

「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」
平成 24 年度採択研究代表者

H27 年度 実績報告書

影山 龍一郎

京都大学ウイルス研究所
教授

細胞増殖と分化における遺伝子発現振動の動態解明と制御

§ 1. 研究実施体制

(1)「影山」グループ

- ① 研究代表者:影山 龍一郎 (京都大学ウイルス研究所、教授)
- ② 研究項目
 - ・遺伝子発現振動の計測、操作と数理モデルの検証

(2)「郡」グループ

- ① 主たる共同研究者:郡 宏 (お茶の水女子大学人間文化創成科学研究科、准教授)
- ② 研究項目
 - ・遺伝子発現振動の数理モデル作成・解析
 - ・相互作用する細胞集団の分化ダイナミクスの数理モデル作成・解析

§ 2. 研究実施の概要

今までの解析から、神経幹細胞では Hes1 が、未分節中胚葉では Hes7 がネガティブフィードバックによって発現振動を示すこと、さらに Hes1 や Hes7 によって発現が抑制される Notch リガンドである Delta-like1 (Dll1) の発現も振動することを明らかにしてきた。そこで、Dll1 の発現振動の意義を明らかにするために、Dll1 を定常発現するマウスの作製を試みた。郡グループの作成した数理モデルから、Dll1 の発現のタイミングが加速あるいは遅延すると Dll1 の発現振動が減弱、あるいは定常発現になることが予測された。そこで、イントロンを除去することで Dll1 遺伝子を短くしたもの (Dll1 type 1 変異)、および余分な配列を挿入することで Dll1 遺伝子を長くしたもの (Dll1 type 2 変異) の2種類の Dll1 遺伝子ノックインマウスを作製した。Dll1 の発現は、野生型に比べて Dll1 type 1 変異では加速し、Dll1 type 2 変異では遅延していた。未分節中胚葉は、野生型マウスでは Dll1, Hes7, Lfng の発現が振動していたが、Dll1 type 1 および type 2 変異マウスでは発現振動が減弱した。そのため、これらの変異マウスでは体節は癒合しており、体節由来の組織である椎骨や肋骨も癒合していた。また、神経幹細胞は、野生型マウスでは Dll1 や Hes1 の発現が振動していたが、Dll1 type 1 および type 2 変異マウスでは発現振動が減弱した。そのため、これらの変異マウスでは神経幹細胞の増殖能が低下し、脳は低形成になった。以上の結果から、Dll1 の発現が振動するには正しいタイミングが必須であること、Dll1 の発現振動は体節形成や脳形成にとって重要であることが明らかになった。さらに、数理モデルの予測の正しさが検証された。

また、光遺伝学的手法によっていろいろな周期の Hes1 や Dll1 の発現振動を外部刺激として導入したところ、内在する Hes1 の発現振動に引き込み同期が観察された。この結果に対して、情報エントロピーに基づいた Synchronization index (SI) と呼ばれる同期の指標に関する実験結果の再現を試みた。SI は定量的には一致しなかったが、光刺激に対する応答にゆらぎを入れることによって、位相分布 SI の定量的再現が改善された。