氏　　　　名	吉井　大志
授与した学位	博　士
専攻分野の名称	理　学
学位授与番号	博甲第３１７６号
学位授与の日付	平成１８年　３月２４日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 （学位規則第４条第１項該当）
学位論文の題目	Behavioral and molecular studies of a circadian multi-oscillator system in the fruit fly, *Drosophila melanogaster* （キイロショウジョウバエ概日複数振動体系の行動学的・分子生物学的研究）
論文審査委員	教授　富岡　憲治　　教授　酒井　正樹　　教授　高橋　純夫

学位論文内容の要旨

キイロショウジョウバエを用いた遺伝学的、分子生物学的解析は、概日時計の振動が一群の時計遺伝子から成る自己フィードバックループにより生ずることを明らかにしてきた。しかし、概日時計が性質の異なる複数の振動体により構成されることが以前から示唆されているにも関わらず、キイロショウジョウバエでは複数振動体系は殆ど考慮されてこなかった。本研究では、様々な温度と光条件を用いて、キイロショウジョウバエ概日時計機構を行動、細胞、分子のレベルで解析し、歩行活動リズムに対する複数振動体の関与について解析した。

自己フィードバックループの主要な構成遺伝子である *per*、*tim*、*dClk*、*cyc* の突然変異系統 per^{01}、tim^{01}、$dClk^{Jrk}$、cyc^{01} では、恒常条件で概日リズムが消失する。しかし、様々な周期の温度サイクルを与えて歩行活動を計測した結果、per^{01} と tim^{01} には内因性のリズムが観察され、温度周期に駆動される *per* 非依存的な振動体の存在が示唆された。また、その振動体には *dClk* と *cyc* が関与することが示唆された。一方、野生型の温度周期下での活動リズムおよび時計タンパク質の発現リズムの解析では、温度に駆動される正常なリズムには自己フィードバックループが関与することが示された。免疫組織化学的解析から、既知の６群の時計細胞に加えて、脳側後方部の細胞が温度サイクル下での歩行活動リズムに関与することが明らかになった。

光受容分子クリプトクロムの機能欠損突然変異系統 cry^{b} は、恒明条件下で、短周期（約 22.5 時間）と長周期（約 25 時間）の２つの自由継続リズムを同時に示した。それぞれのリズムは、自己フィードバックループに依存した２つの振動体に駆動されるが、これら２つの振動体は異なる光応答性を持ち、関与する時計細胞群も異なることが明らかになった。

以上の結果から、キイロショウジョウバエ概日時計機構には性質の異なる振動体が少なくとも２つ以上存在し、それらの相互作用で適切な活動リズムが駆動されることが示唆された。

論文審査結果の要旨

本論文は、キイロショウジョウバエの行動リズムを制御する概日複数時計機構を、様々な温度と光条件を用いて、行動、細胞、分子のレベルで解析した結果を記載したものである。第1章では、時計遺伝子 *per*、*tim*、*dClk*、*cyc* の無周期突然変異系統 per^{01}、tim^{01}、$dClk^{Jrk}$、cyc^{01} の歩行活動を、様々な周期の温度サイクル下で計測した結果、per^{01} と tim^{01} が内因性のリズムを示すことを見出し、温度周期に駆動される *per* 非依存的な振動体の存在を示唆した。また、その振動体には *dClk* と *cyc* が関与することを示唆する結果も得た。第2章では、野生型の温度周期下での活動リズムおよび時計タンパク質の発現リズムの解析により、温度に駆動される正常なリズムには時計遺伝子の周期的発現が関与することを示した。さらに免疫組織化学的解析により、既知の時計細胞に加えて、脳側後方部の細胞が温度サイクル下での歩行活動リズムに関与することを明らかにした。第3章では、光受容分子クリプトクロムの機能欠損突然変異系統 cry^b が、恒明条件下で、その活動に短周期（約 22.5 時間）と長周期（約 25 時間）の2つの自由継続リズムを同時に示すことを明らかにした。続いてこれらが、時計遺伝子の周期発現に依存した2つの振動体に駆動されるが、それぞれ異なる光応答性を持ち、関与する時計細胞群も異なることを明らかにした。

以上の結果から、キイロショウジョウバエ概日時計機構には性質の異なる振動体が少なくとも2つ以上存在し、それらの相互作用で適切な活動リズムが駆動されることを示唆した。

本論文は、概日リズムを制御する時計機構に、性質の異なる複数の時計が関与すること、それらの時計が異なる時計細胞に対応すること、さらに時計のひとつは従来知られている時計遺伝子の発現に依存しない振動であることをはじめて明らかにしたものであり、論文の内容は質量ともに博士論文として十分に値するものと認定された。以上