

理機能をモデル系として、生理機能中枢のうちの1部位についてサンプルの取得及びDNAマイクロアレイによる解析、③(数ヶ月スケール)光周性サンプルについてDNAマイクロアレイによる解析、を行う。

### (2) 脳発現制御機構解明のためのインフォーマティクス解析手法の開発

独立成分分析を用いた発現制御関係の予測手法を開発し、本計画で取得した遺伝子発現プロフィールを用いて評価・検証を行う。

### (3) ハイスループットなスクリーニング系を用いた時間特異的発現制御機構の解析

これまで得られてきた制御因子候補の機能的解析を行い、概日リズムにおける転写制御機構、翻訳後制御機構を明らかにする。

## 4. 成果予定、論文発表、特許出願、データ産出状況等

現在、脳50部位の遺伝子発現に関する成果、および、ハイスループット技術を用いた概日リズムに係る転写制御因子の同定に関する論文化を行っており、また関連特許の出願を検討中である。

## 5. プロジェクト中での研究の位置づけ

本研究はゲノムネットワークプロジェクトの研究プログラムである「ゲノム機能情報の解析」から産出されるデータを有機的に活用し、対象となる個別生命機能を集中的にかつ独自性を持って解析し、新たな生命研究のパイロットプロジェクトとなるようなシステムの構築を視野にいれ、当該研究分野の一層の発展を目指す。

### 【平成20年度計画予定】

区分	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
(1) 様々な時間スケールについてのゲノムワイドな遺伝子発現解析	←											→
(2) 脳発現制御機構解明のためのインフォーマティクス解析手法の開発	←											→
(3) ハイスループットなスクリーニング系を用いた時間特異的発現制御機構の解析	←											→

## 研究課題：睡眠覚醒調節に関する遺伝子発現調節ネットワークの解明

研究代表者：財団法人大阪バイオサイエンス研究所 分子行動生物学部門 裏出 良博

### 1. 成果予定、論文発表、特許出願、データ産出状況等

睡眠時に特異的に発現レベルが変動する遺伝子を網羅的に探索し、睡眠覚醒を制御する遺伝子発現調節ネットワークを解析する。さらに、睡眠中に脳内で起きる脳機能の回復や記憶の選別と定着のメカニズムに関与する遺伝子発現変化を転写制御の観点から明らかにする。

### 2. 現状、進捗状況、成果

これまでに自然睡眠状態と覚醒状態にあるマウスの大脳皮質から RNA を抽出しマイクロアレイ解析を行った。その結果、睡眠状態と覚醒状態における遺伝子の発現レベルの変動が小さく、また個体差があり、睡眠調節関連の候補遺伝子の同定が難しいことが判明した。そこで、マウスの数を増やし、マイクロアレイを繰り返し行うことにより解析の精度を上げた。また、自然睡眠と自然覚醒においてはサンプルを採る時間に 12 時間の差が生じるため、概日リズムに関わる遺伝子が多く含まれた。そこで、自然睡眠時にカフェインを投与することにより強制的に覚醒させたマウスのサンプルを対照として含めることで、概日リズムに関連する遺伝子を除外することとした。マイクロアレイ解析および定量的 PCR 法による発現レベル確認の結果、55 個の遺伝子が自然睡眠時に、大脳皮質において発現が上昇することを確認した。現在、候補遺伝子のマウス全脳における発現分布を確認するため、*in situ* hybridization 法による検討を進めている。また、候補遺伝子の転写調節機構を解明するために、候補遺伝子に共通して存在するシス配列の解析を進めている。さらに、時間的・空間的な転写調節機構を解明するために、覚醒状態から睡眠状態への移行期のマウスサンプルを用いて、DNA マイクロアレイおよび定量的 PCR 法により候補遺伝子の経時的な発現変動の解析を行っている。

また、慶応大学柳川研究室（柳川弘志教授）との共同研究により、4 個の候補遺伝子について IVV 法により相互作用するタンパク質の同定を進め、タンパク質相互作用候補として 59 遺伝子を抽出した。現在、これらの候補タンパク質と同定タンパク質がマウス脳内で結合するかを検討中である。さらに、候補遺伝子のプロモーター領域の同定と遺伝子発現情報の取得は、横軸（中核）研究機関である理研オミックス基盤研究領域と CAGE 解析により行う予定であり、現在、担当者である鈴木治和チームリーダーと調整中である。

### 3. 本年度計画、当初計画・目標に対して達成の見込み

本年度の目標は、網羅的解析により得られた睡眠調節関連の候補遺伝子の脳内の発現部位を特定するとともに、候補遺伝子タンパク質の相互作用関係を明らかにし、候補遺伝子の遺伝子発現調節機構を解明する。また、動物において候補遺伝子の発現を siRNA あるいは、阻害剤を用いて機能を抑制し、睡眠調節との関連を検討することである。既に候補遺伝子の絞り込みを行っている

る。また、本年度実施計画に基づき、*in situ* hybridization法による発現部位の特定、候補遺伝子に共通して存在するシス配列の解析、および同定した転写調節因子の共役因子の同定を行っている。これは、当初計画・目標通りである。

#### 4. 成果予定、論文発表、特許出願、データ産出状況等

平成19年度は、以下の学会において成果を発表した。

- ・日本睡眠学会第32回定期学術集会・第14回日本時間生物学会学術大会合同大会（11月）；3件
- ・BMB2007（日本生化学会・日本分子生物学会合同年会）（12月）；3件

平成20年度は、日本睡眠学会第33回定期学術集会（6月）およびBMB2008（日本生化学会・日本分子生物学会合同年会）（12月）において成果を発表する予定である。また、今年度中に、これまでの成果を科学誌に投稿予定である。

#### 5. プロジェクトの中での研究の位置づけ

我々は小型実験動物用の睡眠測定システムや脳波解析システムを開発し、客観性のある定量的な睡眠解析が可能である。従って、これらの睡眠解析システムを用いることにより、自然な睡眠時における脳内の遺伝子発現変化の解析を行い、さらに、得られた結果と転写調節関連因子のタンパク質間相互作用情報やプロモーター情報などのゲノムネットワークプロジェクトの横軸研究機関がもつ情報・解析手法と密接な連携を持つことにより、睡眠という個別現象における遺伝子発現制御ネットワークを解明することが可能である。

#### 【平成20年度計画予定】

実施項目	実施期間（20年4月～21年3月）											
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
①候補遺伝子の発現部位の同定												
②候補遺伝子の転写調節機構の解明	←			→								
③マウスにおける睡眠調節遺伝子の機能の検討 (siRNAの導入、阻害剤投与)	←											→
④プロジェクトの総合的推進	←											→

**研究課題：ヒトゲノムのクロマチン転写ユニットの網羅的解析とその応用**

**研究代表者： 国立がんセンター研究所 腫瘍ゲノム解析情報研究部 太田 力**

## **1. 当初の計画・目標**

ゲノム DNA は核内では浮遊して存在しているのではなく、核内構造体に一部の DNA 領域を結合させた状態で存在することが知られている。最近、この構造体付着 DNA 部分はクロマチンの“足場”として機能していることに加えて、足場と足場の間に存在する複数の遺伝子は一つの独立した転写調節単位（転写ユニット）として高次構造的な発現調節が行われていることが示唆されはじめている。そこで、この“足場 DNA”の網羅的な検索を行いゲノム上における複数の遺伝子を含む転写ユニットの情報を得ることを目指す。

## **2. 現状、進捗状況、成果**

これまでに、モデル研究として癌由来の培養細胞 HeLa から足場領域の DNA を抽出し、プラスミドに連結させ、足場領域の DNA ライブラリーを作製した。現在、このライブラリーの約 3 万個の塩基配列の解読が完了し、解読できた足場領域の DNA をゲノム上にマッピングを行っている。

## **3. 本年度の計画、当初計画・目標に対して達成の見込み**

本年度としては（1）DNA チップを用いて足場領域の DNA 解析を行い、ライブラリーから得られた足場領域の DNA 情報を統合し、正確な HeLa 細胞の足場 DNA の確定を行う。（2）解読した足場領域の DNA をゲノム上にマッピングを行ない、HeLa 細胞の発現解析データと総合し転写ユニットを推定する。（3）他の癌由来の培養細胞の足場領域の DNA の変化を探索する。当初目標にしていた HeLa 細胞の足場 DNA の確定は達成可能であるが、本年度正常細胞および他の癌由来の培養細胞の足場 DNA の探索がどの程度進められるかが課題である。

## **4. 成果予定、論文発表、特許出願、データ産出状況等**

成果の一部として論文 1 報（Cancer Res. 68, 1303-1309, 2008）が発表できた。今後、足場 DNA の確定が完了した配列に関してはデータの開示を行いたいと考えている。

## **5. プロジェクトの中での研究の位置付け**

今後、HeLa 細胞の足場 DNA データおよび発現解析データから推定される転写ユニットは、他の横軸および縦軸の遺伝子発現研究に利用されることが期待される。

