

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2018～2022

課題番号：18H05270

研究課題名（和文）哺乳類生体リズム振動体の設計

研究課題名（英文）Designing the mammalian biological oscillators

研究代表者

上田 泰己 (Ueda, Hiroki)

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・教授

研究者番号：20373277

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 267,300,000 円

研究成果の概要（和文）：我々は転写フィードバックループの核心を担う転写抑制因子複合体をリン酸化修飾するCKI / の活性が概日時計周期長制御に決定的な役割を果たすことを明らかにしてきた。本研究では、特にCKI / が逆反応である脱リン酸化反応も高効率に触媒することに着目し、脱リン酸化活性の制御機構解析を通じて、可逆的リン酸化サイクルが哺乳類概日時計の制御に重要であるか検証した。その結果、CKI / の脱リン酸化活性に影響を与えるリン酸化基質ペプチドの存在を試験管内生化学実験から見出し、また、その基質ペプチドが由来するタンパク質領域が概日時計の周期長制御に重要であることをマウス個体レベルの表現型解析から見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CKI / の脱リン酸化反応効率に影響を与えるリン酸化基質ペプチドが個体レベルでの行動リズム制御にも重要であることが示され、CKI / の脱リン酸化活性が機能的な意義を有することが示唆された。哺乳類概日時計の発振を担うかもしれない、可逆的リン酸化サイクルの同定に向けた重要な一歩である。さらに、可逆的リン酸化数理モデルに由来するカオス構造の発見や、後天的な概日時計因子の発現によるマウス行動リズムの再構成系など、哺乳類概日時計の動作モデルを、旧来支配的であった転写翻訳ネットワークに基づく理解から、可逆的リン酸化モデルに基づく理解と制御に当該分野をシフトさせる基盤的な知見となると期待される。

研究成果の概要（英文）：Our group has shown that the activity of Casein kinase I (CKI) / , which phosphorylates the circadian core transcriptional repressor complex, plays a critical role in the determination of circadian period length. In this project, we focused on the fact that CKI / catalyzes not only phosphorylation but also a reverse dephosphorylation reaction with high efficiency, and asked whether the reversible phosphorylation cycle is important for the regulation of the mammalian circadian clock through analysis of the regulatory mechanism of CKI / dephosphorylation activity. We found the existence of phosphorylated substrate peptides that affect the dephosphorylation activity of CKI / through in vitro biochemical experiments. We further found that the protein region from which the substrate peptides are derived is important for the regulation of the circadian period length of the circadian clock through animal phenotypes.

研究分野：時間生物学、システム生物学

キーワード：可逆的リン酸化 振動子 概日時計 CKI 変異マウス作製

1. 研究開始当初の背景

生体リズムは、細胞ひいては個体全体における自発性・自律性の基盤として生理機能制御の根幹を成す。なかでも概日時計は、細胞自律的な振動体によって駆動され、その周期長が環境の温度変化によらずほぼ一定に保たれる特性を有する。これは温度補償性とよばれ、概日振動体はその他の生体リズム現象とは一線を画する高い頑強性を有することを示している。我々哺乳類を含め真核生物においては、転写翻訳フィードバックループモデルが概日時計振動体の本体と提唱されている。一方、これらの生物種では、再構成実験を通じた振動体構成要素の必要十分性の検証が成されておらず、転写フィードバックループが概日時計振動体の全てであるか否かはなお不明であると言える。特に、周期長の温度補償性に着目すると、タンパク質の転写翻訳や分解過程はそれぞれ一般的に温度に依存するため、転写フィードバックを本体とした概日振動体モデルは矛盾を内包しうる。さらに、我々は概日時計転写因子群の発現量は一細胞あたり数千分子程度の低いレベルであること (Narumi et al. PNAS 2016)、重要な転写因子の生成分解の速度変化は、周期長制御を完全には説明できないこと (Ode et al. Mol. Cell 2017) を提示してきた。これらの状況は、哺乳類概日時計振動体の実体は、これまで広く信じられてきたような転写制御ネットワークで全て説明することは難しいことを示唆している。

我々は転写フィードバックループの核心を担う転写抑制因子複合体 (PER-CRY) をリン酸化修飾する Casein kinase I (CKI) δ/ϵ の活性が概日時計周期長制御に決定的な役割を果たすこと、さらに、そのリン酸化活性は PER 由来の基質に対しては温度にほとんど依存しないことを明らかにしてきた (Isojima et al. PNAS 2009)。温度に依存しないリン酸化反応を成立させる機構を原子レベルで解析し、CKI δ/ϵ は反応産物である ADP およびリン酸化基質と高温下で強固に結合することを明らかにした (Shinohara et al. Mol. Cell 2017)。これらの背景のもと、本課題では CKI δ/ϵ を中心とした可逆的リン酸化修飾系の設計的・構成的アプローチを通して、「生体リズム振動体は、可逆的タンパク質リン酸化によって駆動されるか」を問う (図 1)。

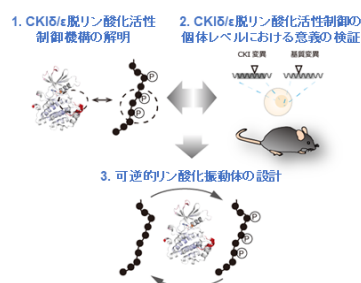


図1: 温度補償性の理解から振動体の設計原理理解へ

2. 研究の目的

(1) CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性制御機構の解明

CKI δ/ϵ は ADP 依存的にリン酸化基質と結合し脱リン酸化活性を生じる (Shinohara et al. Mol. Cell 2017)。しかしながら、CKI δ/ϵ が併存するリン酸化活性と脱リン酸化活性を単純に発揮するのみでは振動体を形成することできない。振動体を形成するためには、CKI δ/ϵ および基質タンパク質が、リン酸化活性優位の状態と脱リン酸化活性優位の状態を切り替える必要がある。そこで、CKI δ/ϵ および基質タンパク質が CKI δ/ϵ に内包されるリン酸化・脱リン酸化活性の制御要因を探索する。

(2) CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性制御機構の個体レベルにおける意義の検証

CKI δ/ϵ の基質依存的活性スイッチの意義を個体レベルの行動リズム制御において検証する。これまでに開発してきた ES マウス法 (Ode et al. Mol. Cell 2017) を応用し、CKI δ/ϵ および基質タンパク質からなる複合体のリン酸化・脱リン酸化制御残基に変異を導入したマウスの行動リズムを解析する。なお、ES マウス法は、個体のほぼ全ての細胞が (遺伝子改変処理された) ES 細胞に由来する "100%キメラ" マウスを交配なく作出する手法である。

(3) CKI δ/ϵ 等のキナーゼを用いた可逆的リン酸化振動体の設計

CKI δ/ϵ および基質タンパク質複合体やそれ由来するペプチドを用いて、自律的な振動体を設計できるか検証する。この検証は、生化学的な再構成実験と、酵素反応速度論をベースとした数理シミュレーションを組み合わせるほか、CKI 以外のキナーゼによるリン酸化振動体の構成可能性についても検証する。

3. 研究の方法

(1) CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性制御機構の解明

CKI δ/ϵ および基質タンパク質複合体のリン酸化・脱リン酸化活性制御の存在、および、それを惹起する分子機構の探索を行う。特に CKI δ/ϵ のリン酸化・脱リン酸化活性が基質タンパク質のリン酸化状態に応じて、フィードバック的に制御される可能性に着目する。これらタンパク質のリン酸化基質となる領域についてリン酸化ペプチド基質ライブラリーを作製し、CKI δ/ϵ のリン酸化活性および脱リン酸化活性をキャピラリー電気泳動法を用いたハイスループットアッセイおよび質量分析計により定量する。

(2) CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性制御機構の個体レベルにおける意義の検証

CKI δ/ϵ および基質タンパク質複合体の(脱)リン酸化活性制御の意義を個体レベルの行動リズム制御において検証するため、活性制御責任領域に変異を導入した PER, CRY が発現する遺伝子改変マウスを作出し、これまでに開発した呼吸波形を用いた睡眠覚醒測定手法 (SSS 法: Sunagawa et al., Cell Rep. 2016) を応用して行動リズムを解析する。

(3) CKI δ/ϵ 等のキナーゼを用いた可逆的リン酸化振動体の設計

基質のリン酸化状態に応じた酵素活性制御のパラメーターを想定した数理シミュレーションを並行して行い、自律振動メカニズムの理論的な予測を行う。同時に、精製タンパク質/ペプチドを用いた試験管内再構成アプローチから、CKI δ/ϵ -基質タンパク質複合体または、それに由来するペプチド基質を用いて、振動体としての振る舞いやその一部の再構成を目指す。さらに、可逆的リン酸化サイクルを CKI δ/ϵ 以外の他のリン酸化酵素で実現可能か探索する。

4. 研究成果

(1) CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性制御機構の解明

CKI δ/ϵ の基質となるタンパク質領域に着目し、既知の CKI 基質タンパク質の全リン酸化候補サイト (Ser/Thr) をカバーするリン酸化ペプチドライブラリーを構築した。合成したペプチドと CKI δ/ϵ 、酵素活性を測定するために蛍光ラベルを与えた酵素活性測定用の基質を混合し、モビリティシフトアッセイによって酵素活性を測定する実験系を構築した。

整備したペプチドライブラリーを用いて、CKI δ/ϵ の活性をリン酸化状態依存的に制御する基質を探索した。その結果、PER2 タンパク質、および CRY1 タンパク質に由来するリン酸化ペプチドから、CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性を促進するリン酸化ペプチドを見出した (図2)。この包括的な測定からは、脱リン酸化活性を制御するペプチドと制御しないペプチドは、それらが由来するタンパク質上にランダムに存在するのではなく、ある程度集積して存在することが示唆された。すなわち、PER2 や CRY1 には、(おそらくは自身のリン酸化状態に依存して) CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性を制御する機能ドメインがあることが示唆された。

特に CRY1 タンパク質配列由来のリン酸化ペプチドでは、CRY1 の N/C-末端領域に加えて、複数のループ領域近傍に由来するペプチド配列から、CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性制御リン酸化ペプチドが見出された。CRY1 のこれらの領域はそれぞれリン酸化制御を受けることが知られており、我々が過去に過去に概日時計機能に極めて重要であることを個体レベル・細胞レベルの双方で示しているループ領域であった (Ode et al. Mol. Cell 2017)。

さらに、PER2 タンパク質配列由来の CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性制御リン酸化ペプチドは、CKI δ/ϵ によるリン酸化修飾を受け、概日時計制御に重要な役割を果たすことが知られている領域から見いだされた他、機能未知の複数のリン酸化サイトが得られた。すなわち、概日時計制御に関わる CRY1 や PER2 のリン酸化サイトの一部は、生化学的な CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性制御活性をも有することが示唆された。

一方、脱リン酸化活性制御に関わる CKI δ/ϵ 側の責任残基の探索からは、CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性 (およびリン酸化ペプチド基質によるその促進効果) がキャンセルされる変異 CKI δ を得ることができた。このことから、CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性や、リン酸化ペプチドによるその促進効果がアーティファクトでないことが支持された。

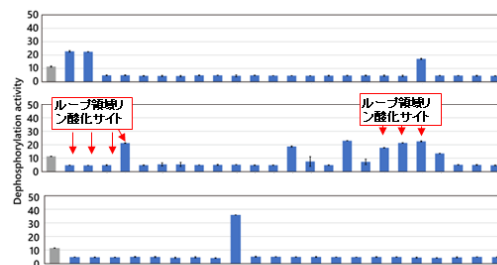


図2: CRY1に由来するリン酸化基質ペプチドによるCKI脱リン酸化活性の促進効果

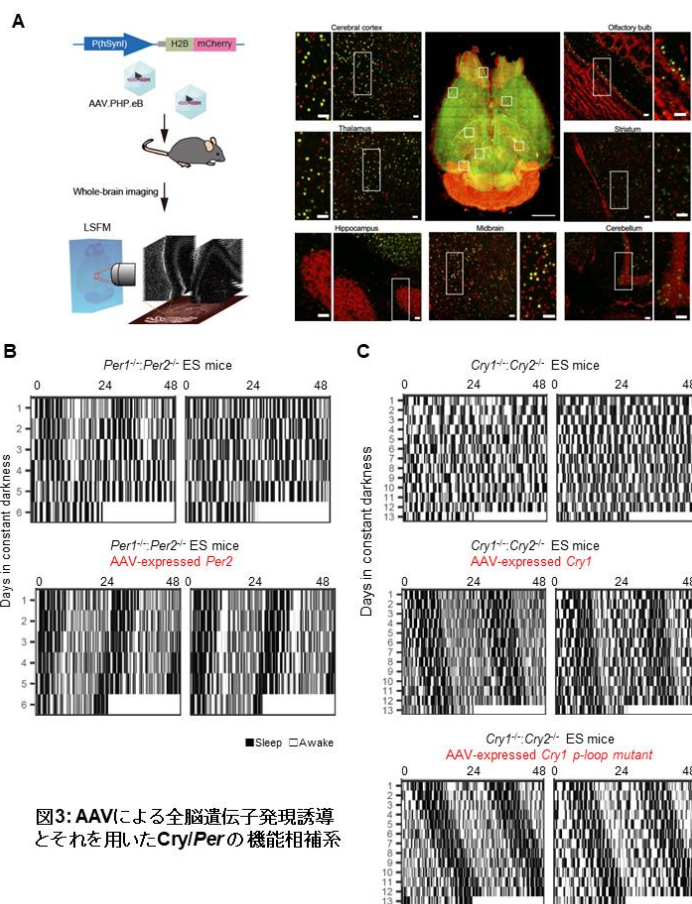


図3: AAVによる全脳遺伝子発現誘導とそれを用いたCry/Perの機能相補系

2. CKI δ/ϵ 脱リン酸化活性制御機構の個体レベルにおける意義の検証

CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性制御に関与する基質タンパク質領域が明らかとなり、これらの領域の個体レベルでの意義を検証するため、遺伝子ノックアウトおよび遺伝子発現誘導法の整備をおこなった。特に本研究では、ノックアウト ES マウスに対して、AAV ウイルスベクターを用いて遺伝子を導入し、ノックアウト遺伝子の機能相補を行う実験系の開発を行った。まず、脳移行性の高い AAV セロタイプである AAV.PHP.eB を用いて、これを高力価で取得する手法を整備した。調製したウイルスは、全脳への遺伝子発現を誘導することを透明化組織観察技術 CUBIC を用いて確認した (Tone et al. PLOS Biol., 2022) (図 3A)。次に、本計画の中心的興味である CKI の基質である CRY-PER について、個体レベルの概日行動リズムを失う *Cry1^{-/-};Cry2^{-/-}* ノックアウト ES マウスおよび *Per1^{-/-};Per2^{-/-}* ノックアウト ES マウスに対して、*Cry1* および *Per2* 遺伝子を AAV ベクターを用いて導入した。その結果、遺伝子導入されたマウスで明瞭な行動リズムの出現 (機能相補) が可能となった (図 3B, C)。また、*Cry1* については、CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性制御能が示されたループ領域の変異体について、個体レベルの概日時計発振に影響を与えることを、AAV による機能相補系を用いて確かめることに成功した。

3. CKI δ/ϵ 等のキナーゼを用いた可逆的リン酸化振動体の設計

CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性を取り込む形で、多重 (2 箇所) リン酸化基質と可逆的リン酸化酵素を用いて自律振動が惹起される際の数理モデル化を行い、基質と酵素の相互作用様式によっては自律発振が生じる例があることを見出した。このモデルについて、10 億通り以上のランダムパラメーターサーチと得られた発振パターンパラメータの解析を行った結果、1) 基質がその修飾状態に応じて、直下のリン酸化/脱リン酸化反応を抑制もしくは促進することが重要であること (例えば、リン酸化状態 1 \rightarrow 2 \rightarrow 3 と変遷する場合、リン酸化状態 1 の基質は 2 \rightarrow 3 の反応ではなく、1 \rightarrow 2 の反応を制御することが重要)、2) この促進/抑制に基質濃度に対する極端な cooperatively を仮定する必要は無いこと、が明らかになった。これらの特徴は、1. で見いだされた CKI δ/ϵ の脱リン酸化活性制御と今の所矛盾はない。リン酸化振動子の再構成へ向けて数理的裏付けに見通しを得ることができ、CKI δ/ϵ を中心とした可逆的リン酸化サイクルの実験的再構成への挑戦を継続している。

また、予期しない結果として、本研究で注目している CKI-PER-CRY のように、特定の酵素によって駆動される可逆的リン酸化サイクルが複数の基質に対して生じる状況を考えるために、複数 (2 種類) の多重 (2 箇所) リン酸化基質を仮定した数理モデル解析を行う過程で、このような条件では、リミットサイクル型の自律振動のみならず、カオスの振る舞いも発生する、ということを見出した (Yamaguchi et al. iScience, 2021) (図 4)。ミカエリスメンテン型の酵素反応速度論で記述される可逆的リン酸化のみから形成される数理モデルを用いて、我々は過去に自律振動の存在と (分子の自由拡散を想定した場合) チューリングパターンの発生可能性を示しており (Jolley et al., Cell Rep. 2012; Sugai et al., Cell Rep. 2017)、他グループは双安定性と移動波の発生可能性を示してきた (Markevich et al, J. Cell Biol. 2004; Markevich et al, Mol. Sys. Biol 2006)。ここに今回のカオス的な振る舞いを示した本成果が加わることで、力学系によって記述される振る舞いを網羅したことになる。つまり、これらの結果は、端的には可逆的リン酸化のみを用いて、およそあらゆる種類のダイナミクスが生じうることを示しており、可逆的リン酸化数理モデルの集大成と言える成果を提示することができた。

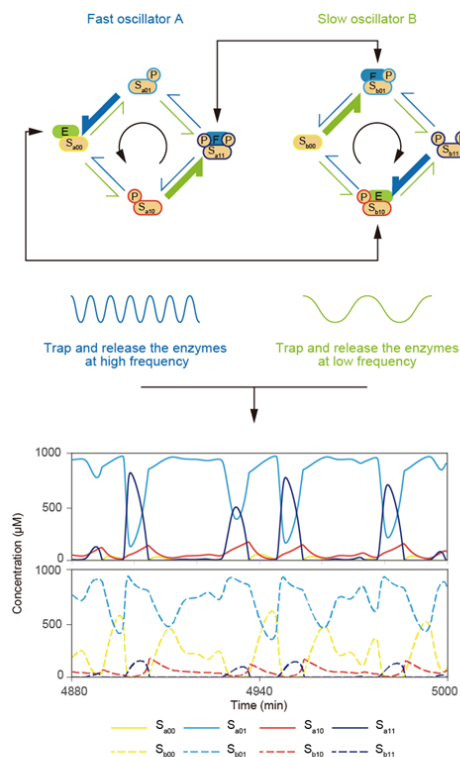


図4: 複数の多重リン酸化基質の可逆的リン酸化サイクルから生じるカオス的基質ダイナミクスの発見

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計38件（うち査読付論文 29件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Matsumoto Katsuhiko, Mitani Tomoki T., Horiguchi Shuhei A., Kaneshiro Junichi, Murakami Tatsuya C., Mano Tomoyuki, Fujishima Hiroshi, Konno Ayumu, Watanabe Tomonobu M., Hirai Hirokazu, Ueda Hiroki R.	4. 巻 14
2. 論文標題 Advanced CUBIC tissue clearing for whole-organ cell profiling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Protocols	6. 最初と最後の頁 3506 ~ 3537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41596-019-0240-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wang Yuyang, Minami Yoichi, Ode Koji L., Ueda Hiroki R.	4. 巻 16
2. 論文標題 The role of calcium and CaMKII in sleep	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Systems Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1059421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnsys.2022.1059421	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tone Daisuke, Ode Koji L., Zhang Qianhui, et al.	4. 巻 20
2. 論文標題 Distinct phosphorylation states of mammalian CaMKII control the induction and maintenance of sleep	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS Biology	6. 最初と最後の頁 e3001813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pbio.3001813	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 大出晃士, Zhiqing Wen, 上田泰己	4. 巻 40
2. 論文標題 睡眠覚醒制御のタンパク質リン酸化仮説	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 1696 ~ 1701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18958/7031-00001-0000171-00	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Richardson Douglas S., Guan Webster, Matsumoto Katsuhiko, Pan Chenchen, Chung Kwanghun, Ert?rk Ali, Ueda Hiroki R., Lichtman Jeff W.	4. 巻 1
2. 論文標題 Tissue clearing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Reviews Methods Primers	6. 最初と最後の頁 84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s43586-021-00080-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ode Koji L., Shi Shoi, Katori Machiko, Mitsui Kentaro, Takanashi Shin, Oguchi Ryo, Aoki Daisuke, Ueda Hiroki R.	4. 巻 25
2. 論文標題 A jerk-based algorithm ACCEL for the accurate classification of sleep?wake states from arm acceleration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103727 ~ 103727
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103727	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Tetsuya, Shi Shoi, Ueda Hiroki R.	4. 巻 25
2. 論文標題 A design principle of spindle oscillations in mammalian sleep	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103873 ~ 103873
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.103873	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Katori Machiko, Shi Shoi, Ode Koji L., Tomita Yasuhiro, Ueda Hiroki R.	4. 巻 119
2. 論文標題 The 103,200-arm acceleration dataset in the UK Biobank revealed a landscape of human sleep phenotypes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2116729119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2116729119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Minami Yoichi, Yuan Yufei, Ueda Hiroki R.	4. 巻 37
2. 論文標題 High-throughput Genetically Modified Animal Experiments Achieved by Next-generation Mammalian Genetics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Rhythms	6. 最初と最後の頁 135 ~ 151
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/07487304221075002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minami Yoichi, Yuan Yufei, Ueda Hiroki R.	4. 巻 13
2. 論文標題 Towards organism-level systems biology by next-generation genetics and whole-organ cell profiling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysical Reviews	6. 最初と最後の頁 1113 ~ 1126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12551-021-00859-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大出 晃士	4. 巻 52
2. 論文標題 タンパク質リン酸化によるノンレム睡眠制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 529-532
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大出 晃士、上田 泰己	4. 巻 34
2. 論文標題 哺乳類におけるカルシウム依存的な睡眠制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dementia Japan	6. 最初と最後の頁 154 ~ 162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Susaki Etsuo A., (24名略)、Ueda Hiroki R.	4. 巻 11
2. 論文標題 Versatile whole-organ/body staining and imaging based on electrolyte-gel properties of biological tissues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-15906-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Hiroki R., Dodt Hans-Ulrich, Osten Pavel, Economo Michael N., Chandrashekar Jayaram, Keller Philipp J.	4. 巻 106
2. 論文標題 Whole-Brain Profiling of Cells and Circuits in Mammals by Tissue Clearing and Light-Sheet Microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 369 ~ 387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2020.03.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ode Koji L., Ueda Hiroki R.	4. 巻 11
2. 論文標題 Phosphorylation Hypothesis of Sleep	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Psychology	6. 最初と最後の頁 575328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpsyg.2020.575328	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mano Tomoyuki, Murata Ken, Kon Kazuhiro, Shimizu Chika, Ono Hiroaki, Shi Shoi, Yamada Rikuhiro G., Miyamichi Kazunari, Susaki Etsuo A., Touhara Kazushige, Ueda Hiroki R.	4. 巻 1
2. 論文標題 CUBIC-Cloud provides an integrative computational framework toward community-driven whole-mouse-brain mapping	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports Methods	6. 最初と最後の頁 100038 ~ 100038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crmeth.2021.100038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Hiroto Q., Ode Koji L., Ueda Hiroki R.	4. 巻 24
2. 論文標題 A design principle for posttranslational chaotic oscillators	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101946 ~ 101946
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101946	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Rikuhiko G., Ueda Hiroki R.	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular Mechanisms of REM Sleep	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2019.01402	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Hiroki R., Erturk Ali, Chung Kwanghun, Gradinaru Viviana, Ch?dotal Alain, Tomancak Pavel, Keller Philipp J.	4. 巻 21
2. 論文標題 Tissue clearing and its applications in neuroscience	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Reviews Neuroscience	6. 最初と最後の頁 61 ~ 79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41583-019-0250-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 洲崎 悦生	4. 巻 87
2. 論文標題 CUBICを用いた組織透明化と3次元観察	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 和光純薬時報	6. 最初と最後の頁 16 ~ 19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 洲崎 悦生	4. 巻 71
2. 論文標題 増大特集 人工知能と神経科学 病理画像の自動診断技術と3次元病理学の発展	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 723 ~ 732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416201344	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 洲崎 悦生	4. 巻 45
2. 論文標題 透明イメージングの臨床応用 組織透明化技術と細胞ラベリング技術	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 月刊メディカル・サイエンス・ダイジェスト	6. 最初と最後の頁 390 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大出 晃士、上田 泰己	4. 巻 37
2. 論文標題 概日時計と睡眠	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床神経科学	6. 最初と最後の頁 770 ~ 773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tainaka Kazuki, Murakami Tatsuya C., Susaki Etsuo A., Shimizu Chika, (20名省略), Ueda Hiroki R.	4. 巻 24
2. 論文標題 Chemical Landscape for Tissue Clearing Based on Hydrophilic Reagents	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2196 ~ 2210.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.07.056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ukai Hideki, Sumiyama Kenta, Ueda Hiroki R	4. 巻 58
2. 論文標題 Next-generation human genetics for organism-level systems biology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Current Opinion in Biotechnology	6. 最初と最後の頁 137 ~ 145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.copbio.2019.03.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Millius Arthur, Ode Koji L., Ueda Hiroki R.	4. 巻 8
2. 論文標題 A period without PER: understanding 24-hour rhythms without classic transcription and translation feedback loops	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 F1000Research	6. 最初と最後の頁 499 ~ 499
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12688/f1000research.18158.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mano Tomoyuki, Albanese Alexandre, Dodt Hans-Ulrich, Erturk Ali, Gradinaru Viviana, Treweek Jennifer B., Miyawaki Atsushi, Chung Kwanghun, Ueda Hiroki R.	4. 巻 38
2. 論文標題 Whole-Brain Analysis of Cells and Circuits by Tissue Clearing and Light-Sheet Microscopy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 9330 ~ 9337
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1677-18.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 真野智之, 上田泰己	4. 巻 36
2. 論文標題 CUBICによる全脳全細胞解析最前線	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 実験医学増刊	6. 最初と最後の頁 150-157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大出 晃士, 上田 泰己	4. 巻 37
2. 論文標題 哺乳類概日時計の周期長決定要因を探る	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 379-385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計113件 (うち招待講演 104件 / うち国際学会 48件)

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Whole-body/organ imaging with single-cell resolution by CUBIC
3. 学会等名 2nd optical clearing and expansion symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Towards Systems Biology of Human Sleep/Wake Cycles: Phosphorylation Hypothesis of Sleep
3. 学会等名 KSBB Circadian Rhythm and Human Health" Session (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Realization of the Phosphorylation Hypothesis of Sleep by CaMKII
3. 学会等名 SLEEP EUROPE 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Systems biology of mammalian sleep/wake cycles: phosphorylation hypothesis of sleep
3. 学会等名 SLEEP EUROPE 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Phosphorylation hypothesis of sleep
3. 学会等名 EBRS 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田 泰己
2. 発表標題 睡眠医学の現在と未来～睡眠健診の実現に向けて～
3. 学会等名 日本睡眠学会第47回定期学術集会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles ~Phosphorylation Hypothesis of Sleep~
3. 学会等名 Biology Seminar at New York University Abu Dhabi (NYUAD) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Systems biology of mammalian sleep/wake cycles - phosphorylation hypothesis of sleep
3. 学会等名 KSBNS 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution by CUBIC
3. 学会等名 International Tissue Imaging Symposium Online (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles: Phosphorylation Hypothesis of Sleep
3. 学会等名 5th Asian Forum on Chronobiology & 2021 ChronoSchool (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution by CUBIC
3. 学会等名 Insern Workshop 264 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 体内時計と睡眠の分子生物学
3. 学会等名 第93回日本生化学大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Phosphorylation hypothesis of sleep
3. 学会等名 ESRS2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 WHOLE-BODY/ORGAN IMAGING WITH SINGLE-CELL RESOLUTION BY CUBIC
3. 学会等名 SFM2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-Brain Profiling of Cells and Circuits by a Tissue-Clearing Method CUBIC.
3. 学会等名 INA2020（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles: The Roles of Muscarinic Acetylcholine Receptor in NREM and REM Sleep.
3. 学会等名 CINP2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution by CUBIC.
3. 学会等名 FOM2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 CUBIC-HistoVIsion: a versatile three-dimensional whole-organ/body staining and imaging based on electrolyte-gel properties of biological tissue (Keynote talk)?
3. 学会等名 Volume Imaging Symposium (VIS) 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution by CUBIC
3. 学会等名 2020 SYNAPSE (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles Toward Molecular definition of NREM and REM sleeps
3. 学会等名 CIBR Beijing Conference 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Organism-level Systems Biology by Next-generation Genetics and Whole-organ Cell Profiling
3. 学会等名 The 5th Conference of the World Congress for Chronobiology (WCC) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-Brain Cell Profiling Towards Organism-Level Synthetic Biology
3. 学会等名 Gordon Research Conference (Synthetic Biology) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-Brain Cell Profiling Towards Organism-Level Synthetic Biology
3. 学会等名 Exploring Frontiers (Paul Allen Institute) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles ~Phosphorylation Hypothesis of Sleep~
3. 学会等名 EBRS2019(Europian Biologocal Rhyhms conferrence) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Organism-level Systems Biology by Next-generation Genetics and Whole-organ Cell Profiling
3. 学会等名 10th IBRO World Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Towards Organism-level Systems Biology by Next-generation Genetics and Whole-organ Cell Profiling
3. 学会等名 The 2019 Conference of The Genetics Society of Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Towards organism-level systems biology by next-generation genetics and whole-organ cell profiling
3. 学会等名 16th International Symposium on Cholinergic Mechanisms and 2nd MISRAHI SYMPOSIUM ON NEUROBIOLOGY (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 A versatile three-dimensional whole-organ/body staining and imaging with single-cell resolution based on electrolyte-gel properties of biological tissue
3. 学会等名 The Light Sheet Microscopy Conference 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 史蕭逸
2. 発表標題 Newly-identified sleep genes: The role of calcium dependent hyperpolarization pathway in sleep regulation
3. 学会等名 World Sleep 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 A versatile protocol for three-dimensional whole-organ/body staining and imaging with single-cell resolution based on electrolyte-gel properties of biological tissue
3. 学会等名 Society for Neuroscience conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 史蕭逸
2. 発表標題 Ca ²⁺ -dependent/-independent hyperpolarization pathway plays a role in sleep regulation -the first application of cubic in sleep research-
3. 学会等名 Society for Neuroscience conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Towards Organism-level Systems Biology
3. 学会等名 The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution Toward Organism-level Systems Biology
3. 学会等名 7th Conference on Systems Biology of Mammalian Cells SBMC2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution: Toward Organism-level Systems Biology
3. 学会等名 Asian Forum on Chronobiology 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Organism-level Systems Biology by Whole-organ Cell Profiling and Next-generation Mammalian Genetics
3. 学会等名 Biomedical research Council's Distinguished Visitor Program (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-body/organ Imaging with Single-cell Resolution Toward Organism-level Systems Biology
3. 学会等名 LSFM2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Whole-body/organ imaging with single-cell resolution toward organism-level systems biology
3. 学会等名 KBRI Symposium 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 " Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles -Toward Molecular definition of Non-REM and REM sleeps- "
3. 学会等名 The 3rd Japan-US Science Forum in Boston (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Towardssystem-level understanding of biological timing
3. 学会等名 IMB Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles Toward Molecular definition of NREM and REM sleeps
3. 学会等名 The 3rd cBio (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles Toward Molecular definition of NREM and REM sleeps
3. 学会等名 ASCS2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles Toward Molecular definition of NREM and REM sleep
3. 学会等名 International Symposium on Biological RhythmsThe symposium on "Biological Timing and Health Issues in the 21st Century", (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Towards Organism-Level Systems Biology by Next-Generation Genetics and Whole-Organ Cell Profiling
3. 学会等名 HKIAS Symposium on Advances in Neuroscience (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田泰己
2. 発表標題 Systems Biology of Mammalian Sleep/Wake Cycles Toward Molecular definition of NREM and REM sleeps
3. 学会等名 The 17th Annual Meeting of Taiwan Society of Sleep Medicine (TSSM) in conjunction with the 2nd Conference of Asian Narcolepsy & Hypersomnolence Society (ANHS) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 Whole-organ/body analysis of multicellular systems by CUBIC platform
3. 学会等名 Single cell biology meets diagnostics: 12th International workshop on approaches to single cell analysis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 CUBIC-HistoVIsion: a pipeline for three-dimensional whole-brain/organ staining and imaging with single-cell resolution
3. 学会等名 ECRO 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 Tissue clearing and 3D imaging: basics and applications
3. 学会等名 EMBO practical course on light sheet microscopy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 洲崎悦生
2. 発表標題 CUBIC-HistoVision: a pipeline for 3D whole-organ/body staining and imaging with single-cell resolution based on chemical properties of tissue gel
3. 学会等名 SBIC seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuhiro Kon, Tomoyuki Mano, Etsuo A. Susaki, and Hiroki R. Ueda
2. 発表標題 Comprehensive Analysis of Neural Activity in Lipopolysaccharide-induced Sleep by Whole-brain Imaging
3. 学会等名 Neuroimmune Communication in Health and Disease (Gordon Research Conference) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	大出 晃士 (Ode Koji) (40612122)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・講師 (12601)	
研究分担者	清成 寛 (Kiyonari Hiroshi) (40721048)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー (82401)	
研究分担者	山田 陸裕 (Yamada Rikuhiro) (90469924)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・上級研究員 (82401)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	史 蕭逸 (Shi Shoi) (40803656)	東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教 (12601)	
研究分担者	洲崎 悦生 (Susaki Etsuo) (10444803)	東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・准教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関