

H-10

アミノ酸アナログパルスによる概日性時計の位相応答
曲線の解析

近藤秀男(基生研)

概日性(Circadian)リズムは真核生物に広く見られるが、リズムを支配する細胞内の24時間振動(時計)の本体は依然として不明である。多くの系で時計に同調する生化学反応を探索するために薬物の短時間投与(パルス)によるリズムの位相ずれ(位相変位)が調べられてきた。筆者はウキクサ(*Leunus gibba*)のK⁺吸収リズムで、アミノ酸アナログが特に有効で多様な位相変位を惹き起こすことを見い出した(松山1983, 札幌1984)。今回はロイシンのアナログ, trifluoroleucine (FLE) の時計への作用機構について得られた知見と各種のアナログによる位相変位の比較から得られた知見を報告する。

＜FLEの時計への作用＞ FLEはCT(Circadian time; 夜明の位相を0としリズムの一サイクルを24時間とした時刻)15に最大の位相変位を起すがこの位相変位量は細胞内に吸収されたFLE量と比例した。一方、パルス投与時刻によって、位相変位は大巾に変わるがFLEの取り込みは一定であった。更にパルス投与後ロイシンを与えても位相変位は減少しなかった。これらの事実は時計がCT15付近で細胞内のFLE量に比例した影響を受けることを示している。

＜FLEによるアミノ酸レベルやタンパク合成能の変化＞ パルス投与時刻にかかわらず、FLEはロイシンやバリンの細胞内含量を約1/2にさせたが、位相変位量はこの低下とは相関しなかった。又、ロイシンやバリンは単独で与えるとアミノ酸代謝を乱し重篤な生育障害を起したが、これらのパルス投与では位相は変化しなかった。よってFLEによる位相変位はアミノ酸代謝のかく乱によるものではないと思われる。一方、大巾な位相変位を起す10μMのFLEパルス投与下でもタンパク合成能は全く低下しなかった。たのでFLEの時計への作用はタンパク合成阻害によるものでもない。

＜種々のアナログによる位相応答曲線(PRC)の比較＞ 一つのアミノ酸に対する複数のアナログから相互に異なったPRCが得られた。これもアナログの時計への作用が個々のアミノ酸代謝を乱す事によるものでない事を示唆する。一方、アナログが最大の位相変位を起す時刻はCT9-12とCT15-18に集中し、シクロヘキシミドの有効時刻(CT3-6)とは大巾に異なっており、ここでもアナログの作用がタンパク合成阻害によるものでないことを示唆している。更にCT9-12に有効なアナログは位相前進と後退の両方を起すがCT15-18に有効なものは後退のみを起した。これらの有効なアナログはすべてタンパク質に混入することが知られているので、以上の事実から、アナログはCT9-12およびCT15-18に合成され時計の進行に必要なタンパク質に混入し、それを変性させる事によって、位相変位を起しているものと思われる。混入アナログによる変性は非特異的であろうからこれらのタンパクの性質は予測できないが、PRCがシクロヘキシミドも含めて3つに分類されることは相互に異なった種のタンパクが時計の進行に必要なことを示唆している。

現在、クラミドモナスの走光性リズムでこれらのアナログの有効性を検討中である。

*)位相変位をパルス投与時刻に対してプロットしたもの。