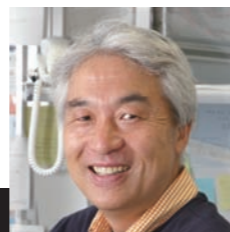


動物変異動態解析技術開発チーム

Technology and Development Team for Mammalian Cellular Dynamics



チームリーダー 阿部 訓也 (理博)
Kuniya ABE, Ph.D.

ミッションと事業概要

我々のチームは、理研BRCに収集された生物遺伝資源がどのような生物学的特徴、遺伝的性質を有しているかについて、系統個々の特性を解析するための新しい技術、実験ツールやリソースの開発を行ない、これによりバイオリソースの高度化、利用の促進を図ることを目標としている。

このため、我が国で開発されたマウス系統から新規リソースを開発することに加え、機能ゲノム解析技術、遺伝子発現解析技術、表現型可視化技術の開発を行っている。これらの技術を用いて、哺乳類の初期発生・生殖細胞形成プロセス、その過程でおきるゲノム再プログラム化に焦点を置いた研究開発も行っている。

Aim of our team is to develop technologies and experimental tools/ resources for characterization of 'genotype, phenotype and epigenotype' of biological resources. Through these efforts, we would extend utilities of bioresources collected at RIKEN BRC and facilitate research in the fields of life science. Toward this goal, our team takes various approaches including genetics, functional genomics, and bioimaging. Using these technologies, we focus on processes of development and epigenetic reprogramming of pluripotent embryonic cells and germ cells in mice.

Mission

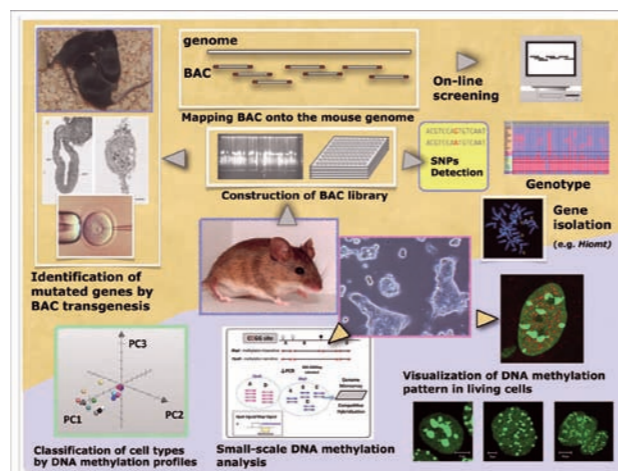
平成22年度の成果

Development of Technology in 2010-2011

(1) BACリソースを用いた機能ゲノム解析技術の開発

バイオリソースの遺伝子型、遺伝的背景の解析のために、これまで各種リソースから高品質のBAC (Bacterial Artificial Chromosome) ゲノムライブラリーの作製を行ってきた。例えば、日本産亜種マウスであるMSM/Ms系統からのBACリソースを元にして、系統特異的な塩基遺伝子多型 (SNP) の収集や標準系統由来のライブラリーでは単離することができなかった偽常染色体領域のゲノムクローンの単離に成功した。マウスでは偽常染色体領域の配列・構造が未知であったため全く研究が進展していなかったが、この領域を研究するためのゲノムリソースを整備できたので、今後この分野の研究が飛躍的に進展すると期待される。

また、BACトランスジェネシスによる変異責任遺伝子の単離などへ研究開発を展開してきた。この手法を用いて「行動的絶望」を制御する遺伝子や、マウス17番染色体近位に位置する μ -コンプレックス領域から、 tw^5 変異責任遺伝子の単離に成功した。 tw^5 遺伝子は胚性多能性細胞の増殖・分化を制御する細胞間相互作用に関与しており、発生分化や幹細胞生物学分野の研究に重要な知見を与えるものと考えられる。さらに、BRC内の共同研究開発として、世界標準系統として利用されているC57BL/6N系統のBACライブラリーを作製し、NBRP



の支援を受け、BACクローン末端の配列決定を実施し、オンラインでクローンを検索可能なシステムの構築を行った。

(1) Functional genomic analyses using BAC resources.

For characterization of 'genotype or genetic background' of biological resources, we have been using BAC (bacterial artificial chromosome) resources derived from various materials. For example, we had constructed the library from the Japanese wild mouse strain, MSM/Ms, and retrieved numerous single nucleotide

polymorphisms (SNPs), which in turn used for characterization of genomes of standard laboratory strains. Recently, by screening the MSM library, we have isolated mouse *Hiomt* (hydroxyindole O-methyltransferase) gene which have not been found in public genome database based on C57BL/6J genomic sequences. Intriguingly, the BAC clone mapped to pseudoautosomal region (PAR). Structure or genomic sequence of the PAR is completely unknown in mice, and only partially known in human. This valuable genomic resource should facilitate future studies on the PAR in mice. We have also taken BAC transgenesis approach to identify mutated genes such as *Usp46* regulating "behavioral despair" or the responsible gene for embryonic lethal mutation, tw^5 , mapped in t-complex of mouse chromosome 17. The tw^5 gene is required for cell-cell interactions regulating growth and differentiation of pluripotent embryonic cells. Knowledge obtained from this study will contribute to developmental biology as well as stem cell biology. As a collaborative effort within RIKEN BRC, we have constructed the first BAC library of the current, world-standard strain, C57BL/6N, determined BAC end sequences by supports from NBRP (National BioResource Project), and made on-line browser for the BAC clones open to the public.

(2) 微量エピゲノム解析技術の開発

近年、DNAメチル化やヒストン修飾などの“エピジェネティック”な制御がライフサイエンス研究の非常に重要な分野となっている。我々はこれまで、生細胞でのDNAメチル化パターンを可視化するイメージング技術等の確立を行ってきた。この手法は、個々の細胞におけるグローバルなメチル化状態を追跡可能なユニークな手法である。今年度はこれに加えて、少数細胞において、実際にどのような配列で、DNAメチル化の変化が生じているかをゲノムワイドに解析する技術の確立を試みた。その結果、これまで報告された手法 (例えば、Khulan et al., 2006) に比べ約1/500の材料 (1,000個以下の細胞) で解析可能な微量技術を世界に先駆けて確立することができた。この手法を用いて、各種幹細胞や胚体由来の希少細胞のDNAメチル化プロファイルの取得に成功した。この技術は遺伝子発現制御やゲノム再プログラム化過程の研究はもとより、細胞リソースの品質管理にも有効に利用できると期待される。

(2) Development of small scale technique for the analysis of genome-wide DNA methylation profile.

Modulations of the genome by DNA methylation or histone modifications are important mechanism involved in gene expression regulation. Studies on this "epigenetic" regulations become more and more important currently in many fields of life sciences. We have previously established a novel experimental system, enabling us to observe changes in global DNA methylation of living cells. Currently we have developed a microarray-based method for genome-wide analysis of DNA methylation in minuscule number of cells by improving the method reported by Khulan et al. (2006). We could start the analysis with 1/500 of the material needed for the original

職員とメンバー構成 Members

- チームリーダー [Team Leader]
阿部 訓也 Kuniya ABE, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
三瀬 名丹 Natan MISE, Ph.D.
杉本 道彦 Michihiko SUGIMOTO, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
志浦 寛相 Hirotsuke SHIURA, Ph.D.
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]
杠 美佐子 Misako YUZURIHA
近藤 昌代 Masayo KONDO
池田 理恵子 Rieko IKEDA
- 客員研究員 [Visiting Scientist]
加藤 英政 Hidemasa KATO, Ph.D.
- 訪問研究員 [Visiting Researcher]
沼田 興治 Koji NUMATA, Ph.D.
- 国際特別研究員 [Foreign Postdoctoral Researcher]
曹 麗琴 Cao Liqin, Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]
今井 早希 Saki IMAI
- 派遣職員 [Agency Staff]
草山 美和子 Miwako KUSAYAMA
古賀 裕美子 Yumiko KOGA
- パートタイマー [Part-Timer]
藤井 和人 Kazuto FUJII

