

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 27日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23657138

研究課題名（和文） *kai* 時計遺伝子に依存しないバクテリアの新規転写振動の発生機構と生理機能研究課題名（英文） Mechanism of transcriptional rhythms independent of the *kai* clock genes in cyanobacteria.

研究代表者

岩崎 秀雄 (IWASAKI HIDEO)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：00324393

研究成果の概要（和文）：

*kai* 遺伝子欠損株においても *klo* と名付けた少数の遺伝子群では、不安定な転写振動リズムが観察される。これらの発現に影響を与える複数の遺伝子座を同定した。野生株に置いては *klo* 遺伝子群は顕著な転写リズムを示さない。いっぽう、今回見出した複数の遺伝子座の多重変異体では、顕著に *klo* 遺伝子群の発現が活性化され、また転写振動も回復していた。この変異体では、ゲノムワイドな *kai* 依存性の転写振動の多くにも少なからぬ影響が見られた。

研究成果の概要（英文）：

We identified triple mutations in specific set of transcriptional regulators affect dramatically the expression of *kai-less-oscillating* (*klo*) genes in *Synechococcus*. In the wild type strain, the *klo* genes did not show evident circadian cycles, while in the multiple mutant strains, they expressed in a circadian fashion.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

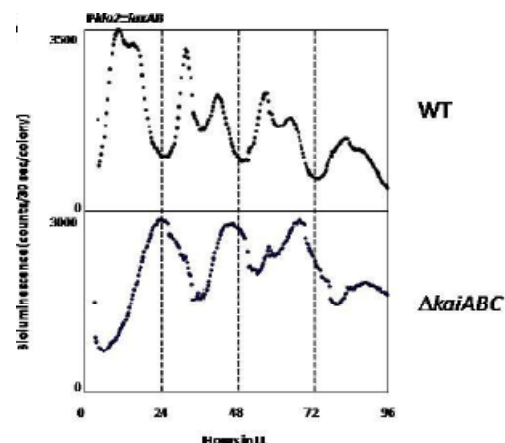
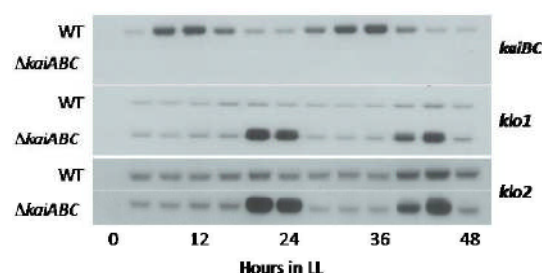
研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：細胞構造・機能

## 1. 研究開始当初の背景

シアノバクテリアの概日振動システムに関し、2009年にプレリミナリーなデータを発表した *kai* 遺伝子破壊株における一部の遺伝子



群 (*kai-less oscillating [klo]* 遺伝子群) の不安定な転写振動 (Ito et al., PNAS) を見いだしていた (図左: ノーザン解析, 図右 生物発光レポーターを用いたプロモーター解析)。これは、従来の解析の前提となってきた「シアノバクテリアの概日振動は Kai 蛋白質の構成する振動子に由来する」というドグマから逸脱している。すなわち、バクテリアにおける何らかの複振動体制御仮説を提案するものである。

## 2. 研究の目的

これらの転写振動の安定性や分子機構を解析することを目的とした。

## 3. 研究の方法

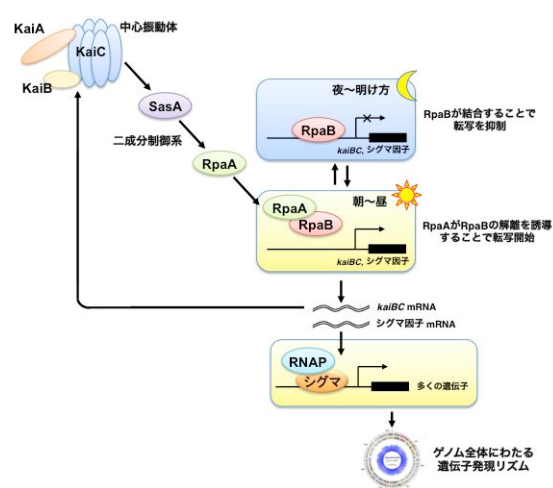
*klo* 遺伝子群の転写パターンに影響を与える遺伝子群の探索を行うとともに、その前提として、*kai* 遺伝子群の発現に関する分子遺伝学的・生化学的解析を行った。

## 4. 研究成果

分子遺伝学的解析から、これらの遺伝子発現に大きく影響を与える複数の遺伝子座を同定した。そのいくつかは転写に強い影響を及ぼすことが期待される蛋白質群をコードしていた。

興味深いことに *klo* 遺伝子群の発現は、野生株では比較的 low レベルかつ転写振動も低振幅であるが、*kai* 遺伝子破壊株においては、培養条件依存的に若干短周期の転写振動を示す。これに対して、今回見出した複数の遺伝子座の多重変異体では、顕著に *klo* 遺伝子群の発現が活性化され、また転写振動も回復していた。この変異体では、ゲノムワイドな *kai* 依存性の転写振動の多くにも少なからぬ影響が見られた。これらのことから、「*kai* 遺伝子群はこれらの制御遺伝子の機能の一部を培養条件依存的に抑制し、通常は *klo* 遺伝子群の発現を抑制しているが、*kai* 遺伝子群が欠損した場合には発現抑制が解除され、*klo* 遺伝子群の転写誘導が起こる」という可能性が示唆された。

また、本研究課題に強く関連する解析として、*kai* 遺伝子群の転写翻訳リズムに大きな影響をもたらす、新たな二成分制御系レスポンスレギュレーター、RpaB 蛋白質を同定した (千葉大・華岡准教授らとの共同研究)。既に当グループが見出していた *kai* 遺伝子発現の正の制御因子 RpaA は、単独では *kai* 遺伝子のプロモーターに結合できず、RpaB 蛋白質とおそらくヘテロダイマーを形成することで協調的に *kaiBC* オペロンや *rpoD6* などの高振幅遺伝子群の発現を調整していることを明らかにした。



## RpaA と RpaB による概日時計に依存した協調的な転写調節のモデル

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件: すべて査読あり)

1. Kushige, H., Kugenuma, H., Matsuoka, M., Ehira, S., Ohmori, M., Iwasaki, H. (2013) "Genome-wide and heterocyst-specific circadian gene expression in the filamentous cyanobacterium, *Anabaena* sp. PCC 7120." *J. Bacteriol.* 195: 1276-1284  
10.1128/JB.02067-12
2. M. Hanaoka\*, N. Takai, N. Hosokawa, M. Fujiwara, Y. Akimoto, N. Kobori, H. Iwasaki, T. Kondo, K. Tanaka (2012) "RpaB, another response regulator operating circadian clock-dependent transcriptional regulation in *Synechococcus elongatus* PCC 7942." *J. Biol. Chem.* 287: 26321-26327  
10.1074/jbc.M111.338251
3. Hosokawa, Hatakeyama, Kojima, Kikuchi, Ito, Iwasaki (2011) "Circadian transcriptional regulation by the posttranslational oscillator without de novo clock gene expression in *Synechococcus*." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108:15396-15401  
10.1073/pnas.1019612108

〔学会発表〕(計9件)

1.  
岩崎秀雄  
「シアノバクテリアのコロニーパターン形成ダイナミクス」  
遺伝研シンポジウム(単細胞システムの構築とその維持機構の研究)(招待講演)  
2013年03月28日～2013年03月29日  
遺伝学研究所
2.  
梅谷実樹, 細川徳宗, 岩崎秀雄  
「KaiC リン酸化振動を伴わないゲノムワイドな転写振動の解析」  
日本ゲノム微生物学会  
2013年03月08日～2013年03月10日  
長浜バイオ大学
3.  
櫛笥博子, 久下沼秀之, 松岡正城, 得平茂樹, 大森正之, 岩崎秀雄  
「多細胞性シアノバクテリア Anabaena のヘテロシストにおける概日遺伝子発現制御」  
日本ゲノム微生物学会  
2013年03月08日～2013年03月10日  
長浜バイオ大学
4.  
高野壮太郎, 園池公毅, 岩崎秀雄  
「シアノバクテリアの暗期での大規模な転写抑制は光合成の停止によって引き起こされるのか」  
日本ゲノム微生物学会  
2013年03月08日～2013年03月10日  
長浜バイオ大学
5.  
岩崎秀雄  
「シアノバクテリアの概日転写制御」  
第19回日本時間生物学会(招待講演)  
2012年08月15日～2012年08月16日  
北海道大学
6.  
梅谷実樹, 細川徳宗, 北山陽子, 岩崎秀雄  
「シアノバクテリアの KaiC リン酸化振動停止時の転写振動」  
第19回日本時間生物学会(招待講演)  
2012年08月15日～2012年08月16日  
北海道大学
7.  
高野壮太郎, 細川徳宗, 梅谷実樹, 小島寛、

岩崎秀雄  
「単細胞性シアノバクテリアのゲノムワイドな概日発現に対する高振幅シグマ因子の影響」  
第19回日本時間生物学会(招待講演)  
2012年08月15日～2012年08月16日  
北海道大学

8.  
梅谷実樹, 細川 徳宗, 岩崎秀雄  
「KaiC リン酸化振動を伴わない単細胞性シアノバクテリアの転写振動の解析」  
日本植物生理学会  
2012年03月16日  
京都産業大学

9.  
岩崎秀雄  
「シアノバクテリアのゲノムワイドな概日発現リズムの振動機構の解明」(受賞講演)  
日本ゲノム微生物学会(招待講演)  
2011年08月19日  
東北大学

〔図書〕(計1件)  
岩崎秀雄(2013)  
『<生命>とは何だろうか: 表現する生物学、思考する芸術』  
(講談社現代新書)

〔産業財産権〕  
○出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

<http://www.f.waseda.jp/hideo-iwasaki>

6. 研究組織

(1)研究代表者

岩崎秀雄 (IWASAKI HIDEO)  
早稲田大学・理工学術院・教授  
研究者番号：00324393

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし