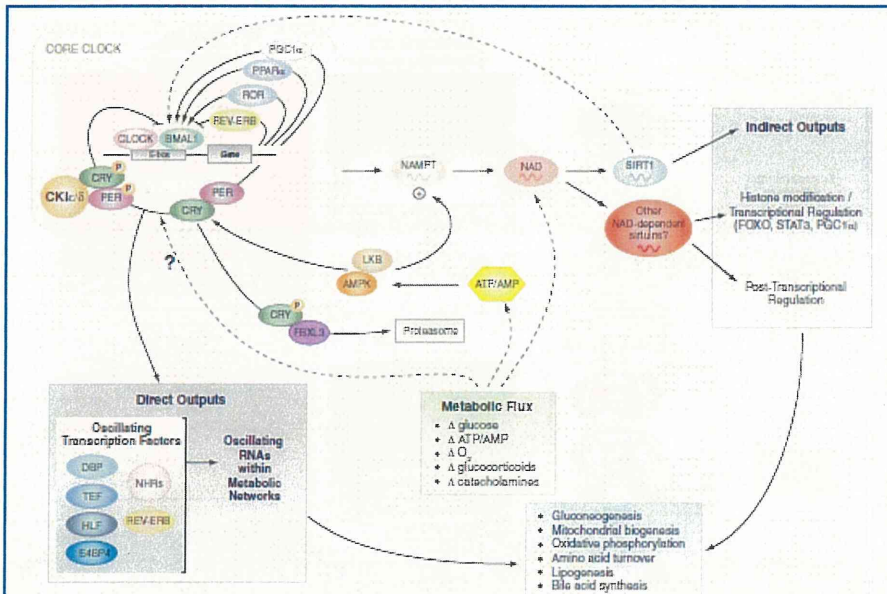


概日リズム (サーカディアンリズム)

Bmal1 = Arntl



Bass J, Takahashi JS, Circadian integration of metabolism and energetics. Science 330:1349-1354, 2010.

Department of Medicine, Northwestern University, Feinberg School of Medicine, Chicago, IL 60611, USA.

Dbp遺伝子に着目した理由：

視交叉上核をはじめ末梢臓器に発現し、発現がシャープな概日振動が報告される

bZIP型転写因子Dbp (D-site of albumin promoter (albumin D-box) binding protein)に着目した

bZIP型転写因子Dbp

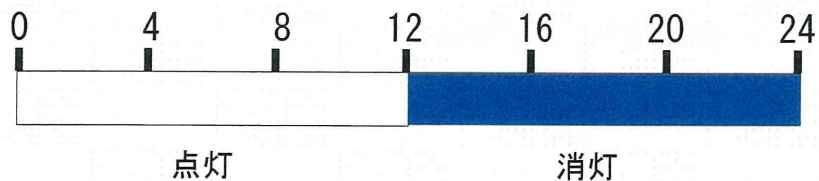
D SITE OF ALBUMIN PROMOTER-BINDING PROTEIN

- ・アルブミンプロモーターのDサイトに結合する転写因子として同定 (Mueller CR, Maire P and Schibler U, Cell. 61(2): 279-291, 1990)。発見直後からシャープな概日振動が報告されている (Wuarin J and Schibler U, Cell. 63(6):1257-1266, 1990)。
- ・DBPノックアウトマウスでは、他の概日リズム関連遺伝子の発現に影響は認められない。また、発生・生殖機能は正常であり、肝機能への影響は認められないが、概日リズムに関連した歩行運動(locomotor)の抑制という行動影響が認められる (Lopez-Molina L, Conquet F, Dubois-Dauphin M and Schibler U, The DBP gene is expressed according to a circadian rhythm in the suprachiasmatic nucleus and influences circadian behavior, EMBO J 16(22): 6762-6771, 1997)。

背景2

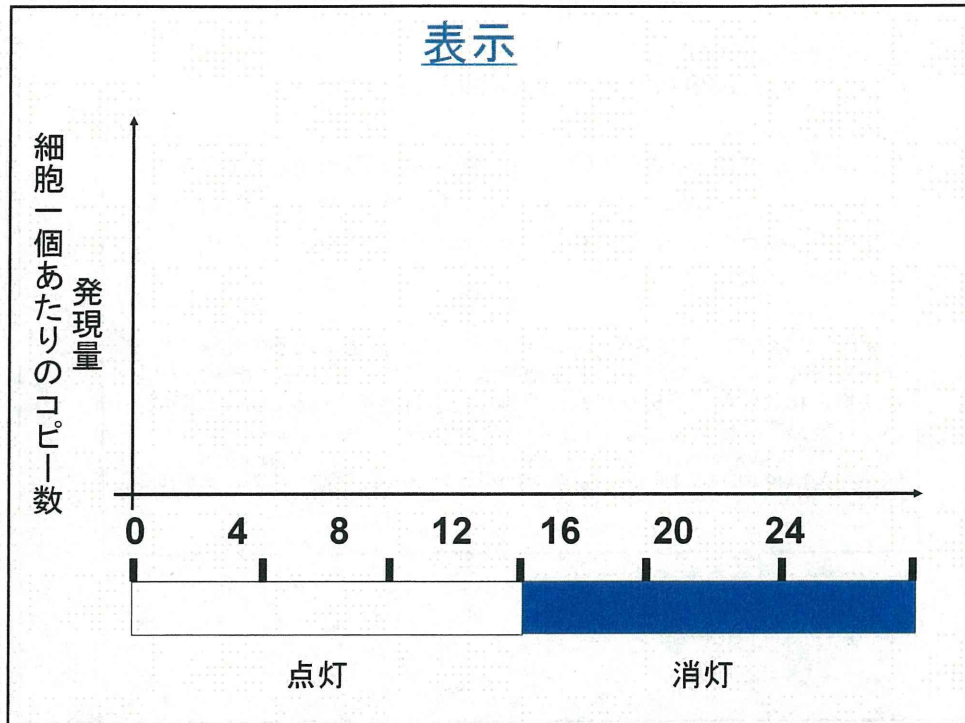
取得・構築済みの概日変動リズム1周期(=24時間)の成熟期マウス肝および視交叉上核(SCN)遺伝子発現変動の経時データベース [Time point: 7点 (4時間毎)]

マウス: C57BL/6NCrSlc (♂) 12週齢 [個別飼いで3週間馴化]

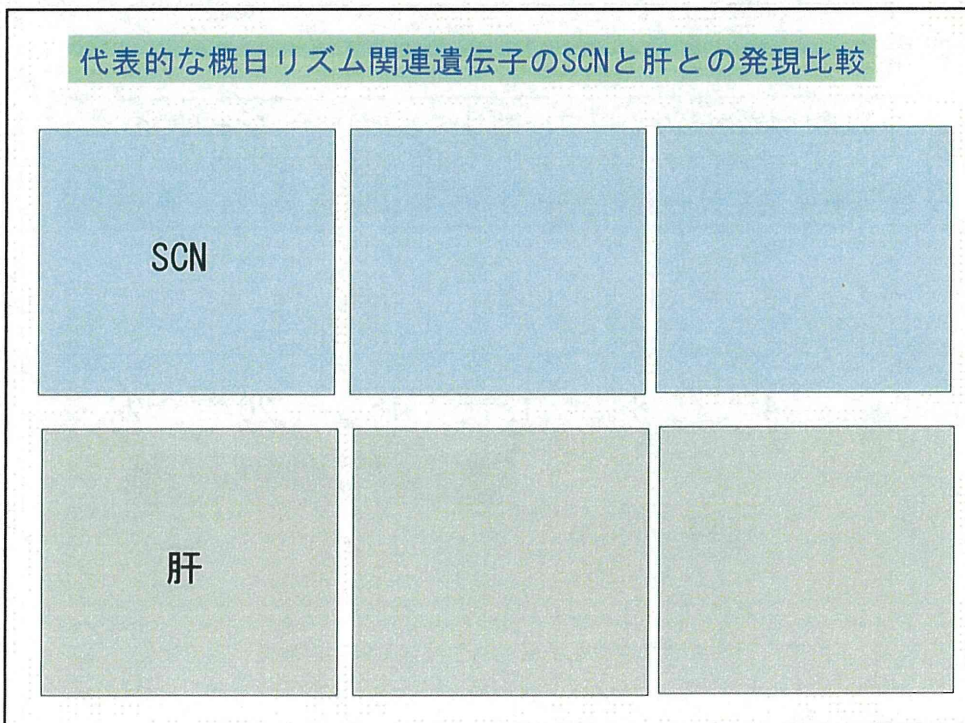


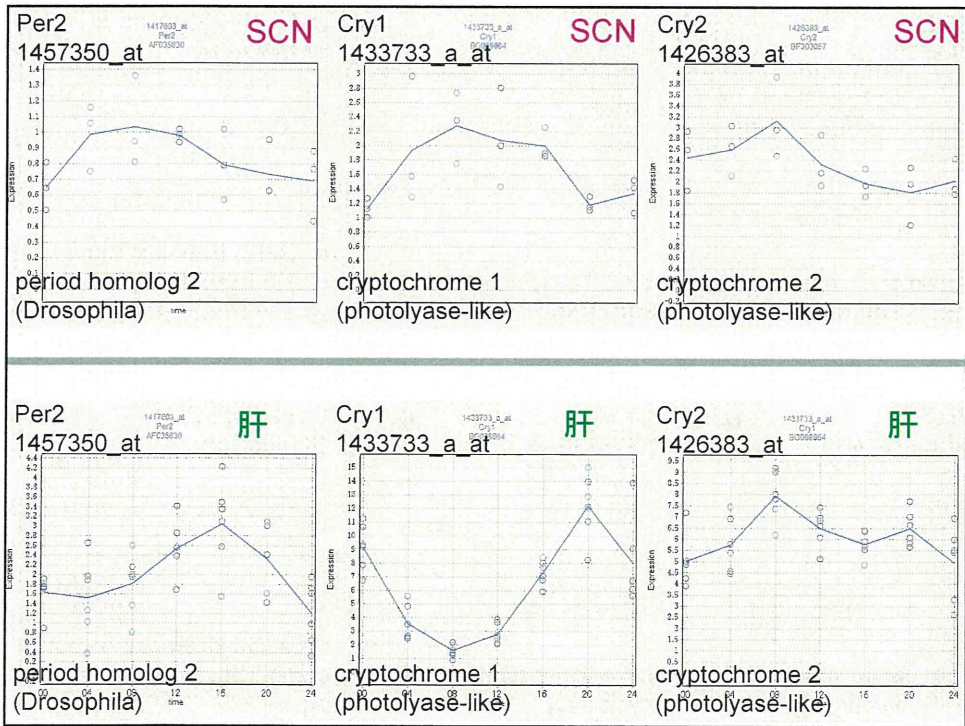
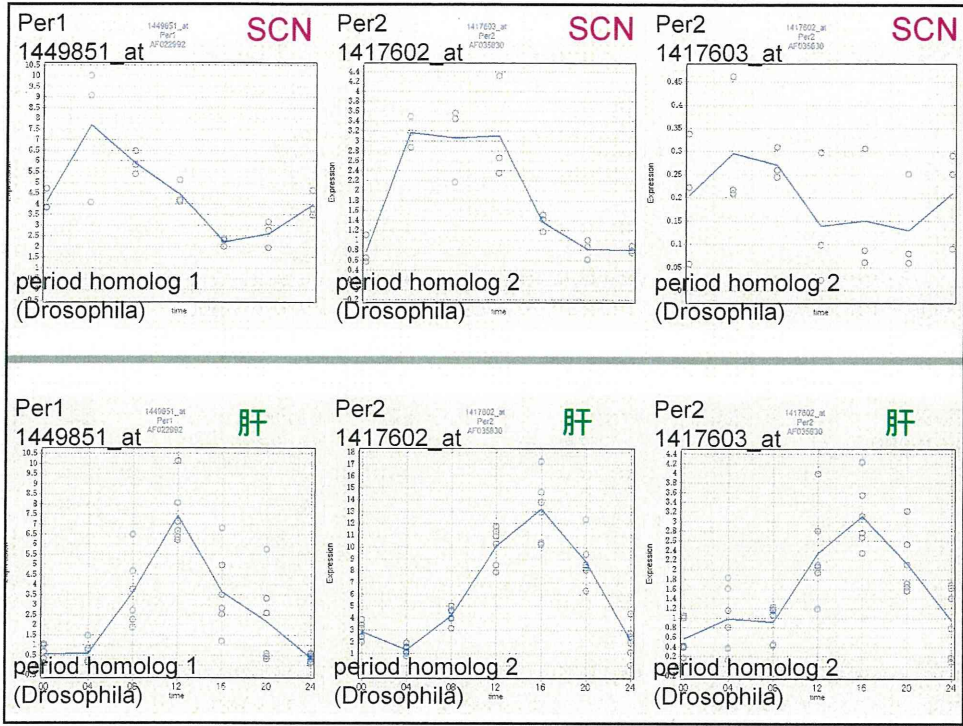
ご協力: 近畿大学大学院医学研究科生理学系解剖学教授 重吉康史 先生

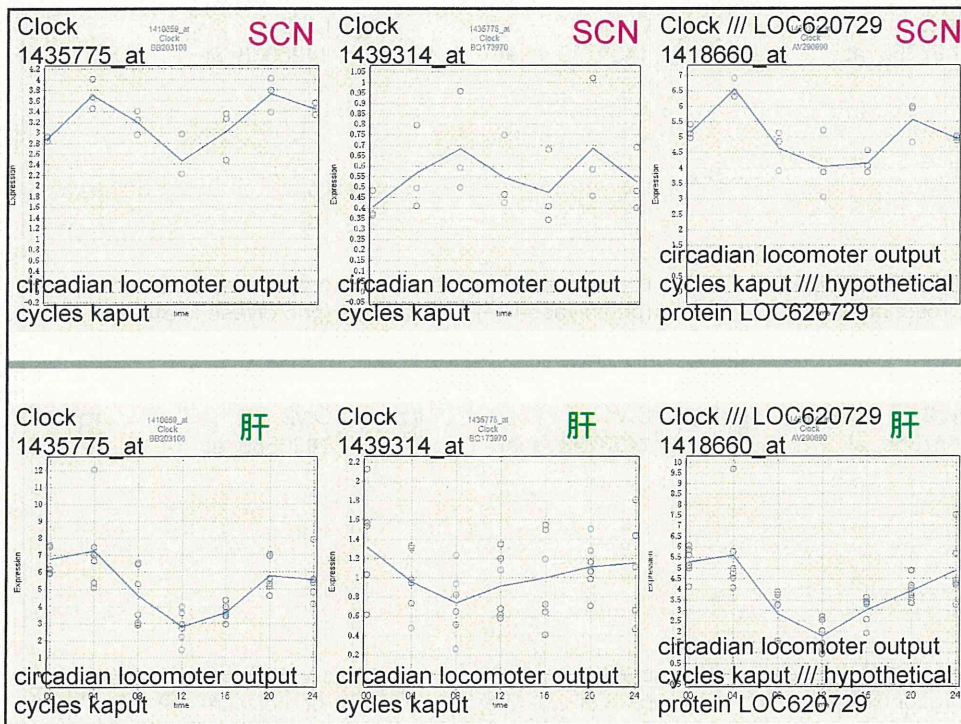
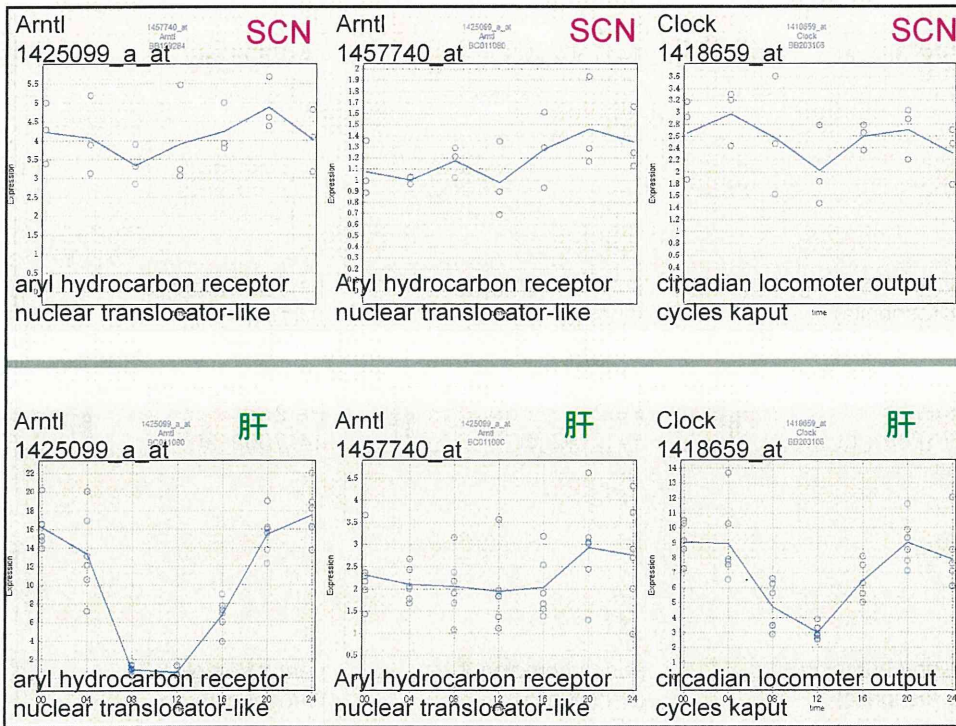
表示

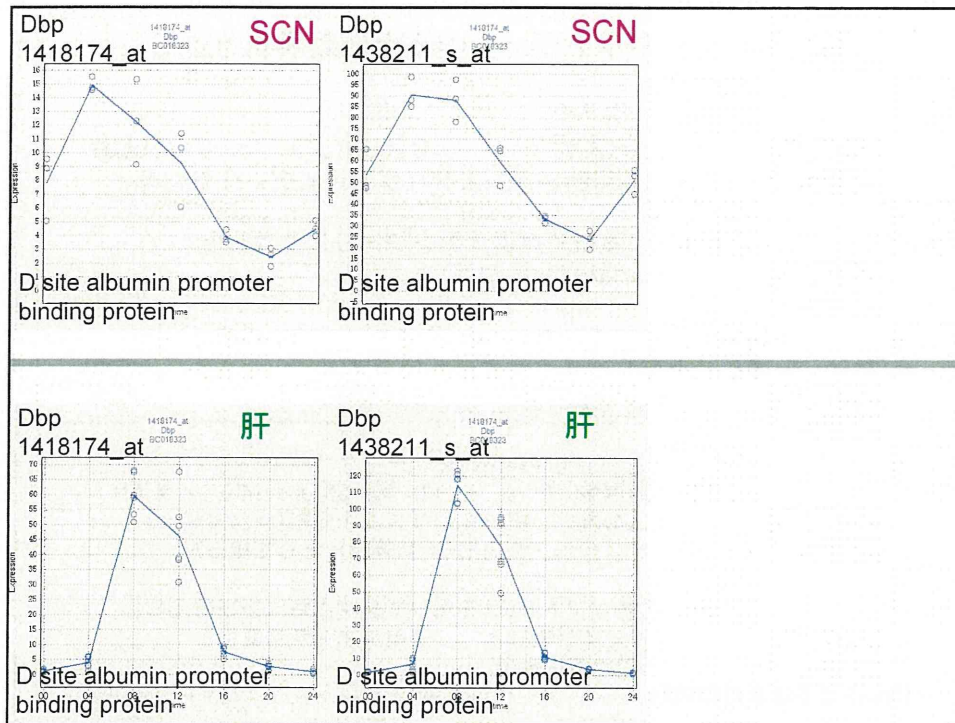


代表的な概日リズム関連遺伝子のSCNと肝との発現比較



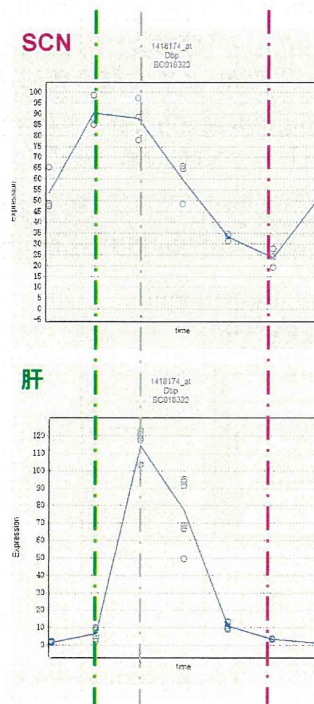






概日リズム関連遺伝子の中で、肝及びSCNでの発現変動がシャープなDbp (D site albumin promoter binding protein) 遺伝子に着目し、この遺伝子に関わる局所ネットワークの描出を検討 [Probe ID: 1438211_s_at]

SCNでは点灯20時間後(点灯前4時間)から、肝では点灯4時間後から、急速に発現が増加し始める、一過性の発現パターンを示す ⇒ 両組織で発現変動は経時的に一致しない



局所シグナルネットワークの描出の効率化を計る

周期性に着目した 概日変動リズム関連遺伝子Dbpの局所ネットワークの描出 —成熟期マウス肝の網羅的トランスクリプトームデータの利用—

- ・ 周期性を検討する為に、遺伝子発現変動をフーリエ変換した
[解析ソフト：MF Wave analyzerを利用]
- ・ Dbp遺伝子を雛形とし、波長分布についてピアソン相関解析をおこなった
⇒ **[結論]** Dbp遺伝子と同じ波長分布を示す遺伝子が抽出できた、と同時に
位相あるいは波長の異なるものも抽出できた
- ・ 無処置成熟期マウス肝の遺伝子発現変動の経時データベース
= [Time point : 7点 (4時間毎 ; 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24h)、n = 6]
→ フーリエ変換の精度向上の為に、概日変動リズム 1 周期 (=24時間) の
連続サンプリングデータを二分し、2 周期 (=48時間) として扱った。
- ・ 得られたgene listを、解析ソフトRSortを用いて各時点毎に並び替えし、
解析ソフトMF Surfaceを用いて目視により、変動が生物学的変化と
考えられるgene listを各時点毎に抽出
[Dbp遺伝子は点灯8時間後に発現ピークをもつ(48時間配置では8及び20時間後)]

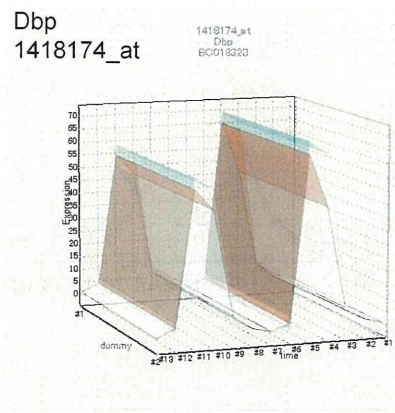
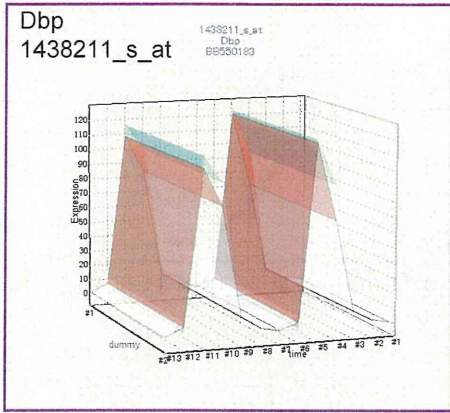
Dbp遺伝子[概日変動リズム 1 周期 (=24時間)]の発現変動を 2 周期 (=48時間)とする雛形作成の際の、各時点でのサンプル配置方法

無処置成熟期マウス肝の遺伝子発現変動の経時データベース
= [Time point : 7点 (4時間毎 ; 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24h)、n = 6]

サンプル番号順で前半・後半の各3例に分割 (0時間は6例のまま)
← 採取時も各3例ずつ2回に分けてサンプリング



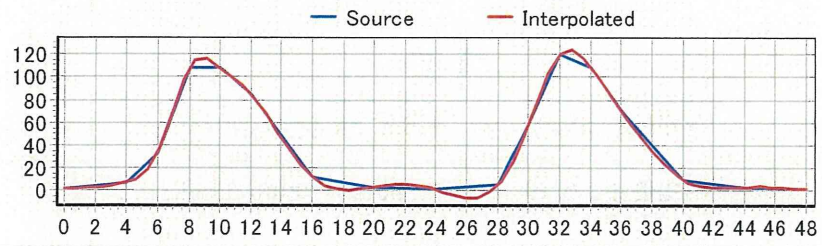
Dbp遺伝子の発現変動を2周期 (=48時間)とした際の発現変動



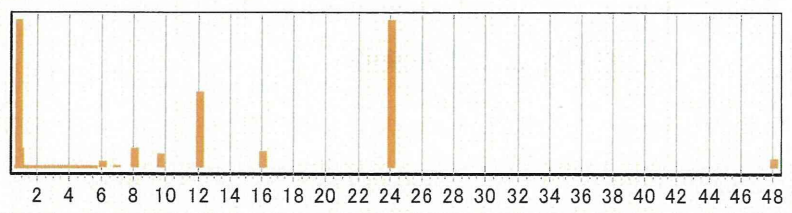
発現量が多い[1438211_s_at]の方を使用した

周期性を検討する為に MF Wave analyzer を利用し、
Dbp遺伝子の発現変動をフーリエ変換した

0, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 28, 30, 32, 34, 36, 40, 44 and 48h (17 time points)
スプライン計算 [補関数 : 64]



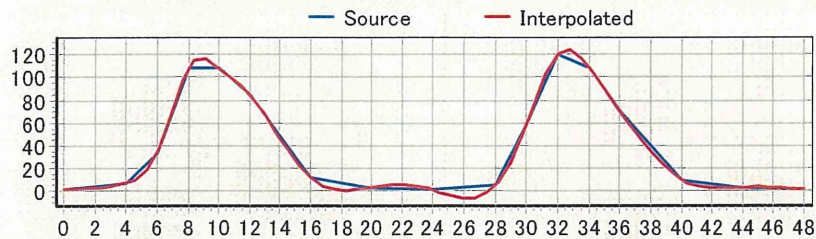
波 図 女



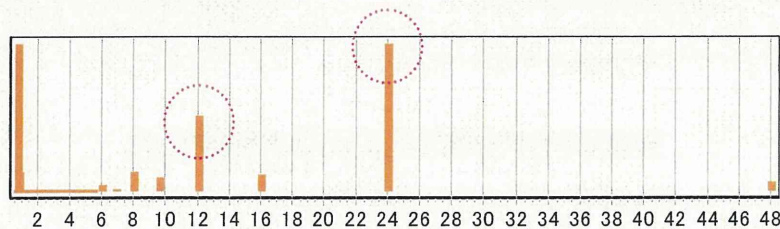
周期性を検討する為に MF Wave analyzer を利用し、
Dbp 遺伝子の発現変動をフーリエ変換した

0, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 28, 30, 32, 34, 36, 40, 44 and 48h (17 time points)

スプライン計算 [補関数 : 64]



波長分布



Dbp 遺伝子を雛形としフーリエ変換することにより得られた波長分布
についてピアソン相関解析をおこなった

0, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 28, 30, 32, 34, 36, 40, 44 and 48h (17 time points)

結果

相関係数 > 0.90 → 4,635 ps [含Dbp 2 ps]

相関係数 > 0.99 → 43 ps [含Dbp 2 ps]

相関係数 > 0.85 → 8,890 ps [含Dbp 2 ps]

→ 相関係数 > 0.90 を採用

Dbp遺伝子を雛形としフーリエ変換して得られた波長分布について
 ピアソン相関解析の結果得られた（相関係数>0.90）
 4,635 ps [含Dbp 2 ps]について、
 RSortで経時的に並びかえ（24時間のフォーマットで）、MF Surface上で
 目視により、変動が生物学的変化と考えられるgene listを各時点毎に抽出

結果

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps

Setting:

Explore Direction: Peak>>>Valley
 Posi,Intermed,Nega:全てcheck

24時間周期のもののみ抽出された

総計 → 460 ps [含Dbp 2 ps] ← 4,635 ps

- ・ Dbp遺伝子と同じ波長分布を示す遺伝子が抽出できた
- ・ 位相の異なる遺伝子も同時に効率よく抽出できた

得られた遺伝子リストには、多くの時計遺伝子が含まれていた

0 or 24h	→	Arntl (=Bmal1)、Npas2、LOC100046232 /// Nfil3
4h	→	該当なし
8h	→	Dbp、Nr1d1 (=Rev-erba-alpha)、 Nr1d2、Ppara
12h	→	Per1、Per3
16h	→	Per2
20h	→	Cry1、Rorc

※Clock, Bhlhb2, Bhlhb3,
 Rora, Rorbなどはリストになし
 ◯肝では、発現の顕著な概日リズム変動
 は認められなかった

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

抽出された遺伝子の発現変動の一例 [48時間表示]

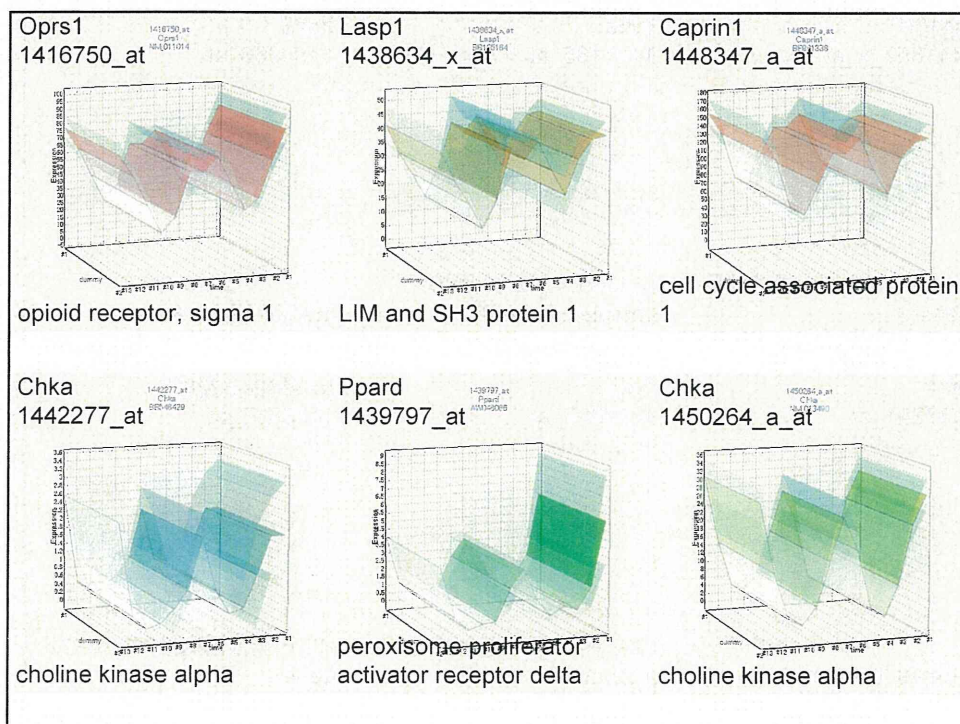
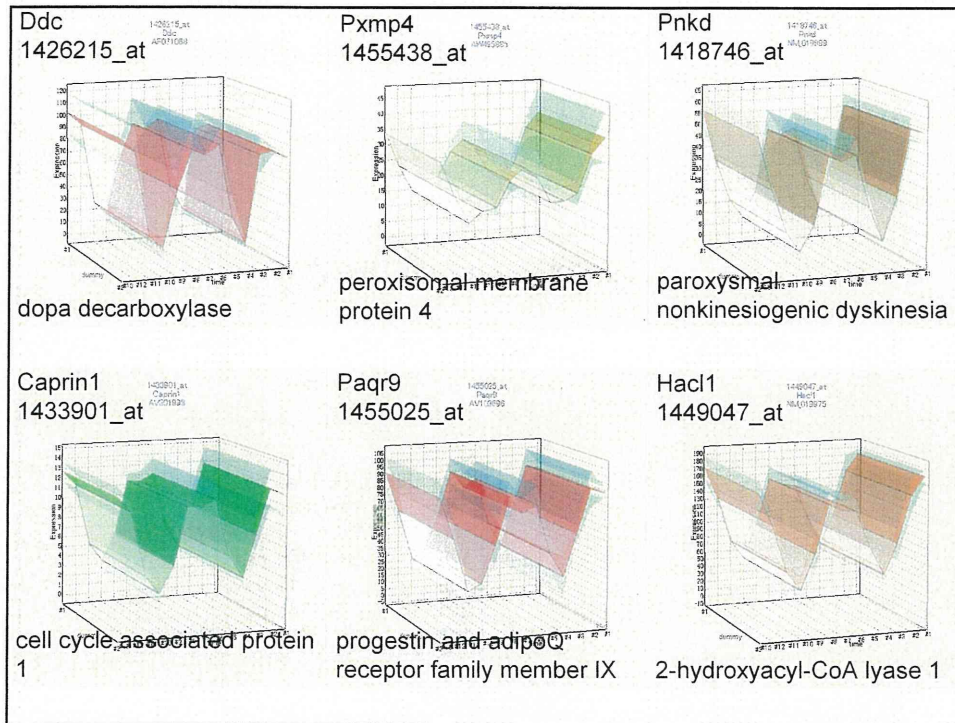
遺伝子発現のピークが認められる時点順に、経時的に表示

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

0 or 24h [Dbp-like(8h)の-8h]

例

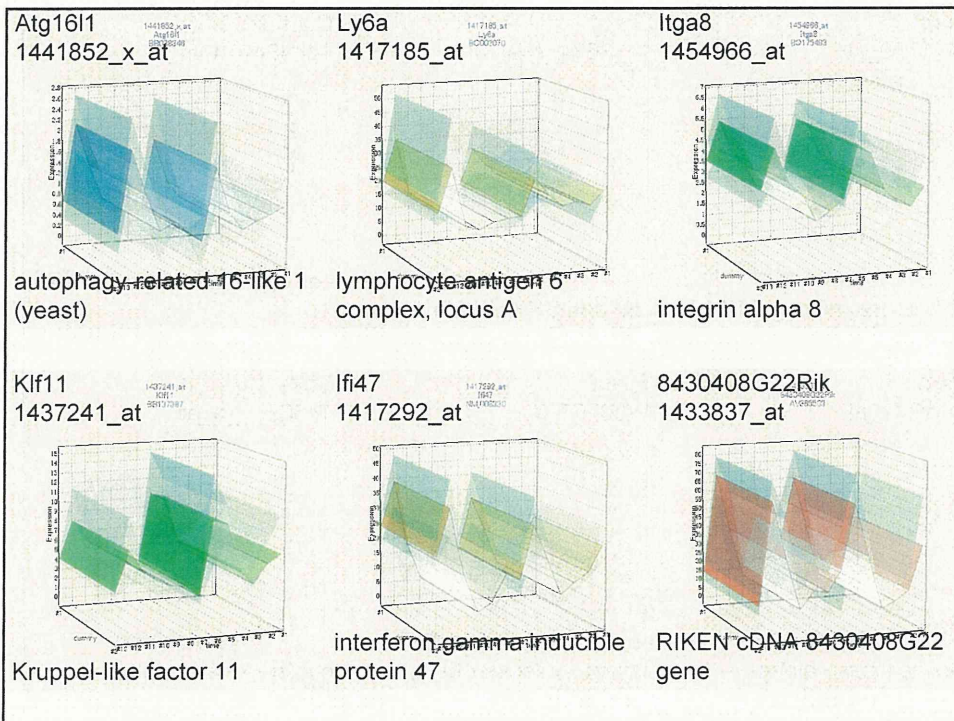
0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

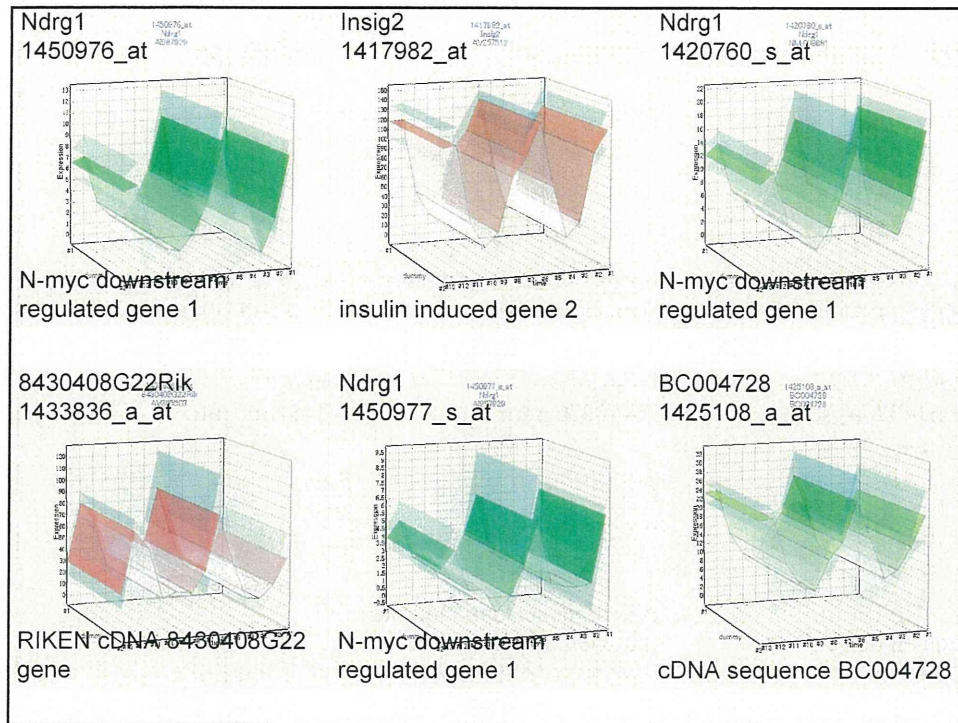


4h [Dbp-like (8h) の-4h]

例

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

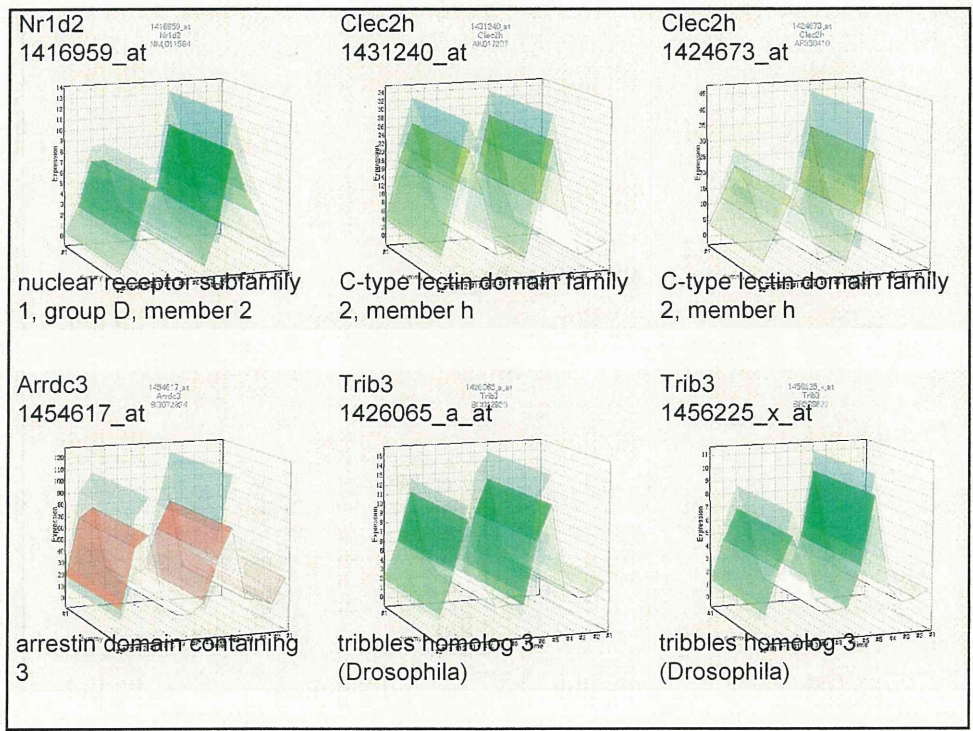
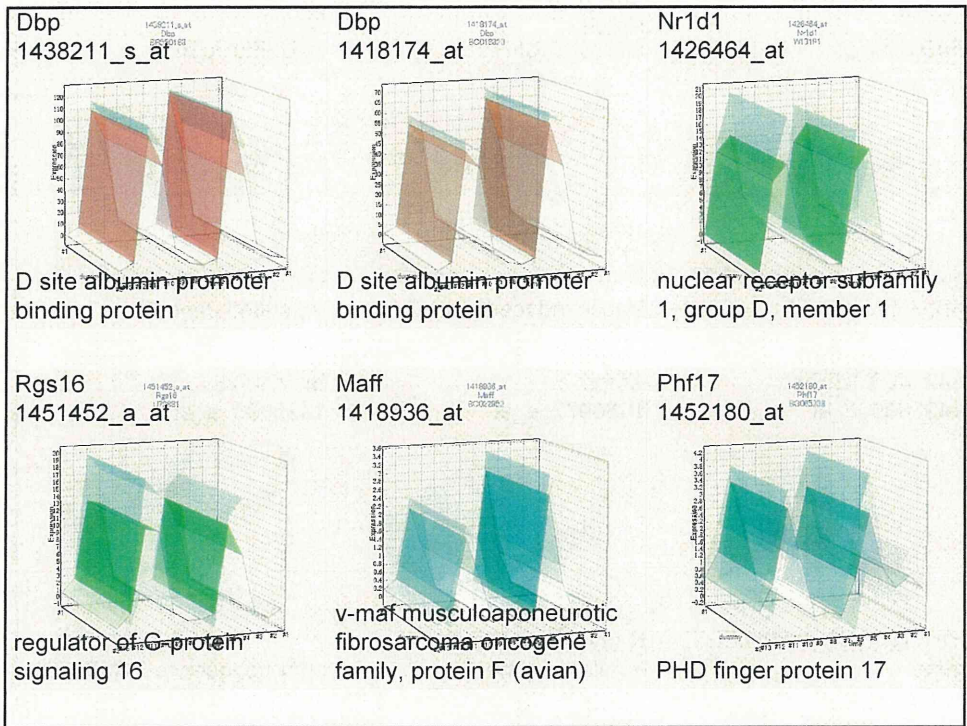




8h [含、Dbp]

例

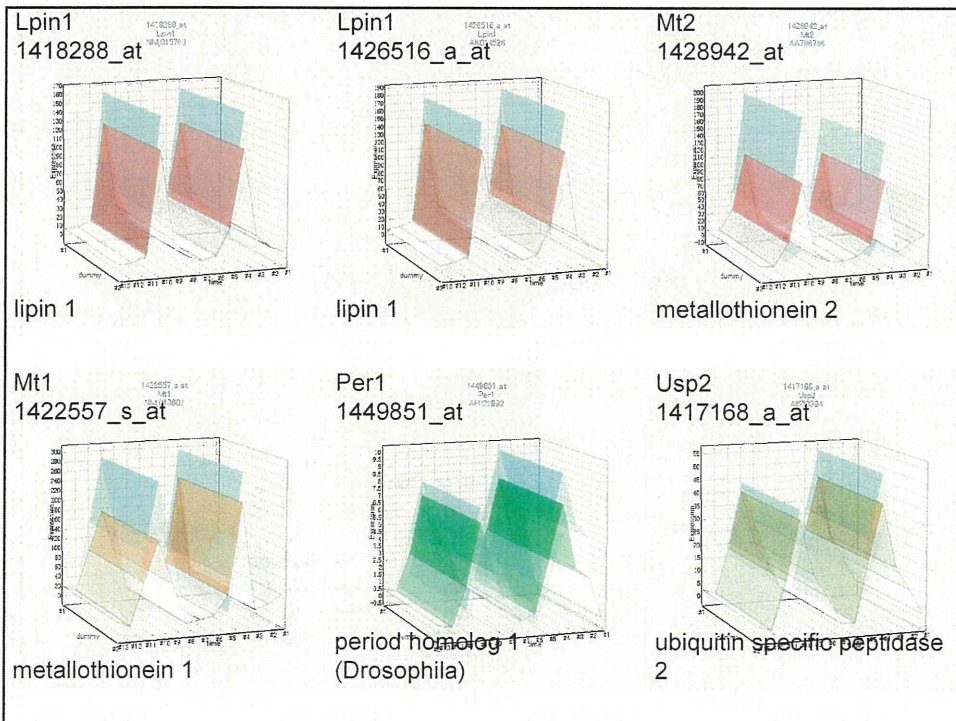
0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

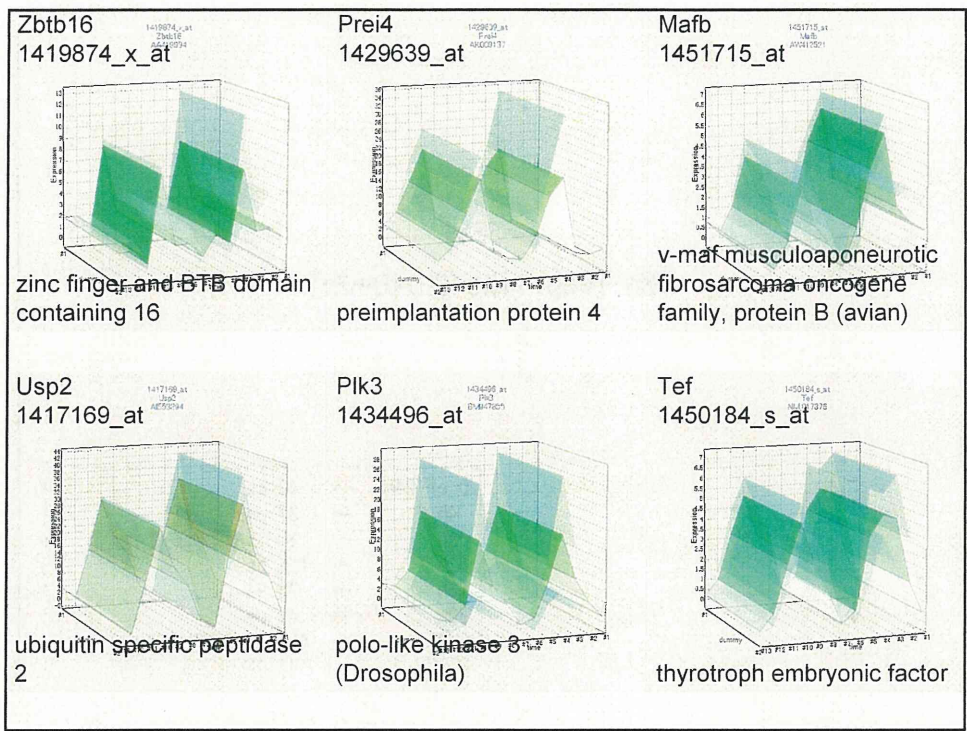


12h [Dbp-like (8h) の+4h]

例

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

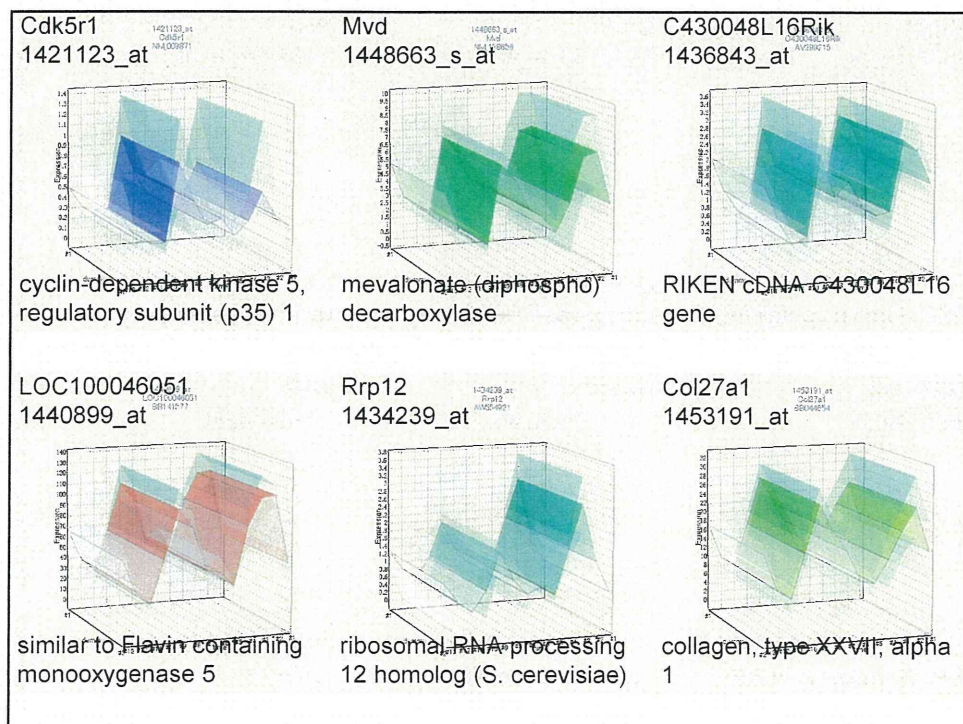
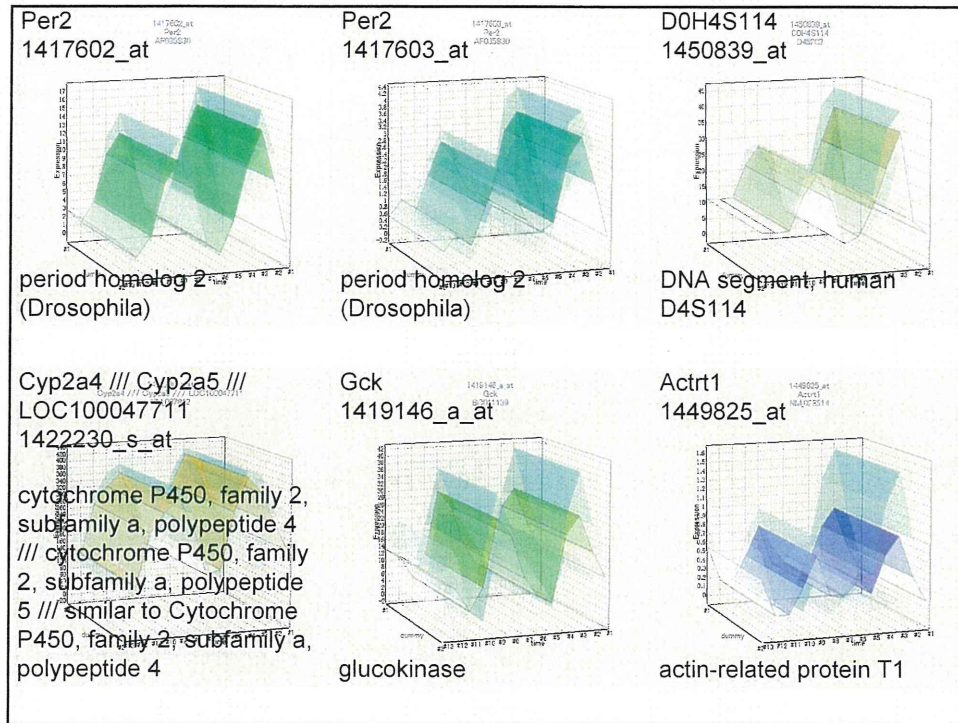




16h [Dbp-like (8h) の+8h]

例

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]



20h [Dbp-like (8h) の+12h]

例

0 or 24h	→	43 ps
4h	→	37 ps
8h	→	90 ps [含Dbp 2 ps]
12h	→	176 ps
16h	→	73 ps
20h	→	41 ps
総計	→	460 ps [含Dbp 2 ps]

