

クラミドモナスの概日時計 ～ようやく始まった分子レベルの研究～

松尾拓哉[✉]

名古屋大学 遺伝子実験施設 植物ゲノム解析分野

1970年代の前半、ショウジョウバエやアカパンカビで概日リズム変異体が初めて分離された頃、リズム変異体の分離に成功した生物がもう一つあった。緑藻クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) である。しかし、クラミドモナスはその後の時計遺伝子のクローニングへと至る分子遺伝学的研究の流れからは完全に取り残されてしまっていた。近年になってようやく時計遺伝子が同定され、遅まきながら概日時計の分子機構の研究が始まったところである。クラミドモナスはその進化的位置から概日時計の進化を考察する上で非常に興味深い生物であると共に、現在では優れたモデル生物の一つでもある。本稿では、クラミドモナスの時計遺伝子へのアプローチの歴史と、同定された時計遺伝子から見えてきたクラミドモナスの概日時計の特徴と緑色植物の概日時計の進化、さらに概日時計研究のモデル生物としてのクラミドモナスの可能性を紹介する。

1. はじめに クラミドモナスとは

クラミドモナスは緑藻の一種で、湖沼や河川など我々の身近なところにごく普通に生息する単細胞性の真核生物である (図1 A, B)。2本の鞭毛を細胞の前方に持ち、これで水をかいて水中を泳ぐ。眼点という光受容に特化した細胞内小器官で光の来る方向を認識し、走光性を示す。適度な強さの光に対しては正の走光性を示し、細胞に害を及ぼすような強い光に対しては負の走光性を示す。細胞の大半を占めるのは大きな一つの葉緑体である。カップ状の構造をしており、内部にデンプンを蓄積するピレノイドがある。見た目のとおり、クラミドモナスの特徴は鞭毛と葉緑体であり、クラミドモナスを用いる研究者のほとんどがそれらに関連した研究を行っている。概日時計の研究者は筆者を含め極々わずかであるが、鞭毛も葉緑体もそれらの生理機能が概日時計の制御下にあることは特筆すべき点である [1]。

クラミドモナスはモデル生物として優れた性質を持っている。培養が容易であり、マイクロタイタープレートによる微量培養から数十リットルの大量培養まで自由自在である (図1 C)。また、液体培地中では元気に泳ぎ回るが、都合の良いことに寒天培

地上に播くと鞭毛が消失して泳がなくなり、コロニーを形成する (図1 D)。そのため、シングルクローンの分離が容易で、遺伝学に適している。マイクロタイタープレートの1ウェルの中で生活環を回すことも可能で、小さなインキュベータが一つあれば培養から交配まで事足りる。また、遺伝子導入による形質転換が可能である。葉緑体ゲノムの形質転

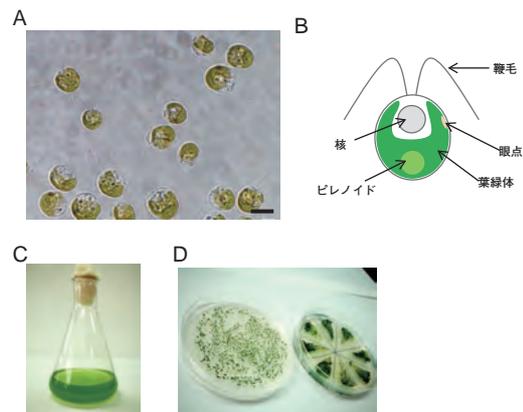


図1 クラミドモナス。(A) クラミドモナス光学顕微鏡像。スケールバーは10 μ m。(B) クラミドモナス細胞の模式図。(C) クラミドモナスの培養液。(D) 寒天培地上で培養したクラミドモナス。

✉t-matsuo@gene.nagoya-u.ac.jp (〒464-8602 名古屋市中種区不老町理学部地区F館5階F510号室) TEL: 052-789-4527 FAX: 052-789-4526

換系が初めて確立された生物であり [2]、その後、核ゲノムやミトコンドリアゲノムの形質転換系も確立された [3, 4]。細胞内の3ゲノム (核、葉緑体、ミトコンドリア) のすべてに関して形質転換が出来る類い稀な生物である。ゲノム配列は、核 (120Mb)、葉緑体 (203kb)、ミトコンドリア (16kb) のいずれも決定されている [5-7]。

2. 時計遺伝子へのアプローチの歴史

2.1 クラミドモナス *per* 変異体

クラミドモナスの時計遺伝子へのアプローチの歴史は古い。1970年にVictor G. Bruceによって初めてクラミドモナスの概日リズムが測定された [8]。彼が測定したのは走光性と細胞分裂の概日リズムであった。とりわけ、走光性リズムに関しては測定が自動化されており、長期間に渡って明瞭なリズムを観察できた。Bruceは走光性リズムを指標に変異体をスクリーニングし、1972年に1つ、1974年にさらに3つの概日リズム変異体を報告している [9, 10]。いずれも長周期変異体で、それらは *per-1*、*per-2*、*per-3*、*per-4* と名付けられた。現在、*per* といえばほとんどの人がショウジョウバエやマウスの時計遺伝子を連想するが、ショウジョウバエで最初に3つの *per* 変異体が分離された当時、もう一つの *per* 変異体群がクラミドモナスにいたのである。ショウジョウバエの *per* 変異体とは対照的に、クラミドモナスの4つの *per* 変異は異なる対立遺伝子上にあり、それらは相加的に周期を延長することがわかった [10]。4重変異体は実に40時間という超長周期を示す [10]。その後、Dieter Mergenhagenも同様の手法で短周期の変異体 (*s*) を分離した [11]。しかし、残念ながら当時のクラミドモナスは遺伝子クローニングの技術があまり整備されていなかった。ショウジョウバエやアカパンカビ、さらにはマウス、シアノバクテリア、シロイヌナズナと次々に時計遺伝子が同定されていく中、BruceやMergenhagenの分離した変異体の原因遺伝子は同定されることなく現在に至っている。

2.2 CHLAMY1、カゼインキナーゼ1

クラミドモナスの時計遺伝子が明らかになったのは、BruceやMergenhagenの研究からずっと後のことである。Maria MittagらのグループはクラミドモナスのRNA結合タンパク質複合体であるCHLAMY1を研究していた。CHLAMY1は特定のmRNAの3'-非翻訳領域に対して主観的夜に強く結

合するタンパク質複合体として発見された [12]。その後、CHLAMY1はクラミドモナス細胞から精製され、2つのサブユニットから成るタンパク質複合体であることが分かった [13]。それらのアミノ酸配列をもとにcDNAがクローニングされ、C1およびC3という2つの遺伝子が同定された [13]。そして、これらの遺伝子のノックダウンおよび過剰発現によりクラミドモナスの概日リズムに大きな異常が現れることを発見した [14]。C1のノックダウンおよび過剰発現はいずれもリズムの消失を引き起こし、C3のノックダウンおよび過剰発現はいずれも位相の前進を引き起こした (表1) [14]。これらのリズム異常は走光性の概日リズムの他に、走光性とは独立した現象であると考えられる亜硝酸還元酵素の活性の概日リズムにも同様の異常を引き起こしたことから、概日リズム発振の中心的な機構の異常であると考えられた [14]。さらにMittagらはクラミドモナスのカゼインキナーゼ1のノックダウン株で周期の短縮と振幅の低下が起こることを示した (表1) [15]。

2.3 RHYTHM OF CHLOROPLAST

CHLAMY1のC1、C3サブユニットのアミノ酸配列は (図2)、他の生物の既知の時計タンパク質の配列と有意な相同性を示さない。クラミドモナスの概日時計は新しいタイプの時計なのであろうか? 当時、クラミドモナスの全ゲノム配列は公開されていたが、他の生物の既知の時計タンパク質の配列と全長に渡って相同性を示すタンパク質をコードする遺伝子は見つからなかった。ただし、シロイヌナズナの時計タンパク質であるCIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1 (CCA1) やLATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY) のDNA結合モチーフであるSingle Myb、およびPHYTOCLOCK 1 (PCL1) (LUX ARRHYTHMO [LUX]) のDNA結合モチーフであるGARPと同じタイプのDNA結合モチーフを持つタンパク質をコードする遺伝子はいくつか見つかった [16]。しかし、それらのモチーフは時計タンパク質に特異的なモチーフではなく、緑色植物の転写因子に一般的に見られるモチーフであったため、配列情報だけでは概日時計との関連は不明であった。

クラミドモナスの全タンパク質の配列をヒトおよびシロイヌナズナと比較すると、クラミドモナス・シロイヌナズナ・ヒトの3つすべてに共通するものは約33%、クラミドモナスとシロイヌナズナに共通

表1：クラミドモナスの時計遺伝子

遺伝子	表現型 ^{※1}	変異株の種類	遺伝子産物
<i>CK1</i>	短周期 (約 1 時間)・低振幅	RNA干渉株	カゼインキナーゼ 1
<i>c1</i>	無周期 無周期	RNA干渉株	RNA結合タンパク質複合体 CHLAMY1のサブユニットC1過剰発現株
<i>c3</i>	位相前進 (約 6 時間) 位相前進 (約 2 時間)	RNA干渉株	RNA結合タンパク質複合体 CHLAMY1のサブユニットC3過剰発現株
<i>ROC15</i>	短周期 (約 3 時間)	挿入変異株	GARPタンパク質
<i>ROC40</i>	長周期 (約 5 時間)・低振幅 ^{※2}	挿入変異株	Single Mybタンパク質
<i>ROC55</i>	短周期 (約 7 時間)・低振幅	挿入変異株	ロイシンリッチリピートタンパク質
<i>ROC66</i>	長周期 (約 5 時間) ^{※3}	挿入変異株	CO/COL様タンパク質
<i>ROC75</i>	無周期	挿入変異株	GARPタンパク質
<i>ROC114</i>	無周期	挿入変異株	F-boxタンパク質

※1 括弧内の時間は野生型との差
 ※2 連続明条件特異的表現型
 ※3 恒常暗条件特異的表現型

でヒトにはないものは約27%、クラミドモナスとヒトに共通でシロイヌナズナにはないものは約10%、クラミドモナス独自のものは約30%である [5]。クラミドモナスは進化的には緑色植物の仲間 (Viridiplantae) であり、シロイヌナズナと共通のタンパク質が多いが、クラミドモナス (緑藻) 特有のタンパク質もかなり持っていると共に、ヒトと共通するタンパク質も無視できない程度持っている。筆者らのグループは、クラミドモナスの概日時計の全体像をつかむためには順遺伝学が不可欠と考え、その系の開発を始めた。その頃、クラミドモナスは既に“Green yeast”と呼ばれるモデル生物であった [17]。Green yeastとは「緑色の小さな真核細胞で、酵母のように分子遺伝学などを適用できる」ことから付けられたニックネームである。つまり、Bruceの時代と違って既に遺伝子クローニングの技術が十分に整備されていた。概日リズムの測定系に関しては現代風にアレンジしてルシフェラーゼレポーターを用いた。少し工夫したのは、クラミドモナスの特長を生かして葉緑体のゲノムにルシフェラーゼレポーターを組み込んだことである [18]。

葉緑体は進化の過程でシアノバクテリアの細胞内共生によって生じたと考えられている。その痕跡として今でも独自のゲノムと遺伝子発現系を持つ。葉緑体の概日リズムは核の制御下にあるのだろうか？そこで、Bruceの*per*変異体 (核遺伝子変異) の葉緑体ゲノムにレポーターを組み込んでみたところ、走光性リズムとほぼ同じ周期の長周期リズムが観察された [18]。これは、葉緑体の概日リズムも核にコードされた時計によって制御されていることを意

味している。よって、葉緑体のリズムを指標として核にコードされた時計遺伝子の変異体が分離できることがわかった。

遺伝子タギング法により作製した約16000個の変異体をスクリーニングし、軽微なリズム変異まで含めて105個のリズム変異体の分離に成功した [19]。そして、それらの原因遺伝子を同定し、最終的には30個の遺伝子に辿り着いた [19]。それらの遺伝子は、指標とした葉緑体のリズムにちなんで *RHYTHM OF CHLOROPLAST (ROC)* 遺伝子と名付けた。それらのうち変異によって特に顕著なリズム異常を示す6つの遺伝子 (*ROC15*、*ROC40*、*ROC55*、*ROC66*、*ROC75*、*ROC114*) を、クラミドモナスの概日時計に関連した主要な遺伝子と位置づけた (表1)。

3. クラミドモナス概日時計の構成因子の特徴

前述の通り、C1、C3は他の生物の時計タンパク質と相同性を示さない。では上記の6個のROC遺伝子のコードするタンパク質はどうだろうか？それらのうち4つ (*ROC15*、*ROC40*、*ROC66*、*ROC75*) はDNA結合モチーフを持つタンパク質である。*ROC40*のDNA結合モチーフはSingle Mybであり、*ROC15*と*ROC75*のDNA結合モチーフはGARPである (図2) [19]。つまり、全ゲノム配列が読まれた時点で見つかったシロイヌナズナの時計タンパク質と同じタイプのDNA結合モチーフをコードする遺伝子が、順遺伝学的スクリーニングによって選択されたわけである。それらに対し、*ROC66*は予想外であった。*ROC66*はZincフィンガー

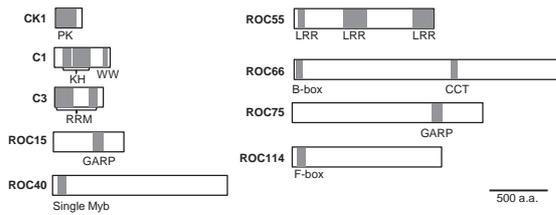


図2 クラミドモナスの時計遺伝子がコードするタンパク質の模式図。PK: protein kinase domain; KH: lysine homology domain; WW: WW (tryptophan-tryptophan) domain; RRM: RNA-recognition motif; GARP: Golden 2, Type-B *Arabidopsis* response regulator, and Phosphate starvation response 1 motif; LRR: leucine-rich repeat; B-box: B-box type zinc-finger motif; CCT: CO, COL, and TOC1 motif

タイプのDNA結合モチーフとCCTモチーフを持つタンパク質である(図2)。このモチーフ構成はシロイヌナズナの光周性花成制御因子であるCONSTANS (CO) やそのホモログであるCO-likeタンパク質 (COL) と類似している [19]。シロイヌナズナにおいてCO/COLファミリーの一部は概日リズムに影響を与えることが知られているが [20]、その影響は弱い。一方、クラミドモナスにおいてはROC66遺伝子の変異体により周期が5時間も延びることから(表1) [19]、シロイヌナズナと比べるとクラミドモナスのCO/COLファミリーは概日時計により深く関わっていると思われる。ただし、シロイヌナズナのCO/COLファミリーには機能未知のタンパク質も多く、それらの中に概日時計に強い影響を与えるタンパク質がある可能性は否定できない。

上記の4つの転写因子様ROCタンパク質と異なり、残りの2つのROCタンパク質 (ROC55、ROC114) はシロイヌナズナおよびその他の生物のタンパク質と高い相同性を示さず、緑藻特有のタンパク質と考えられる。ROC55はロイシンリッチリピートを持つタンパク質で、他のタンパク質との相互作用が予想される(図2) [19]。ROC114はF-boxモチーフを持っており、ユビキチンリガーゼとして機能すると推測される(図2) [19]。

以上のように、クラミドモナスの概日時計にはCHLAMY1複合体やROC55、ROC114のような他の生物の概日時計に見られない因子と、ROC15、ROC40、ROC66、ROC75のような陸上植物の概日時計および花成制御に関わるタンパク質と同じタイプの転写因子様タンパク質が少なくとも関わっていることがわかった。また、概日時計に関連するタンパク質は、転写因子、F-boxタンパク質、カゼイン

キナーゼなど、他の真核生物とよく似ていることがわかった。ただし、C1の過剰発現/ノックダウンでリズムの消失が見られるように [14]、RNA結合タンパク質がかなり強い影響力を持つことは特筆すべき点である。

4. 概日時計の進化

4.1 緑色植物の概日時計の進化

クラミドモナスの概日時計とシロイヌナズナの概日時計/光周性花成制御機構には、同じタイプのDNA結合モチーフを持つ転写因子が多く関わっていることが明らかになった。これは単なる偶然だろうか? 相同性が一般的なモチーフに限られ、その他の領域ではほとんど相同性が見られず、なお且つ、タンパク質全体としてのサイズが大きく異なっているため、どの程度機能が保存されているのか不明である [19、21]。しかし、これだけ同じタイプの転写因子様タンパク質が概日時計、およびそれと深く関連した花成制御機構に関わっているという事実は全くの偶然とは考えにくい。クラミドモナスよりさらに古い時代に陸上植物との共通祖先から分岐した藻類であるプラシノ藻のオストレオコッカス (*Ostreococcus tauri*) でもSingle MybタイプのDNA結合モチーフを持つタンパク質と、シロイヌナズナの時計タンパク質TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOC1) と同じモチーフ構成のタンパク質が概日時計に関わっていることが、2009年に明らかになった [22]。また、CCA1/LHYタイプの転写因子は原始的な陸上植物であるコケ (*Physcomitrella patens*) においても概日時計に関わっている [23]。おそらく、緑色植物の系統の概日時計は、同一のシステムを起源としており、現在では多様化して主要なモチーフ以外のアミノ酸配列やタンパク質のサイズ等が大きく変わると共に、それぞれの生存戦略に応じて役割を特定の現象 (花成など) に特化させてきたのではないだろうか。また、クラミドモナスのように独自の構成因子を取り入れたものもいると思われる。クラミドモナスやオストレオコッカスで分子機構の理解が進めば、それぞれの構成因子の機能の共通性、もしくは相違が見えてくると期待される。また、さらに古い時代に緑色植物と分岐した紅藻や灰色藻で概日時計の構成因子が同定されれば、植物時計の起源をさらに遡ることができる。紅藻の一種のシアニディオシゾン (*Cyanidioschyzon merolae*) はゲノム配列が既に決定されており [24]、そのゲノム配列を検索すると

Single MybやGARPタイプのDNA結合モチーフを持つタンパク質をコードする遺伝子が見つかる。これらが概日時計として機能しているのか大変興味深い。

4.2 真核生物全体における既知時計遺伝子

次に、真核生物全体に目を向けてみる。概日時計の研究は動物、植物、菌類などの多細胞化した大型の生物がよく使われる。これは分子レベルの指標がない時代から概日リズムを観察できたためであろう。しかし、生物の世界にはクラミドモナスのような肉眼では見えない真核生物が無数に存在している。これらはまとめて原生生物 (Protist) と呼ばれてきた。近年、電子顕微鏡による微細構造の研究と分子系統学の進展によって、原生生物の驚くべき多様性が明らかになり、真核生物全体の構成が理解されつつある。その結果、真核生物全体は比較的少数のスーパーグループから成ることが明らかになっている (図3) [25, 26]。この分類によると、クラミドモナスの属する緑藻は、陸上植物・プラシノ藻と共にスーパーグループ「植物」に属する。一方、哺乳類・昆虫などの後生動物はスーパーグループ「オピストコンタ」に属するが、同じスーパーグループになんとアカパンカビなどの菌類も属する。オピストコンタが単系統群であることは、分子系統学に加え、鞭毛を持つ細胞 (動物の精子やカビの胞子) が一本の鞭毛を細胞の後方に持つという微細構造の特徴から強く支持されている [27]。よって、オピストコンタには、*per*などの昆虫・哺乳類の時計遺伝子群と、*frq*などの菌類の時計遺伝子群の少

なくとも2タイプの時計遺伝子群が存在することになる (図3)。一方、真核生物全体を見渡すと、我々が時計遺伝子を知っている生物種は、いくつかあるスーパーグループのうちのたった2グループ (オピストコンタと植物) の中に収まってしまう (図3)。しかし、残りのスーパーグループにも、ゾウリムシ (繊毛虫類)、ゴニオラクス (渦鞭毛植物)、ミドリムシ (ユーグレナ植物) など、概日リズムを示すことがわかっている原生生物がいる (図3)。原生生物の世界には我々の知らない時計遺伝子がまだ山のようにあると思われる。真核生物における概日時計の進化を理解するには、もっと多くの原生生物に目を向ける必要がありそうだ。

5. クラミドモナスの1日

ここでクラミドモナスの1日の生活を紹介する。夜明け前から早朝にかけて葉緑体の遺伝子発現がピークとなり [28]、光合成の準備が整う。その後、走光性活性のピークが訪れ [8]、より光の強いところへ移動して活発に光合成を行う。光合成産物はデンプンとしてピレノイドに蓄えられ、夕暮れ付近でその含量がピークとなる [29]。日が暮れるとデンプンを消費しながら活動し、十分に大きくなった細胞は夜間に分裂する [8, 30]。その日に分裂しない細胞は、夜間に窒素化合物に対する正の走化性を示し [31]、窒素化合物の豊富な場所へ移動する。それに引き続き、夜明け頃に窒素化合物の取り込みのピークと代謝のピークが順番に訪れる [14, 31]。また、夜間は細胞表面の粘着性が高まる [32]。どのような効果があるのか不明であるが、窒素化合物の豊富な場所で何かに張り付き、その場に留まるためではないかと考えられている。窒素源が欠乏するとクラミドモナスは配偶子となり、雌雄が鞭毛を絡み合わせて接合して胞子を形成し、環境が改善するまで休眠する。接合の活性が最も高まるのが本来窒素代謝の高まる夜明け頃である [33]。このように、クラミドモナスのような小さな単細胞でも、様々な概日リズムを示し、それらが時間的に調和されて出力されているのである。

6. 概日時計研究におけるクラミドモナスの可能性

6.1 細胞内小器官の概日制御

クラミドモナスの特徴は、やはり鞭毛と葉緑体である。いずれも構造や機能の分子レベルの研究が非常に進んでいる。そして、上記の様々な概日リズムのほとんどがそれらの細胞内小器官の活動に関係し

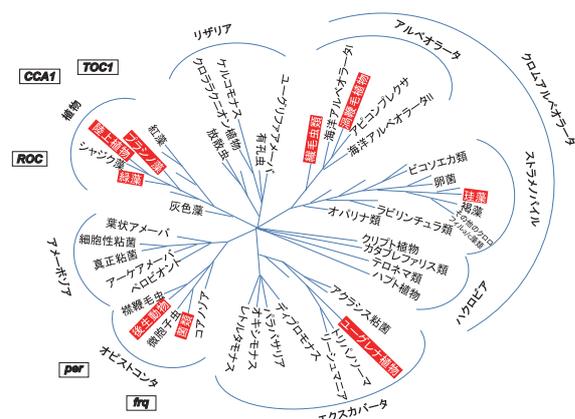


図3 真核生物のスーパーグループと時計遺伝子。概日リズムを示すことが知られている生物を含む分類群は白抜き文字で示す。また、代表的な時計遺伝子を示す。Baldauf [25] と井上 [26] をもとに作図。各スーパーグループ間の系統関係は未だ明確ではない。

ている。クラミドモナスの時計遺伝子が同定されたことで、概日時計とこれらの細胞内小器官との分子レベルの接点を解明できるかもしれない。特に葉緑体に関しては形質転換系が初めて確立された生物というだけあって遺伝子変換のノウハウが蓄積しており、著者らが行ったようにレポーターを使うことも容易である。核と葉緑体のダブルレポーターなどを用いることで、時計遺伝子をコードする核ゲノムとその出力の一端である葉緑体ゲノムへの時間情報の流れを分子レベルで解明できると期待される。

葉緑体は概日時計システムにおいてただの末端（出力）なのだろうか？ミドリゾウリムシ (*Paramecium bursaria*) は光合成生物のクロレラを細胞内に共生させる。この場合、共生体であるクロレラの概日時計が、宿主の概日リズムを支配してしまうことがわかっている [34]。前述の通り、Bruceの*per*変異体は葉緑体リズムにおいても長周期を示すので、現在のクラミドモナスにおいては核の時計がドミナントであることは明らかである [18]。しかし、このデータは従属的な振動体（葉緑体時計）の存在を否定するわけではない。かつてシアノバクテリアの細胞内共生によって生じた葉緑体は、現在のミドリゾウリムシのケースのように、宿主に対して何らかの時間的制御をしていたのではないだろうか。たとえ現在において葉緑体時計はないとしても、核の概日時計に対する何らかのフィードバックがあるのではないだろうか。葉緑体（光合成）の概日リズムは植物のリズムの代表格のようなものであるが、実は解らないことがまだ多い。クラミドモナスのような葉緑体の研究に適したモデルは、概日時計と葉緑体の関係を調べる上で非常に有用である。

6.2 光入力系

動物はえさを食べることで炭素源を取り込む従属栄養生物である。それに対して、植物は光合成で自ら炭酸固定を行う独立栄養生物である。クラミドモナスは光合成による炭酸固定もできるが、酢酸などの炭素源を培地に入れておくと、それを取り込んで利用できるため、光がなくても生育できる。これは光合成研究において非常に強力な特性であった。なぜなら、光合成変異体が致死にならずに分離できるからである。緑色植物の概日時計の光入力系の研究においてもこの特性は有用である。恒暗条件下において、シロイヌナズナなどの陸上植物では明瞭な概日リズムを示す現象（レポーター遺伝子）が限られ

ているが、クラミドモナスでは様々な現象において極めて明瞭なリズムを観察できる。従って、恒暗条件下での光パルスによる位相変化の詳細な解析により適している。クラミドモナスの光パルスによる位相反応のアクションスペクトルは走光性リズムを指標として調べられ、緑色光と赤色光、特に赤色光に対して強く反応することがわかった [35]。植物で赤色光というとフィトクロムが思い浮かぶが、フィトクロムの関わる現象が示すような遠赤色光照射による打ち消し効果は、クラミドモナスの位相反応では見られない [35]。また、全ゲノム配列からもフィトクロムのホモログは見つかっておらず [5, 16]、クラミドモナスには未知の赤色光受容体があると思われる。クラミドモナスの概日光受容体が見つかれば、植物の概日時計の進化を考察する上で大変興味深い知見となるに違いない。

6.3 多細胞化

クラミドモナスは近縁種のボルボックスとあわせて多細胞化のモデル生物である。ボルボックスはクラミドモナスのような細胞が集まった“群体”と呼ばれる原始的な多細胞生物である。群体を構成する個々の細胞の見た目があまりにもクラミドモナスに似ているので、「クラミドモナスが集まったものがボルボックス」と誤解する人も多い。別種ではあるが、やはり極めて近縁であり、ROC55やROC114のような陸上植物を含む他の生物では見られない時計タンパク質も、ボルボックスにはホモログが存在する [19]。概日時計の多細胞化の初期段階のモデル系として、今後の解析が期待される。

6.4 翻訳後振動体 (Posttranslational oscillator)

これまで時計遺伝子の研究が進んできた生物と比べると、クラミドモナスの特徴は「真核の単細胞」という点である。今、真核生物の概日時計研究において最も重要な課題の一つは、「原核生物（シアノバクテリア）と同じか？」であろう。周知の通り、シアノバクテリアでは概日時計の試験管内再構成に成功し、遺伝子発現のフィードバックループを介さなくともKaiタンパク質のみで概日振動を生み出せることがわかった [36]。古くから知られている巨大緑藻カサノリの除核実験や [37]、最近のPeroxisomeのリズムの発見から [38-40]、真核生物においてもそのような翻訳後振動体が広く存在することは証明されているが、振動体の実体はまだ掴めていない。シアノバクテリアがそうであったよ

うに、このような生化学的振動体に切り込むには、単純なモデル系が有用であると思われる。単純な真核細胞のモデル系と言えば酵母 (Yeast) である。しかし、酵母は概日時計らしいものは持っているが [41]、リズムがあまり明瞭ではない。それならば、“Green yeast” クラミドモナスの出番ではないだろうか。

おわりに

クラミドモナスは、鞭毛や葉緑体に関連した学会や研究会等においては比較的メジャーなモデル生物で、Chlamy (日本ではクラミ) の愛称で親しまれている。時間生物学の分野では今のところマイナーな生物ではあるが、Green yeastの利点を最大限に生かせば、本分野に貢献できることがまだまだあると考えている。本稿を読んでいただいた方が、少しでも「クラミの時計」に関心を持っていただければ幸いである。

引用文献

- 1) Matsuo T, Ishiura M: *Int Rev Cell Mol Biol* 280:281-314(2010)
- 2) Boynton JE, Gillham NW: *Methods Enzymol* 217:510-36(1993)
- 3) Kindle KL: *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:1228-32(1990)
- 4) Remacle C, Cardol P, Coosemans N, Gaisne M, Bonnefoy N: *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:4771-6(2006)
- 5) Merchant SS, et al: *Science* 318:245-50(2007)
- 6) Maul JE, Lilly JW, Cui L, dePamphilis CW, Miller W, Harris EH, Stern DB: *Plant Cell* 14:2659-79(2002)
- 7) Michaelis G, Vahrenholz C, Pratje E: *Mol Gen Genet* 223:211-6(1990)
- 8) Bruce VG: *J Protozool.* 17:328-334(1970)
- 9) Bruce VG: *Genetics* 70:537-48(1972)
- 10) Bruce VG: *Genetics* 77:221-30(1974)
- 11) Mergenhagen D: *Eur J Cell Biol* 33:13-8(1984)
- 12) Mittag M: *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:14401-4(1996)
- 13) Zhao B, Schneid C, Iliev D, Schmidt EM, Wagner V, Wollnik F, Mittag M: *Eukaryot Cell* 3:815-25(2004)
- 14) Iliev D, Voytsekh O, Schmidt EM, Fiedler M, Nyktyenko A, Mittag M: *Plant Physiol* 142:797-806(2006)
- 15) Schmidt M, et al: *Plant Cell* 18:1908-30(2006)
- 16) Mittag M, Kiaulehn S, Johnson CH: *Plant Physiol* 137:399-409(2005)
- 17) Goodenough UW: *Cell* 70:533-8(1992)
- 18) Matsuo T, Onai K, Okamoto K, Minagawa J, Ishiura M: *Mol Cell Biol* 26:863-70(2006)
- 19) Matsuo T, Okamoto K, Onai K, Niwa Y, Shimogawara K, Ishiura M: *Genes Dev* 22:918-30(2008)
- 20) Ledger S, Strayer C, Ashton F, Kay SA, Putterill J: *Plant J* 26:15-22(2001)
- 21) Matsuo T, Ishiura M: *FEBS Lett* 585:1495-502(2011)
- 22) Corellou F, Schwartz C, Motta JP, Djouani-Tahri el B, Sanchez F, Bouget FY: *Plant Cell* 21:3436-49(2009)
- 23) Okada R, Kondo S, Satbhai SB, Yamaguchi N, Tsukuda M, Aoki S: *Plant J* 60:551-63(2009)
- 24) Matsuzaki M, et al: *Nature* 428:653-7(2004)
- 25) Baldauf SL: *Science* 300:1703-6(2003)
- 26) 井上 勲: 藻類30億年の自然史, 東海大学出版会, (2007)
- 27) Adl SM, et al: *J Eukaryot Microbiol* 52:399-451(2005)
- 28) Hwang S, Kawazoe R, Herrin DL: *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:996-1000(1996)
- 29) Ral JP, Colleoni C, Wattedled F, Dauvillee D, Nempont C, Deschamps P, Li Z, Morell MK, Chibbar R, Purton S, d'Hulst C, Ball SG: *Plant Physiol* 142:305-17(2006)
- 30) Goto K, Johnson CH: *J Cell Biol* 129:1061-9(1995)
- 31) Byrne TE, Wells MR, Johnson CH: *Plant Physiol* 98:879-86(1992)
- 32) Straley SC, Bruce VG: *Plant Physiol* 63:1175-81(1979)
- 33) Ishiura M, Iwasa K: *Plant Cell Physiol* 14:935-39(1973)
- 34) Miwa I, Izumo T, Sonoda T: *J Eukaryot Microbiol* 43:231-6(1996)
- 35) Kondo T, Johnson CH, Hastings JW: *Plant Physiol* 95:197-205(1991)
- 36) Nakajima M, Imai K, Ito H, Nishiwaki T, Murayama Y, Iwasaki H, Oyama T, Kondo T: *Science* 308:414-5(2005)

- 37) Sweeney BM, Haxo FT: Science 134:1361-63 (1961)
- 38) O'Neill JS, Reddy AB: Nature 469:498-503 (2011)
- 39) O'Neill JS, van Ooijen G, Dixon LE, Troein C, Corellou F, Bouget FY, Reddy AB, Millar AJ: Nature 469:554-8(2011)
- 40) Edgar RS, et al.: Nature 485:459-64(2012)
- 41) Eelderink-Chen Z, Mazzotta G, Sturre M, Bosman J, Roenneberg T, Meroow M: Proc Natl Acad Sci U S A 107:2043-7(2010)