

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 12 月 21 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24380046

研究課題名(和文)微生物型二成分情報伝達機構の集大成

研究課題名(英文)Two-component system

研究代表者

水野 猛(Mizuno, Takeshi)

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：10174038

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：二成制御系(Two-Component System：TCS系と略)は進化的に保存された普遍的な環境応答分子機構である。二十数年前に、我々は大腸菌浸透圧センサーEnvZ/Hisキナーゼによる転写因子OmpRリン酸化を介した浸透圧応答TCS系を初めて見いだした。以来、原核微生物、真核微生物、高等植物など幅広い生物を対象としたTCS系に関する総合的研究を展開してきた。これらを踏まえ本研究課題では、TCS系に関する知識基盤の集大成を目指した研究を行った。特に、モデル植物シロイヌナズナの概日時計に焦点を当てて解析を行った。

研究成果の概要(英文)：The so-called two-component system (TCS) is a paradigm of signal transduction. As has been well established in prokaryotes, the central to TCS is a histidine protein kinase (HK), which serves as a sensor (or receptor) for a certain environmental stimulus (e.g., EnvZ), and a HK phosphorylates its cognates response regulator (RR) (e.g., OmpR). To clarify the importance of TCS, here we focused on the circadian clock in the model plant, *Arabidopsis thaliana*.

研究分野：分子生物学

キーワード：二成分制御系 シロイヌナズナ 概日時計

## 1. 研究開始当初の背景

二成分情報伝達(TCS)系は進化的に保存され、全ての原核生物(バクテリア・古細菌)の環境応答機構に活用されているのみならず、酵母・カビなどの真核微生物にも広く認められる。言い換えれば、TCS系は微生物に見られる最も普遍的で多様化した環境シグナル検知・細胞内情報伝達機構である。

TCS系は今から20年以上前に大腸菌の環境応答機構として発見された。申請者は、大腸菌浸透圧応答TCS系を見出して分子機構を明らかにすることでTCS系基本機構の確立に貢献した。その後ゲノム時代が到来し、枯草菌やシアノバクテリアなどのバクテリアゲノム配列が決定され、TCS系がバクテリアの主要な情報伝達機構であることが明らかになり、TCS系はより普遍的に体系化された。我々は各種微生物に関してゲノムワイドTCS系研究を展開することでこの流れに貢献した。時を同じくして酵母などの真核微生物の情報伝達機構にもTCS系が用いられていることが明らかになり、その普遍性と多様性は一層確かなものとなった。我々も分裂酵母を対象にしたTCS系研究を展開してこの流れに貢献した。さらに、TCS系は高等植物にも進化的により洗練された情報伝達系として保存されていることが明らかになっている。我々は高等植物TCS系に関するブレークスルーにも先導的な役割を果たした。

従って、TCS系の包括的理解は環境応答機構や遺伝子発現制御機構といった基礎生物学の基本命題としての重要性のみならず、TCS系に着目した応用生物学を進展させるための基盤研究としての重要性は明らかである。我々は、「大腸菌 光合成細菌 根粒菌 分裂酵母 糸状菌 高等植物」と一貫してTCS系の普遍性・多様性に関する研究を展開してきた。こうした申請者らの総合的TCS系研究は、現在では高等植物のホルモン応答・光情報伝達・植物生物時計機構・根粒形成機構の研究にまで広がりがつつある。

## 2. 研究の目的

微生物型情報伝達機構・二成分制御系(Two-Component System: TCS系と略)は進化的に保存された普遍的な環境応答分子機構である。二十数年前に、申請者は大腸菌浸透圧センサーEnvZ/Hisキナーゼによる転写因子OmpRリン酸化を介した浸透圧応答TCS系を初めて見いだした。以来、原核微生物、真核微生物、高等植物など幅広い生物を対象としたTCS系に関する総合的研究を展開してきた。本研究では、TCS系に関する知識基盤の集大成を目指した研究を行った。TCS系に関して今までの蓄積を拡張した包括的研究を展開し、基礎・応用生命科学の観点からその普遍性と多様性を明らかにした。特に、モデル植物シロイヌナズナの概日時計の生理機能に関して大きな進展が見られたので、その成果を中心に報告する。

## 3. 研究の方法

### 3-1: ナズナにおける TCS 系を介した成長ホルモン・サイトカイニン応答の包括的解析

ナズナにおけるサイトカイニン応答性遺伝子発現ネットワークを包括的に理解するために、既に全遺伝子セット DNA アレイを用いたトランスクリプトーム解析を完了している。これを基盤に、候補遺伝子群に関して包括的な機能解析を分子遺伝学的に行うことでサイトカイニンを介して統御される植物高次機能の実体を総合的に把握する。特に、組織・器官分化に焦点をあてる

### 3-2: ナズナにおける TCS 系関連因子と時計機構の分子遺伝学的解析

高等植物における TCS 系の最も特徴的な点は「光シグナル伝達と時計機構」に TCS 系が進化的に洗練されたかたちで組み込まれている点である。既に申請者らはその遺伝的実体を明らかにしている。そこで、これら植物に固有の時計関連 TCS 系の解析を行う。

### 3-3: ミヤコグサを対象とした TCS 系の機能解析

サイトカイニン情報伝達系概日時計機構に関してシロイヌナズナで得られた知識基盤をもとに、ゲノム情報が完備している 遺伝子欠損変異株のバンクが利用できる マメ科植物であり根粒形成能をもつ、など優れたモデル植物であるもミヤコグサを対象に選び、TCS 系の高等植物における普遍性と多様性を解析する。

## 4. 研究成果 (Results of this study)

はじめに

植物が「太陽電池で動くカレンダー付き電波時計」を持っていたら便利であろう。24時間周期で自転し、365日周期で太陽のまわりを公転する地球上に暮らす我々にとって時計やカレンダーは必須ではないが何かと便利である。見たところ植物が「カレンダー付き時計」を持っているようには見えない。しかし昔から人類は「植物はカレンダー付き時計らしき物を持っている」と考えてきた。24時間周期の葉の上下運動は植物が一日を刻む時計を持っていることを暗示している。季節ごとの日の長さ(日長: photoperiod)の変化を感知して花芽を形成することは植物がカレンダーを持っていることを暗示している(光周性, photoperiodism)。20世紀初頭から植物を対象とした実証的時計研究が積み重ねられ、今日ではシロイヌナズナを用いた研究からその実体が明らかになってきている。植物を24時間の明暗周期(light/dark cycles)で育てた後に恒明(constant light)、あるいは恒暗(constant dark)条件下に移した後も約24時間周期の概日リズム(circadian rhythm)が継続(free-running)する生理現象が数多く見られる(Graphical Abstractを参照)。この約24時間周期の振動を駆動している自立的で内在的な中心振動体(central oscillator)が概日時計の本体である。植物を恒明条件下で24時間周期の高温/低温サイクルで育てた後に温度を一定にしても同様の約24時間周期の自立的リズムが継続する。すなわち温度サイクルは光サイクルと同様に時計を駆動することができる(temperature entrainment)。このことは植物の中心振動体は「光

シグナル」に加え「温度シグナル」も敏感に受容できることを示している。しかし移した後の環境温度には他の化学反応と比べ鈍感であり、約 24 時間のリズムの周期性にはあまり影響を及ぼさない（温度補償性, temperature compensation）。このように温度に対して中心振動体は矛盾した奇妙な振る舞いをするが、これら問題は永くこの分野の課題となっている。しかしここでは植物の概日時計研究の歴史を俯瞰したり、研究の最前線をまとめたりすることが目的ではない（優れた最近の総説を参照）。（ここでは季節により変動する「光シグナル」と「温度シグナル」が中心振動体を構成するなどの遺伝子産物に入り、その入力に「カレンダー付き時計」としてどのような役割を果たしているかに焦点を当てた我々の最近の研究を紹介する。加えて我々の研究結果の意味するところを「日本の伝統的な和時計」と比較しながら考察したい。

#### 転写ネットワークとしての中心振動体

まず中心振動体の実体に関して現時点での理解について簡単に述べる。シロイヌナズナを用いた研究から現在では中心振動体を構成する時計関連遺伝子が数多く同定されている。朝方遺伝子としては *CCA1* とそのホモログである *LHY* が同定されており、Myb 型転写因子をコードしている。昼間に発現する遺伝子としては *PRR9* と *PRR7* が知られており、夕方遺伝子である *PRR5* や *TOC1* (またの名を *PRR1*) と *PRR* 遺伝子ファミリーを形成している。*PRRs* もまた転写抑制因子をコードしている。夕方遺伝子としては他に *GI*, *LUX*, *ELF3*, *ELF4* が同定されている。*GI* は *TOC1* タンパク質の分解に関わっており、*LUX*, *ELF3*, *ELF4* タンパク質は EC (Evening Complex) と呼ばれる複合体を形成して夜に働く転写抑制因子 (Nighttime Repressor) として機能している。これらの遺伝子が形成する転写ネットワークに関しても一般的理解が得られている。「多重転写フィードバックループモデル」と呼ばれるものであり、*CCA1/LHY* と *TOC1* がコアループを形成し、*CCA1/LHY* が *PRR9/7/5* と朝方ループ (赤のループ) を、*TOC1* が EC と夕方ループ (青のループ) を形成する転写ネットワークである。同じ転写ネットワークの別の見方として、「三つ巴転写制御モデル」があり、*CCA1/LHY*, *PRR9/7/5*, EC が「ジャンケン」のように「抑制的に三つ巴の争い」をしており、*TOC1* が「審判役」として働いている転写ネットワークである。両者とも同じ転写ネットワークに帰着するが、後者の方が 24 時間を通した波動的な転写リズムの出現を直感的に理解しやすい。このように時計遺伝子の多くは転写抑制因子をコードしているが、転写促進因子として働くと考えられる *RVE* や *LNK* と総称されるファミリー因子も報告されている。この他にも多くの概日時計関連遺伝子が報告されているが、本稿の主題ではないので割愛する。

#### 自然界における日長と気温の変動

本稿の主題は、「日長と気温の季節変化に中心振動体がどのように応答するか？」である。それを考える上で、まず自然界 (名古屋) における季節変化を見てみよう。これは気象台から公表されている日長と最低温度の変化を月ごとに平均した 2014 年度のデータである及び、シロイヌナズナの生育

には適さない真冬を除けば、当然ながら夏至までは日長と気温がともに上昇する (季節-I)。1ヶ月に60分以上も日が長くなるし、6°Cも気温が上昇する。夏の暑さを過ぎると日長・気温ともに減少に転じる (季節-II)。その間しばらく日長は減少し気温は上昇する「ねじれ現象」が起きるがその変動巾は小さい。従って中心振動体は主に季節-Iと-IIにおける著しい環境変化に対応する必要があると考えられる。

中心振動体はどのようにして日長を測定するのだろうか？ 日々の日照時間は天候に大きく左右されて当てにできないことが分かる。この問題は20世紀の初頭に Bünning 等により提起された古くて新しい問題である。彼らは内在性の概日リズムと外部環境としての光シグナルの位相性の一致を考慮した“外的符合モデル (external coincidence model)”なるものを提唱した。しかし、その分子機構の実体は永らく不明のまま残されている。中心振動体はどのようにして気温の変化を検知するのだろうか？ おそらく1ヶ月ごとの変化がより顕著な夜の温度変化を検知すると予想される (赤の直線 (昼間の平均温度の変化) と緑の直線 (夜の平均温度の変化) を比較)。しかしここでも深刻な問題がある。季節-I及びIIの間に関して月平均にすれば気温はスムーズに上昇および下降するように見えるが、1日単位で見ると大きく乱高下することが見てとれる。中心振動体が安定した概日リズムを刻むためには、このような短い周期の温度変動を無視する必要があることが想像される。温度変化に長期的には敏感で、かつ短期的には鈍感な矛盾した性質はどのように生まれるのだろうか？ 中心振動体を構成するどの因子から光シグナルや温度シグナルが入力されるのか？ 我々の最近の一連の研究から、こうした疑問への答えが得られつつあるので紹介する。先に結論を言えば、季節ごとに変動する「日長と気温」は EC 転写抑制複合体 (EC nighttime repressor) により統合されて感知されると考えられる。言い換えれば、上で指摘した多くの問題点を EC 転写抑制複合体が解決していると言える。

#### EC 転写抑制複合体と中心振動体の季節変化への適応

まず我々の最近の研究から得られた結果を箇条書きにする。(1) 夜に働く EC 転写抑制複合体は *LNK1*, *GI*, *PRR9*, *PRR7* のプロモーター近傍に直接結合することで転写を抑制する。(2) 夜に高温シフト (例えば 22°C から 28°C にシフト) すると EC 転写抑制複合体の活性が抑えられ、結果として *LNK1*, *GI*, *PRR9*, *PRR7* の転写が促進 (脱抑制) される。(3) この現象は 16°C から 22°C への温度シフトでも起きるので単なる熱ショックではない。(4) 低温シフト (例えば、28°C から 22°C へのシフト) では逆の現象が起きて *LNK1*, *GI*, *PRR9*, *PRR7* の転写が抑制される。(5) 夜に光シグナルを与えると赤色光受容体 (フィトクロム) の働きを介して同じく EC 転写抑制複合体に光シグナルが入力され、EC 活性を弱めることで *LNK1*, *GI*, *PRR9*, *PRR7* の転写が促進される。(6) 弱光パルス (1  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 30 分間) でも十分にその効果がある。次を見てみよう。(7) 最も重要なことは、高温シフトのシグナルと夜の光シグナルが同時に入った時のみ

LNK1, GI, PRR9, PRR7の転写が相乗的(synergistic)に促進されることである。言い換えれば、「warm-night & night-light」の条件下でのみこれらの遺伝子の発現が著しく前倒しになる(発現の前進)。(8)さらに「低温シフトのシグナル」がEC転写抑制複合体に入っても、同時に「夜の光シグナル」が入る場合には「低温シフトシグナル」の効果が打ち消される。言い換えれば、「cool-night & no-night-light」の条件ではLNK1, GI, PRR9, PRR7の転写開始が遅れる(発現の後退)。一般に公開されているデータを基に、16時間明期/8時間暗期, 12時間明期/13時間暗期, 8時間明期/16時間暗期に設定したときのPRR7の発現プロフィール(概日リズム)の実際の結果を24時間のグラフ上に描くと(<http://diurnal.mocklerlab.org>)夜の長さが直感的に比較できるように日の入りの時間を合わせて描いてある。長日条件下ではPRR7の発現が相対的に前進し、短日条件下ではPRR7の転写開始が相対的に後退することが分かる。これらのPRR7の発現時期の変化は我々の実験結果でよく説明できる。以上を総合して我々は、EC転写抑制複合体が「夜の温度と光シグナル」を統合して感知することで中心振動体の季節変動への応答に関して重要な働きをしていると結論した。最も重要なことは、植物は「warm-night & night-light」の二つの条件が合致したときにはじめて「長日が進行」していることを、「cool-night & no-night-light」の二つの条件が合致したときにはじめて「短日が進行」していることを感知している点である。こうして中心振動体は二つの条件が合致したときのみ顕著に応答することで、日長には大きな変化が見られない短期間での気温の乱高下を慎重に無視していると考えられる。以上の様な機構を介してEC転写抑制複合体は中心振動体の季節変化への適応に関して重要な働きをしているというのが我々の結論である。

#### 日長の測定と外的符合モデル

ここで概日時計による日長の測定理論としてBünning等が80年近く前に提唱した“外的符合モデル”と我々の結果との関係を考えてみよう。“外的符合モデル”では「内在性の概日リズム」と「外部環境としての光シグナルの位相性」の一致を想定しているここで「内在性の概日リズム」を「ECの概日リズム」に、「外部環境としての光シグナルの位相性」を「光シグナルに加え温度シグナルの暗期でのECへの入力」に置き換えると“外的符合モデル”の実体が理解できそうである。Bünning等は植物には絶対的日長を測る能力があると考えた。一方我々の実験結果からは、日長と気温が同時に変化する自然界では過去と比較した「長日の進行」や「短日の進行」を相対的日長の変化を推定する能力もあることを示唆している。“古典的外的符合モデル”と我々の結果との関係は今後の問題である。また我々が示したEC転写抑制複合体への「温度シグナル」の入力と「temperature entrainmentやtemperature compensation」との関係も今後の問題である。いずれにしろこの結果から、EC転写抑制複合体は夜の温度変化シグナルと光シグナルを二重にチェックして統合検知することで、下流の標的遺伝子群(LNK1, GI, PRR9, PRR7)の概日リズム

の位相を慎重に(短い周期の温度の乱高下は無視して)制御していると考えられる。こうすることで季節による日長や温度変化に適切に応答して概日時計の働きや、それに支配される出力系(生理現象)を調節していると考えられる。

#### 植物の概日時計と和時計

ここで季節変化に適応する植物の概日時計をより深く理解するために、日本の「伝統的な太陰暦や時刻」とそれに基づいて考案された「和時計」に関して考えてみたい。日本の伝統的な時刻の概念によれば、1日(24時間)は12分割されて表され、それぞれの分割には十二支(干支の名前)が割り振られている。その重要な特徴は、夜明け(明け六つ)には1年を通して常に「卯の刻」が割り振られ、日の入り(暮れ六つ)には「酉の刻」が割り振られている。真夜中は「子の刻」であり、昼は「午の刻」と決まっている。このことは夜が長い冬は「夜の一刻(約2時間)が長く」時間がゆっくりと流れ、夜が短い夏は「夜間の一刻が短く」時間が速く流れることを示している。我々が使い慣れている西洋時計では、冬のAM6:00は真っ暗で、夏のAM6:00にはすでに太陽が燦々と輝いていることを考えると「和の刻」の概念がよく解る。

「和の刻」は、明暗の切り換え(日の出・日の入りの光シグナル)を基準とする「植物(生物)の時間」と概念的に似ている。西洋の時計は1年中同じ文字盤の上を一定の速度で回り続けられれば良いが、「和の刻」を刻む「和時計」ではそう簡単には創れない。しかし日本の昔の職人は創意工夫を凝らして様々な実用的和時計を考案した(夜や雨の日には使えない日時計ではない)。一定の速度で直線的に動く時計の針に文字盤を合わせる「和時計」が最も簡単である。文字盤は15日に一度、それも最もその季節に合った尺度のものに取り変える必要がある。この季節変化の(文字盤を変える)区切りが二十四節季(暦、カレンダー)である。また上と下に二つの振り子が着いていて、上が夜の時間の流れる速度(針の動く速度)を、下が昼間の針の速度を決める時計も考案された。文字盤は変えなくて良いし、「和の刻」の概念を理解した画期的な工夫であるが、やはり15日に一度の頻度で分銅の位置を変えねばならない。時計回りに針(M)が一定の速度でまわり、円形の文字盤を15日ごとに変える「和時計」も考案された。最も画期的なものとして、針(A)を天井に固定して文字盤を反時計回りに回転させると同時に刻を表す各干支の文字盤を季節に合わせて自動で動かすよう考案された「和時計」がある「万年時計」と呼ばれ、東芝の創始者である田中久重が考案した。

表面上の相似性が「植物の時間と和の刻」にあることを理由に「和時計の仕組み」を説明してきたのは、「植物時計」をより深く理解する上で「和時計」がヒントを与えてくれるからである。「和時計」を機能させるには「万年時計」は別にして、15日に一度人間の手を煩わせなくてはならない。人間は15という数の概念を持つことで季節の変化を日数の経過として捉える(記憶する)ことができる。記憶の曖昧さを補完するのが二十四節季の暦である。植物にそうした能力があるとは思えないので、別の方法で季節の変化を数値として捉えていると考えられる。「機械的和時計」には感知でき

なくて、「生物的植物時計」には感知できる季節変化を表す数値こそ「気温の上昇・下降」ではないだろうか。「和時計」は「光シグナルと数の概念」を基準にして働く地域限定の時計であり、「西洋時計」は「数の概念」だけを基準にして働き時差を考慮さえすれば万国（南極から北極まで）共通の時計であると考えられる。「植物時計」は「光シグナル」を使っている点で「和時計」に似ているが、植物には「数の概念」が無いので「温度シグナル」を感知して動いていると考えられる。無機質な機械にはない生物としての特性を遺憾無く発揮していることが分かる。植物時計は「光シグナル」と「温度シグナル」の両方を統合して感知することで昼夜・日長・気温の変化に合わせて働くことができる。その仕組みに一役かっている時計因子がEC転写抑制複合体であるというのが「和時計の仕組み」を考慮した結論である。

概日時計の出力系を制御するEC転写抑制複合体

植物が「光シグナル」と「温度シグナル」を統合検知して季節の移り変わりに応答できる巧妙な時計を持っていたとしても、生理学的に意味のある出力系に利用しなければ「宝の持ち腐れ」である(Graphical Abstractを参照)。そこで最後に植物の概日時計の活用例を我々の研究を中心に紹介したい。野生株(Col-0)を長日、短日、高温、低温条件下で生育させたときの形態変化を示している(季節変動を模倣している点に注意)。「葉身の長さ」を見てもらうと生育条件により変動していることが分かる。高温(28°C)や短日(SD: short-day)で育てると、適温(22°C)や長日(LD: long-day)で育てたときより相対的に葉身長いことが分かる。実生における「胚軸の長さ」にも同じ現象が見られる。これら季節(生育条件)による形態制御の生理的意味は良く分かっていないが、それを制御している因子は良くわかっている。PIF4とPIF5と呼ばれるフィトクロムと相互作用する二つの転写因子である。これらの遺伝子はPRR7と同じくEC転写抑制複合体の直接の標的である。すなわち「日長シグナル」と「温度シグナル」の季節変化に応答してPIF4/PIF5はPRR7と同じ様式で転写制御を受けている。このことで季節に応じた形態制御がうまく説明できる(PRR7と同じ夜の光と温度変化による転写産物の増減を考えてもらいたい)。もちろん $h\ pif4$ 欠損変異株では季節変化による形態制御が著しく損なわれる。PIF4は花芽の形成時期にも影響を与えることが分かっており、高温(27°C)では短日であっても花芽形成を促進することが知られている。これらを考え合わせると、概日時計におけるEC転写抑制複合体が栄養成長から生殖成長に至る過程を季節の変化に応じて制御していることが分かる。この例からだけでも、植物の概日時計は「持ち腐れの宝」ではなく「天下の宝刀」であることが分かる。

おわりに

シロイヌナズナを用いた研究を通して植物の概日時計の中心振動体を形づくる転写ネットワークが明らかになってきた。この転写ネットワークは日々の明暗変化や季節変化に連動して働く。夜昼の変化や季節の変化を暗示するシグナルは「光」と「温度」の変化である。植物の概日時計はどのよ

うにして日長を測るのだろうか?日々変化する温度をどうやって季節の変化を示す「安定な温度シグナル」として検知するのだろうか?「日長変化すなわち夜の光シグナル」と「長期的な温度変化のシグナル」の両方を統合して転写ネットワークに入力することで季節変化に時計を連動させるのに一役かっている時計因子がEC転写抑制複合体である。「光シグナル」を基準としている点で植物の概日時計は「伝統的な日本の刻の概念とそれを測る和時計」に似ている。しかし「植物時計」は「和時計」よりも巧妙であり、生物の特性をいかして「温度変化シグナル」をも感知することができる。「光と温度」のシグナルを統合する時計因子こそEC転写抑制複合体である。短い周期での日照時間の変化や気温の乱高下に惑わされることなく二~三週間単位の明暗変化や温度変化に連動して働くことで、明暗・日長・気温の季節変化に適応して成長・分化を適切に調節するのが「植物の概日時計」、すなわち「太陽電池で動くカレンダー付き電波時計」と考えられる。

## 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12件)

- (1) Ueoka-Nakanishi, H., Yamashino, T., Ishida, K., Kamioka, M., Nakamichi, N., Mizuno, T. Molecular mechanism of circadian rhythm in *Lotus japonicus* is compatible enough with that of *Arabidopsis thaliana* to robustly regulate heterologous core clock genes. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 76: 2332-2334 (2012).
- (2) Nakamichi, N., Kiba, T., Mizuno, T. Transcriptional repressor PRR5 directly regulates clock-output pathways. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 109: 17123-17128 (2012).
- (3) Nomoto, Y., Kubozono, S., Yamashino, T., Nakamichi, N., Mizuno, T. Circadian clock and PIF4-controlled plant growth: A coincidence mechanism directly integrates a hormones-signaling network into the photoperiodic control of plant architectures in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 53: 1950-1964 (2012).
- (4) Nomoto, Y., Kubozono, S., Miyachi, M., Yamashino, T., Nakamichi, N., Mizuno, T. A circadian clock and PIF4-mediated double coincidence mechanism is implicated in the thermo-sensitive photoperiodic control of plant architectures in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 53: 1965-1973 (2012).
- (5) Nomoto, Y., Kubozono, S., Miyachi, M., Yamashino, T., Nakamichi, N., Mizuno, T. Circadian clock and PIF4-mediated external coincidence mechanism coordinately integrates both of the cues from seasonal changes in photoperiod and temperature to regulate plant growth in

- Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling Behavior**. doi:p11: e22863 (2013).
- (6) Yamashino, T., Nomoto, Y., Lorrain, S., Miyachi, M., Ito, S., Nakamichi, N., Fankhauser, C., **Mizuno, T.** Verification at the protein level of the PIF4-mediated external coincidence model for the temperature-adaptive photoperiodic control of plant growth in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling Behavior**. doi:p11: e23390. (2013).
- (7) Yamashino, T., Yamawaki, S., Hagui, E., Ueoka-Nakanishi, H., Nakamichi, N., **MIZUMO, T.** Clock-Controlled and FLOWERING LOCUS T (FT)-Dependent Photoperiodic Pathway in *Lotus japonicus* I: Verification of the Flowering-Associated Function of an FT Homolog. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 77: 747-753 (2013).
- (8) Yamashino, T., Yamawaki, S., Hagui, E., Ueoka-Nakanishi, H., Nakamichi, N., **MIZUMO, T.** Clock-Controlled and FLOWERING LOCUS T (FT)-Dependent Photoperiodic Pathway in *Lotus japonicus* II: Characterization of a microRNA Implicated in the Control of Flowering Time. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 77: 1179-1185 (2013).
- (9) Yamashino, T., Kitayama, M., **Mizuno, T.** Transcription of ST2A Encoding A Sulfotransferase Family Protein That Is Involved in Jasmonic Acid Metabolism Is Controlled According to the Circadian Clock- and PIF4/PIF5-Mediated External Coincidence Mechanism in *Arabidopsis thaliana*. **Biosci. Biotechnol. Biochem.** 77: 2454-2450 (2013).
- (10) **Mizuno, T.**, Nomoto, Y., Oka, H., Kitayama, M., Takeuchi, A., Tsubouchi, M., Yamashino, T. Ambient temperature signal feeds into the circadian clock transcriptional circuitry through the EC nighttime repressor in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 53: 1965-1973 (2014).
- (11) **Mizuno, T.**, Takeuchi, A., Nomoto, Y., Nakamichi, N., Yamashino, T. The *LNK1* night light-inducible and clock-regulated gene is induced also in response to warm-night through the circadian clock nighttime repressor in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Signaling Behavior**. doi:p11: e23390. (2014).
- (12) **Mizuno, T.**, Kitayama, M., Oka, H., Tsubouchi, M., Takayama, C., Nomoto, Y. and Yamashino, T. The EC night-time repressor plays a crucial role in modulating circadian clock transcriptional circuitry by conservatively double-checking both warm-night and night-time-light signals in a synergistic manner in *Arabidopsis*

*thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 55: 2139-2151. (2014).

〔学会発表〕(計7件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)  
取得状況(計0件)

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~microbio/>

6. 研究組織  
研究代表者(水野 猛)(Mizuno Takeshi)  
名古屋大学大学院生命農学研究科  
教授  
研究者番号: 10174038