

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出
2. 研究開発課題名：睡眠・覚醒リズムをモデルとした生体の一日の動的恒常性の解明
3. 研究開発代表者： 上田泰己（東京大学大学院医学系研究科）
4. 研究開発の成果

上田グループでは、個体の睡眠・覚醒リズムをモデルに、生体がもつダイナミックな生命現象（動的恒常性）の解明に取り組んでいます。このような個体レベルの現象に取り組むために、私達のグループでは、基盤となる解析技術の開発を同時に進めています。例えば、睡眠に関わる「分子」の発見やそのダイナミクスを明らかにするために、高速・並列なノックアウトマウスの作製技術や超高感度な検出器（質量分析器）とその測定方法を開発し、睡眠に重要な分子やその修飾状態の動的性質を捉えようとしています。また、個体内での「細胞」のつながりや振る舞いを効率よく調べるために、組織・個体全体の細胞を網羅的に解析する全身全細胞イメージング技術の開発に取り組んでいます。さらに、従来では手術等の特別な手技が必要だった睡眠・覚醒状態の測定方法を簡略化し大規模に行える体制の構築も進めています。

平成 27 年度は特に、細胞の網羅的解析技術として昨年度までに発表した CUBIC を改良・プロトコル化し発表しました(Susaki et al. *Nature Protocols*, 2015)。また CUBIC で提唱した組織透明化・3 次元イメージング・画像解析の 3 つのステップに関連する技術を取りまとめ、「個体レベルのシステム生物学」を実現するための枠組みとして紹介する総説を発表しました(Susaki and Ueda. *Cell Chemical Biology*, 2016)。また、ゲノム編集技術として近年注目を集める CRISPR を応用し、産仔のほぼ 100%でノックアウトマウスを作出する技術である Triple-CRISPR 法を発表しました。同時に、呼吸波形を用いて非侵襲的に睡眠表現型の解析を行える SSS 法も発表し、これらを組み合わせて 1 世代でのノックアウトマウス作製とハイスループットな睡眠表現型を進める技術基盤を確立しました(Sunagawa et al. *Cell Reports* 2016)。さらに、神経細胞が睡眠状態にある際、細胞内カルシウムが重要な働きをしていることをコンピューターシミュレーションで予測し、関連する遺伝子群 21 個を Triple-CRISPR 法と SSS 法でスクリーニング、また胎生致死になる遺伝子については薬理的に摂動した上で脳全体の神経活動の状態を CUBIC で観察し、この予測に蓋然性があることを証明しました(Tatsuki et al. *Neuron* 2016)。本成果は国内外のメディア等でも紹介され、また、Altmetric score(インターネット上での注目度の指標)で 233 点(同時期に発表された総論文中の上位 1%内)を獲得するなど、広く注目されました。これらの技術を組み合わせながら、全ての人が経験するにもかかわらず未だに謎が多い睡眠という現象の本質を明らかにすべく、さらに研究を進めていきます。