

# 遺伝子材料開発室

Gene Engineering Division

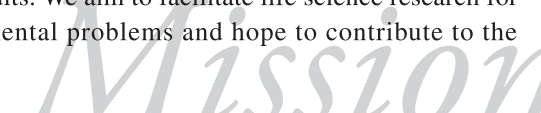


室長 小幡 裕一 (理博)  
Yuichi OBATA, Ph.D.

## ミッションと事業概要

プラスミド、BACなどのクローンセット、組換えアデノウイルス、発現ベクター、宿主などの遺伝子材料は、最も基本的な研究材料であり、基礎から応用までほとんど全てのライフサイエンス研究分野において用いられている。当室では、厳格な品質管理を行い、実験の再現性を確保した信頼性の高いヒト、動物および微生物由来の遺伝子材料を国内外に提供している。このことにより、健康や環境の重要な課題を解決し、人類の持続的発展に貢献することを目指している。

Genetic materials such as plasmids, clone sets of bacterial artificial chromosome (BAC), recombinant adenoviruses, expression vectors, and host bacteria are the most fundamental and essential research tools. They are used in the almost all fields of the life science, from basic to applied researches. The Gene Engineering Division conducts strict quality control on genetic materials and provides domestic and international scientific community with the materials of ensured reproducibility of experimental results. We aim to facilitate life science research for improvement of human welfare and for solution of environmental problems and hope to contribute to the sustainable development of our race.



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

当開発室は昭和62年より理研ジーンバンク事業として活動を開始し、平成13年より理研BRCの発足に伴い遺伝子材料開発室として改組され、さらに平成14年度からは文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)「遺伝子材料」(ヒト、動物および微生物)の中核機関として、遺伝子材料を収集し、品質管理、保存、提供事業を行っている。

Our Division was established in 1987 as the RIKEN Gene Bank. When the RIKEN BioResource Center was established in 2001, the Bank was re-organized as Gene Engineering Division. Since 2002, the Division has been selected as a core facility of DNA resources by National BioResource Project (NBRP) funded by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan for collection, quality control, preservation and distribution of genetic materials of human, animal and microbe origin.

### (1) 遺伝子材料の収集

研究動向を的確に把握し、国内外の大学・研究機関の研究者が開発した遺伝子材料の収集を行っている。このために国内学会発表から遺伝子材料樹立情報を検索し、遺伝子材料の寄託願いを送付している。また、数々の研究成果を生み

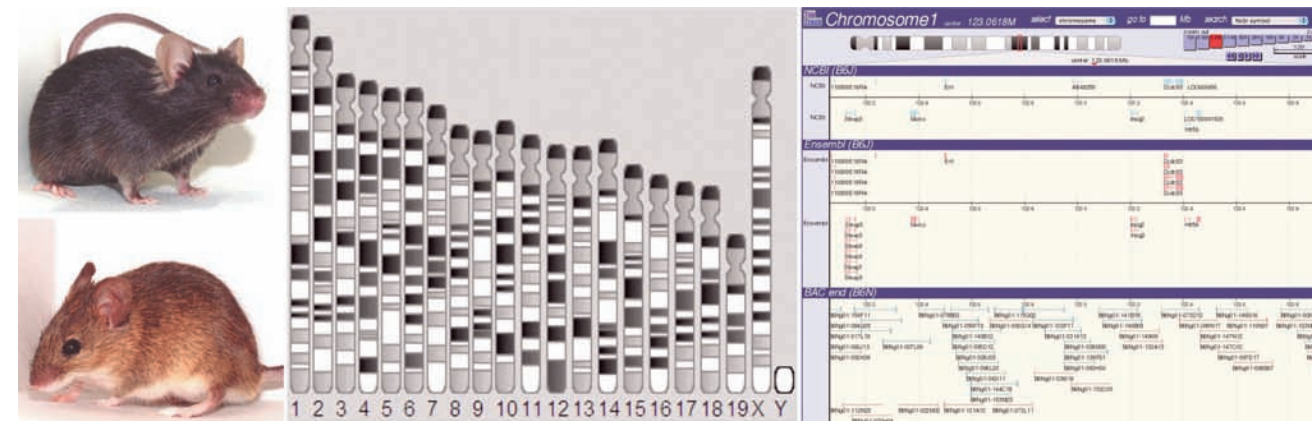
出してきた国家プロジェクトで確立したゲノム研究基盤、バイオリソースの収集も行っている。これらのリソースを研究者が活用することで、基礎研究のみならず、医療・創薬開発にも発展することが期待でき、また研究コミュニティからも要望が大きい。

今年度は、文部科学省「タンパク3000プロジェクト」から好熱性細菌 *Thermus thermophilus* のタンパク質の発現クローン194株を追加で収集した。*T. thermophilus* 由来のクローンは1,865株を収集していたが、今回はこれに収録されていない遺伝子を補充するものである。好熱菌由来の熱安定なタンパク質の立体構造解析や機能解析に役立つものと期待される。

### (1) Collection of Genetic Materials

By comprehending newest trends and needs of life science, we collect genetic materials developed in the domestic and international scientific community. To collect such valuable genetic materials, we ask researchers for depositing their genetic materials at our Division by screening through abstracts of scientific meetings in Japan. We also collected compiled products of the National Projects. Resources offer a valuable opportunity for researchers to make key advancements in basic, medical and pharmaceutical sciences.

In 2010, we collected 194 expression clones of *Thermus thermophilus* which supplement already collected 1,865 of expression clones of *T. thermophilus* of the "Protein 3000



<http://dna.brc.riken.jp/en/NBRPB6Nbacen.html>

標準近交系マウスC57BL/6Nおよび野生マウス由来MSM系統のBACクローンをホームページから発信している(図1)

BAC clones of the standard inbred C57BL/6N and wild-derived MSM strains have been disseminated from our web site (Fig.1)

Project". They offer researchers a powerful tool to study protein structure and function using the heat stable recombinant proteins from the thermophile.

### (2) 遺伝子材料の保存・整備

収集した遺伝子材料は増殖性、制限酵素地図、塩基配列などの品質を確認した後、保存した。アデノウイルスについては力価測定、自律増殖可能アデノウイルスの存在否定試験等の品質管理を行い、超低温槽へ保存した。収集したリソースには約5%に誤り(取違え、突然変異、付随情報の齟齬等)が存在している。これは研究コミュニティで流通、利用されているリソースにおける誤りが反映されているものであり、我が国だけではなく世界的な問題であり、放置されれば研究費、労力、時間の5%が無駄に費やされていることを意味する。遺伝子材料開発室では、品質を確認し、実験の再現性を保証するリソースの整備を進め、研究の効率化に貢献している。

昨年度に引き続きNBRPのゲノム情報等整備プログラムの支援を受け、実質ゲノム被覆率95%を目指し整備を行っていたマウスの国際標準系統C57BL/6NのBACライブラリー(昨年度と併せて12万4千クローン)の整備を完成させた。目的のクローンがインターネット上で検索できるように情報を公開し、世界に先駆けて提供を行っている。C57BL/6Nマウス亜系統は、マウスの標準系統として同系統マウスから作出されたES細胞を利用して、世界的なノックアウトマウスプロジェクトが進行している。しかし、世界的にもこれまでは、他の亜系統であるC57BL/6JのBACライブラリーしか存在せず、実験に利用する材料の遺伝的背景をそろえたいというニーズがあった。今後提供が急増するものと予想している。

### (2) Preservation and Maintenance of Genetic Materials

Prior to preservation, quality of genetic materials are confirmed by growth rate, restriction enzyme mapping and nucleotide sequencing. Furthermore, for example, recombinant adenoviruses are examined for infectious titer and contamination of replication competent adenoviruses.

About 5% of collected clones has some errors such as misidentification of clones, undesirable mutation and wrong information in attached document. This reflects the fact that circulated resource in research community contains 5% of errors and that the problem is not unique to Japan but world-wide. This also means that 5% of money, man power and time for experiment and research is wasted. Our Division provides with the materials of ensured reproducibility of experimental results with our strict quality control.

We completed construction and sequencing a BAC library (124,000 clones to cover 95% of mouse genome) of the C57BL/6N mouse strain by the support from the NBRP Genome Information Upgrading Program. These BAC clones have been available and searchable through the internet browser. The C57BL/6N has become an international standard mouse strain and C57BL/6N ES cell lines are used in the world wide knock out mouse projects. However, only C57BL/6J substrain BAC library was available. Therefore, research communities have been longing for a BAC library derived from the syngenic C57BL/6N.





組換えアデノウイルスの取り扱いに関する技術研修 (図2)  
Training program of adenovirus vector (Fig.2)

### (3) 遺伝子材料の提供

遺伝子材料に加えて、それらに付随する特性情報並びに技術情報もホームページで公開し提供している。平成22年度から提供を開始したC57BL/6NのBACの利用目的のうち、ノックアウトマウス作製が22%、外来遺伝子導入マウスの作製が28%、遺伝子解析が17%であるのに対し、平成16年に提供を開始したマウスMSM/Ms BACではノックアウトマウス作製は2%であった(外来遺伝子導入マウスの作製32%、遺伝子解析30%)。C57BL/6NのBACが、当然ではあるがノックアウトマウス作製での需要がより高いことがうかがえると同時に、両マウスBACクローンが利用目的で適切に使い分けがなされていることが分かる。

### (3) Distribution of Genetic Materials

In addition to genetic materials, associated information and technical comments of genetic materials are also provided via the web site of the RIKEN BRC. In FY2010, we started distribution of C57BL/6N BAC clones. As for purposes of usages of C57BL/6N BAC clone, production of knock out mice accounts for 22 % of usages, generation of transgenic mice for 28 % and analysis of gene structure for 17 %. In contrast among usages of MSM/Ms mouse BAC clones, which has been distributed since 2004, only 2 % was used for production of knock out mice, while generation of transgenic mice for 32 % and analysis of gene structure for 30 %. This fact suggests that the C57BL/6N BAC is in demand in generation of knock out mice and that these BACs are properly used by the research community as they have different feature in the research use.

## 平成22年度の成果 Development of Technology in 2010-2011

植物バイオマス原材料として新材料を創造するバイオプロセス開発に関心が高まる中、遺伝子材料開発室ではバイオマス利用に使用される酵素などの遺伝子の収集と評価を行った。木質バイオマスを分解し、糖化する過程に関わる酵素について、微生物材料開発室(JCM)が保有する糸状菌 *Trichoderma reesei* ならびにシロアリの共生原生動物 (*Spirotrichonympha leidyi*, *Holomastigotoides mirabile*, *Pseudotriconympha grassii*) から19遺伝子、34クローンをJCMと共同で樹立した。現在、提供開始に向けた品質管理検査を行っている。

Needs and interest for the development of bioprocess of novel materials from plant biomass have been growing. Our Division began collecting and evaluating genetic materials that code enzymes utilized for the bioprocess such as saccharification process of plant biomass. We have collected 34 clones corresponding to 19 genes of filamentous fungi *Trichoderma reesei* and symbiotic in the intestines of termites (*Spirotrichonympha leidyi*, *Holomastigotoides mirabile*, *Pseudotriconympha grassii*) by the collaboration with the RIKEN BRC Microbe Division (Japan Collection of Microorganisms: JCM). These clones will be available soon for distribution after quality control and preservation.

## 平成22年度のトピック Topics in 2010-2011

「ゲノムネットワークプロジェクト」から収集した、ヒトの全遺伝子の6割に相当する14,000遺伝子、約30,000クローンのヒト完全長cDNAの提供を開始した。加えて、このヒト完全長cDNAコレクションから抜粋した6,300遺伝子をGateway® エントリーベクターに挿入した約50,000クローンも提供している。Gateway® テクノロジーは、ベクターに組込まれた遺伝子を別のベクターに簡単に移し替えることができる技術であり、一つの方法から出発して様々な実験用途に応用できる利点があり、多くの研究で用いられている。理研BRCは、ライフテクノロジーズ社とライセンス契約を締結し、哺乳動物のcDNAが組込まれたGateway® 発現クローンは、利用者が極めて低額のライセンス料を支払うことで、また哺乳動物以外のcDNAが組込まれたGateway® 発現クローンおよびcDNAが組込まれたあらゆるGateway® エントリークローンについては学術機関は無償で利用できることを実現し、Gateway® テクノロジーを用いた多くのクローンが死蔵されることなく、寄託・提供されることを可能とした。

We started to distribute 30,000 full-length human cDNA clones, corresponding to 14,000 genes covering 60% of the entire human genes and 50,000 Gateway® entry clones containing 6,300 full-length human cDNA clones, which were deposited by the MEXT "Genome Network Project". The Gateway® technology offers researchers powerful tools and advantages that an insert sequence of gene can be moved easily from one vector to others. RIKEN BRC has concluded a license agreement with the Life Technologies Corporation. By the generosity of the Life Technologies Corporation, the Gateway® Expression clones harboring mammalian cDNA can be distributed from the RIKEN BRC to non-profit academic research with small amount of royalty. The Gateway® Entry clones harboring cDNA and the Gateway® Expression clones harboring non-mammalian cDNA can be distributed to non-profit academic research without any royalty. We have opened a path of the deposition to and provision from the RIKEN BRC of any genetic materials produced using the Gateway® technology including those of Genome Network Project.

### 職員とメンバー構成 Members

- 室長 [Head of Gene Engineering Division]  
小幡 裕一 Yuichi OBATA, Ph.D.
- 専任研究員 [Research Scientist]  
村田 武英 Takehide MURATA, Ph.D.
- 協力研究員 [Contract Researcher]  
中出 浩司 Koji NAKADE, Ph.D.
- テクニカルスタッフI [Technical Staff I]  
岸川 昭太郎 Shotaro KISHIKAWA, Ph.D.
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]  
山崎 孝仁 Takahito YAMASAKI  
益崎 智子 Satoko MASUZAKI  
久次米 夕佳里 Yukari KUJIME  
酒寄 めぐみ Megumi SAKAYORI  
大久保 将人 Masato OKUBO  
栗原 千登勢 Chitose KURIHARA
- アシスタント [Assistant]  
上野 和子 Kazuko UENO
- 客員研究員 [Visiting Scientist]  
安部井 誠人 Masato ABEI, M.D., Ph.D.  
潘 建治 Jianzhi PAN, Ph.D.  
山口 直人 Naoto YAMAGUCHI, Ph.D.  
横山 一成 Kazushige YOKOYAMA, Ph.D.  
濱田 洋文 Hirofumi HAMADA, M.D., Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]  
長谷川 直之 Naoyuki HASEGAWA
- 派遣職員 [Agency Staff]  
草 由香 Yuka KUSA  
金原 明代 Akiyo KIMPARA  
坂本 優 Yutaka SAKAMOTO
- パートタイマー [Part-Timer]  
木村 明子 Akiko KIMURA  
佐藤 弘子 Hiroko SATO  
高原 祐子 Yoko TAKAHARA  
中島 緑 Midori NAKAJIMA  
藤澤 久江 Hisae FUJISAWA  
勝谷 敦子 Atsuko KATSUYA  
平栗 麻奈美 Manami HIRAGURI  
古谷 昭江 Terue FURUYA  
服部 ひとみ Hitomi HATTORI  
町田 由紀 Yuki MACHIDA

