

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03416

研究課題名(和文)非選択的陽イオンチャンネルNALCNによるレム睡眠制御の分子基盤の解明

研究課題名(英文)A biological study of the neural and molecular basis for REM sleep regulation by NALCN

研究代表者

藤山 知之 (Fujiyama, Tomoyuki)

筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・助教

研究者番号：00635089

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、NALCNチャンネル複合体によるレム睡眠制御の分子メカニズムを解明するため、*in vivo*でのプロテオーム解析を実施した。複合体因子として知られるNalcn, Unc80, Nalf1の3遺伝子に対して、ゲノム編集によりタグ付き変異型ピオチン化酵素を挿入した遺伝子改変マウスを作成した。これらの生体マウス脳サンプルよりタグ免疫沈降もしくはピオチン標識によってタンパク質を抽出し、LC-MS/MS質量分析を行った。タグ免疫沈降により特異的に標的分子が分離できた。NALCNチャンネル複合体の機能に関わる細胞内シグナル伝達を担う相互作用分子を網羅的に探索する実験系を確立することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大幅にレム睡眠量が減少する遺伝性変異マウスDreamless家系の原因遺伝子Nalcnは、これまで睡眠覚醒制御への関与が報告されていない、睡眠研究領域において新規の遺伝子であった。本研究を継続することにより、NALCNチャンネルを対象とした複合的プロテオミクス解析を行い、これまで未知であったレム睡眠制御細胞でのNALCNチャンネル開閉・局在制御機構を担う細胞内シグナル伝達系や、レム睡眠の維持・終止の制御を担う分子神経メカニズムを明らかにできる可能性がある。睡眠障害は記憶・判断力低下や健康全般に影響を及ぼす。レム睡眠制御基盤の理解を深めることで、新しい治療法の開発へ道を拓くことを目指す。

研究成果の概要(英文)：Our research team conducted *in vivo* proteomic analysis to elucidate the molecular mechanisms of REM sleep regulation by the NALCN channel complex. We created genetically modified mice by using CRISPR to insert HA-strepIII-tagged BirA into the N-term of three genes known as the complex factors: Nalcn, Unc80, and Nalf1. Protein extraction was performed from live mouse brain samples using either HA-strepIII-tag immunoprecipitation (IP) or *in vivo* biotin labeling, followed by LC-MS/MS mass analysis. The tag IP allowed for specific separation of target molecules. We established an experimental system to comprehensively explore the interacting molecules involved in the intracellular signaling responsible for the function of the NALCN channel complex.

研究分野：睡眠医科学

キーワード：レム睡眠 マウス NALCN UNC80 NALF1 *in vivo* BioID 質量分析 プロテオミクス

1. 研究開始当初の背景

レム睡眠は全ての哺乳類および鳥類に認められる行動であるが、レム睡眠の恒常性を適切に維持するための神経細胞基盤や、レム睡眠時における脳活動の生理的役割は未だによくわかっていない。申請者らは、遺伝性にレム睡眠異常を呈する新規マウス家系 *Dreamless* を樹立、原因となる顕性変異を非選択的陽イオンチャネルをコードする *Nalcn* 遺伝子に見出した (Funato, Fujiyama et al., *Nature*, 2016, PMID: 27806374)。*Dreamless* 変異マウス

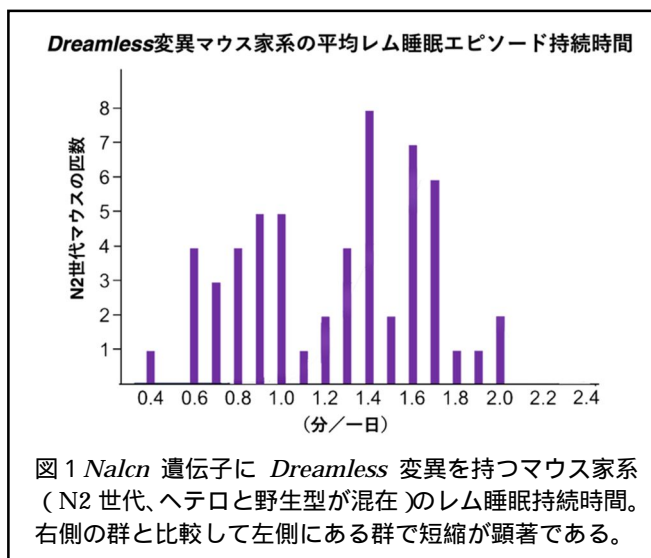


図1 *Nalcn* 遺伝子に *Dreamless* 変異を持つマウス家系 (N2 世代、ヘテロと野生型が混在) のレム睡眠持続時間。右側の群と比較して左側にある群で短縮が顕著である。

ス是一日あたりのレム睡眠総時間が非常に短く、レム睡眠とノンレム睡眠が短い間隔で交代するのが特徴であり、レム睡眠エピソード持続時間の顕著な短縮が認められる (図1)。レム睡眠の終了に関与する細胞を含む深部中脳核において *Dreamless* 変異が神経細胞の電気生理学的な性質に及ぼす影響を調べた結果、イオン透過性の増大に伴う発火頻度の上昇が確認され、NALCN がレム睡眠を制御する神経回路において機能している可能性が示唆された。しかし、*Dreamless* 家系におけるレム睡眠異常発症の細胞内分子メカニズムについては全くの不明であった。

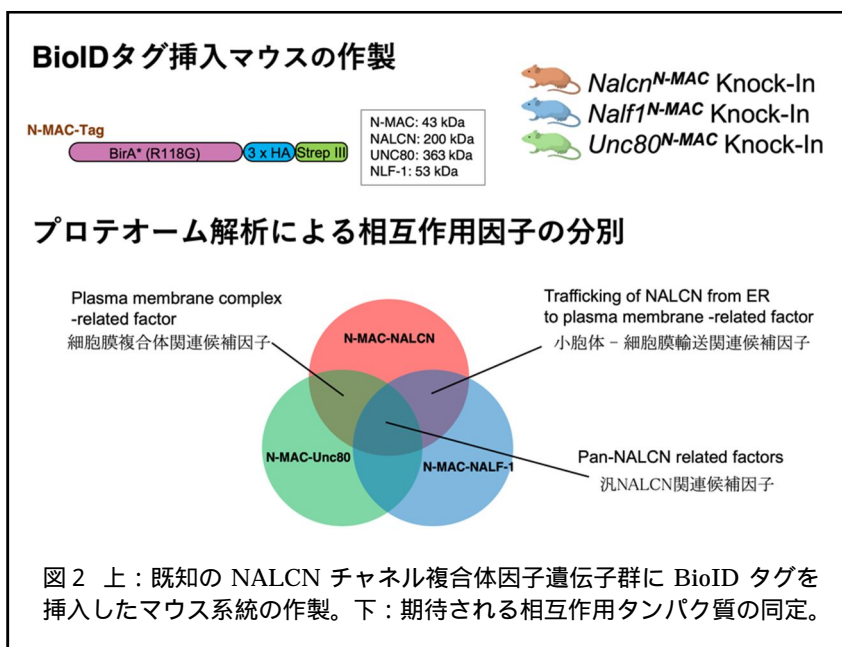
2. 研究の目的

レム睡眠の作動系神経回路として、脳幹、中脳灰白質、大脳基底核、視床下部などの領域に存在する神経細胞群が機能することが知られている。しかしながら、これらの神経回路において NALCN タンパク質が細胞膜表面のどこに局在し機能しているのか、レム睡眠前後における NALCN チャンネル複合体分子の開閉機構などについては全く知られておらず、レム睡眠における NALCN の機能に必要な細胞内コンポーネントとは何か、NALCN の細胞内局在の変化と神経活動に相関はあるのか、など未解決な点が多い。本研究では、NALCN とレム睡眠の関連の発見に基づき、アフィニティ精製と近位依存性ビオチン標識による生化学的検討を実施し、質量分析によるプロテオーム解析を行い、NALCN チャンネル分子機能に寄与する分子パートナーの同定を行う。さらに、超解像顕微鏡観察などを用いて NALCN タンパク質細胞内局在の細胞小器官レベルでの可視化を進める。これらにより、これまで不明であった NALCN がレム睡眠制御に関わる細胞内分子基盤の解明を目指す。

3. 研究の方法

NALCN 機能に影響する細胞内分子パートナーとして UNC80、UNC79、SFKs、NALF1 などが知られているが、チャンネル開閉を制御する相互作用タンパク質の知見はまだ少ない。既知の NALCN 複合体タンパク質群 3 種 (NALCN / UNC80 / NALF1) についてタグ付き変異型ビオチン化酵素 BirA 配列を N 末端側に挿入した遺伝子改変マウスをゲノム編集により作製し、タグによるアフィニティ精製質量分析 (AP-MS) および生体内近位依存性ビオチン標識法 in vivo

BioID (iBioID) を組み合わせた複合的生化学アプローチによって、共役タンパク質候補を網羅的に探索する (図 2)。将来的には、新規に見出された因子群の機能を CRISPR などにより個別に障害し、睡眠脳波筋電図測定、脳スライス *ex vivo* 電気生理実験などで評価することで、レム睡眠での NALCN チャンネル

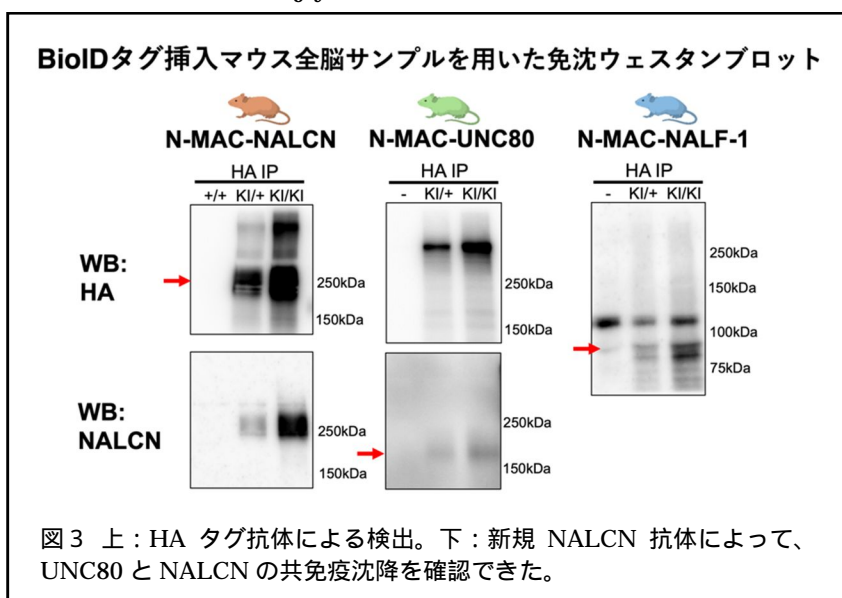


機能に関する新規分子パートナーを同定する。また、新規 NALCN 抗体の作成や、*Nalcn* 遺伝子座へ変異型タグなどを挿入した遺伝子改変マウスを作製し、それらを用いて超解像顕微鏡観察を実施することにより、これまでに報告のなかった細胞内 NALCN 局在を細胞レベルで詳細に可視化する。

4. 研究成果

レム睡眠制御での関与が示された NALCN、およびその直接的な結合・複合体構成因子として知られる UNC80 および NALF1 について、それらの N 末端に MAC タグ (MAC-tag: Multiple Approaches Combined, 変異型ピオチン化酵素 BirA, 3xHA, strep-III) を付与したノックインマウス系統をそれぞれゲノム編集により作製することができた (図 3)。これら 3 種の遺伝子改変マウスより得られた生体 whole brain サンプルを用いて、NALCN チャンネル複合体の相互作用因子をアフィニティー精製質量分析および *in vivo* BioID により網羅的に検討する生化学実験を実施した。MAC タグノックインマウスへのピオチン餌連続投与によるピオチン標識からの質量分析より、NALCN に特異的となる相互作用因子の候補をいくつか得ることができた (Yamamoto, Fujiyama et al., 投稿予定)。UNC80 については、生体脳サンプルと

HA タグを用いた免疫共沈降アフィニティー精製質量分析より、複数の相互作用候補因子が得られた (ヘテロ変異体とホモ変異体に共通で 67 種類)。上記検討にて得られた相互作用候補因子群について、チャンネル機能に影響を与える可能性のある分



子について選定を行い、レム睡眠制御における関連を調べるための検討実験を引き続き行う必要がある。

また、生化学的検討とは別に、MAC タグを利用した抗 HA 抗体による免疫組織化学染色を施行し、NALCN と UNC80 の全脳における発現を観察したところ、全脳に広く発現している一方で、脳領域ごとに発現の強弱があることを見出した。NALCN は視床下部や視床。大脳基底核におけるシグナルが強く、これらの領域が NALCN 変異の影響を受ける割合が高い可能性を示唆している。

今後は、NALCN がレム睡眠制御に関わる神経領域を検討し、その領域の神経細胞における細胞内局在や、新規に見出した相互作用因子との共局在があるかを調べる。本研究を継続していくことにより、NALCN がレム睡眠制御に関わる分子・細胞シグナル基盤の解明を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Asano Fuyuki, Kim Staci J., Fujiyama Tomoyuki, Miyoshi Chika, Hotta-Hirashima Noriko, Asama Nodoka, Iwasaki Kanako, Kakizaki Miyo, Mizuno Seiya, Mieda Michihiro, Sugiyama Fumihiro, Takahashi Satoru, Shi Shoi, Hirano Arisa, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi	4. 巻 120
2. 論文標題 SIK3-HDAC4 in the suprachiasmatic nucleus regulates the timing of arousal at the dark onset and circadian period in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2218209120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2218209120	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 Kim S.J., Hotta-Hirashima N, Asano F, Kitazono T, Iwasaki K, Nakata S, Komiya H, Asama N, Matsuoka T, Fujiyama T, Ikkyu A, Kakizaki M, Kanno S, Choi J, Kumar D, Tsukamoto T, Elhosainy A, Mizuno S, Miyazaki S, Tsuneoka Y, Sugiyama F, Takahashi S, Hayashi Y, Muratani M, Liu Q, Miyoshi C, Yanagisawa M, Funato H	4. 巻 612
2. 論文標題 Kinase signalling in excitatory neurons regulates sleep quantity and depth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature	6. 最初と最後の頁 512 ~ 518
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41586-022-05450-1	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 Fujiyama Tomoyuki, Takenaka Henri, Asano Fuyuki, Miyanishi Kazuya, Hotta-Hirashima Noriko, Ishikawa Yukiko, Kanno Satomi, Seoane-Collazo Patricia, Miwa Hideki, Hoshino Mikio, Yanagisawa Masashi, Funato Hiromasa	4. 巻 16
2. 論文標題 Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	6. 最初と最後の頁 910461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnbeh.2022.910461	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 Choi Jinhwan, Kim Staci J., Fujiyama Tomoyuki, Miyoshi Chika, Park Minjeong, Suzuki-Abe Haruka, Yanagisawa Masashi, Funato Hiromasa	4. 巻 15
2. 論文標題 The Role of Reproductive Hormones in Sex Differences in Sleep Homeostasis and Arousal Response in Mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Neuroscience	6. 最初と最後の頁 739236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnins.2021.739236	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 Murata Kazuya, Mimura Asuka, Suzuki Hayate, Mikami Natsuki, Hamada Yuko, Kato Kanako, Iki Natsumi, Ishida Miyuki, Daitoku Yoko, Tanimoto Yoko, Okiyoneda Tsukasa, Fujiyama Tomoyuki, Dinh Tra Thi Huong, Mizuno Seiya, Sugiyama Fumihiro	4. 巻 170
2. 論文標題 Efficient induction of proximity-dependent labelling by biotin feeding in BMAL1-BioID knock-in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 453 ~ 461
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab059	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 Iwasaki Kanako, Fujiyama Tomoyuki, Nakata Shinya, Park Minjeong, Miyoshi Chika, Hotta-Hirashima Noriko, Ikkyu Aya, Kakizaki Miyo, Sugiyama Fumihiro, Mizuno Seiya, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Takahashi Satoru, Funato Hiromasa, Yanagisawa Masashi	4. 巻 41
2. 論文標題 Induction of Mutant Sik3Sleepy Allele in Neurons in Late Infancy Increases Sleep Need	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2733 ~ 2746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1004-20.2020	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 Ryanto Gusty R. T., Ikeda Koji, Miyagawa Kazuya, Tu Ly, Guignabert Christophe, Humbert Marc, Fujiyama Tomoyuki, Yanagisawa Masashi, Hirata Ken-ichi, Emoto Noriaki	4. 巻 12
2. 論文標題 An endothelial activin A-bone morphogenetic protein receptor type 2 link is overdriven in pulmonary hypertension	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	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) 10.1038/s41467-021-21961-3	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 該当する

1. 著者名 Nakai Ayaka, Fujiyama Tomoyuki, Nagata Nanae, Kashiwagi Mitsuaki, Ikkyu Aya, Takagi Marina, Tatsuzawa Chika, Tanaka Kaeko, Kakizaki Miyo, Kanuka Mika, Kawano Taizo, Mizuno Seiya, Sugiyama Fumihiro, Takahashi Satoru, Funato Hiromasa, Sakurai Takeshi, Yanagisawa Masashi, Hayashi Yu	4. 巻 216
2. 論文標題 Sleep Architecture in Mice Is Shaped by the Transcription Factor AP-2	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Genetics	6. 最初と最後の頁 753 ~ 764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1534/genetics.120.303435	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 Park Minjeong, Miyoshi Chika, Fujiyama Tomoyuki, Kakizaki Miyo, Ikkyu Aya, Honda Takato, Choi Jinhwan, Asano Fuyuki, Mizuno Seiya, Takahashi Satoru, Yanagisawa Masashi, Funato Hiromasa	4. 巻 10
2. 論文標題 Loss of the conserved PKA sites of SIK1 and SIK2 increases sleep need	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-020-65647-0	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 -

〔学会発表〕 計37件(うち招待講演 2件/うち国際学会 35件)

1. 発表者名 T Fujiyama, S Kanno, K Miyanishi, N Hotta-Hirashima, S Hayakawa, H Yamamoto, K Iwasaki, A Mochizuki, P Seoane-Collazo, T Miyazaki, SJ Kim, D Kumar, M Kakizaki, A Ikkyu, Y Ishikawa, M Abe, K Sakimura, S Mizuno, S Takahashi, C Miyoshi, T Kanda, Y Tsuneoka, H Funato, M Yanagisawa
2. 発表標題 NALCN in the forebrain and pons-medulla regions have distinct roles in REM sleep regulation
3. 学会等名 The 16th Annual Meeting and Korea-Japan Joint Meeting for Developmental Neuroscientists (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 T Fujiyama, S Kanno, K Miyanishi, N Hotta-Hirashima, S Hayakawa, H Yamamoto, K Iwasaki, A Mochizuki, P Seoane-Collazo, T Miyazaki, SJ Kim, D Kumar, M Kakizaki, A Ikkyu, Y Ishikawa, M Abe, K Sakimura, S Mizuno, S Takahashi, C Miyoshi, T Kanda, Y Tsuneoka, H Funato, M Yanagisawa
2. 発表標題 NALCN in the forebrain and pons-medulla regions have distinct roles in REM sleep regulation
3. 学会等名 The 11th Annual WPI-IIIIS Symposium ~Deciphering the Mysteries of Instinctive Behaviors~ (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Henri Takenaka, Tomoyuki Fujiyama, Fuyuki Asano, Kazuya Miyanishi, Noriko Hotta-Hirashima, Yukiko Ishikawa, Satomi Kanno, Patricia Seoane-Collazo, Hideki Miwa, Mikio Hoshino, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato
2. 発表標題 Mice lacking cerebellar cortex and related structures show a decrease in slow-wave activity with normal non-REM sleep amount and sleep homeostasis
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会 MBSJ2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤山 知之, 船戸 弘正, 柳沢 正史
2. 発表標題 終脳および橋延髄のNALCNはレム睡眠抑制において異なる役割を持つ
3. 学会等名 次世代薬理学セミナー 2022 in 札幌 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 T Fujiyama, S Kanno, N Hotta-Hirashima, M Kakizaki, A Ikkyu, K Iwasaki, F Asano, SJ Kim, T Miyazaki, A Mochizuki, P Seoane-Collazo, Y Tsuneoka, S Mizuno, M Abe, C Miyoshi, T Kanda, M Watanabe, K Sakimura, S Takahashi, H Funato, M Yanagisawa
2. 発表標題 NALCN in the forebrain and pons-medulla regions have distinct roles in REM sleep regulation
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 NEURO2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hikari Yamamoto, Tomoyuki Fujiyama, Tomohiro Kitazono, Aya Ikkyu1, Satomi Kanno, Miyo Kakizaki, Jinhwan Choi, Shinya Nakata, Kazuya Murata, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Molecular mechanisms of REM sleep regulation: identifying protein-protein interactions of NALCN channel through BioID technique
3. 学会等名 日本分子生物学会2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomoyuki Fujiyama, Hikari Yamamoto, Tomohiro Kitazono, Aya Ikkyu1, Satomi Kanno, Miyo Kakizaki, Jinhwan Choi, Shinya Nakata, Kazuya Murata, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Molecular mechanisms of REM sleep regulation: identifying protein-protein interactions of NALCN channel through BioID technique
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoyuki Fujiyama, Henri Takenaka, Fuyuki Asano, Kazuya Miyanishi, Noriko Hotta-Hirashima, Yukiko Ishikawa, Satomi Kanno, Patricia Seoane-Collazo, Hideki Miwa, Mikio Hoshino, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato
2. 発表標題 Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis
3. 学会等名 第6回脳と心の研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoyuki Fujiyama, Satomi Kanno, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, et al., Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 NALCN in the forebrain and pons-medulla regions have distinct roles in REM sleep regulation
3. 学会等名 JST-CREST Optbio - 10th IIIS Joint Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoyuki Fujiyama, Satomi Kanno, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Noriko Hotta-Hirashima, Mana Yamada, Kanako Iwasaki, Fuyuki Asano, Ayako Mochizuki, Seiya Mizuno, Manabu Abe, Chika Miyoshi, Takeshi Kanda, Kenji Sakimura, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Where does the Nalcn gene take effect in REM sleep regulation?
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoyuki Fujiyama, Mikio Hoshino, Masashi Yanagisawa, Hiromasa Funato
2. 発表標題 Forebrain Ptf1a is required for sexual differentiation of the brain
3. 学会等名 第60回日本先天異常学会学術集会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Shinya Nakata, Nodoka Asama, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 SIK3 regulates sleep need and circadian rhythm through distinct neuronal pathways
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinya Nakata, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Fuyuki Asano, Haruna Komiya, Aya Ikkyu, Mana Yamada, Juan Calros Neira Amlanza, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sleep/wake behavior of mice expressing a constitutively active form of SIK3
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kanako Iwasaki, Tomoyuki Fujiyama, Shinya Nakata, Minjeong Park, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Fumihiro Sugiyama, Seiya Mizuno, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Hypersomnia in mice with induced SIK3 Sleepy mutation in late-infancy neurons
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 浅間 のどか, Kim Staci J, 藤山 知之, 浅野 冬樹, 三好 千香, 堀田 範子, 柿崎 美代, 一久 綾, 菅野 里美, 中田 慎也, 水野 聖哉, 高橋 智, 船戸 弘正, 柳沢 正史
2. 発表標題 Production of Sleepy2 StoA mutant mice, a potential target of SIK3 (Sleepy)
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nakata S., Abe-Komiya H., Fujiyama T., Asano F., Miyoshi C., Ikkyu A., Mizuno S., Sugiyama F., Takahashi S., Funato H., Yanagisawa M.
2. 発表標題 Molecular mechanisms for sleep/wake regulation by SIK3 kinase signaling
3. 学会等名 "The 11th Annual WPI-IIIS Symposium ~Deciphering the Mysteries of Instinctive Behaviors~" (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Fuyuki Asano, Staci J Kim, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Nodoka Asama, Kanako Iwasaki, Miyo Kakizaki, Seiya Mizuno, Michihiro Mieda, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Shoi Shi, Arisa Hirano, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 SIK3-HDAC4 in the suprachiasmatic nucleus regulates the timing of arousal at the dark onset and circadian period in mice
3. 学会等名 "The 11th Annual WPI-IIIS Symposium ~Deciphering the Mysteries of Instinctive Behaviors~" (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Minjeong Park, Takato Honda, Chika Miyoshi, Tomoyuki Fujiyama, Kanako Iwasaki, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sleep/wake behavior of mice lacking PKA-phosphorylation sites of SIK3
3. 学会等名 "The 11th Annual WPI-IIIS Symposium ~Deciphering the Mysteries of Instinctive Behaviors~" (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Minjeong Park, Takato Honda, Kanako Iwasaki, Chika Miyoshi, Tomoyuki Fujiyama, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato and Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sleep/wake behavior of mice lacking PKA phosphorylation sites in SIK3
3. 学会等名 Neuroscience2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1 . 発表者名 Shinya Nakata, Haruna Abe-Komiya, Tomoyuki Fujiyama, Chikka Miyoshi, Aya Ikkyu, Fuyuki Asano, Kanako Iwasaki, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 SIK3 kinase activity has a crucial role in sleep homeostatic regulation
3 . 学会等名 Neuroscience2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Tomohiro Kitazono, Staci J. Kim, Kanako Iwasaki, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Shinya Nakata, Nodoka Asama, Takumi Tsukamoto, Arisa Hirano, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Sik3 regulates circadian rhythms and sleep need through distinct neuron types and brain regions.
3 . 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 "Takumi Tsukamoto, Staci J. Kim, Nodoka Asama, Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Aya Ikkyu, Noriko Hotta-Hirashima, Kumi Ebihara, Chika Miyoshi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa "
2 . 発表標題 The role of Sleepy2 family in sleep/wake regulation in mice
3 . 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 Minjeong Park, Takato Honda, Chika Miyoshi, Tomoyuki Fujiyama, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato and Masashi Yanagisawa
2 . 発表標題 Sleep/wake behavior of mice lacking PKA phosphorylation site in SIK3
3 . 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1. 発表者名 Hikari Yamamoto, Tomoyuki Fujiyama, Tomohiro Kitazono, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Miyo Kakizaki, Choi Jinhwan, Shinya Nakata, Kazuya Murata, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Molecular mechanisms of REM sleep regulation: identifying protein-protein interactions of NALCN channel through BioID technique
3. 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinya Nakata, Haruna Abe-Komiya, Tomoyuki Fujiyama, Chikka Miyoshi, Aya Ikkyu, Fuyuki Asano, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Molecular mechanisms for sleep/wake regulation mediated by SIK3 kinase activity
3. 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Tomohiro Kitazono, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Shinya Nakata, Nodoka Asama, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sik3 regulates sleep need via glutamatergic neurons in cerebral cortex
3. 学会等名 第99回日本生理学会 JST-CREST "Opt Bio"/WPI-IIIS Joint Symposium ~Deciphering the Brain through "Opt Bio" Tools~ (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kanako Iwasaki, Tomoyuki Fujiyama, Shinya Nakata, Minjeong Park, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Yukiko Ishikawa, Fumihiro Sugiyama, Seiya Mizuno, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Where does Sleepy mutation of SIK3 cause sleep phenotypes?
3. 学会等名 第99回日本生理学会 JST-CREST "Opt Bio"/WPI-IIIS Joint Symposium ~Deciphering the Brain through "Opt Bio" Tools~ (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Minjeong Park, Takato Honda, Chika Miyoshi, Tomoyuki Fujiyama, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sleep/wake behavior of mice lacking PKA phosphorylation site in SIK3
3. 学会等名 第99回日本生理学会 JST-CREST "Opt Bio"/WPI-IIIS Joint Symposium ~Deciphering the Brain through "Opt Bio" Tools~ (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shinya Nakata, Haruna Abe-Komiya, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Fuyuki Asano, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Molecular mechanisms for SIK3(Sleepy)-mediated sleep/wake regulation
3. 学会等名 "第99回日本生理学会 JST-CREST "Opt Bio"/WPI-IIIS Joint Symposium ~Deciphering the Brain through "Opt Bio" Tools~ (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 "Shinya Nakata, Haruna Abe-Komiya, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Fuyuki Asano, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa"
2. 発表標題 Molecular mechanisms for SIK3(Sleepy)-mediated sleep/wake regulation
3. 学会等名 Tsukuba Conference 2021 (筑波会議2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Tomohiro Kitazono, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Shinya Nakata, Nodoka Asama, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sik3 regulates sleep need via glutamatergic neurons in cerebral cortex in mice
3. 学会等名 NEUROSCIENCE 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Kanako Iwasaki, Tomoyuki Fujiyama, Shinya Nakata, Minjeong Park, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Yukiko Ishikawa, Fumihiro Sugiyama, Seiya Mizuno, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題	Where does Sleepy mutation of SIK3 increase non-REM sleep?
3. 学会等名	NEUROSCIENCE 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Fuyuki Asano, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Tomohiro Kitazono, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Shinya Nakata, Nodoka Asama, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題	Endogenous SIK3 regulates sleep need through glutamatergic neurons in cerebral cortex
3. 学会等名	第44回日本神経科学大会・CJK第1回国際会議 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Kanako Iwasaki, Tomoyuki Fujiyama, Takeshi Kanda, Shinya Nakata, Minjeong Park, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Aya Ikkyu, Miyo Kakizaki, Fumihiro Sugiyama, Seiya Mizuno, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Satoru Takahashi, Michiyuki Matsuda, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題	Neuroanatomical and biochemical analysis of how the Sleepy mutant of SIK3 increases sleep
3. 学会等名	第44回日本神経科学大会・CJK第1回国際会議 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Nodoka Asama, Staci J. Kim, Tomoyuki Fujiyama, Fuyuki Asano, Chika Miyoshi, Noriko Hotta-Hirashima, Miyo Kakizaki, Aya Ikkyu, Satomi Kanno, Shinya Nakata, Seiya Mizuno, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題	Phosphorylation-deficient Sleepy2 mutant mice exhibited decreased NREM sleep
3. 学会等名	第44回日本神経科学大会・CJK第1回国際会議 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 Shinya Nakata, Haruna Abe-Komiya, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Aya Ikkyu, Fuyuki Asano, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 The functional analysis of SIK3 kinase activity for sleep/wake regulation
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会・CJK第1回国際会議（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinya Nakata, Tomoyuki Fujiyama, Chika Miyoshi, Fuyuki Asano, Haruna Komiya, Aya Ikkyu, Mana Yamada, Juan Calros Neira Amlanza, Seiya Mizuno, Fumihiro Sugiyama, Satoru Takahashi, Hiromasa Funato, Masashi Yanagisawa
2. 発表標題 Sleep/wake behavior of mice expressing a constitutively active form of SIK3
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>バツと目覚めるために視交叉上核で働くキナーゼ https://sleepymouse.jp/news/ 睡眠の量と質を制御する仕組み https://sleepymouse.jp/news/ 【プレスリリース】肺高血圧症の新しい病態メカニズムの発見（臨床薬学研究室）神戸薬科大学 https://www.kobepharma-u.ac.jp/news/005512.html 2020 Students' Best Paper Award in Med Sci http://www.md.tsukuba.ac.jp/gradmed/en/topics/210316.html 幼若期以降の神経細胞におけるタンパク質リン酸化酵素の遺伝子変異が眠気を増強する https://wpi-iiis.tsukuba.ac.jp/japanese/news/1714/</p>

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	村田 知弥 (Murata Kazuya) (60713485)	筑波大学・医学医療系・助教 (12102)	

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	船戸 弘正 (Funato Hiromasa) (90363118)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・客員教授 (12102)	

	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 協力者	山元 ひかり (Yamamoto Hikari)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・大学院生 (12102)	
研究 協力者	北園 智弘 (Kitazono Tomohiro)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・JSPS特別研究員 (12102)	
研究 協力者	庄内 大地 (Shonai Daichi)	デューク大学・Dept of Molecular Genetics & Microbiology・大学院生	
研究 協力者	管野 里美 (Kanno Satomi)	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・研究員 (12102)	
研究 協力者	チェ ジンワン (Choi Jinhwan)	ハーバード大学・Beth Israel Deaconess Medical Center・ポスドク研究員	

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

中国	Natl Inst of Biological Sciences (NIBS)			
米国	Massachusetts Institute of Technology	Univ of Texas Southwest Med Center	Duke University Sch of Medicine	
米国	BIDMC, Harvard Medical School			