

令和元年6月7日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17946

研究課題名(和文)ノイズ刺激による概日リズムの同期

研究課題名(英文)Noise induced synchronization of circadian rhythms

研究代表者

伊藤 浩史(Ito, Hiroshi)

九州大学・芸術工学研究院・准教授

研究者番号：20512627

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：個体培地上および液体培地上で1時間、2時間、3時間のダークパルスノイズではノイズ同期はみられなかった。また、自然界において自然光の中に含まれるノイズ成分が、概日リズムの同期に対して何か役割があるのではないかとする仮説は、今回の実験からは確認されなかった。ノイズ同期現象のしにくさは生物の持つ概日リズムは数時間程度のノイズ刺激に対して頑健であることを示唆している。このことから、自然環境下に含まれるノイジーな刺激成分は同期現象という観点からはおそらく無視されていることが予想される。これは野外の複雑な気候条件においても、ロバストにリズムを刻むことが示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の結果は体内時計が外部のランダムな暗黒ノイズに抗して正確に刻み続けることを示している。また、追加で実験した温度に対しては、振幅が比較的鋭敏に反応することがわかった。さらに今回発見した概日リズム共鳴現象を応用して、私たちの体内時計の振れ幅を増加させることが可能になるかもしれない。例えば生活リズム障害の方に対して、メリハリのついたリズムをとりもどす知見を与える可能性がある。またサイエンスの観点では「体内時計が減衰振動子に容易に変わりうる」という生物学的に新規な知見をもたらした。減衰振動は、体内時計研究において開拓されるべき新天地となりうる。

研究成果の概要(英文)：Noise induced synchronization by random pulsed dark was not observed when we expose 1 hour, 2 hours, and 3 hours dark to bacteria on solid medium nor liquid medium. Thus, the noisy component contained in natural light condition does not seem to play any role in the synchronization of circadian rhythm. The difficulty of noise synchronization suggests that the circadian rhythm in organisms is robust against noisy stimulation with a few hours. Based on this observation, it is expected that the noisy stimulus component in the natural environment does not cause synchronization phenomenon. This suggests that the circadian rhythms are robustly kept even in complex and noisy ambient conditions.

研究分野：時間生物学

キーワード：シアノバクテリア 概日リズム ノイズ

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

応募者のこれまでの研究

睡眠覚醒のリズム、花の開花リズムなど、約 24 時間周期で繰り返される生命現象は「概日リズム」とよばれる。特に生理的なレベルの概日リズムを生み出す体内時計の分子の実体は何か？という問題はダーウィンによっても検討され 100 年の研究の歴史をもつ。

申請者は博士後期課程以来、概日リズムをもつ生物の中で最も原始的で単純な生物であるシアノバクテリア(藍藻)を対象として研究を進めてきた。特に概日リズムの中心振動体の同定とその振動子の性質の解明の研究に従事した。

これまで変異体解析を中心として行われてきた概日リズム研究の分野に、生化学的手法を用いて重要な転換点をもたらしたのが、概日時計の試験管内再構成(Nakajima et al. Science 2005, 業績 18)である。KaiA, KaiB, KaiC の 3 つの概日時計関連タンパク質と ATP を試験管内で混合し 30 でインキュベーションしたところ、24 時間周期でリン酸化 KaiC の割合が周期的に増減した。この再構成された生化学振動子は ATP を適切に保てば 10 日間以上減衰すること無く振動した(Ito et al. Nature Struct. Mol. Biol. 2007)。また外部から与えられた温度サイクルに同期することができる(Yoshida et al. PNAS 2009)。以上より自律振動と外部刺激への同期というこれまでの概日リズムが持ち合わせてきた性質を試験管内再構成系も有していることが明らかとなった。また KaiC リン酸化リズムは遺伝子発現をグローバルに制御し、シアノバクテリアがもつ 2525 遺伝子のうち少なくとも 1/3 の遺伝子発現が 24 時間周期の振動を持つことを明らかにした(Ito et al. PNAS 2009,; Hosokawa et al. PNAS 2011,)。

以上の研究を通して、申請者は体内時計とは何かという古典的で素朴な問題に対して、シアノバクテリアの体内時計は KaiC リン酸化リズムであることの証明に大きく貢献した。

着想に至った経緯

申請者はシアノバクテリア体内時計分子の同定とその機能解析に関しては一定の理解が得られたと考える。そこで本研究提案は生理学に視点を移し同期現象の観点から概日リズムにおける種を超える普遍的な現象の発見をねらいとする。

概日リズムの研究者が暗黙にしている仮定として「地球上では昼夜のリズムが明確にあたえられる」という条件がある。概日リズムを持つ全ての生物種は、周期的な環境の光サイクルに同期し周期・位相のずれを調整している。この仮定が成り立たない条件、すなわち昼夜のリズムがあたえられない条件では概日リズムは位相がずれていくばかりで同期が失われ、やがて細胞集団のリズムは消失してしまうのであろうか？実際シアノバクテリアにおいて、深い水深に生息している個体や物陰に生息している個体は、実験室の環境で与えられるような明暗の刺激を受けず、温度の日周変動もあまりないという状況がありうる。またシアノバクテリアは細胞間で時刻情報のやりとりを行うことがない(Mihalchescu et al. Nature 2005; Amoud et al. PNAS 2007)。相互作用せず周期的外力も与えられない振動子集団が同期することは普通ありえないように思われる。しかし preliminary な観察事実として、長期間(1ヶ月以上)培養室において一定の光・温度にさらされたシアノバクテリアにおいても同期していることが知られている。現在の概日リズムの分野で知られる理論ではこの現象は説明できない。

本着想に関する理論的研究背景

非線形振動子の数理物理の分野からノイズ同期とよばれる驚くべき現象が 2004 年に報告された(Teramae & Tanaka Phys. Rev. Lett. 2004)。この論文では結合のない自律振動子群に外力として共通のランダムな刺激(ガウシアンノイズ)を与えると、初期位相に関わらず最終的に位相の同期が達成されると主張している。Teramae-Tanaka の結果によれば、自律振動子の種類にも特段の仮定を必要としない。通常ノイズは同期に対しては負の影響があると考えられてきたが、ノイズによって促進される同期現象が広く世の中に存在することを示唆する。シアノバクテリア概日リズムにおいても周期的なサイクルではなくノイズによって同期が促されることがあるのではないかとという仮説が本提案の中心的なアイデアである(図 1)。

特色・独創的な点

最近の理論物理の成果を利用して新たな生物学的な知見を得ようとする点

ノイズ同期現象は理論ベースでこれまで研究が行われ、電気回路での実証実験が 1 例あるのみ(Nagai & Nakao, Phys. Rev. E 2009)である。本研究案は概日リズムという生物学上の現象の中でノイズ同期が見いだされるのではないかとという洞察をもとに構成されている。最新の理論物理と生物学の先端計測技術の融合研究は独創性が高い点である。

数理モデル化と生物実験の両方を申請者が実行する点

本研究提案の理論的解析部分と実験部分を複数のグループで分担して行わず、申請者が双方を並列して行う。これにより実験の精度を踏まえた定量的なモデリングが可能となる。博士課程で概日リズムの研究室に所属し(名大近藤研)、学振 PD で非線形力学の理論研究室(お茶大郡研)に所属したキャリアがあって初めて着想できる研究テーマであり、本研究提案の特色である。

シアノバクテリア概日リズムの実験系が他の系と比べて優れている点

ノイズ同期は生物種を選ばず観察されうると考えられる。シアノバクテリアはほ乳類昆虫植物など他モデル生物と比較して測定系が極めて単純であり、再現性のあるシャープな実験結果を得やすい。本研究提案のようなチャレンジングな概日リズム研究に最も適した生物種といえ

る。

2. 研究の目的

シアノバクテリア集団に同一のノイズ刺激を与えるとき概日リズムの同期はみられるかについて検討した。刺激の種類として「光」を選択する。

3. 研究の方法

ノイズ同期現象がシアノバクテリア概日リズムにおいて観察されるかどうか確認するために、シアノバクテリアの液体培地中の概日リズム、固体培地上の各コロニーの概日リズム、1細胞レベルの概日リズムの3つの実験系を構築する。それぞれの系においてノイズ同期現象が観察されることを明確に示す。

また概日リズムのノイズ同期現象を定性的に説明できる数理モデルの構築を、位相モデルを利用して構築する。数理モデルと実験結果を組み合わせ、ノイズ同期現象が自然界において有効に働いていることを示し、概日リズムで観察されている同期現象の基本メカニズムに再考をせまる。

4. 研究成果

個体培地上および液体培地上で1時間、2時間、3時間のダークパルスノイズではノイズ同期はみられなかった。また、自然界において自然光の中に含まれるノイズ成分が、概日リズムの同期に対して何か役割があるのではないかとこの仮説は、今回の実験からは確認されなかった。

ノイズ同期現象のしにくさは生物の持つ概日リズムは数時間程度のノイズ刺激に対して頑健であることを示唆している。このことから、自然環境下に含まれるノイズ成分は同期現象という観点からはおそらく無視されていることが予想される。これは野外の複雑な気候条件においても、ロバストにリズムを刻むことが示唆される。

上記の結果を踏まえ、本研究プログラムでは光以外の因子を考慮することにした。野外での概日時計に与える因子として温度がある。古くから温度は時計の同調因子であると言われてきたが、さらに低温下では概日リズムが消失することが知られていた。この数理メカニズムについて検討することとした。我々の研究グループは、原因物質を明らかにするのではなく、数学・物理の知識を使ってこの問題に取り組んだ。生物を冷やした時「概日リズムがある」状態から「リズムがない」状態へ移り変わることは、数学の分野で「分岐」と呼ばれている。分岐理論によるとリズムがなくなる原因はおおむね「リズムの振れ幅が0になる(ホップ分岐)」あるいは「リズムの周期が無限大に発散する(SNIC分岐)」の2つに分類できる。

このアイデアを、世界で最もシンプルな概日リズム実験系であるシアノバクテリア概日時計試験管内再構成系の低温停止現象に適用した。試験管内リズムを冷やしていくと徐々にリズムの振れ幅(振幅)が小さくなっていき、19℃付近で振幅がゼロになってリズムが消失することがわかった。また、19℃以下では「リズムがない」のではなく、刺激するとしばらくの間揺れるけれどもそのうち止まってしまうブランコのような「減衰振動である」ことを発見した。これらの結果はホップ分岐の方のシナリオによって概日リズムが消失したことを示唆している。またブランコを適切なタイミングで押すとだんだん揺れが大きくなるように、減衰振動子に適切な外力を与えるとリズムが回復すると考えられる。実際に適切な周期の16/18℃温度サイクルを与えると共鳴現象がおこり、振幅の大きなリズムが回復することがわかった。すなわちこれまで時計が「ない」と考えられてきた低温でもわずかな温度変化があれば、減衰振動子の共鳴現象を利用して生物は時計を持てることを初めて明らかにした。さらに私たちは計算機シミュレーションを行い、ホップ分岐であれば低温下で共鳴がおこるが、SNIC分岐では起こらないことを確認している。ホップ分岐と共鳴が結びついているという数理的な結果は、今回の発見がバクテリアの体内時計にとどまらないことを示唆する。多くの生物は共鳴を利用して体内時計の振幅をメリハリのあるものに保っているのかもしれない。

今後の展開

体内時計の振幅は正確に計測することが難しいこともあってこれまであまり議論されてこなかった。今回発見した共鳴現象を応用して、私たちの体内時計の振れ幅を増加させることが可能になるかもしれない。例えば生活リズム障害の方に対して、メリハリのついたリズムをとりもどす知見を与える可能性がある。またサイエンスの観点では「体内時計が減衰振動子に容易に変わりうる」という生物学的に新規な知見をもたらした。減衰振動は、体内時計研究において開拓されるべき新天地となりうる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Murayama Y, Kori H, Oshima C, Kondo T, Iwasaki H, Ito H

Low temperature nullifies the circadian clock in cyanobacteria through Hopf bifurcation
Proceedings of National Academy of Sciences 114, 5641-5646 (2017)

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 楠諒彦, 上妻多紀子, 伊藤浩史, ケンサキイカ色素胞ウルトラディアンリズムの光サイクルへの同調, 時間生物学会, 2018.10.
2. 金子健陽, 今井圭子, 伊藤浩史, 高速分裂するシアノバクテリアの概日リズムの消失, 時間生物学会, 2018.10.
3. 関元秀, 伊藤浩史, 概日時計がもつ自律振動性の進化に関する理論研究, 時間生物学会, 2018.10.
4. 小田翔平, 村山依子, 伊藤浩史, 低温下で概日リズムが消失したシアノバクテリアの共鳴現象, 時間生物学会, 2018.10.
5. 山崎春樹, 上妻多紀子, 伊藤浩史, 低温下のシロイヌナズナの概日リズムの共鳴, 時間生物学会, 2018.10.
6. 伊藤浩史, 概日リズムと温度に関する理論的研究または落ちこぼれの時間生物学, 時間生物学会, 2018.10.
7. 伊藤浩史, Exposing light, temperature and electric stimulations to squid's ultradian rhythm, 九州山口沖縄リズム研究会 6, 2017.04.
8. 伊藤浩史, Chronobiology based on amplitude, 時間生物学会, 2018.10.
9. 伊藤浩史, 冬の概日リズム, 九州山口沖縄リズム研究会 7, 2018.04.
10. 小田翔平, 伊藤浩史, 低温下で概日リズムが消失したシアノバクテリアの共鳴周期, 九州山口沖縄リズム研究会 6, 2017.04.
11. 足立涼, 伊藤浩史, ケンサキイカ色素胞の電気刺激に対する周波数応答, 九州山口沖縄リズム研究会 6, 2017.04.
12. 山崎春樹, 伊藤浩史, 低温下シロイヌナズナの概日リズム消失と光刺激による回復, 九州山口沖縄リズム研究会 6, 2017.04.

〔その他〕

伊藤浩史研究室 HP: <http://www.design.kyushu-u.ac.jp/~hito/>

6. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名: 村山 依子

ローマ字氏名: Murayama, yoriko