

## 審査の結果の要旨

氏名 史 蕭逸

本研究はコンピュータシミュレーションに基づいて、ハイスループットな遺伝子欠損マウス作製系 (Triple-target CRISPR)、および非侵襲な睡眠表現型解析系 (Snappy Sleep Stager, SSS) を組み合わせることで、新規睡眠時間制御遺伝子および睡眠恒常性制御遺伝子を同定することを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Triple-target CRISPR によりカルシウム依存的なカリウムチャネルの遺伝子ファミリーに属する 8 種類の遺伝子について遺伝子欠損マウスを作製し、SSS および脳波筋電図測定を用いて睡眠表現型の解析を行った。その結果、*Kcnn2* および *Kcnn3* の遺伝子欠損マウスは有意な NREM 睡眠の減少を示した。
2. Triple-target CRISPR により電位依存的なカルシウムチャネルの  $\alpha$  サブユニットの遺伝子ファミリーに属する 7 種類の遺伝子について遺伝子欠損マウスを作製し、SSS および脳波筋電図測定を用いて睡眠表現型の解析を行った。その結果、*Cacna1g* および *Cacna1h* の遺伝子欠損マウスは有意な NREM 睡眠の減少を示した。
3. Triple-target CRISPR によりカルシウムポンプの遺伝子ファミリーに属する 3 種類の遺伝子について遺伝子欠損マウスを作製し、SSS および脳波筋電図測定を用いて睡眠表現型の解析を行った。その結果、*Atp2b3* の遺伝子欠損マウスは有意な NREM 睡眠の増加を示した。
4. Triple-target CRISPR によりカルシウムカルモジュリン依存的なリン酸化酵素の遺伝子ファミリーに属する 4 種類の遺伝子について遺伝子欠損マウスを作製し、SSS および脳波筋電図測定を用いて睡眠表現型の解析を行った。その結果、*Camk2a* および *Camk2b* の遺伝子欠損マウスは有意な NREM 睡眠の減少を示した。
5. 睡眠時間の変化を示した遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスの睡眠覚醒の遷移確率を計算し、その時系列に対して Simplex projection, S-map, および Convergent Cross Mapping を用いた非線形時系列解析を行った。同解析は、時系列の過去の値を用いて次の値を予測する手法であり、これを応用することで過去の睡眠および覚醒の履歴から次の睡眠時間および覚醒時間への影響を見積もることが可能である。解析の結果、*Camk2a* 欠損、*Camk2b* 欠損、*Kcnn2* 欠損、および *Kcnn3* 欠損マウスにおいて、覚醒の履歴を用いた予測が困難になっている。

ことが明らかになった。この結果はこれらの遺伝子欠損マウスにおいて、睡眠の恒常性が変化していることを示唆していると考えられた。

6. *Kcnn2* 欠損マウスに対する睡眠剥奪実験により、*Kcnn2* 欠損マウスは異常な睡眠恒常性を示すことが明らかになった。

以上、本論文はマウスにおいて、その欠損によりマウスの睡眠時間が変化する遺伝子を発見した。更に、睡眠覚醒の遷移確率の時系列に対する一連の非線形時系列解析から、*Kcnn2*、*Kcnn3*、*Camk2* および *Camk2b* の欠損マウスでは、睡眠恒常性が変化している可能性を示し、*Kcnn2* 欠損マウスに対する睡眠剥奪実験により同遺伝子欠損マウスにおける睡眠恒常性の異常を示した。本研究は、新たな睡眠時間変異体、睡眠恒常性変異体を同定し、睡眠覚醒の制御機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。