

令和元年5月8日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
平成30年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：奈良先端科学技術大学院大学

先端科学技術研究科 バイオサイエンス領域

職名：准教授

氏名：笹井 紀明

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：サイクリン関連因子による脳機能の制御と器官サイズ再生への応用
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 廣田 圭司 准教授
3. 研究期間：平成30年4月1日～平成31年3月31日
4. 研究経過及び研究成果：

申請者（笹井）は、貴研究所・廣田准教授と共同で以下の2件の研究を推進してきた。

(a) サイクリン依存性キナーゼの機能解析

サイクリン依存性キナーゼ（Cyclin Dependent Kinase）は、細胞増殖だけでなく器官の形態形成など、生物の発生や器官の機能維持に関与する重要なタンパク質キナーゼ群である。これまでに哺乳動物では20種類のCDKと5種類のCDK-like因子が単離されており、CDK1, 2, 4, 6は主に細胞増殖に、CDK5は器官の形態形成に重要な役割を果たすことが知られている。最近では抗がん剤の薬剤スクリーニングのターゲットとしても利用されている。一方で、一部のCDKについてはその機能がよく知られていない。

申請者（笹井）は、これまでに貴研究所と共同で、このうち脳に高い発現を認めるCDKについて、CRISPR/Cas9による遺伝子変異（ノックアウトマウス）を作成してその機能解析を進めて来た。平成29年度までに、このノックアウトマウスは生存可能であること、生後の体重増加

が遅延しすること、脳の一部で発現するホルモンの発現量が低下することを明らかにした。平成30年度は、ノックアウトマウス胚から抽出したMEF (mouse embryonic fibroblast) 細胞の解析を中心に行い、細胞レベルでの作用メカニズムを明らかにした。その結果、このCDKが複数の増殖シグナル因子の細胞内伝達経路に直接関与しており、その構成因子の安定化に関わっていることが明らかになった。特にその基質タンパク質を同定したほか、リン酸化がタンパク質の安定化に必須であることを明らかにした。

以上の結果から、このCDKは増殖因子のシグナル伝達経路の活性の安定化に必須の役割を果たしていることが明らかとなった。

(b) 底板領域に発現するWD-domain タンパク質の機能解析

上述のサイクリン依存性キナーゼと物理的に相互作用するタンパク質の1つとして、WDリピートドメインを持つタンパク質をコードする遺伝子が候補として挙がっており、研究所と共同でこの遺伝子の変異マウスをCRISPR/Cas9法により作製し、その発現と表現型を解析した。

平成30年度は、貴研究所におけるノックアウトラインの樹立と解析クローンの選定、さらに本学への導入を完了し、本学において再樹立して表現型の解析を行った。

この結果、このマウスは生存可能だが生後光刺激とともに徐々に眼疾患を発症し、生後8週程度で光受容細胞が死滅するするという予備データを得ている。また、生後3週齢程度で、炎症マーカーの発現が変異マウスの眼で上昇しており、網膜色素変性症の一次的な原因になっている可能性が高い。この解析により、光刺激を受けた光受容細胞の一次的な応答遺伝子を特定し、網膜色素変性症が起きる最も早い段階の捕捉を試みる。

眼疾患が起こり始める一次的な段階は現在のところほとんど明らかになっておらず、この遺伝子変異細胞の性質の追跡により、再生医学的治療法を含めた遺伝性眼疾患の根治療法の開発につながることを期待される。

これとは別に、胚発生期の神経管においてこの遺伝子がグリア細胞に発現することを捕捉しており、radial glia細胞の性質の解明も併せて行う。

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、特許取得等

Akiko Hori, Hitomi Watanabe, Rie Takeda, Ami Inoue, Minori Kadoya, Tomo Ichikawa, Manabu Shirai, Gen Kondoh, Keiji Hirota, Noriaki Sasai.

“Essential Roles of a Cyclin Dependent Kinase in the maintenance of the Shh signal”
準備中。

Minori Kadoya, Noriaki Sasai

“WDR17 is essential for regulation of the number of glial cells during development”.
準備中。

●研究所ホームページおよび年報への掲載について

本報告書を研究所ホームページおよび年報（2020年発行）に掲載いたしますので、特許申請その他の理由で公表不可の研究成果がありましたらご記入ください。

例）・特許申請中につき報告書の掲載不可（研究課題名の掲載は可）

研究所 HP（共同研究報告書）：<http://www.infront.kyoto-u.ac.jp/saisei-kyoten/hokokusho/>