

序論

生物の生理や行動には概日リズムみられる。概日リズムは外界からの刺激を受けなくても約 24 時間の周期で自律的に発現量が振動する遺伝子群 (概日時計) により制御されている。概日時計の機能評価を目的として、メダカ (*Oryzias latipes*) とゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) において行動の概日リズムが恒暗条件下でどの程度フリーランするか調べられてきたが、水質等の飼育環境を長期間安定的に維持することは難しく、長期の行動を良好な水質環境で測定した報告は少ない。恒暗条件下の報告はメダカの場合 5 日間測定した例が 1 報あるのみである。所属研究室では水質を良好に維持した実験環境でメダカ 3 系統の個体群の恒暗条件下での遊泳動態を約 1 ヶ月間 24 時間追跡し、概日リズムが約 2 週間フリーランする系統と一切フリーランしない系統を見出している (芳村修士論文, 2016)。本研究は、メダカの活動性に対する概日時計の関与の解明を目的に、光条件 (明暗、恒暗、恒明) と給餌周期 (8 時間、24 時間、30 時間、絶食) をさまざまに設定した条件下でのメダカ (7 系統) の行動を長期間測定し、メダカの活動性において概日性リズムがみられる条件を検討した。

方法

濾過能力の高い濾過槽を用いて長期間にわたって水質を良好に維持した水槽の中で遊泳するメダカを赤外線付きカメラで 24 時間撮影し、メダカの遊泳軌跡をリアルタイムで数値化する装置 (「めだか de モニタ」、以下 MDM と略) を用いて、系統毎に 2~8 週間約 6 匹の個体の行動を測定した。MDM が数値化した約 0.2 秒間隔の遊泳軌跡データを XAMPP (Apache Friends) を用いてデータベース化し、さらに高速演算ソフト「割図」を用いて全個体分の全速度データに変換し、時間台毎 (0 時台、1 時台...) に平均化した遊泳速度の時間変動から活動性リズムを評価した。行動の測定は静かで空調の整った部屋 (26 度 C) に設置した暗室内で行い、自動給餌器を用いて一定量の餌をあらかじめ設定した時刻に与えた。測定中は水温と水質を随時チェックしたが、活動に影響を与えるような水温の変動や水質の悪化は認められなかった。全測定を通じて異常行動を示す個体は認められず、死亡は 1 例のみであった。

結果

1. 明暗サイクルにおける活動性

明暗サイクル下では測定した全系統で、活動性が明期に高く、暗期に低い概日性リズム (概日性リズム) を明瞭に示した (図 1)。

2. 恒暗条件における活動性

明暗サイクルにおいて認められる活発・不活発状態が明確な概日性リズムは恒暗条件に移行すると測定した 7 系統のうち 6 系統 (Hd-rR, HNI, 加賀, 小坂井, 大館) で直ちに消失し、低

調となった (図 2)。1 系統 (SK2) では微弱な概日性リズムが約 2 週間継続した (図 3)。

3. 給餌時刻の数時間前から給餌時刻に向けての活動性の上昇傾向

メダカにおいても給餌時刻の数時間前から、活動が給餌時刻に向けて徐々に上昇する傾向 (給餌予知活動、FAA) が認められた。FAA は 24 時間周期の給餌条件下では発現したのに対し、30 時間周期の給餌条件下では発現せず、また 8 時間周期の給餌でもほとんどの場合で発現しなかった (図 4)。

4. 絶食期間における活動性

恒暗 24 時間サイクル給餌下で発現していた FAA は、絶食 1~2 日目まで認められたが、絶食 3 日目に完全に消失し、それ以降認められなかった (図 5)。

※図の説明：縦軸；遊泳速度(mm/s)，横軸；経過日数(day)、矢印は給餌時刻

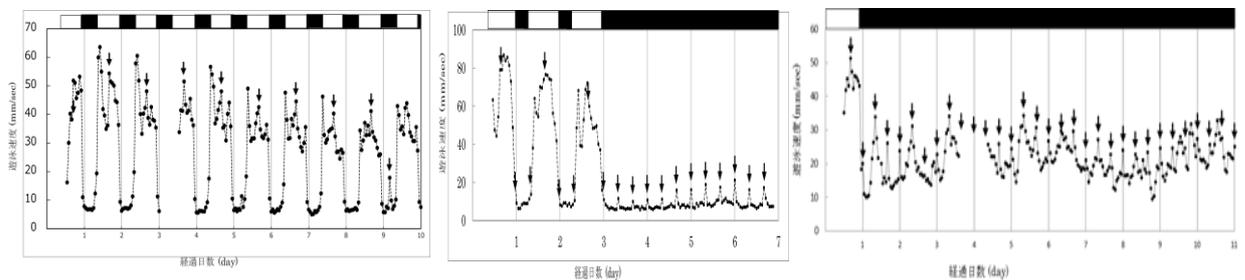


図 1 明暗条件下での活動リズム

図 2 恒暗条件下で概日性リズムが消失した系統(加賀)

図 3 恒暗条件下で概日性リズムがみられた系統(SK2)

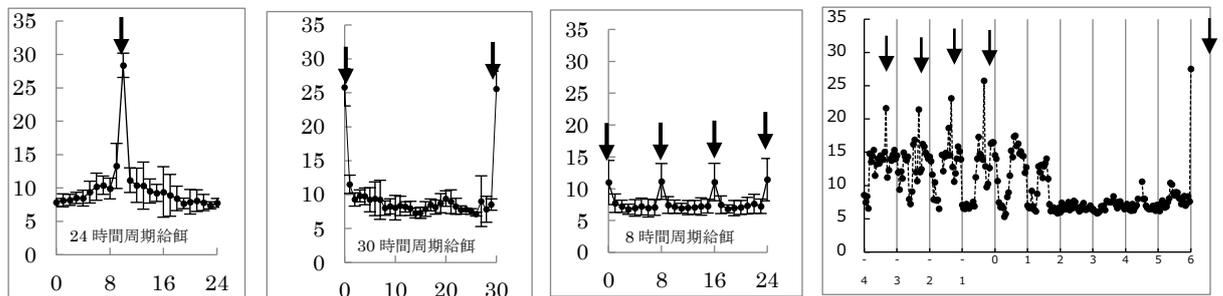


図 4 周期的給餌条件下での活動リズム (同じ給餌周期の測定日全体の平均波) エラーバーは標準偏差

図 5 絶食期間 (1~6 日目) における活動

結論

結果 1 より、メダカは昼行性動物であることが確認された。結果 2~4 より、FAA は 24 時間周期のみの給餌サイクルで発現し、絶食下でも 24 時間周期で FAA が継続したことから、メダカの FAA は概日時計を基盤にしている現象であることが強く示唆される。よって、メダカにも概日時計と概日リズムが機能していると考えられる。それにもかかわらず、活発・不活発状態がはっきりしている概日性の活動リズムが恒暗条件下で一切認められないのは、メダカの活動が概日時計の制御下でないからであるということが推測される。哺乳類とは異なり、メダカでは活動性の制御に概日時計の関与はほとんどないと考えられる。ゼブラフィッシュにおいてもメダカと同様の結果が得られたことから、魚類と哺乳類における活動の制御・発現機構は質的に大きく異なる可能性が考えられる。