

共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：京都府立医科大学大学院医学研究科

職名：教授

氏名：八木田和弘

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：

キメラマウス胚を用いた概日時計発生過程のリアルタイムイメージング

2. 再生医科学研究所共同研究者：近藤 玄

3. 研究期間： 短期研究課題 ・ 長期研究課題

(平成23年4月1日～平成24年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果：

概日時計の発生メカニズムは重要なテーマのひとつとなっている。概日時計のリズム発振は受精卵や初期胚には見られず、出生後にはほぼ全ての体細胞で概日時計の発振が見られることから、哺乳類概日時計は発生・胎生期に形成されることが示唆されている。しかし、胎生期のどの時期にどのようなメカニズムで概日時計振動体が形成され、自律振動をはじめめるのかは現在まで分かっていない。

これまでに我々は、マウス ES 細胞をモデル系として利用し、細胞分化誘導技術と遺伝子操作技術を駆使した、哺乳類概日時計発生過程の解析を行った。マウス ES 細胞を培養下で分化誘導を行い、ルシフェラーゼを指標とした概日時計振動の発光イメージング法によって、細胞分化過程における概日時計振動の解析に成功した。さらに、一度分化させた細胞を、iPS 細胞作製技術を利用してリプログラミングを誘導し、概

日時計振動体の変化を解析した。これらの結果から、概日時計の発生は、細胞ひとつひとつのレベルで自律的にプログラムされていることを明らかにした(Yagita et al, PNAS, 2010)。この結果を踏まえ、さらに、生体レベルでの概日時計の発生を理解するには、「細胞レベルの内在性プログラム」と「環境要因」の関係も含めた統合的研究が必須になる。我々は、概日時計の発生メカニズムを、マウス胚を用いた発生工学とイメージング技術を駆使して、統合的に理解することを目的としている。

平成23年度の共同研究では、概日時計をモニターできる蛍光シフターゼを用いた発光レポーターを導入したES細胞をマウス胚盤胞にインジェクションし、キメラマウスを作製した。このキメラマウス脳のスライス培養を行い、概日リズムの中核である視交叉上核を発光測定した。その結果、ES細胞由来の神経細胞に発光が観察され、しかも明瞭な概日リズムを示すことが確認できた。これによって、ES細胞を利用して生体内における概日時計の成立過程を解析する基盤を構築することに成功した。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等

<発表論文>

- 1: Chaves I, Nijman RM, Biernat MA, Bajek MI, de Silva AC, Saito S, Yagita K, Eker AP, van der Horst GT, The prtorous CPD photolyase rescues a cryptochrome-deficient mammalian circadian clock. *PLoS One*, 6, e23447, 2011

<学会発表>

- 1: 八木田和弘, 細胞分化と概日時計の発生, 第64回日本自律神経学会, 秋田, 2011
- 2: 八木田和弘, Circadian clock and cellular differentiation: Development, regeneration and cancer., 第34回日本分子生物学会年会ワークショップ, 横浜, 2011
- 3: Yagita K, Chronogenesis and cellular differentiation., Gordon Research Conferences: Chronobiology, Lucca, 2011 (Invited Speaker)