

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		概日リズムの制御におけるステロイドホルモンの機能の解明(動物生理・行動)			
研究テーマ (欧文) AZ		A role of steroid hormone in the regulation of circadian rhythm			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) ニワ	名) リュウスケ	研究期間 B	2011 ~ 2013 年
	漢字 CB	丹羽	隆介	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	Niwa	Ryusuke	研究機関名	筑波大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		筑波大学・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>研究代表者は、ステロイドホルモンが動物の概日リズムの調節に果たす役割を追究するために、キイロショウジョウバエ時計中枢神経細胞に発現するステロイドホルモン(エクジステロイド)生合成酵素の機能解析を行った。</p> <p>研究代表者は、定量的逆転写 PCR 法を用いて、キイロショウジョウバエ成虫脳におけるエクジステロイド生合成酵素遺伝子群の発現量の日内変動を調べた。その結果、エクジステロイド生合成過程の中間体の生成に関わる既知7遺伝子のうち、4遺伝子について、昼間(明期)と夜間(暗期)にかけての発現変動が認められた。</p> <p>次に、組織化学的手法を用いて、成虫脳におけるエクジステロイド生合成酵素の遺伝子発現パターンおよびタンパク質局在の空間的分布を検討した。その結果、既知酵素の1つ(ここではAと仮称)が、時計中枢神経細胞である PDF 陽性神経細胞の一部で強く発現していることを見出した。一方で、A遺伝子以外の既知エクジステロイド生合成酵素群については、成虫脳内の PDF 陽性神経細胞以外の神経細胞において強い発現が認められた。</p> <p>研究代表者は、概日リズム制御におけるエクジステロイド生合成酵素の重要性を検証するために、時計中枢神経細胞においてエクジステロイド生合成酵素遺伝子の機能を低下させた個体を作成して、個体の活動リズムを計測した。本研究では、PDF 陽性神経細胞で発現が明瞭であったA遺伝子に焦点を絞り、RNAi 法によって PDF 陽性神経細胞でA遺伝子をノックダウンした個体のリズムを観察している。現在までに、恒常的暗条件において野生型に比べて若干の位相のずれが生じることを示す予備的結果を得ている。</p> <p>以上の成果は、ショウジョウバエ成虫脳において、エクジステロイド生合成酵素活性が日周変動をし、そして概日リズムの調節に何らかの機能を持つことを示唆するものである。一方で、組織化学的解析から、ショウジョウバエ成虫脳におけるエクジステロイド生合成の場合は、時計中枢神経細胞に限定されるものという予想外の可能性も浮上した。こうした課題への対処も含め、当初予定していた研究期間では論文公表に至るまでには研究は完成しなかった。よって、本概要は中間報告としての内容であり、研究の完成に向けて解析を継続する予定である。</p>					
キーワード FA	概日リズム	ショウジョウバエ	ステロイドホルモン		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

The aim of this research is to elucidate the role of steroid hormones in animal circadian rhythm. We have been conducting a functional analysis of genes encoding biosynthetic enzymes of ecdysteroids, the principal insect steroid hormones, in the fruit fly *Drosophila melanogaster*.

A quantitative reverse transcription-PCR analysis was performed to examine daily fluctuations of ecdysteroidogenic enzyme genes in the fruit fly adult brains. We found that 4 out of 7 identified ecdysteroidogenic enzyme genes are expressed differentially between day and night.

An immunohistochemical experiment was also performed to examine spatial distributions of gene expression and protein localization of ecdysteroidogenic enzymes in the adult brains. We revealed that one of the ecdysteroidogenic enzyme genes, tentatively called the gene A here, is predominantly expressed in the PDF-positive neurons, which are the core clock neurons in the adult fruit fly. On the other hand, ecdysteroidogenic enzyme genes other than the gene A are strongly expressed in neurons that are PDF-negative.

We are also examining the functional importance of ecdysteroidogenic enzymes in the regulation of circadian rhythm. We established the transgenic animals by knocking down ecdysteroidogenic enzyme genes specifically in the clock neurons, and measured activity rhythm of these knocked-down flies. In this research, we are especially focusing on the gene A, which is predominantly expressed in the adult clock neurons as described above. Our preliminary data showed that the clock neuron-specific RNAi to the gene A exhibited a weak but abnormal phase shift in a constant dark condition.

These results suggest that the activity of ecdysteroid biosynthesis might fluctuate during day and night, and play a role in regulating circadian rhythm in the adult fruit fly. On the other hand, our data also raise the possibility that ecdysteroid biosynthesis does not occur only in the clock neurons in the adult brains. We will continue further functional analysis on ecdysteroid biosynthetic enzymes in the adult fruit fly.