

マウス表現型解析開発チーム



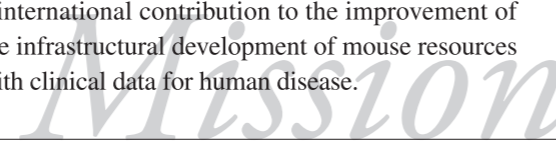
Technology and Development Team for Mouse Phenotype Analysis: Japan Mouse Clinic

チームリーダー 若菜 茂晴 (農博)
Shigeharu WAKANA, Ph.D.

ミッションと事業概要

マウス表現型解析開発チームは、ヒト疾患の病態の理解に基づいて400に及ぶ検査項目を含んだ体系的かつ網羅的な表現型解析プラットフォームを構築し、リソースの付加価値をより一層向上させ、マウスリソースの整備および知的基盤整備に寄与する。さらに国際マウス表現型解析コンソーシアム (IMPC: International Mouse Phenotyping Consortium) に参加して、マウス表現型解析整備事業について国際貢献する。

We have constructed a systematic and comprehensive phenotypic platform including about 400 items based on an understanding of human disease, and have performed various phenotypic analysis using mouse resources deposited mainly at RIKEN BioResource Center. New phenotypes that can be used as models to evaluate human disease are expected to be found among these mouse resources by the Japan Mouse Clinic. We cooperating with the international large-scale projects to analyze mouse phenotypes including Asian mouse phenotype facilities, and plan to participate the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) for the international contribution to the improvement of mouse phenotypic analyses. Furthermore, we are contributing to the infrastructural development of mouse resources to upgrade the added value by correlating mouse phenotypic data with clinical data for human disease.



平成22年度の成果

Development of Technology in 2010-2011

(1) マウスクリニックシステムの確立

検査依頼の受付、検査マウス系統の導入から生産、網羅的検査、さらにデータの解析と外部へのデータ開示までの一連の体制を確立した。なお、日本マウスクリニックの検査体制は疾患モデル評価研究開発チームと共同で運営されている。

①検査動物導入体制

検査用マウスの微生物的・遺伝学的・飼育環境の整備を実施した。外部機関からのマウス導入においては、雄個体からの新鮮精子を用いた体外受精や、凍結胚による胚移植により個体の導入を行った。導入後の個体は微生物クリーニングを実施し、導入遺伝子の確認と同時にゲノムスキャンニングによる遺伝的背景のチェックを実施した。その後、必要に応じて戻し交配によるコンジェニック化、あるいは未成熟雄個体由来の円形精子細胞を用いた顕微授精による超迅速コンジェニック化を行った後、各性・各Genotypeとも10匹となるようマウス生産を行った。

②マウスクリニック検査体制

基本検査パイプライン (Fig. 1) と行動検査パイプライン (Fig. 2) によって構成されている。

③マウスクリニック検査実績

日本マウスクリニックでは平成22年度までに100系統のマウス導入を行い、うち75系統についてマウスクリニック検査を終了した。

(1) Establishment of a system for the Japan Mouse Clinic system

We have established a system for the Japan Mouse clinic based on a sequential process: receipt of an examination request, introduction and production of mouse resources, comprehensive phenotypic examinations, phenotypic data analyses, and publication of the data to our website.

①Systematic introduction and production of mice for the Japan Mouse Clinic

We have established a system for introducing mice to the Japan Mouse Clinic based on microbiological, genetic and mouse housing conditions. The introduction of mice to the facility is performed by in vitro fertilization (IVF) using fresh or cryopreserved sperm from a male or cryopreserved embryo. We also perform whole genome scan to check the genetic background of the mice. Finally, congenic mouse strains with a uniform genetic background are produced, and a total of 60 mice (10 males and 10 females for each of the mutant homozygote, heterozygote and wild-type genotypes) are selected for the phenotypic platform

②Construction of a pipeline for 'Fundamental screening' and 'Behavioral screen' in the Japan Mouse Clinic

We have constructed a "phenotypic platform pipeline 1" in the Japan Mouse Clinic for 'Fundamental screening' (Fig. 1). For a behavior-oriented pipeline 2, a multidirectional assay platform is generally necessary to assess behavioral characteristics. We

Screens	Methods	Screened																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
P1-01 Behavior	Open-field test																	
P1-02 Morphology/Behavioral/Screening	Modified-SHRPA																	
P1-03 Hematology/Clinical Chemistry	Hematological test/Urinalysis																	
P1-04 Pathology	Clinical biochemical test																	
P1-05 Behavior	Rota-rod test																	
P1-06 Sensory	ABR/Auditory brainstem response																	
P1-07 Metabolism	IT/Tripin tolerance test																	
P1-08 Metabolism	OGTT/Oral glucose tolerance test																	
P1-09 Muscular	Lactate measurements in blood																	
P1-10 Metabolism	Adipocytokine and clinical biochemical test																	
P1-11 Sensory	Funduscopy																	
P1-12 Sensory	ERG/Electroretinography																	
P1-13 Cardiovascular	Heart pressure																	
P1-14 Metabolism	Body fat percentage and Bone Mineral Density (DEXA)																	
P1-15 Cardiovascular	ECG/Electrocardiography																	

The workflow of pipeline 1 in Japan Mouse Clinic - Fundamental screen- (Fig. 1)

have established an additional pipeline that is oriented toward behavioral characterization (Fig. 2).

③Results of the Japan Mouse Clinic

A total of 100 lines had been introduced to the Japan Mouse Clinic as of February 2011. A total of 75 lines have completed platform testing in the Japan Mouse Clinic.

(2) マウス表現型公開データベース開発

本年度は公開データ自動作成アプリケーションの開発を行い、データ作成から表現型情報の公開、閲覧までの一連のシステムが完成した。このシステムを活用し、クライアント依頼系統5件について最終表現型解析結果を報告した。同時にBRC寄託13系統について日本マウスクリニックホームページを介して表現型情報の外部公開を行った。

(2) Development of a database providing phenotypic information from the Japan Mouse Clinic

We have developed an application called "Pheno-Pub", which shows the phenotypic information of various mouse resources screened at the Japan Mouse Clinic (<http://phenopub.brc.riken.jp/>). We have also developed an automatic sorting system for the published data. This application has enabled the quick compilation of phenotypic data, including statistical results and graphic charts, for all the test items.

(3) 技術開発

①超迅速コンジェニックマウス作製法の開発

未成熟雄個体由来の円形精子細胞を用いた顕微授精による生産期間の短縮化、およびマーカーアシストによるコンジェニックの効率化を実現した超迅速コンジェニックマウス作製法を確立した。

②C57BL/6J 精子凍結融解後の受精能改善法の開発

C57BL/6J凍結精子の新規融解方法および精子前培養液を開発し、簡便性、安定性、そして汎用性の優れた生産系を確立した。また、この方法が他系統においても効果のあることを確認した。

③ゲノムスキャンニングシステムの開発

常染色体・X染色体のみならずY染色体上とミトコンドリアDNA上のSNPsマーカー及びベクター由来の導入遺伝子の有無を確認可能な計192マーカーから構成されたホールゲノムスキャンニングシステムを確立した。これによって迅速に遺伝背景を検出可能になった。

(3) Technology development supporting the Japan Mouse Clinic

Screens	Methods	Age(weeks)																
		7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17						
P2-01 Behavior	Light-dark transition																	
P2-02 Behavior	Open-field test																	
P2-03 Behavior	Rota-rod test																	
P2-04 Behavior/Neurology/Psychiatry	Home-cage activity test																	
P2-05 Behavior/Neurology/Psychiatry	Passive avoidance test																	
P2-06 Behavior/Neurology/Psychiatry	Tail suspension test																	
P2-07 Behavior/Neurology/Psychiatry	Hot-plate test																	
P2-08 Behavior/Neurology/Psychiatry	Tail-flick test																	

The workflow of pipeline 2 in Japan Mouse Clinic - Behavioral screen - (Fig. 2)

①Development of the accelerated construction of congenic strains using reproductive technologies

We have developed an accelerated system for developing congenic strains using round spermatid injection reproductive technology and a whole genome scan of the genetic background.

②Establishment of a new reliable sperm freezing/thawing system for the C57BL/6 strain

Most genetically engineered strains are maintained on a C57BL/6 (B6) genetic background. We have developed a new reliable sperm freezing/thawing system for the B6 strain.

③Whole Genome Scanning system for checking the genetic background of mice

We have developed a SNPs-based whole genome scanning system to check the genetic background of mouse strains. The system consists in 192 SNP markers, including Y chromosome, mitochondrial DNA markers and introduced Genes, using TaqMan MGD technologies.

職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
若菜 茂晴 Shigeharu WAKANA, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
金田 秀貴 Hideki KANEDA, Ph.D.
古瀬 民生 Tamio FURUSE, Ph.D.
鈴木 智広 Tomohiro SUZUKI, Ph.D.
- 開発技師 [Technical Scientist]
小林 喜美男 Kimio KOBAYASHI 三浦 郁生 Ikuo MIURA
山田 郁子 Ikuko YAMADA
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]
串田 知子 Tomoko KUSHIDA 池田 恭子 Kyoko IKDA
尾崎 藍 Ai OZAKI 鈴木 智草 Chigusa SUZUKI
中村 千佳 Chika NAKAMURA 篠木 晶子 Akiko SHINOBU
西村 静佳 Shizuka NISHIMURA
- アシスタント [Assistant]
佐谷 昌子 Masako SAYA 神谷 直美 Naomi KAMIYA
- 派遣職員 [Agency Staff]
白田 大輝 Daiki USUDA 小澤 恵代 Yasuyo KOZAWA
森田 千春 Chiharu MORITA
- パートタイマー [Part-Timer]
柏村 実生 Mishi KASHIMURA 木村 京子 Kyoko KIMURA