

論文審査の結果の要旨

氏名 盛 徹也

単細胞生物を含む多くの生物の活動は、内在的に24時間の周期性（概日性リズム）を示す。この周期性は連続した明条件、暗黒条件下でも持続し、周囲の温度によって影響されない。一方、生体内の各細胞は、固有の細胞分裂周期を持つ。本研究は、これら、生体における2つの重要な周期性、概日性リズムと、細胞分裂リズムの関連を検討したものである。

藻類や原生動物、高等動物の組織細胞などにおいては、世代時間が概日周期よりも長い場合には、細胞分裂のタイミングが概日時計の調節下にあることが明らかにされている。しかし、概日周期よりも短い周期で分裂を繰り返す細胞においては、細胞分裂周期が概日性リズムによって影響されるか否かはまだ明らかにされていない。最近、世代時間の短い光合成細菌のシアノバクテリアにおいても広範な生理・生化学現象に概日性リズムの存在が確認された。そこで、本研究では、シアノバクテリアにおける細胞分裂周期と概日時計の関係を調べるとともに、概日時計の発生機構に関して、重要な働きを演じていると考えられる Kai タンパク質群の動態を解析した。

本論文は、全体で4章からなる。第1章は、本論文の序章として、概日時計の特徴やこれまでの研究の経過などを要約し、研究の現状と課題を総括的に論じている。

第2章では、概日時計によって細胞分裂周期が調節されるか否かを、細胞分裂周期が概日周期より短い培養条件において検討した。平均世代時間が約10時間になるように維持された培養条件下において、細胞を明暗条件が12時間ごとに繰り返す状態から、恒常的な明条件に移して、その分裂周期を測定した。その結果、個々の細胞がランダムなタイミングで分裂を繰り返す細胞集団において、平均的分裂頻度が24時間ごとに低下する現象が観察された。そのような周期性は8日間以上にわたり持続した。また概日時計の支配下にある光合成遺伝子のプロモータ活性にも同じ24時間周期のリズムが観察された。これらの周期性の解析から、シアノバクテリアの細胞分裂は24時間の概日リズムのうちの明期の終わりから暗期の初めに相当する時間において、その進行が阻止されるという概日性があることが結論された。また、細胞分裂の周期は様々な要因によって可変であるが、概日時計の周期は一定であることから、概日時計の進行は細胞分裂とは独立していることが強く示唆された。

第3章では、細胞分裂を人為的に停止させた細胞群において概日性リズムが進行するかどうかを検討した。まず、原核生物の細胞分裂に関与した遺伝子の一つ *ftsZ* をクローニングし、これを大腸菌由来のプロモーターに結合して FtsZ タンパク質を過剰発現したところ、細胞が分裂せずに繊維状に成長することが判明した。そのような細胞に

において、細胞分裂を完全に停止させた後でも、本来の *ftsZ* のプロモーターの活性と、その他の本来概日性リズムを示す遺伝子の発現のリズムは強固に持続することが確認された。したがって、この実験からも、概日性リズムの発生は細胞分裂リズムとは独立であることが結論された。

第4章では、細胞分裂とは独立に存在する概日リズムの発生機構に関して、現在唱えられているモデルの検証を行った。シアノバクテリアの概日リズム発生に関して、その突然変異株の解析から、3種の遺伝子 *kaiABC* の関与が示されている。概日リズムは、それらの遺伝子産物（時計タンパク質）がそれら自身の発現をフィードバック制御することによって発生するという説が有力である。しかし、時計タンパク質の発現量とリズムの関係を解析した研究はなされていない。本研究では、時計タンパク質に対する特異的な抗体を作製し、それぞれの発現を定量した。その結果、KaiB と KaiC タンパク質の細胞内蓄積量に概日性リズムが観察された。さらに KaiC タンパク質の一時的な発現誘導が概日性リズムの位相シフトを誘発し、しかも、発現誘導の時刻と発現量によってその位相シフトの大きさが変化することが明らかになった。このことは KaiC タンパク質の周期的発現が計時メカニズムの重要な要素であることを強く示唆している。また、タンパク質合成を大きく阻害した条件下でも、KaiC タンパク質の発現は一定の周期性を保つ傾向があることが見いだされた。このように時計タンパク質の合成の周期性が細胞全体のタンパク質合成やエネルギー代謝のレベルに依存せず強い持続性を持つことは、概日リズムが細胞分裂周期とは独立であることと深く関係していると考えられる。

以上のように、本研究は、シアノバクテリアの細胞分裂のタイミングが概日時計によって一定の制御をうけることを示すとともに、逆に概日リズムは細胞分裂周期に影響されずに進行することを明らかにした。また、概日リズムの発生機構において、時計タンパク質である KaiC の細胞内における周期変動が本質的に重要である可能性を示唆した。これらの新知見は、概日リズムと細胞分裂周期という生体における2大周期性の相関と、概日リズム発生機構の理解に大きく寄与するものである。なお、本研究は米国ヴァンダービルト大学の Carl H. Johnson 博士らとの共同研究であるが、論文提出者が中心となって研究を進めており、その寄与が充分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。