



Title	Circadian clock produces the circadian rhythm in the large black chafer <i>Holotrichia parallela</i>
Author(s)	渡邊, 耕平
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92185
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (渡 邊 耕 平)

論文題名

Circadian clock produces the circadian rhythm in the large black chafer
Holotrichia parallela
 (オオクロコガネの概日時計による概倍日リズムの形成)

論文内容の要旨

生物は環境周期に応じた生物リズムを持ち、その多くは体内の生物時計によって制御されている。最も広く研究されているのは、地球の自転周期と一致した約 24 時間周期の概日時計に駆動される概日リズムである。概日時計の 24 時間周期は、一連の時計遺伝子の転写翻訳フィードバックループにより形成されることが、マウスやキイロショウジョウバエに共通して知られている。概月リズムや概年リズムなど他の長周期リズムにもリズムと同周期の時計機構が存在すると考えられているがその機構はわかっていない。

興味深いことに、生物時計が自身の周期と異なるリズムを作り出す可能性が示唆されている。コガネムシ科昆虫のオオクロコガネ *Holotrichia parallela* は地上での活動に約 48 時間周期の概“倍”日リズムを示す。これまでに、光パルスに対するリズムの位相反応から、この概倍日リズムは 24 時間周期の概日時計によって駆動されることが示唆された。また、RNA-Seq 解析から、オオクロコガネの脳に 9 種類の時計遺伝子の発現が確認された。しかし、時計遺伝子や概日時計がこの概倍日リズム形成に関与するという直接の証拠はなく、概倍日リズムの形成機構は明らかになっていない。

そこで本研究では、神経解剖学的手法と、時計遺伝子を対象とした分子生物学的手法を用い、「概倍日リズムは概日時計により形成される」という仮説を検証した。さらに、神経回路や時計遺伝子により概日時計が二倍の周期を作る機構について考察した。

他種において、概日リズムに関与する、あるいは概日時計細胞の存在が知られる視葉と脳間部 (PI) の除去により概倍日リズムが消失した。また、脳において 24 時間周期で発現量が振動する時計遺伝子 *period* と *cycle* は視葉の視髄前方領域の細胞群にのみ発現することがわかった。RNA 干渉法による時計遺伝子の発現抑制においては、*period* および *timeless* の発現を抑制すると、概倍日リズムの自由継続周期が対照群に比べ有意に短縮した。一方、*clock* と *cycle* の発現を抑制すると、半数以上の個体で概倍日リズムが消失した。結果から、オオクロコガネの概倍日リズムには、概日リズムに重要な脳領域が必要であることがわかり、視葉の概日時計細胞から PI までの出力が概倍日リズム形成に利用される可能性が示唆された。また、時計遺伝子の発現が概倍日リズム形成に必要であり、24 時間周期で逆位相発現する *cycle* と *period* の抑制では概倍日リズムが消失あるいは短周期化することから、概日時計遺伝子が概倍日リズム形成に関与することが明らかになった。*period* や *timeless* などの転写抑制因子に概日振動と概倍日振動両方があることを考慮すると、概日時計システムの転写制御の閾値を改変することで概倍日時計を形成している可能性も考えられる。

生物リズム研究ではこれまで、環境周期に等しい周期の生物時計が行動や生理のリズムを駆動すると考えられてきた。本研究により、オオクロコガネにおいて概日時計やその神経経路により概倍日リズムが形成されることが示され、概日時計が時計の整数倍周期のリズムを形成しうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (渡 邊 耕 平)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	志賀 向子
	副 査	教授	疋田 貴俊
	副 査	教授	古屋 秀隆
論文審査の結果の要旨			
単細胞生物から多細胞生物までほとんどの生物は、環境の日周変化に対応するため約 24 時間周期の概日時計を持ち、概日リズムを形成する。概日時計細胞では、複数の時計遺伝子が転写翻訳フィードバックループを形成し、これが約 24 時間の周期を作ることが知られている。一方、ウミユスリカの概半月リズム・概月リズム、鳥類やシマリスの概年リズムなどの非 24 時間周期の生物リズムも知られているが、非 24 時間周期を生み出す時計機構はほとんどわかっていない。 節足動物昆虫綱コガネムシ科のオオクロコガネ <i>Holotrichia parallela</i> は地上での活動に約 48 時間周期の概“倍”日リズムを示す。これまでに、光パルスに対する活動リズムの位相反応や、脳における時計遺伝子の発現解析から、「概倍日リズムは概日時計により形成される」可能性が指摘されている。しかし、時計遺伝子や概日時計が概倍日リズムに関与するという直接の証拠はなく、概倍日リズムの形成機構は明らかになっていない。そこで本論文は、神経解剖学および分子遺伝学的方法を用い、オオクロコガネの概倍日リズムを例に、非 24 時間リズムの形成機構を調べた。 まず、概日活動リズムの駆動に必要な時計細胞を含む視葉とその出力経路にある脳間部を外科的に除去し、概倍日リズムに対する影響を調べた。その結果、視葉の除去によりオオクロコガネの活動は無リズムとなり、脳間部の除去により無リズムや活動量が増加する個体が現れた。また、<i>in situ hybridization</i> により、脳内では視葉の視髄前方のみに時計遺伝子 <i>period</i> と <i>cycle</i> を発現する細胞集団が存在することがわかった。これより、概倍日リズムには、時計遺伝子を発現する時計細胞とその出力経路が関与する可能性が考えられた。 次に、複数の時計遺伝子の RNA 干渉を行い、概倍日リズムへの影響を調べた。その結果、転写抑制因子として知られる <i>period</i> あるいは <i>timeless</i> の発現抑制により概倍日リズムの自由継続周期が短縮した。また、転写促進因子として知られる <i>cycle</i> あるいは <i>clock</i> の抑制により半数以上の個体の活動が無リズムとなった。このことから、これら時計遺伝子が概倍日リズム形成に必要であることがわかった。<i>cycle</i> と <i>period</i> はオオクロコガネの脳で 24 時間の発現振動を持つことから、オオクロコガネにも概日時計が存在し、概倍日リズムの形成に関わると考えられる。さらに、<i>timeless</i> は 48 時間の発現振動を持ち、その発現抑制により概倍日周期が短縮することから、オオクロコガネでは概日時計の転写翻訳フィードバックループに何らかの改変が起こり 48 時間のループが生まれ、概倍日時計が形成される可能性が示された。 以上より、本論文はオオクロコガネが時計遺伝子から成る概日時計やその神経経路を利用して概日時計の 2 倍周期のリズムを形成していることを明らかにした。今後、時計周期を倍加する分子機構に迫る研究へと発展することが期待される。また、概日時計による非 24 時間の生物リズムの形成を分子遺伝学と神経解剖学から示したという点は、時間生物学、神経生物学研究において新しい知見をもたらすものであり評価できる。本論文はこれらの分野の研究の発展に寄与するもので、理學上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。			