

植物の概日リズム研究に関して

中道範人[✉]

名古屋大 トランスフォーマティブ生命分子研究所

概日時計は様々な生理現象のあらわれる時間帯を制御することで、24時間の環境変化に生物を適応させている。植物においては、ガス交換のための気孔の開閉運動、細胞の伸長、葉の上下運動などが概日リズムを示す。また植物は概日時計の時間情報と、昼夜の光環境変化を参照させ、日長を測定する。その結果、繁殖にもっとも適切な季節に一斉に花芽を発生させ、交雑をする(光周性花成)。このように概日時計の関わる現象は、個体の生長から集団レベルの繁殖まで幅広い。リズムの根源となる概日時計の分子機構と時計による出力系の現象の制御様式の一部について、また私たち人間の生活にも関わっていた植物の時計の側面について紹介したい。

はじめに

筆者が時間生物学会に入り、最初の年会で学んだことの1つに、「昼夜変化や季節変化に生命は実に良く適応してきた」ということだ。この適応をもたらした体内時計の働きは普段は気にも留めないが、海外旅行時の時差ぼけで体験できる。植物など光合成産物にエネルギーを依存する生命は、特に昼夜環境変動に応答する必要であろう。向日葵はその名のとおり、太陽に向く性質があり、日没時には西を向いているが、翌朝には東を向いている。これはやってくる時間と太陽の方向を予期した反応ともいえる。この「向日性」を、色々な方法で阻害すると生育が悪くなる。つまり時計による向日性は、向日葵では重要な生理現象といえる [1]。また野外で栽培されているイネでは、全体の約3割にあたる遺伝子の発現に概日時計が主要な制限要因となっている [2]。時計が植物にとって重要であることの証拠であろう。本稿では、植物の時計分野での研究の概説を筆者がこれまで取組んできた研究と織り交ぜながら紹介していきたい。

植物の時計分子遺伝学の黎明期

筆者がリズム研究と出会ったのは、卒業研究で在籍していた名古屋大学農学部の水野猛先生の研究室だった。その当時、水野先生は、1つのテーマとし

て大腸菌で発見した情報伝達系(His-Aspリン酸リレー系)の普遍性と多様性をシアノバクテリア、酵母、そして植物などで研究されようとしていた。His-Aspリン酸リレー系は、環境シグナルやリガンドを認識するセンサータンパク質と、活性化したセンサータンパク質からリン酸基を転移されるレスポンスレギュレータータンパク質(RR)からなり、原核生物の環境応答において重要な役割を担うことが分かっていた。そして当時少しずつ公開されてきたデータベースの検索で、このセンサーやRRがどうやら動物を除く真核生物にも保存されていることが明らかとなってきた。植物でもセンサーやRRが発見され、植物ホルモンであるエチレンの受容、サイトカイニンの受容と情報伝達系として機能することがその当時明らかになりつつあった [3]。

水野先生はシロイヌナズナのデータベースの検索で、RRにそっくりだが、センサーからリン酸基転移される可能性のないタンパク質(PSEUDO-RR, PRR)があることを見いだした。ナズナのRRの中には、遺伝子発現そのものがサイトカイニン添加に応答するものもあった。そこで先生や先輩方の最初の実験として、PRR遺伝子群もサイトカイニン添加に応答するか否かを検討した。植物は明暗チャンバーで育てられており、朝8時にサイトカイニン処理あるいは対照実験として溶媒処理がされていたが、ど

✉nnakamichi@itbm.nagoya-u.ac.jp

これらの処理でも夕方にかけてPRR1遺伝子の発現が上昇した。この現象についてももう少し踏み込むと、PRR1遺伝子の発現は日周リズム、そして概日リズムを刻むことが分かった [4]。さらにPRR1以外の奇数番号のPRR遺伝子群も、特定の時刻に発現ピークを持つリズムを持つことが分かった [5]。ほぼ同時期にこのPRR1が、Steve Kayラボの追いかけていた自由継続リズム周期の変異体TIMING OF CAB EXPRESSION 1 (TOCI)と同一であることがScience誌に報告された [6]。また同じ年にシアノバクテリアにおいてHis-Aspリン酸リレー因子が、Kai遺伝子群の発現調節に関わることが、当時近藤孝男ラボにおられた岩崎さんがCell誌に報告している [7]。

その当時私自身は、酵母のリン酸リレー系の解析をしていたのだが、とてもエキサイティングな研究が、「植物」、「時計」、「リン酸リレー系」をキーワードとして展開しているのだなあと感じたものだった。

時計の研究を始めて

筆者は修士課程まで酵母のHis-Aspリン酸リレー系の解析をしていたが、酵母の解析は修士までと決めて、博士課程も水野先生にお世話になることとした。酵母の研究はツールも揃っていたし、結果も早く出て、それはそれで良かったのだが、すでになんかの知識が集積されていて、研究成果の発表が難しい分野になっていた。酵母研究者と思われるレビューアーからは、「この実験もしろ、あの実験も出来るはず、あと締切りは守ってね」、と突っ込まれ、水野先生からは、「そういった最先端の実験を短期間で修士の学生が立ち上げるのは無理だから」と言われて、モデル生物の研究は難しいなあ、と思ったことを覚えている。

その頃「あまり研究されていないことをしたら？」を先生からアドバイスをうけて、ようやく責任遺伝子が報告されてきた植物の時計を博士課程のテーマとさせて頂いた。植物の時計の研究も、古くからされてきたが、「分子遺伝学」という観点で研究されている人口はそれほど多くないと勝手に思っていた。赴任されたばかりだった山篠貴史先生や他の学生さん達と協力して、PRRのクローニングや変異体の取得を始めた。当時はリズム解析というと木曜日夜から月曜日朝まで3時間おきの植物サンプリングを、だいたい月に1回のペースで行っていたが、なぜか関係ないテーマの学生も徹夜に付き合っ

てくれて、楽しい夜を過ごさせてもらった。博士論文までには、PRR遺伝子群が時計機能に必要という結論を得た [8など]。

それと並行して、植物の時計は細胞レベルでも見られるのか？という問いをたて、それを検証することも行った [9]。始めのうちは、培養細胞系をいつものように経時的にサンプリングしたのちに遺伝子発現を解析していた。そのうちに、この方法では4日間続くサンプリング作業が大変で、さらに時間解像度も良くないということに気付いた。同じ学内の近藤ラボでは、発光レポーターを自動測定器で検出することで概日リズムを出していたため、そこにもぐりこんで、自動測定器の組み立てをさせてくれなにかとお願ひした。ご快諾頂いて、毎週土曜日のお昼から近藤先生自ら測定機の設計の授業をして頂いたこと、近藤研のメンバーと機械工作や回路設計を行ったことを懐かしく思う。この際に作製した測定器は、今でも問題なく使えると伺っている。この測定器によって、植物の培養細胞系でも自動的に時間解像度のよいリズムデータが取ることができるようになり、この細胞系にも概日時計があると結論づけることができた [10]。細胞のリズムが概日時計に由来するかどうかの判断は、当時近藤研におられた小山時隆先生と夜のディスカッションで到達できた。

時間生物学会との出会い

博士課程のころ、時間生物学会に入会した。まずこの学会の特徴「生物の時間をキーワードにして、幅広い生物種、生命現象、また基礎から臨床や応用まで網羅している」に驚いた。またアプローチも様々であり、リズム研究初心者の筆者としてはとても得るものが多かった。特に理論系の研究者の考えや研究スタイルは、実験科学の研究文化とは異なっており、大変変わった。その当時知り合った理論学者の1人に福田弘和先生がおられた。共に大学院生だったが、福田さんはすでに1人で論文を書くような研究をされており、感銘をうけた。当然のことだが、テーマ設定、実験の組み立て、考察、論文作製、投稿や受理までやっておられたと記憶しており、自分のやっていることは本当に研究なのかと愕然としたことを思い出す。幸いにもその後、福田さんと共同研究もでき、理論学者の考え方を学ぶ良い機会となった [11]。生物系の研究は、ともすると本当に研究室に閉じこもり、ひたすら実験するだけにもなるケースもあるが、時間生物学会と若手研究者の会（生物リズム若手研究者の集い）は視野を広げ

る機会をいつも提供し続けてくれている。当初は学位を取るためだけに植物の時計研究を始めたのだが、時間生物の学問としての懐の深さや、関連領域の広さに気付かされた。学会学会員の先生方や皆様には本当に感謝している。

それでも実験生物学

植物の時計の分野では、時計に関わる遺伝子は見つかるが、その分子機能が不明である場合が多かった。この点を明らかにすることが、魅力的に思えたので、生化学的な手法を得意とされる近藤研で学振PDを過ごした。もちろん生化学だけでなく、時間生物学を学べたことは大きかった。その辺りから研究の1つのテーマをPRRの分子機能の解明と絞って、色々な手探りを始めた。始めは、リコンビナントタンパク質を用いたアプローチを主にとっていたのだが、雲をつかむような感じで全く結果が出なかった。その頃、植物の分野で機能不明だったタンパク質が新たなホルモンの合成経路を担うという発見を、理化学研究所におられた榊原均先生が発表された [12]。榊原先生は、たまたまその当時私と共同研究を始めていた [13, 14]。そこで、植物を材料とした生化学が上手い榊原ラボに移ってPRRの分子機能の解明へ向けた実験を始めた。移動してすぐに、リコンビナントタンパク質が実際に機能的かどうかは、ポジティブな最終結果が出るまで全く分からなく、自分の精神衛生上良くないと判断した。これは3年という(書面上の)自分の研究任期も考えた上でもあった。

考えを変えて、細胞の中で機能的な働きを持つことが示されるPRRを使った実験を行い始めた。細胞内のPRRは機能的であることが補償されているので、これは大きな心の拠り所になった。方針を変えてから、半年くらいでPRRの分子機能が転写抑制因子であることを暗示する結果が出始めた。例えば、PRR5と動物のステロイドホルモン受容体の融合タンパク質を植物細胞内で発現させたところ、ホルモン添加依存的にPRR5の生理機能(茎が短くなるという時計出力系)を発揮できることが確認されたが、重要なこととしてホルモン依存的にこのPRR5-ホルモン受容体融合タンパク質は、時計関連遺伝子の *CIRCADIAN CLOCK-ASSOCIATED 1 (CCA1)* と *LATE ELONGATED HYPOCOTYL (LHY)* の発現を抑制したことを見いだした。この抑制は、十分な量のタンパク質翻訳阻害剤の存在下でも観察された。以上をはじめとしたいくつかの実験結果を総合

的に解釈すると、PRRは時計機構で働く転写抑制因子であることが示唆された [15]。ポスドクとして、文字通り「24時間365日」研究のことに集中できたこの期間は、研究者としてやっていくためにこの上ない財産になったと感謝している。

時計の転写制御ネットワーク

古くから植物の多くの生理現象は、概日リズムを示すことが報告されてきた。たとえば、葉の上下運動、ガス交換の場である気孔の開閉運動、花卉の開閉運動、茎の伸長などである。また季節に応答した花芽形成。これらの現象の時間情報の根源は、概日時計と示唆されていた。これらの説をサポートするように、マイクロアレイなどの網羅的な遺伝子発現解析から、ある生理現象を協調して動かす遺伝子群は特定の時刻に発現することが示されていた [16, 17]。しかし、時計に関わるタンパク質の分子機能が不明であったため、時計から出力系への経路の分子機構は分かっていなかった。

PRRが転写調節因子として働くことをうけて、PRRの直接的な標的遺伝子の探索を行った。この研究の核となったのは、クロマチン免疫沈降(ChIP)と高速DNAシーケンス(ChIPseq)であった。当時は植物の領域では、この解析法はほぼ報告されてなく、手探りで研究を進めていたが、1つ1つ条件を詰めていった。最初は通常のChIPを行い、そこからライブラリーを作製したが、あまりにも多くのオルガネラ由来のゲノムが混入して、全くゲノムが読めず、その当時はかなり高価だった高速DNAシーケンス解析費を無駄にしてしまった。そこで次はきちんと核を単離した後にChIPを行った。PRRの標的遺伝子はいくつか分かったものの、この回はヒトゲノムの混入があって、論文のデータとして提出できるレベルではなかった。予算的にもこれが最終回だと宣告されたChIPでは、ライブラリーの評価をマニュアルで行い、オルガネラDNAもヒトゲノムも(念のために大腸菌や酵母など実験室にありふれた生物のゲノムも)ほぼ混入していないことを確認の上、高速DNAシーケンス解析をした結果、ようやく成功した。今でも実験の際には心猿定まらなく、ついつい先走ってしまうが、精密な実験に対する感覚と予算残高に対する本心からの恐れ(?)は、ChIPseqでやっと身に付いた。この解析により、PRR5は開花時期、組織の伸長、低温ストレス応答の鍵となる複数の転写因子群の発現時刻を直接的に制御する仕組みが具体的に明らかとなった [18]。同

様に高速DNAシークエンサーを用いた解析から、朝の時計転写因子CCA1は、乾燥ストレス応答、ワックスの合成などの鍵転写因子群の発現時刻を制御することが分かった [19]。この解析にあたって、パーソナル型高速DNAシークエンサーも導入でき、外注することなく1ラボで全てのChIPseqができるようになった。生物ウェット系ラボでもオミックスの教育が実地にできる基盤が少しでも整ったことは感謝したい。

時計転写因子が鍵となる転写因子達を標的とし、さらにこれら転写因子群が各々特定の生理現象に関わる遺伝子を一括して調節することにより、特定の時刻での生理現象が活性化することを可能にしていると考えられる。このような転写因子群の発現を介した調節機構は、植物だけでなくシアノバクテリア、カビ、昆虫、そして動物の時計の出力系制御でも見られている [20, 21, 22, 23]。この調節様式は、少ないリンクで、より多くの遺伝子群の発現制御が出来る構造だ。時計転写因子は、仲介する転写因子の発現そのものを制御するだけで、この転写因子は無数の標的遺伝子を制御でき、時計転写因子が直接的に多数の標的遺伝子群を持つよりも、時計としてのコストは少ないと考えられる。ナズナの場合、時計転写因子の存在量が多すぎると時計そのものが攪乱される [24, 25, 26]。したがって、時計転写因子は自身の数にリミットがあり、それを超えない範囲で多数の遺伝子発現を制御しなくてはならない。そのような制約が、直下に鍵転写因子を持つようになった理由かもしれない。またリンクの少ないメリットはもう1つある。それは、出力現象間での時間的な混線を小さくすることだ。正反対の生理応答（例えば熱応答と低温応答、エネルギー吸収とエネルギー消費など）を同じ時刻で活性化するのは極力さげたい。相反する応答同士が、互いに負に制御しあうという経路がなくても、時計による時間的な区分けを成立させると、これらの応答は同時間におこらない。このように時計による時間分業は、生命サブネットワークの不必要な混線を防ぐために役立っていると推測される。

植物の時計と人間の生活

研究室の中で行われた分子機能やネットワークの解析はどれほどインパクトを持つのであろうか？ 基礎的な理解が将来的な応用のタネとなることは疑いようがないが、植物の時計の研究はそもそも応用研究が発端となった分野でもある。この辺りのこと

は、田澤先生の著書で詳しく書かれているが、かいつまんで紹介させて頂きたい [27]。植物は花芽を作る前と後で劇的に生活環が変わり、花芽を作るタイミングは農業上重要なことが知られている。1920年にアメリカ農水省のガーナーとアラードが、いくつかの農作物の花芽形成を制限する環境要因を探し、日長が最も強く影響を与える環境変化であることを報告した[28]。1930年代にビュニングは、植物が日長を測る仕組みとして、体内の計時機構、すなわち概日時計を提唱した[29]。なおガーナーとアラードの論文では、興味深い現象が報告されている。ダイズの一般的な品種は光周性を示し、日長が短くならないと花芽を作らないが、ある品種は日長に依存せず、花芽をつくるため、高緯度のような夏の日長が長い条件下でも早く花が出て、早く収穫ができる[28]。この品種の存在は、光周性反応の人為的な微調整が育種過程で行われてきたことを意味している。さらにダイズ以外にも、イネ、コムギ、オオムギ、ソルガム(アフリカなどでは実を食べるし、少し前のアメリカでは砂糖の原料となっていた)、トウモロコシ等々の作物で花芽形成時期の変更を達成する育種がされている。近著でまとめているが、その中から少し事例を紹介したい [30]。

例えばイネ(ジャポニカ米)は、中国南部が原産の植物で、短日植物として知られる。したがって、原種に近い品種は強い日長応答性を残しており、高緯度（夏はかなり日長が長い）では花芽形成ができず、栽培ができない。一方、現在北海道や中国東北部で栽培されている品種は、日長応答性が低下しており、このような地域でも花芽をつくり、栽培可能である。このような品種の原因遺伝子の1つこそが、ナズナのPRR遺伝子の相同遺伝子であった [31]。コムギはメソポタミア文明が発祥であり、長日植物として知られる。日本でも古くから栽培されてきたが、収穫期が梅雨の時期にあたり、最悪のケースでは雨水によって穂の中で種子が発芽しまう(穂発芽)。そのため、梅雨に入る前の早い時期に収穫できる早咲き品種が作られてきた。この早咲き品種は明治期にヨーロッパに持込まれ、現在の早咲き品種の親株となった[32]。コムギはゲノムを3セット持つ倍数体であり、劣勢変異は他のゲノム由来の相同遺伝子の働きにより補完されるため、良い品種を生み出すことは難しい。だが前述した早咲きの遺伝的な原因は、ある遺伝子の転写調節領域にトランスポゾンが挿入され、この遺伝子の発現が恒常

的活性化していたことによる。この遺伝子もナズナのPRR遺伝子の相同遺伝子であった [32]。またビールの原料の1つであるオオムギの有用晩生品種でもナズナのPRR相同遺伝子の変異が晩生の原因とされている[33]。

PRR遺伝子以外にも、続々とナズナの時計関連遺伝子の相同遺伝子の変異が、穀物の花成時期の変更に寄与したことが明らかとなっている（私たちが日ごろ食している穀物のほとんどは、何かしらの時計関連遺伝子の変異体である） [30]。主要穀物の花成時期は育種の主要ターゲットの1つであり、この人為的調整が人類の歴史に貢献した度合いは計り知れない。

現在の取組み

植物の時計の分子機構の理解は、主に分子遺伝学の方法で得られてきている。しかしほとんどの高等植物は全ゲノム重複をさせた経緯があるため、多くの遺伝子で重複性を持つ。遺伝子機能の重複性を前提とし、時計の分子機構の理解を求める方法として、新たに合成化合物を用いた解析を始めた。機能重複するタンパク質は、同一の化合物により活性が阻害されるという考えだ。スクリーニングを始めたころ、名古屋大のトランスフォーマティブ生命分子研究所 (ITbM) に参加させて頂くことになった。この研究所では、動物の時計研究者、植物生理研究者、合成化学研究者、数理理論研究者などが、文字通り壁のない居室で生活しており、生物種も現象も超えたディスカッションが日常的に出来る。今までに数万の化合物スクリーニングにより、リズムパラメーターを変える化合物が数種類得られている。このうちの2つの化合物は、互いに構造が似ているにもかかわらず、1つは長周期化、もう1つは短周期化という真逆の活性をもつ。またこれらの化合物は、既知の周期変異体にも効果があることから、未知の標的を持つことが示唆されている。この化合物群の作用機序の研究は、隠された時計の分子基盤を明らかにするであろう。また時計関連遺伝子の変異の有用性が確かになった今、時計を標的とした化合物・調整剤は、農業上非常に有効なものとなると期待される。

植物の概日時計やリズムの研究分野は、学問としての懐の深さや、その関連領域の広さが魅力である。時計の遺伝的、物質的基盤の基礎的な理解は重要であることはもちろんだが、自然の植物たちに見られるリズムの多様性は、多くの洞察を与えてくれ

る。また時計関連現象の調整を標的とした農作物の育種は、今後のさらなる分子育種や植物調整剤の開発のヒントとなっている。このような植物のリズムに関連した興味深い課題に、より精力的に取り組んでいきたい。

謝辞

この度、時間生物学会奨励賞を受賞できたことを大変光栄だと受け止めております。研究も研究以外のことでも色々とお助言、ご指導下されました、名古屋大学水野猛、近藤孝男両先生に感謝いたします。時間生物学、分子生物学、数理生物学の手ほどきをしてくださりました、小山時隆先生、山篠貴史先生、福田弘和先生に感謝いたします。今までの一緒に研究した、伊藤照悟さん、佐藤江梨子さん、北雅規さん、神岡真理さん、高尾早織さんを始めとした方々に感謝いたします。共同研究者として、少し違う分野からの意見を下さった、理研の榊原均先生、木羽隆敏先生、名古屋大の東山哲也先生、中部大の鈴木孝征先生に感謝いたします。また現在進めている共同研究に携わって下さっている先生方、特に名古屋大の廣田毅先生、上原貴大さん、木下俊則先生、伊丹健一郎先生、Steve Kay先生、吉村崇先生、大川妙子先生、早稲田大の山口潤一郎先生に感謝いたします。それ以外の方々にもお世話になり、多くの縁に恵まれて研究を進めてきたと感じています。

引用文献

- 1) Atamian HS, Creux NM, Brown EA, Garner AG, Blackman BK, Harmer SL. *Science* 353: 587-590 (2016)
- 2) Nagano AJ, Sato Y, Mihara M, Antonio BA, Motoyama R, Itoh H, Nagamura Y, Izawa T. *Cell* 151: 1358-1369 (2012)
- 3) Mizuno T. *J. Biochem* 123: 555-563 (1998)
- 4) Makino S, Kiba T, Imamura A, Hanaki N, Nakamura A, Suzuki T, Taniguchi M, Ueguchi C, Sugiyama T, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 41: 791-803 (2000)
- 5) Matsushika A, Makino S, Kojima M, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 41: 1002-1012 (2000)
- 6) Strayer C, Oyama T, Schultz TF, Raman R, Somers DE, Mas P, Panda S, Kreps JA, Kay SA. *Science* 289: 768-771 (2000)
- 7) Iwasaki H, Williams SB, Kitayama Y, Ishiura

- M, Golden SS, Kondo T. *Cell* 101: 223-233 (2000)
- 8) Nakamichi N, Kita M, Ito S, Yamashino T, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 46: 686-698 (2005)
 - 9) Nakamichi N, Matsushika A, Yamashino T, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 44: 360-365 (2003)
 - 10) Nakamichi N, Ito S, Oyama T, Yamashino T, Kondo T, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 45: 57-67 (2004)
 - 11) Fukuda H, Nakamichi N, Hisatsune M, Murase H, Mizuno T. *Phys Rev Lett* 99: 098102 (2007)
 - 12) Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, Sakakibara H, Kyoizuka J. *Nature* 445: 652-655 (2007)
 - 13) Nakamichi N, Kusano M, Fukushima A, Kita M, Ito S, Yamashino T, Saito K, Sakakibara H, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 50: 447-462 (2009)
 - 14) Fukushima A, Kusano M, Nakamichi N, Kobayashi M, Hayashi N, Sakakibara H, Mizuno T, Saito K. *Proc Natl Acad Sci* 106: 7251-7256 (2009)
 - 15) Nakamichi N, Kiba T, Henriques R, Mizuno T, Chua NH, Sakakibara H. *Plant Cell* 22: 594-605 (2010)
 - 16) Harmer SL, Hogenesch JB, Straume M, Chang HS, Han B, Zhu T, Wang X, Kreps JA, Kay SA. *Science* 290: 2110-2113 (2000)
 - 17) Michael TP, Mockler TC, Breton G, McEntee C, Byer A, Trout JD, Hazen SP, Shen R, Priest HD, Sullivan CM, Givan SA, Yanovsky M, Hong F, Kay SA, Chory J. *PLoS Genet* 4: e14 (2008)
 - 18) Nakamichi N, Kiba T, Kamioka M, Suzuki T, Yamashino T, Higashiyama T, Sakakibara H, Mizuno T. *Proc Natl Acad Sci* 109: 17123-17128 (2012)
 - 19) Kamioka M, Takao S, Suzuki T, Taki K, Higashiyama T, Kinoshita T, Nakamichi N. *Plant Cell* 28: 696-711 (2016)
 - 20) Markson JS, Piechura JR, Puszynska AM, O'Shea EK. *Cell* 155: 1396-1408 (2013)
 - 21) Smith KM, Sancar G, Dekhang R, Sullivan CM, Li S, Tag AG, Sancar C, Bredeweg EL, Priest HD, McCormick RF, Thomas TL, Carrington JC, Stajich JE, Bell-Pedersen D, Brunner M, Freitag M. *Eukary Cell* 9: 1549-1556 (2010)
 - 22) Abruzzi KC, Rodriguez J, Menet JS, Desrochers J, Zadina A, Luo W, Tkachev S, Rosbash M. *Gene Dev* 25: 2374-2386 (2011)
 - 23) Koike N, Yoo SH, Huang HC, Kumar V, Lee C, Kim TK, Takahashi JS. *Science* 338: 349-354 (2012)
 - 24) Schaffer R, Ramsay N, Samach A, Corden S, Putterill J, Carre IA, Coupland G. *Cell* 93: 1219-1229 (1998)
 - 25) Wang ZY, Tobin EM. *Cell* 93: 1207-1217 (1998)
 - 26) Makino S, Matsushika A, Kojima M, Yamashino T, Mizuno T. *Plant Cell Physiol* 43: 58-69 (2002)
 - 27) 田澤仁 マメから生まれた生物時計 学会出版センター (2009)
 - 28) Garner WW, Allard HA. *J Agr Res* 18: 553-606 (1920)
 - 29) Bunning E. *Ber Deut Bot Ges* 54: 590-601 (1936)
 - 30) Nakamichi N. *Plant Cell Physiol* 56: 594-604 (2015)
 - 31) Yan W, Liu H, Zhou X, Li Q, Zhang J, Lu L, Liu T, Zhang C, Zhang Z, Shen G, Yao W, Chen H, Yu S, Xie W, Xing X. *Cell Res* 23: 969-971 (2013)
 - 32) Beales J, Turner A, Griffiths S, Snape JW, Laurie DA. *Theor Appl Genet* 115: 721-733 (2007)
 - 33) Turner A, Beales J, Faure S, Dunford RP, Laurie DA. *Science* 310: 1031-1034 (2005)