

光転写調節メカニズムと新規光センサー

岡野 俊行

早稲田大学理工学術院 電気・情報生命工学科

1. 研究のねらい

生命が地球上に誕生して以来数十億年にわたって、光は生物に影響を与え続けてきた。生物は、光のエネルギーを効率的に利用し、かつ紫外線等による傷害を避けるために、さまざまな光受容・光情報伝達システムを発達させている。本研究では、光が生物に与える影響を多面的に捉え、さらにそれを利用するための手がかりを得るために、光による遺伝子の制御メカニズムの解明と機能未知なる新規光センサーの探索を行った。これらの解析は、新たな光受容経路の解明という基礎的な目標と同時に、生体光センサーを利用した遺伝子の調節システムの開発に繋げるという狙いがある。

2. 研究成果と考察

ニワトリ松果体における光応答遺伝子の解析

鳥類において松果体は光感受性の脳内器官であり、同時にサーカディアンリズムの中核として機能する。したがって、松果体において光応答する遺伝子はおそらく、概日時計の光同調等に働くものと推定される。そこで、鳥類松果体に光を照射し、時刻依存的に転写が誘導される遺伝子を探索したところ、いくつかの遺伝子が光応答した。そのうち朝方および夕方に最も顕著な光誘導を受ける因子をそれぞれ1種類ずつ選んで解析した。朝方に光依存的に転写される遺伝子 *Lcg* は、中心体に発現する因子であり概日時計発振における中心体の関与が示唆された。一方、夕方に光誘導される *E4BP4* は転写抑制因子であり、時計遺伝子 *Per* の転写を抑制することが判った。タンパク質レベルにおいて *E4BP4* の挙動を調べたところ、*E4BP4* はカゼインキナーゼ 1β によってリン酸化されて不安定化すること等がわかった。以上のように本研究において、新規の光応答性の時計関連遺伝子の同定することができ、今後は、*Log* および *E4BP4* 遺伝子の光応答メカニズムのさらなる解析が重要である。

ヒト皮膚細胞における光応答遺伝子の解析

ヒト皮膚は、紫外線に反応することは知られているが、可視光の作用は不明な点が多い。そこで本研究では、LED 光源を用いて青色ならびに近紫外光を培養したヒト皮膚細胞に照射し、マイクロアレイ解析および RT-PCR 法を用いて、光応答遺伝子を網羅的に解析した。その結果、青色および近紫外光によって、共通する一群の遺伝子が光誘導されることが判明した(図 1)。そのうち、最も顕著に光誘導される3種類の遺伝子 (*Atf3*, *Gdf15*, *Hmox1*) についてさらに、mRNA およびタンパク質の両面から詳細な解析を進めた。光誘導のタイムコースおよび翻訳阻害剤を用いた実験の結果、3種類の遺伝子のうち *Atf3* の転写誘導にはタンパク質合成は不要であったことから、光刺激はまず *Atf3* 遺伝子の転写を誘導し、その後 *Hmox1* 等の遺伝子を誘導すると考えられた。そこで次に、*Hmox1* プロモータに対する *Atf3* の効果を転写アッセイにより調べたところ、*Atf3* は *Hmox1* 遺伝子の転写開始点付近の約 200 塩基対に作用して転写を促進する可能性が示唆された。このように、光刺激がヒトの皮膚に作用し得ること、さらに、その際の遺伝子カスケードの一端を明らかにすることができた。今後は、光刺激がどのような細胞内情報伝達経路を介して *Atf3* 遺伝子の転写を促進するのかが興味深い。

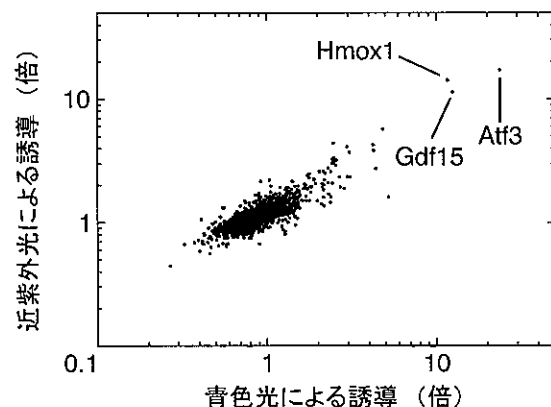


図 1. ヒト皮膚における遺伝子の光誘導
各点は各遺伝子に相当する。青色光・近紫外光のいずれによっても 10 倍以上の誘導を示す遺伝子が 3 種同定された。

動物に存在する新規光センサー様分子の同定

近年、さまざまな生物の全ゲノムの遺伝子配列が解明された結果、機能未知の多くの遺伝子の存在が明らかとなった。これらの情報から、ニワトリには機能不明の新しいクリプトクローム分子 (cCRY4 と命名) が存在すると推定された。そこで、cCRY4 に関して(i)全 cDNA 配列の決定、(ii)mRNA 発現部位の同定、(iii)mRNA 発現の時間的変化の解析、(iv)抗体の作成とタンパク質量の変動解析、(v)タンパク質の組織局在、などの解析を行った。その結果、興味深いことに、光感受性組織である網膜、視床下部および松果体に cCRY4 が大量に発現していることが判明した(図 2)。さらに、その mRNA 量ならびにタンパク質量は、光刺激に反応して増加することが判った。また、cCRY4 タンパク質の性状解析の結果、細胞質部分に局在する水溶性のタンパク質であることも判明した。一次構造から類推すると、おそらく cCRY4 は青色光を受容する光センサーであると考えられるので、以上の結果を総合すると、動物の網膜や松果体には、これまでに知られていなかった新しい光情報伝達経路が存在すると思われる。今後は、cCRY4 から光情報を受け取る情報伝達タンパク質の同定、および cCRY4 の諸特性を活かした光スイッチへの応用が期待される。

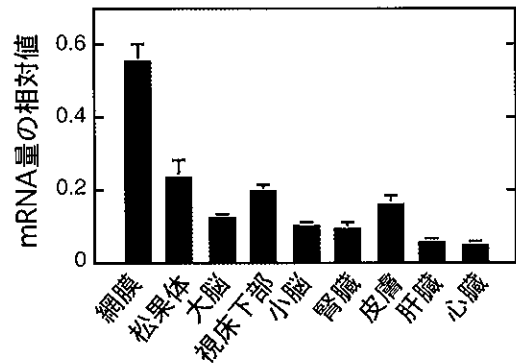


図 2. ニワトリ各組織における Cry4 mRNA 発現 RT-PCR 法により mRNA レベルを測定し、Tbp の mRNA 発現に対する相対量として表した。Cry4 の mRNA は、網膜・松果体・視床下部といった光感受性の部位に多く発現している。

3. 謝辞

本研究の遂行にあたり、ご指導いただきました花村榮一研究総括、領域アドバイザーの諸先生方、ならびに多大なアドバイス・ご協力をいただきました領域事務所の皆様に深く御礼申し上げます。また、本研究の大部分において、秋山正志 JST 研究員・久保葉子 JST 研究員、ならびに東京大学大学院理学研究科生物化学専攻深田吉孝教授と深田研究室の皆様のご協力・ご助言を頂きました。

4. 主な論文など

- (1) Okano, T. and Fukada, Y. *Chicktacking pineal clock. J Biochem (Tokyo)* 134:791-797 (2003).
- (2) Doi, M., Okano, T., Yujnovsky, I., Sassone-Corsi, P., and Fukada, Y. Negative control of circadian clock regulator E4BP4 by casein kinase Iε-mediated phosphorylation. *Curr Biol*, 14: 975-980 (2004).
- (3) Kassai, H., Aiba, A., Nakao, K., Nakamura, K., Katsuki, M., Xiong, W.H., Yau, K., W., Imai, H., Shichida, Y., Satomi, Y., Takao, T., Okano, T., and Fukada, Y. Farnesylation of retinal transducin underlies its translocation during light adaptation. *Neuron*, 47: 529-539 (2005).
- (4) Hatori, M., Okano, T., Nakajima Y., Doi, M., and Fukada, Y. *Lcg* is a light-inducible and clock-controlled gene expressed in the chicken pineal gland. *J Neurochem* (2006) 印刷中.
- (5) Kubo, Y., Akiyama, M., Fukada, Y., and Okano, T. Molecular cloning, mRNA expression, and immunocytochemical localization of a putative blue-light photoreceptor CRY4 in the chicken pineal gland. *J Neurochem* in revision.
- (6) 土居雅夫・岡野俊行 体内時計の時間調節を担うタンパク質リン酸化反応. *生化学* Vol.77, No.2, pp.125-129 (2005).

5. その他

受賞 平成17年度 科学技術分野における文部科学大臣表彰 若手科学者賞
「生命科学分野における生体の光応答メカニズムの研究」