

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19300103
 研究課題名（和文） システム生物学的アプローチによる概日リズムの光同調機構の解明
 研究課題名（英文） Elucidation of Light-Induced Entrain Mechanism of Circadian Rhythms with the Approach of Systems Biology
 研究代表者
 松野 浩嗣 (MATSUNO HIROSHI)
 山口大学・大学院理工学研究科・教授
 研究者番号：10181744

研究成果の概要：光同調は光誘導される Per 遺伝子の増加でもたらされるが、この増加が一定のモデルと主観的昼に増加しない時刻依存的モデルについてシミュレーションを行い、後者のモデルが光同調により適していることを示した。応用例として時差症候群を取り扱い、移動先の日周環境への同調に至るまでの光による位相変化が遺伝子レベルで説明できることを示した。さらに新しく時計遺伝子としての役割が確認された Ror 遺伝子の働きをモデルに組み込み、振動の頑健さ維持に必要な Ror 遺伝子産物が関わる分子作用の存在について未発見の知見を得た。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
年度			
年度			
総計	4,500,000	1,350,000	5,850,000

研究分野：システム生物学

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：システム生物学、シミュレーション、概日リズム、光同調、遺伝子ネットワーク、ハイブリッド関数ペトリネット

1. 研究開始当初の背景

細胞内外の現象について、生物実験で得られた多くのデータやそれに基づく知見をもとに計算機モデルを作成し、シミュレーションを実行することで細胞の働きをシステムとして理解しようとする「システム生物学」が国内外で注目されている。システム生物学は生物科学と情報科学の2つの研究分野の相乗的な連携なしには成り立たないが、これら2つの研究分野の研究者の共同によって具体的な成果を挙げた例はまだ少ない。本申

請研究は、概日リズムの光同調機構をテーマにしてこれを実行しようとするものである。

2. 研究の目的

(1) Per1, Cry1, Bmal1, Clock, Rev-Erb α の5 遺伝子から構成されている現在の概日リズム機構のハイブリッド関数ペトリネットモデル(HFPN モデル)に未導入の遺伝子(Ror, Per2, Per3, Cry2, CKI ϵ 等)を加えることで HFPN モデルを拡張して、より正確な光による概日リズム同調機構の説明を試みる。

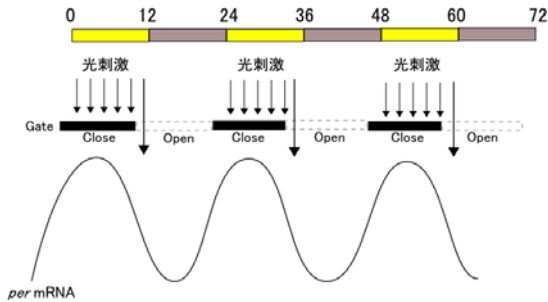


図4 光伝達のゲート機構

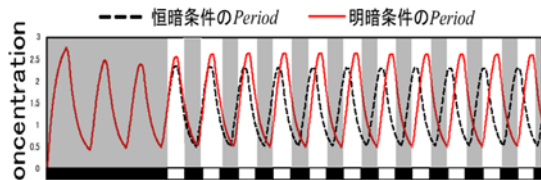


図5 ゲート機構の場合

哺乳類の *Period* mRNA の光応答には主観的昼の光刺激にはほとんど反応せず、主観的夜の刺激に反応するという光応答のゲート機構があることが知られている(図4)。ゲート機構をモデルに取り入れ、光同調シミュレーションを行った。そのシミュレーション結果が図5である。*Period* mRNA の位相が明暗周期と一定の位相で安定し同調している様子がわかる。*Period* 増加量一定モデルと違う点は昼間に *Period* mRNA がほとんど増加していない点である。*Period* mRNA が光によって増加しているのは昼の後半の時間帯のみである。つまり明暗周期との同調に必要な *Period* mRNA の増加は昼の後半だけであり、昼の間に常に増加し続ける必要は無いことを表している。よってゲートモデルでは昼の終わりの生物時計の位相を後退させる時間帯に、選択的に *Period* mRNA を増加させて光同調を実現していることがわかる。

③考察

哺乳類は実際に主観的夜の光応答によって同調を実現しているが、シミュレーション結果から光同調にゲート機構を用いていることが有用であることを示すことができた。光刺激によって生物時計は位相がずれるが、昼の間に *Period* mRNA を増加させる一定量増加モデルのシミュレーション結果から昼の間の余分な *Period* mRNA 増加が同調完了に時間がかかる要因であると考えられる。

(2) 時差症候群シミュレーション
 応用例として日本からニューヨークに飛行機で次の計画で旅行した場合のシミュレーションを行った。

日本出発 AM11:30
 飛行機での移動時間 12.5h
 ニューヨーク到着 AM10:00
 (日本時間深夜0時)

2つの都市の時差は-14hであり、ニューヨークに到着すると位相を前進させて同調す

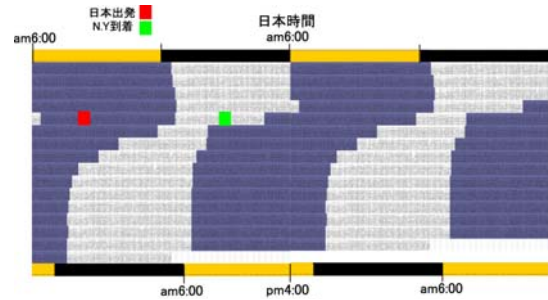


図6 光同調のアクトグラム

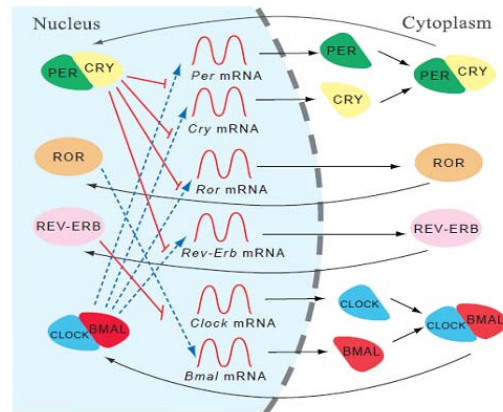


図7 Ror を加えた遺伝子相互作用

る。シミュレーションによって実際にニューヨーク時間に同調できるのか実験を行った結果をアクトグラムであらわしたものが図6である。ニューヨークへ到着した日から5~6日目には現地の時間に概日リズムが同調していることが分かる。

(3) Ror 遺伝子導入モデル

①HFPN モデルの拡張

Per, *Cry*, *Rev-erb*, *Clock*, *Bmal* の5遺伝子に *Ror* 遺伝子を加えた遺伝子相互作用図が図7である。この HFPN モデルを作成してシミュレーション実行したところ、*Per-Cry* ループを停止 (*PER/CRY* 複合体の濃度一定) しても *Clock-Bmal* ループは振動し、また *Clock-Bmal* ループを停止 (*CLOCK/BMAL* 複合体の濃度一定) にしても *Per-Cry* ループは振動した。つまり、このモデルでお互いのループ

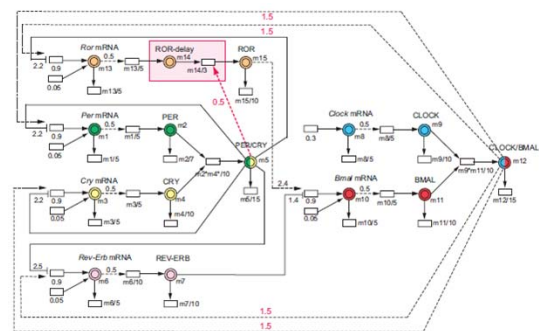


図8 Ror を加えた HFPN モデル

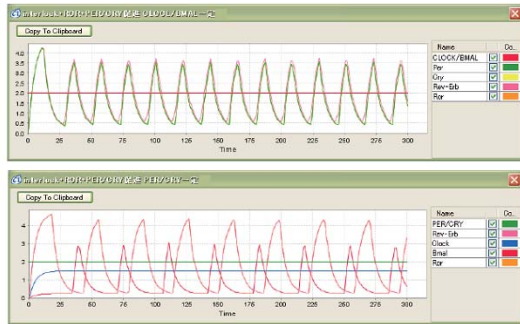


図9 相補的働きの検証結果

の働きを補い合うという相互補完的動作が確認された。

しかし、Cry ノックアウトによって Bmal の振動が停止するという生物実験で確認されている現象を再現することはできなかった。そこで、「PER/CRY が Ror の転写と翻訳間の時間遅れを引き起こす」という仮説をたてて、これを導入して拡張した図8のような HFPN モデルを作成した。

②相補的働き検証シミュレーション

自律振動リズム形成と位相関係が正常に再現できていることを確認したのちに、このモデルにおいて2つのフィードバックループが相補的働きをできるかどうかシミュレーションにより確かめた。先と同様に CLOCK/BMAL 濃度一定シミュレーションと、PER/CRY 濃度一定シミュレーションを行った。この結果、図9のように CLOCK/BMAL によるループが作用していない場合でも PER/CRY ループにより自律振動リズムが形成され、PER/CRY によるループが作用していない場合も CLOCK/BMAL ループによりリズムが形成された。また、それぞれの位相関係も正しく維持されていた。このことから PER/CRY が ROR の time delay を引き起こす場合でも、2フィードバックループはお互いのループを補い合う相補的な働きをできるということが確かめられた。

③Cry ノックアウトシミュレーション

図8の Cry の転写を表現したトランジションを取り除き、PER/CRY の初期濃度を0としてシミュレーションを行った。その結果、図10のように Cry ノックアウトによる Bmal 低レベル一定と全体のリズム消失を再現することができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① N. Mitou, Y. Ikegami, H. Matsuno, S. Miyano, S.T. Inouye, Simulation analysis for the effect of light-dark

cycle on phase entrainment in



図10 Cry ノックアウト結果

circadian rhythms, Genome Informatics, Vol. 20, pp.212-223, 2008. 査読有

[学会発表] (計11件)

- ① A. Matsui, N. Mitou, H. Matsuno, S.T. Inouye, S. Miyano, Verification of Bmal and Clock gene functions in circadian rhythms by simulation, 20th International Conference on Genome Informatics, poster abstract No. 65, 2008, Goldcoast, Australia, 2008年12月1日.
- ② 松井明生、三藤なつ美、松野浩嗣、井上慎一、シミュレーションによる CLOCK/BMAL タンパク質複合体の役割の検証、時間生物学、Vol. 14, No. 2, ポスター番号 P029, 岡山市, 2008年11月8日.
- ③ 宮本賢志、松野浩嗣、井上慎一、哺乳類生物時計における遺伝子調節のペトリネットモデル、時間生物学、Vol. 14, No. 2, 口頭発表抄録番号0-19, 岡山市, 2008年11月8日.
- ④ 松井明生、三藤なつ美、松野浩嗣、井上慎一、シミュレーションによる時計遺伝子 Bmal, Clock の役割の検証、平成20年度電気・情報関連学会中国支部連合大会講演論文集, pp.236-237, 鳥取市, 2008年10月25日.
- ⑤ 宮本賢志、松野浩嗣、井上慎一、哺乳類生物時計における遺伝子転写調節のペトリネットモデル、平成20年度電気・情報関連学会中国支部連合大会講演論文集, pp.238-239, 鳥取市, 2008年10月25日.
- ⑥ 池上雄人、松野浩嗣、井上慎一、マウス時計遺伝子機構の光同調シミュレーション、第14回日本時間生物学会学術大会、1-C-004, 東京, 2007年11月7日.
- ⑦ 松井明生、松野浩嗣、井上慎一、システム生物学的アプローチによるマウス概日リズムの遺伝子発現位相パターンの理解、第14回日本時間生物学会学術大会、1-C-007, 東京, 2007年11月7日.

- ⑧ 三藤なつ美, 松野浩嗣, 井上慎一, シミュレーションによるマウス時計遺伝子フィードバックループの相補的働きの検証, 第14回日本時間生物学会学術大会, 1-C-034, 東京, 2007年11月7日.
- ⑨ 池上雄人, 松野浩嗣, 井上慎一, マウス時計遺伝子機構の光同調シミュレーション, 平成19年度電気・情報関連学会中国支部連合大会講演論文集, pp.119-120, 広島市, 2007年10月20日.
- ⑩ 松井明生, 松野浩嗣, 井上慎一, シミュレーションに基づく哺乳類生物時計の振動位相決定遺伝子に関する一考察, 平成19年度電気・情報関連学会中国支部連合大会講演論文集, 広島市, pp.123-124, 2007年10月20日.
- ⑪ 三藤なつ美, 松野浩嗣, 井上慎一, シミュレーションによるマウス時計遺伝子フィードバックループの相補的働きの検証, 平成19年度電気・情報関連学会中国支部連合大会講演論文集, pp.125-126, 広島市, 2007年10月20日.

[図書] (計2件)

- ① M. Nagasaki, A. Saito, A. Doi, H. Matsuno, S. Miyano, *Fundation of Systems Biology*, pp.106-124, Springer, 2009.
- ② 土井淳、長崎正朗、斉藤あゆむ、松野浩嗣、宮野悟、システム生物学がわかる!、共立出版、pp.102-120, 2007.

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松野 浩嗣 (MATSUNO HIROSHI)
山口大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号: 10181744

(2) 研究分担者

井上 慎一 (INOUE SHIN-ICHI)
研究者番号: 10274151