

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02480

研究課題名(和文) 昆虫概日時計の複眼依存性光同調の分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanism of compound eye dependent photic entrainment in insect circadian clocks

研究代表者

富岡 憲治 (Tomioka, Kenji)

岡山大学・自然科学研究科・教授

研究者番号：30136163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：概日時計は日周期に同調することで様々な生理機能にピーク時刻を設定する。本研究では、複眼依存性光同調の分子機構の解明を進め、複眼からの光情報は視葉でc-fosBを誘導し、その下流でBrwd3, Fbx13, 4, 5, 7, 13, 16が誘導されることが明らかになった。これらのRNAiにより行動リズムの光同調は前進、後退ともに顕著に抑制されることが分かった。CRY2タンパク質は暗期に増加するが、暗期前半、後半ともに光照射で減少した。この光依存性の減少は、Brwd3, Fbx1による光依存的なユビキチン化により誘導されることが示唆された。類似の機構が無翅昆虫シミでも関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

概日時計はヒトを含めて動物の日周リズムを制御しており、その最も重要な働きは光周期に同調し、各種の生理機能のピークを適切な時刻に設定することにある。昆虫概日時計の光同調機構は、キイロショウジョウバエでクリプトクロム(CRY)に依存した機構が詳しく解析されている。しかし、この系は例外的であり、多くの昆虫は複眼を光同調に使っている。実際、ショウジョウバエでも、CRYの機能欠損系統が光周期に同調することが知られており、この場合には複眼が光受容器として働いている。従って、複眼を経由する光同調機構を解明することは、昆虫概日時計の光同調機構を理解する上で最も重要な課題である。

研究成果の概要(英文)：The circadian clock sets the peak time for various physiological functions by synchronizing with the daily environmental cycle. In the present study, we have elucidated the molecular mechanism of compound-eye dependent light entrainment and found that light information from the compound eye induces c-fosB expression in the optic lobe, which in turn induces Brwd3, Fbx13, Fbx1 4, Fbx1 5, Fbx1 7, Fbx1 13, and Fbx1 16 downstream of c-fosB. Their RNAi markedly suppressed light entrainment of behavioral rhythms, in both advance and delay shifts, and CRY2 protein increased during the dark period but decreased with light exposure. The light-dependent decrease in CRY2 protein was suggested to be induced by light-dependent ubiquitination by Brwd3 and Fbx1s. A similar mechanism was suggested to be involved in firebrats.

研究分野：時間生物学

キーワード：概日リズム 概日時計 光同調 時計遺伝子 複眼 RNAi 昆虫

様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

概日時計は約一日の周期を作り出す生物に内在する自律振動体である。その振動機構は、ほとんどの生物で共通しており、時計遺伝子とその産物タンパク質により構成されるネガティブフィードバックがその根幹を成す。昆虫では種による若干の違いはあるが、時計遺伝子 *period* (*per*), *timeless* (*tim*), *cryptochrome* (*cry*), *Clock* (*Clk*), *cycle* (*cyc*)が主要な構成要素である(1)。*Clk* と *cyc* の産物タンパク質 CLK, CYC はヘテロ 2 量体を形成し, *per*, *tim* の転写を昼の後半から夜の前半に活性化し, *per*, *tim* の産物タンパク質 PER, TIM は夜の後半にヘテロ二量体を形成して核に入り, CLK/CYC に抑制的に作用し, 自身の転写を抑制する。引き続いて起こる PER, TIM の分解により昼の後半には再び CLK/CYC の転写活性が高まり, *per*, *tim* の転写が始まる。このループが約 24 時間の周期を作り出している(図 1)。また, *Clk* は *vri* (*vri*), *Par domain protein 1* (*Pdp1*)により, *cyc* は *E75*, *HR3* により産物タンパク質が昼増加する周期制御を受けており, 種によって異なるが *Clk* か *cyc* のどちらか一方が日周期的に発現している。研究代表者はコオロギで時計の分子振動機構の解析を続け, *per/tim* の振動系に加えて, 2 つの *cry* 遺伝子 *cry1*, *cry2* とその産物タンパク質が別の振動系を構成することを明らかにした(図 1)(2)。

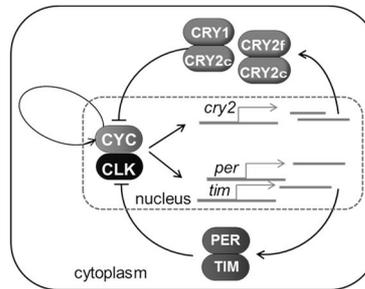


図 1 .コオロギ概日時計の分子振動機構: *per/tim* 振動系と CRY1 と CRY2 バリエーションにより構成される *cry2* 振動系から成る。これらに加えて, CYC が周期発現する制御を受けている。

光同調は概日時計の最も重要な機能の一つであり, 概日時計はこれによって様々な生理機能を一日の特定の時刻にピークになるように位相設定している。コオロギやゴキブリを始めとして多くの昆虫では概日時計の光同調は複眼に依存している(3, 4)。しかし, この複眼依存性な光同調の分子機構はほとんど未解明である。我々は, コオロギを用いて複眼依存性の光同調機構の解析を, 世界に先駆けて分子レベルで進め, これまでに複眼で発現する緑色光感受性視物質 (OpLW) が主要な光受容分子であること(図 2)(5), 複眼依存性光同調機構には 2 つの系があり, 明期終了時刻が後退した場合には, *Pdp1* の発現が増加し, それによって *Clk* の増加に引き続き, *per*, *tim* の転写が活性化し, 時計の位相後退が誘発される系 (*Pdp1* 依存性同調機構) が働くこと(6), 一方, 暗黒下での光リセットではこの機構は機能せず, *c-fosB* が発現上昇し, 引き続き *cry* 依存性なリセット機構 (*cry* 依存性同調機構) が働くことを初めて明らかにした(図 2)(久多良木他, 日本動物学会富山大会, 2017)。 *Pdp1* 依存性同調機構についてはほぼ全容を明らかにしたが, *cry* 依存性同調機構については *c-fosB* の上昇からどのようにして CRY1, CRY2 が関与するリセットが起こるのかは未解明である。また, これらの機構が多様な昆虫類の中でどの程度普遍的であるのかも昆虫の光同調機構の系統発生を考えるうえで重要な課題である。



図 2 . 昆虫複眼依存性概日時計の光リセット機構

2. 研究の目的

本研究は, 複眼を概日光受容器とする概日時計の光同調の分子機構を解明することを目指す。特に, *cry* 依存性同調機構において, 光照射による *c-fosB* の誘導に続き *cry1* と *cry2* の翻訳後修飾の機構を解明するため, *c-fosB* が光依存的に発現誘導する遺伝子とそれがコードする因子, CRY の光依存的修飾, 光リセット機構への *Pdp1* および *tim* の関与, 複眼依存性光同調機構の普遍性と多様性の 4 点を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) *c-fosB* が光依存的に発現誘導する遺伝子とそれがコードする因子の探索と機能解析: *c-fosB* により光依存的に誘導される因子を RNA-seq により特定し, それらの光依存的転写制御および *c-fosB* 依存性を mRNA の測定により検討した。さらに, これらの RNAi 個体を作成し, 行動リズムの位相変位を指標として, これらが光同調系に関与する可能性を検討した。
- (2) CRY の光依存的修飾: CRY の抗体を作成し, 主観的夜前半, 後半に光照射した個体としない個体の視葉からタンパク質を抽出してウエスタンブロットを行う。量的変動からタンパク質の安定性, 光照射によるユビキチン化修飾の有無を検討する。*Fbx1*, *BRWD3* 等関与候補遺伝子の RNAi 個体を用いて, それらの CRY 分子修飾への関与を検討した。
- (3) 光リセット機構への *Pdp1* および *tim* の関与: *Pdp1* および *tim* を RNAi により発現抑制し, 行動リズムの光リセットを解析した。
- (4) 複眼依存性光同調機構の普遍性と多様性の検討: 複眼依存性光同調系への *cry* 依存性経路の関与を無変態昆虫のマダラシミおよび完全変態昆虫のキイロショウジョウバエで解析し, 昆虫複眼

依存性光同調機構の普遍性と多様性を検討した。

4. 研究成果

(1) *Pdp1* と *tim* の役割の検討

これまでに明期を延長した場合の時計の位相後退には *Pdp1* の光誘導が関与することが明らかとなっている(6)。*Pdp1* はショウジョウバエで *Clock* の転写を促進し、その産物タンパク *CLOCK* が *CYCLE* とともに *per*, *tim* の転写を活性化すると考えられている。そこで、明期延長による後退時の *Pdp1* と *tim* の関係を探るため、*Pdp1*RNAi の *tim* への影響を検討した。*Pdp1*RNAi 処理は視葉内 *tim* mRNA の発現を有意に低下させることが明らかとなった。一方、明暗条件下での *Pdp1*RNAi の *TIM* タンパク質発現レベルへの影響を検討したところ、*TIM* レベルが有意に低下することが確認された。一方、*tim*RNAi 処理個体の明暗周期を6時間前進、後退後の同調過程を検討したところ、前進後の光同調はほぼ正常に起こるが、後退後には移行期が有意に延長するとともに、後退ではなく前進するものが現れるなど、同調が異常となることが分かった。これらの結果から、明期を延長した場合の位相後退時には、*Pdp1* の誘導により、*tim* が誘導されることにより生ずることが示唆された。

(2) *CRY* タンパク質の発現制御

c-fosB の下流で機能するフタホシコオロギ *CRY1* および *CRY2* に対する抗体を作成するため、*cry1*, *cry2* 遺伝子がコードするタンパク質を *in vitro* 合成し、それを用いて、ラットとマウスを免疫し抗体を作成した。この抗体を用いて視葉から抽出したタンパク質のウェスタンブロットを行った。その結果、*CRY2* は分子量が異なる3つのバンドとして検出された。タンパク質の量は、明暗条件下で明期に低下し、暗期に増加するリズムを示すこと、暗期には分子量の大きい *CRY2* 陽性のタンパク質量が増大することが明らかとなった。これらのタンパク質は *cry2*RNAi により発現レベルが大きく低下すること、また、*CRY2* には数種のアイソフォームがあることから、いずれも *CRY2* の可能性が高いと考えている。暗黒下で ZT18 から2時間照射を行なった場合には、照射を行なわなかったものに比べて、いずれのタンパク質も顕著に減少することが分かった。従って、光によるリセットには *CRY2* の分解が関与することが示唆された。

(3) *c-fosB* の役割とその下流の遺伝子探索

c-fosB の光同調への役割をさらに検討するため、明暗周期を6時間前進、後退させた場合の同調に要する移行期を検討した。その結果、移行期は前進、後退時ともに *DsRed2*RNAi 処理をした対照群に比べて有意に延長することが明らかとなった。従って、*c-fosB* は明暗周期の位相変位に伴う時計の位相変位に重要な役割を演ずることが示唆された。*c-fosB* は明暗周期下で一過性の発現を示し、明期開始直後にピークを迎え、その後は発現レベルは低下する。恒暗条件下では発現しないため、*c-fosB* は光により一過性に誘導されると考えられた。

位相変位時に *c-fosB* の下流で働く遺伝子を探るため、主観的夜の始め (CT12) または主観的夜の後半 (ZT20) に照射した個体群と、同様に照射を行った *c-fos*RNAi 処理群と、照射を行なわなかった個体群を用いて、視葉から RNA を抽出し、RNAseq を行った。CT12 と ZT20 でのサンプルそれぞれにおいて、上述の3群間で発現量の変化する遺伝子を探した。その結果、光により *c-fosB* 依存的に誘導される遺伝子候補として、*Bromodomain And WD Repeat Domain Containing 3 (Brwd3)*, *F-box and leucine rich repeat proteins 3 (Fbxl3)*, *Fbxl4*, *Fbxl5*, *Fbxl7*, *Fbxl13*, *Fbxl16* を特定した。明暗周期下で視葉内でのこれらの遺伝子の発現パターンを qPCR により解析したところ、これらはいずれも光により誘導されるが、*c-fos*RNAi により光誘導は顕著に抑制されること、一方、これらの RNAi は *c-fosB* の光誘導には影響しないことが明らかとなった。

(4) *Brwd3* の発現と機能解析

雄成虫視葉内の *Brwd3* の mRNA の日周発現を測定したところ、明期開始後発現レベルが上昇し、明期の間高いレベルを維持することが分かった。LL に置いた場合にも主観的昼に明暗周期化と同程度に増加し、主観的夜に低下したが、明暗周期下ほどには低下せず、比較的高いレベルを維持した。一方、恒暗条件下では常に低いレベルで、周期的な発現は見られなかった。従って、*Brwd3* は光により誘導される遺伝子である可能性が高いと考えられた。*Brwd3* の概日時計の光同調への関与を検討するため、*Brwd3* を RNAi により発現抑制し、明暗周期を6時間位相変位後の活動リズムの再同調過程を解析した。*Brwd3*RNAi では、明暗周期の6時間前進に対して、多くの場合リズムは後退した後、暗期の開始に同調した。6時間後退に対しては、やはり後退してリズムが同調した。移行期は前進、後退、それぞれ 15.3 ± 2.1 日と 12.2 ± 0.8 日であり、これらは *DsRed2*RNAi 処理をした対照群の 2.9 ± 0.6 日、 2.9 ± 1.1 日に比べて有意に長かった(図3)。

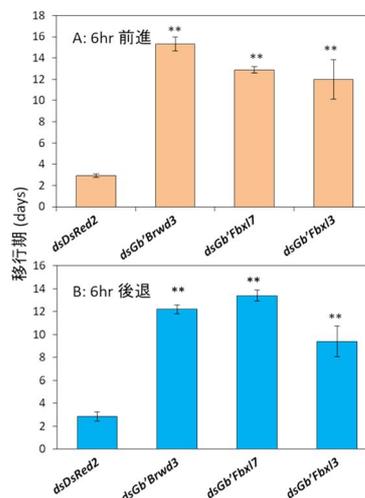


図3. *Brwd3*, *Fbxl* 遺伝子の RNAi による光同調に要する移行期の遅延。**, $P < 0.01$ vs *dsDsRed2*, Dunnett-test.

以上の結果は、*Brwd3* がコオロギ概日時計の光同調に深くかかわることを示唆している。*Brwd3* はショウジョウバエで、CRY のユビキチン化に係ることが示唆されている(7)ことから、コオロギの場合にも CRY タンパク質のユビキチン化制御により、時計の光リセットを制御する可能性が示唆された。

(5) *Fbxl* の発現と機能解析

本研究では、コオロギ視葉で発現し、*c-fosB* 制御化で光により誘導される *Fbxl* 遺伝子として、*Fbxl3*, *Fbxl4*, *Fbxl5*, *Fbxl7*, *Fbxl13*, *Fbxl16* の 6 種を見出した。まず、これらの遺伝子の発現リズムを qPCR により検討した。その結果、明暗周期下ではいずれも mRNA の発現にリズムを示したが、*Fbxl3* と *Fbxl16* は明期開始から 6 時間後までにピークを示し、*Fbxl13* は明期開始後 10 時間後まで、*Fbxl4*, *Fbxl5*, *Fbxl17* は暗期初めの ZT14 までピークが持続することが明らかとなった。恒暗条件下ではいずれの遺伝子も低レベルの発現を示し、周期性は検出されなかった。一方、恒明条件下では、明暗周期と類似した発現パターンを示したが *Fbxl13* ではピークがやや延長すること、また *Fbxl4*, *Fbxl5*, *Fbxl17* ではピーク後の mRNA が明暗周期に比べて高いレベルを維持していた。これらの結果は、これら 6 種の *Fbxl* 遺伝子が、光依存的に発現し、内在的な時計による発現制御をほとんど受けないことを示唆している。

引き続き、これらの遺伝子の概日時計の光同調機構への関与を行動リズムを指標として検討した。すなわち、個々の *Fbxl* 遺伝子を RNAi により発現抑制し、活動リズムの 6 時間位相変位後の明暗周期への再同調過程を解析した。まず、明期前半に発現ピークを持つ *Fbxl3* の RNAi では、光同調の異常を示した。明暗周期の 6 時間前進に対して、ほとんどの個体が位相後退により同調した。一方、明暗周期の 6 時間位相後退に対しては後退して同調するもの、前進して同調するものが現れた。移行期は前進時が 12 ± 5.2 日、後退時が 9.4 ± 4.3 日であり、対照群と比較して有意に遅延することが分かった(図 3)。

mRNA 発現が暗期まで延長する *Fbxl7* の RNAi でも同様に、活動リズムの再同調が異常となった。この場合も、*Fbxl3* RNAi と同様に、明暗周期の 6 時間前進に対して、リズムは後退して同調した。一方、明暗周期の 6 時間後退に対しては多くの個体で位相後退により再同調した。移行期はそれぞれ 12.9 ± 0.8 日と 13.4 ± 1.7 日であり、いずれも対照群と比較して有意に遅延することが分かった(図 3)。

ここまでの結果では、*Brwd3*, *Fbxl* の個別の RNAi では、光同調能の顕著な低下が観察されたが、光同調の完全な阻害には至らなかった。従って、これらの遺伝子はいずれも光同調に関与するが、その作用は部分的であり、相互に役割分担している可能性が示唆された。そこで、*Brwd3*, *Fbxl3*, および *Fbxl7* を同時に RNAi により発現抑制し、光同調が阻害されるかどうかを検討した。その結果、大多数の個体が明暗周期の位相前進、後退後、活動リズムのわずかな位相の変位を示したものの、概ね元の位相を維持することが明らかとなった。そのリズムの動きから、おそらく活動リズムの光同調性はほぼ失われたと判断された。

以上の結果は、*Fbxl* が概日時計の光同調機構に関与すること、また、異なる *Fbxl* 遺伝子、*Brwd3* は光同調機構にそれぞれ独自の役割を持つことが示唆された。*Fbxl* 遺伝子の産物タンパク質は *Brwd3* と同様に CRY のユビキチン化に関与することが知られており(8, 9)、CRY の修飾を経てリズムの位相制御に関与する可能性が示唆された。

(6) 複眼内振動体

本研究では、複眼内概日光受容体の感度リズムの制御機構についての解析も行った。視葉時計のリセットは複眼からの光情報の入力により起こる(3)。複眼の光感度に概日リズムがあることは既に明らかになっている(10, 11)。このリズムが複眼内の時計によるものか、視葉時計による制御を受けて発現するものかを分子生物学的手法と電気生理学的手法を併用して検討した。

まず、複眼内の時計遺伝子、*per*, *tim*, *cry2*, *Clk* および *cyc* の発現を qPCR により検討した。明暗周期下では、*Clk* を除いて、いずれの遺伝子も周期的に発現し、*cyc* は明期後半にピークを持つ、*per*, *tim*, *cry2* は暗期にピークを持つリズムを示した。恒暗条件下でもこれらの遺伝子は明暗条件下とほぼ同様の発現リズムを維持していた。視神経の切断後も、振幅は低下したが *per*, *tim* は暗期にピークを持つリズムを維持した。一方、*cry2*, *cyc* の発現リズムは視神経の切断により消失することが分かった。視神経切断後の恒暗条件下では、振幅が大きく低下したが、*tim* はリズムを維持し、*per* は有意な周期性を示さなくなった。また、*cyc* は恒暗条件下では暗期後半にピークを持つリズムを示した。さらに、in situ hybridization により、複眼内の視細胞の核周辺に *per*, *cry2* が発現する様子が観察された。これらの事実から、複眼内に視葉時計とは独立振動する時計機構があることが強く示唆された。

そこで、この時計が機能的かを探るため、ERG を指標として、複眼の感度リズムを計測した。正常な複眼では主観的に ERG の振幅が高まるリズムを示したが、15 個の複眼で視神経を切断し ERG を測定したところ、6 眼では周期性が失われたが、残りの 9 眼では弱いながら ERG リズムが継続することが分かった。

これらの結果から、複眼 ERG リズムは複眼内の時計により維持されるが、そのリズムは視葉時計による遠心性の制御によって増強されることが示唆された。

(7) ショウジョウバエおよびシミにおける光同調機構の解析

キイロショウジョウバエで、時計細胞での *c-fos*, *Fbxl*, *Brwd3* の発現抑制の効果を検討するため、UAS 配列下流に各標的遺伝子の inverted repeat を結合した *UAS-c-fos*RNAi, *UAS-Fbxl*RNAi, *UAS-BRWD3*RNAi を作成または入手し、*tim-Gal4* ドライバーに組み合わせた

形質転換体を作成した。作成した形質転換体を用いて、*c-fos*、*Fbxl*、*Brwd3* の光同調への関与の可能性を検討した。その結果、*c-fos* と *Fbxl* については、リズムの光同調への関与を示唆する結果は得られなかったが、*Brwd3* については、RNAi によるノックダウンにより明暗周期への同調がほぼ即座に完了すること、また恒暗条件下での活動リズムが消失して無周期となることが明らかとなった。従って、*Brwd3* はリズム形成そのものに関与することが示唆された。

一方、マダラシミでは、*c-fos* *cry2* 系および *tim* の光同調に関する可能性を検討するため *c-fos*、*cry2*、*Brwd3*、*Fbxl7* の各遺伝子の 2 本鎖 RNA を作成・投与し、歩行活動を指標として、発現抑制の効果を検討した。光同調への関与の検討は、明暗 12:12 の下で行い、明暗周期を 6 時間位相後退または前進させ、その後の再同調過程を解析することで行った。その結果、*tim* RNAi では再同調に要する移行期が *DsRed2* RNAi 処理された対照群に比較して前進時、後退時ともに有意に短縮したことから、*tim* が位相前進、後退の両方に関与することが明らかとなった。一方、*c-fos* の RNAi では前進時にのみ有意に移行期が延長すること、*Brwd3* RNAi では有意ではないがやはり前進時に移行期が延長することが明らかとなった。*cry2* RNAi では位相後退時にのみ有意に移行期が短縮すること、*Fbxl7* RNAi では有意ではないが移行期が短縮する傾向が示された。これらの結果から、シミ時計機構のリセットに *tim*、*c-fos*、*cry2*、*Brwd3*、*Fbxl7* が関与すること、*tim* が前進後退のいずれにも関与すること、さらに *c-fos/Brwd3* が位相前進に、*Fbxl7/cry2* が位相後退に関与する可能性が示唆された。

(8) 複眼依存性光同調機構の仮説

本研究の結果並びにこれまでに当研究室で得られた結果を総合し、昆虫の概日時計における複眼依存性光同調機構は以下のように考えられる。すなわち、複眼での光受容系は、緑色光を受容する opsinLW を発現する視細胞が担っている。この視細胞からの情報は、視神経を経て視葉時計細胞に伝達されるが、視細胞の感度は視細胞自身の持つ概日

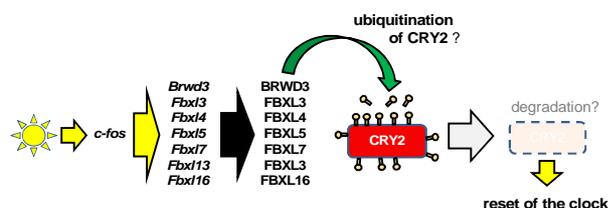


図 4. コオロギ視葉概日時計の複眼依存性リセット機構の仮説

時計と視葉時計によって概日振動することから、時計細胞への入力には概日振動し、暗期開始直前と明期開始直後に強いシグナルを供給することが想定される。視葉時計細胞では、視細胞からの情報により 2 つのリセット系が駆動される。すなわち、明期終了の遅延により暗期開始が遅れた場合には、*Pdp1* が光誘導され、それに引き続き *Clk* が誘導され、次いで *tim* が誘導されることで主観的夜が延長される。これによって、時計の位相の位相後退が生ずることになる。一方、暗黒下での光パルス照射によって、*c-fos* が誘導され、引き続き *c-fos* の下流で *Brwd3*、*Fbxl3*、*Fbxl4*、*Fbxl5*、*Fbxl7*、*Fbxl13*、*Fbxl16* が発現誘導される。これらは、CRY2 タンパク質のコビキチン化を誘導し、それによって CRY2 タンパク質の光依存的な分解が誘導される (図 4)。暗期前半ではこの光分解はおそらく CRY1、2 の周期発現ループの振動に必要な CRY2 量への到達を遅延させることで、位相後退が生ずると考えられる。一方、暗期後半の光照射は、同様の経路で CRY2 の分解を誘導するが、この時点では既に負のフィードバックを成立させるに十分量の CRY2 が合成されており、CRY2 は CLK/CYC の転写活性を抑制している。CRY2 の分解はこの転写活性の抑制を解除し、時計振動ループを次のサイクルへと進めることになる。従って、時計の位相は前進することになると考えられる。他方、コビキチン化が CRY2 の安定化に寄与する可能性もあり、今後検討する必要がある。

コオロギでのこの仮説は、新規の仮説であり、今後他の昆虫での研究により、昆虫綱に普遍的かどうかを検討する必要がある。本研究においては、ショウジョウバエとシミを用いてこの検討を行った。ショウジョウバエでは、これまでのところ *c-fos/Fbxl-cry* 系の関与を示す結果は得られていないが、*Brwd3* が時計の振動機構に関与することで光同調系に影響する可能性が示唆された。一方、シミでは位相前進、後退のいずれにも *tim* が関わる可能性が示唆された。これについてはコオロギの *Pdp1/tim* によるリセット系と相同の可能性が高いが、結論を得るにはさらなる解析が必要である。さらに、前進時には *c-fos/Brwd3* が関与を示唆する結果が、後退時には *Fbxl7/cry2* が関与することを示す結果が得られており、さらに解析が必要ではあるが、コオロギの *c-fos/Brwd3-Fbxl/CRY* によるリセット機構と類似の機構が関与する可能性が示唆された。

引用文献

[1]K. Tomioka, A. Matsumoto, *Advances in Insect Physiology* **56**, 73-115 (2019), [2]A. Tokuoka *et al.*, *Zool. Lett.* **3**, 5 (2017), [3]K. Tomioka, Y. Chiba, *Zool. Sci.* **1**, 375-382 (1984), [4]J. Nishiitsutsuji-Uwo, C. S. Pittendrigh, *Z. vergl. Physiol.* **58**, 1-13 (1968), [5]S. Komada *et al.*, *Zool. Lett.* **1**, 11 (2015), [6]Y. Kutaragi, T. Miki, T. Bando, K. Tomioka, *Physiol. Entomol.* **41**, 358-368 (2016), [7]N. Ozturk, S. J. VanVickle-Chavez, L. Akileswaran, R. N. Van Gelder, A. Sancar, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 4980-4985 (2013), [8]S. N. Anand *et al.*, *J. Neurosci.* **33**, 7145-7153 (2013), [9]A. Hirano *et al.*, *Cell* **152**, 1106-1118 (2013), [10]K. Tomioka, Y. Chiba, *Naturwissenschaften* **69**, 355-356 (1982), [11]K. Tomioka, *Journal of Interdisciplinary Cycle Research* **16**, 73-76 (1985)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 C. Ohguro, Y. Moriyama, K. Tomioka	4. 巻 38
2. 論文標題 The compound eye possesses a self-sustaining circadian oscillator in the cricket <i>Gryllus bimaculatus</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 82-89
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2108/zs200118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Y. Tomiyama, T. Shinohara, M. Matsuka, T. Bando, T. Mito, K. Tomioka	4. 巻 6
2. 論文標題 The role of clockwork orange in the circadian clock of the cricket <i>Gryllus bimaculatus</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Zoological Letters	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40851-020-00166-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Y. Narasaki-Funo, Y. Tomiyama, M. Nose, T. Bando, K. Tomioka	4. 巻 127
2. 論文標題 Functional analysis of Pdp1 and vrille in the circadian system of a cricket	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Insect Physiology	6. 最初と最後の頁 104156 (1-9)
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jinsphys.2020.104156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 吉井大志	4. 巻 55
2. 論文標題 ショウジョウバエの概日リズムは生存に重要か？	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 31 32
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 関口学・吉井大志	4. 巻 52
2. 論文標題 ショウジョウバエ概日時計の神経ネットワーク	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 38-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 N. N. Kannan, Y. Tomiyama, M. Nose, A. Tokuoka, K. Tomioka	4. 巻 36
2. 論文標題 Temperature entrainment of circadian locomotor and transcriptional rhythms in the cricket, <i>Gryllus bimaculatus</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Zoological Science	6. 最初と最後の頁 95-104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2108/zs180148	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 K. Tomioka, A. Matsumoto	4. 巻 56
2. 論文標題 The circadian system in insects: Cellular, molecular, and functional organization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Advances in Insect Physiology	6. 最初と最後の頁 73-115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.aiip.2019.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Ueda, S. Tamaki, T. Miki, O. Uryu, Y. Kamae, M. Nose, T. Shinohara, K. Tomioka	4. 巻 43
2. 論文標題 cryptochrome genes mediate photoperiodic responses in the cricket <i>Modicogryllus siamensis</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Entomology	6. 最初と最後の頁 285-294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/phen.12258	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Kutaragi, A. Tokuoka, Y. Tomiyama, M. Nose, T. Watanabe, T. Bando, Y. Moriyama, K. Tomioka	4. 巻 4
2. 論文標題 A novel photic entrainment mechanism for the circadian clock in an insect: involvement of c-fos and cryptochromes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Zoological Letters	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40851-018-0109-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 M. Matsuka, T. Shinohara, K. Tomioka
2. 発表標題 Involvement of Brwd3 and Fbx1 in the photic entrainment mechanism of the circadian clock in the cricket, <i>Gryllus bimaculatus</i>
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第42回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富岡憲治
2. 発表標題 昆虫の季節適応機構: 光周期と温度による制御
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松家未来, 神原早紀, 篠原従道, 富岡憲治
2. 発表標題 コオロギ概日時計の光同調機構へのBrwd3 と fbx1の関与
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大黒智和子・守山禎之・富岡憲治
2. 発表標題 フタホシコオロギ複眼内の概日自律振動体
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 二木祐実子, 富岡憲治
2. 発表標題 フタホシコオロギにおける概日時計出力神経路の解析
3. 学会等名 日本動物学会第90回大阪大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Yoshii, T. Nakayama, S. Tamura, K. Tomioka
2. 発表標題 The BRWD3 gene is required for normal circadian activity rhythms in <i>Drosophila melanogaster</i> .
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第41回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Tomiyama, K. Tomioka
2. 発表標題 Functional analysis of the clock gene <i>cwo</i> in the circadian clock of the cricket, <i>Gryllus bimaculatus</i> .
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第41回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 K. Tomioka, Y. Kutaragi, A. Tokuoka, Y. Tomiyama, M. Nose, T. Watanabe, T. Bando, Y. Moriyama
2. 発表標題 A novel photic entrainment mechanism of the circadian clock in a hemimetabolous insect.
3. 学会等名 Asian Forum on Chronobiology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富山泰旭, 能勢基希, 富岡憲治
2. 発表標題 フタホシコオロギにおける時計遺伝子clockwork orangeの時間生物学的解析
3. 学会等名 日本動物学会中国四国支部 第70回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. Tomiyama, M. Nose, K. Tomioka
2. 発表標題 Analysis of the function of clock gene clockwork orange in the circadian clock of the cricket, Gryllus bimaculatus
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第40回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富岡憲治
2. 発表標題 昆虫概日リズムを駆動する複数振動体機構：ウスグロシヨウジヨウバエA-B 2 振動体モデルの継承と発展
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 守山禎之, 泰山浩司, 富岡憲治
2. 発表標題 コオロギ視葉における時計遺伝子発現細胞の解析
3. 学会等名 日本動物学会中国四国支部 第70回大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉井 大志 (Yoshii Taishi) (50611357)	岡山大学・自然科学研究科・准教授 (15301)	
研究分担者	守山 禎之 (Moriyama Yoshiyuki) (30707394)	川崎医科大学・医学部・助教 (35303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
インド	IISER		