

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07448

研究課題名(和文) 緑藻の概日時計をリセットする未知の光受容伝達機構の解明

研究課題名(英文) Study for light response pathways for the circadian clock in green algae

研究代表者

松尾 拓哉 (Matsuo, Takuya)

名古屋大学・遺伝子実験施設・講師

研究者番号：00452201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は、緑藻クラミドモナスを概日時計研究の新しいモデル生物として確立し、研究を進めてきた。その過程で、時計タンパク質ROC15の分解が光で誘導されることを発見した。この現象は幅広い波長の光で誘導されるが、特に赤色光で強く誘導される。興味深いことに、このような波長特性を示す光受容体はクラミドモナスでは知られておらず、未知の光受容・伝達経路の存在が示唆された。本研究では、これに関連する遺伝子を複数同定し、それらがこの経路にどのように関与しているのかを明らかにした。この研究は、緑色植物界の光応答機構の進化の理解につながると期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、概日時計の人為的制御に繋がります。概日時計は微細藻類のエネルギー代謝の主要な部分(デンプンの蓄積など)に関わっていますので、概日時計の制御は微細藻類の持つ能力を最大限に引き出す手段の一つとなり得ます。また、この光シグナル伝達経路は新奇のもので、新しい光センサータンパク質の発見や、光受容伝達システムの進化の理解に繋がると期待されます。

研究成果の概要(英文)：We have developed the *Chlamydomonas reinhardtii* as a model for studying circadian clocks. We found that ROC15, a *Chlamydomonas* clock protein, undergoes light induced degradation. This phenomenon is induced by a wide range of wavelength of light. Interestingly, there are no known photoreceptor that has an absorption spectrum like this. In this study, we identified some new genes involved in this process. This study provides an insight into the evolution of light response pathways in green plant lineage.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日時計 緑藻

1. 研究開始当初の背景

地球の自転に伴う環境変化（昼夜変化）に適応するため、生物は進化の過程で概日時計を獲得した。これまでに、いくつかのモデル生物において概日時計の中核となる「時計遺伝子」が見つかっている。驚いたことに時計遺伝子は進化の過程で保存されておらず、複数の起源があったと考えられている。しかし、概日時計の基本的性質は保存されており、何らかの共通の動作原理が存在すると思われるが、それが何かは未だに明らかになっていない。研究代表者らは、概日時計の進化や動作原理を理解するため、これまでの概日時計の分子機構の研究においてはあまり注目されていなかった単細胞真核生物にスポットを当てて研究を行ってきた。

研究代表者らは緑藻の時計遺伝子であるROC遺伝子に関して詳細な解析を進めている。その過程で、ROC遺伝子のひとつであるROC15がコードするタンパク質（ROC15）は、細胞が光を浴びた直後にリン酸化され、プロテアソームにより急速に分解されることを見出した。そして、これがクラミドモナスの概日時計のリセット（外界の昼夜サイクルとの同期）を引き起こす主要因であることを示した。ROC15の分解は幅広い波長の光で誘導されるが、赤色光で特に強く誘導される（青色光の約10倍の感度）。青色光受容体はクラミドモナスにおいてよく知られているが、赤色光を主として吸収する受容体は知られていない。また、他の生物の赤色光受容体（陸上植物のフィトクロムなど）のホモログもクラミドモナスの全ゲノム配列からは見つからない。これらの事実から、ROC15の光誘導性の分解には未知の光受容・伝達経路が関わっていることが示唆された（Niwa and Matsuo et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013, 110:13666-71）。

2. 研究の目的

本研究は、上記の研究代表者のこれまでの研究を発展させ、緑藻の概日時計をリセットする未知の光受容伝達機構の全容解明を目指す。

3. 研究の方法

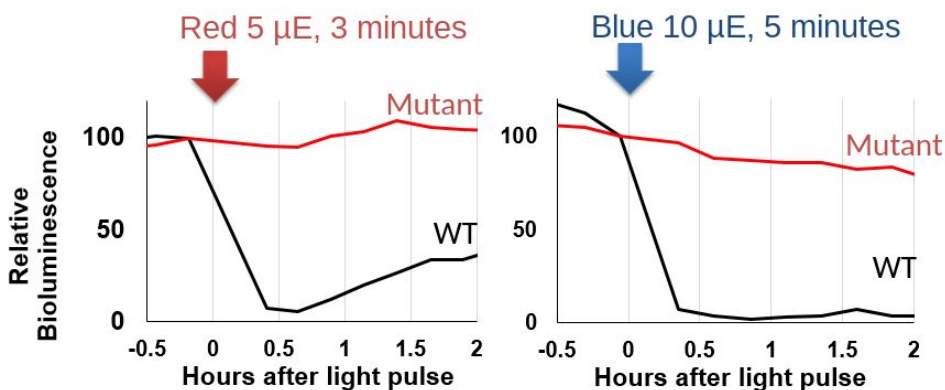
緑藻クラミドモナスを用い、分子生物学、分子遺伝学的手法により、ROC15の光誘導性分解に関わる遺伝子を同定し、解析する。

4. 研究成果

4-1, 新規関連因子の発見

ROC15の光誘導性分解を指標として、この光応答に関わる遺伝子を順遺伝学的スクリーニングで新たにひとつ同定した。その遺伝子は、2398アミノ酸からなるタンパク質をコードし、それは既知の機能モチーフを持たない新奇のタンパク質であった。相同性検索の結果、このタンパク質は緑藻類に特異的なタンパク質であることがわかった。この遺伝子の変異体において、ROC15の光応答は可視光域のほぼ全域で消失して

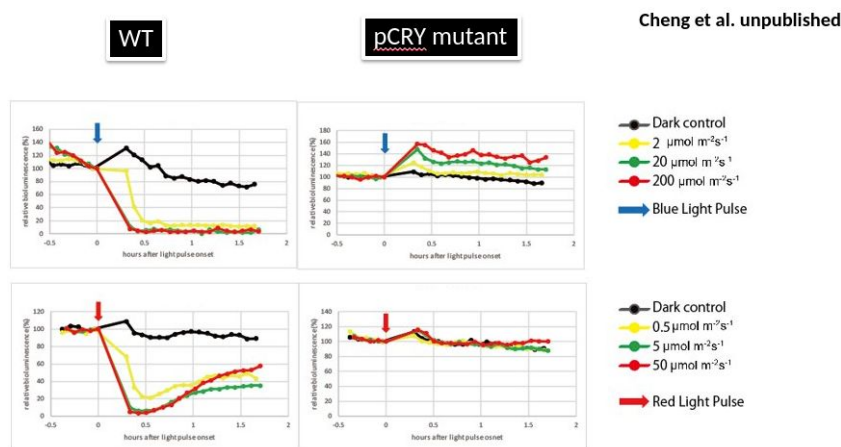
いた。また、光照射後に起こるROC15のリン酸化が起こらないことを明らかにした。一方、概日的に誘導されるリン酸化は正常に起った。また、恒暗条件下における概日リズムにも異常が観られなかったので、この遺伝子は概日時計の振動機構には関わっておらず、光情報の概日時計への入力に関わることがわかった。緑藻の独特な光応答機構の理解に繋がると期待できる。



4-2, 既知光受容体の関連を発見

既知の光受容体とROC15の光応答との関連を解析した結果、植物型クリプトクロムがこの現象に関わることがわかった。クリプトクロムは青色光受容体であるが、驚いたことに、クリプトクロム変異株ではROC15の光応答が可視光域のほぼ全域で消失していた。クリプトクロムは光照射後にリン酸化されるが、赤色光によるリン酸化応答にはCSLが関わっ

ていることを明らかにした。また、クリプトクロムの変異株では概日リズムの異常も観られ、光応答だけではなく概日時計の振動機構にも関わっていることが



わかった。上記の新奇関連因子やCSLとの相互作用により、緑藻独特な赤色光応答機構が見えてくると期待できる。

4-3, CSL複合体の構成因子の同定

タグを融合したCSLを発現する細胞を作製し、CSLの含まれるタンパク質複合体を精製し、構成因子を同定した。その結果、ヘムやクロロフィルの合成系に関わるタンパク質と相互作用していることがわかった。CSLの色素合成系への関与が示唆される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kamrani YY, Matsuo T, Mittag M, Minagawa J	4. 巻 59(12)
2. 論文標題 ROC75 is an Attenuator for the Circadian Clock that Controls LHCSR3 Expression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 2602-2607
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcy179	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tokutsu R, Fujimura-Kamada K, Yamasaki T, Matsuo T, Minagawa J	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Isolation of photoprotective signal transduction mutants by systematic bioluminescence screening in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 2820
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-39785-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kinoshita A, Niwa Y, Onai K, Yamano T, Fukuzawa H, Ishiura M, Matsuo T.	4. 巻 13
2. 論文標題 CSL encodes a leucine-rich-repeat protein implicated in red/violet light signaling to the circadian clock in <i>Chlamydomonas</i> .	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS Genet.	6. 最初と最後の頁 e1006645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pgen.1006645.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 松尾拓哉
2. 発表標題 植物オルガネラの概日制御
3. 学会等名 第21回植物オルガネラワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松尾拓哉
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスの概日時計
3. 学会等名 甲南生物学セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomida W, Matsuo T, Otsuka T, Suzuki T, Aoki S
2. 発表標題 Functional characterization of two LOV-containing histidine kinases, LHK1 and LHK2, in the green alga <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松尾拓哉、飯田高広、武藤梨沙、木下垂有美、石浦正寛
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスのGARP型DNA結合タンパク質 ROC75の概日時計における役割
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Gururaj M, Kinoshita A, Matsuo T
2. 発表標題 A gene crucial for light induced degradation of the clock protein ROC15 in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Cheng JY, Matsuo T
2. 発表標題 Reverse Genetic Approach to Identify Circadian Photoreceptors in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富田航、松尾拓哉、大塚徹寛、鈴木智紀、青木摂之
2. 発表標題 クラミドモナスにおける LOV 含有ヒスチジンキナーゼ遺伝子の概日リズムへの機能的関与の検証
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Gururaj M, Cheng JY, 木下亜有美、松尾拓哉
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスの概日時計をリセットする光受容伝達機構
3. 学会等名 第20回日本光生物学協会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松尾拓哉、飯田高広、武藤梨沙、木下亜有美、石浦正寛
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスのROC75は概日時計の昼位相の制御に重要な因子である
3. 学会等名 日本遺伝学会第89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松尾拓哉、Malavika Gururaj
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスにおける概日時計の光リセット機構
3. 学会等名 第二回名古屋リズム研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Malavika Gururaj, Ayumi Kinoshita, Takuya Matsuo
2. 発表標題 The uncharacterized gene Cre07.g357500 plays a role in light induced degradation of ROC15 in Chlamydomonas reinhardtii
3. 学会等名 第二回名古屋リズム研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jen-Yin Cheng, Takuya Matsuo
2. 発表標題 Reverse Genetic Approach to Identify Circadian Photoreceptors in Chlamydomonas reinhardtii
3. 学会等名 第二回名古屋リズム研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ayumi Kinoshita, Takuya Matsuo, Kiyoshi Onai, Takashi Yamano, Hideya Fukuzawa, Masahiro Ishiura
2. 発表標題 Existence of a red/violet light signaling pathway involved in resetting of circadian clock in Chlamydomonas.
3. 学会等名 17TH INTERNATIONAL MEETING CELL & MOLECULAR BIOLOGY OF CHLAMYDOMONAS (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 松尾拓哉
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスの概日時計
3. 学会等名 生物リズム若手研究者の集（招待講演）
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考