

【特別推進研究】

生物系



研究課題名 アイドリング状態の脳における情報処理メカニズム

富山大学・大学院医学薬学研究部・教授 **いのくち かおる**
井ノ口 馨

研究課題番号：18H05213 研究者番号：20318827

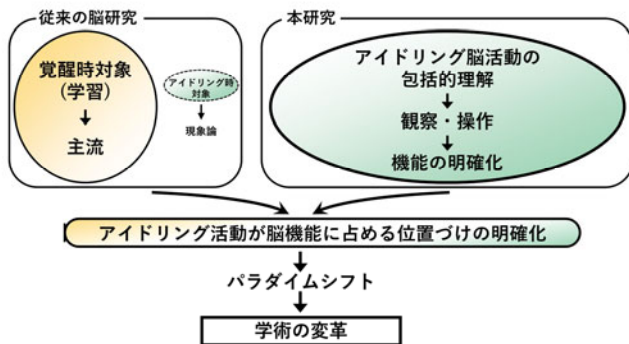
キーワード：神経科学、アイドリング脳、記憶エングラム、睡眠、リプレイ

【研究の背景・目的】

脳は課題遂行中だけでなく睡眠中や休息時にも活動を続けていること、すなわちアイドリング状態であることが明らかになってきた。誰しもが「未解決の課題が睡眠やリラクスのあとなどに突然解決する経験」をしている。

私たちはマウスを用い、学習時に同期活動した脳海馬の数多くのニューロン集団（セルアセンブリ）のうち、引き続き睡眠時に再活動（リプレイ）したものだけが、その後の想起時にも活動することを発見し、特定のセルアセンブリの睡眠時におけるリプレイが記憶の固定化を担っている可能性を見いだした。これらは、脳のアイドリング活動は、従来考えられていた以上に様々な重要な機能を持っていることを示唆している。

本研究では、最先端の神経活動計測・操作テクニックを駆使して、従来アプローチ不可能であった「アイドリング中の脳活動の種々の機能を明らかにし、脳機能に占めるアイドリング活動の位置づけを明確化する」ことを目的とする。



【研究の方法】

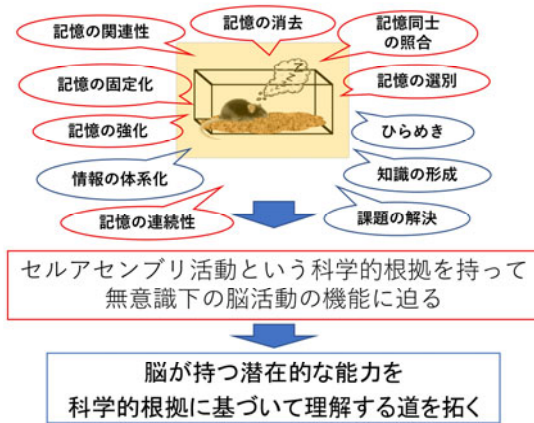
自由行動下のマウスを用いて、アイドリング中の脳ニューロン活動を超小型内視顕微鏡 (nVista, nVoke) や超微細蛍光内視鏡(U-FEIS)を用いたライブカルシウムイメージング法で計測し、得られる大規模データから数理解析によりセルアセンブリ活動の特徴を抽出する。

また、リプレイしたセルアセンブリやプレプレイしたセルアセンブリの活動を、MiLSS/U-FEIS等の先端的技術を用いてアイドリング中に操作し、その後の記憶やセルアセンブリに与える影響を調べる。アイドリング中の各フェーズ間の相違や覚醒時の活動

との比較を念頭に置いて解析する。

【期待される成果と意義】

本研究では、アイドリング中の脳がセルアセンブリのリプレイ活動を通して記憶エングラムを選別し、統合し、分離しているメカニズムが解明される。いろいろな記憶が長い時間軸の中でどのように関連し合っているのか、以前の記憶が新しい記憶にどのように影響を与えるかなど、記憶の連続性の本質にも迫ることが期待される。これによって、従来はアプローチされていなかった脳が持つ潜在的な能力を科学的な根拠に基づいて理解することが可能となる。



【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Abdou, K, ... (略) ..., and Inokuchi, K. Synapse-specific representation of the identity of overlapping memory engrams. *Science* 360: 1227-1231 (2018)
- Yokose J, ... (略) .., and Inokuchi K. Overlapping memory trace indispensable for linking, but not recalling, individual memories. *Science* 355: 398-403 (2017)

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度－34 年度
427,200 千円

【ホームページ等】

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/bmb/index-j.html>
bmb@med.u-toyama.ac.jp



研究課題名 多階層オミックスによる卵子の発生能制御分子ネットワークの解明

九州大学・生体防御医学研究所・教授 **ささき ひろゆき**
佐々木 裕之

研究課題番号：18H05214 研究者番号：30183825

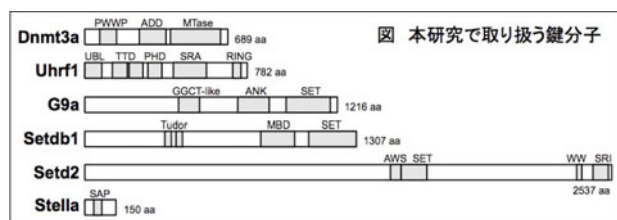
キーワード：卵子、オミックス、エピゲノム、ゲノム編集、機械学習

【研究の背景・目的】

卵子は有性生殖を行う全ての動物の次世代を担う細胞である。多くの脊椎動物種において無精卵から個体が発生する単為生殖が見られることから、卵子は発生に必要な基本的なプログラムをほぼ全て保有していると考えて間違いない。本研究では実験モデル動物であるマウスを対象として、ゲノム編集技術及び多階層オミックス技術を駆使し、受精後の発生を支える卵子の発生能制御プログラムの確立と維持に係る分子ネットワークを明らかにする。特に初期発生に不要な（又は有害な）遺伝子（生殖細胞形成遺伝子や体細胞特異的遺伝子）の抑制、転移性遺伝因子の抑制、片親性発現を規定するゲノム刷り込み等を担う抑制型のプログラムに着目し、DNAメチル化酵素、ヒストンメチル化酵素、及びそれらの制御因子のクロストークを明らかにする。また、上記のエピゲノム修飾に関連する因子と物理的又は機能的に相互作用する細胞質の因子を同定し、その機能の解明を目指す。さらに、収集したエピゲノムデータに機械学習・数理モデリングを適用し、エピゲノム変化の次世代への伝達を予測可能にするモデルを構築する。以って、不妊・流産の原因解明、生殖補助医療技術の改善、疾患感受性関連のエピゲノム変化の伝達機能の解明へ向けて研究基盤を確立する。

【研究の方法】

本研究では、マウスの卵子・受精卵において抑制型の発生能制御プログラムの形成・維持に関与するDNAメチル化酵素（Dnmt3a）、DNAメチル化維持因子（Uhrf1）、ヒストンメチル化酵素（G9a、Setdb1、Setd2）、及びDNAメチル化保護因子（Stella）等の鍵分子が形成するネットワークを詳細に解明する。そのため、ゲノム編集技術を用いる逆遺伝学アプローチと、トランスクリプトミクス・エピゲノミクス・プロテオミクスアプローチの技術を併用する多階層オミックスを駆使した研究を展開する。逆遺伝学では、卵子特異的な遺伝子変異導入や、特定のタンパ



ク質ドメインへの微細なアミノ酸置換の導入を実施する。オミックスでは微量サンプルに適用可能な高感度・高精度の技術を応用し、新規因子の同定も目指す。DNAメチル化の標的部位の周辺配列から得られる種々の特徴量を設計し、特徴ベクトルを入力とするメチル化・非メチル化分類モデルの学習と評価を行う。最終的には、受精を経て次世代へ伝達するエピゲノム変化を予測するモデルを構築する。

【期待される成果と意義】

本研究により、卵子・受精卵の抑制型プログラムの確立・維持に係る分子のネットワークを明らかにすると共に、これらの分子及びそれらと相互作用する因子の細胞質における機能を明確にする。エピゲノム制御因子はヒストン以外の標的を持つ可能性があるため、そのような新機能を同定し、エピゲノム制御因子の進化的起源に遡る研究に発展させる。本研究の成果は、発生学、幹細胞生物学、ゲノム生物学にインパクトを与え、臨床的には不妊・流産・先天異常の原因解明、及び生殖補助医療技術の改善に役立つ。また、がんにおいてしばしば本研究の鍵分子の体細胞変異が報告されており、ネットワークの解明と各分子の新機能の同定はがんの解明に資する。産業上は家畜の発生工学技術の改良に役立つほか、子宮内環境や種々の環境ストレスにより生じたエピゲノム異常が次世代へ伝達される機構の解明や予測に寄与することができる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kaneda, M. et al. Essential role for *de novo* DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature* 429, 900-903 (2004).
- Watanabe, T. et al. Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature* 453, 539-543 (2008).
- Maenohara, S. et al. Role of UHRF1 in *de novo* DNA methylation in oocytes and maintenance methylation in preimplantation embryos. *PLoS Genet.* 13, e1007042 (2017).

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度－34 年度
391,200 千円

【ホームページ等】

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/labo/epigenome/>

【特別推進研究】
生物系



研究課題名 幹細胞における細胞周期の制御と代謝系との連関に関する総合的研究

九州大学・生体防御医学研究所・主幹教授 なかやま けいいち
中山 敬一

研究課題番号：18H05215 研究者番号：80291508
キーワード：幹細胞、細胞周期、代謝

【研究の背景・目的】

成体幹細胞（ASC）では細胞周期が停止しているため、神経や心筋では受傷後にほとんど再生が起こらないが、そのメカニズムを解明してASCの再増殖が可能になれば、組織修復能を回復させる理論的基盤になると期待できる。増殖停止したASCとは対比的に、胚性幹細胞（ESC）は急速な細胞周期回転を行うが、最近われわれは、このASCとESCにおける増殖性の差異が、細胞周期阻害分子p57とユビキチンリガーゼSkp2によって規定されることを突き止めた。さらにその下流で代謝ネットワーク構造が大規模に変化していることを発見した。

本研究の目的は、1) ASCとESCにおいて、p57とSkp2遺伝子の転写調節機構を明らかにし、それが幹細胞性の維持に必要などうかを検証する、2) ASCとESCにおける代謝ネットワーク構造の違いを次世代プロテオミクスを用いて解明し、細胞周期と代謝の連関機構を明らかにする、3) p57-Skp2系の制御機構に対する人為的介入によってASCの細胞周期の再活性化を起こす方法を開発する、の3点である。

【研究の方法】

本研究では、まず幹細胞特異的なp57/Skp2遺伝子の発現制御メカニズムを解明する。その過程で発見されたトランス因子について遺伝子改変マウスを製作し、その効果を検証する。また次世代プロテオミクス技術（iMPAQTシステム：図1）を用いて、細胞周期における代謝ネットワーク構造の全体像を描出し、ASCとESCの差異を明らかにし、細胞周期との連関の分子機構を解明する。

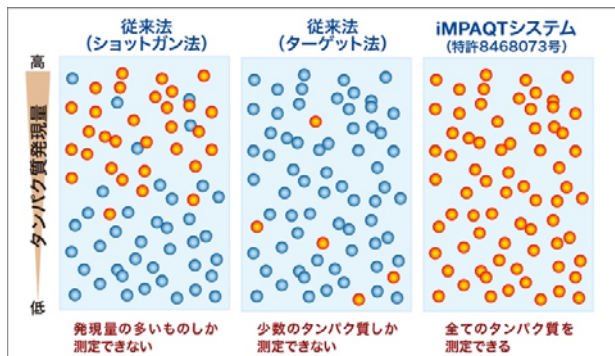


図1 iMPAQTシステムによる全タンパク質量

【期待される成果と意義】

ASCにおいて、増殖停止メカニズムを理解することによって、そのメカニズムの主要分子の機能に介入し、増殖を再開することができれば、脳血管傷害や神経変性疾患、虚血性心疾患、肝硬変、等の治療戦略の理論的基盤を構築できる。逆にがん幹細胞（CSC）においては、増殖停止による幹細胞性維持の性質を逆に利用して、p57機能を阻害することによって増殖を促進させて幹細胞性を喪失させ、がん幹細胞の枯渇を図るといった既存の概念とは逆のアプローチを試みる事が可能である（図2）。

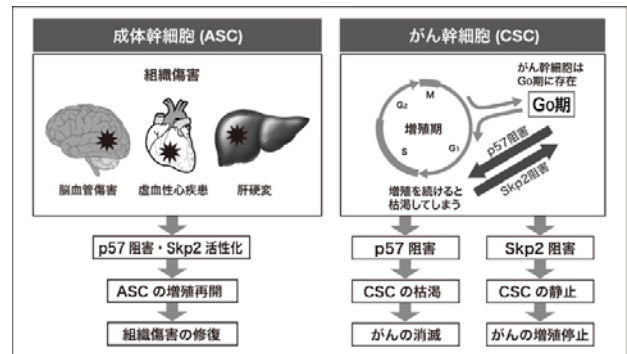


図2 成体幹細胞（ASC）やがん幹細胞（CSC）における人為的な細胞周期制御

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Matsumoto, M., et al., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: A large-scale targeted proteomics assay resource based on an in vitro human proteome. *Nature Methods* 14: 251-258 (2017).
- Takeishi, S., et al., Nakayama, K.I.: Ablation of Fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence. *Cancer Cell* 23: 347-361 (2013).

【研究期間と研究経費】

平成30年度－34年度
394,400千円

【ホームページ等】

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/saibou/index.html>