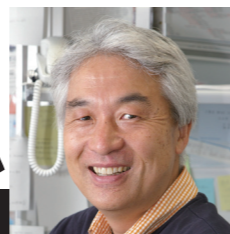


# 動物変異動態解析技術開発チーム

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、バイオリソースセンター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23年度の成果

### Development of Technology in 2011-2012

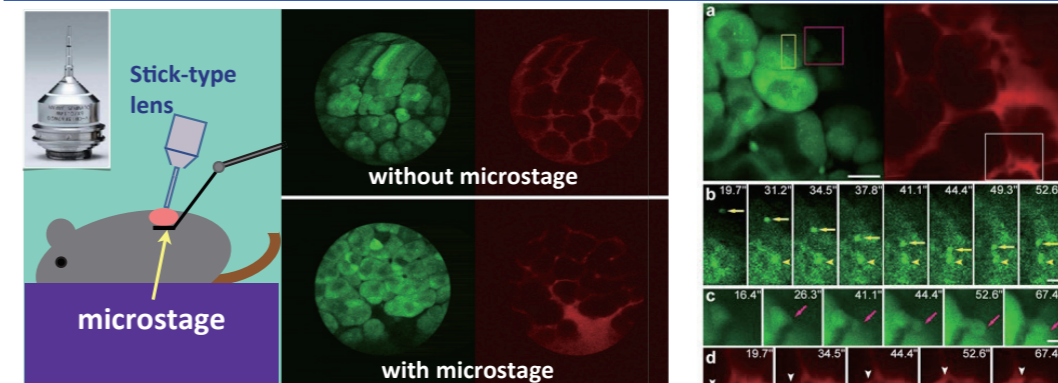
#### (1) *in vivo*レーザー顕微鏡とマイクロステージを用いたマウス生体内臓器の高精細イメージング

生きた生物個体内の生命現象を直接リアルタイムで観察する生体内イメージング (intravital imaging) は、ライフサイエンスの各分野を革新するポテンシャルを持つ重要な技術として期待されている。しかし、生体に付き物である呼吸、拍動や脈動によって引き起こされる画像の「ぶれ」が大きな障害となるため、生体内の細胞やその内部の構造などの非常に小さな観察対象の画像取得は技術的に大変難しく、特に、肝臓、腎臓、膵臓などの腹部臓器の細胞、細胞内小器官を高解像度で、長時間観察することは殆ど不可能であった。そこで、われわれは、マイクロステージと呼ぶ臓器の保定器具を考案し、これを用いることにより、ダメージを与えることなく、臓器の動きを効果的に低減することに成功した。この技術とオリンパスが開発した直径1.3mmの針状レンズを装備した *in vivo* レーザー顕微鏡 IV100 を組み合わせることにより、腹部臓器の細胞内小器官の高精細画像の取得、その定量的な解析、細胞内プロセスのリアルタイム観察や3次元画像構築を行うことが初めて可能となった。したがって、このイメージング技術によりこれまで未知であった腹部臓器の生理反応や疾患に関連した現象を観察、解析することが可能となると思われる。

#### (1) High Resolution Intravital Imaging of Subcellular Structures of Mouse Abdominal Organs Using a Microstage Device

Intravital imaging has potentials to revolutionize many fields of life sciences including neurobiology, immunology and oncology, etc. However, the application of this powerful technology in studies of abdominal organs has long been impeded by organ motion caused by breathing and heartbeat. Here we describe for the first time a simple device designated 'microstage' that effectively reduces organ motions without causing tissue lesions. Combining this microstage device with an upright intravital laser scanning microscope equipped with a unique stick-type objective lens developed by Olympus Co., the system enables subcellular-level imaging of abdominal organs in live mice. We demonstrate that this technique allows for the quantitative analysis of subcellular structures and gene expressions in cells, the tracking of intracellular processes in real-time as well as three-dimensional image construction in the pancreas and liver of the live mouse. As the aforementioned analyses based on subcellular imaging could be extended to other intraperitoneal organs, the technique should offer great potential for investigation of physiological and disease-specific events of abdominal organs.

## Establishment of intravital imaging technology: Reduction of motion artifacts by 'Microstage'



Intravital imaging setup with stick lens and microstage

Suppression of image distortion (pancreas) by using the microstage

Observation of subcellular structures: autophagosome movement in pancreatic acinar cells

新しい生体イメージング技術の確立: マイクロステージ による画像安定化  
特殊スティック対物レンズとマイクロステージを用いた高精細生体イメージング

#### (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おり、またバイオリソースの性状解析の有用な指標として利用されるものと考えられる。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や、少数細胞のゲノムDNAのどの配列でメチル化の変化が生じているかを解析するためのマイクロアレイを用いた技術の確立を行ってきた。今年度は、その技術の改良版として、超並列シーケンサーを用いて、より低コストかつ包括的な解析が可能となる新しい技術の開発を行った。現在、この手法を用いて、胚細胞でのゲノム再プログラム化過程におけるエピゲノム動態解析を行うとともに、各種幹細胞のエピジェネティック特性情報の取得を実施している。

(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, and a microarray-based method for genome-wide analysis of DNA methylation in minuscule number of cells. We have further improved the latter method by applying massively parallel sequencing technology. We are currently investigating dynamics of epigenome changes during the process of genome reprogramming in embryonic cells, and collecting epigenomic information characteristic to various stem cells, which will be used for quality control of these cellular resources.

## 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]  
杉本 道彦 Michihiko SUGIMOTO, Ph.D.  
沼田 興治 Koji NUMATA, Ph.D.
- 基礎科学特別研究員 [Special Postdoctoral Researcher]  
志浦 寛相 Hirotsuke SHIURA, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]  
近藤 昌代 Masayo KONDO  
池田 理恵子 Rieko IKEDA  
古賀 裕美子 Yumiko KOGA
- 研究支援/パートタイマー [Part-timer 1]  
曹 麗琴 Cao Liqin, Ph.D.
- 研究生 [Research Fellow]  
三瀬 名丹 Natan MISE, Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]  
川瀬 勇一郎 Yuichiro KAWASE
- アシスタント [Assistant]  
草山 美和子 Miwako KUSAYAMA

