



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、創薬および病気の治療法の研究・開発などのライフサイエンスに貢献している。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の研究に有用な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系統を開発し、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 in the study of gene function, drug discovery and the development of novel treatments for complex diseases. The primary mission of the Experimental Animal Division is to collect, preserve, conduct quality control of, and distribute useful 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.

バイオリソースの収集・保存・品質管理・提供 Collection, Preservation, Quality Control 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および遺伝子機能の解析モデルとして、遺伝子ノックアウトマウス、生命現象を可視化した蛍光レポーター、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、さらに、ゲノム編集マウスなど、260系統（生体130及び凍結130系統）を収集し、累計7,801系統を保存した（図1）。

(1) Collection

We have collected 260 (130 live and 130 frozen) mouse strains and archived 7,801 mouse models for human diseases and gene function analysis from universities and research institutions in Japan (Fig. 1). The mouse models include gene knockouts, fluorescent reporters of biological phenomena, conditional strains containing the Cre-lox, Flp-FRT and TET systems, and genome-edited strains as well.

(2) 保存

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。急増するゲノム編集系統については精子凍結による効率的な保存を実施した。今年度までに累計5,282系統を胚・精子で凍結保存し、その全凍結保存系統の一部を危険分散、長期安全保存のため播磨研究所パッケージアップ施設に移管している。

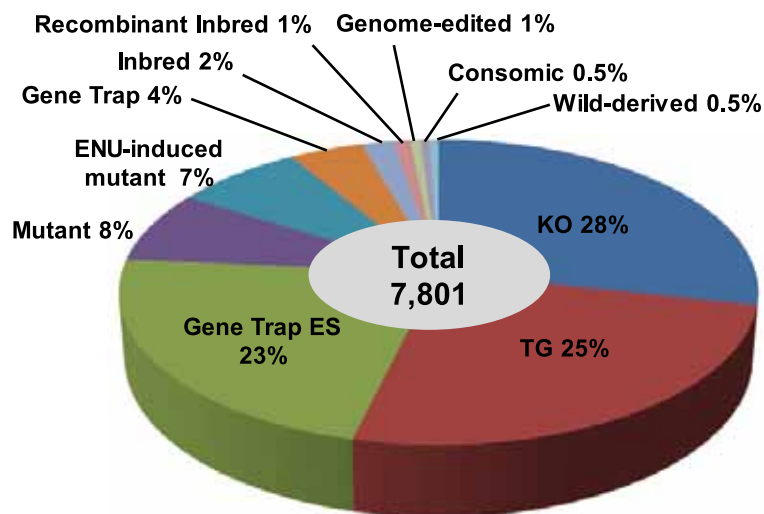


図1 収集マウスリソース
Fig.1 Archived mouse resources

(2) Preservation

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 in collaboration with the Bioresource Engineering Division. Rapidly increasing genome-edited strains have been frozen-stored efficiently by sperm freezing. To protect our stocks from disasters, we have established a partial duplicate of the all frozen strains at the backup facility of Harima Institute.

(3) 品質管理

寄託マウスの病原微生物検査(2015年1月～12月)の結果、腸管内原虫・蟻虫が39.4%、肝炎ウイルスが3.9%の寄託個体において陽性だった。本年は57系統を帝王切開、19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、2015年1月～12月、KOサーベイ検査(254系統)に加え、loxP検査(161系統)ならびにFrt検査(139系統)を実施し、最適化したPCRプロトコル(累計1,689系統)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。

(3) Quality control

We tested the deposited live mice for pathogenic microbes (from Jan to Dec, 2015) and detected intestinal protozoa and pinworms in 39.4% and mouse hepatitis virus in 3.9% of deposited mice. In this fiscal year, we cleaned up 57 strains by using cesarean section and 19 strains by using embryo transfer, thereby eliminating the pathogens, and archived the deposited strains as specific pathogen-free mice. We examined the genetically modified mice using Knock-Out- (254 strains), loxP- (161 strains) and Frt- (139 strains) survey tests to confirm their genetic quality and to provide accurate information on the genetic modifications. We optimized PCR protocols of 1,689 genetically modified strains and made these protocols available on the website. We have revised the web pages regarding the quality of mouse resources for distribution.

(4) 提供

これまでに国内471機関、海外36ヶ国、654機関の利用者にマウスリソースを提供し、638編の優れた論文と32件の特許が発表されている。中でも、アルツハイマー病患者の遺伝子変異をノックインしたC57BL/6-*App*<*tm3*(*NL-G-F*)*Tes*> (RBRC06344)は2015年度の最も提供数の多い系統となった。オートファジの可視化モデルGFP-LC3マウス(RBRC00806)は世界243機関に提供されている。提供は主に生体マウスの他、凍結胚・精子、凍結胚・精子から作製した生体マウスおよび臓器・組織として行った。

(4) Distribution

We have distributed our mouse resources to users at 471 domestic and 654 overseas organizations in 36 countries, resulting in 638 outstanding papers and 32 patents. Among them, the knock-in C57BL/6-*App*<*tm3*(*NL-G-F*)*Tes*> (RBRC06344) mice with mutations of Alzheimer's patients have become the most frequently requested strain in FY2015. The autophagy reporter, GFP-LC3 (RBRC00806), mice have also been widely distributed and used at 243 organizations worldwide. Our mice have been distributed mainly as live animals, in addition to frozen embryos or sperm, recovered litters from frozen embryos or sperm and organs or tissues.

(5) 国際連携

寄託系統はマウスリソースセンターの国際的なone-stop shopデータベースInternational Mouse Strain Resource (IMSR)に登録し、世界の研究コミュニティに発信している。マウス表現型解析開発チーム(日本マウスクリニック)およびマウス表現型知識化研究開発ユニットと共に、IMPCに参画し、定期的な電話会議、国際会議、ワークショップに参加している。さらに、アジアマウス開発・リソース連盟Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA)およびアジアマウス表現型解析コンソーシアムAsian Mouse Phenotyping Consortium (AMPC)とも連携活動を行っている。

(5) International collaboration

We have disseminated mouse resources deposited by Japanese scientists and registered the mice in the International Mouse Strain Resource (IMSR), a one-stop shop database of the international mouse repositories. Our division together with Japan Mouse Clinic and Technology and Development Unit for Knowledge Base of Mouse Phenotypes has participated in the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) and attended regular teleconference calls, international meetings and workshops. Moreover, we are collaborating with members of the Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA) and Asian Mouse Phenotyping Consortium (AMPC).

平成27年度の成果

Development of Novel Mouse Strains and Technologies in 2015-2016

(1) IMPCにおけるノックアウトマウス作製と提供

KOMP(米国)およびEUCOMM(欧州)のノックアウトES細胞を用いて39遺伝子のノックアウト系統を樹立しIMPCのウェブサイトから公開している。また、遺伝子材料開発室と連携して、野生型Cas9ならびにD10A nickaseを用いたCRISPR/Cas9システムによる効率的なノックアウトマウスの作製方法の検討を開始した。これまでに23遺伝子の欠失変異型ノックアウトマウスの樹立に成功している。



図2 ノックアウトマウスの胎仔および成体の遺伝子発現部位のlacZ解析
 Fig. 2 Embryonic and adult lacZ analysis of the gene expression in konckout mice

している。lacZレポータを有するノックアウトマウスについては、X-gal染色による遺伝子発現解析を実施した(図2)。

(1) Production and distribution of IMPC knockout mice

Our division has established germ line transmission knockout

lines for 39 genes derived from knockout ES cells of KOMP and EUCOMM repositories and disseminated the mouse lines through IMPC website. Besides, we have started pilot study In collaboration with the Gene Engineering Division, for efficient production of knockout mice in the IMPC by using CRISPR/Cas9 system with wild-type Cas9 or D10A nickase.

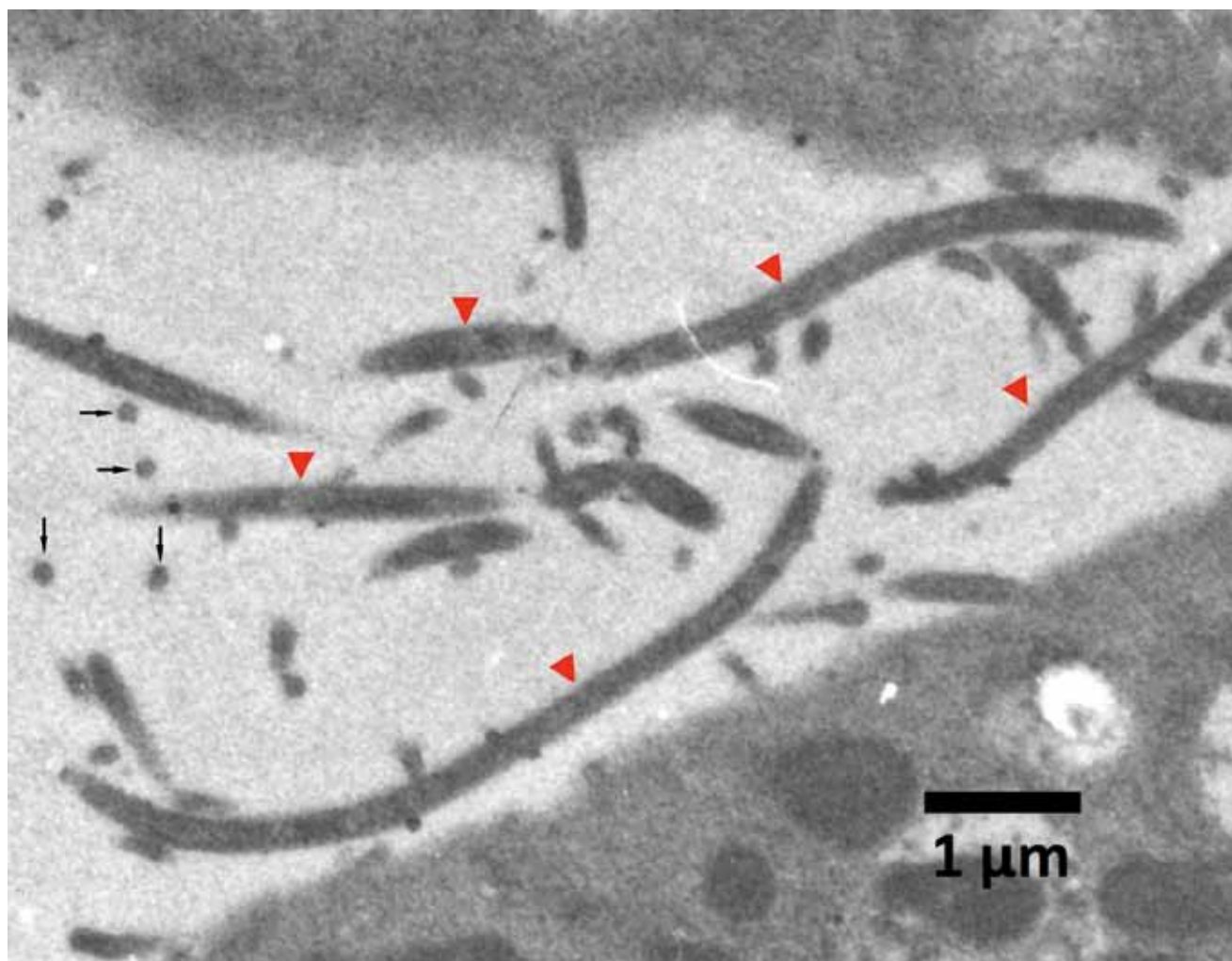


図3 Vero E6細胞と共培養した*Filobacterium rodentium*の透過電子顕微鏡写真
 細胞間隙に長さ8マイクロメートルほどのフィラメント状桿菌(赤矢印頭)と、細胞の微絨毛の横断面(小黑矢印)が見える。
 Fig. 3 Transmission electron micrograph of *Filobacterium rodentium* co-cultured with Vero E6 cells.

So far, we have successfully generated germ line transmission-confirmed founder mice with a deletion mutation for 23 genes. So far, we have distributed knockout mice to domestic and overseas 26 users. Regarding the knockout mice with lacZ reporter gene, we have conducted the gene expression analysis by X-gal staining (Fig. 2).

平成27年度のトピックス Topics of 2015-2016

(1) マウス・ラットの呼吸器感染症病原体CARバチルスの学名制定

微生物材料開発室ならびに国立研究開発法人放射線医学総合研究所と共同で、1980年の報告以来学名が付けられていなかったマウス・ラットの呼吸器感染症病原体CAR(カー)バチルス(Cilia-associated respiratory bacillus、グラム陰性細菌、図3)に科レベルの新学名、*Filobacteriaceae* fam. nov., *Filobacterium rodentium* gen. nov., sp. nov.と命名した。

(1) Scientific name given to CAR bacillus, a respiratory pathogen of mice and rats

CAR bacillus (cilia-associated respiratory bacillus, Gram-stain negative bacterium, Fig. 3), which is known one of etiological agent of rodent chronic respiratory disease and had been with no scientific name since firstly reported in 1980, was finally given a binominal name, *Filobacteriaceae* fam. nov., *Filobacterium rodentium* gen. nov., sp. nov in collaboration with the Microbe Division and the National Institute of Radiological Sciences.

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.

- 研究員 [Research Scientist]
綾部 信哉 Shinya AYABE, D.V.M., Ph.D.
仲柴 俊昭 Toshiaki NAKASHIBA, 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 IJUN 村上 亜弓 Ayumi MURAKAMI
田中 めぐみ Megumi TANAKA 門田 雅世 Masayo KADOTA
川合 玲子 Reiko KAWAI 田熊 究一 Kyuichi TAGUMA
岡本 裕行 Hiroyuki OKAMOTO 橋本 知美 Tomomi HASHIMOTO
岩間 瑞穂 Mizuho IWAMA 平木 弘安 Hiroyasu HIRAKI

- アシスタント [Assistant]
酒井 智江 Tomoe SAKAI 中山 百合子 Yuriko NAKAYAMA

- 派遣職員 [Agency Staff]
越山 明美 Akemi KOSHIYAMA 斉藤 昭男 Teruo SAITO
竹内 隆二 Ryuji TAKEUCHI 大久保 千春 Chiharu OKUBO
勝村 寛子 Hiroko KATSUMURA 児玉 穂月 Hozuki KODAMA
長栄 敦 Atsushi CHOEI 安井 明美 Akemi YASUI
高島 梨香 Rika TAKASHIMA 梶田 亜矢子 Ayako KAJITA
小川 ちいみ Chiimi OGAWA 坂田 ひろみ Hiromi SAKATA
平野 直樹 Naoki HIRANO 中山 寿子 Hisako NAKAYAMA
廣瀬 真由 Mayu HIROSE 倉岡 潤子 Junko KURAOKA
橋本 美智子 Michiko HASHIMOTO 田口 葉子 Yoko TAGUCHI
関 幸子 Yukiko SEKI 山村 竜典 Tatsunori YAMAMURA
野田 康剛 Yasutaka NODA 結城 忍 Shinobu YUUKI
山下 能孝 Yoshitaka YAMASHITA

- パートタイマー [Part Timer]
斎藤 英子 Eiko SAITO 嶋 洋子 Yoko SHIMA
麻生 則子 Noriko ASO

