

# 実験動物開発室

Experimental Animal Division



室長 吉木 淳 (農博)  
Atsushi YOSHIKI, Ph.D.

## ミッションと事業概要

マウスはヒトのモデル動物として遺伝子機能の解明、新薬や病気の治療法の開発などの生命科学研究に貢献し、人類に役立っている。実験動物開発室の使命は、我が国で開発されたヒト疾患や遺伝子機能解明のためのモデルマウスを収集・保存・品質管理・提供するとともに、新たな研究のニーズに応えるマウス系統を開発し、マウスの収集・保存・品質管理・提供に必要な技術開発を実施することである。平成14年度から文部科学省のナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) の実験動物マウスの中核機関およびNBRPラットのサブ機関として、高品質なマウス系統の整備とラットの凍結胚・精子のバックアップ保存により、世界のライフサイエンス研究の推進に貢献している。

Mice have been the most useful animal models for humans and have contributed to life science research for gene function and the development of novel drugs and treatments for complex diseases. The primary mission of the Experimental Animal Division is to collect, preserve, conduct quality control, and distribute mouse models created in Japan. In addition, we develop novel mouse models that are necessary for emerging research needs and relevant technologies to achieve our primary mission: since FY2002, our division has been designated as the core facility for the mouse and the sub-facility for the rat in the National Bioresource Project (NBRP) of Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan. We have thus contributed to the global promotion of life sciences by establishing high-quality mouse resources and backup storage of rat embryos and sperm.

## バイオリソースの収集・保存・提供 Collection, Preservation and Distribution

### (1) 収集

国内の大学および研究機関からヒト疾患モデル及び遺伝子機能の解析モデルとして、蛍光蛋白で生命現象を可視化したレポーターマウス、iPS細胞を樹立するための系統、条件付き遺伝子操作を可能にするCre-lox、Flp-FRT、TETシステムを含むマウス系統など、5,000系統を収集した (図1)。

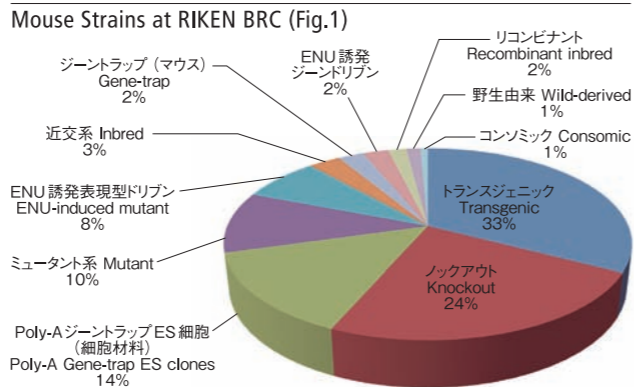
### (1) Collection

To date, we have collected 5,000 mouse models for human diseases and gene function analysis from universities and research institutions in Japan (Fig. 1). The mouse models include reporters that visualize the expression of specific genes or biological phenomena with fluorescent markers, useful strains for the generation of induced pluripotent stem (iPS) cells, and strains containing the Cre-lox, Flp-FRT, and TET systems to regulate gene expression for conditional genetic modifications.

### (2) 品質管理と凍結保存

寄託されたマウス系統の病原微生物検査を実施し、13%の系統でマウス肝炎ウイルス、肺パストツレラ、Helicobacter hepaticus等を検出し、43%の系統において腸管内原虫、蟯虫、外部寄生虫を検出した。平成22年度は256系統を帝王切開、100系統を胚移植によりそれぞれ微生物汚染を完全に除去し、SPFマウスとして保存した。遺伝子操作系統は網羅的検査 (KO-survey法) により遺伝子品質を確認し、最適化したPCRブ

RIKEN BRCのマウス系統5000系統 (図1)



ロトコールと組換え生物の正確な情報をホームページから公開した。マウス表現型解析開発チームと連携して表現型解析を実施し、結果を公開した。

### (2) Quality control and cryopreservation

We monitor the deposited live mice for the presence of pathogenic microbes, and have detected mouse hepatitis virus, Pasteurella pneumotropica, and Helicobacter hepaticus in 13% of the deposited strains, and intestinal protozoa, pinworm, and ectoparasites in 43%. In FY2010, we have cleaned up 256 strains by cesarean section and 100 strains by embryo transfer, thereby eliminating these pathogens, and maintained the deposited strains as specific pathogen-free mice. We have examined the genetically modified mice for their multiple transgenes using knock-out (KO)-survey PCR to confirm their genetic quality and to provide accurate genetic information. We have optimized PCR protocols for the genetically modified strains and have made these protocols available on our website. In collaboration with the Japan Mouse Clinic, the phenotypes of our strains have been measured and this data is available on "Phenopub".

需要の多い系統は生体として維持し、需要の少ない系統は凍結胚・精子として液体窒素中に凍結保存した。凍結保存は遺伝工学基盤技術室との連携により実施した。急増するC57BL/6系統を背景とする遺伝子操作系統については精子凍結により効率的に実施した。今年度は新規に597系統の胚・精子を凍結し、累計2,422系統を凍結保存した。危険分散、長期安全保存のため播磨研究所のバックアップ施設に1,461系統の凍結胚を移管した。

Mice with a high demand are maintained as live stocks, while mice with a lower demand are preserved as frozen embryos or sperm and stored in liquid nitrogen. The cryopreservation of embryos and sperm has been conducted in collaboration with the Bioresource Engineering Division. Sperm freezing has been used efficiently to preserve an increasing number of genetically modified strains with the C57BL/6 background. We froze the embryos and sperm of 597 strains in FY2010 and have increased the frozen stock to 2,422 strains. To protect our stocks from disasters, we plan to establish a duplicate frozen stock in the backup facility at the Harima Institute. We transferred 1,461 frozen embryos to this facility in FY2010.

### (3) 提供

これまでに国内2,300名 (309機関)、海外30ヶ国、1,000名 (372機関) の利用者に937系統のマウスを提供し、295編の優れた論文と3件の特許が発表されている。中でも、オートファジの可視化モデルGFP-LC3トランスジェニックマウス (RBRC00806) は世界の146機関に提供され研究に使われている。提供は主に生体マウスとして、その他、凍結胚、凍結胚・精子から作製した生体マウスとして行った。平成22年度には

凍結系統の利用が増加した。遺伝子導入と遺伝子欠損系統が提供数の93%を占めていた (図2)。

### 遺伝子欠損および遺伝子導入系統の多くはこのC57BL/6系統を背景に作製されている。(図2)

Most knockout and transgenic mice have been generated in this C57BL/6 genetic background. (Fig.2)



### (3) Distribution

We have distributed our mouse resources to over 2,300 domestic users (309 organizations) and 1,000 overseas users (372 organizations) in 30 countries, resulting in 295 outstanding papers and 3 patents. Among our collection, the autophagy reporter, GFP-LC3 (RBRC00806), mouse was the most frequently distributed and it has been used at 146 organizations worldwide. Our mice have been distributed as live animals, frozen embryos, recovered litters from frozen embryos, or sperm. The use of frozen strains was significantly increased in FY2010. Ninety-three percent of the distributed mice were genetically modified strains, for example, transgenic and knockout mice (Fig. 2).

### (4) 国際連携

寄託された系統はマウスリソースセンターの国際連盟 Federation of International Mouse Resources (FIMRe) の one-stop データベース International Mouse Strain Resource (IMSR) に、遺伝子トラップES細胞は International Gene Trap Consortium (IGTC) にそれぞれ登録し、世界の研究コミュニティに貢献している。欧州のCre-driverマウスの開発プロジェクトCREATEコンソーシアムならびにアジアのマウス開発・リソース連盟 Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA) とも連携活動を行っている (図3)。

### (4) International Collaboration

As further contributions to the international scientific community, we have disseminated mouse resources developed by Japanese scientists by registering our mouse strains in the International Mouse Strain Resource (IMSR), a one-stop database of the Federation of International Mouse Resources (FIMRe), and our gene-trap ES cells in the International Gene Trap Consortium (IGTC). Moreover, we are collaborating with European coordination efforts (CREATE consortium) to develop novel Cre-driver mice for conditional experiments, and with the Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA) (Fig. 3).

国際連携 (図3)

International Collaboration (Fig.3)



ジャクソン研究所や欧州ミュータントマウスアーカイブEMMAとともに世界のマウスリソース機関のネットワークの設立メンバー。RBRC is a founding member of the Federation of International Mouse Resources (FIMRe) whose goal is to archive and provide strains of mice as cryopreserved embryos and gametes, ES cell lines, and live breeding stock to the research community. <http://www.fimre.org/>



FIMReの加盟機関が保有する世界のマウス系統のone-stop データベースです。BRCはgene-trapクローン713を含む我が国で開発されたマウス3478系統を登録し、世界に発信。RBRC participates the IMSR, a searchable one-stop database of mouse strains available worldwide, including inbred, mutant, and genetically engineered mice. We have registered 3478 strains including 713 gene-trap clones. <http://www.findmice.org/>



BRCのgene-trapクローンは国際ジーントラップコンソーシアムのデータベースに登録し、MGIやゲノムデータベースとリンクしてアレルや遺伝子からクローン検索可能となった。RBRC is a member of the International Gene Trap Consortium and provides 713 UPATrap clones with trapped gene sequence data to scientific community. <http://www.genetrap.org/index.html>



BRCは欧州のCre-driverマウスを開発・整備する国際連携にも参加。RBRC participates the CREATE consortium as an advisory member. CREATE consortium represents a core of major European and international mouse database holders and research groups to develop a strategy for the integration and dissemination of Cre driver strains. <http://www.creline.org/>



アジアの変異マウス開発・マウスリソース保存供給・表現型解析機関の連携に設立メンバーとして参加。RBRC is a founding member and facilitates access to and use of mouse resources for understanding the genome function and improvement of human health in Asia. <http://www.ammra.info/>

平成22年度の成果

Development of Novel Mouse Strains and Technologies in 2010-2011

(1) 新規系統開発

国内11機関の研究者と連携して研究コミュニティで必要とする遺伝子操作マウス376系統を開発した。理研・脳科学総合研究センター・マサチューセッツ工科大学(利根川進教授)との共同研究として脳の垂領域に特異的なCreマウス(162系統)を開発している。

(1) Development of novel strains

In collaboration with 11 domestic research organizations, we have developed 376 new genetically modified strains that are in high demand by the research community. We are also developing 162 sub-region-specific Cre-driver mice in collaboration with Professor Susumu Tonegawa of Massachusetts Institute of Technology and the Brain Science Institute, RIKEN.

(2) SNPによる亜系統の識別法の開発

国際的に最も広く使われている市販のC57BL/6亜系統間の遺伝的な差をSNP解析等により明らかにし、遺伝背景の重要性を研究コミュニティにアピールした。この成果を発表した論文「C57BL/6亜系統の遺伝的相違について(目加田ら)」が「2009年Experimental Animals最優秀論文賞」を受賞した。

(2) Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers to distinguish mouse substrains

We have demonstrated genetic differences among substrains of C57BL/6J mice—the most widely used strain around the

world—by comprehensive SNP analyses, and drew the attention of the scientific community to the importance of the genetic background of this strain. The study entitled “Genetic Differences among C57BL/6 Substrains” by Mekada et al. was published in Experimental Animals 58(2), 141–149, 2009, and this study was acknowledged as “The Most Excellent Paper of the Year, 2009.”

(3) C57BL/6N BACエンドシーケンスの完成

平成22年度のNBRPゲノム情報等整備プログラムとして、遺伝子材料開発室、動物変異動態解析技術開発チーム、国立遺伝学研究所(豊田敦特任准教授)と連携して、C57BL/6NのBAC 12.4万クローンのエンドシーケンスを完成し、ホームページより公開した。

(3) Completion of bacterial artificial chromosome (BAC) end sequencing of the C57BL/6N mouse substrain

In FY2010 we conducted the end sequencing of C57BL/6N BAC clones and registered their sequence data in the DNA Data Bank of Japan (DDBJ) in collaboration with the Gene Engineering Division, Technology Development Team for Mammalian Cellular Dynamics, and the National Institute of Genetics (Dr. Atsushi Toyoda) through the NBRP Genome Information Upgrading Program. Finally, we completed 124,000 BAC end sequences from C57BL/6N, and these data are publicly available through our “Mouse BAC browser.”

(4) 飼育施設の省エネ化

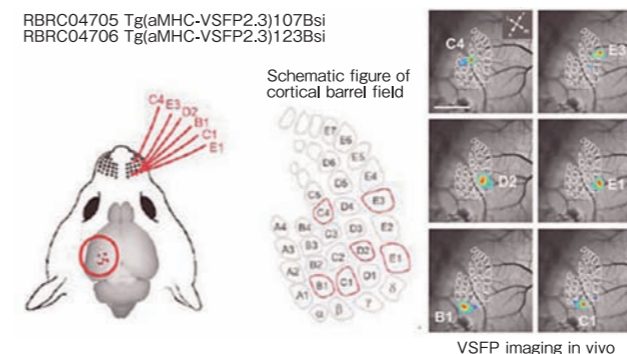
飼育動物、施設業者ならびに地球環境にやさしい動物飼育施設を目標として、マウス飼育施設の省エネ化に関する技術開発を株式会社日立プラントテクノロジーと共同で実施した。

We have conducted collaborative research with Hitachi Plant Technologies, Ltd. on the development of new technologies to save energy at the mouse facility while also ensuring the well-being of animals and workers.

平成22年度のトピックス  
Topics of 2010-2011

VSFP2トランスジェニックマウス (RBRC04705, 04706) は理研・脳科学総合研究センターのKnöpfel博士らにより開発され、寄託された最先端の光遺伝学系統である。新たに開発した電位感受性蛍光蛋白質 VSFP2.3をコードする遺伝子をトランスジェニックによりマウスに導入した。VSFP2.3を脳で発現するマウスの特定のヒゲに刺激を加えると、対応する体性感覚野の神経細胞の活動をVSFP蛍光蛋白の変化として検出できる(図4)。生きた個体で、神経活動の様子をリアルタイムで画像化できるので、精神疾患モデルにおいて神経回路異常の解明が可能になると期待されている。

The VSFP2 mouse (RBRC04705 Tg(aMHC-VSFP2.3)107Bsi, RBRC04706 Tg(aMHC-VSFP2.3)123Bsi) is the most advanced optogenetic transgenic mouse strain generated using a newly developed voltage-sensitive fluorescent protein (VSFP2.3) and was deposited at RIKEN BRC by Dr. Thomas Knöpfel, RIKEN Brain Science Institute. By stimulating a single whisker, the electrical responses of the pyramidal neurons expressing VSFP2.3 in the corresponding somatosensory cortical barrel area can be visualized (Fig. 4). These optogenetic tools, which allow the visualization of neuronal electrical responses in real time, are expected to reveal neural circuit deficiencies in psychiatric disorder models.



RBRC04705 Tg(aMHC-VSFP2.3)107Bsi  
RBRC04706 Tg(aMHC-VSFP2.3)123Bsi

Schematic figure of cortical barrel field

VSFP imaging in vivo

トランスジェニックマウスのヒゲ (C4, E3, D2, B1, C1 and E1) を順次刺激して生じる体性感覚野の神経細胞のVSFPを画像化した。生体内でVSFPが正しく機能していることを示した実験結果。(図4)

Sequential stimulation of single whiskers (C4, E3, D2, B1, C1 and E1) triggered electrical responses of neurons in corresponding cortical area. Imaging of VSFP successfully detected neuronal activities in the corresponding cortical barrel (Nature Methods 7, 646, 2010). (Fig.4)

職員とメンバー構成  
Members

- 室長 [Head of Experimental Animal Division]  
吉木 淳 Atsushi YOSHIKI, Ph.D.
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]  
池 郁生 Fumio IKE, Ph.D.
- 専任技師 [Senior Technical Scientist]  
平岩 典子 Noriko HIRAIWA  
中田 初美 Hatsumi NAKATA, Ph.D.
- 研究員 [Research Scientist]  
目加田 和之 Kazuyuki MEKADA, Ph.D.
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]  
伊集院 麻衣子 MaiKO IJIN 横田 将志 Masashi YOKOTA  
村上 亜弓 Ayumi MURAKAMI 門田 雅世 Masayo KADOTA  
小林 めぐみ Megumi KOBAYASHI 田熊 究一 Kyuichi TAGUMA  
川合 玲子 Reiko KAWAI 橋本 知美 Tomomi HASHIMOTO  
岡本 裕行 Hiroyuki OKAMOTO 平木 弘安 Hiroyasu HIRAKI
- アシスタント [Assistant]  
酒井 智江 Tomoe SAKAI 松村 百合子 Yuriko MATSUMURA
- 連携促進研究員 [Collaboration Research from Industry]  
田中 真 Makoto TANAKA
- ジュニア・リサーチ・アソシエイト [Junior Research Associate]  
冉 玫凌 Mei-Ling, JAN
- 派遣職員 [Agency Staff]  
横山 ちひろ Chihiro YOKOYAMA 大沼 将 Masaru ONUMA  
大場 勇介 Yusuke OBA 齊藤 昭男 Teruo SAITO  
伊藤 絹子 Kinuko ITO 高橋 仁美 Hitomi TAKAHASHI  
長栄 敦 Atsushi CHOEI 高橋 智子 Tomoko TAKAHASHI  
高島 梨香 Rika TAKASHIMA 安井 明美 Akemi YASUI  
大久保 千春 Chiharu OKUBO 梶田 亜矢子 Ayako KAJITA  
小澤 雅司 Masashi OZAWA 安田 浩之 Hiroyuki YASUDA  
上岡 方士 Masashi KAMIOKA 紀藤 雅子 Masako KITO  
大高 直樹 Naoki OTAKA 三森 文 Aya MIMORI  
藤本 智恵 Chie FUJIMOTO 平野 直樹 Naoki HIRANO  
倉岡 潤子 Junko KURAOKA 吉田 千穂子 Kumiko YOSHIDA  
廣瀬 真由 Mayu HIROSE 阪口 真美子 Mamiko SAKAGUCHI  
鈴木 幸代 Sachiyo SUZUKI 平井 敦子 Atsuko HIRAI  
宮川 広美 Hiromi MIYAKAWA 小島 怜子 Reiko KOJIMA  
関 幸子 Yukiko SEKI 新井 富士美 Fujimi ARAI  
目加田 京子 Kyoko MEKADA 深津 智香 Tomoka FUKATSU  
越山 明美 Akemi KOSHIYAMA

