

## 【特別推進研究】

### 生物系

## 研究課題名 フォワード・ジェネティクスによる睡眠覚醒制御機構の解明



筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・機構長/教授

やなぎさわ まさし  
柳沢 正史

研究課題番号：17H06095 研究者番号：20202369

研究分野：神経科学

キーワード：睡眠覚醒、マウス、フォワード・ジェネティクス

### 【研究の背景・目的】

睡眠は動物に普遍的に認められる行動であるが、睡眠覚醒行動を制御する神経科学的メカニズムは不明である。研究代表者は睡眠制御機構の解明を目指し、世界で類を見ない、哺乳類を用いた睡眠のフォワード・ジェネティクス研究を推進した。その結果、睡眠増大をもたらす遺伝子変異をリン酸化酵素 SIK3 (図 1、2) に、レム睡眠の短縮をもたらす遺伝子変異を非選択的陽イオンチャンネル NALCN に見出した (Funato, Yanagisawa et al., Nature 2016)。

本研究では、1) 睡眠の大規模フォワード・ジェネティクス研究を推進し、睡眠覚醒を制御する新規遺伝子を同定するとともに、2) 睡眠覚醒を制御する SIK3 シグナルカスケードを解明し、3) レム睡眠を制御する細胞内シグナル伝達系を明らかにする。これらの研究により、睡眠覚醒研究におけるパラダイムシフトを起こす。

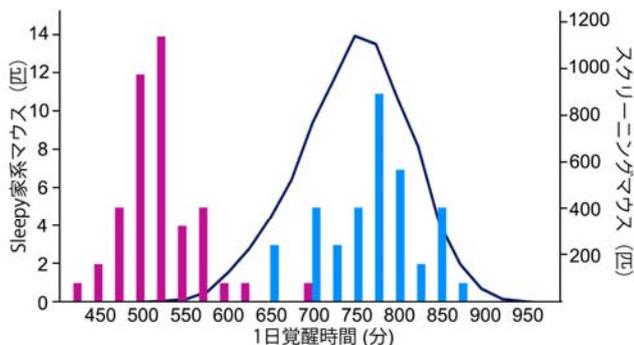


図1 SIK3遺伝子に変異を持つマウス (赤) と変異のないマウス (青) の覚醒時間。SIK3遺伝子変異による覚醒時間短縮が明らかである。黒線は検討した全突然変異マウスの覚醒時間を示した。



図2 SIK3はリン酸化酵素である。変異型SIK3蛋白質はエクソン13にコードされる領域を欠失している。欠失する領域に、PKAによるリン酸化を受けるセリン (S551) が存在する。

### 【研究の方法】

1) エチルニトロソウレアによりランダム点突然変異を導入したマウスの脳波筋電図を記録し、睡眠覚醒を評価する。睡眠異常を示す個体が得られれば、次世代マウスの検討により睡眠異常の遺伝性を評価

する。睡眠異常家系の樹立後、全エクソームシーケンス・ゲノム編集により、原因遺伝子変異を同定・導入する。

2) SIK3 シグナルパスウェイによる睡眠量制御については、部位、時期、細胞種特異的に変異型 SIK3 遺伝子発現を制御できる遺伝子改変マウスと、各種 Cre ドライバーマウスや Cre 発現ウイルスベクターを組み合わせることによって、睡眠覚醒制御神経回路の同定を行う。FLAG-SIK3 マウスおよび FLAG-SIK3 (SLP) マウスの網羅的定量的リン酸化蛋白質解析を行い、睡眠覚醒を制御する細胞内シグナル伝達系の同定を行う。

3) NALCN によるレム睡眠制御については、部位、時期、細胞種特異的に変異型 NALCN を発現させる遺伝子改変マウスを用いて、レム睡眠制御神経回路の同定を行う。さらに、パッチクランプ法と分子生物学的手法を融合して NALCN を介したレム睡眠制御シグナルの同定を行う。

### 【期待される成果と意義】

睡眠のフォワード・ジェネティクス研究は始まったばかりであり、同じアプローチを継続することで睡眠覚醒を制御する新規遺伝子が今後も複数同定できると期待される。また、SIK3 シグナルを構成する分子を同定することで、睡眠覚醒制御のシグナル伝達系を明らかにすることができる。NALCN の開閉を制御する分子機構を明らかにすることで、レム睡眠エピソードの維持・終止の細胞内シグナル伝達系を明らかにすることができる。

これらの点を明らかにすることができれば、睡眠科学領域における画期的成果として、新たな研究領域を創成することになる。

### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Chemelli, Yanagisawa et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. Cell 98, 437-451, 1999.

Funato, Yanagisawa et al. Forward-genetics analysis of sleep in randomly mutagenized mice. Nature 539, 378-383, 2016.

### 【研究期間と研究経費】

平成 29 年度 - 33 年度 423,000 千円

### 【ホームページ等】

<http://sleepymouse.tsukuba.ac.jp>