

# 遺伝子材料開発室

Gene Engineering Division



室長 小幡 裕一 (理博)  
Yuichi OBATA, Ph.D.

## ミッションと事業概要

ヒトおよび種々のモデル生物の全ゲノム配列が解読され、さらに近年の塩基配列決定技術および機器の開発により、遺伝情報は容易かつ迅速に入手できるようになった。近年のライフサイエンスにおいては、これらの情報に基づいて、高次生命現象の機序や疾患発症原因を究明することが中心的な手法となっている。このような研究手法は、今後も加速すると予想される。従って、ゲノムDNAやcDNAクローン、発現ベクターなどの遺伝子材料は、基礎から応用まで全てのライフサイエンスにおいて、最も基本的な研究材料である。

当室では、有用かつ重要なヒト、動物および微生物由来の遺伝子材料を国内外の研究コミュニティから収集し、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研究材料として国内外に提供している。このことにより、基礎学術からライフイノベーション・グリーンイノベーションまでの幅広い分野の研究開発の発展に貢献することを目指している。

The entire genome sequences of human and various model organisms have been determined. Furthermore, recent dramatic advancement of technologies and equipment for DNA sequencing has allowed easy and quick acquisition of genome information. In the current life science research, the main approach to elucidate mechanisms of sophisticated biological phenomena and to discover the causes of diseases are based on the genome information. Such trends are expected to accelerate further. Thus, genetic materials such as genomic DNA, cDNA clones and expression vectors are the most fundamental and essential research tools in the almost all fields of the life science, from basic research to applied research.

The Gene Engineering Division collects valuable and important genetic materials of human, animal and microbe origins developed in Japanese and international scientific community, and distributes these materials to scientists after strict quality control in order to ensure the reproducibility of experimental results. By these activities, we aim to accelerate not only basic academic research but also innovation for improvement of human health and environment.

## 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13年より理研BRCの発足に伴い遺伝子材料開発室として改組され、さらに、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、遺伝子材料を収集し、品質管理、保存、提供事業を行っている。

Our Division was established in 1987 as the RIKEN Gene Bank. When the RIKEN BioResource Center was established in 2001, the Bank was re-organized as Gene Engineering Division. Since 2002, the Division has been designated as a core facility

of DNA resources in the National BioResource Project (NBRP) funded by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT). We have been conducting collection, quality control, preservation and distribution of genetic materials of human, animal and microbe origins.

### (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ている。このために国内学会発表から遺伝子材料開発情報を検索し、遺伝子材料の寄託願いを送付している。また、数々の研究成果を生み出してきた国家プロジェクトで確立したバイオリソースの収集も行っている。これらの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、バイオマ

ス工学等の応用研究の発展が期待でき、また研究コミュニティからも要望が大きい。

本年度は、NBRPゲノム情報等整備プログラムにより構築し、解析されたショウジョウバエ5種(*Drosophila melanogaster*, *D. simulans*, *D. sechellia*, *D. auraria*, and *D. ananassae*)のBACクローン化ライブラリーをNBRPショウジョウバエ中核機関である京都工芸繊維大学ショウジョウバエ遺伝資源センターから寄託され、提供を開始した。このクローンセットは、ショウジョウバエ種間の比較解析に有用なリソースである。当開発室からは、ショウジョウバエのほかにマウスC57BL/6N(B6N)系統とMSM/Ms系統、ラットF344/Stm、F344/Jcl、ACI/NJcl、LE/Stm系統並びにニホンザルのBACクローン化ライブラリーを提供している。これらのBACクローン化ライブラリーは、NBRP中核機関が公開しているBAC BrowserからBACクローンを検索することができる。

また、理研内から、放射光科学総合研究センターの倉光成紀博士から高度好熱菌の網羅的解析のための遺伝子発現用ならびに遺伝子破壊用プラスミド、基幹研究所の吉田稔博士から分裂酵母*Schizosaccharomyces pombe*の網羅的遺伝子クローンセット3種類を収集している。今年度は、基幹研究所の中野明彦博士から出芽酵母*Saccharomyces cerevisiae*の分泌と小胞輸送の研究のためのプラスミドクローン、発生・再生科学総合研究センターの丹羽仁史博士から哺乳動物の初期発生と分化研究のためのプラスミドクローンの寄託を受け、それぞれの分野の研究用リソースが一層充実した。いずれも実験にすぐに使用可能な利便性の高いものであり、今後、利用が急増するものと予想している。研究コミュニティの理解と支援、またこれまでの収集活動により、遺伝子材料の保存数は今年度末で3,807,120株に達している。

### (1) Collection of Genetic Materials

To comprehend the trends and needs in the community of life science, we are trying to collect valuable genetic materials developed by Japanese and international researchers. For this purpose, we directly ask researchers for deposition of their materials which were presented in scientific meetings in Japan. We also collected sets of genetic materials developed by the national projects. Usage of these resources provides valuable opportunities for progress not only in basic sciences but also in the fields of medical sciences, drug discovery and bio-mass engineering. As consequences, our bioresources have been frequently requested and utilized by scientists.

We collected and started distributing the BAC libraries derived from five species of *Drosophila* flies (*D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. sechellia*, *D. auraria*, and *D. ananassae*) from the NBRP *Drosophila* core facility, the *Drosophila* Genetic Resource Center of the Kyoto Institute of Technology. They were constructed and analyzed by the support of the NBRP Genome Information Upgrading Program. They are useful for comparative and evolutionary study of *Drosophila* species. We also provide BAC libraries of mouse C57BL/6N and MSM/Ms

strains, rat F344/Stm, F344/Jcl, ACI/NJcl and LE/Stm strains and Japanese macaque, *Macaca fuscata fuscata*. Clones in these libraries can be searched using the BAC Browser supported by the Information Center of NBRP.

We also collected plasmid clones established by researchers in RIKEN; gene expression and disruption plasmid clones of *Thermus thermophilus* by Dr. Seiki Kuramitsu of RIKEN SPring-8 Center and three cDNA clone sets of *Schizosaccharomyces pombe* by Dr. Minoru Yoshida of Advanced Science Institute (ASI). In this fiscal year, genetic materials from Dr. Akihiko Nakano of ASI for study of membrane traffic of budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* and from Dr. Hitoshi Niwa of RIKEN Center for Developmental Biology for study of early mammalian development and differentiation were deposited in our bank. These clones are designed to be "ready-to-use" resources which can be powerful tools for studying respective research fields, and increase of numbers of requests is anticipated in future. By long time support from the scientific community and efforts of our Division, genetic materials have been accumulated to a total of 3,807,120 items at the end of this fiscal year.

### (2) 遺伝子材料の保存・整備

個々の研究者から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、超低温槽へ保存した。一方、クローンセット等の一括大量寄託されたリソースについては、一旦保存し、提供依頼が発生した後、依頼クローンについて上記の品質検査を行い提供することとしている。収集したリソースには約5%に誤り(取違い、突然変異、付随情報の齟齬等)が存在している。これは研究コミュニティで流通、利用されているリソースにおける誤りが反映されているものであり、我が国だけではなく世界的な問題であり、放置されれば研究費、労力、時間の5%が無駄に費やされていることを意味する。遺伝子材料開発室では、品質を確認し、実験の再現性を保証するリソースの整備を進め、研究の質の向上と効率化に貢献している。

### (2) Preservation and Maintenance of Genetic Materials

The genetic materials deposited by individual scientists, their qualities are examined by the growth rate, restriction enzyme mapping and nucleotide sequencing, prior to preservation. Recombinant adenoviruses are examined by their infectious titer and contamination of replication competent adenoviruses. On the other hand, for large clone sets and numerous clones of package deposition, materials are stored first. Only after request comes and before shipping, the quality tests on the requested individual clone are performed. About 5% of collected clones have some errors such as mis-identification of clones, undesirable mutations or wrong information. These errors



図1 ウェスタンブロット解析に関する技術研修  
Fig.1 Technical training course for Western blot analysis

reflect the fact that resources used in research community contains 5% of errors. This is not unique problem in Japan but world-wide, therefore more than 5% of time, effort and funds are wasted because of these genetic errors. Our Division provides materials under strict quality control and with ensured reproducibility so that researchers can improve the quality and efficiency of their experiment.

### (3) 遺伝子材料の提供

当室では、ヒトの全遺伝子の80%をカバーするcDNAクローンを整備、提供している。さらに、ヒトの全遺伝子の50%をカバーする発現cDNAクローンを整備しており、利用しやすいリソースとなっている。代表的なリソースは、文部科学省「ゲノムネットワークプロジェクト」及び国立障害者リハビリテーションセンター研究所のヒトFull-Length cDNAクローンである。ヒトcDNAが利用される研究分野は、非常に多岐にわたっており、利用が拡大している。各々の遺伝子のクローンは[http://dna.brc.riken.jp/search/RDB\\_hum/RDB\\_hum\\_A.html](http://dna.brc.riken.jp/search/RDB_hum/RDB_hum_A.html) から検索可能である。これらの整備の結果、今年度の提供は、1,956件、27カ国、延べ546機関に達した。

### (3) Distribution of Genetic Materials

We maintain and distribute cDNA clones corresponding to 80% of all human genes. We also have expression cDNA clones corresponding to 50% of all human genes. They are ready to be used. The representative resources of them are the full-length human cDNA clones developed by the MEXT Genome Network Project, and by Dr. Seishi Kato of the Research Institute of National Rehabilitation Center for Persons with Disabilities. These clones provide excellent opportunity to scientists in various fields. The clones can be searched in the Human Gene A to Z List at [http://dna.brc.riken.jp/search/RDB\\_hum/RDB\\_hum\\_A.html](http://dna.brc.riken.jp/search/RDB_hum/RDB_hum_A.html). By these efforts, 1,956 items of genetic materials to 546 organizations in 27 countries were distributed in this fiscal year.

## 平成24年度の成果 Development of Technology in 2012-2013

当開発室は、組換えアデノウイルスベクターの保存・提供事業を行っている世界でも唯一のバンクである。提供の形態は、アデノウイルス作製用コスミドベクターと感染性アデノウイルスベクターであり、それぞれ1,700クローン、530クローンを保有している。感染性アデノウイルスベクターは、理論的にはE1A, E1Bが発現している特殊な細胞のみで増殖し、通常の細胞では自己増殖しない。このことを実験的にも確認し、安全性を確保し提供している。また、アデノウイルスベクターの有用性を示し、利用を推進する目的で、iPS (人工多能性幹細胞)やiCM (直接心筋細胞系) の誘導などを行っている。本年度は、慶應義塾大学医学部の家田真樹博士との共同研究で、3つの「心筋誘導遺伝子」(Gata4, Mef2c, Tbx5)を同時に発現する発現ユニットを持つレトロウイルスベクターを構築し、直接心筋細胞による誘導効率の改善に成功した (Inagawa *et al.*, Circulation Research 111: 1147-1156, 2012)。

Our Division is unique in the world for preservation and distribution of adenoviral vectors to researchers in life science community. We have now 1,700 cosmid vectors for construction of adenovirus vectors and 530 ready-to-use infectious adenoviral expression vectors. Our infectious adenoviral vectors theoretically can proliferate only in the specific cells in which E1A and E1B are expressed, such as human embryonic kidney 293 (HEK293) cells. Indeed, we confirm the absence of replicate-competent virus in normal cells for each lot for the safety of our products. To prove usefulness and to promote dissemination of adenoviral vectors, we develop adenoviral clones for production of iPS (induced pluripotent stem cells) and for iCM (induced cardiomyocyte cells). In this year, we improved efficiency of induction of cardiomyocyte-like cells by gene transfer using a retrovirus vector harboring polycistronic expression unit of three cardiac transcription factors Gata4, Mef2c and Tbx5 with a collaboration with Dr. Masaki Ieda of the Keio University School of Medicine (Inagawa *et al.*, Circulation Research 111: 1147-1156, 2012).

## 平成24年度のトピックス Topics in 2012-2013

植物バイオマスを原材料として新材料を創造するバイオプロセス開発ならびにエネルギー生産への関心が高まる中、理研生命分子システム基盤研究領域NMRパイプライン高度化研究チームの木川隆則博士、渡部暁博士および当センターの微生物材料開発室(JCM)との共同で、バイオマス利用に使用される酵素の遺伝子の収集と評価を行った。木質バイオマスを分解し、糖化する過程に関わる酵素について、JCMが保有する糸状菌 *Trichoderma reesei*、シロアリの共生原生動物 (*Spirotrichonympha leidyi*, *Holomastigotoides*

*mirabile*, *Pseudotriconympha grassii*) 並びに *Pyrococcus* 属好熱菌から遺伝子を取得し、その大腸菌発現用クローンを樹立した。遺伝子材料に加えて、それらに付随する特性情報並びに技術情報もホームページで公開し提供している。

当開発室のホームページで発現クローンを利用したタンパク質発現と精製の実験操作法を、新たに公開した。糸状菌等のセルロース分解酵素遺伝子発現プラスミド、さらに大阪大学の倉光成紀博士より提供された好熱菌 *Aeropyrum pernix* と *Sulfolobus tokodaii* の遺伝子発現プラスミドを用いたタンパク質発現と精製の実験操作法のデータを公開している。

加えて、技術研修事業として、生命科学研究を行う上で非常に重要なタンパク質の解析技術のうち、細胞溶解液中の組換えタンパク質のSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)、Coomassie Brilliant Blue 色素によるゲル中タンパク質の染色 (CBB染色)、ならびにウェスタンブロット法によるタンパク質検出の研修を、国内大学、研究機関、企業に所属する学生、研究者、技術職員を対象として行った。

Needs and interests in the development of bioprocess for novel materials and energy production from plant biomass have been growing. Our Division has been collecting and evaluating genetic materials that code enzymes utilized for the bioprocess such as saccharification of plant biomass. We have collected and analyzed clones coding enzymes of filamentous fungi *Trichoderma reesei*, symbiotic in the intestines of termites (*Spirotrichonympha leidyi*, *Holomastigotoides mirabile*, *Pseudotriconympha grassii*) and *Pyrococcus* thermophiles by the collaboration with RIKEN BRC Microbe Division (Japan Collection of Microorganisms: JCM) and Drs. Satoru Watanabe and Takanori Kigawa of the NMR Pipeline Methodology Research Team of the RIKEN Systems and Structural Biology Center. Associated information and technical comments for genetic materials are also provided on the web site of the RIKEN BRC.

We recently posted experimental protocols for expression in *E. coli* and purification of recombinant saccharification enzymes of filamentous fungi *Trichoderma reesei* on our web site. The protocols of expression and purification of recombinant proteins of thermophiles (*Aeropyrum pernix* and *Sulfolobus tokodaii*) developed by Dr. Seiki Kuramitsu of Osaka University have been also posted.

In addition, we offer technical training to our users to enable them to use our bioresources more effectively. In fiscal 2012, we gave a training course to students, researchers and technicians from academic institutes and industry for protein analysis methods such as SDS-PAGE, Coomassie Brilliant Blue staining and the Western blotting method to detect recombinant proteins in cell lysate.

## 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.
- 開発技師 [Technical Scientist]  
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  
大久保 将人 Masato OKUBO  
栗原 千登勢 Chitose KURIHARA
- アシスタント [Assistant]  
上野 和子 Kazuko UENO
- 客員研究員 [Visiting Scientist]  
潘 建治 Jianzhi PAN, Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]  
長谷川 直之 Naoyuki HASEGAWA
- 派遣職員 [Agency Staff]  
中村 宣篤 Nobuatsu NAKAMURA, Ph.D.  
相馬 早紀 Saki SOMA  
柏瀬 幸 Yuki KASHIWASE  
笹沼 俊一 Shunichi SASANUMA  
柴本 理宏 Yoshihiro SHIBAMOTO  
長谷川 聡 Satoshi HASEGAWA, Ph.D.
- パートタイマー [Part-Timer]  
木村 明子 Akiko KIMURA  
平栗 麻奈美 Manami HIRAGURI  
古谷 昭江 Terue FURUYA  
服部 ひとみ Hitomi HATTORI  
町田 由紀 Yuki MACHIDA  
勝谷 敦子 Atsuko KATSUYA  
高原 祐子 Yuko TAKAHARA  
中島 緑 Midori NAKAJIMA  
藤澤 久江 Hisae FUJISAWA

