

“Neurobiology of Drosophila” 参加記

吉井大志

岡山大学自然科学研究科生命分子科学専攻

2005年10月5日から9日まで、アメリカ合衆国、ニューヨーク、コールドスプリングハーバーで、Neurobiology of Drosophilaが開催された。開催場所はケネディ空港から車で約1時間のところにあるコールドスプリングハーバー研究所であった。研究所は小さな山を越えた場所にあり、研究所周辺の道路はほとんど車も通らないような人気のない環境である。研究所内は自然が多く残っており、至る所でシマリスなどの小動物を見かけることができる、大変美しい場所である。さらに研究所の西側にはヨットハーバーがあり、同時に海も楽しめる。ご存知の方も多いと思うが、この研究所の所長は2重らせんのジェームス・ワトソンである。ワトソンに会えるかもしれないという希望を胸に、会った時の言葉まで考えて、興奮気味に会議に参加した。しかし、彼のオフィスを覗くことはできたが、残念ながら彼は休暇中であった。

この会議では神経科学に関するショウジョウバエ研究者が集まり、それぞれの分野の研究報告を行っている。分野の範囲はかなり広く、行動学、生理学、発生学まで様々な分野の研究者が混在していた。発表内容は、論文などで公表されていないものでなければならぬ。とはいっても、投稿中の論文やすでに受理されているものもあったようで、学会から帰った後、すぐに雑誌に掲載された発表もあった。主な参加者はアメリカ合衆国内で研究をしている方だったが、私のように外国から参加した人も少なくはなかった。会議は朝9時から始まり、毎日夜10時ぐらいまで発表があるというかなり長丁場である。時差ボケだった私には体力的にかなりつらい5日間であった。

初日に“行動”のセッションの一部として、概日時計に関する発表が3つ組まれていた。それぞれの発表者は、R. Allada, M. Rosbash, P. Hardinの研究室の方々であり、リズム研究をリードしている研究内容ばかりである。それぞれの発表は大変興味深く、自分のリスニング能力を呪いたくなったのだが、最

も印象深かったのはHardin氏の研究室のYuさん(ポスドク)が発表した内容であった。これまで、ショウジョウバエのCLKは周期的に発現していることが信じられてきたが、彼らの発表では、CLKはその発現量に周期的変動はなく、むしろ周期的に変化するのはCLKのリン酸化/脱リン酸化であるというものであった。さらに、*per* mRNAの発現のピークとCLKのリン酸化のピークがほぼ同じであることを明らかにしており、リン酸化されたCLKが*per*の転写を活性化することを提案していた。これが事実であるなら*per*、*tim*の転写のタイミングを制御する機構を明らかにする大きな発見であると思う。しかし、これまでの説を部分的に覆す結果であることから、より慎重な検討が必要であると感じた。

ショウジョウバエの歩行活動リズムは朝方と夕方に活動のピークを持つ2峰性の活動パターンを示す。2004年には2つの研究グループによって朝と夕方の活動ピークは、別々の時計細胞によって制御されていることが報告されている。今回、Rosbash氏の研究グループのポスドクPengさんが発表した内容は、その研究をさらに発展させており、脳側方部の腹側に存在する小型の細胞 (small LNV) が朝方の活動ピークを制御することと、夕方の活動ピークを制御する細胞とsmall LNVの間にはカップリングがあり、互いに時間情報をやり取りしていることが提案された。かなり曖昧な行動データからの結論であったので、さらなる検討を要する研究であると感じたが、観察している現象自体は大変興味深いものであった。今後はこのような個々の時計細胞の役割を明らかにする研究や細胞間のカップリング機構の研究がショウジョウバエでも盛んになることを予感させるものであった。

“神経機能”のセッションでも2題、概日時計に関する研究発表があった。私自身、脳内のPER発現神経細胞を解析する機会が多くなっていたので、彼らの発表は参考になると期待していた。まず1題目の発表では、時計の出力分子と予想されているPDFの

リセプターが同定されたという話であった。この研究は最近Neuron誌に掲載され、3つの研究グループが同時にPDFリセプターの同定を行っている。その3つの研究グループのうち、1つのグループは口頭発表を行い、別の1つのグループはポスター発表を行っていた。彼らの研究では、リセプターが発現している細胞を同定しており、いくつかの背側のPER発現細胞でPDFリセプターが発現していることを明らかにしていた。この研究内容自体すばらしいものであったが、私は発表者のShaferさんが示した免疫組織染色の美しさに深く感心した。私も日ごろから免疫組織染色を行っているが、彼のようにうまくいかない。会議の2日目、3日目には彼と話す機会があり、いろいろな情報を得ることが出来たのは収穫であった。もう1つの発表ではT. Holmes氏の研究グループが、PDF神経を過剰興奮させたトランスジェニックの歩行活動パターンを解析していた。結論としてはPDF神経の発火が活動の昼行性と夜行性のバランスに関与しているというものであった。トランスジェニックを用いて特定の神経細胞の活動を異常にする手法は様々な応用が考えられることから、我々の研究室でも導入するべきだと感じた。

ポスター発表は発表者のアルファベット順にされており、分野ごとにまとまりが作られていない。聞く側は会場をうろうろして同じ分野を探さないといけないが、会場は狭いのでさほど大変ではなかった。発表は3日間に分けて行われたのだが、アルファベット順で行われたことで、すべての日で自分の研究に関連した発表が聞けることは有意義である。さらに自分が発表している時間に、同じ分野の人がたくさん来てくれることも良い点であると感じた。私の場合(“Y”もしくは“よ”)発表が常に最終日になることから、この方式の導入を積極的に推薦する気にはならないが、多くの分野が集まる学会などでは良い方法なのかもしれない。

私はポスター発表で概日時計の温度サイクル同調機構の研究を発表した。この会議のタイトルが“Neurobiology of Drosophila”だったことから、温度サイクル同調に関わる時計細胞についての研究を中心に発表を行った。他の発表者がレベルの高い研究発表を行っていたので、自分の発表に興味を持ってもらえるかどうか心配していたのだが、かなり多くの研究者が発表を聞きに来てくれたことは良かった。ただ、いくつかの質問がうまく聞き取れなかったことや、こちらからうまく意思表示をすることができなかったことは反省している。最も後悔しているこ

とは、ある学生が言ったジョークを理解できなかったことである。(彼女はなんて言ったのだろうか?)我々の研究は、他のリズム研究者にとって、興味深いものであったようだ。我々は、温度同調にも*per*、*tim*などの時計遺伝子によって構成されるフィードバックループが関与することを明らかにし、さらにPER発現細胞“LPN”が温度サイクル下ではPERを強く発現することを見出している。特に後者の発見について、LPNでは他の時計タンパク質も発現しているのか?と言った質問が多かった。また温度受容体の質問も多く、フィードバックループがどういった入力経路で温度に同調するのか興味を持っている研究者が多かった。少しでも彼らの質問に答えていけるよう、今後もこのテーマで研究を続けていきたいと感じた。P. Emery氏らは我々と同じく時計の温度サイクル同調の研究を始めており、会議初日にポスター発表を行っていた。彼らとはこの会議で様々な議論を交わすことができ交友を深めることができた(写真1)。彼らと共に概日時計の温度同調性の研究を盛り上げて行けたらと思う。



写真1. 会場内でP. Emery氏(右)とその研究室の学生A. Buszaさん(中央)と議論する筆者(左)

この会議では、フィードバックループに関わる新規の時計遺伝子についての研究が1題行われていた。J. Blau氏の研究グループでは新規時計遺伝子のスクリーニングを行っており、新規に時計に関わる遺伝子として、*mef2*という遺伝子を同定していた。今回の発表では*mef2*の発現部位の特定や変異系統、強制発現系統での活動リズムの変化などが示されており、*mef2*が時計に関与する遺伝子であることを強く示唆していた。しかし、フィードバックループに関わるかを明らかにするには至っておらず、今後の研究に期待したい。

会議最終日の前夜はピアノ演奏者のコンサートが行われた。芸術に疎い私には少し高尚過ぎたのだが、

それなりに楽しめた。その後は晩餐会であった。メインはロブスターだったのだが、近くに座っていた研究者に食べ方を教えていただきながら、十分に楽しむことができた。会場には似顔絵画家も来ており、私の似顔絵も描いていただいたのだが・・・(写真2)。



写真2. 筆者の似顔絵。ワインを片手に。

似ているかどうかは別として、良い記念である。晩餐会では会議で初めて知り合いになった先生方や、晩餐会まで知らなかった人までいろいろな方と雑談をする機会ができて大変楽しい時間を過ごせた。

この会議を通じて感じたことは、ショウジョウバエの研究はまだまだ発展していくという確信である。研究者の数、研究テーマの多様さ、研究技術の進歩、また新規研究分野への積極的な参入、そして研究者の熱意。それぞれをこの会議で強く感じ取ることができた。また私も1人のショウジョウバエ研究者として、今後も研究に貢献できるように努力しなければならないと感じた。

最後に、この会議への参加を勧めていただいた九州大学の谷村先生、松本先生にこの場を借りてお礼申し上げます。またこの会議に快く送り出してくれた富岡先生にお礼申し上げます。

日本動物学会第76回大会シンポジウム ～概日時計の振動機構と機能分化～に参加して

伊藤千紘

大阪市立大学大学院理学研究科情報性学研究室後期博士課程1年

本大会は2005年10月6日～8日につくば国際会議場で開催された。つくばに行くのは初めてだったので多少不安があったが、つくばエクスプレス開通のおかげで予想していたよりも都心からのアクセスがよく、街並みもきれいに整備されており、すぐに不安は解消された。また、つくば国際会議場は建物の側面がガラス張りになっているため光がたくさん入り建物内がとても明るく、開放感がある会場だった。会場の冷房が効きすぎてとても寒かったことと、ポスターを1日交替で張り替えるために興味のある研究をその日のうちに見ておかなければならず、じっくり見ることができなかつたという点は残念であったが、会場はいつも大賑わいで活発に議論がなされており、よい大会だったと思う。

本シンポジウムは大会3日目である10月8日の9:00～11:30に行われた。現在、概日時計の振動機構はperiod 遺伝子(以下per)をはじめとする時計遺伝子が形成するフィードバックループにより形成されており、約24時間の周期を作り出していると

考えられている。しかし、概日リズムの背景にはもっと複雑な機構が関与しており、複数の時計が関与することがこれまでに示唆されている。本シンポジウムではこの複雑な時計機構の解明に取り組む研究の一部を聴くことができた。私はキイロショウジョウバエの末梢概日時計の研究を行っており、最近、時計機構の複雑さや多様性を感じていたところであったこと、また、昆虫以外の時計の話詳しく聞いたことがなかったことから、本シンポジウムを楽しみにしていた。富岡憲治先生(岡山大学大学院)と深田吉孝先生(東京大学大学院)のオーガナイズのもと、キイロショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、ラットやマウスといったモデル生物を用いた研究を5人の演者が紹介し、生物時計関連の研究者や学生だけでなく他分野からも多くの人が参加して、さまざまな議論がなされた。簡単ではあるが以下に演題と演者、シンポジウムの内容を紹介する。

① ショウジョウバエ時計関連遺伝子の網羅的探索
松本顕 (九州大学高等教育総合開発研究センター)

時計機構の全体像を探るため、ショウジョウバエの成虫頭部において約1日周期で発現する遺伝子をGeneChipを用いて網羅的にスクリーニングした結果を報告した。頭部で発現する約6000の遺伝子のうち、振動が観察されたのは約1000個で、さらにこれらの中から恒暗条件で振動がはっきりしていた遺伝子に焦点をあて解析が行われた。*tim-Gal4*をドライバとしてRNA干渉を行い、歩行活動リズムにどのような変化が起こるかが示された。今回は明期の前半で多く発現する遺伝子KS2(現時点では仮名称とのこと)が詳しく紹介された。KS2をRNA干渉によりノックダウンすると歩行活動リズムは無周期になること、KS2にはDNA結合ドメインがあることなどから、KS2と*per*遺伝子の関連が示唆された。予想以上に多くの遺伝子が恒暗条件で振動していることは驚きだった。これまでは変異を起こしてその表現型を観察し、概日周期に異常が見られるものをスクリーニングすることにより時計遺伝子が同定されてきたが、この何倍ものスピードで時計関連遺伝子がわかってくるのだろうか。自分が行っている実験の手法とスケールが違うので圧倒されたが、どれくらいの遺伝子が時計に関与しているのかが解明されるのが楽しみだと感じた。

② ショウジョウバエ遺伝子強制発現による時計遺伝子の探索
霜田政美 (独立行政法人・農業生物資源研究所)

先に紹介した演者のアプローチとは逆に、GS系統を利用し様々な遺伝子を脳の時計遺伝子が発現する領域に特異的に強制発現させることにより、新規の時計遺伝子の探索にアプローチするものであった。約7000系統ものスクリーニングの結果、歩行活動リズムに変異が起こった系統が単離された。今回の話の中で特に興味深かったのは、すでに単離されていた*FMRI*についての詳しい解析結果だった。ヒトでは*FMRI*が欠失すると、精神遅滞、自閉症様症状、睡眠障害といった症状を示す脆弱X症候群を引き起こす。*FMRI*を過剰発現すると歩行活動リズムの周期が長くなり、さらに*FMRI*を欠失させるとリズムに休止期がなくなった。また、この遺伝子をレスキューするとリズムが回復することが示された。先に述べたように脆弱X症候群は深刻な睡眠障害を引き起こす。これがショウジョウバエの休止期がなくなる表現型と共通する点は非常に興味深かった。重

要な遺伝子は保存性が高く機能も同じになるということなのだろうか。一連の結果から*FMRI*は時計の出力系に関与していることが示唆された。時計の出力系についてはあまり研究が進んでいないので、おもしろく感じた。今回は紹介していただけなかったが他の新規時計関連遺伝子についての解析にも興味をもたれる。

③ ショウジョウバエ概日活動リズムの光と温度による制御
富岡憲治 (岡山大学大学院自然科学研究科)

キイロショウジョウバエは夜明けと日暮れにピークを持つ双峰性歩行活動リズムを示す。時計遺伝子を発現する神経細胞は脳側方部にあるLNsと脳背側にあるDNsが知られており、最近、D. Stoleruら(2004)とB. Grimaら(2004)は夜明けのピークと日暮れのピークをそれぞれ制御する神経細胞群を同定し、報告した。演者らのグループはこの研究とは異なるアプローチで、光と温度にそれぞれ反応する時計細胞を探索した。明暗周期と温度周期を異なる位相で組み合わせ、それぞれの時計細胞で時計タンパク質PERとTIMの発現を調べてLNs細胞群が光に、DNs細胞群が光と温度に、前大脳側方部にあるLPN細胞群が温度に感受性をもつことが発表された。巧みな実験デザインと詳細な観察により、温度に反応して*per*を発現する神経細胞群を探索しようという試みにはとても感銘を受けた。LPN細胞群とLN、DN細胞群との間に神経連絡があるのか、光と温度の情報をどのように統合し出力するのかに興味を持った。光と温度に異なる反応を示す時計を持つことによって行動を変化させ周囲の環境に適応する、という時計の生態学的意義についても興味を持たれた。

④ ゼブラフィッシュの概日リズム形成におけるメラトニンの役割
岡野俊行 (東京大学大学院理学系研究科、科学技術振興機構・PRESTO)

メラトニンは松果体や網膜で産生されるホルモンで概日時計の出力として知られる代表的な分子であるが、時刻情報の伝達に関与するのかについてはまだ不明なところが多いようである。演者はゼブラフィッシュを用いて、メラトニンが概日リズムにどのように関与しているのかを、トランスジェニック(Tg)系統を作成しその役割を探る研究を報告した。時計タンパクBMALのドミナントネガティブ体を松果体に発現させたTg系統では松果体でのメラトニンの合成リズムが消失した。しかし、末梢の臓器で

は時計遺伝子の発現リズムは消失せず、末梢で見られるリズムは中枢時計から独立していることが示唆された。昆虫の場合、末梢の時計は中枢の時計から光同調機構も時計機構もある程度独立していることが知られているので、ゼブラフィッシュは哺乳類よりも昆虫に近い時計システムを使っている印象を受けた。遊泳リズムは消失する個体もあったがリズムが残る個体もあり、個体変異が大きかった。さらに興味深かったのは雌雄で遊泳リズムが消失する個体の割合が異なったことである。口演後の議論では、雌雄での表現型の違いが今後の研究の新しい切り口につながるのではないかということが提案された。Tg系統の表現型にばらつきがでてしまうことや魚の遊泳リズムをとることが難しかったことなど口演でしか聞けない苦労話を聴く事ができ、実際にどのように実験をしたのが身近に感じられた。

⑤哺乳類行動リズムの複数振動体系による制御 安倍 博 (北海道大学大学院医学研究科)

現在、哺乳類の概日リズムは複数の振動体によって駆動されていると考えられているが、これらの振動体の局在や振動体間の関係はまだ明らかになっていない。哺乳類の複数振動体系を解明するために、恒暗条件でリズムがスプリットするCSマウスの行動リズムと脳内の時計遺伝子の発現リズムを調べた結果が報告された。恒暗条件でリズム・スプリッティングしているCSマウスに制限給餌サイクル (RF)

を与えると、行動リズムはRFに同調した。また、CSマウスの*mouse Period* (*mPer1*, *mPer2*, *mPer3*) のmRNAの発現を視交叉上核 (SCN) と大脳皮質と比較したところ、*mPer3*の発現パターンに違いはなかった。しかし、*mPer1*と*mPer2*の発現は、SCNにおいてシングルピークを持つ概日振動があり、大脳皮質ではスプリットした活動と一致する双峰性の振動が観察された。これらの結果から、SCNの*per* 遺伝子群はCSマウスのスプリッティングには関係しておらず、SCN外振動体の存在が示された。また、CSマウスにRFを与えたところ大脳皮質において*mPer1*のみがRFに同調することがわかった。この口演内容からSCN外振動体は大脳皮質にあるのだと予想できたが、そこまで言及があったかは聞き逃してしまいわからなかった。野生型マウスではSCNと大脳皮質との関係はどうなっているのかに興味を持った。

今回のシンポジウムでは、時計の分子機構がおよそ解明されつつあるのに伴い、概日時計の研究の流れが、時計の出力系、複数振動体からなる時計機構の全体像や振動体間の関係を解明するという方向へシフトしていることを感じた。また、最先端で活発に研究されている方々の講演を短時間で5題も聴くことができ有意義な時間であった。皆個性的で興味深い研究であり非常に刺激を受け、私も頑張ろうという気にさせられた。

大阪大学蛋白質研究所セミナー 「体内時計と体内恒常性維持機構」に参加して

池田真行

富山大学理学部生物学科

視交叉上核のリズム発振機構や出力機構研究をリードされてきた永井克也先生が、長年にわたり所長を勤められた阪大・蛋白質研究所では、これまで時間生物学に関するセミナーが何回か行われてきたが、本年3月に先生がご退官されるにあたり、その最終回が昨年10月24-25日に開催された。永井先生を含めて発表者が計16名という少人数セミナーであったが、多数の時間生物学研究リーダーが集った内容の濃いセミナーであった。名古屋大学・近藤孝

男先生のKaiCリン酸化サイクルによるシアノバクテリアの概日振動機構に関するご講演や、神戸大学・岡村均先生の中枢時計から抹消組織への神経連絡の話題など、昨年のゴードンカンファレンスを思い起こさせる最先端の話題が多く、また研究のバックグラウンドを含めかなり詳細にわたる講演が多かったように思われる。小生は幸い、最終回にして今回初めて参加することができた訳であるが、こうした内容を日本語でまとめて聞ける稀有な機会

あったように思う。

阪大蛋白研セミナー演題一覧（演者敬称略）

KaiCリン酸化サイクルによるシアノバクテリアの概日振動機構 近藤孝男・名大

シアノバクテリア時計蛋白質の立体構造解析に基づく分子機構解析 石浦正寛・名大

昆虫の概日リズム機構 富岡憲治・岡山大

ゼブラフィッシュの概日リズムの分子機構

David Whitmore・University College London
時計遺伝子Periodの機能解析 程肇・三菱生命研
翻訳後修飾によるmCRY 2の安定性の制御機構

原田裕子・ハーバード大／深田吉孝・東大
体内時計遺伝子-ショウジョウバエ生殖リズムから肥満まで 産総研／筑波大・石田直理雄

光と哺乳類時計遺伝子：中枢時計と末梢時計 岡村均・神戸大

中枢時計と末梢時計の振動メカニズム：発光レポーターを用いた解析 本間さと／本間研一・北大

哺乳類概日転写制御機構 内匠透・大阪バイオサイエンス研

体内時計ニューロン細胞質Ca²⁺濃度にみられるサーカディアンリズム 池田真行・富山大

睡眠覚醒リズム障害の遺伝子解析 海老澤尚・東大

生体時計による血圧日内変動の分子機構 江本憲昭・神戸大

末梢臓器の体内時計に対する神経性・ホルモン性調節 柴田重信・早稲田大

Clockミュータントマウスにおける循環調節の変化 勢井宏義・徳島大

ヒスタミン神経系と睡眠覚醒行動 裏出良博・大阪バイオサイエンス研

視交叉上核による自律神経系を介する体内恒常性維持機構 永井克也・阪大

小生にとっては、恩師である岡山大学・富岡憲治先生の研究成果を久々に聴くことができ大変嬉しかった。近年、ショウジョウバエの概日ペースメー

カーは腹側に位置する脳側方部ニューロン (LN_s)である可能性が示唆されているが、発表によると、例えばsmall LN_sのPer遺伝子発現リズムは主に明暗サイクルに同調し、恒明条件下ではすぐに消失するのに対して、ある未同定細胞群では恒明条件下でも温度サイクル依存的にPer発現リズムを示すという。小生は昨年より、ショウジョウバエのペースメーカーニューロンを、カルシウムイメージングで画像化すること試みており、そうした意味においても大変興味をそそられる内容であった。海外からの招待演者としてはUniversity College LondonのDavid Whitmoreが、ゼブラフィッシュの概日リズムの分子リズム機構についての発表を行なった。ゼブラフィッシュ由来の細胞株も単一細胞レベルでClockタンパク発現にサーカディアンリズムがあり、光パルスにより位相変位を起こすことがわかっているらしい。masterblindという視覚系ミュータントを用いたり、RNA干渉法を用いたさまざまなスクリーニングを行なうなど、今日盛んに行なわれている分子時間生物学の手法を貪欲に取り入れているという印象を受けた。（こうした発表を聞く度に、この細胞のCa²⁺濃度はどのように変化しているのだろうか？とってしまうのは小生の悪い癖であろうか。）日本時間生物学会を除けば、理学系というよりは、どちらかといえば医学系の学会に参加することが多い小生にとっては、網羅的に多様な生物の体内時計の仕組みについて勉強できたことは大変有意義であった。

永井先生のご講演は、自律神経系の概日時刻制御に、視交叉上核からの神経出力が影響を及ぼしていることや、神経トレーサーを用いてその神経出力経路を明らかにした研究など、先生の視交叉上核研究の歴史に始まり、最後にはグレープフルーツの香りによる代謝調節の話題など、新たな展開を予感させる興味深いものであった。先生は、阪大をご退官後、ベンチャー企業を立ち上げて研究を継続発展されるらしい。蛋白研セミナーというかたちでは今回が最後ということではあるが、また別のスタイルで時間生物学者を集めたセミナーを企画していただけたらと思ったのは小生だけであろうか。