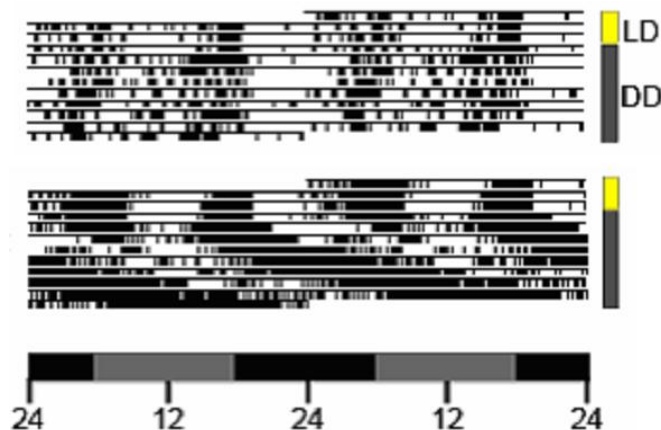


ショウジョウバエの新規時計遺伝子「時計じかけのオレンジ」を発見

平成 19 年 6 月 20 日

体内時計システムはバクテリアからハエ、マウス、ヒトにいたるまで多様な生物種に保存されている。哺乳類の場合、脳の視交差上核などが刻む約 24 時間周期のリズムに従って、睡眠や覚醒、血圧・体温の変動、ホルモン分泌などの生理機能がコントロールされている。この体内時計のリズムを生み出しているのは、複雑な転写ネットワークが生み出す周期的な遺伝子発現だ。理研 CDB の上田泰己チームリーダー（システムバイオロジー研究チーム）らは、マウスをモデルにした以前の研究で、この転写ネットワークを構成する約 20 個の時計遺伝子と 3 つの転写制御配列を同定していた。なかでも朝の転写を活性化する E-box/E'-box（朝配列）は中心的な役割を担い、この配列の機能を阻害すると、体内時計が大きく乱れることを見出していた。

今回、理研 CDB の鶴飼-蓼沼磨貴テクニカルスタッフ、山田陸裕リサーチアソシエイト（システムバイオロジー研究チーム、上田泰己チームリーダー）らは、ショウジョウバエをモデルにした研究で、転写因子をコードする新規の時計遺伝子「時計じかけのオレンジ(*clockwork orange*)」を同定した。この遺伝子を抑制すると他の時計遺伝子の発現も乱れ、24 時間周期の行動パターンに異常が生じることがわかった。この成果は、九州大学、国立遺伝学研究所、テキサス農工大学との共同研究によるもので、Genes & Development 誌に 6 月 19 日付けでオンライン先行発表された。



野生型（上）および *cwo* 変異体（下）ショウジョウバエの行動パターン。黒い部分は活動が観察された時間帯を示す（横軸は時間）。野生型では 12 時間周期の明暗条件下(LD)および恒暗条件下(DD)のいずれにおいても、日出、日没に対応する時間帯に活動が活発になる 24 時間周期を示す。*cwo* の発現を抑制した変異体では、行動リズムの周期が、24 時間よりも大幅に長くなる異常が見られた。

彼らは、複雑な哺乳類の体内時計を理解するために、よりシンプルな構造を持つショウジョウ

ウバエの体内時計をモデルに実験を行った。両者の体内時計システムは共通の起源を持つと考えられ、しかも、遺伝学の発展したショウジョウバエには実験上のさまざまな利点があるからだ。

まず、DNA マイクロアレイによるゲノムワイドな発現解析を行い、ショウジョウバエの持つ約 14,000 の遺伝子のなかから、頭部において 24 時間周期で発現している遺伝子を 200 個ほど見出した。続いて、この中から体内時計システムでより中心的な役割を果たす遺伝子を同定するために、*in vivo* RNAi 法を行った。この方法では、成体内において特定の遺伝子を組織特異的に抑制することができる。200 個の遺伝子それぞれについて時計組織を狙った機能抑制を試み、実験が成功した 137 個の遺伝子についてショウジョウバエの行動リズムを観察したところ、5 つの遺伝子において活動周期の顕著な延長が見られた。なかでも体内時計への影響が最も大きかったのは、Orange ドメインと呼ばれる領域を持つ転写因子だった。そこで彼らは、この遺伝子を、1971 年にスタンリー・キューブリックがアンソニー・バージェスの小説を映画化した「A Clockwork Orange」に因んで、「時計じかけのオレンジ (*cwo*; *clockwork orange*)」と名付けることにした。

次に、転写因子 CWO の具体的な機能を探るために、そのターゲット配列を探索することにした。この実験には、ChIP on chip 法を用いた。転写因子に結合する染色体由来の DNA 断片を ChIP 法で単離し、さらに、その DNA 断片をマイクロアレイ (DNA chip) で解析することによって、転写因子の結合領域をゲノムワイドに調べることができる。その結果、CWO は体内時計の転写ネットワークのなかでも重要な役割を担う E-box に結合することが明らかとなった。

さらなる解析から、CWO は自分自身を含む複数の時計遺伝子の発現を抑制していることがわかった。また、*cwo* を欠損すると、24 時間周期で変動する時計遺伝子の発現量の極大値と極小値の差が、正常の半分程度まで小さくなっていった。この結果は、*cwo* の欠損によって標的遺伝子の発現が十分に抑制されないために極小値が上がり、その間接的な影響によって極大値も下がっていることを示唆していた。

これらの結果から、ショウジョウバエにおける新規の時計遺伝子 *cwo* は、他の時計遺伝子と密接な関係を持ち、体内時計システムの中で重要な役割を担っていることが明らかとなった。DNA マイクロアレイ、*in vivo* RNAi、ChIP on chip といった先端技術を駆使したゲノムワイドな解析が可能にした成果と言えるだろう。上田チームリーダーは、「引き続き研究を重ねる必要がありますが、体内時計システムの完全な理解に向けて一歩前進することが出来ました。*cwo* と似た遺伝子はヒトでも見つかり、将来のヒト体内時計の解明にもつながると思います」と話す。