

機関番号：32689

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20370072

研究課題名（和文）シアノバクテリアゲノムの日周適応ダイナミクス

研究課題名（英文）Circadian adaptation dynamics of cyanobacterial genome

研究代表者

岩崎 秀雄（IWASAKI HIDEO）

早稲田大学・理工学術院・准教授

研究者番号：00324393

研究成果の概要（和文）：シアノバクテリアの概日リズム，とくに転写翻訳に依存しない翻訳後振動子によるゲノムワイドな転写制御に関する解析を行った。連続明ではゲノム上の約 1/3-1/2 の遺伝子群に顕著な転写レベルの蓄積リズムが観られ，その位相分布，*kai* 依存性などを解析した。また，連続明では殆どの遺伝子の転写が劇的に低下し，プロテオームとトランスクリプトームの相関性に著しい乖離が生じること，ごく一部の遺伝子発現は暗期に活性化され，その多くは *kai* 依存性がみられることなどを明らかにした。これらは，あらゆる生物種において，新規の概日遺伝子発現を欠く条件での初めての概日時計依存的転写調節の観察例である。

研究成果の概要（英文）：Based on microarray analysis combined with molecular genetics, we revealed that more than one third of genes on the genome exhibit significant circadian transcription rhythms with peaking at either subjective dawn or dusk under continuous light conditions. When cells were transferred to the dark, most of gene expression was dramatically suppressed and gave rise to serious discrepancy between transcriptomic and proteomic profiles. Moreover, we found less than 8% of genes on the genome were induced even in the dark, and most of them were under the control of the Kai proteins. Since the *kai* gene mRNAs were rapidly lost in the dark, our observation revealed the first example of clock-controlled transcription without *de novo* clock gene expression.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2009年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2010年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	15,900,000	4,770,000	20,670,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：シアノバクテリア，概日リズム，明暗応答，環境適応，*Synechococcus*

1. 研究開始当初の背景

概日リズムは，原核生物から高等動植物まで観察される 24 時間周期の内因性の生物リズムであり，昼夜交替に伴う周期的な環境変化への適応体制として機能していると考えられている。生物の昼夜適応を理解するために

は，外環境に対する応答（たとえば明暗応答）と，内在性の概日リズムの双方の特性を明らかにし，その相互作用を検討することが必要であった。

2. 研究の目的

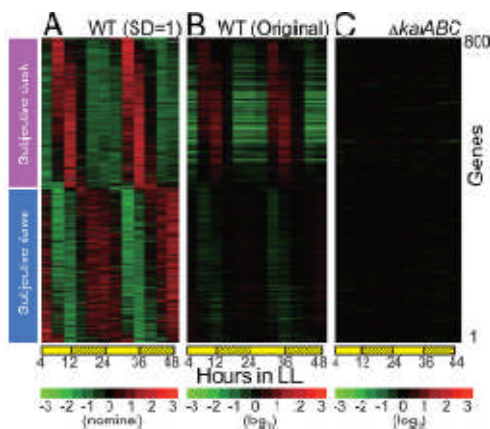
本研究では、明暗サイクルの影響を受けやすく、かつ概日リズムの解析が進められている単細胞性シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 をモデル生物とし、昼夜交替と概日リズム双方がゲノムワイドな発現調節に与える影響を解析し、その分子機構の解明を通じて環境適応ダイナミクスに関する理解を深めることを目的とした。

3. 研究の方法

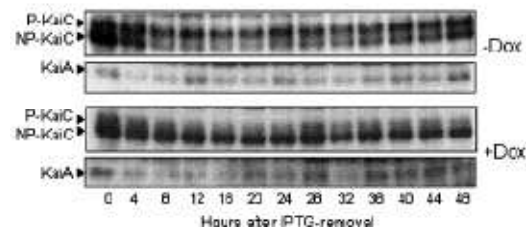
- 概日転写リズムの発現に関わる遺伝子群の解析：既に同定している KaiC 結合性ヒスチジンキナーゼ SasA とその応答因子 RpaA の下流因子を探索した
- 転写翻訳ループの機能の構成生物学的解析：大腸菌への *kai* 遺伝子群や関連遺伝子群の移植と、それによる KaiC 蛋白質のリン酸化振動の再構築の試み
- 暗誘導遺伝子群の発現機構と生理機能：*kai* 遺伝子発現が停止する暗期での暗誘導性の遺伝子群の転写解析、翻訳制御、翻訳後振動子による影響を分子遺伝学的・生化学的に解析した

4. 研究成果

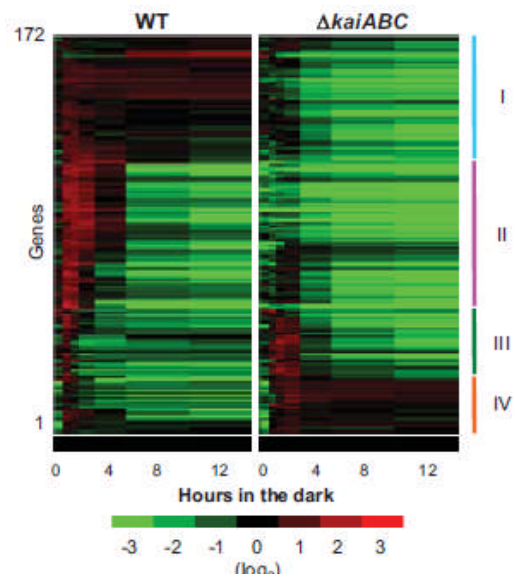
- 概日転写リズムの発現に関わる遺伝子群の解析：マイクロアレイ解析により、*kai* 依存的な連続明・連続暗での転写プロファイルを明らかにした。また、KaiC は従来提唱されていたグローバルな負の転写制御因子ではなく、時刻依存的に転写を負にも正にも調節していることを明らかにした（下図：Ito et al., 2009）。千葉大学の華岡講師、田中教授との共同研究により、*kai* 遺伝子や一部の高振幅概日発現遺伝子のプロモーターを新規のレスポンスレギュレーターが負に制御しており、RpaA はその応答因子に結合することで負の制御を解除し、転写誘導することを明らかにした（投稿中）。



- 転写翻訳ループの機能の構成生物学的解析：大腸菌に複数の誘導性プロモーターの影響下で *kai* 遺伝子群を発現させ、様々な条件（温度、成長速度、栄養条件など）で KaiC 蛋白質のリン酸化レベルを検討した。その結果、大腸菌でも KaiA, KaiB の共発現が KaiC リン酸化に影響を与えるが、シアノバクテリアよりも環境に依存してリン酸化パターンに大きな揺らぎが見られることが分かった。また、現在のところ安定な振動を再構築するには至っておらず、これらのシアノバクテリアと大腸菌内での振る舞いの相違について議論した（下図：Tozaki et al., 2008）



- 暗誘導遺伝子群の発現機構と生理機能：暗期の転写プロファイルを生野生株と *kai* 遺伝子破壊株で検討したところ、多くの暗誘導遺伝子群のパターンが *kai* 遺伝子依存的に変化することを見出し（下図）、時刻依存的な暗誘導ゲーティングを発見した。また、ごく一部の遺伝子については連続暗期中で転写量に減衰振動が観られ、これらの暗期発現パターンは *kai* 遺伝子だけでなく複数のシグマ因子によって影響を受けることを明らかにした（投稿中）。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① H. Asai, S. Iwamori, K. Kawai, S. Ehira, J. Ishihara, K. Aihara, S. Shoji, H. Iwasaki (2009) "Cyanobacterial cell lineage analysis of the spatiotemporal *hetR* expression profile during heterocyst pattern formation in *Anabaena* sp. PCC 7120" *PLoS ONE*, 4(10): e7371 査読有
- ② H. Ito, M. Mutsuda, Y. Murayama, J. Tomita, N. Hosokawa, K. Terauchi, C. Sugita, M. Sugita, T. Kondo, H. Iwasaki (2009) "Cyanobacterial daily life with Kai-based circadian and diurnal genome-wide transcriptional control in *Synechococcus elongatus*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106:14168-14173 査読有
- ③ 岩崎秀雄 (2009) 「バクテリアの生物時計 - システム解析と構成的アプローチ」化学と生物 7月号 (査読なし)
- ④ H. Tozaki, T. Kobe, K. Aihara, H. Iwasaki (2008) "An attempt to reveal a role of a transcription/translation feedback loop in the cyanobacterial KaiC protein-based circadian system by using a semi-synthetic method" *Int. J. Bioinform. Res. Appl.*, 4: 435-444 査読有
- ⑤ S.R. Mackey, JS. Cho, Y. Kitayama, H. Iwasaki, G. Dong, S.S. Golden (2008) "Proteins found in a CikA-interaction assay link the circadian clock, metabolism, and cell division in *Synechococcus elongatus*" *J. Bacteriol.*, 190: 3738-3746 査読有

[学会発表] (計 30 件)

以下、そのうち招待講演 (11 件) のみを記す

- ① H. Iwasaki (2010) "From cyanobacteria to synthetic cells: their time, shape and art" in *SymbioticA Symposium "Unruly Ecology: Biodiversity and Art"* (西オーストラリア大学, パース)
- ② H. Iwasaki (2010) "Expression of life in contemporary biomed art: an alternative 'synthetic' approach" in *UK-Japan Synthetic Biology Workshop* (イギリス大使館)
- ③ H. Iwasaki (2009) "Photoperiodic gene expression in cyanobacteria: circadian

gene expression in the dark without transcriptional feedback of *kai* genes" 2009年10月22日 日本生化学会シンポジウム(神戸)

- ④ 岩崎秀雄 (2009) 「シアノバクテリアの概日転写リズムに関する新発見」 2009年7月4日 ラン藻ゲノム研究会
- ⑤ 岩崎秀雄 (2009) 「体内時計から細胞創成へ? : 構成生物学の社会・文化的含意について」 2009年6月13日 日本時間学会創立シンポジウム, 山口大学
- ⑥ 岩崎秀雄 (2009) 「バイオリズム・ブームとは何だったのか: 生命リズムの科学・文化誌」 2009年2月14日 科学言説研究会, 工学院大学
- ⑦ 岩崎秀雄 (2009) 「生命リズムのメタファーとイメージリー」 2009年1月23日 リズム現象の研究会 IV, お茶の水女子大学
- ⑧ H. Iwasaki (2008) "Systems and synthetic analysis toward understanding spatio-temporal pattern formations in cyanobacteria" 2008年10月22日 *Japan-France Plant Science Workshop*, Tsukuba
- ⑨ H. Iwasaki "Spatio-temporal pattern formations in cyanobacteria" 2008年6月30日-7月2日 上原記念生命科学財団シンポジウム (東京)
- ⑩ 岩崎秀雄 (2008) 「環境適応に関わる周期的時空間パターンダイナミクス: シアノバクテリアを用いて」 2008年4月18日 川村浩先生本間アショフ賞受賞記念シンポジウム (三菱生命科学研究所)
- ⑪ H. Iwasaki (2008) "Systems Analyses on Cyanobacterial Spatio-Temporal Pattern Formations and Responses to Light-Dark Cycles" AESF-EMBO Symposium(スペイン)招待講演を行った

[図書] (計 2 件)

- ① Iwasaki H (2009) "A posttranslational chemical circadian oscillator in cyanobacteria" *Systems Biology: The Challenge of Complexity* (Eds. Nakanishi, S., Kageyama, R., Watanabe, D), Springer
- ② Iwasaki H (2009) "Factors involved in transcriptional output from the

Kai-protein-based circadian oscillator"
Bacterial Circadian Programs (Eds. J. Ditty,
S. Mackey, C.H. Johnson), Springer

[その他]
ホームページ等
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・准教授
研究者番号：00324393