

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）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：若手研究（A）

研究期間：2011～2012

課題番号：23687002

研究課題名（和文） 概日時計を介するシアノバクテリアの動的環境適応ダイナミクス

研究課題名（英文） Circadian clock mediated environmental adaptation dynamics 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）：

単細胞性シアノバクテリア *Synechococcus* PCC 7942 を用い、時計遺伝子の新規転写翻訳を伴わない転写リズムの存在を、あらゆる生物に先駆けて初めて明らかにした。また、*kai* 遺伝子などの高振幅遺伝子の発現の新たな制御因子として、二成分制御系の RpaB 蛋白質を同定し、生化学的な解析を行い、論文発表した。さらに、多細胞性シアノバクテリア *Anabaena* PCC 7120 を用い、ゲノムワイドな発現プロファイリング、発光レポーターの開発などを通じ、その概日特性や分化細胞特異的な概日転写制御を初めての明らかにし、論文発表した。

研究成果の概要（英文）：

We demonstrated in *Synechococcus* the presence of circadian transcriptional regulation even without *de novo* transcription/translation of clock genes in the dark conditions. Moreover, we identified a response regulator gene, *rpaB*, as an important regulator of clock gene expression. In the multicellular cyanobacterium, *Anabaena* sp. PCC 7120, we described basic circadian transcriptomic profiles and revealed the presence of circadian transcription rhythms in heterocysts.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	13,800,000	4,140,000	17,940,000
2012年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
年度			
年度			
年度			
総計	21,800,000	6,540,000	28,340,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学 遺伝・ゲノム動態

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

1. 研究開始当初の背景

概日リズムはバクテリアから高等動物まで広く一般に見られる内因性の約 24 時間周期の生物リズムである。単細胞性シアノバクテリアは概日リズムを示す最も単純な生物

群である。私たちはシアノバクテリアは連続明条件下でゲノムワイドな転写リズムを示すが、夜間には時計遺伝子を含む 9 割以上の遺伝子の mRNA が直ちに分解されること (Science 2005; PNAS 2009), それにもかかわらず概日時計に依存

する時刻依存的な転写制御も行われていることを見出していた状況であった。

2. 研究の目的

本研究では、明暗応答と概日制御がどのように統合化されているのかを解明するとともに、多細胞性シアノバクテリアを用い、概日リズムの発生分化プログラムへの関与を明らかにすることを目的とした。

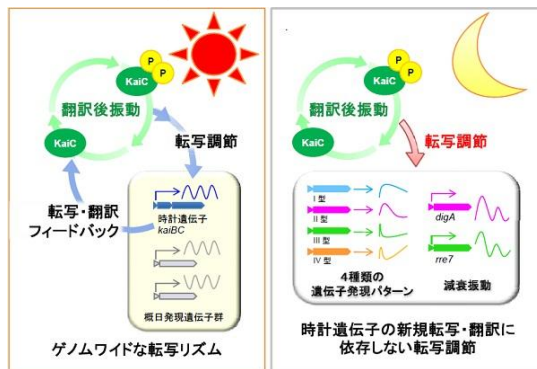
3. 研究の方法

A. 単細胞性シアノバクテリアの概日および明暗遺伝子発現制御の解析：明暗応答と概日制御の相互作用や光周期的遺伝子発現に関わる遺伝子の探索と転写解析を行うとともに、概日出力因子 RpaA の標的遺伝子の同定と遺伝学的相互作用を示す遺伝子の変異株の単離を試みた。

B. 多細胞性シアノバクテリアにおける概日システムと細胞分化パターンニングの相互作用の解析：栄養細胞とヘテロシストにおける概日遺伝子発現の比較検討、および *kai* 遺伝子破壊株における発生分化過程の観察と、ヘテロシスト分化の概日時刻依存性の調査を行った。

4. 研究成果

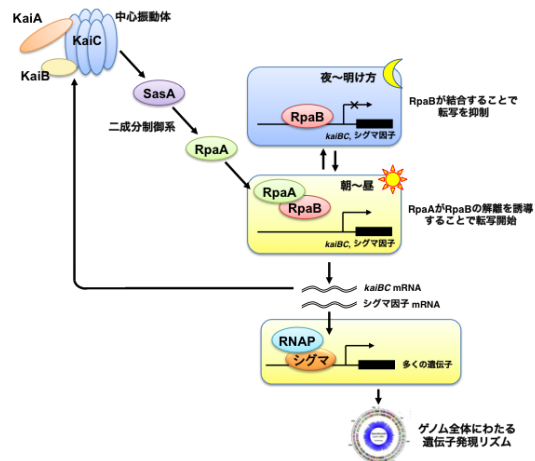
A. 単細胞性シアノバクテリア *Synechococcus* PCC 7942 を用い、時計遺伝子の新規転写翻訳を伴わない転写リズムの存在を、あらゆる生物に先駆けて初めて明らかにした (PNAS, 2011)。



図の説明：連続的な明条件下（左）では、KaiC 蛋白質のリン酸化振動に見られる翻訳後修飾レベルの基本振動が、ゲノムワイドな転写リズムを駆動して、二次的なループとして転写・翻訳フィードバックを生じる。一方、暗期（右）では、時計遺伝子の転写・翻訳が完全に停止するので、時計遺伝子の転写・翻訳フィードバックは消失する。にもかかわらず、概日時計の基本振動（KaiC リン酸化振動）は持続し、限られたエネルギーを使って

暗誘導遺伝子の転写を時刻依存的に制御したり、減衰振動を駆動できる。

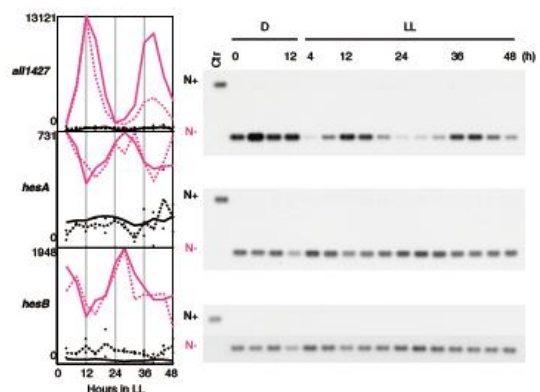
B. *kai* 遺伝子などの高振幅遺伝子の発現の新たな制御因子として、二成分制御系の RpaB 蛋白質を同定し、生化学的な解析を行い、論文発表した (JBC 2012)。



図の説明：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

KaiA, B, C で構成される中心振動体からの時間情報は、二成分制御系 SasA-RpaA によって伝達されるが、単に RpaA によって転写が誘導されるのではなく、夜間の RpaB の結合による転写抑制を RpaA が解除することで転写を活性化することが分かった。また、RpaA/B は RNA ポリメラーゼ (RNAP) のサブユニットであるシグマ因子の転写を調節しており、このシグマ因子により多くの遺伝子の周期的な転写リズムが生じるものと考えられた。

さらに、多細胞性シアノバクテリア *Anabaena* PCC 7120 を用い、ゲノムワイドな発現プロファイリング、発光レポーターの開発などを通じ、その概日特性や分化細胞特異的な概日転写制御を初めての明らかにし、論文発表した (J. Bacteriol., 2013)。



図の説明 :

窒素源欠乏条件におけるヘテロシスト特異的な概日発現を示した。窒素源含有 (黒線)、非含有条件 (ピンク線) 下における *all1427*, *hesAB* 遺伝子発現プロファイルを示した。ノーザンブロット解析 (右パネル) とマイクロアレイ解析のデンストメトリー解析データは、それぞれ実線、点線で示した。ノーザンブロット解析では、窒素源含有 (N+)、非含有 (N-) 条件下の D0 (暗期に移した時点) のサンプルから抽出した RNA を、それぞれ異なる条件のコントロール “Ctr” とした。

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3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8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