

京都大学	博士 ( 理 学 )	氏名	左倉 和喜
論文題目	Physiological analysis of the circatidal rhythm in the mangrove cricket, <i>Apteronemobius asahinai</i> (マングローブスズの概潮汐リズムの生理学的解析)		
(論文内容の要旨)  潮間帯に生息する多くの生物は、活動に潮汐周期に対応した約 12.4 時間周期のリズム (潮汐リズム) を示す。多くの場合、この潮汐リズムは恒常条件下でも観察される。この恒常条件下でみられる潮汐リズムは概潮汐リズムと呼ばれる。概潮汐リズムは内因的な生理学的機構によって生み出されていると考えられている。野外の生物は潮汐の時刻を示す同調因子を受容し、概潮汐リズムを実際の潮汐周期に同調させている。  マングローブ林に生息するコオロギの一種マングローブスズは、概潮汐リズムを示し、さらに、約 24 時間周期で活動の強度を変化させる概日リズムを同時に示す。第 1 章では、本種が示す概潮汐リズムの同調因子の特定を目的とした。マングローブスズ成虫を浸水させると、浸水時刻に概潮汐リズムが同調することが知られていたが、水との接触自体と、その接触直後に生じる歩行活動のいずれが同調因子なのかは明らかでなかった。そこで歩行できないように、成虫を虫ピンで固定した後で浸水させると、浸水させた時刻に概潮汐リズムが同調した。このことから水との接触自体が、マングローブスズが示す概潮汐リズムの同調因子として働くと結論した。  第 2 章では、活動リズムから位相を検出するための統計手法を開発した。時間生物学分野では、活動リズムを示す際にアクトグラムが用いられる。これまで、アクトグラムを人の眼で見ることで活動リズムの位相を検出することが多かった (視察法)。しかし視察法は、恣意的な結果を導く恐れがあった。そこで本研究では、アクトグラムを分割し、分割したアクトグラムそれぞれに対して独立に階層因子セグメンテーション法を適用する方法を開発した。この方法を用いることで、アクトグラムを分割せずに階層因子セグメンテーション法を適用した場合よりも高精度で概日リズムと概潮汐リズムの位相を検出することに成功した。  これまでのマングローブスズの活動リズム研究は、すべて野外採集した個体を用いてきたため、潮汐経験のない個体が概潮汐リズムを示すかどうか明らかではなかった。第 3 章では、明期 16 時間暗期 8 時間、25 度一定の条件下でマングローブスズを卵より飼育し、羽化した成虫の活動リズムを恒常条件下で測定した。その結果、約半数が概潮汐リズムを示したが、残りの多くは、野外採集個体では見られない約 24 時			

間周期の活動リズム（ひと山型リズム）を示した。以上より、すべてのマングローブスズが概潮汐リズムを示すためには、実験室飼育時とは別の環境条件が必要であると結論した。次に、このひと山型リズムが概日リズム由来かどうかを調べた。マングローブスズが示す活動強度を変化させる概日リズムは恒明条件下で消失することが知られている。しかし、ひと山型リズムは恒明条件下でも消失しなかった。また、実験室で飼育したマングローブスズの活動を明暗条件下で測定し、第2章で開発した方法で解析すると、ひと山型リズムが明暗周期に同調するかしないかは、個体によって異なった。したがって、本研究で示されたひと山型リズムは概日リズム由来と概潮汐リズム由来の両方の可能性が残されている。

以上の研究から、マングローブスズは発達過程で今回の実験室条件にはない何らかの環境条件を経験することで概潮汐リズムを発現し、その後、水との接触時刻に概潮汐リズムを同調させることで、潮間帯における潮汐周期の影響に対応していることが明らかになった。

(論文審査の結果の要旨)

時間生物学の著しい発展は、概日リズムをもたらす分子機構、神経機構の研究に支えられてきた。しかし、生物の周期性を幅広く理解するために、異なる周期をもつリズムについて概日リズムに匹敵するレベルの研究が待ち望まれている。その一つとして、12.4時間の潮汐周期に対応した内因性リズム、概潮汐リズムがあげられる。マングローブスズは、マングローブ林という潮汐の影響を受ける環境に生息する翅のないコオロギであり、干潮時に歩き回り、満潮時に休息する。この活動の背景に約12.4時間周期の概潮汐リズムがあることが知られており、野外から実験室に移しても歩行活動の周期性が長期間にわたって明瞭に継続すること、飼育や実験操作が比較的容易であることで、最近研究が進んできた。本研究は、このマングローブスズの概潮汐リズムの生理学的な性質を実験室で検討するとともに、概潮汐リズムの新しい解析方法を開発したものである。

申請者は、第1章でマングローブスズの概潮汐リズムの同調因子を解明した。人工的に潮汐をもたらす装置を用いて満潮が同調因子としてはたらくという研究はあったが、水がからだに触れると虫は移動するので、虫の移動自体が同調因子になる可能性は否定できていなかった。申請者は虫のからだを固定して水に触れさせることで、水との直接の接触が同調因子であることを特定した。水と接触することは一見わかりやすい満潮の信号であるが、実験によってこれを証明したのは初めての例である。さらに、水の受容や、リズムをもたらす時計への経路などから概潮汐リズムの神経レベルの研究へと発展する可能性を拓いた。

申請者は、これまで時間生物学分野でアクトグラム（活動の時間的推移を示すグラフ）を人の眼で見ることで活動リズムの位相を検出していたことを問題視し、第2章では、概潮汐リズムに適用可能な統計プログラムを開発して、客観的に位相を検出することに成功した。

これまでの概潮汐リズムの研究ではどのような履歴を持つ動物が周期性を示すのかが明らかではないことが多かった。過去のマングローブスズの活動リズム研究は、すべて野外で採集した成虫が用いられてきたため、申請者は第3章では、実験室で卵から飼育した成虫の活動リズムを検討した。その結果、約半数は1日に約2回活動期と休息期のある概潮汐リズムを示したが、残りの半数は約1日周期の活動リズムを示した。これより、マングローブスズが概潮汐リズムを発現するためには、野外にあり実験室の環境にない何らかの要因が関係することが指摘された。さらに、実験室のさまざまな条件で活動を記録し、第2章で開発した方法で位相の変化を検出することによって、この約1日周期のリズムの由来を検討した。その結果、概日リズムそのもの

である可能性と概潮汐リズムの周期が変化したものである可能性が指摘された。

本研究によって、概潮汐リズムの現象面での生理学的性質が明らかになり、位相を検出する客観的な方法も開発された。これらの結果、今後分子生物学や神経生物学の方法を適用することで、概潮汐リズムをもたらす生理機構の解明につながる糸口が得られた。申請者は、これまでの研究の実験や解析方法の問題点を認識し、積極的に関連分野の知識を身に付けて工夫し、より科学的な方法を適用してきた。その結果として、概潮汐リズム研究を概日リズムの研究レベルに近づける足掛かりを築いた。その成果は時間生物学分野の今後の発展に大きく寄与すると考えられる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年1月12日に論文内容とそれに関連した口頭試問をおこなった結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日以降