

チームリーダー Team Leader

若菜 茂晴 (農博) Shigeharu WAKANA, Ph.D.



マウス表現型解析開発チーム

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

ミッションと事業概要 Mission

■ 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、国内外の突然変異マウス系統について表現型解析を実施し、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。さらに大規模マウス表現型解析プロジ ェクトと連携して、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 are cooperating with Euro-American large-scale projects to analyze mouse phenotypes and Asian mouse phenotype facilities, making an 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21年度の成果 Research and Development in 2009-2010

(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、体外受精・受精卵移 植法により、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94系統のマウス導 入を行い、うち49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.

1 Systematic 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.

2 Construction of pipelines for 'Fundamental screen' 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 have established an additional pipeline that is oriented toward

Fig.1 The workflow of pipeline 1 in Japan Mouse Clinic

- Fundamental screen-

Behavior oriented screen A	No. of test	Screens	Methods	Age(weeks)										
				7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	P2-01	Behavior/Neurology/ Psychiatry	Light/dark transition											
	P2-02		Open-field test					Г					П	Г
	P2-03		Rota-rod test*1	П	П								П	Г
	P2-04		Home-cage activity test											
	P2-05		Passive avoidance test											
	P2-06		Tail suspension test											
	P2-07		Hot-plate test					Г	П					Г
	P2-08		Tail-flick test											
Behavior oriented screen B*2	No. of test	area	Methods	Age(weeks) 7 8 9 10 11 12										
	P2-09	Behavior/Neurology/ Psychiatry	Prepulse inhibition test											
	P2-10		Object exploration test											
	P2-11		Fear conditioning test											

^{*} If significant differences were detected in the Behavior screen A.

Fig.2 The workflow of pipeline 2 in Japan Mouse Clinic

- Behavioral screen -

behavioral characterization (Fig. 2).

3 Results of the Japan Mouse Clinic

A total of 94 lines had been introduced to the Japan Mouse Clinic as of July 2010.A total of 49 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の自動作成アプリケーションの開発を行っ た。これにより、統計結果や各種グラフ画像を半自動的に全ての 検査項目について高速に作成することが可能となった。

(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://www.brc.riken.jp/la b/jmc/mouse_ clinic/en/m-strain_en.html). We have also develo ped 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

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。

② C57BL/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で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

Y染色体上とミトコンドリアDNA上の マーカーを含むゲノムワイ ド192SNPsマーカーによる系統の遺伝背景の検出可能なホール ゲノムスキャンニングシステムを確立した。

(3) Technology development supporting the Japan Mouse

1 Development 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.

2 Establishment 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.

(3) Whole 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 and mitochondrial markers, using TaqMan MGD technologies.



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 Kvoko IKDA 尾崎 藍 Ai OZAKI/鈴木 智草 Chigusa SUZUKI 中村 千佳 Chika NAKAMURA/篠木 晶子 Akiko SHINOGI 西村 静佳 Shizuka NISHIMURA

アシスタント Assistant

町田 優子 Yuko MACHITA/佐谷 昌子 Masako SAYA 腰替 千佳 Chika KOSHIGAE

44 45