

体内時計の24時間リズムをつくる仕組みを解明

平野 有沙 (生物化学専攻 特任助教)
深田 吉孝 (生物化学専攻 教授)

概日時計 (サーカディアンクロック) が 24 時間リズムを刻む分子システムにおいて CRY タンパク質は中心的な役割を果たす。CRY は F-box 型 E3 リガーゼ FBXL3 によってユビキチン化されてプロテアソーム系分解に導かれるが、われわれは今回、FBXL3 と良く似た FBXL21 が CRY を分解攻撃から守って安定化することを発見した。FBXL3 による分解制御と FBXL21 による安定化制御は、一日を通した CRY タンパク質量のダイナミックな変動をつくり出す。これらの F-box タンパク質による拮抗作用は概日時計の安定な発振に必須であることを示した。

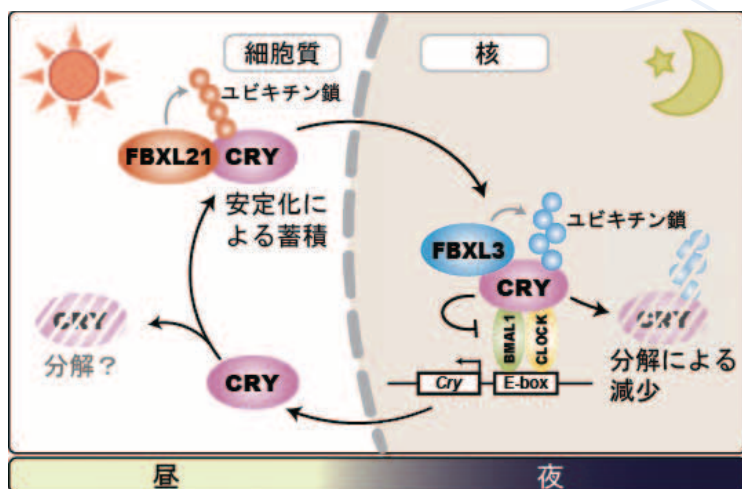
生物の体内時計である概日時計は、約 24 時間の周期で振動し、生物の睡眠・覚醒リズムやホルモン分泌リズムなどを産み出す。この時計機構は、複数の時計タンパク質が、一日を通して増減をくりかえすことによって駆動される。その中でも時計の中核として働く CRY タンパク質がどのように蓄積して増加し、どのように減少して一日のサイクルを終えるのかを理解することは重要な研究課題である。これまで、CRY は FBXL3 とよばれる F-box タンパク質によってユビキチン化修飾を受けて分解されることが報告されていたが、CRY の分解調節だけでは CRY タンパク質量がアップダウンする日周リズムを説明することはできなかった。

本研究では、FBXL3 ともっとも近縁で構造がひじょうに似ている FBXL21 も CRY をユビキチン化修飾することを見つけたが、驚くべき事に、FBXL21 によってユビキチン化された CRY はプロテアソーム分解から免れて安定化した。一般的に、

ユビキチン化されたタンパク質は分解される例が圧倒的に多く、われわれが見つけた安定化機構はとても珍しいユビキチン制御といえる。これらの F-box タンパク質の時計発振における機能を明らかにするために、FBXL3 と FBXL21 の遺伝子欠損マウスの行動リズムを解析した。野生型のマウスでは、脳内の概日時計が安定に時を刻み続けるため、連続暗の (一定の) 環境条件においても固有の周期 (約 23.5 時間) の行動リズムが何十日間も安定に継続する。しかし、FBXL3 と FBXL21 を欠損した変異マウスでは行動リズムが消失し、一日を通して行動と休息をランダムにくりかえすことを発見した。本来であれば、長い期間にわたって 24 時間リズムを安定に維持できる強さ (ロバストネス) を備えた概日時計が、このマウスではきわめてもろくなっていると考えられた。興味深いことに、FBXL3 と FBXL21 はきわめて似た構造をもちながら、細胞内において、それぞれ核内と細胞質に存在した。

つまり、両者は一日の異なる時間帯に、互いに異なる細胞内の場所で CRY に作用していると考えられた。これらの結果からわれわれは、昼の時間帯に CRY タンパク質は FBXL21 による安定化制御を受けて蓄積し、夜になると FBXL3 による分解制御を受けて減少する、という CRY タンパク質のダイナミクスを生み出す作用原理を示した (図)。さらに、両者の拮抗作用は概日時計が安定な発振に必要であることを明らかにした。なお本研究は、われわれと九州大学生医研の中山敬一教授と東京大学医科学研究所の尾山大明准教授との共同研究による成果であり、Hirano *et al.*, *Cell* 152, 1106 (2013) に掲載された。

(2013 年 2 月 26 日プレスリリース)



CRY は昼に FBXL21 による安定化制御を受けて蓄積し、夜になると核内において FBXL3 による分解攻撃を受ける。FBXL21 と FBXL3 は CRY にそれぞれ異なる結合様式のユビキチン鎖を付加して CRY の分解と安定化に寄与する。

アインシュタインは修正されるか？

— 新種のニュートリノの質量でさぐる宇宙の進化 —

本橋 隼人 (京都大学基礎物理学研究所 研究員^{注)})
 アレクセイ A. スタロビンスキー (ビッグバン宇宙国際研究センター 客員教授)
 横山 順一 (ビッグバン宇宙国際研究センター 教授)

20世紀末に発見された宇宙の加速膨張を説明するには、アインシュタインの一般相対論の枠組みでダークエネルギーを考えるか、重力理論を修正するか、いずれかが必要となる。最新のニュートリノ振動実験から示唆される新種のニュートリノの存在を仮定して、宇宙の大規模構造のタネである密度揺らぎの進化を計算したところ、この条件下で密度揺らぎが現在の観測データを再現するには、修正重力理論が必要であることを見出した。

万有引力を及ぼす通常の物質しかなければ、宇宙の膨張は必ず減速するはずなので、現在の宇宙が加速膨張しているという観測事実は、驚きをもって迎えられた。そのもっとも簡単な説明は、アインシュタインの一般相対性理論に基づいて宇宙定数 Λ という反発力をもったエネルギー（一般にダークエネルギーとよばれる）を導入した、 Λ CDM 模型（CDM はコールドダークマター）である。いっぽうで、一般相対性理論それ自体が間違っていたとする「修正重力理論」による説明も提唱されている。2つの説の違いを見るには、物質密度の揺らぎの時間発展を調べ、どちらが現在の宇宙の姿をより良く再現できるか調べればよい。なぜなら、初期宇宙に生成した微小な密度揺らぎが重力によって集められ成長し、銀河や銀河団に成長していく際、重力法則の違いが現れるためである。

宇宙の密度ゆらぎの成長則はニュートリノの質量にも依存する。ニュートリノはバリオン（元素）、ダークマターとともに宇宙の構成要素として重要な粒子であり、 1cm^3 あたり数百個が存在している。弱い相互作用を受けるニュートリノは3世代あり、これらがゼロでない質量をもっていると、時間とともにニュートリノが世代間を遷移するニュートリノ振動とよばれ

る現象が起こる。わが国のスーパーカミオカンデ実験などによる大気ニュートリノと太陽ニュートリノの観測から、ニュートリノ振動の証拠が得られ、3世代のニュートリノのもつ質量の自乗の差が測定されている。この値は小さいため、既知のニュートリノは宇宙の密度ゆらぎには寄与しないと考えられる。しかし最近、原子炉からのニュートリノも測定されるようになり、そのデータはこれまでの3世代間のニュートリノ振動では説明できず、1電子ボルト（水素原子の十億分の一）程度の質量をもつ新種のニュートリノが存在する可能性が示唆されている。

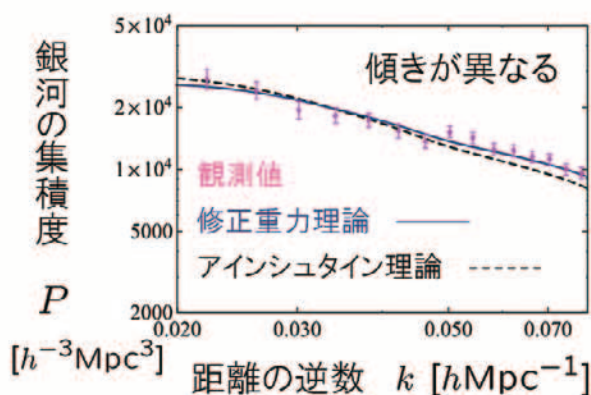
そこでわれわれはそうした新種のニュートリノが存在した場合に、宇宙の構造形成にどのような影響が及ぶかを定量的に評価するため、密度ゆらぎの時間発展を数値計算によって求めた。その結果、このようなニュートリノが存在すると、それらがほぼ光速で運動して密度ゆらぎを均一化してしまうため、標準 Λ CDM 模型を仮定する限り、観測されるほど多数の銀河や銀河団は形成されることが判明した。いっぽう $f(R)$ 重力理論とよばれる修正重力理論においては、これらのスケールで重力がより強く働くため、密度ゆらぎが増大しやすくなり、このような新種のニュートリノがあっても、観測結果がみごとに再現されることを発見した。すなわちニュートリノは密度を平均化するいっぽう、重力場の修正は密度ゆらぎを増大させ、この2つの効果が打ち消し合うのである。

今後さらに実験が進み、1電子ボルトの質量をもった新種のニュートリノの存在がより確定的になれば、宇宙を支配する重力法則はアインシュタイン理論ではなく、修正重力理論だということになる。ミクロな世界を記述する素粒子物理の中に宇宙論を説くカギがあるのである。

本研究は H. Motohashi *et al.*, *Physical Review Letters* 110, 121302 (2013) に掲載された。

(2013年3月4日プレスリリース)

注) 2012年度物理学専攻博士課程修了



銀河の集積度（パワースペクトル）を差し渡し距離の逆数（波数）に対して描いた図。1Mpc = 3×10^{22} m, $h = 0.7$ 。修正重力理論は観測と良く一致するが、アインシュタイン理論は乖離している。

ハードからソフトへサンゴの主役交代！？

井上志保里（地球惑星科学専攻 博士課程3年）
茅根 創（地球惑星科学専攻 教授）

◆ ◆ ◆
海洋酸性化で、サンゴなどの石灰化生物が衰退することが予想されている。衰退したサンゴに代わってどんな生物が優占するのだろうか。硫黄島では、島を縁取ってサンゴが広がっているが、CO₂が湧き出す海域だけはサンゴに代わってソフトコーラルが密生しており、酸性化したサンゴ礁をうらなう景観が広がっている。

◆ ◆ ◆
2013年5月に、大気CO₂濃度は400ppmを越えた。CO₂濃度の上昇は、温暖化だけでなく、海洋酸性化を引き起こす。CO₂は海水に溶け込むと水と水和して、重炭酸イオン（HCO₃⁻）と水素イオン（H⁺）に解離し、海水のpHを下げる。産業革命前8.3だった海水のpHは、現在は8.2まで、今世紀中にCO₂濃度が600ppmまで上昇すれば8.0に、800ppmになれば7.8まで下がる。

海洋生物のうち、サンゴなど炭酸カルシウムの骨格をもつ生物は、pHが7.8まで下がると、石灰化が抑制される。海洋が酸性化すると、炭酸カルシウムをつくる炭酸イオン（CO₃²⁻）がそれを中和するように水素イオンと結合して重炭酸イオンをつくり、石灰化が進みにくくなるためである。高CO₂でサンゴを飼育すると、骨格の成長速度が遅くなる。しかし、実験は数日からせいぜい数ヶ月なので、長期的に高CO₂にさらされたらどうなるのか、サンゴが衰退した後どんな生物がサンゴに代わるのかもわからない。藻類がサンゴに交代するのではないかと考えられていた。



■ 硫黄島島の酸性化した海域。中央に調査のボートが写っている。

井上らは、サンゴに取り囲まれている活火山の無人島である硫黄島で、CO₂が湧き出している海域にだけ、サンゴに代わって頑丈な骨格をもたないソフトコーラルが密生していることを発見した（理学部ニュース2009年11月号）。CO₂濃度が800ppmの地点でソフトコーラルの密度が高く、1500ppmの地点ではサンゴもソフトコーラルもみられず岩盤が露出していた。自然の高CO₂実験の場を発見したのである。その後さらに調査を重ね、飼育実験も行っており、その成果をまとめた。

ソフトコーラルは、サンゴと同じ刺胞動物だが、サンゴのように頑丈な骨格をもたず、軟体部の中に数十μmの骨片が埋まっている。そのため酸性化に対する抵抗力が強いと考えられた。硫黄島のソフトコーラルを、琉球大学瀬底の高CO₂飼育水槽で飼育して調べたところ、1000ppmではむしろ体内の共生藻による光合成が活発になり、2000ppmでは夜間に骨片が溶解してやがて死んでしまう群体も見られた。現地での調査と飼育実験を組み合わせ、今世紀末に予想される最悪シナリオの800ppmで、サンゴがソフトコーラルに交代してしまう可能性が示された。ソフトコーラルはサンゴ礁をつくる力はないので、サンゴ礁生態系全体が崩壊してしまう。

この海域のソフトコーラルは高CO₂に適応したのだろうか。この湧き出し口に他所から生物を移植したらどうなるだろうか。貴重な自然の場を使って、さまざまな実験ができそうである。CO₂湧き出し口での調査例がいくつか報告されており、こうした研究者たちと議論するために2013年10月1日に伊藤国際学術センターで、国際ワークショップを行う。本研究は、地球惑星科学専攻博士課程学生の山本将史、琉球大学の栗原晴子特命助教との共同研究であり、研究成果はS. Inoue *et al.*, *Nature Climate Change*（オンライン版：3月24日）に掲載された。

（2013年3月25日プレスリリース）

メダカのウロコが証す脊椎動物の骨格の進化

島田 敦子 (生物科学専攻 助教)
武田 洋幸 (生物科学専攻 教授)

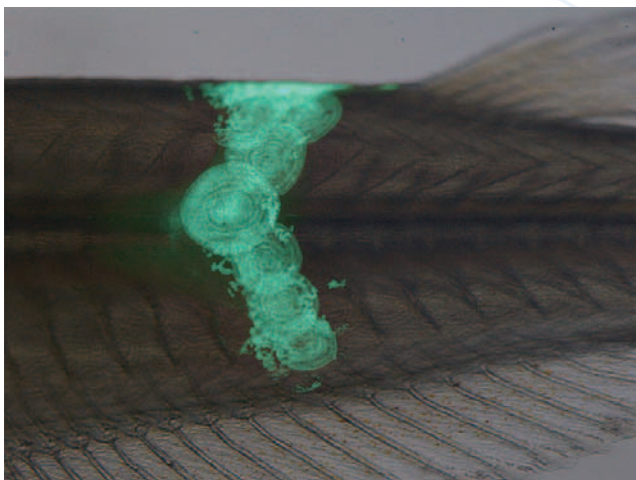
脊椎動物の骨格は、脊椎動物に固有の胚葉である神経堤の出現によって獲得された、と長年信じられてきた。われわれはメダカで骨の細胞系譜を長期間たどる実験系を開発し、古代の骨格の姿を残すウロコやヒレが、実は神経堤由来ではなく中胚葉由来であることを明らかにした。これによって脊椎動物の体幹部の骨格形成にはもっぱら中胚葉が関わってきたことが明らかとなり、いっぽうで神経堤は頭部の骨格の発達に集中的に寄与してきたことが示唆された。

脊椎動物の最大の特徴は骨組織をもつことである。では、骨はどのように進化して来たのだろうか。最初に出現した骨は、およそ4～5億年前に生きていたカッチュウ（甲冑）魚などがまとっていた分厚い外骨格（からだの表層を覆う古いタイプの骨）である。この外骨格は、軟骨魚では歯のようなウロコとして、硬骨魚ではいわゆるウロコやヒレとして残っているが、不思議なことに陸上脊椎動物では頭部以外ではすっかり退化してしまい、その代わりに背骨や四肢などの内骨格（からだの中心部でいったん軟骨を経て作られる骨）が発達して体幹を支えるようになった。このような骨格の進化は、神経堤という外胚葉由来の胚組織を中心に解釈されてきた。すなわち、カッチュウ魚の外骨格が神経堤に由来する歯の象牙質に酷似していること、また、陸上脊椎動物の頭部の外骨格（頭蓋骨の一部）が神経堤に由来するという事実から、骨格は初め神経堤によってからだ全体で外骨格として獲得されたが、その後、硬骨魚ではウ

ロコやヒレとして残り、陸上脊椎動物では体幹で骨形成能が失われたと考えられてきた。しかし、実は魚類の外骨格（ウロコとヒレ）が本当に神経堤に由来するかどうかについては実験的な検証がほとんどなかった。

そこで私たちはメダカを用いて細胞系譜を長期間たどる2種類の実験法を開発し、この仮説の検証を行った。まず、骨細胞だけがGFP蛍光を発する遺伝子改変メダカ（東京工業大学 猪早敬二博士作製）の胚から小さな組織を取り出して通常の胚に移植する方法で調べ（図参照）、得られた結果を、赤外レーザーを胚の特定の細胞に照射して生涯GFP蛍光を発するようにさせる方法で確かめた。その結果、ウロコとヒレの骨細胞は神経堤細胞ではなく、中胚葉細胞に由来することがわかった。

今回の研究によって、脊椎動物の骨格の進化がようやくはっきりと見えてきた。神経堤は脊椎動物のみがもつ多分化能細胞で、実際にいくつかの脊椎動物固有の器官の形成に関わっていることが知られているが、神経堤は陸上脊椎動物の体幹部で骨形成能を失ったのではなく、初めからもっていなかったのだ。さらに、これまでは発生様式が異なる外骨格と内骨格の形成は、由来する胚細胞（神経堤 vs 中胚葉）の種類に依存するとされてきたが、今回体幹部の外骨格が中胚葉から作られることがわかり、そもそも骨格は由来する胚細胞の種類にはほとんど制約されずに「柔軟に」作られる組織であることがわかった。もともとは魚の形だった脊椎動物が、カエル、鳥、ヒトに至るまで次々と器用に姿を変えることができたのは、このような骨の発生の「柔軟さ」に依っていたのかもしれない。シンプルな結果から多くの誤解や謎が解かれ、著者自身驚いている。本研究は、自然科学研究機構・亀井保博博士、東北大学・田村宏治博士と共同で行われ、*Nature Communications*（オンライン版：3月28日）に掲載された。



骨細胞だけがGFP蛍光を発する遺伝子改変メダカの胚の体節（中胚葉組織）を移植された個体。ウロコにGFP蛍光が分布していることから、ウロコの骨細胞が中胚葉由来であることがわかる。

(2013年3月28日プレスリリース)