

## 研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		転写の自律振動系を支える分子メカニズムの研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of molecular mechanism generating cell-autonomous circadian transcriptional oscillation			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)マツムラ	名)リツコ	研究期間 B	2017～ 2019 年
	漢字 CB	松村	律子	報告年度 YR	2019年
	ローマ字 CZ	Matsumura	Ritsuko	研究機関名	山口大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		山口大学時間学研究所・助教(特命)			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>体温や血圧、あるいは睡眠・覚醒といった 1 日周期の生体リズムは、概日時計という機能によって生じる。その実体は、時計遺伝子の約 1 日(概日)周期の発現振動である。時計遺伝子発現の自律的概日振動は、リミットサイクル振動であると考えられている。リミットサイクル振動が成り立つには、複数の非線形プロセスを必要とする。本研究は、時計遺伝子発現の非線形性が高まるメカニズムを、実験的および数学的検証によって解明することを目的とした。</p> <p>実験結果より、時計遺伝子の細胞自律的概日転写振動には、機能的に相互依存するタンデムに並んだ E-box モチーフ(転写調節配列)が必要であることが明らかとなった。E-box だけでなく、ROR 応答エレメント (RORE) を含むエンハンサーの相互依存的な振る舞いが、転写の非線形性を増加させることも判明した。実際、これらエンハンサーの相互依存性を数学モデルに導入すると、低いヒル係数を伴う自律的な転写振動が生じた。これは、非線形性が増強されたことを示す。以上のことから、複数の時計遺伝子の相互依存エンハンサーモチーフは、概日時計システム全体の非線形性を強化し、時計遺伝子発現のリミットサイクル振動の成立に関与していると示唆された。</p> <p>また、本研究では時計遺伝子 <i>Per2</i> の相補鎖から転写される ncRNA にも着目した。この ncRNA は、<i>Per2</i> とは逆の位相で発現することが示されている。RNA シークエンスにより、逆位相で発現させる機能を担っていると想定される RORE を ncRNA の転写調節領域に見出した。これをクローニングし、下流にレポーター遺伝子を接続することができた。今後、このベクターを用いて ncRNA の機能およびその発現リズム・位相が概日時計機構においてどのような役割を果たしているのかを実験的に示し、リミットサイクルへの寄与を検証する予定である。</p>					
キーワード FA	概日時計	時計遺伝子	転写の自律振動	リミットサイクル振動	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Daily biological rhythms such as body temperature, blood pressure, and sleep- wake cycle are caused by a circadian clock. The autonomous circadian oscillation of clock genes expression, which drives circadian clock, is considered to be a limit cycle oscillation. Limit cycle oscillations require nonlinear processes. This study aimed to elucidate the mechanism increases the nonlinearity of clock gene expression rhythm by experimental and mathematical analysis.

The experimental results revealed that cell-autonomous circadian transcription of a mammalian clock gene requires a functionally interdependent tandem E-box motif. We also shown that the interdependent behavior of enhancer elements including ROR response elements (ROREs) as well as E-boxes increased the nonlinearity of transcription. This might contribute to limit cycle oscillations. Indeed, our analysis showed that introducing the interdependencies of these enhancers into a mathematical model resulted in autonomous transcription oscillations with low Hill coefficients. This indicates that the nonlinearity is enhanced. These findings suggest that the interdependent tandem enhancer motifs on multiple clock genes might cooperatively enhances the nonlinearity in the whole circadian clock system and would lead limit cycle oscillations of clock genes expression.

In this study, we also focused on ncRNA transcribed from the strand opposite to *Per2*. This ncRNA expression oscillates in opposite phase to *Per2*. By RNA sequencing, RORE, which is assumed to lead the opposite phase expression, was found in the transcriptional regulatory region of ncRNA. We cloned the region and connected a reporter gene to the downstream. In future studies, we plan to demonstrate using this vector that the role of function and expression rhythm or phase of the ncRNA in the circadian clock mechanism, and analyze its contribution to the limit cycle.