

# 光による体内時計の時刻合わせと目覚まし機構

羽鳥 恵 (生物化学専攻博士課程修了<sup>注1)</sup>, 廣田 毅 (元生物化学専攻 特任助教<sup>注2)</sup>, 深田 吉孝 (生物化学専攻 教授)

生物は一日の時刻を知る概日時計を体内に備えており、光を用いてその時刻を外界と合わせる。われわれは、この体内時計の時刻合わせに転写因子 SREBP が関与することを見出した。光は松果体において SREBP を活性化すると共に、神経ステロイドの一種である 7 $\alpha$ -ヒドロキシプレグネノロンの合成と分泌を促進し、行動を刺激することを発見した。松果体という脳内器官はこれまで長い間、夜の睡眠促進ホルモンであるメラトニンを分泌することで知られてきたが、活動レベルの上昇にも重要な役割を果たすことが初めて示された。

概日時計は約 24 時間の周期をもつ生物時計であり、睡眠・覚醒やホルモン分泌などのさまざまな日周リズムを制御している。概日時計は周囲の光環境の変化に同調するための時刻合わせ機能をもっていて、日暮れ後に光が当たる（夜更かしする）と時刻を遅らせ、いっぽう、夜明け前に光を受ける（早起きする）と時刻を進める。このように、時刻によって光刺激が正反対の位相調節を行うのはすべての生物の概日時計に共通した特徴だが、その仕組みはよく分かっていなかった。

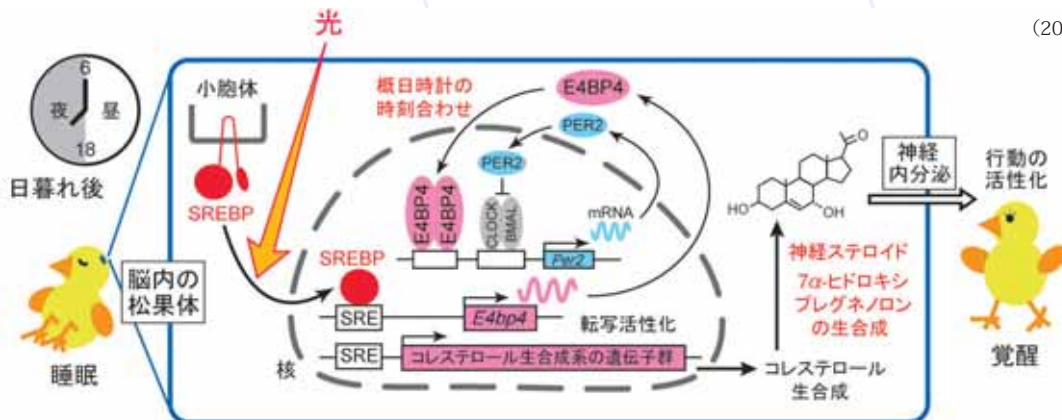
われわれは、日暮れ後または夜明け前の光で活性化される遺伝子を網羅的に探し、その遺伝子群の特徴に基づき、時刻依存的な光応答の仕組みに迫ろうと考えた。ヒヨコの松果体を用いた解析の結果、コレステロールの生合成に関する多数の遺伝子が日暮れ後の光で活性化されることが明らかになった。興味深いことにこれらの遺伝子の光応答は、*E4bp4* という遺伝子の光応答パターンとひじょうによく似ていた。*E4bp4* は時計遺伝子 *Per2* の転写を抑制する位相制御遺伝子である。そこで、*E4bp4* を含めた一群の遺伝子の光応答を引き起こす上流因子を探索した結果、コレステロール生合成系の遺伝子群を誘導するタンパク質である SREBP が日暮れ後の光で活性化されること、そしてこの SREBP は *E4bp4* 遺伝子の転写を促進すること

を見出した。SREBP は日暮れ後における概日時計の光応答（位相の後退）を生み出す鍵となる因子であった（図）。

この研究は、さらに面白い方向へ展開した。*E4bp4* 遺伝子とともに、コレステロール生合成にかかわる一群の遺伝子群が光によって活性化されるが（前述）、その生理的な意味を深く追求した結果、松果体はコレステロールから 7 $\alpha$ -ヒドロキシプレグネノロンという神経ステロイドを活発に合成・分泌していることを発見した。たとえば、日暮れ後に松果体を取り出して光で刺激すると 7 $\alpha$ -ヒドロキシプレグネノロンの分泌量が上昇した。また、7 $\alpha$ -ヒドロキシプレグネノロンを生きたヒヨコ脳室内に投与すると行動量が大きく上昇した。これらの結果から、神経ステロイドの分泌を介して目覚ましにも寄与する、という松果体の新しい生理機能が明らかになった（図）。

本研究は、時刻に依存して光活性化される分子シグナルの経路を明らかにしただけでなく、遺伝子発現が行動を制御する仕組みを明確に示した点で注目される。メラトニンを介して睡眠を促進すると考えられてきた松果体が、じつは目覚ましにも寄与するという新たな知見は、今後、ヒトの睡眠異常の克服などにも重要な足がかりになると期待される。この成果は M. Hatori *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 4864 (2011) に掲載された。

(2011年3月8日プレスリリース)



光による概日時計の時刻合わせと目覚ましの仕組み

注1) 現所属：米国ソーク研究所 研究員  
注2) 現所属：米国カリフォルニア大学サンディエゴ校 研究員

# 中心子のマジックナンバー「9」の由来

廣野 雅文 (生物科学専攻 准教授)

◆ ◆ ◆  
 原生動物からヒトまで、繊毛の内部はきまって2本の管を9本の管が囲んだ特徴ある形をしている。「9+2」構造とよばれるこの構造パターンは、根もとにある中心子という細胞小器官がもつ、9回の回転対称形に由来する。この普遍的な形をつくる分子機構は長らく謎だったが、今回、中心子形成の足場として働くタンパク質のX線結晶構造と分子間相互作用を解析することにより、その一端が解明された。  
 ◆ ◆ ◆

真核生物の鞭毛や繊毛（以下、繊毛）の内部構造は、機能や生物種を超えて驚くほど共通性が高い。運動能をもつ繊毛の多くは、2本の微小管を9本の微小管が取り囲んだ「9+2」とよばれる骨格構造をもち、運動能を持たない繊毛の内部は「9+0」型になっている。いずれも外周にある微小管の数が9本だが、これを決めているのは鞭毛の根もとにある中心子（基底小体）という細胞小器官（図）である。9本の特殊な微小管（トリプレット微小管）からなる構造が繊毛微小管の鋳型として働くことにより、その内部構造を規定している。

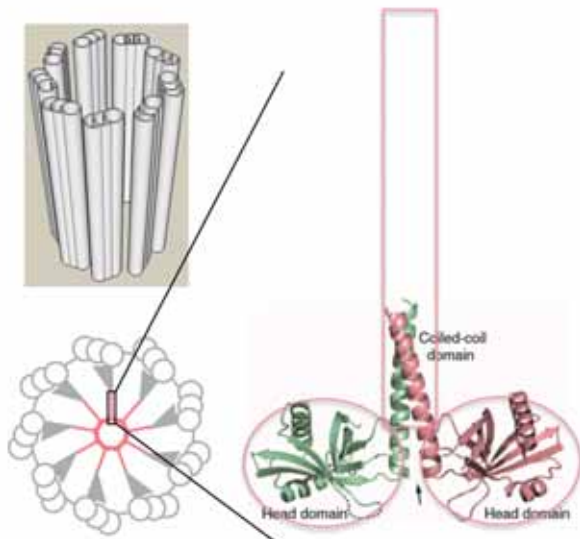
この中心子構造がどのように形成され、9という数がどのように決まるのかは、現代細胞生物学の大きな謎だった。われわれの研究グループは、最近、単細胞緑藻のクラミドモナスの突然変異体 (*bld12*) を用いた解析により、a) 中心子形成のさいに、カートホイールという9回対称の放射状構造が、中心子微小管の形成の足場として働くこと、b) カートホイールの中央部分を

作っているのはSAS-6というタンパク質で、これがなくなると中心子微小管の数が9本に固定されなくなることを明らかにした（図）。つまり、中心子の9回対称構造の由来は、SAS-6が作る形にあることが明らかになった（理学部ニュース2008年1月号掲載）。しかし、SAS-6がどのような分子構造で、どのようにカートホイールに組み込まれているかは不明であった。

今回、われわれは英国 Medical Research Council のX線結晶解析研究グループとの共同研究により、SAS-6の分子構造と分子間相互作用を解析した。その結果、SAS-6はコイルドコイルを介して二量体を形成し、2つの球状の頭部と繊維状の尾部からなる形をしていることと、この二量体どうしが頭部の先端で疎水性の結合をすることが明らかになった（図）。さらに、実際に *in vitro* でカートホイール中央部に似た構造を形成することもわかった。したがって、カートホイール中央部は、SAS-6二量体が尾部を外に向けて会合することにより形成されると予測される。

そこで、実際のカートホイールにおいてSAS-6がこの予測通りに配置して相互作用しているのかを検証するため、頭部間の疎水結合を阻害する変異と、コイルドコイルを介した二量体を不安定化する変異を導入したSAS-6を *bld12* 変異株に発現させ、それらが細胞内で機能するかどうかを検討した。その結果、発現したいずれの変異SAS-6も中心子または中心子形成サイトに局在したが、カートホイールは形成されなかった。さらに、モデルによるとSAS-6のC末端はカートホイールの中心から離れた場所に位置すると予測されるが、免疫電子顕微鏡法により、SAS-6のC末端が予測通りの局在を示すことも確認された。これらの結果から、分子構造のモデルから推測されるとおり、カートホイール中央部は9回対称に会合したSAS-6で構成されていることが確定的になった。この結果は、多くの真核生物に共通する幾何学的構造パターンの形成機構が、分子レベルで明らかになった数少ない1例である。本研究は M. van Breugel *et al.*, *Science* 331, 1196 (2011) に掲載された。

(2011年3月29日プレスリリース)



中心子とカートホイール

SAS-6 二量体

中心子の微小管骨格構造（左上図）は、基部にあるカートホイール（下左図）を足場として形成される。カートホイールの中央部分は、9回対称に会合したSAS-6二量体（右図）で構成されている。

# ウニ精子の機械受容反応の発見と遊泳制御

蒲原 祐花 (生物科学専攻博士課程修了<sup>注</sup>),  
真行寺 千佳子 (生物科学専攻 准教授)

◆ ◆ ◆  
海産動物の精子の多くは、卵まで遊泳して受精する。この遊泳を成功させる鍵が海水中のカルシウムにあるが、カルシウムにより決定される精子の遊泳制御の仕組みはまだ謎に包まれている。私たちは、ウニ精子の機械受容反応（精子頭部が物に衝突すると遊泳方向を変えて回避する反応）を発見し、その反応を指標とするという新たな試みにより、精子の遊泳方向が精子内部のカルシウム濃度の変化によりどのように制御されるのか、またそのカルシウム濃度の変化はどのような膜タンパク質の働きにより調節されているのかを解明することに成功した。

◆ ◆ ◆  
精子が、鞭毛運動により卵に向かって遊泳するには、遊泳方向の調節が重要である。遊泳方向の制御は、遊泳の推進力を生み出す鞭毛の運動制御と深く関連している。精子だけでなく、鞭毛・繊毛運動を行う生物や細胞には、さまざまな刺激により誘導されるカルシウム依存性反応が広く見られ、精子の遊泳制御も、そのひとつである。

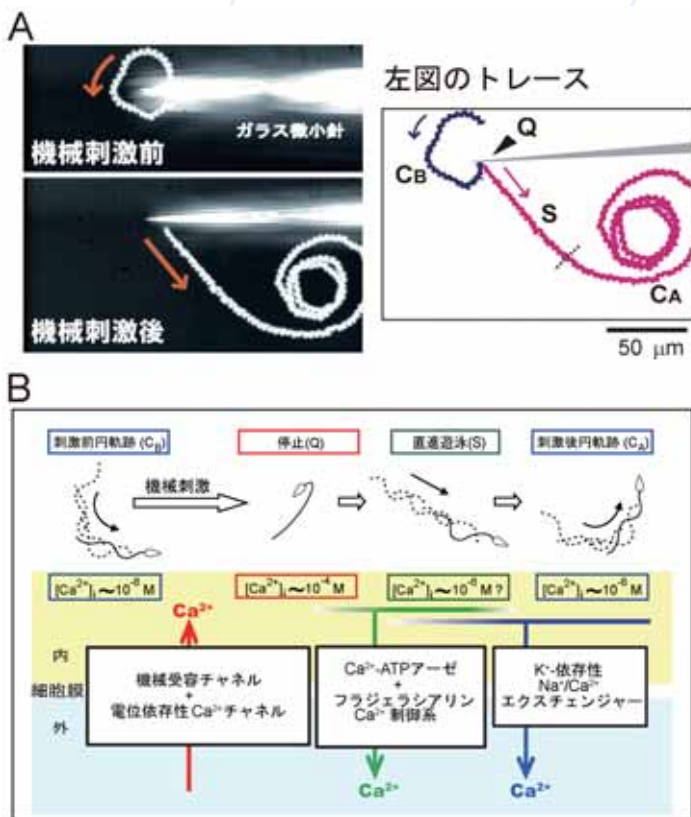
ウニ精子の機械刺激により誘導される機械受容反応の例を図Aに示す。スライドガラス面近くの精子は、円を描くように遊泳する（左上図と右図のC<sub>B</sub>）が、遊泳軌跡内にガラス微小針を挿入（図の右から左方向へ）して、精子頭部先端が針にぶつかるように操作すると、前進遊泳していた鞭毛が一時的に停止

(Q)する。このとき、精子頭部は停止前とは反対方向を向く。その後鞭毛運動を回復した精子は直進性の高い遊泳軌跡（左下図と右図のS）を示す。この結果、精子は障害物（実験ではガラス微小針）を回避する。やがて鞭毛の波形は通常に戻り再び円軌跡を描くように泳ぐ（C<sub>A</sub>）。

カルシウム依存性鞭毛反応は、数タイプの鞭毛波形変化が短時間に連続して起こるため、その機構解明はこれまで容易ではなかったが、今回、機械受容反応の発見により、この反応を指標としてカルシウム依存性鞭毛反応の基本機構の解明を実現した。まず、蛍光カルシウムインジケーターであるFluo4を精子内に導入し、カルシウム濃度と機械受容反応との同時測定を行った。その結果、細胞内カルシウム濃度は、停止を示すQの時に最も高く、直進遊泳時のSでは中間の高めの濃度であることが明らかとなった。このことは、鞭毛打の対称性の変化はカルシウムの特定の濃度によって誘導されるのではなく、濃度の時間的変化と関係して誘導されることを示唆する。また、ウニ精子で重要と考えられている主な膜タンパク質の阻害剤存在下で、機械受容反応の解析を行った。その結果、図Bに示すように、機械刺激の受容とそれに続くカルシウムの細胞内への流入に関わるチャネル、およびその後のカルシウム排出過程を担うと推測される膜タンパク質（図の枠内）の役割とそれらの関係が明らかとなった。

機械受容反応は、生命現象において重要な刺激反応機構のひとつであり、その概要が精子で解明できたことは大きな意義をもつ。また、今回得られたカルシウム濃度調節機構に関する成果は、他の細胞におけるカルシウム依存性反応機構の理解にも大きく貢献することが期待される。本研究は、Y. Kambara *et al.*, *Cell Structure and Function* 36, 69 (2011) に掲載された。

(2011年4月1日プレスリリース)



図：(A) 機械刺激前（左上図）と後（左下図）のウニ精子頭部の描く軌跡の変化、およびそのトレース（右図）。(B) カルシウム依存性機械受容反応のモデル。機械刺激前後の鞭毛波形変化（上段）と細胞内カルシウム濃度（中段）、およびカルシウムの流入と排出に関わる膜タンパク質（下段）を示す。

注) 現所属：株式会社ナガセ



# 南極大型大気レーダーで初観測に成功

佐藤 薫 (地球惑星科学専攻 教授),  
堤 雅基 (国立極地研究所 准教授), 山内 恭 (国立極地研究所 教授)

南極初の大型大気レーダー (PANSY レーダー) を昭和基地に建設し、初観測に成功しました。第 52 次日本南極地域観測隊により 2010 年 12 月下旬からほぼ 1 か月半の夏期間にアンテナ約 1000 基の設置が終了し、3 月末に試験観測を行ったところ予定通りの対流圏の乱流からの散乱信号が検出され、風速を推定できました。今後、積雪の状況などを見ながら調整を行い、2012 年初めには世界初の南極中間圏の乱流散乱の観測を試みます。極中間圏雲やオゾンホールなど人間活動の影響が強く反映される大気現象や、大気大循環を駆動する大気波動の物理を解明して気候システムにおける南極の役割を明確化する計画です。

PANSY レーダーの建設には、南極の環境保全のため地表面の整地を行わず、直径約 10 cm の小さな穴を開けて金属パイプを差し込み、アンテナを固定する方法をとりました。この夏は史上最低の積算日照時間を記録するなど、天気には恵まれませんでしたが、観測隊の超人的な努力により予定していたほぼ全数のアンテナ設置が終了しました (図 A)。2 月中旬に夏隊が帰国した後、越冬隊によりシステム調整が行われ、3 月 25 ~ 31 日に下部対流圏を対象とする観測を実施したところ、初データ取得に成功しました (図 B)。天気予報でおなじみの気象レーダーは雨粒からの散乱信号を検出しますが、このレーダーは大気中の乱流からの散乱信号を検出します。乱流はその場の風に流されているので、散乱信号のドップラー偏移からビーム方向の風速成分が求まります (図 C)。大型大気レーダーはビームを上に向けて鉛直風を高精度で観測できることが特長のひとつです。図 B に示すように鉛直風のデータも良好に得られています。しかし、2011 年の昭和基地の天気は夏が終わっても悪く、頻繁なブリザード (猛吹雪) に伴う大量の

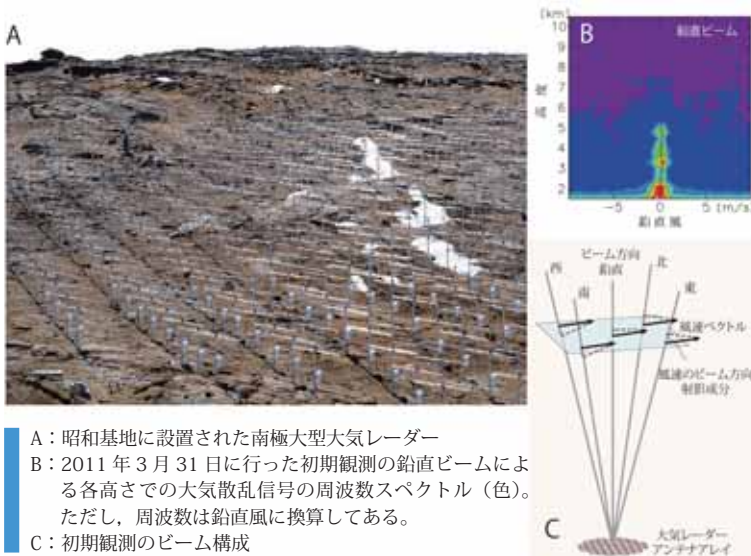
降雪があり一部のアンテナが埋没したため部分的な運用によるシステム調整を進めています。幸い、レーダー心臓部である送受信器には故障がなかったため、次の夏期間に 53 次隊によりアンテナ配置を変更し、観測を再開する予定です。

PANSY レーダーのフルシステムが稼働すれば、地上 1 km から 500 km の対流圏・成層圏・中間圏・熱圏/電離圏の観測が可能となります。これにより環境が苛酷であるため他の緯度帯に比べて遅れがちであった南極大気の観測的研究に大きな進歩をもたらすことが期待されます。極域は季節や高度領域によって大気の大循環の終着点とも出発点ともなる、きわめて重要な位置を占めています。その大循環の主要な駆動源のひとつである重力波 (浮力を復元力とする内部波) とよばれる、振幅の小さく周期の短い波の作用が、鉛直風観測の可能な PANSY レーダーによって初めて定量的にとらえられることとなります。その作用を温暖化予測などに用いられる気候モデルに組み込むことで、成層圏や中間圏の大循環がより正確に表現されるようになり、たとえばオゾンホールの予測

に関する気候モデルの系統誤差の解決に大きく寄与します。また、南極には、極成層圏雲・極中間圏雲とよばれるそれぞれ高度 20 km, 90 km 付近に現れる雲やオーロラをはじめとする極域固有の大気現象が多く見られます。なかには人間活動と深く関連する現象も複数存在します。PANSY はこのような南極の大気現象のほとんどすべてを精密に観測し、極域の地球気候における位置づけを明確にして、気候の将来予測の精度向上に寄与することを目指しています。

(2011 年 4 月 25 日プレスリリース)

PANSY プロジェクトホームページ：  
<http://pansy.eps.s.u-tokyo.ac.jp/>



A: 昭和基地に設置された南極大型大気レーダー  
B: 2011 年 3 月 31 日に行った初期観測の鉛直ビームによる各高さでの大気散乱信号の周波数スペクトル (色)。ただし、周波数は鉛直風に換算してある。  
C: 初期観測のビーム構成