

室長 Head

吉木 淳 (農博)
Atsushi YOSHIKI, Ph.D.



実験動物開発室 Experimental Animal Division

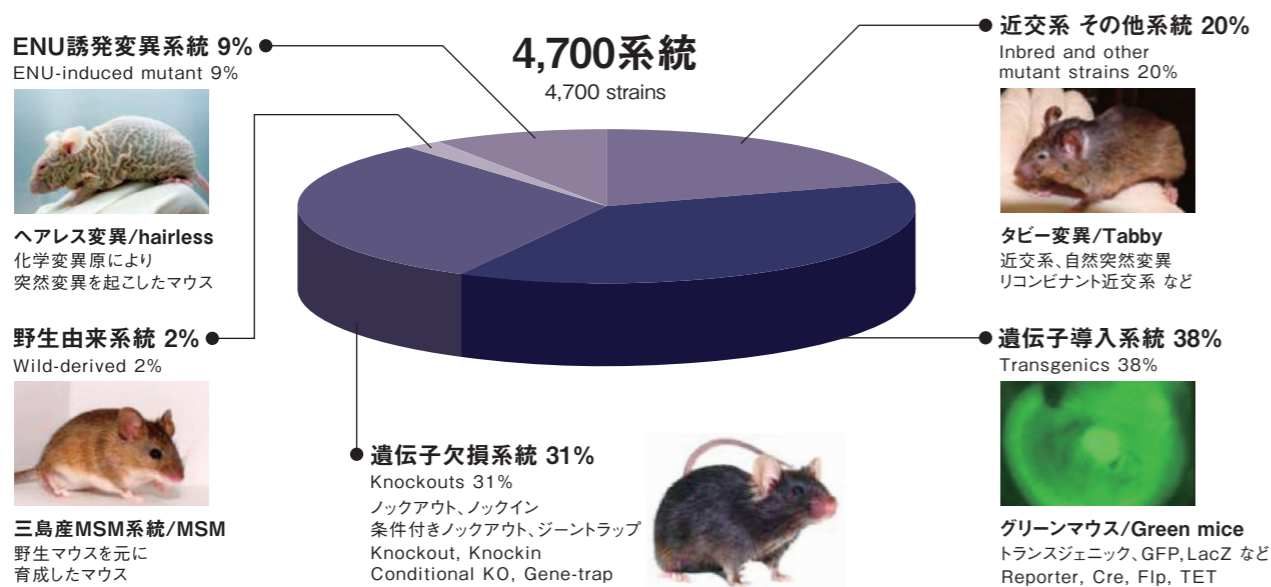
ミッションと事業概要 Mission

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に役立っている。実験動物開発室のミッションは、我が国で開発されたヒト疾患や遺伝子機能解析のためのモデルマウスを収集・保存・品質管理・提供し、また、マウスの収集・保存・品質管理・提供に必要な関連技術の開発を実施することである。研究コミュニティのニーズにこたえて高品質なマウスシステムの整備を進め、国内外のライフサイエンス研究の推進に貢献している。

Mice are the most useful animal models to develop novel drugs and treatments for complex diseases in humans. The primary mission of the Experimental Animal Division is to collect, preserve, conduct quality control, and distribute mouse models for human diseases and studies of gene functions. Another important mission is to develop relevant technologies necessary to support the primary mission. Our division plans to establish high-quality mouse strains in response to the needs of the research community and contribute to the worldwide promotion of life sciences.

理研BRCの収集マウス系統 (図1)

Various mouse strains collected at RIKEN BRC (Fig.1)



遺伝子改変の多くはC57BL/6背景 Most genetically-modified strains are of the C57BL/6 background

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

(1) バイオリソースの収集

国内の大学、公的研究機関、企業からヒト疾患モデル及び遺伝子機能の解析モデルを収集した(図1)。特にiPS細胞関連系統、細胞周期を蛍光蛋白で可視化したFucciマウス等の可視化モデル(図2)、遺伝子発現制御の可能なTET、Cre及びFlpトランスジェニックマウスは先導的なモデルとしてライフサイエンス研究の推進に重要な役割を果たす系統である。NBRP第1期のフォローとして基礎生物学研究所、国立遺伝学研究所および三菱化学生命科学研究所胚バンクからマウス凍結胚の寄託を受け入れた。我が国で開発された系統を収集することにより、世界第2位の規模のマウス保有数となった。さらに、NBRP基盤技術開発プログラムの支援により奈良先端大・石田博士の開発したUPAトラップES細胞、C57BL/6N等の近交系マウスより樹立したES細胞、さらにiPS細胞を細胞材料開発室と連携して収集した。

(1) Collection

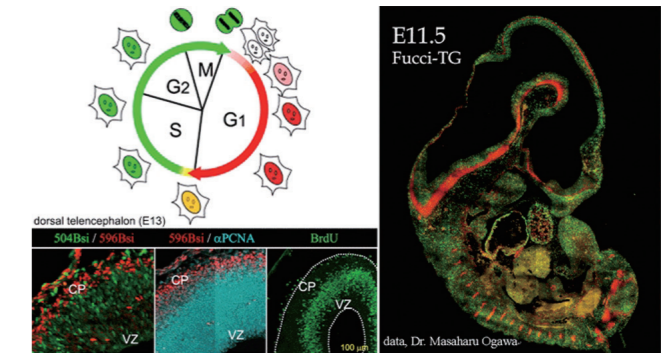
We have collected advanced mouse models for human diseases and gene functions from universities and public and private research institutions (Fig.1). Those mice include induced pluripotent stem cell (iPS)-related strains, fluorescent reporter strains, such as Fucci mice that can be used to visualize the cell cycle (Fig. 2), and TET, Cre, and Flp mice to activate or inactivate gene expression in a spatiotemporal manner, and these mouse models will play important roles in the promotion of life sciences. As a follow-up to the phase I developmental program of the National Bio-Resource Project (NBRP), we have collected a large number of frozen mouse embryos of genetically engineered strains from the National Institute for Basic Biology, the National Institute of Genetics, and the Mitsubishi Kagaku Embryo Bank, becoming the second largest mouse repository in the world. Moreover, we have collected the UPA gene-trap embryonic stem (ES) cell clones created by Dr. Yasumasa Ishida, with the support of the NBRP program, and mouse ES and iPS cell lines of inbred strains in collaboration with the Cell Engineering Division.

(2) バイオリソースの保存・品質管理

検疫施設で外部機関より寄託されたマウスの病原微生物の検査を実施し、マウス肝炎ウイルス、肺バクテリヤ、Helicobacter hepaticus、腸管内原虫、蟻虫、外部寄生虫を検出した。これら寄託系統は微生物汚染を帝王切開または胚移植により全て除去し、高度なSPFマウスとして保存した。遺伝子操作系統はKO-survey PCR法により導入遺伝子を網羅的に検査し、遺伝品質と組換え生物の正確な情報を整備した。遺伝子操作系統の遺伝子型を判定するPCR検査についても最適化したプロトコルを作成し、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

細胞周期を可視化するFucciマウス(図2)

Cell-cycle indicator Fucci mice (Fig.2)



発生期のダブルトランスジェニックマウスの脳組織と胎児の断面。細胞周期に応じて核が緑色または赤色の蛍光を示す。

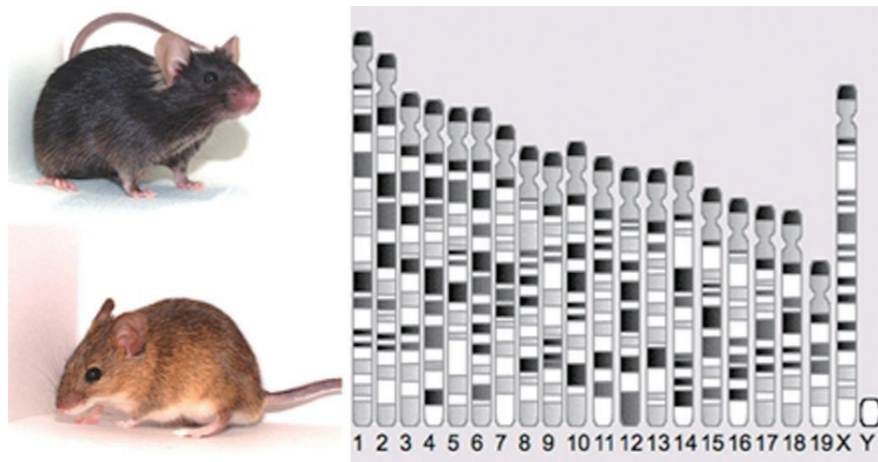
The double transgenic mice enabled visualization of cell-cycle progression with green or red fluorescence depending on the cell-cycle of each cell.

して汎用系統の表現型解析を実施し、結果をホームページより公開した。こうした高品質管理により我が国の動物実験の質向上に貢献した。

需要の多い系統および凍結・融解・移植の成績の低い系統は生体として維持し、需要の少ない系統は凍結胚・精子を作製して、大型液体窒素タンクに保存した。マウス系統の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。胚凍結には主に体外受精により作製した2細胞期胚を用いて、Ethylene Glycol, Ficoll, Sucrose (EFS)を耐凍剤としたガラス化法により凍結した。遺伝子操作系統や突然変異系統については凍結精子による保存も実施した。精巢上部尾部より採取した精子を18% ラフィノースと3%スキムミルクを含む水溶液に懸濁しストローに封入して凍結した。今年度は新規に524系統の胚・精子を凍結し、累計2,057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645系統の凍結胚を移管した。

(2) Preservation and quality control

We examined all deposited mice from other organizations at our quarantine facility for pathogenic agents and detected mouse hepatitis virus, Pasteurella pneumotropica, Helicobacter hepaticus, intestinal protozoa, pinworm, and ectoparasites. All of these pathogenic agents were eliminated using cesarean section or embryo transfer, and our stocks are maintained as specific pathogen-free mice of high-quality. We examined genetically modified mice for their multiple transgenes using knock-out (KO)-survey PCR, leading to the establishment of high-quality genetically modified mouse strains with accurate information on their genetic modifications. We have established optimized PCR protocols for these genetically modified strains and have made these protocols available through our website. In collaboration with the Japan Mouse Clinic, our strains have been phenotyped through the standardized phenotyping pipeline and this data is available on our "Phenopub" website. Our division has thus



(図3) 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。

(Fig.3) BAC clones of the standard inbred C57BL/6N and wild-derived MSM strains have been disseminated from our web-site.

raised the quality of animal experiments in Japan through our quality control programs.

Strains of mice with a high demand or with a low survival rate following cryopreservation are maintained as live mice, while lower demand mice are preserved as frozen embryos or sperm and are stored in liquid nitrogen. The cryopreservation of embryos and sperm has been conducted in collaboration with the Bioresource Engineering Division. Embryo freezing has been conducted mainly by using in vitro fertilized 2-cell embryos in a vitrification solution containing ethylene glycol, Ficoll, and sucrose (EFS). Sperm freezing is also used to preserve genetically modified strains; epididymal sperm are suspended in an 18% raffinose and 3% skim milk solution, embedded in straws, and frozen. We have frozen the embryos and sperm of 524 strains in this fiscal year and have increased the frozen stock up to 2057 strains. To protect our stocks from disasters, we plan to establish a duplicate frozen stock in the back-up facility at the Harima Institute. We have transferred 645 frozen embryos from Tsukuba to the backup facility at the Harima campus in FY2009.

(3) バイオリソースの提供

提供は主に生体マウスとして、その他、凍結胚、凍結胚から作製した生体マウス、凍結精子から作製した生体マウスとして行った。提供数は年間3,000件を超え、昨年より12%増加、5年前の2倍に達した。遺伝子導入と遺伝子欠損系統が提供数の約9割を占めた。

(3) Distribution

We have distributed over 3000 mice to domestic and overseas users. Distribution in FY2009 increased by 12% compared to FY2008 or double the amount distributed in FY2004. We distributed mice as live animals, frozen embryos, recovered litters from frozen embryos, or sperm. Approximately 90% of the

distributed mice were genetically modified strains such as transgenic and knockout mice.

2 平成21年度の成果 Development of Technology in 2009-2010

(1) SNPによる系統の識別法の開発

動物変異技術開発チームとの共同で各種近交系、野生由来系統など153系統を対象に遺伝品質の向上を目的として、B6-MSM間の1,500 SNPとイルミナ Mouse MD Linkage Panel を用いた1,449 SNPを調べ、遺伝背景と系統間の遺伝的関係を明確化した。さらに、国際的に最も広く使われている市販のC57BL/6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ーにアピールした。この成果を発表した論文「C57BL/6系統間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。

(1) Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers to distinguish mouse strains

To increase the genetic quality of the strains, we collaborated with the Technology Development Team for Mammalian Cellular Dynamics to analyze the genotypes of 153 inbred and wild-derived strains for 1500 SNP loci of B6-MSM and 1449 loci of the Illumina Mouse Medium Density Linkage Panel and clarified their genetic background and relationship. Moreover, we have demonstrated the genetic differences among C57BL/6 substrains, which are commercially available and the most widely used strain in the world, and stressed the importance of genetic background to the research community. The study entitled "The genetic differences among C57BL/6

substrains" by Mekada et al. was published in Experimental Animals 58(2), 141-149, 2009 and was acknowledged as "The Most Excellent Paper of the Year in 2009."

(2) 遺伝子操作系統の導入遺伝子の網羅的検出法

遺伝子操作系統において複雑な構造の導入遺伝子の複数部分を一括して検出可能な検査方法 "KO survey" を開発し、寄託系統の受入れ時および系統維持の検査として実施した。その結果、導入遺伝子の網羅的な検査が効率良くでき、組換え生物の正確な情報を利用者に提供できるようになった。

(2) Development of a simultaneous detection method for multiple transgenes in genetically modified mouse strains

We have developed the "KO-survey," a simultaneous PCR detection method of multiple transgenes for genetically modified mouse strains, and examined the strains received at our quarantine facility. KO-survey PCR enabled us to efficiently detect multiple transgenes and, therefore, provide users with accurate information on the genetic modifications.

(3) 世界標準系統となったC57BL/6N系統のBACクローンを整備し、そのエンドシーケンスをNBRPプログラムの支援を受けて国立遺伝学研究所と連携して実施し、遺伝子材料開発室から提供を開始した(図3)。

(3) The C57BL/6N (B6N) substrain is known to become the world standard inbred strain. In FY2009, we have conducted both BAC end sequencing of B6N in collaboration with Gene Engineering Division and National Institute of Genetics.

3 平成21年度のトピック Topics in 2009-2010

Fucciマウスは理研脳科学総合研究センターの宮脇敦史チームリーダーらが2008年に開発した細胞周期観察のための蛍光プローブを導入したトランスジェニックマウスである(図2)。このマウスはがんや発生・再生の細胞周期進行に伴う細胞増殖の状況を個体レベルで観察することができる革新的な研究ツールといえる。幅広い研究分野で世界中の研究者からリクエストが届いている。

Fucci mice are cell-cycle reporter transgenic mice that contain fluorescence cell cycle indicator gene constructs developed by Dr. Atsushi Miyawaki, RIKEN Brain Science Institute (Fig. 2). These fluorescent reporter mice are innovative research tools enabling the visualization of the cell-cycle phase during oncogenesis, development, and regeneration in vivo. We started to distribute the Fucci mice in April 2009 and have received a number of requests from all over the world.

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 IJUN / 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

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 / 斉藤 昭男 Teruo SAITO
伊藤 絹子 Kinuko ITO / 川合 玲子 Reiko KAWAI
高橋 仁美 Hitomi TAKAHASHI / 長栄 敦 Atsushi CHOEI
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
岡本 裕行 Hiroyuki OKAMOTO / 紀藤 雅子 Masako KITO
大高 直樹 Naoki OTAKA / 橋本 知美 Tomomi HASHIMOTO
酒井 智江 Tomoe SAKAI / 高橋 智子 Tomoko TAKAHASHI
田熊 究一 Kyuichi TAGUMA / 三森 文 Aya MIMORI
藤本 智慧 Chie FUJIMOTO / 平野 直樹 Naoki HIRANO
上岡 方士 Masashi KAMIOKA / 平木 弘安 Hiroyasu HIRAKI
倉岡 潤子 Junko KURAOKA / 吉田 ぐみ Kumiko YOSHIDA
廣瀬 真由 Mayu HIROSE / 阪口 真美子 Mamiko SAKAGUCHI
松村 百合子 Yuriko MATSUMURA / 鈴木 幸代 Sachiyo SUZUKI
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 / 山本 貴子 Takako YAMAMOTO
越山 明美 Akemi KOSHIYAMA

