

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		概日時計のロバストネスを支える光受容の脱感作機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Research on the light desensitization mechanism contributing to robustness of the circadian clock			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓)アカシ	名)マコト	研究期間 B	2014～ 2016年
	漢字 CB	明石	真	報告年度 YR	2016年
	ローマ字 CZ	Akashi	Makoto	研究機関名	山口大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		山口大学時間学研究所・教授			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>哺乳類の概日時計中枢である視交叉上核において、リン酸化を介した細胞内情報伝達経路は、概日時計の堅牢性において必須であるのみならず、光入力による位相調節の際にも重要な役割を果たす。一方、リン酸化シグナルを負に制御する脱リン酸化酵素群も概日時計制御において役割を持つと考えられるが、これまでのところ詳細は明らかにされていない。今回の研究では、この仮説を <i>in vivo</i> と <i>ex vivo</i> のアプローチによって検討した。私たちは、発現レベルにおいて概日変動を示す、あるいは概日時計制御に関与するリン酸化酵素に作用する、などの過去の報告に基づいて、2つの脱リン酸化酵素に着目して研究を進めた。実験の材料として、これら2つの脱リン酸化酵素の機能を失っている遺伝子改変マウスを入手するとともに、時計遺伝子発現を高時間分解能でリアルタイム計測するために、時計遺伝子 <i>Period2</i> の下流にホタル <i>Luciferase</i> を融合したマウスを、2つの脱リン酸化酵素の機能を失ったマウスと交配した。私たちは、まず、このマウスにおける自発行動の概日リズムについて、恒常暗条件下において赤外線センサーを用いて評価した。その結果、野生型のマウスと比較して、2つの脱リン酸化酵素を失ったマウスは、自発運動の概日リズムの周期長において個体差が幅広くなる傾向があった。このことは、概日時計の堅牢性が低下したことを示唆している。次に、明暗サイクルの位相前進実験を実施した。すなわち、明暗サイクル(照明のオンオフ時刻)を6時間前進させ、この新規光環境に対する順応速度を調べることで、概日時計の堅牢性を評価することができる。実験結果より、野生型のマウスよりも、2つの脱リン酸化酵素を失ったマウスでは明暗サイクルの変化に対する応答が素早かったことから、やはり堅牢性の低下が示唆される結果となった。最後に、2つの脱リン酸化酵素を失ったマウスから分離した視交叉上核の組織培養を実施して、概日時計の自律振動性におけるこれらの分子の役割を考察した。<i>Period2</i> 発現の概日リズムにおける振幅や周期などに対してこれらの分子の欠損は明確な影響を与えなかったが、位相においては、野生型と比べて前進していることが確認された。以上の結果から、これらの脱リン酸化酵素は、概日時計の堅牢性と位相調節において機能していることが示唆された。</p>					
キーワード FA		概日時計	時計遺伝子	脱リン酸化酵素	

(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}

Although protein phosphatases that negatively regulate the activity of these kinases are thought to have some potential roles in the mammalian circadian clock, the details remain unknown. To examine the role of two protein phosphatases in the mammalian circadian clock, we obtained mice lacking the genes coding them from our collaborators. We first established double knockout (DKO) mice lacking both these phosphatases, and then these DKO mice were cross-mated with mice carrying the firefly luciferase gene fused with the clock gene *Period2* (*Per2*). We first examined the free-running period of locomotor activity in these mice, the length of which reflects the intrinsic circadian period length of mice. Their behavior was monitored under a constant dark condition in dark boxes equipped with an infrared sensor. The obtained data suggest that their circadian period length was variable among individuals; some mice showed a short circadian period in locomotor activity and others a long one, when compared with that of wild-type mice. Next, we investigated circadian adaptability of these mice to a 6-hr phase shift of light-dark cycles by monitoring their behavior in dark boxes equipped with an infrared sensor, and found that their behavioral rhythms phase-shifted faster than those of wild-type mice. This result indicates that mice lacking these two phosphatases may have a circadian clock with a decreased robustness against environmental changes. Finally, we examined circadian characteristics of PER2-LUC expression by performing ex vivo slice cultures of the suprachiasmatic nucleus, the center for the mammalian circadian clock in the brain. Although circadian characteristics of PER2 expression such as amplitude and period were almost normal in these phosphatase-deficient mice, the circadian phase of the suprachiasmatic nucleus seemed to be advanced when compared with that of wild-type mice. This result indicates that these phosphatases have a role for normal circadian phase adjustment in the suprachiasmatic nucleus.