

## 植物の体内時計を調整する遺伝子を発見

～朝に働く時計関連因子の標的を解明～

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) の中道 範人 (なかみち のりひと) 准教授、神岡 真理 (かみおか まり) (大学院生)、木下 俊則 (きのした としのり) 教授、東山 哲也 (ひがしやま てつや) 教授、中部大学の鈴木 孝征 (すずき たかまさ) 講師らの研究グループは、朝に生まれる植物の時計タンパク質の標的遺伝子群を発見することに成功しました。

地球の自転に伴う昼夜変化に適応するために、多くの生物は遺伝子に組み込まれた概日時計 (体内時計) を持っています。中道らの研究グループは、植物の体内時計に関わる遺伝子の仕組みを解明することを目指しています。今回、中道らは、午後に生まれる時計遺伝子の時刻を調整する因子の探索を行ったところ、朝の時計タンパク質が午後の時計遺伝子の調節を行っていることを実証しました。また、この朝の時計タンパク質の直接作用する遺伝子群を見つけることに成功しました。さらに、発見した遺伝子群の中には、乾燥ストレスへの応答、植物ホルモンの信号伝達、気孔の開閉運動、植物が出すワックスの合成など、植物体が環境に応答しより優れた個体を形成するための鍵となる遺伝子群が含まれていることが分かりました。また、これらの遺伝子群は午後から夕方かけて最も活性化していることが分かりました。

歴史的に見ると、多くの穀物において、体内時計や時計に制御される生理現象を改変した品種が選抜されてきました。今回の発見によって将来、植物の体内時計を自在に調整することが可能になり、より優れた品種の選抜につながることを期待されます。

本研究成果は、米国の植物科学専門誌「*The Plant Cell*」の3月号に掲載されます。

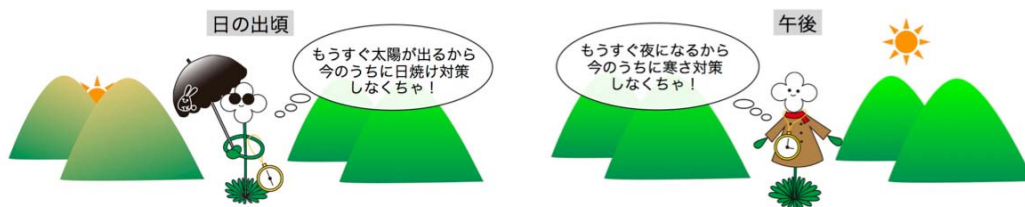


図1. 植物は概日時計をつかって 環境時刻の変化を予期する

芽生えた場所から動くことのできない植物は、環境変化に適応する仕組みを高度に進化させてきている。体内時計 (概日時計) の働きにより、近い将来の環境状態を予測し、それに備える。日の出頃にすでに太陽光への防御を、日没前に夜の低温へ対応を始めている。

### 【研究の背景と内容】

体内時計は約 24 時間の周期を創り出す遺伝的に組み込まれたシステムで、地球上の多くの生物に存在することが確認されています。植物は、体内時計の働きにより、1日のうちで最適な時刻に適切な生理現象が起こるように誘導します。例えば、突然の日光は有害となる活性酸素種の発生の原因となるため、植物は活性酸素種を取り除く分子を日の出前から合成し始めます。また、日没後の温度の低下に対して、午後になると低温な状態に対応する準備を始めます。このような体内時計の働きによって、植物は環境の時刻変化から生ずる外部刺激へ事前に応答する準備をしています (図 1)。体内時計は、時計に関連する複数の遺伝子の中で相互に制御し合うことによって成り立つとされていますが、それぞれの「遺伝子」や「分子」がどのような働きをしているかまだ解明されていませんでした。また、時計による多様な生理現象の制御については、部分的にしか分かっていませんでした (図 2)。

研究グループは、午後転写誘導されるシロイヌナズナの遺伝子(*PRR5*)<sup>\*1</sup>の発現を調節する因子の解明を目指しました。まず、シロイヌナズナの遺伝子において発現の調節に関わるDNA領域に、日の出頃に生まれる時計タンパク質(*CCA1*)<sup>\*2</sup>が結合すると考えられている配列を見いだしました。実際に植物体で発現している*CCA1*タンパク質を免疫沈降<sup>\*3</sup>によって回収し、その免疫沈降画分に含まれるDNA配列を高速DNAシーケンサー<sup>\*4</sup>で解析すると、*PRR5*遺伝子の調節領域<sup>\*5</sup>が高い頻度で現れてくることを確認できました(図3)。このことは、生体内で*CCA1*タンパク質が*PRR5*遺伝子の調節領域に直接的に作用することを示しています。また、この*CCA1*タンパク質の作用する領域は、午後から夕方にかけて最高点に達するリズムを生み出すことが分かりました。*PRR5*遺伝子の転写調整には様々な因子が関わることが指摘されてきましたが、その中でも*CCA1*タンパク質が最も影響力を持つことが示唆されました(図3)。

さらに、*CCA1*時計タンパク質が作用するDNA領域を染色体全体から確認しました(図4)。*CCA1*タンパク質の結合するDNA領域の近くには、午後から夕方にかけて発現する遺伝子群が多く認められました。これらの遺伝子群の中には、乾燥ストレスへの応答、植物ホルモン(アブシジン酸)の信号伝達、気孔の開閉運動、ワックスの合成の鍵となる遺伝子群が含まれていました(図4)。したがって、*CCA1*タンパク質の働きによって、上記の生理現象が特定の時刻(午後から夕刻)に現れることを可能にしていることが示唆されました。

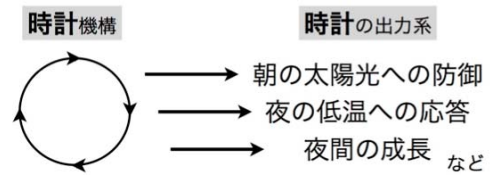


図2. 植物時計による多様な生理現象の制御モデル  
概日時計は自立的に約24時間周期をつくる。この時計機構は多様な生理現象の発現時刻を決めている。時計支配下の現象を時計出力とよぶ。

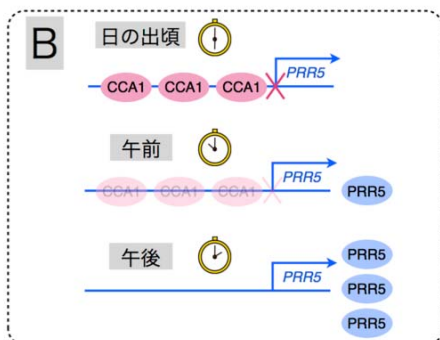
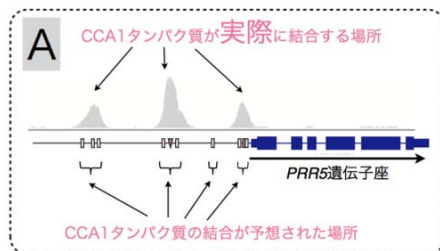
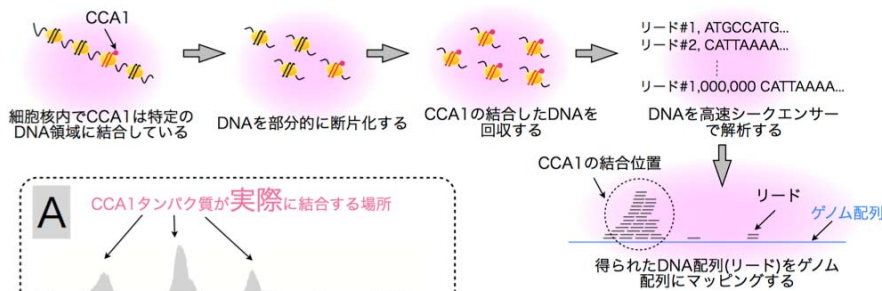


図3. *CCA1*タンパク質は生体内で*PRR5*遺伝子の近傍に結合する  
植物細胞内で*CCA1*タンパク質と染色体DNAを固定させ、次に染色体DNAを断片する。*CCA1*タンパク質を回収し、その画分に含まれるDNAを高速シーケンサーで解析する。得られたリードをゲノム配列にマッピングする。この実験で*CCA1*の結合するゲノム領域が明らかになる。(A)は実際のデータの抜粋。*CCA1*が*PRR5*遺伝子の近傍の3カ所に結合している。(B) *CCA1*タンパク質は、*PRR5*遺伝子の発現を日の出頃に抑制する。時刻が進むと*CCA1*タンパク質の量が減り、*PRR5*遺伝子は転写され、*PRR5*タンパク質が増える。

### 【まとめと今後の展望】

体内時計に関わる遺伝子群は、植物界で普遍的に存在しています。また、多くの穀物で時計および時計の支配下の生理現象を担う遺伝子に(自然的あるいは人工的に)突然変異が入った品種が選抜されてきています(*Plant Cell Physiol.*, **56**: 640-649, 2015)。

今回の報告はシロイヌナズナの時計の分子機構のさらなる理解に貢献しましたが、この知見を基盤として、自在に多様な植物種の体内時計をデザインすることが可能になるかもしれません。

また、この研究過程で植物の機能的なゲノム解析の方法論を確立しました。この研究方法論をより発展させることで、生物情報学という遺伝子と生理現象をつなぐ学問のさらなる進展を目指します。

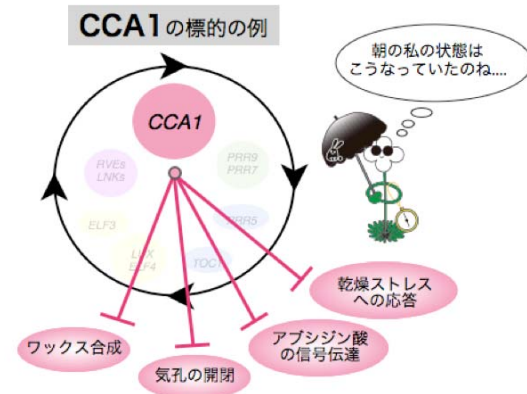


図4. CCA1の標的遺伝子の解明

乾燥ストレス応答, アブシジン酸の信号伝達, 気孔の開閉, ワックス合成の鍵となる遺伝子群の発現に対してもCCA1は直接的に抑制することが明らかとなった. CCA1は朝に多いため, これらの現象は朝に抑制されていると考えられる.

### 【用語解説】

\*1 *PSEUDO-RESPONSE REGULATOR 5 (PRR5)*: 午後に発現するシロイヌナズナの時計関連遺伝子の1つ。

\*2 *CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1 (CCA1)*: 日の出頃に発現するシロイヌナズナの時計関連遺伝子の1つ。

\*3 免疫沈降: 個体、組織や細胞などから目的のタンパク質を回収する方法。

\*4 高速 DNA シーケンサー: DNA を構成するヌクレオチドの結合順序 (塩基配列) を決定する方法。

\*5 調節領域: 遺伝子の転写を調節するエンハンサー、プロモーター、サイレンサーなどが結合する DNA の領域。

### 【掲載雑誌、論文名、著者】

掲載雑誌: ***The Plant Cell***

論文名: Direct repression of evening genes by CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1 in *Arabidopsis* circadian clock

(CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1による夕方遺伝子群の直接的抑制)

著者: Mari Kamioka, Saori Takao, Takamasa Suzuki, Kyomi Taki, Tetsuya Higashiyama, Toshinori Kinoshita, Norihito Nakamichi

(神岡真理、高尾早織、鈴木孝征、瀧京美、東山哲也、木下俊則、中道範人)

論文公開: 2016年3月号

### 【研究費】

本研究は以下の研究費の支援を受けました。

JST さきがけ研究 課題名：「バイオマス生産性の向上を指向した概日時計のシステム生物学」

科研費 若手研究B 課題名：「新奇時計関連因子の生化学的な解析」

内藤記念財団 課題名：「植物の概日時計の統合的な解析」

### 【本件お問い合わせ先】

名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM)

ホームページ: <http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp>

#### <研究内容>

中道 範人

TEL: 052-789-3656

E-mail: [nnakamichi@itbm.nagoya-u.ac.jp](mailto:nnakamichi@itbm.nagoya-u.ac.jp)

ホームページ (研究室): <http://plantphys.bio.nagoya-u.ac.jp/en/index.html>

#### <報道対応>

名古屋大学 ITbM リサーチプロモーションディビジョン

宮崎 亜矢子・佐藤 綾人

TEL: +81-52-789-4999 FAX: +81-52-789-3240

E-mail: [press@itbm.nagoya-u.ac.jp](mailto:press@itbm.nagoya-u.ac.jp)

名古屋大学総務部広報渉外課

TEL: +81-52-789-2699 FAX: +81-52-788-6272

E-mail: [kouho@adm.nagoya-u.ac.jp](mailto:kouho@adm.nagoya-u.ac.jp)

WPI-ITbM について (<http://www.itbm.nagoya-u.ac.jp/>)

文科省の世界トップレベル拠点プログラム(WPI)の一つとして採択された、名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所(ITbM)は、従来から名古屋大学の強みであった合成化学、動植物科学、理論科学を融合させることで研究を進めております。ITbM では、精緻にデザインされた機能をもつ全く新しい生命機能の開発を目指しております。ITbM における研究は、化学者と生物学者が隣り合わせで研究し、融合研究を行うミックス・ラボという体制をとっております。このような「ミックス」をキーワードに、化学と生物学の融合領域に新たな研究分野を創出し、トランスフォーマティブ分子を通じて、社会が直面する環境問題、食料問題、医療技術の発展といった様々な議題に取り組んでおります。