

室長 Head

小幡 裕一 (理博)

Yuichi OBATA, Ph.D.



遺伝子材料開発室

Gene Engineering Division

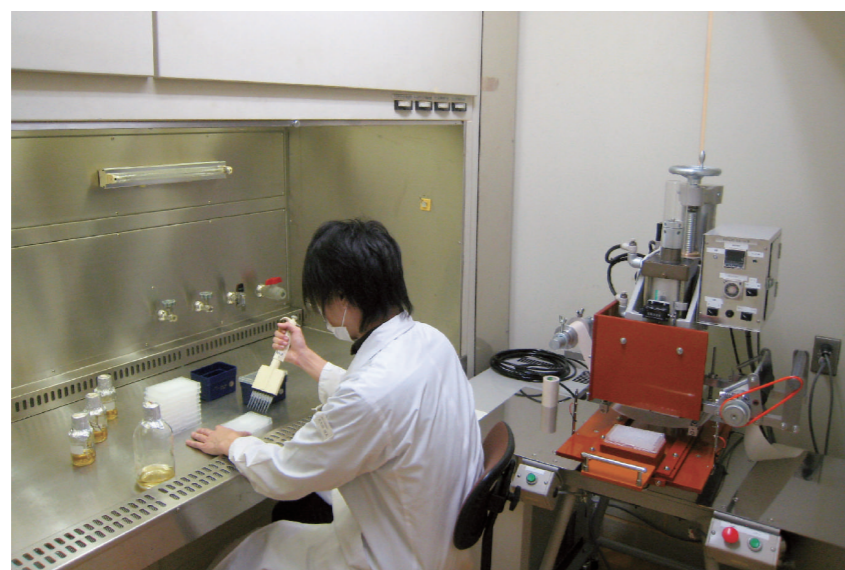
ミッションと事業概要 Mission

ア
 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 to environmental problems and hope to contribute to the sustainable development of our race.

組換え大腸菌の384穴プレート保存作業とプレートシール密閉装置(右)(図1)

Preparation of recombinant *E.coli* in a 384-well preservation plate and the sealer for 384-well plate (right side in the picture). (Fig.1)



① 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、遺伝子材料の収集、保存、品質管理、提供事業を行っている。

Our Division was established in 1987 as the RIKEN Gene Bank. 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, preservation, quality control 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た。

今年度は、数々の研究成果を生み出してきた国家プロジェクトから、文部科学省「タンパク3000プロジェクト」と「ゲノムネットワークプロジェクト」の遺伝子材料を収集した。これらの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の要望も多かった。

「タンパク3000プロジェクト」からは、好熱性古細菌 *Aeropyrum pernix* と *Sulfolobus tokodaii* 由来のタンパク質の発現クローン1,095株を新たに収集した。すでに提供している好熱性細菌 *Thermus thermophilus* 由来のタンパク質の発現クローン1,865株と合わせて、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。

「ゲノムネットワークプロジェクト」からは、ヒトの全遺伝子の6割に相当する1万4千遺伝子、約3万クローンのヒト完全長cDNAを収集した。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5万クローンも収集した。

(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. In 2009, we collected compiled products of "Protein 3000 Project" and "Genome Network Project", both of which were funded by the MEXT. Access to the products of these National Projects has been desired by research communities for long time. Resources produced by the national projects now offer a valuable opportunity for researchers to make key advancements in basic and medical sciences.

From the "Protein 3000 Project", 1,095 expression clones of *Aeropyrum pernix* and *Sulfolobus tokodaii* were collected. Along with already collected 1,865 of expression clones of *Thermus thermophilus*, they offer researchers a powerful tool to study protein structure and function using the heat stable recombinant proteins from the thermophiles.

From the "Genome Network Project", the 30,000 full-length human cDNA clones were collected, corresponding to 14,000 genes covering 60% of the entire human genes. In addition, 50,000 Gateway® entry clones containing 6,300 full-length human cDNA clones were deposited to our Division.

(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、超低温冷凍庫へ保存した。

NBRPのゲノム情報等整備プログラムの支援を受け、国際標準系統として数多く利用されているマウス標準系統C57BL/6NのBACライブラリー(6万2千クローン、ゲノム被覆率実質77%)を整備するとともに、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整備し、世界に先駆けて提供を開始した。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。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り、C57BL/6N系統由来のBACライブラリーの整備が待望されていた。被覆率を95%に向上するため、引き続きBACクローンの拡充を進めることとしている。

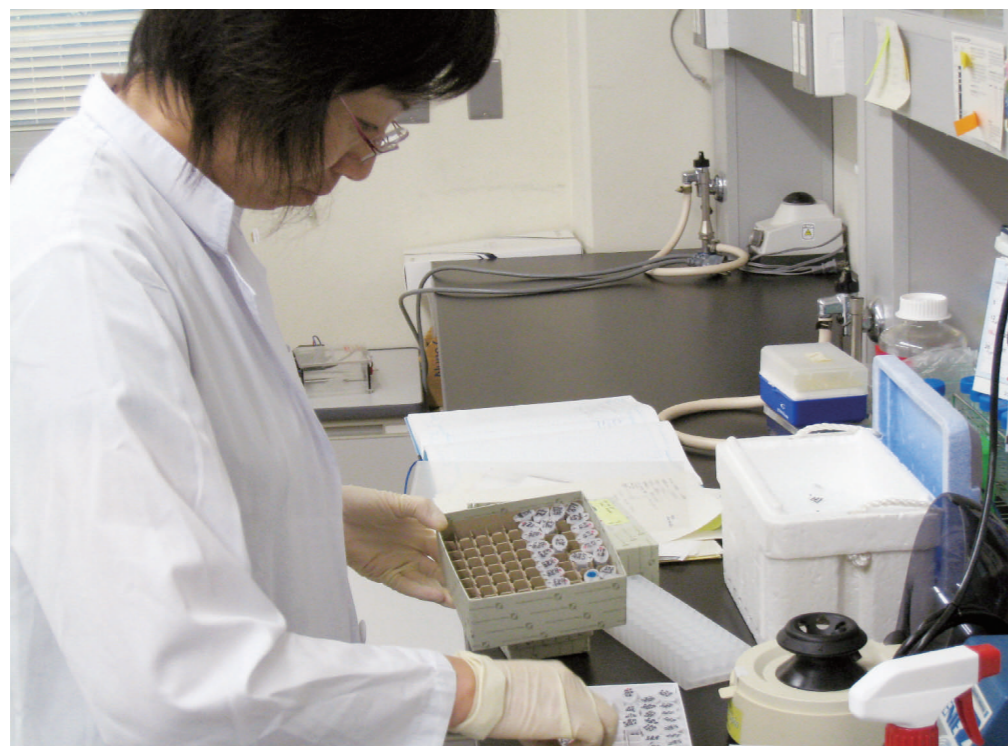
(2) Preservation and maintenance of genetic materials

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.

In this year, we constructed and sequenced a BAC library of the C57BL/6"N" mouse strain by the support from the NBRP Genome Information Upgrading Program. The Library is consisted of 62,000 clones with 77% actual genome coverage. These BAC clones are now available and searchable through the internet browser. The C57BL/6"N" has become an international standard mouse strain and C57BL/6"N" ES cell lines are used in the world wide knock out mouse projects. However, only C57BL/6"J" substrain BAC library was available. Therefore, research communities has been longing for BAC library derived from the syngenic C57BL/6"N". We now obtained further support from NBRP to increase the number of C57BL/6"N" BAC clones to cover 95% of mouse genome.

遺伝子材料検査用サンプルチューブの準備 (図2)

Preparation of sample vials for a quality test of genetic materials. (Fig.2)



(3) 遺伝子材料の提供

遺伝子材料に加えて、それらに付随する技術情報並びに特性情報もホームページで公開し提供している。当開発室のリソースの主な提供先は、大学等の非営利研究機関である。海外への提供は約4割を占めている。微生物材料開発室(JCM)と共同で開始した微生物ゲノムDNAの提供は今年度も増加しており、提供したうち3割はバイオセーフティーレベル2の株であった。

(3) Distribution of genetic materials

Associated information and technical comments of genetic materials are also provided via the web site of the RIKEN BRC. The majority of our users are from universities and non-profit academic research institutions. Around 40% of resources were shipped to abroad. To meet to increasing requests for the genomic DNA of microorganisms, the Microbe Division (Japan Collection of Microorganisms: JCM) and our Division have been collaborating. Of these requests, approximately 30% have been genomic DNA of bio-safety level 2 microorganisms.

2 平成21年度の成果

Development of Technology in 2009-2010

(1) 遺伝子資源の長期保存に関する技術開発

組換え大腸菌を効率的に長期保存するための保護剤ならびに384穴プレートシール密閉装置の開発を行った。凍結保護剤の選定を行い、10%グリセロールが-30℃の通常の冷凍庫での保存に適していることを確認した。この保護剤とシール技術を応用し、遺伝子クローンセットの提供用ストックの保存・提供の実地試験を行っている。プレートシール密閉装置で密閉した遺伝子クローンセットは液体窒素タンク保存も可能であり、省スペースかつ安全に保存する技術として確立できた。

(1) Development of technology for long term preservation of genetic materials

For development of a cost effective and efficient long term preservation method of frozen stocks of recombinant *E. coli* in the -30℃ freezer instead of -80℃ freezer, we examined cryo-preserving reagents protecting recombinant *E. coli*. We found that 10% glycerol is suitable for the preservation of *E. coli* in the -30℃ freezer. These technologies are now used in our routine work of storage of recombinant *E. coli*. We also developed a sealer for 384-well plate and the sealed 384-well

plate is also suitable for storage of *E. coli* in an air phase of liquid nitrogen stocker and offer compact and stable storage of the genetic material for infinite duration.

3 平成21年度のトピック

Topics in 2009-2010

ライフテクノロジー社が実施権を所有するテクノロジーを用いた利便性の高いクローンの利用について交渉を行い、哺乳動物のcDNAが組み込まれた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cDNAが組み込まれたGateway®エンタリークローンおよび哺乳動物以外のcDNAが組み込まれたGateway®発現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た。Gateway®テクノロジーは、ベクターに組み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、一つの材料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。ライセンス契約の締結により、文部科学省「ゲノムネットワークプロジェクト」で収集・整備したヒト完全長cDNAクローンはじめGateway®テクノロジーを用いた多くのクローンが寄託・提供可能となった。

RIKEN BRC has concluded a license agreement with the Life Technologies Corporation. By the generosity of the Life Technologies Corporation, Expression clones harboring mammalian cDNA can be distributed from the RIKEN BRC to non-profit academic research with small amount of royalty. Gateway® Entry clones harboring cDNA and Gateway® Expression clones harboring non-mammalian cDNA can be distributed to non-profit academic research without any royalty. The Gateway® technology offers researchers powerful tools and advantages that an insert sequence of gene can be transferred easily from one vector to others. We have opened a path of the deposition to and provision from the RIKEN BRC of any genetic materials produced using 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

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
川島 玲 Rei KAWASHIMA
長谷川 直之 Naoyuki HASEGAWA

派遣職員 Agency Staff
中野 友莉 Yuri NAKANO
大久保 将人 Masato Okubo
草 由香 Yuka KUSA
吉川 暁子 Akiko YOSHIKAWA
栗原 千登勢 Chitose KURIHARA
上野 和子 Kazuko UENO
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 / 勝谷 敦子 Atsuko KATSUYA
佐藤 弘子 Hiroko SATO / 平栗 麻奈美 Manami HIRAGURI
高原 祐子 Yuko TAKAHARA / 古谷 昭江 Terue FURUYA
中島 緑 Midori NAKAJIMA / 服部 ひとみ Hitomi HATTORI
藤沢 久江 Hisae FUJISAWA / 町田 由紀 Yuki MACHIDA

