

氏名	武方 宏樹
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	第5999号
学位授与年月日	平成26年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文名	Molecular and neurobiological analyses of the circatidal clock mechanism in the mangrove cricket <i>Apteronomobius asahinai</i> (マングローブスズ概潮汐時計の分子生物学及び神経生物学的解析)
論文審査委員	主査 教授 志賀 向子 副査 教授 幸田 正典 副査 准教授 後藤 慎介 副査 教授 沼田 英治 (京都大学)

論文内容の要旨

生物は、環境の変動周期に対応した内因性の生物時計を持つ。多くの生物が日周期に対応した概日時計をもち、恒常条件下で約24時間周期の概日リズムを示す。一方、潮間帯に生息する生物は潮汐周期に対応する約12.4時間周期の概潮汐リズムを示すことが知られている。様々な生物種を用いた行動解析から、概潮汐リズムが概日時計と同じ生理機構の時計によって生み出される可能性が指摘されてきた。しかし、概潮汐リズムを生み出す時計機構の分子・神経機構はほとんどわかっておらず、概日時計機構との違いの有無を生理学的に検証した例はない。潮間帯に生息するコオロギであるマングローブスズは、歩行活動に活動期と休息期を生み出す概潮汐リズムと、その昼間の活動を抑制し夜間の活動を増加させる概日リズムを同時に示し、これらのリズムは独立した概日時計と概潮汐時計によって生み出されると考えられている。本研究ではマングローブスズの概潮汐時計が概日時計と共通した分子・神経機構によって成り立っているのかを検証した。

まず、分子機構について調べるため、概日時計を構成する遺伝子 *period* と *Clock* の発現を RNA 干渉によって抑制し、歩行活動を記録した。その結果、いずれの遺伝子の発現を抑制した場合、概日リズムのみが消失し、概潮汐リズムは継続した。このことから、これら概日時計遺伝子は概潮汐リズムの形成に関与しないと考えられる。

次に、神経機構について調べるため、コオロギやゴキブリの概日時計の在りかである視葉という脳領域を除去し、歩行活動を調べた。その結果、視葉を除去すると概日リズムは消失したが、概潮汐リズムは維持された。活動記録終了後、ゴキブリの概日時計ニューロンである視葉の PDF (Pigment-dispersing factor) ニューロンを確認したが、その細胞体の有無は概潮汐リズムの継続や周期と関連しなかった。このことから、視葉や PDF ニューロン以外に概潮汐リズムを生み出す神経領域が存在すると考えられる。

以上より、マングローブスズの概潮汐時計は概日時計と異なる未知の分子・神経機構によって成り立つ可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

生物は環境の変動周期に対応した内因性リズムを持つ。多くの生物が一日の周期に対応したおよそ24.0時間の概日リズムを持つ一方、潮間帯に生息する生物は潮汐周期に対応するおよそ12.4時間周期の概潮汐リズムを示すことが知られている。これまで、概潮汐リズムが概日リズムと同じ生理機構の時計によって生み出される可能性が指摘されてきたが、分子・神経機構に関する研究は少なく、12.4時間周期を刻む概潮汐時計の実体は全くわかっていない。

本論文の著者は、潮間帯に生息するコオロギ、マングローブスズにおいて、概潮汐リズムを形成する概潮汐時計の分子・神経機構について解析した。本種の歩行活動には活動期と休息期を生み出す概潮汐リズムと、昼間の活動を抑制する概日リズムが同時に観察される。この特徴を活かし、RNA干渉による遺伝子ノックダウンと脳の部分破壊実験により、概潮汐時計が概日時計と同じ分子神経機構で成り立つかを調べた。RNA干渉の結果は、概日時計遺伝子 *period* あるいは *Clock* は概日リズムの駆動に必須であるが、概潮汐リズムの形成に関与しないことを示した。脳の部分除去実験の結果は、視葉と呼ばれる脳領域は概日リズムに必要であるが、概潮汐リズムには必須ではないことを示した。これらより、概潮汐時計機構は概日時計遺伝子や概日時計ニューロンとは異なる独自の分子・神経機構によって成り立つ可能性が指摘された。

以上のように、本論文は概日時計とは異なる分子神経機構から成る概潮汐時計の存在を示したという点で高く評価できる。よって、本論文は時間生物学の発展に著しく寄与するものであり、博士(理学)の学位を授与するに値すると審査した。