

学 位 論 文 題 名

The photoperiodic in *Drosophila triauraria*

(ノハラカオジロショウジョウバエの光周期時計)

学位論文内容の要旨

温帯、寒帯など季節変化の大きい地域に生息する昆虫の多くは、昼もしくは夜の長さの変化に基づき、成長・生殖に不適な季節の到来を予測し、休眠に入る。この日長（もしくは夜長）を計測する機構は光周期計時機構（光周期時計）と呼ばれ、体内時計の一つである。

本論文ではノハラカオジロショウジョウバエ (*Drosophila triauraria*) の成虫休眠を支配する光周期時計を、様々な長さの明期と暗期を組合せた明暗サイクルを用いた実験、光中断実験、温度サイクルと明暗サイクルを組み合わせた実験、及び地理的変異系統間における光周期反応の差違の比較によって解析した。本研究の材料であるノハラカオジロショウジョウバエはアジアの温帯域に生息し、秋になると越冬のため成虫休眠に入る。これまでの研究から、この休眠は光周期と温度によって決定されていることが知られている。

第 1 章

まず本種の休眠決定において、明期と暗期のどちらが重要であるのかを調べるため、非 24 時間周期の様々な明暗サイクルの下で休眠率を調べた。その結果、本種は暗期の長さに基づき休眠に入るか入らないかを決定していることが明らかになった。また、様々な明暗周期を用いた光中断実験結果から、本種の暗期の長さを計測する過程（すなわち光周期時計）には A, B 2 つの段階 (phase) があると考えられた。A phase は暗期開始後 6 ~ 7 時間続き、この間に光パルスが与えられると、パルスの長さに関わらず計時過程は暗期開始時点の状態に戻る（すなわち光パルスにより時計がリセットされる）。一方 B phase は A Phase のあと、すなわち暗期開始後約

8 時間目頃に始まり、この phase に光パルスが与えられると、計時過程は停止する場合と光パルスを見逃して進行する場合があり、光パルスが長いほど停止することが多く、短いほど見逃することが多い。A phase と B phase の物質的な関係は不明であるが、A phase の間に B phase の開始を制御する物質（もしくは刺激）が蓄積され、B phase には休眠誘起に関係する物質（もしくは刺激）が蓄積されている可能性がある。

第 2 章

休眠を支配している光周期時計に概日時計機構が関与しているかどうかを、resonance, Bunsow 及び bistability 実験により調べた。その結果、resonance 実験条件下では本種の休眠誘起率に概日変動が見られ、そしてその変動は組み合わされた暗期が延長されるに従い減衰した。また、この概日変動は卵期から resonance 実験条件下で飼育した時の方が、羽化以前は恒明条件下で飼育し、羽化直後 resonance 実験条件下に移した場合より明確であった。実験温度は休眠誘起率には影響したが、休眠率の概日変動パターンには影響しなかった。一方、Bunsow と bistability 実験では概日時計機構の関与は確認できなかった。これらの結果は、概日時計機構が本種の光周期時計に関与しているが、その役割はそれほど大きくないことを示唆している。第一章及び本章の結果に基づき、本種の光周期計時機構に関する新しいモデルを提出した。

第 3 章

本種の光周期時計を温度周期サイクルと温度パルスを組み合わせた実験で調べた。温明（18℃）冷暗（5℃）の明暗サイクルと温度サイクルの組み合わせでは休眠誘起率は低下したが、温暗冷明の組み合わせでは低下しなかった。温期 12 時間・冷期 12 時間の温度サイクルに 23 時間の暗期と 1 時間の光パルスを組み合わせた場合、光パルスが温期に与えられると休眠誘起率は低下したが、冷期では低下しなかった。これらの結果から低温（5℃）条件下では、暗期の長さを測る過程の進行に遅れが生じることが示唆された。1 時間から 4 時間の低温（2℃）、または高温（23℃）の温度パルスが暗期期間中に与えられた場合、休眠誘起率は低下したが、明期中では低下しなかった。温度パルスの影響は暗期中の 2 カ所（暗期開始から 0 - 4 時

間目と 8 - 10 時間目) で大きくなった。この時間帯は、それぞれ A Phase と B Phase に対応する。暗期中(特に A Phase)の温度変化が休眠率を低下させたのは、温度上昇の刺激が測時機構に対して光パルスと同様に Zeitgeber の役割を果たしているためと考えられた。この Zeitgeber としての温度変化の影響力は、温度の変化の幅や温度パルスの長さによっても変化した。また、低温パルス中に光パルスを組み合わせた実験の結果から、特に B Phase において、測時機構の光に対する感受性が低温によって低下させられることが示唆された。

第 4 章

概日機構と光周期計時機構の関係を、地理的変異系統を比較することにより調べた。臨界日長は地理的変異系統間で変化し、15℃では、大沼(42°N)系統では約13時間、大分(33°N)系統では12時間、屋久島(30°N)系統では10時間だった。resonance 実験では、全ての系統で休眠誘起率に弱い概日変動パターンが見られた。また非24時間周期の明暗サイクルを使った実験から、大沼と大分の系統で、光周期計時機構の反応が明暗周期単位τに近づいたとき大きくなることが示された。

大沼と大分の系統は臨界日長に1時間の違いがあるにも関わらず、光中断実験では時間軸に沿った変化はみられず、似たような反応パターンを示した。これらの結果から、これらの系統間では概日機構に変異が無いこと、そして臨界日長は概日時計に変化がなくとも変異することが示された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 堀 浩
副 査 教 授 本 間 研 一
副 査 助 教 授 木 村 正 人

学 位 論 文 題 名

The photoperiodic in *Drosophila triauraria*

(ノハラカオジロショウジョウバエの光周期時計)

一年の季節変化の大きい地域に生息する昆虫の多くは成長・生殖に不適な季節の到来を昼もしくは夜の長さの変化によって予期し休眠に入る。この日長（もしくは夜長）を計測する機構は光周期計時機構（光周期時計）と呼ばれ、体内時計の一つであると考えられている。

申請者は本論文でノハラカオジロショウジョウバエ *Drosophila triauraria* の成虫休眠の光周期反応を支配する光周期時計について、様々な長さの明期と暗期を組合せた明暗サイクルと光中断実験によって解析し、本種は暗期の長さに基づき休眠に入るか入らないかを決定していることを明らかにした。さらに、暗期の長さを計測する過程（すなわち光周期時計）は暗期開始後6－7時間続く A phase と、それに続く B phase に分けられ、A phase に光パルスが与えられると、パルスの長さに関わらず計時過程は暗期開始時点の状態に戻り（すなわち光パルスにより時計がリセットされ）、B phase に光パルスが与えられると、計時過程は停止する場合と光パルスを無視して進行する場合があり、光パルスが長いほど停止することが多く、短いほど無視することが多いとするモデルを提出した。そして、このモデルに基づけば、これまで説明できなかった非24時間周期の明暗周期を使った実験によって得られた休眠率の変化もうまく説明できることを示した。例えば、明期1時間、暗期11時間のような明暗周期の組み合わせは1回の明期を無視して、明期1時間、暗期23時間の明暗周期で観察される反応に近くなったと考えることで説明がつく。計時機構をいくつ

かの過程に分解したモデルは、これまでにいくつか提出されているが、本モデルのように光パルスが無視されることもあると仮定したモデルはこれまでにない。A phase と B phase の物質的な関係についてはまだ何も分かってはいないが、A phase には B phase の開始を制御する物質が蓄積され、B phase には休眠誘起に関係する物質が蓄積されているとも考えることができ、このモデルは、これまでに提出されたどのモデルよりも、光周期時計を物質レベルで研究していく上で、より具体的な手がかりを与えるものである。

申請者は次に光周期時計に対する概日時計機構の関与を、resonance, Bunsow 及び bistability 実験により調べた。その結果、概日時計機構の関与は resonance 実験では示されたが、Bunsow 及び bistability 実験では示されなかった。このことは、概日時計機構は本種の光周期時計に関与しているものの、その役割はそれほど大きくないことを示している。また申請者は、光周期時計に対する温度サイクル及び温度パルスの影響を調べ、低温条件下では、暗期の長さを測る過程の進行に遅れが生じること、また温度上昇が測時機構に対して光パルスと同様に Zeitgeber の役割を果たしていることを示した。このような温度サイクル、温度パルスに関する研究は少なく、ここに示された結果はこれまでにない新しい知見である。

続いて、申請者は地理的変異系統を用いた研究により、系統間には臨界日長および休眠の深さには変異があるが、概日時計機構には変異がないことを見出し、臨界日長は概日時計機構に変化が無くとも変異することを示した。

以上の結果に基づき、申請者は本種の暗期計測機構は砂時計型であり、概日時計はこの砂時計のリセットに関与しているとする新しいモデルを提出した。このモデルはこれまでの砂時計モデルと概日振動モデルを結びつけるもので、今後の光周期時計の解明に大きく寄与するものと考えられる。

審査員一同は主論文と参考論文の内容を慎重に検討した上で、申請者が博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有することを認めた。