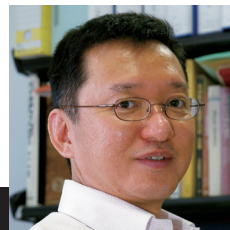


実験動物開発室

Experimental Animal Division



室長 吉木 淳 (農博)
Atsushi YOSHIKI, Ph.D.

ミッションと事業概要

マウスはヒトのモデル動物として遺伝子機能の研究、新薬や病気の治療法の開発などのライフサイエンス研究に貢献している。実験動物開発室の使命は、マウスリソースの国際拠点として、我が国で開発されたヒト疾患や遺伝子機能研究のためのモデルマウスを収集・保存・品質管理・提供するとともに、研究の新たなニーズに応えるマウスシステムを開発し、マウスの収集・保存・品質管理・提供に必要な技術開発を実施することである。

Mice have been the most useful animal models for humans and have contributed to life sciences via the study of gene function and the development of novel drugs and treatments for complex diseases. The primary mission of the Experimental Animal Division is to collect, preserve, conduct quality control of, and distribute mouse models created in Japan as a global hub of mouse resources. In addition, we develop novel mouse models that meet emerging research needs and relevant technologies to achieve our primary mission.

Mission

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

国内の大学および研究機関からヒト疾患モデル及び遺伝子機能の解析モデルとして、蛍光蛋白で生命現象を可視化したレポーターマウス、条件付き遺伝子操作を可能にする Cre-lox、Flp-FRT、TET システムを含むマウス系統など、累計 6,600 系統を収集した。平成 23 年度の NBRP 基盤技術開発プログラム (奈良先端大・石田博士) により作製された poly-A 遺伝子トラップ ES 細胞 1,000 株を細胞材料開発室と連携して収集した。

(1) Collection

To date, we have collected 6,600 mouse models for human diseases and gene function analysis from universities and research institutions in Japan (Fig. 1). The mouse models include reporters that visualize the expression of specific genes or biological phenomena with fluorescent markers, useful strains for the generation of induced pluripotent stem (iPS) cells, and strains containing the Cre-loxp, Flp-FRT, and TET systems to regulate gene expression for conditional genetic modifications. Over 1,000 gene-trap embryonic stem (ES) cell clones created in FY2011 by Dr. Yasumasa Ishida (Nara Institute of Science and Technology) using a novel

gene-disruption strategy based on the suppression of nonsense mediated decay, with the support of the NBRP Fundamental Technologies Upgrading Program, have been collected in collaboration with the Cell Engineering Division.

(2) 品質管理と凍結保存

寄託されたマウス系統の病原微生物検査を実施し、マウス肝炎ウイルス (6%) および肺マイコプラズマ (5%) が検出された。さらに腸管内原虫、蟻虫、外部寄生虫の検査では

36% の寄託マウスが陽性であった。平成 23 年度は 163 系統を帝王切開、115 系統を胚移植によりそれぞれ微生物汚染を完全に除去し、SPF マウスとして保存した。遺伝子操作系統は網羅的 KO-survey に加え、loxP-survey, firt-survey 検査により遺伝品質を確認し、最適化した PCR プロトコールと組換え生物の正確な情報を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して保存系統および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。こうした品質管理と付加価値向上により動物実験の質向上に貢献している。

需要の多い系統は生体として維持し、需要の少ない系統は遺伝工学基盤技術室との連携により凍結胚・精子として液体窒素中に凍結保存した。急増する C57BL/6 系統の遺伝子操作系統については精子凍結により効率的な保存を実施した。今年度までに累計 3,953 系統を胚・精子で凍結保存し、危険分散、長期安全保存のため年度末までに播磨研究所バックアップ施設に累計 3,728 系統 (94.3%) の凍結胚を移管した。

(2) Quality control and cryopreservation

We test the deposited live mice for the presence of pathogenic microbes, and have detected mouse hepatitis virus (6%) and Mycoplasma pulmonis (5%) in the deposited strains. Intestinal protozoa, pinworm, and ectoparasites have also been detected in 36% of mice. In FY2011, we cleaned up 163 strains by using cesarean section and 115 strains by using embryo transfer, thereby eliminating these pathogens, and maintained the deposited strains as specific pathogen-free mice. We examined the genetically modified mice for their multiple transgenes using knock-out-survey, loxP-survey and firt-survey to confirm their genetic quality and to provide accurate information on their genetic modifications. We optimized PCR protocols for these genetically modified strains and made these protocols available on our website. In collaboration with the Japan Mouse Clinic, the phenotypes of our strains were measured through the comprehensive phenotyping pipeline and these data are available on “Phenopub”. Thus, through our quality control programs, our division has contributed to the improvement of animal experiments in Japan.

Mice with a high demand are maintained as live stocks, while mice with a lower demand are preserved as frozen embryos or sperm and stored in liquid nitrogen. The cryopreservation of embryos and sperm has been conducted in collaboration with the Bioresource Engineering Division. Sperm freezing has been used to preserve an increasing number of genetically modified strains with the C57BL/6 background. In FY2011, we accelerated the sperm freezing program and increased our frozen stock to 3,953 strains. To protect our stocks from disasters, we have established a duplicate frozen stock of 3,728 strains (94.3%) at the backup facility of Harima Institute.

(3) 提供

これまでに国内 3,928 名 (361 機関)、海外 32 ケ国、1,705 名 (510 機関) の利用者に 1,205 系統のマウスを提供し、340 編の優れた論文と 4 件の特許が発表されている。中でも、オートファジの可視化モデル GFP-LC3 トランスジェニックマウス (RBRC00806) は世界の 173 機関に提供され研究に使われている。提供は主に生体マウスの他、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。平成 23 年度には凍結系統、臓器および DNA の利用が増加した。遺伝子導入および欠損系統が提供数の 81% を占めていた。

(3) Distribution

We have distributed our mouse resources to over 3,928 domestic users (361 organizations) and 1,705 overseas users (510 organizations) in 32 countries, resulting in 340 outstanding papers and 4 patents. Among our collection, the autophagy reporter, GFP-LC3 (RBRC00806), mouse was the most frequently distributed and it has been used at 173 organizations worldwide. Our mice have been distributed as live animals, frozen embryos, recovered litters from frozen embryos, or sperm. The use of frozen strains, organs and genomic DNA was significantly increased in FY2011. Eighty-one percent of the distributed mice were genetically modified strains, for example, transgenic and knockout mice.

図2 第6回アジアマウス開発リソース連盟 (AMMRA) 会議
Fig. 2 The 6th AMMRA Council Meeting



(4) 国際連携

寄託された系統はマウスリソースセンターの国際連盟 Federation of International Mouse Resources (FIMRe) の one-stop データベース International Mouse Strain Resource (IMSR) に、遺伝子トラップ ES 細胞は International Gene Trap Consortium (IGTC) にそれぞれ登録し、世界の研究コミュニティーに発信している。欧州の Cre-driver マウスの開発プロ

図1 RIKEN BRC のマウス系統 6,600 系統

Fig.1 Mouse Strains at RIKEN BRC

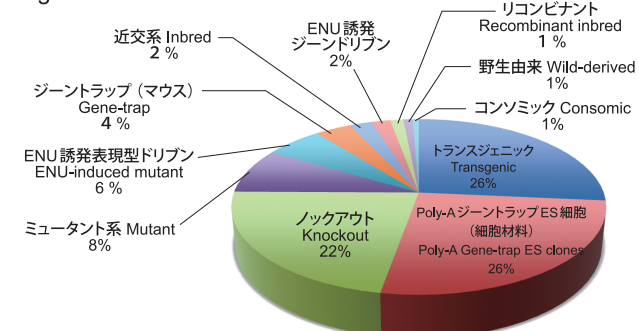
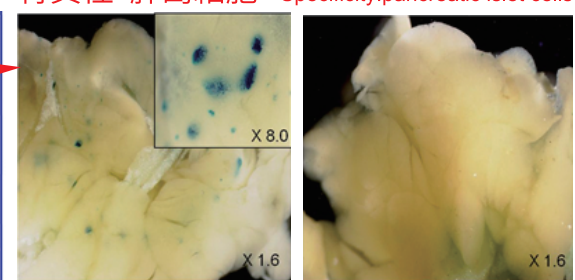


図3 組織特異的Creマウス ウェブカタログから128系統公開
Fig. 3 Tissue-specific Cre Mice 128 Cre and 4 Flp mice available

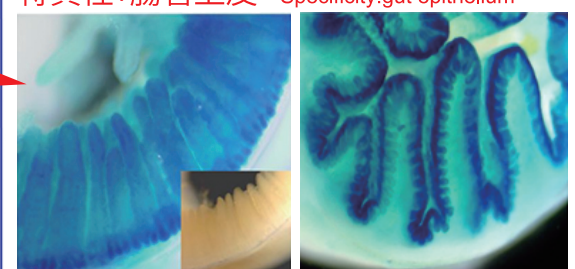
BRCホームページの系統検索

RBRC04738	Aug 31, 2011	Transgene	B6.Cg-Tg(Lck-cre)1Juk	Cre (Phage P1 Cre recombinase)	Cre/loxP system	
RBRC03934	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Ins1-cre)25Utr/Rbrc			
RBRC03970	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Krt14-cre)9Utr/Rbrc			
RBRC03702	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Nes-cre)1Utr/Rbrc	cre (Phage P1 Cre recombinase)		
RBRC03919	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Tagln-cre)707-1Utr/Rbrc		Cre/loxP system, FL/Flt system	
RBRC03747	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Tek-cre)288-3Utr/Rbrc	cre (Phage P1 Cre recombinase)		
RBRC03809	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Vil1-cre)2Utr/Rbrc	Esrl Esrl, Cre (Phage P1 Cre recombinase)		
RBRC03964	Aug 31, 2011	Transgene	C57BL/6N-Tg(Wap-cre)18Utr/Rbrc			
RBRC01345	Aug 31, 2011	Targeted Mutation Congenic	Emx1-Cre KI Δneo	Emx1 Emx1, frr (yeast FRT (flippase recombination target) sites), nls (Simian virus 40 Large T antigen nuclear localization signal), cre (Phage P1 Cre recombinase)	Cre/loxP system	

特異性:膵島細胞 Specificity:pancreatic islet cells



特異性:腸管上皮 Specificity:gut epithelium



Small intestine Large intestine
Genotype: Cre/+, LacZ/+, inset:control

ジェクトCREATEコンソーシアムならびにアジアマウス開発リソース連盟 Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA)とも連携活動を行っている(図2)。日本マウスクリニクとともに国際表現型解析コンソーシアム(IMPC)に参画し、ゲノムワイドのノックアウトマウス系統を研究者に利用可能とすることで、ライフサイエンス研究に貢献する。

(4)International collaboration

As further contributions to the international scientific community, we have disseminated mouse resources developed by Japanese scientists by registering our mouse strains in the International Mouse Strain Resource, a one-stop database of the Federation of International Mouse Resources, and gene-trap ES cells in the International Gene Trap Consortium. Moreover, we are collaborating with European coordination efforts by the CREATE Consortium to develop novel Cre-driver mice for conditional experiments and with the Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association. (Fig.2). Furthermore, our division and the Japan Mouse Clinic have participated in the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) to contribute to life sciences by producing genome-wide knockout mice, and making them available to scientists around the world.

平成23年度の成果 Development of Novel Mouse Strains and Technologies in 2011-2012

(1) 新規系統開発

国内11機関の研究者と連携して研究コミュニティで必要とする遺伝子操作マウス376系統を開発した。理研・脳科学総合研究センター・マサチューセッツ工科大学(利根川進教授)との共同研究として脳の垂領域に特異的なCreマウス(162系統)を開発している。

(1) Development of novel strains

In collaboration with 11 domestic research organizations, we have developed 376 new genetically modified strains that are in high demand by the research community. We are also developing 162 sub-region-specific Cre-driver mice in collaboration with Professor Susumu Tonegawa of Massachusetts Institute of Technology and the Brain Science Institute, RIKEN.

(2) SNPによる亜系統の識別法の開発

国際的に最も広く使われている市販のC57BL/6亜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にアピールしている。日本マウスクリニクと共同でノックアウトマウスの遺伝背景を検査するゲノム184マーカーおよびミトコンドリア10マーカーより成るSNPパネルを整備した。

(2)Development of single nucleotide polymorphism (SNP) markers to distinguish mouse substrains

In FY2011, we demonstrated genetic differences among substrains of C57BL/6 mice, the most widely used strain around the world, by comprehensive SNP analyses, and drew the attention of the scientific community to the importance of the genetic background of this strain. In collaboration with the Japan Mouse Clinic, we developed a SNP marker panel that consists of 184 genomic and 10 mitochondrial markers.

平成23年度のトピックス Topics of 2011-2012

飼育施設の省エネ化

飼育動物、施設作業者ならびに地球環境にやさしい動物飼育施設を目標として、マウス飼育施設の省エネ化に関する技術開発を株式会社日立プラントテクノロジーと共同で実施した。局所排気装置付き作業台と空調設備施設での検証実験を実施し、東日本大震災後の節電のため空調設備の省エネ化をはかった。開発成果の一部により2件の特許申請を行った。

Development of energy saving technologies at the animal facility

We conducted collaborative research with Hitachi Plant Technologies, Ltd., for the development of new technologies to save energy at the mouse facility while also ensuring the well-being of animals and workers. We developed a novel pressure control simulator and working table, and filed two patents regarding these technologies. We successfully reduced our electricity consumption during the power supply shortage after the 3/11 disaster.

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.
目加田 和之 Kazuyuki MEKADA, Ph.D.
- 専任技師[Senior Technical Scientist]
平岩 典子 Noriko HIRAIWA 中田 初美 Hatsumi NAKATA, Ph.D.
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]
伊集院 麻衣子 Maiko IJIN 武井 将志 Masashi YOKOTA
村上 亜弓 Ayumi MURAKAMI 門田 雅世 Masayo KADOTA
小林 めぐみ Megumi KOBAYASHI 田熊 究一 Kyuichi TAGUMA
川合 玲子 Reiko KAWAI 橋本 知美 Tomomi HASHIMOTO
岡本 裕行 Hiroyuki OKAMOTO 平木 弘安 Hiroyasu HIRAKI
岩間 瑞穂 Mizuho IWAMA
- アシスタント[Assistant]
酒井 智江 Tomoe SAKAI 松村 百合子 Yuriko MATSUMURA
- ジュニア・リサーチ・アソシエイト[Junior Research Associate]
冉 玖凌 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 高橋 仁美 Hitomi TAKAHASHI
長栄 敦 Atsushi CHOEI 高橋 智子 Tomoko TAKAHASHI
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
小川 ちいみ Chiimi OGAWA 安田 浩之 Hiroyuki YASUDA
上岡 方士 Masashi KAMIOKA 坂田 ひろみ Hiromi SAKATA
中山 寿子 Hisako NAKAYAMA 三森 文 Aya MIMORI
藤本 智慧 Chie FUJIMOTO 平野 直樹 Naoki HIRANO
倉岡 潤子 Junko KURAOKA 吉田 くみ子 Kumiko YOSHIDA
廣瀬 真由 Mayu HIROSE 阪口 真美子 Mamiko SAKAGUCHI
橋本 美智子 Michiko HASHIMOTO 井神 すみ子 Sumiko IGAMI
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 深津 智香 Tomoka FUKATSU
越山 明美 Akemi KOSHIYAMA 岡崎 祐介 Yusuke OKAZAKI
- パートタイマー [Part Timer]
矢口 英子 Eiko YAGUCHI 松永 江美 Masaru ONUMA
藤林 久枝 Hisae FUJIBAYASHI 佐藤 満恵 Mitsue SATO
麻生 則子 Noriko ASO 嶋 洋子 Yoko SHIMA

