

## 研究題目 マウス日内休眠を制御する神経回路の解析

### 研究組織

研究代表者：山口裕嗣（名古屋大学環境医学研究所）

共同研究者：竹本龍也（徳島大学先端酵素学研究所）

### 【1】研究の概要

#### [1-1]本研究の目的・概要

マウスは環境温度が低く食糧確保が困難な状況において、**daily torpor**（日内休眠）と呼ばれる仮死的な低体温・低代謝状態に自ら入ることで、消費エネルギーを節約して生き延びる。研究代表者のこれまでの先行研究から、脳視床下部の腹内側部に散在するガラニン陽性神経細胞が日内休眠開始前後に活性化することが明らかになっている。本研究では、細胞種特異的な化学遺伝学的手法および光遺伝学的手法を用いて、ガラニン陽性神経細胞の活動を人為的に操作することで、これらの神経細胞の活動が日内休眠の制御にどう寄与するか詳細に調べる。そのため、ガラニン遺伝子のプロモーターの下流でCreリコンビナーゼを発現するトランスジェニックマウスを作製する。

#### [1-2]研究の方法・経過

C57BL/6J マウスの尾部から採取したゲノムDNAを鋳型としてPCRを行い、ガラニン遺伝子の上流10kbpのDNA配列をクローニングした。次いで、このガラニン遺伝子の上流10kbpとCreリコンビナーゼを連結した後、PiggyBacトランスポゾンベクターに組み込んだ。次いで、作製したPiggyBacトランスポゾンベクターおよびPiggyBacトランスポゼースを発現するベクターをマウス受精卵にトランスフェクションすることにより、ガラニン遺伝子のプロモーターの下流でCreリコンビナーゼを発現するトランスジェニックマウスの作製を試みた。その結果、メス??匹、オス??匹のマウスを得た。次いで、これらのマウスから卵あるいは精子を採取し、それぞれCreリコンビナーゼ存在下で蛍光タンパク質---を発現するリポーターマウス

の精子あるいは卵と人工授精を行い、現在までに---匹のF1産仔を得ている。

今後はこれらのF1マウスから脳を採取し、免疫染色法などにより、レポーター遺伝子が脳のガラニン陽性神経細胞に特異的に発現しているか調べる予定である。

### 【2】研究成果

#### [2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

研究代表者のこれまでの先行研究から、脳視床下部の腹内側部に散在するガラニン陽性神経細胞が日内休眠開始前後に活性化することが明らかになっている。本共同研究で作製するトランスジェニックマウスとCreリコンビナーゼ依存的な神経活動操作技術を組み合わせることで、ガラニン陽性神経細胞の日内休眠制御への寄与を詳細に調べる事が可能になると考えられる。

#### [2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

ガラニン遺伝子が発現する神経細胞は、脳視床下部の腹内側部以外にも広く脳内に分布していることから、本共同利用で作製するトランスジェニックマウスは本研究以外の神経科学研究の進展にも寄与することが期待される。

### 【3】主な発表論文等

#### [3-1]論文発表

なし

#### [3-2]学会発表

なし

#### [3-3]成果資料等

なし

#### **【4】今後の課題等**

今後の課題、その他等

今後は得られた F1 マウスから脳を採取し、抗ガラニン抗体を用いた免疫染色を行い、レポーター遺伝子と共局在するか調べることにより、脳のガラニン陽性神経細胞に特異的 Cre リコンビナーゼが発現しているか明らかにする。