



# Wakate-Initiative Seminar

(Presentation in English)

## Circadian clock regulation by protein degradation and stabilization in *Arabidopsis*

**Sumire Fujiwara**

**Plant Science Center, RIKEN Yokohama Institute**

**Jun 5th, 2009**

**(Gene Research Center 211, University of Tsukuba)**

The circadian clock is essential for coordinating the proper phasing of many important cellular processes. One core group of circadian clock components in *Arabidopsis* that controls the pace of the central oscillator is comprised of five PRR (Pseudo-Response Regulator) proteins whose biochemical function in the clock remains unclear. PRR1/TOC1 and PRR5 are the only likely proteolytic substrates of the E3 ubiquitin ligase SCF<sup>ZTL</sup> within this PRR family (Mas et al 2003, Kiba et al 2007, Fujiwara et al 2008). We demonstrate a functional significance for the phosphorylated forms of PRR5, TOC1, and PRR3. Each PRR protein is differentially phosphorylated over the circadian cycle (Fujiwara et al 2008). The more highly phosphorylated forms of PRR5 and TOC1 interact best with the F-box protein ZTL (ZEITLUPE). TOC1 and PRR3 interact *in vivo* and phosphorylation of both is necessary for their optimal binding *in vitro*. TOC1/PRR3 phosphorylation-dependent interaction may protect TOC1 from ZTL-mediated degradation, resulting in an enhanced amplitude of TOC1 cycling.

ZTL messenger RNA is constitutively expressed, but ZTL protein levels show diurnal oscillation. We found that GIGANTEA (GI) is essential to establish and sustain oscillations of ZTL by a direct protein–protein interaction (Kim and Fujiwara et al 2007). GI, a large plant-specific protein with a previously undefined molecular role, stabilizes ZTL *in vivo*. Furthermore, the ZTL–GI interaction is strongly and specifically enhanced by blue light. ZTL facilitates its own stability through a blue-light-enhanced GI interaction.

Based on the recent progress in biochemical analyses described above, a perspective of the *Arabidopsis* circadian clock mechanism will be discussed.

### <References>

Somers and Fujiwara (2009), *Trends Plant Sci.* 14(4):206-213.

Fujiwara et al (2008), *J Biol Chem.* 283(34):23073-23083.

Kiba et al (2007), *Plant Cell.* 19(8):2516-2530.

Kim and Fujiwara et al (2007) *Nature.* 449 (7160): 356-360.

Mas et al (2003), *Nature.* 426(6966):567-570.



# 若手イニシアティブセミナー

## タンパク質の分解・安定化による 高等植物の概日時計制御メカニズム

～新規青色光受容体 F-box タンパク質 ZEITLUPE  
を介した概日時計の制御機構～

藤原すみれ

理化学研究所植物科学研究センター

日時：2009年6月5日（金）14：00—

会場：筑波大学遺伝子実験センターセミナー室

生物の概日時計は、光や温度などの刺激に同調しながら約24時間周期のリズムを生み出す。概日時計は、多くの生物において環境に適応しながら生きていくうえで極めて重要であり、高等植物においては花成、光合成、形態形成、ストレス耐性など多くの生理現象の制御にかかわる。近年の研究により、高等植物シロイヌナズナの概日時計の適切な制御には、転写レベルでのリズム制御のみならず、タンパク質のリズミックな修飾や、分解・安定化などの翻訳後の制御が非常に重要な役割を担うことが解明されつつある。

概日時計制御に関わる PSEUDO RESPONSE REGULATOR (PRR)ファミリーメンバー5つのうち、PRR1/TOC1(TIMING OF CAB EXPRESSION 1)と PRR5がユビキチンリガーゼ SCF<sup>ZTL</sup>複合体による分解のターゲットとしてプロテアソーム経路により分解される(Mas et al 2003, Kiba et al 2007, Fujiwara et al 2008)。演者らは、PRRファミリータンパク質がリン酸化を受け、そのレベルが概日振動を示すことを見出した(Fujiwara et al 2008)。リン酸化レベルの高い TOC1と PRR5は、F-boxタンパク質 ZTL(ZEITLUPE)とより強く相互作用を示した。また、TOC1と PRR3は *in vivo* で相互作用し、この相互作用には両タンパク質のリン酸化が必要であることが示された。さらに、PRR3と相互作用した TOC1は ZTLと相互作用できず、これにより ZTLによる分解を免れて安定化する可能性が示唆された。このように、リズミックなリン酸化とそれによる相互作用の変化によりタンパク質の安定性が制御され、これが概日時計機構において重要である可能性を見出した。

また、演者らは ZTLが *in vivo* で新規の青色光受容体として機能することを見出した(Kim and Fujiwara et al 2007)。ZTLは転写レベルではリズムを示さないが、タンパク質レベルでは夕方にピークを示す概日振動を示す。これは、ZTLが機能未知の植物特異的タンパク質 GIGANTEAと青色光受容依存的に相互作用し、リズミックな安定化を受けることによるものであることが示唆された。

本セミナーでは、これらの結果を合わせ、最近の生化学的解析から見えてきたシロイヌナズナの概日時計像を議論したい。

連絡先：生命環境科学研究科 三浦謙治

内線 6401; kimura@gene.tsukuba.ac.jp