

氏 名	ふち かわ た ろう 渕 側 太 郎
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3209 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Study of circadian rhythm in the Japanese honeybee, <i>Apis cerana japonica</i> (ニホンミツバチ <i>Apis cerana japonica</i> における概日リズムの研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 清 水 勇 教 授 椿 宜 高 教 授 今 福 道 夫

論 文 内 容 の 要 旨

本論文において申請者は、トウヨウミツバチの一亜種であるニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) を研究材料として、概日的な体内時計の同調機構や調節の基本的仕組みを明らかにするために、体系的な実験研究を行った。まず、単離した採餌バチで、光環境が概日歩行活動リズムに及ぼす影響を調べた。その結果、歩行活動リズムは恒常条件下で自由継続することを示した。さらに、これは各種の明暗サイクルに同期し、活動のピークは明期の後半にあり、その時間は明暗サイクルに依存したが、活動終了時刻はどの明暗サイクルでも、ほぼ明期終了時にみられることを観察した。全暗 (DD) 下で自由継続している歩行活動リズムに様々な時刻で1回の光パルスを与えると、時刻依存的に位相が後退あるいは前進する位相反応応答がみられることを示した。さらにLD12:12のサイクルに同期後、全暗下で毎日、同じ時刻に光パルスを与える実験では、日没シグナル (消灯) に合わせた場合のリズムは同期し、日の出シグナル (点灯) に合わせた光パルスには同期できないことを確かめた。全明下での自由継続周期 (τ) は光の強度に依存し、強度が大きくなるにつれて周期が長くなることを見いだした。またLD12:12の明暗サイクルとスケルトン光周期でのリズムパターンの比較を行い、その活動ピーク時刻が違っていることを見いだした。このような光条件による歩行活動リズムへの効果や影響を総合して、明暗サイクルによる同調機構には、光のパラメトリック (連続的) な作用とノンパラメトリック (非連続的) な作用の両方が関わっていると論じた。次に温度環境が歩行活動リズムに与える影響について調べ、10℃の振幅の24時間温度サイクルと2パルスで構成されたスケルトン温度サイクルに同期することを観察した。こ自由継続リズムの τ は27℃から35℃の範囲で温度補償性が確認された。DD条件よりLL (全明) 条件の方がより厳格に温度補償性がみられた。これと関連して脳で発現する時計遺伝子 *period* のmRNAのレベルをLL条件下、高温 (35℃) と低温 (28℃) で調査した。その結果、mRNAの概日的周期発現も温度補償されていること、高温の発現量の方が低温よりも高いことを明らかにした。続いて採餌バチの胸部体温が日周的に上下し、これがDD条件でも自由継続することを観察した。最後に、コロニー内での社会的な相互作用がリズムに及ぼす影響を調べ、採餌バチを三匹同時に飼育すると全暗下でリズムの周期が単独個体のそれより長くなること、主観的昼前半の活動開始の体温上昇タイミングの分散が小さくなったことから、なんらかの個体間の相互作用があって、それが採餌バチの概日リズムに影響を与えていることを示唆した。以上より、申請者は光・温度や個体間作用などがミツバチの歩行活動リズムに影響、調節していることを踏まえ、そのメカニズムやコロニーや野外でそれがどのような意義を持つのかについて考察を加えた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者はニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) を研究材料として、概日的な体内時計の同調機構や調節の仕組みを明らかにするための実験研究を行った。まず、単離した採餌バチで光環境が概日歩行活動リズムに及ぼす影響を調べ、全暗条件 (DD) や全明条件 (LL) での自由継続リズムの特色、各種の明暗サイクルでの同期性のパターンをみた。さらに時刻依

存的にリズムの位相が後退あるいは前進する位相反応応答があることを示した。LLでの自由継続周期 (τ) は光の強度に依存し、強度が大きくなるにつれて周期が長くなることを見いだした。また明暗サイクルとスケルトン光周期でのリズムパターンの比較を行った。このような光条件による歩行活動リズムへの効果を総合して、同調機構には、光のパラメトリック（連続的）な作用とノンパラメトリック（非連続的）な作用の両方が関わっているというモデルを提出した。さらに、申請者は温度環境がミツバチの歩行活動リズムに及ぼす作用について研究を行った。このリズムは温度サイクルやスケルトン温度周期に同期できることを示し、概日リズムに及ぼす温度パルス効果の位相依存性を昆虫ではじめて明らかにした。続いて、歩行活動リズムと平行して採餌バチの胸部体温を測定し、これが日周変動するだけでなく概日的変動を示すことを明らかにした。この体温変化により巣盤上で密集している採餌バチが同調因子としての温度環境を調節し、集団で時計の動きを調整しているという仮説を提出した。つぎに概日リズムの特徴の一つである温度補償性を見るために、歩行活動リズムの自由継続を27℃から35℃の範囲で調べ、DDでもLLでも温度補償性が見られることを示した。さらに、この歩行活動リズムの温度補償性と関連して、脳で発現する時計遺伝子 *period* の mRNA レベルの自由継続リズムをLL条件下、高温と低温で調べ、これにも温度補償性がみられること、その発現量は温度環境によって違っており、高温のほうが低温よりも高いことを示した。これは概日リズムの温度補償性をリミットサイクルモデルで説明する Lakin-Thomas の説を支持する実験結果として注目されるものである。最後に申請者は採餌バチを複数個体同時に飼育すると、全暗下で τ の周期が単離個体のそれより有意に長くなること、さらに活動開始時期の体温上昇タイミングがそろって活動期の分散が小さくなることを見いだしている。これはミツバチの個体間になんらかの相互作用が働き、活動時間を集団レベルでそれえる仕組みの存在を示唆しており、社会性昆虫におけるリズムを考察するために重要な知見であると評価された。

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。なお、本論文および参考論文に報告されている研究業績を中心とし、口頭試問を行った結果、合格と認めた。