

Light- and Circadian-Controlled Genes Respond to a Broad Light Spectrum in Puffer Fish-Derived Fugu Eye Cells

Keiko Okano, Shoichi Ozawa, Hayao Sato, Sawa Kodachi, Masaharu Ito, Toshiaki Miyadai, Akihiro Takemura, Toshiyuki Okano

Sci. Rep. 7, 46150 (2017)

doi:10.1038/srep46150

フグ由来の Fugu Eye 細胞において、光応答遺伝子と概日遺伝子は広い波長領域の光に応答する

岡野恵子¹、小澤翔一¹、佐藤駿¹、小太刀佐和¹、伊藤正晴¹、宮台俊明²、竹村明洋³、岡野俊行¹

¹早大,²福井県立大,³琉球大

【本論文のポイント】

トラフグ^{※1} 眼球由来の培養細胞 Fugu Eye 細胞に着目し、マイクロアレイ解析と qRT-PCR を用いて光誘導遺伝子と時計遺伝子を探索した。Fugu Eye 細胞が広い波長領域の光を直接受容すること、DNA 修復関連遺伝子などが弱い可視光で誘導されること、いくつかの時計遺伝子は概日リズムを示すことがわかった。

【概要】

魚類では末梢組織が直接光を受容するとされているが、これはゼブラフィッシュなどごく一部の種でしか確かめられていない。そこで、モデル生物として非常に有用なトラフグ *Takifugu rubripes* に着目した。トラフグはヒトゲノムと同等な遺伝子数を持つにもかかわらず、ゲノムサイズは 400Mb でヒトゲノムの僅か 11% しかないため、プロモータ解析をはじめとした遺伝子解析に適している。トラフグのゲノム配列情報を元にマイクロアレイを設計・作製し、Fugu Eye 細胞を青色光で刺激した際に発現量が変動する光応答遺伝子を探索した (図 1)。その結果、15 の遺伝子が青色光による有意な発現変化を示した。これらの中には、DNA 修復に関わる因子が多数含まれており、さらに、新規のクリプトクロム (Cry6 と命名) も含まれていた。

次に、マイクロアレイで得られた結果の確認のため、先に得た遺伝子の一部と時計遺伝子の mRNA 発現レベルの時間変化を定量的 RT-PCR を用いて調べた。その結果、恒明 (LL) 条件と恒暗 (DD) 条件において *TrPer1a*、*TrPer2*、*TrPer3*、*TrCry1* は振動性を示し、*TrCRY3* では有意な振動が見られなかった (図 2)。このことから Fugu Eye 細胞の概日時計はいずれの光条件でも連続的に振動すると推定された。また、明暗 (LD) 条件下では、*TrPer1a*、*TrPer3* は LL および DD と同様な振動をした。*TrCry1*、*TrCry2*、*TrCry6*、*TrCry-DASH*、*Tr[6-4]Phr* は明期で高い mRNA 発現を示したが、暗期には発現量は下がり、これらの遺伝子は体内時計ではなく光によって発現が制御されていることがわかった。

次に、Fugu Eye が緑や赤色といった青以外の光に応答するかにつ

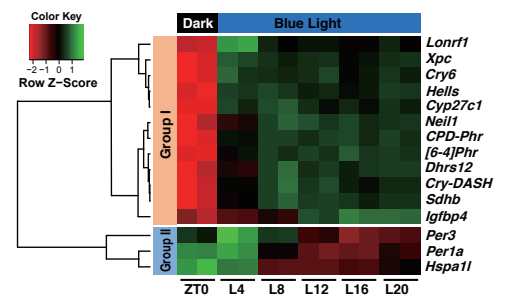


図 1 Fugu Eye 細胞において青色光によって誘導される遺伝子群 (マイクロアレイ解析によるスクリーニング)

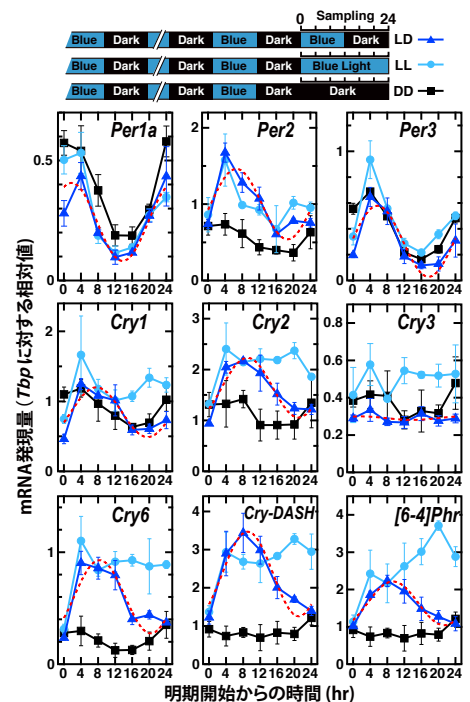


図 2 Fugu Eye 細胞における時計遺伝子の光応答と発現の日内変動

いて、光強度を変えながら光の効果調べた。*TrPer1a* と *TrCry3* を除いた *Per*、*Cry*、*Phr* 遺伝子は青色光だけでなく赤色光と緑色光でも応答し、微弱光にも応答した。なお、光照射によって誘起される遺伝子発現の変化が、光照射に伴う熱によるかどうかを調べるため、光照射中の培地温度を 22°C から上げ、遺伝子発現に与える影響を調べた。その結果、Light と Dark どちらの光条件でも 22°C と 25°C の温度間における mRNA 発現に有意な差はなく、熱による誘導ではないことが確かめられた。

、本研究ではマイクロアレイ解析と定量的 RT-PCR を用いて *Fugu Eye* 細胞の概日時計遺伝子、光制御遺伝子を同定した。また青色光だけでなく他の色の光でも遺伝子発現が誘導された。トラフグ *Fugu Eye* は食用魚で最初のモデル細胞株であり、海洋魚の概日生理研究に役立つと期待される。また、トラフグの近縁種であるクサフグでは、大潮（満月と新月）に同調産卵を示す。この半月周性はトラフグにも保存されている可能性が高く、*Fugu Eye* が内在的に月齢応答性をもっていれば、概月リズムや月光応答機構の解明に向けた有力なモデルとなるであろう。、、、、、、、、、、、、、、、

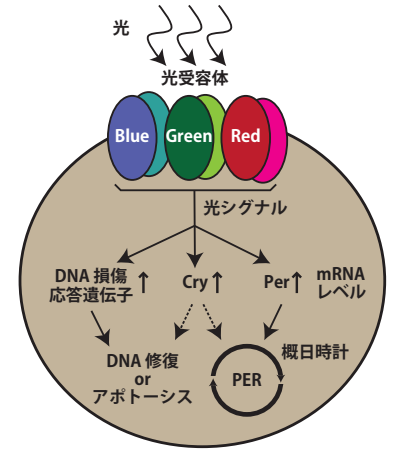


図3 *Fugu Eye* 細胞における光情報伝達機構のモデル

[要約作成：佐野太紀、岡野俊行]

【語句の説明】

※1、トラフグ：学名は *Fugu rubripes* もしくは *Takifugu rubripes*。「フグは食いたし、命は惜しし」と呼ばれて珍重される冬の高級魚。海藻中のテトロドトキシンを体内（卵巣、肝臓、腸など）に蓄積することにより致命的な食中毒をひきおこす。