MUTE と同じタイプの指令転写因子が担っています。そのため、それらの仕組みの相違点を追求することにより、動植物を超えた発生原理に迫ることができるかと期待されます。

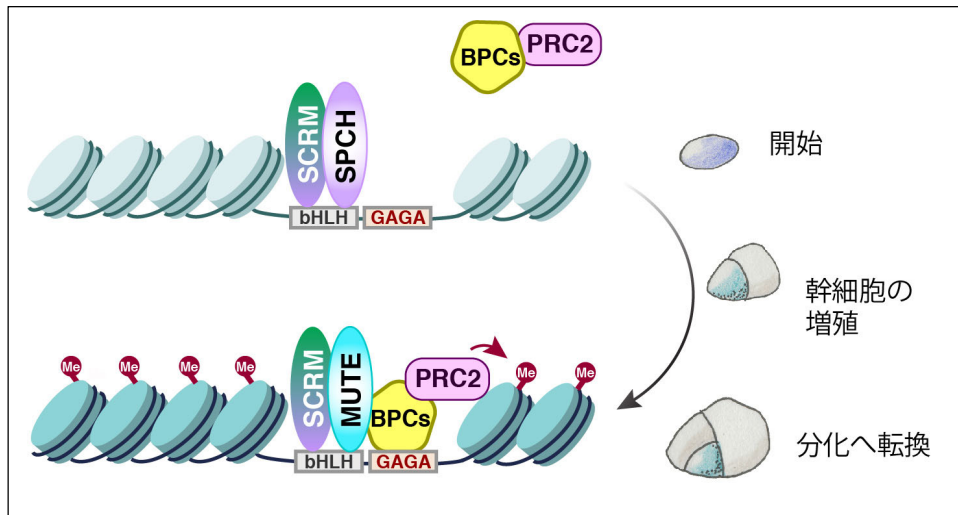


図 2 : 気孔の発生過程において、異なる 2 つの DNA 配列（シス因子）と転写因子（トランス因子）によってゲノム状態が物理的に変化し幹細胞が分化する模式図。

本研究は、平成 29 年度から始まった文部科学省新学術領域研究「植物多能性幹細胞」および名古屋大学高等研究院 Young Leaders Cultivation プログラムの支援のもとで行われたものです。

【用語説明】

注 1) MUTE :

気孔の分化を指令する転写因子のひとつで孔辺母細胞への分化を促す。

注 2) BPC (BASIC PENTACYSTEINE) 転写因子 :

植物に特異的な転写因子であり、ゲノム DNA 上の GAGA の反復配列に結合することが知られている。他グループによる先行研究から、BPC 転写因子は PRC2 と結合することが報告されている（注 9 を参照 : Xiao et al. 2017 Nature Genetics 49: 1546–1552）。

注 3) クロマチン :

真核生物の DNA は、ヒストンという 8 量体のタンパク質に巻き付いた構造をとっており、それらを基本単位とするゲノム DNA とタンパク質の高次複合体のこと。

注4) クロマチン・アクセシビリティ :

クロマチンの構造が凝集した状態では、DNA は読み取りにくく、遺伝子が転写されにくい。一方、クロマチン構造が緩んだ状態では、DNAを読み取ることができ、遺伝子が転写されやすい。このクロマチンの緩み具合、つまり転写のされやすさを表す指標。

注5) ヒストン修飾因子 :

ヒストンの状態を化学的に変化させる酵素のこと。DNA はヒストンに巻きついているが、ヒストンが修飾を受けると DNA の巻き付き状態が変化し、遺伝子発現が変化する。

注6) オープンクロマチン領域 :

ゲノム DNA のうち DNA がヒストンに巻き付かず裸になっている領域で、転写因子などが結合している可能性の高い部位のこと。

注7) ATAC シークエンス法 (アタックシークエンス法) :

アタックシークエンス法とは、ゲノムワイドでオープンクロマチン領域を選択的に検出・シーケンスすることによって、クロマチンへのアクセシビリティをマッピングすることができる方法。トランスポゼース (Tn5) を用いてオープンクロマチン領域を断片化し、同時にタグを付加して次世代シーケンスライブラリーを構築して解析を行う。

注8) INTACT 法 :

特定の細胞の核のみを標識し迅速に単離する方法。具体的には、特定の細胞 (ここでは気孔系譜の各ステップにある細胞) の核マトリクスタンパク質を、ビオチン認識ペプチドと蛍光タンパク質 (この論文では赤色蛍光タンパク質 RFP) で標識し、ワンステップのアフィニティー精製により核を単離する。

注9) PRC2 (Polycomb Repressive Complex2) :

動植物を含めて広く真核生物に保存されているタンパク質複合体で、ヒストン修飾酵素として働く。具体的には、H3K27 部位をメチル化することにより、クロマチンを抑制する。

【論文情報】

雑誌名 : Nature Plants

論文タイトル : Dynamic chromatin accessibility deploys heterotypic cis/trans acting factors driving stomatal cell fate commitment

著者 : Eun-Deok Kim, Michael W. Dorrity, Bridget A. Fitzgerald, Hyemin Seo, Krishna Mohan Sepuru, Christine Queitsch, Nobutaka Mitsuda, Soon-Ki Han, Keiko U. Torii (下線、名古屋大所属)

DOI : 10.1038/s41477-022-01304-w

URL : <https://www.nature.com/articles/s41477-022-01304-w>

※【WPI-ITbM について】 (<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp>)

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) は、2012 年に文部科学省の世界トップレベル研究拠点プログラム (WPI) の 1 つとして採択されました。ITbM では、精緻にデザインされた機能をもつ分子 (化合物) を用いて、これまで明らかにされていなかった生命機能の解明を目指すと共に、化学者と生物学者が隣り合わせになって融合研究を行うミックス・ラボ、ミックス・オフィスで化学と生物学の融合領域研究を展開しています。「ミックス」をキーワードに、人々の思考、生活、行動を劇的に変えるトランスフォーマティブ分子の発見と開発を行い、社会が直面する環境問題、食料問題、医療技術の発展といったさまざまな課題に取り組んでいます。これまで 10 年間の取り組みが高く評価され、世界トップレベルの極めて高い研究水準と優れた研究環境にある研究拠点「WPI アカデミー」のメンバーに認定されました。