

理化学研究所
バイオリソース研究センター
RIKEN BioResource Research Center



 **RIKEN BRC**
TRUST SUSTAINABILITY LEADERSHIP

Annual Report 2021-2022

理研 BRCは

最先端の研究基盤の一つとして

21世紀のライフサイエンスの

発展と人類の福祉向上に

貢献します

RIKEN BRC,
as one of the world leading scientific infrastructures,
contributes to advancement of
life science and human welfare
in the 21st century.



バイオリソース研究センターとは？

今やバイオリソースは生命科学の発展には欠くことのできない「知の礎」です。
これまでの科学と技術の「知の結晶」であり、そして、これからの新たな発見へと導く「知の源」。
過去と未来をつなぎ、無限の可能性を秘めた研究用生物材料、それがバイオリソースです。

生物という特性が故に、一度失えば二度と手に入れることはできない、まさに「財産」なのです。

この貴重なバイオリソースを研究コミュニティより「収集」すること、
特性を調べ、同時にクオリティを高め「保存」すること、
そして再び国内外の研究コミュニティに「提供」すること。
この一連のサイクルでライフサイエンスの発展に繋げることが、私たちのミッションです。

「健康」「環境」「食物」……。
まさに今、世界は「持続可能な地球」であり続けるために解決すべきさまざまな課題に直面しています。

こうした課題を解決するために、研究コミュニティからの信頼を集め、
時代を経てもクオリティの高いバイオリソースを継続的に提供すること。
そして、研究の新たなトレンドを創り出すバイオリソースを整備すること。
それが私たちに与えられた使命なのです。

「実験動物」「実験植物」「ヒト・動物細胞」「遺伝子」「微生物」。
そしてこうしたバイオリソースに関する情報・技術を携えて、
バイオリソース研究センターは世界の科学の発展のために挑戦しつづけます。

What is BIORESOURCE RESEARCH CENTER ?

Bioresources are today a foundation of knowledge,
indispensable to the development of life sciences.
They are a product of knowledge yielded from science and technologies cultivated to date,
and a source of knowledge that will lead us to new discoveries.
Bioresources are experimental biological materials
that connect the past and future and offer infinite possibilities.

The very fact that they are living matter
never to be regained once they are lost makes bioresources a truly precious asset.

We collect these precious bioresources from research communities,
investigate their characteristics and store them in a state of high quality,
and offer them back to domestic and foreign research communities.
Our ultimate goal, pursued through the above process,
is to promote life sciences by facilitating the use of bioresources.

Today, the world is confronted by a host of issues that must be addressed
to maintain global sustainability—issues related to health, the environment,
and food, just to name a few.

As our contribution to resolving these issues,
we hope to acquire the trust of research communities and continually offer
quality bioresources that remain unaltered through time.
Eventually, we hope to provide bioresources that will initiate new trends in research.
This is the mission we have adopted.



Empowered with bioresource information and technologies on experimental animals and plants,
human and animal cells, genes, and microbes,
the BioResource Research Center will continue to embrace diverse challenges
for the global advancement of science.

組織

[ORGANIZATION]

理化学研究所

RIKEN

●理事長 松本 紘
President
Hiroshi MATSUMOTO, Ph.D

バイオリソース研究センター
RIKEN BioResource Research Center

○センター長 城石 俊彦
Director Toshihiko SHIROISHI, Ph.D

副センター長
Deputy Director

○阿部 訓也
Kuniya ABE, Ph.D

○小林 正智
Masatomo KOBAYASHI, Ph.D

特別顧問
Senior Adviser

○小幡 裕一
Yuichi OBATA, Ph.D

コーディネーター
Coordinator

○吉木 淳
Atsushi YOSHIKI, Ph.D

○小林 正智 (兼務)
Masatomo KOBAYASHI, Ph.D (concurrent)

○中村 幸夫
Yukio NAKAMURA, M.D, Ph.D

センター長室
Office of the Center Director

○城石 俊彦 (兼務)
Toshihiko SHIROISHI, Ph.D (concurrent)

アドバイザー・カウンシル
Advisory Council

リソース検討委員会
Resource Committees

レビュー委員会
Review Committees

バイオリソース整備事業 BioResource infrastructure Divisions

実験動物開発室
Experimental Animal Division

●室長 吉木 淳 (兼務)
Director Atsushi YOSHIKI, Ph.D (concurrent)

実験植物開発室
Experimental Plant Division

●室長 小林 正智 (兼務)
Director Masatomo KOBAYASHI, Ph.D (concurrent)

細胞材料開発室
Cell Engineering Division

●室長 中村 幸夫 (兼務)
Director Yukio NAKAMURA, M.D, Ph.D (concurrent)

遺伝子材料開発室
Gene Engineering Division

●室長 三輪佳宏
Director Yoshihiro MIWA, Ph.D (concurrent)

微生物材料開発室
Microbe Division: Japan Collection of Microorganisms; JCM

●室長 大熊 盛也
Director Moriya OHKUMA, Ph.D

統合情報開発室
Integrated Bioresource Information Division

●室長 榎屋 啓志
Director Hiroshi MASUYA, Ph.D

バイオリソース品質管理支援ユニット
Support Unit for Quality Management

●ユニットリーダー 小林 正智 (兼務)
Unit Leader Masatomo KOBAYASHI, Ph.D (concurrent)

基盤技術開発事業 Key Technology Divisions

遺伝工学基盤技術室
Bioresource Engineering Division

●室長 小倉 淳郎
Director Atsuo OGURA, D.V.M., Ph.D

バイオリソース関連研究開発プログラム BioResource Frontier Programs

疾患ゲノム動態解析技術開発チーム
Technology and Development Team for Mammalian Genome Dynamics

●チームリーダー 阿部 訓也 (兼務)
Team Leader Kuniya ABE, Ph.D (concurrent)

マウス表現型解析開発チーム
Technology and Development Team for Mouse Phenotype Analysis: Japan Mouse Clinic

●チームリーダー 田村 勝
Team Leader Masaru TAMURA, Ph.D

iPS 創薬基盤開発チーム
iPSC-based Drug Discovery and Development Team

●チームリーダー 井上 治久
Team Leader Haruhisa INOUE, M.D, Ph.D

iPS 細胞高次特性解析開発チーム
iPS Cell Advanced Characterization and Development Team

●チームリーダー 林 洋平
Team Leader Yohei HAYASHI, Ph.D

次世代ヒト疾患モデル研究開発チーム
Next Generation Human Disease Model Team

●チームリーダー 天野 孝紀
Team Leader Takanori AMANO, Ph.D

植物・微生物共生研究開発チーム
Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team

●チームリーダー 市橋 泰範
Team Leader Yasunori ICHIHASHI, Ph.D

創薬 iPS 細胞研究基盤ユニット
iPS Cell Research Unit for Drug Discovery

●ユニットリーダー 中村 幸夫 (兼務)
Unit Leader Yukio NAKAMURA, M.D, Ph.D (concurrent)

連携研究グループ Research Collaborative Group

篠崎連携研究グループ (機能開発研究グループ)
Shinozaki Research Collaborative Group

●ラボラトリーヘッド 篠崎 一雄
Laboratory Head Kazuo SHINOZAKI, Ph.D

筑波事業所

Tsukuba Branch

○所長 穴戸 博
Director
Hiroshi SHISHIDO

研究支援部
Tsukuba Administrative Division

○部長 姜 媛瓊
Director Wonkyung KANG, Ph.D

総務課
Tsukuba General Affairs Section

施設課
Tsukuba Facilities Section

人事課
Tsukuba Human Resources Section

経理課
Tsukuba Finance Section

バイオリソース研究推進室
BioResource Research Center Promotion Office

○室長 姜 媛瓊 (兼務)
Director Wonkyung KANG, Ph.D (concurrent)

情報システム室
Tsukuba Information Systems Office

○室長 黒川 原佳
Director Motoyoshi KUROKAWA, Ph.D

安全管理室
Tsukuba Safety Center

○室長 青島 達之
Director Tatsuyuki AOSHIMA

研究倫理委員会
Research Ethics Committee

遺伝子組換え実験安全委員会
Recombinant DNA Experiments Committee

動物実験審査委員会
Animal Experiments Committee

目次

[CONTENTS]

RIKEN BRC Annual Report 2021~2022

事業・成果

Activities in the RIKEN BioResource Research Center

センター長挨拶 Greetings	4
世界の中の理研 BRC BRC on the global stage	6
バイオリソースの提供 Distribution of Research Materials	8
受賞 Awards	9
実験動物開発室 Experimental Animal Division	10
実験植物開発室 Experimental Plant Division	14
細胞材料開発室 Cell Engineering Division	18
遺伝子材料開発室 Gene Engineering Division	22
微生物材料開発室 Microbe Division: Japan Collection of Microorganisms; JCM	26
統合情報開発室 Integrated Bioresource Information Division	30
バイオリソース品質管理支援ユニット Support Unit for Quality Management	32
遺伝工学基盤技術室 Bioresource Engineering Division	34
疾患ゲノム動態解析技術開発チーム Technology and Development Team for Mammalian Genome Dynamics	36
マウス表現型解析開発チーム Technology and Development Team for Mouse Phenotype Analysis: Japan Mouse Clinic	38
iPS 創薬基盤開発チーム iPSC-based Drug Discovery and Development Team	40
iPS 細胞高次特性解析開発チーム iPS Cell Advanced Characterization and Development Team	42
次世代ヒト疾患モデル研究開発チーム Next Generation Human Disease Model Team	44
植物-微生物共生研究開発チーム Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team	46
篠崎連携研究グループ（機能開発研究グループ） Shinozaki Research Collaborative Group	48
研究発表 Publications	50

適切な運営に向けた取り組み

Initiatives for the Better Management of the RIKEN BioResource Research Center

広報活動 Publicity Activities	64
人材育成への取り組み Efforts to Foster Personnel	66
安全管理の取り組み Initiatives in the Area of Safety Management	72
予算と人員 Budget & Personnel Organization	74
評価 Evaluations	76

Contents

センター長挨拶

Greetings

バイオリソース研究センター センター長
Director of
BioResource Research Center

城石 俊彦 (理博)
Toshihiko SHIROISHI, Ph.D.



バイオリソースは、生命科学やイノベーションに必要不可欠な研究材料です。2001年1月、理化学研究所は、我が国のバイオリソース事業の中核拠点として筑波研究所にバイオリソースセンター（BRC）を設立しました。センター設立以来、最も主要なバイオリソースである実験動物マウス、実験植物、ヒト及び動物由来の培養細胞株、遺伝子材料、微生物及びこれらのバイオリソースの関連情報の整備に焦点をあてて事業を実施してきました。これまで、研究コミュニティの多大な支援を受けて、理研BRCは、我が国で開発された独自のバイオリソースを中心に整備し、実験結果の再現性を担保する高品質のバイオリソースを提供することを使命として活動を続けてきました。最近では、年間約15,000件、累積では290,000件を超えるバイオリソースを国内約7,600機関、国外約6,000機関に提供しています。これらのバイオリソース整備事業に加えて、増加する一方のバイオリソースを安定的かつ効率的に保存するための技術開発を行う基盤技術開発事業、社会ニーズや研究ニーズに応えるための新規バイオリソースの開発やバイオリソースの利活用を促進するためのバイオリソース関連研究開発プログラムを実施してきました。2018年4月からは、センター名を、バイオリソース研究センター（略称はBRCと変わらず）と改め、研究開発の一層の強化を図っています。今日、理研BRCが整備する5種類のバイオリソースの保存数は各々が世界の三大拠点の一つにまで成長し、理研BRCは公的バイオリソースセンターの一つとして世界的にも広く認知される存在になっています。

現代社会は、少子化や老化・難病等の健康・医療問題、地球規模で悪化する環境や食料問題、そして未だに継続しているCOVID-19のような感染症など、さまざまな困難に直面しています。これらの課題を解決するために役立つ最先端のバイオリソースの整備は、理研BRCの重大な責務です。幸い、生命科学の幅広い分野では、ゲノム科学の進展や革新的なゲノム編集技術の出現によって、新しいバイオリソースの開発が格段に容易になってきました。実際に、ヒトの希少疾患や難病、そして老化のモデルとなる実験動物、疾患特異的iPS細胞やその加工細胞株、食料増産や環境・健康医

療の諸問題の解決に欠かせない植物や微生物、そしてそれら由来の遺伝子材料など新しいバイオリソースが次々と開発されています。これに伴い、理研BRCから提供されたリソースを利用して研究コミュニティで新たに開発される二次的バイオリソースが今後ますます増加していくものと予想されます。したがって、私達の重要な使命は、当センターと研究コミュニティの間のバイオリソースの循環を駆動して生命科学とイノベーションを活性化することにあると考えられます。理研BRCは、研究コミュニティによって新規に開発されたこれらの先端的なリソースの収集・品質管理・提供に注力することで、学術の進展と産業の振興に引き続き貢献したいと考えています。

2021年1月に設立20周年を迎えた理研BRCは、さまざまな記念行事を挙げて行いました。2021年10月19日にはオンライン形式で記念式典を開催し、これまでご支援をいただいたご来賓の皆様から心の籠もったご祝辞を頂戴いたしました。また、多数の関係者に式典をご視聴いただきました。式典の翌日から三日間連続で開催されたオンラインによる記念公開シンポジウムでは、理研BRCが進めるバイオリソース事業を紹介し、理研BRCのバイオリソースを活用して優れた成果を挙げてこられた利用者から関連研究についてご講演いただきました。お陰様で多くの方々はこのシンポジウムにご参加いただき、たいへん盛況でした。2022年5月には、設立以来の活動を振り返りこれからの展望をとりまとめた理研BRC設立20周年記念誌を刊行いたしました。理研BRCがこれまで長きにわたって活動を継続できましたことは、偏に研究コミュニティからの厚いご支援の賜です。理研BRCは、「信頼性」、「継続性」、「先導性」を事業推進の信条として、これからも世界でトップレベルのバイオリソースに関する研究基盤の向上をめざして活動してまいります。これまでの皆様の変わらないお力添えに深く感謝申し上げますとともに、引き続きご支援賜りますようお願い申し上げます。

Bioresources are essential research materials for life science and innovation. In January 2001, RIKEN founded the BioResource Center (BRC) at the Tsukuba Research Institute as a core center for the bioresource infrastructure in Japan. Since its foundation, the RIKEN BRC has been focusing on the major bioresources; i.e., experimental mouse strains, experimental plants, cell lines of human and animal origin, genetic materials (DNA clones), microorganisms, as well as relevant information associated with these bioresources. The RIKEN BRC has been mainly collecting bioresources originally developed in Japan, so as to become the unique facility serving the world, with the generous support of the research community. These years, The RIKEN BRC has been providing approximately 15,000 items of bioresources annually, with a cumulative total of over 290,000 items since its foundation to around 7,600 domestic institutions and 6,000 overseas institutions. In addition to these services, we are engaged in “Key technology development program” to ensure effective and efficient preservation of bioresources that ever increase in number, as well as in “Bioresource frontier programs” to characterize features of bioresources and to develop novel bioresources that meet the social and research needs. In April 2018, the name of the center was changed to the “BioResource Research Center” (abbreviated to BRC as it was before). In line with this, we have further strengthened research & development to promote development of bioresources and their utilization. Today, the RIKEN BRC has grown up to be one of the three major repositories for each of the five bioresources in the world, and is now well recognized bioresource center worldwide.

Modern society faces a variety of challenges, including health and medical issues such as declining birthrates, aging and intractable diseases, environmental and food problems that are worsening on a global scale, and infectious diseases such as COVID-19 that are still ongoing. It is a critical responsibility of the RIKEN BRC to collect and preserve state-of-the-art bioresources that can help to solve these challenges. Fortunately, in the broad fields of life science, advances in genomics and the emergence of innovative genome editing technologies have made it increasingly easy to develop new bioresources. In fact, new bioresources are being

developed one after another, including experimental animals that serve as models for rare human diseases, intractable diseases and aging; disease-specific iPS cells and their processed cell lines; plants and microorganisms that are essential for researches to increase food production and solve environmental and health care problems; and genetic materials derived from them. Under such circumstances, we expect that secondary bioresources newly developed by the research community using bioresources provided by the RIKEN BRC will increase in the future. Therefore, we think that our important mission is to drive the circulation of bioresources between the RIKEN BRC and the research community to stimulate the life science and innovation. The RIKEN BRC will strive to continue contributing to promotion of the life science and innovation by collection, preservation and dissemination of the cutting-edge and high-quality bioresources newly developed by the research community.

In honor of its 20th anniversary, the RIKEN BRC held a series of commemorative events in FY2021, including an online ceremony on October 19, 2021, where we received heartfelt congratulations from all of the guests who have supported us over the years. The ceremony was also viewed by a large number of interested parties. In the online symposium, which was held for three consecutive days from the day after the ceremony, researchers of the RIKEN BRC introduced the activities of the bioresource programs, and guest speakers who have achieved outstanding results using RIKEN BRC's bioresources gave excellent talks on their related researches. In May 2022, the RIKEN BRC published a commemorative book to mark the 20th anniversary of the RIKEN BRC, reviewing its activities since its foundation and outlining its future prospects. We are deeply grateful for the generous support of the research community for these many years of activity at the RIKEN BRC. The RIKEN BRC will work to further upgrade the crucial bioresource infrastructure with three mottos, "Trust", "Sustainability", and "Leadership". We look forward to your continuous support for our operations of the RIKEN BRC.

世界の中の理研BRC

BRC on the global stage

研究開発に必要とされるバイオリソースの種類と量は、一国、一機関の収容能力を凌駕しているため、整備に関する国際協調（国際競争）が必要になっている。理研BRCは、バイオリソースにおける国際的な共同活動を積極的に行っている。

As varieties and quantities of bioresources needed for R&D have far exceeded the capacity of a single biorepository or even a single country, international cooperation and competition are urgently needed. RIKEN BRC is proactively promoting international collaboration in the field of bioresources.

●AMMRA

アジアマウス突然変異開発リソース連盟 (Asian Mouse Mutagenesis and Resource Association; AMMRA) は、ミュータントマウス開発とマウスリソースの利用を促進するためのアジア連携を目的として、2006年に設立された。理研BRCはこの設立メンバーとして活動しており、2013年にはアジアマウス表現型解析コンソーシアム (Asian Mouse Phenotyping Consortium; AMPC) と合同で第8回運営会議を主催した。第13回AMMRA・AMPC会議は2021年5月28日に台湾国家実験動物センター（台北）によりオンライン開催された。

The Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA) was founded in 2006 with the aim to facilitate development and utilization of mutant mouse resources in Asia. RIKEN BRC has worked as a founding member and hosted the 8th AMMRA meeting in 2013 jointly with the Asian Mouse Phenotyping Consortium (AMPC). The 13th AMMRA-AMPC joint meeting on May 28, 2021 was held online by the National Laboratory Animal Center, Taipei, Taiwan.

●ANRRC

アジア研究資源センターネットワーク (Asian Network of Research Resource Centers; ANRRC) は、21世紀における継続的な生物遺伝資源の利用と新規のリソースの開発を促進し、科学技術イノベーションを推進し、アジア地域の科学の発展、またアジアの欧米に対する相対的地位を向上し、究極的には人類の繁栄に貢献することを目的として、2009年9月に設立された。2021年の時点で、15の国と地域から113の機関が参加しており、理研BRCはANRRCにおいて中心的な役割を果たしている。2010年つくばで開催された第2回国際会議においては、「分担と連携」、「研究材料の学術利用と発表の自由の確保」、「生物多様性条約の遵守」等を謳う憲章の制定に大きく貢献した。さらに、2012年から2016年までは小幡センター長（現理研名誉研究員）が、2021年から2023年まで城石センター長が議長を務めている。

Asian Network of Research Resource Centers (ANRRC) was established in September 2009, for facilitating sustainable use and development of bioresources in the 21st century, with the aim of promoting science, technology, and innovation in Asian regions, improving relative positions of Asian countries against those of European countries and the USA, and thus contributing to prosperity of humankind. As of 2021 year-end, 113

institutions from 15 countries and regions have joined the ANRRC, where RIKEN BRC is playing a pivotal role. At the 2nd International Meeting held in Tsukuba in 2010, we made a significant contribution to the effort of declaration of the ANRRC Charter under principles including “cooperation and sharing responsibility”, “freedom of academic use and publications using research resources” and “compliance with the Convention on Biological Diversity”. Furthermore, Dr. Obata, Director of RIKEN BRC (current RIKEN Honorary Scientist), was appointed as ANRRC president from 2012 to 2016, and Dr. Shiroishi, current Director of RIKEN BRC, is appointed as ANRRC president from 2021 to 2023..

●IMPC

国際的な協力・分担でマウス表現型を解析し「哺乳類遺伝子機能百科事典」の作成を目指す取り組みとして2011年9月 International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) が設立された。理研BRCはこれに参画し、理研BRC主催のシンポジウムを2回行った。IMPCの成果により遺伝子機能の解明、疾患に関する理解の進展、それに伴う創薬開発、あるいは開発中の新薬効物質の副作用の早期発見、更に高次生体機能解明に対して多大な貢献をすることが期待できる。2021年現在14の国の25機関が加盟している（図）。

International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) was established in September 2011 expanding international collaborative networks in phenotyping knockout mice, with the goal to publish an Encyclopedia of the Mammalian Genome Function. RIKEN BRC has committed to this effort, hosting symposiums two times. Outcomes of these collaborative activities will greatly contribute to enabling delineate of biological function of each gene, a better understanding of diseases, drug discovery and development as well as prediction of potential side-effects early in the drug discovery process, and moreover, deeper insights into sophisticated biological functions. As of April, 2021, 25 organizations in 14 countries and involved in the IMPC (Figure).

●MASC

植物科学に関わる国際連携の枠組みとしては、Multinational Arabidopsis Steering Committee (MASC)が牽引してきた。特に2001年より開始されたThe Multinational Coordinated Arabidopsis thaliana Functional Genomics Project (2010 Project)において、理研BRCはシロイヌナズナの遺伝子破壊系統や完全長cDNAなどの網羅的なリソースを国内外に提供することにより、欧米のリソースセンターと連携して国際プロジェクトの推進に貢献してきた。2011年からはMASCのメンバーに小林実験植物開発室長が加わり、現在の目標である“From bench to bountiful harvests”の実現に向けて活動している。

Multinational Arabidopsis Steering Committee (MASC) has led the international projects on plant science, including the post-genome project from 2001 to 2010. Since 2011, Dr.



図 IMPCの参加研究機関
Fig. IMPC members

Masatomo Kobayashi, the head of Experimental Plant Division has joined the Committee, and has been collaborating with the overseas members to promote the current project, “From bench to bountiful harvests”.

● ICLAC

International Cell Line Authentication Committee (ICLAC) は、誤認細胞を使用した研究を研究コミュニティから排除することを目的に、2012年に発足した国際組織である。理研BRC、米国ATCC、英国ECACC、ドイツDSMZなどの世界11ヶ国の主要細胞バンク機関が参画し、誤認細胞と判明した細胞を研究コミュニティに発信するためのホームページの作成・運用等の活動を行っている。また、Nature誌等に関連記事を掲載し、研究コミュニティへの啓発活動を継続して実施している。

In order to eliminate the use of misidentified cell lines from the community, the International Cell Line Authentication Committee (ICLAC) started its activity in 2012. Major cell banks around the world such as RIKEN Cell Bank in Japan, ATCC in USA, ECACC in UK and DSMZ in Germany are participating in this Committee. The ICLAC has its own web page and is disclosing the list of misidentified cell lines.

● ISCI and ISCBI

International Stem Cell Forum (ISCF) は、幹細胞研究分野の世界的な連携協力に基づいた発展を目指して、世界11ヶ国が参加し、2003年に設立された国際組織である。ISCF傘下において、多能性幹細胞(ES/iPS細胞)の培養技術、応用技術等に関する世界的な標準化を図ることを目的として、International Stem Cell Initiative (ISCI) が設立され、また、多能性幹細胞のバンク事業の標準化を目的に International Stem Cell Bank Initiative (ISCBI) が設立された。理研BRCはISCI及びISCBIにその発足当初から参画し、共同作業の成果を著書・論文等として研究コミュニティに発信し、多能性幹細胞研究の発展及び標準化に貢献している。

In order to accelerate the development of stem cell researches by international collaboration, the International Stem Cell

Forum (ISCF) started its activity in 2003 with 11 countries as the members. Under the supervision of ISCF, International Stem Cell Initiative (ISCI) and International Stem Cell Bank Initiative (ISCBI) were established in order to standardize culture method and relevant technologies in the field of stem cell research. RIKEN BRC is a member of both ISCI and ISCBI and is contributing the field of stem cell research.

● WFCC

WFCC(World Federation for Culture Collections)は、微生物株・培養細胞を対象とする生物資源センター・カルチャーコレクションを支援する国際的ネットワーク機関として機能しており、また附設のWDCM(World Data Center for Microorganisms)は、コレクションやその保有菌株に関する情報を公開している。JCMは様々なデータを提供することによってWDCMの情報ツールの基盤整備や開発に協力している。また、原核生物のゲノム解析を実施するWDCMを中心とした国際連携においても、最も多数の微生物株を提供することでJCMは貢献している。

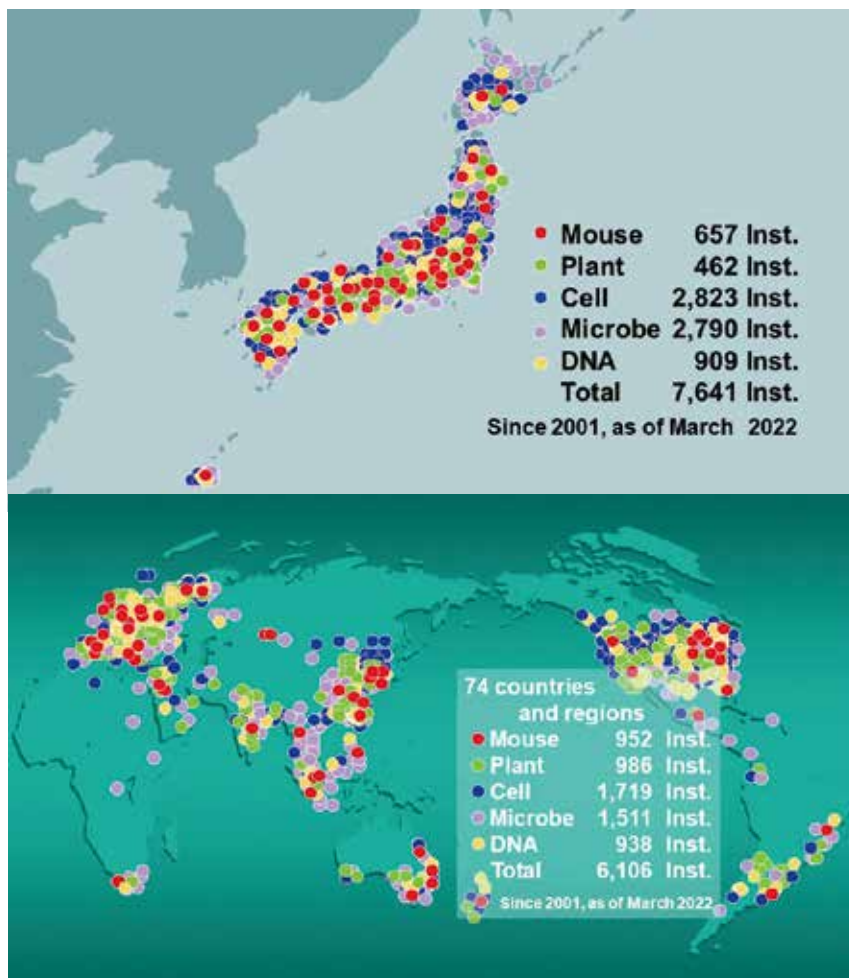
The WFCC (World Federation for Culture Collections) has been acting as a network organization to promote and support culture collections of microorganisms and cultured cells. A data center of WFCC, WDCM (World Data Center for Microorganisms), has set up to provide information about culture collections of the world and their microbial resources. The JCM has contributed to establishment and development of information tools at the WDCM by providing various types of data. JCM is also contributing the internal collaboration of WDCM and other resource centers for genome sequencing of prokaryotic species by providing the largest number of sequencing strains.

バイオリソースの提供

Distribution of Research Materials

バイオリソースの提供先

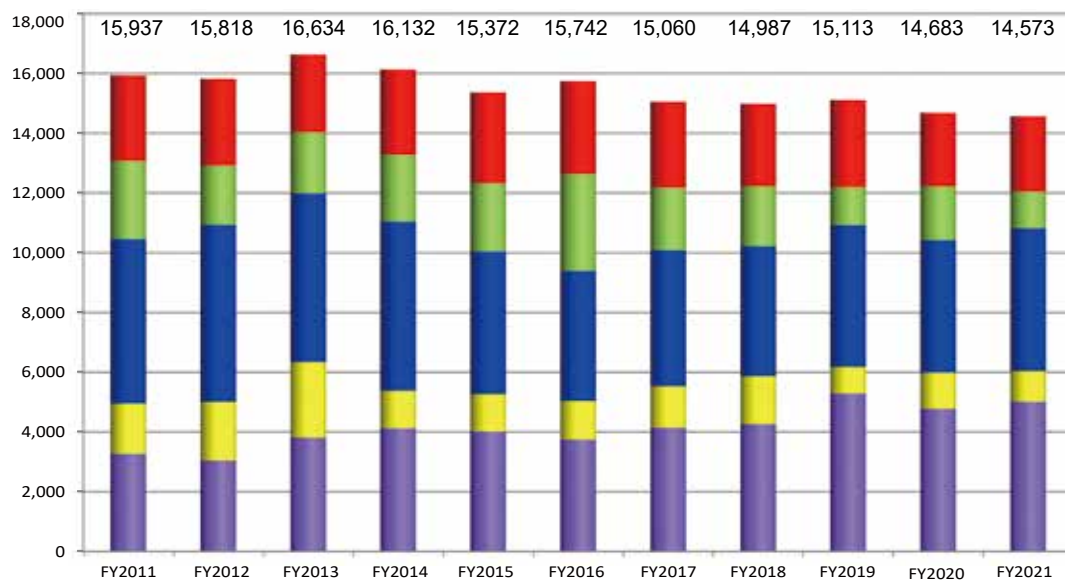
Locations of Distributed Bioresources



- 実験動物
Mouse Strains
- 実験植物
Plants
- 細胞材料
Cell Lines
- 微生物材料
Microbes
- 遺伝子材料
Genetic Materials

バイオリソース提供の推移

Number of Distribution

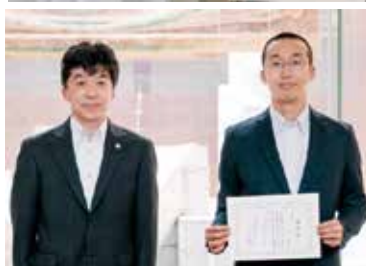


As of March 31, 2022

受賞

Awards

2021. 6.11 2021 年度全国大会優秀賞（一般セッション口頭発表部門）／
JSAI Annual Conference Award
● 櫛田達矢 専門技術員（統合情報開発室）／
Tatsuya KUSHIDA (Integrated Bioresource Information Division)
2021. 6.23 日本微生物資源学会 技術賞／ JSMRS Technology Award
● 押田 祐美 専門技術員（微生物材料開発室）／
Yumi OSHIDA (Microbe Division; JCM)
2021. 6.23 日本微生物資源学会 奨励賞／ JSMRS Incentive Award
● 遠藤 力也 研究員（微生物材料開発室）／
Rikiya ENDOH (Microbe Division; JCM)
2021. 7.02 日本微生物資源学会 優秀発表賞／
Best presentation award, Japan Society for Microbial Resources and Systematics
● 加藤 真悟 開発研究員、大熊盛也室長（微生物材料開発室）／
Shingo KATO, Moriya OHKUMA (Microbe Division; JCM)
- 2021.10.26 Committee Vote in the Online Poster Session／ポスター発表賞
The Asian Network of Research Resource Centers (ANRRC)
● 遠藤 力也 研究員（微生物材料開発室）／
Rikiya ENDOH (Microbe Division; JCM)
2022. 3.23 理研桜舞賞／ The 13th RIKEN Researcher Incentive Award
● 矢田祐一郎 特別研究員（iPS創薬基盤開発チーム）／
Yuichiro YADA (iPSC-based Drug Discovery and Development Team)
2022. 3.31 Top Cited Article 2020-2021 国際学術雑誌 MicrobiologyOpen
● 坂本光央 専任研究員（微生物材料開発室）／
Mitsuo SAKAMOTO (Microbe Division; JCM)



授賞式（日本微生物資源学会 技術賞・奨励賞）（上）
Award ceremony (JSMRS Technology Award・Incentive Award) (Upper)

授賞式（日本微生物資源学会 優秀発表賞）（下）
Award ceremony (Best presentation award, Japan Society for Microbial Resources and Systematics) (Lower)



オンライン授賞式（理研桜舞賞）（上）
On line award ceremony (RIKEN Researcher Incentive Award) (Upper)

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

マウスは人のモデル動物として、高次生命現象の理解、人の健康増進と病気の克服のためのライフサイエンス研究に貢献している。実験動物開発室の第一の使命は、マウスリソースの国際拠点および文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) の中核機関として、社会・研究ニーズに応える最先端のモデルマウスを収集・保存・品質管理・提供することである。さらに、研究コミュニティにおける優先度の高いマウス系統を開発・評価し、世界最高水準の品質管理に必要な技術開発を実施する。目標達成にあたっては、他の室やチーム、外部の専門家と連携する。NBRP ではラットのバックアップ保存も担当している。

Mice have contributed to life sciences as animal models of humans for understanding higher-order biological phenomena, promoting human health and conquering diseases. The primary mission of the Experimental Animal Division is to collect, preserve, quality-control, and distribute the most advanced mouse models which meet social and research needs as the international hub and the core facility of the National BioResource Project by the MEXT for mouse resources. In addition, we will develop and evaluate mouse strains of high-priority in research community as well as develop technologies necessary for the quality control of the highest global standards. To achieve our goal, we will collaborate with other divisions, teams and external specialists. The division has also been designated as a backup preservation facility of NBRP-rat.

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、228 系統 (生体 90 系統、凍結 138 系統) を収集し、累計 9,512 系統を保存した。NBRP ラットのバックアップ保存ではラット中核機関の京都大学より 32 系統の凍結胚 31 本、凍結精子 114 本を受領して累計 9,455 系統を保存した。

(1) Collection

We have collected 228 mouse strains (90 live and 138 frozen strains) from universities and research institutions in Japan, and archived 9,512 mouse models to study human diseases and gene function. 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. For backup preservation of NBRP-rat, we have received 32 rat strains in 114 straws of frozen sperm and 31 vials of frozen embryos from the rat core facility at Kyoto University and archived 9,455 rat strains.

(2) 保存

需要の多いマウス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 9,016 系統を胚・精子で凍結保存し、各系統の一部を危険分散、長期安全保存のため播磨研究所バックアップ施設に移管している。

(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. So far, we have preserved 9,016 strains as frozen embryos and sperm. Rapidly increasing genome-edited strains have been frozen-stored efficiently by sperm freezing. To preserve our mouse strains safely for long terms and protect them from disasters, we have partially transferred every frozen strain in the backup facility of Harima Institute.

(3) 品質管理

2021 年度、寄託マウスの病原微生物検査の結果、腸管内原虫・蟯虫が 30.7 % のマウスにおいて陽性だった。80 系統を胚移植により清浄化してバリア施設へ導入した。遺伝品質検査では、507 系統 (16,815 検体) の遺伝子型検査、マーカー遺伝子検出検査 (150 系統 1156 検体)、loxP 検査 (47 系統 355 検体) ならびに Frt 検査 (47 系統 355 検体) を実施した。最適化した PCR プロトコール (累

計2,508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。さらに、遺伝品質検査のチェックシートにより200系統の検査結果を自己点検した。

(3) Quality control

In FY2021, we tested the deposited live mice for pathogenic microbes and detected intestinal protozoa/pinworms in 30.7 % of deposited mice. We rederived and cleaned-up 80 strains by embryo transfer into the barrier facility. For genetic quality control, we conducted routine genotyping PCR of 16,815 samples from 507 strains for strain maintenance and distribution. We examined the genetically modified mice using knock-out- (1156 samples of 150 strains), loxP- (355 samples of 47 strains) and Frt- (355 samples of 47 strains) survey tests and provided optimized PCR protocols of 2,508 genetically modified strains and accurate information of the genetic modifications on the website. Moreover, we have self-inspected our test results of 200 strains by using the genotyping check sheet.

(4) 提供

これまでに国内656機関、海外952機関42ヶ国の利用者にマウスリソースを提供し、1,110編の優れた論文と44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)Tcs} (RBRC06344)は2021年度も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112篇の優れた論文で利用されている。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・DNAとして行った。

(4) Distribution

We have distributed our mouse resources to users at 656 domestic and 952 overseas organizations in 42 countries, resulting in 1,110 outstanding papers and 44 patents. Among them, the knock-in C57BL/6-*App*^{tm3(NL-G-F)Tcs} (RBRC06344) mice with mutations of Alzheimer's patients have become the most frequently requested strain in FY2021. The autophagy reporter, GFP-LC3 (RBRC00806) mice have been used in 112 outstanding publications. The distribution has been conducted in the form of live animals, frozen embryos/sperm, recovered litters from frozen embryos/ sperm or organs/tissues/DNA.

(5) 広報・情報発信

収集したリソースの付加価値向上、利活用促進を目的に、ホームページ上での系統紹介記事の充実を図っている。2005年3月から開始した「今月のマウス」(https://mus.brc.riken.jp/jp/mouse_of_month/) (図1a)では、寄託者と情報共有を行いながら、トレンドのマウス系統をミニレビュー形式で紹介し、2021年度は7件を発信した。2019年4月から開始した“Today's model for

human disease / Today's tool for functional analysis (https://mus.brc.riken.jp/ja/todays_tool_and_model/)” (図1b)では、簡単な説明文と文献情報を含んだリスト形式でマウス系統を紹介し、2021年度はヒト疾患モデルを24件、遺伝子機能解析ツールを18件発信した。また、これらの更新情報は、利用者の成果、新規寄託マウスなどの情報と合わせて、メールニュースとして、利用者に毎月配信している。

(5) Information dissemination activity

To promote active use of our mouse resources, we have released online articles introducing specific strains. In “Mouse of the Month” (https://mus.brc.riken.jp/en/mouse_of_month/) (Fig. 1a), launched in March 2005, we introduce advanced mouse strains of research trend in mini-review forms with depositor cooperation. In “Today's model for human disease / Today's tool for functional analysis” (https://mus.brc.riken.jp/en/todays_tool_and_model/) (Fig. 1b) launched in April 2019, we introduce human disease models and gene function analysis tools in list formats containing brief descriptions and references. The updated information, together with other news such as user publications and newly deposited mouse strains, are distributed to users as a monthly e-mail newsletter.



図1
(a) 今月のマウス
(b) Today's model for human disease / Today's tool for functional analysis
Fig.1
(a) Mouse of the Month
(b) Today's model for human disease / Today's tool for functional analysis

(6) 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および統合情報開発室と共に、国際マウス表現型解析コンソーシアム International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) に参画し、定期的な電話会議、ウェブ会議に参加している。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) とともに連携している。IMPC および AMMRA メンバーと共に新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に関する研究を支えるための The Global Mouse Models for COVID-19 Consortium (GMMCC) の活動に参加している。

(6) 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 Technology and Development Team for Mouse Phenotype Analysis and Integrated Bioresource Information Division has participated in the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) and attended regular teleconference calls and web meetings. Moreover, we collaborate with members of the Asian Mouse Mutagenesis & Resource Association (AMMRA) and Asian Mouse Phenotyping Consortium (AMPC). We have joined with IMPC and AMMRA members in the activity of the Global Mouse Models for COVID-19 Consortium (GMMCC).

2021年度の成果

Development of Novel Mouse Strains and Technologies in 2021-2022

(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 42 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を開始している。これまでに 69 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。既に、国内外の 73 名の利用者にノックアウトマウスを提供している。

(1) Production and distribution of IMPC knockout mice

Our division has established germ line transmission knockout lines for 42 genes derived from knockout ES cells of KOMP

and EUCOMM repositories and disseminated the mouse lines through IMPC website. Besides, we have started producing knockout mice by using CRISPR-Cas9 system with wild-type Cas9 or D10A nickase in collaboration with the Gene Engineering Division. So far, we have successfully generated germ line transmission-confirmed founder mice with a deletion mutation for 69 genes. We have already distributed knockout mice to domestic and overseas 73 users.

(2) 民間企業との連携

ゲノム編集によりノックアウトマウスやノックインマウスを効率的に作製する技術開発を行うことを目的として、日本チャールス・リバー (株) との共同研究「ゲノム編集マウスの効率的作製および遺伝品質検査に関する研究」を遺伝子材料開発室とともに継続している。エレクトロポレーション法を用いたマウス受精卵のゲノム編集に関して国内外の学会等で発表を行うことを通して、新たなマウスリソース開発の促進や利用者獲得を目指している。

(2) Collaboration with a commercial company

We are continually conducting a collaborative research on mutant mouse production using genome editing technology, “Development and validation of a genome-edited model creation platform”, with Charles River Laboratories Japan, Inc. and Gene Engineering Division of RIKEN BRC. We aim to increase the number of newly generated mutant mouse strains and users of our mice through presenting our results of mouse genome editing using zygote electroporation in the domestic and international conferences and meetings.

(3) JST 共創の場形成支援プログラム参加

筑波大学を中核拠点とする「つくば型デジタルバイオエコノミー社会形成の国際拠点」に参加し、ゲノム編集マウスの作出と品質管理に関する研究開発を分担している。

(3) Participation in the JST Co-creation Support Program

The division has joined with the core center of University of Tsukuba in the “Tsukuba International Center for Digital Biotechnology Project” and taken part of research and development for the production and quality control of genome editing animals.

2021年度のトピックス

Topics of 2021-2022

ロングリード配列解析による多サンプルでのゲノム編集変異アレール解析

受精卵を用いたゲノム編集による遺伝子改変マウス作製では、標的としていない数塩基が欠失・挿入されてしまったり、想定を超えるゲノム領域が欠失・逆位となる「意図しない遺伝子改変」が起きたりすることが知られている。

筑波大学との共同研究を通して、ゲノム編集で狙った遺伝子座に意図した改変が起きたのか、意図しない改変が起きたのかを自動的に識別・分類する手法を開発した。オープンソース・ソフトウェアとして公開した「Determine Allele mutations and Judge Intended genotype by Nanopore sequencer (DAJIN)」は、(1)ロングリードシーケンスエラーの自動補正機能、(2)多サンプル解析機能、および(3)変異を自動で識別・分類する機能を有しており、それぞれ異なるバーコード配列を付加した複数のマウスに由来するロングPCR産物を用いた解析が可能である。受精卵ゲノム編集で作製したマウスの遺伝子型をDAJINで解析した結果、点変異・欠失(ノックアウト)・逆位・コンディショナルノックアウトを含む意図した変異と意図しない変異の両方を1塩基の分解能で網羅かつ正確、簡便に特定できることから、ゲノム編集実験にかかる期間の短縮やその正確性の向上に寄与すると期待される。

Multiplex genotyping analysis to validate the multiallelic genome editing outcomes using long-read sequencing

Genome editing can introduce various unintended events such as small indels and substitutions, and deletions or insertions of large genomic region when creating genetically modified mice. Though collaboration with University of Tsukuba, we developed a genotyping method with an open source analysis software named Determine Allele mutations and Judge Intended genotype by Nanopore sequencer (DAJIN) that can automatically identify and classify both intended and unintended diverse mutations at the target site. DAJIN can (1) automatically correct long-read sequencing errors, (2) analyze multiple samples, and (3) automatically identify and classify genomic rearrangements. It can handle long-read sequence data of long-chain PCR products with barcodes to distinguish each founder mouse. We confirmed that DAJIN could identify and classify both intended and unintended diverse mutations, including point mutations, deletions (knockouts), inversions, and cis loSP knock-in at single-nucleotide resolution. With its high versatility, scalability, and convenience, DAJIN-assisted genotyping method has the potential to contribute to not only sophisticated animal testing but also to more precise genome editing.

職員とメンバー構成

Members

- 室長 [Director of Experimental Animal Division]
吉木 淳 [Atsushi YOSHIKI, Ph.D.](#)
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
仲柴 俊昭 [Toshiaki NAKASHIBA, Ph.D.](#)
綾部 信哉 [Shinya AYABE, D.V.M., Ph.D.](#)
- 専任技師 [Senior Technical Scientist]
中田 初美 [Hatsumi NAKATA, Ph.D.](#)
- 専門技術員 [Expert Technician]
門田 雅世 [Masayo KADOTA](#)
- 特別研究員 [Postdoctoral Scientist]
水野 沙織 [Saori MIZUNO, Ph.D.](#)
- 特別嘱託研究員 [Special Temporary Research Scientist]
池 郁生 [Fumio IKE, Ph.D.](#)
- 特別嘱託研技師 [Special Temporary Technical Scientist]
平岩 典子 [Noriko HIRAIWA](#)
- 客員主管研究員 [Senior Visiting Scientist]
美野輪 治 [Osamu MINOWA, Ph.D.](#)
目加田 和之 [Kazuyuki MEKADA, Ph.D.](#)
澤田 和彦 [Kazuhiko SAWADA, Ph.D.](#)
- 客員研究員 [Visiting Scientist]
玉里 友宏 [Tomohiro TAMARI](#)
- 研究生 [Research Fellow]
杉山 崇 [Takashi SUGIYAMA](#) 小江 克典 [Katsunori OGOH](#)
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
伊集院 麻衣子 [Maiko IJIN](#) 田中 めぐみ [Megumi TANAKA](#)
岩間 瑞穂 [Mizuho IWAMA](#) 橋本 知美 [Tomomi HASHIMOTO](#)
梶田 亜矢子 [Ayako KAJITA](#)
- 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]
関 幸子 [Yukiko SEKI](#) 中山 寿子 [Hisako NAKAYAMA](#)
大久保 千春 [Chiharu OKUBO](#) 小川 ちいみ [Chiimi OGAWA](#)
坂田 ひろみ [Hiromi SAKATA](#) 石井 誠 [Makoto ISHII](#)
山村 竜典 [Tatsunori YAMAMURA](#) 長栄 敦 [Atsushi CHOEI](#)
平野 直樹 [Naoki HIRANO](#) 山下 能孝 [Yoshitaka YAMASHITA](#)
安井 明美 [Akemi YASUI](#) 田口 葉子 [Yoko TAGUCHI](#)
瀧澤 紗耶佳 [Sayaka TAKIZAWA](#) 宮川 広美 [Hiromi MIYAKAWA](#)
戸島 宏美 [Hiromi TOJIMA](#) 横瀬 唯 [Yui YOKOSE](#)
上野 泰子 [Yasuko UENO](#) 栗山 誠 [Makoto KURIYAMA](#)
- パートタイマー [Part Timer]
嶋 洋子 [Yoko SHIMA](#) 斎藤 英子 [Eiko SAITO](#)
牧野 望 [Nozomi MAKINO](#) 福本 明予 [Akiyo FUKUMOTO](#)



実験植物開発室

Experimental Plant Division



室長 小林 正智 (農博)
Masatomo KOBAYASHI, Ph.D.

ミッションと事業概要

植物は地球上の生態系を支える存在であり、植物科学の発展は食料や環境など地球規模の課題解決に必要不可欠である。当室はナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) に参加し、代表的なモデル実験植物のシロイヌナズナを中核とした種子、遺伝子、細胞リソースの収集・保存・提供事業を行っている。また、国際的に注目されている単子葉の実験植物、ミナトカモジグサの研究基盤整備や、リソースの保存技術の開発、特性情報の付加による価値の向上を試みている。更に研究コミュニティとの連携により、基礎研究から産業化に至るイノベーションのパイプライン上で研究基盤を活用するための戦略を構築し、人間社会の持続的な発展に貢献する。

Global ecosystem is maintained by the photosynthetic activity of plants. Thus, plant science is indispensable for the solution of global problems on food and environment. The Experimental Plant Division joins in National BioResource Project (NBRP) and collects, preserves and distributes *Arabidopsis* seeds, plant DNA and plant cultured cells. We also distribute resources of *Brachypodium distachyon*, a novel experimental plant of monocot that draws attentions from the international research community. Moreover, we develop novel technologies on the preservation and characterization of plant resources. In collaboration with the research communities and industries, we also try to establish research strategies that utilize our resources and lead to innovative outcomes. Through the efforts and activities, we intend to contribute continuous development of human societies by distributing resources, technologies and information to the world.

バイオリソースの収集・保存・提供 Collection, Preservation and Distribution

(1) 植物リソースの収集

2021年度もシロイヌナズナの変異体・形質転換体を収集するとともに、植物培養細胞の収集を行った。

(1) Collection of plant resources

In 2021, we collected seeds of *Arabidopsis* mutant and transgenic lines. In addition, plant cultured cell line was collected.

(2) 植物リソースの保存

■ 種子リソースの保存

収集後に増殖した種子を低温、低湿の保管庫で保存し、一定期間毎に発芽試験を行っている。2021年度も引き続きシロイヌナズナ野生株、変異体や形質転換体の増殖と遺伝型の検査を中心に整備を進めた。ミナトカモジグサ種子の増殖も行った(図1)。

■ 遺伝子リソースの保存

超低温フリーザーによる遺伝子リソースの保存を行っている。その際、寄託者から送られて来たオリジナルプレートと別の棟で保存している。

■ 培養細胞リソースの保存

保有する細胞株の生細胞による維持を行っている。懸濁

培養細胞株については平行して寒天培地上での保存も行っている。2021年度も定期的に観察を続けつつ継代を行うとともに、提供対象株に対して遺伝型の定期検査を実施した。

(2) Preservation of plant resources

■ Seeds

Seeds are stored at 4°C, 20% relative humidity. We continuously operated cultivation and phenotype observation of *Arabidopsis* individual mutant and transgenic lines deposited from the Japanese research community throughout the term. Genetic analysis of the lines was simultaneously carried out. In addition, we amplified the seeds of *Brachypodium* (Fig.1).

■ DNA

Plant cDNA clones are stored at -80°C. Original plates deposited from the community were stored separately in the Analysis Laboratory Building.

■ Cultured cells

Cultured cell lines of model plants are continuously maintained as living cells. Most of the cell lines normally maintained as suspension cultures are also preserved on agar plates. During the maintenance, we carefully examined the growth of the cell lines. Each cell line was subjected to the genotype characterization to confirm the absence of mishandling during the maintenance.



図1 ミナトカモジグサ野生株と標準系統 (Bd21) の増殖
Fig.1 Propagation of *Brachypodium* natural accessions

(3) 植物リソースの提供

■ 種子リソースの提供

各種シロイヌナズナ種子を提供している。引き続きトランスポゾンタグライン(遺伝子破壊系統)、アクティベーションタグライン(スクリーニング用種子プールセット)、FOXライン(スクリーニング用種子プールセット)、野生系統・近縁種、個別の変異体・形質転換体の提供を続けた。ミナトカモジグサBd21株の種子の提供も行った。

■ 遺伝子リソースの提供

シロイヌナズナ、ヒメツリガネゴケ、ポプラ、キャッサバ、タバコ、ハクサイ、*Thellungiella halophila*、*Striga hermonthica* のcDNAリソースを提供している。これに加え、シロイヌナズナのゲノム断片のクローン(TACクローン)、転写因子(TF)クローン、形質転換用ベクターも提供した。

■ 培養細胞リソースの提供

シロイヌナズナ、タバコ、イネ、ミヤコグサなどモデル植物の懸濁培養細胞株を中心に提供を実施している。またミナトカモジグサの形質転換用細胞(embryogenic callus)の提供も続けた。2022年春には新たに光合成/ストレス研究関連細胞株5株の提供を開始した(図2)。

(3) Distribution of plant resources

■ Seeds

Seeds of *Arabidopsis* lines such as transposon-tagged mutant lines, activation-tagged lines, FOX lines, natural accessions and individual mutants are distributed to the world. Seeds of *Brachypodium* Bd21 are also distributed to the community.

■ DNA

We distribute full-length cDNA clones of *Arabidopsis*, moss, poplar, cassava, tobacco, Chinese cabbage, *Thellungiella halophila* and *Striga hermonthica*. The *Arabidopsis* genomic DNA clones (TAC clone), transcription factor (TF) clones, and vector DNA are also distributed.

■ Cultured cells

Cell lines of model plants such as *Arabidopsis*, tobacco, rice and Lotus are distributed. Embryogenic callus of *Brachypodium distachyon* was also provided to the crop research community. In 2022, we started distributing 5 lines for photosynthesis/stress-related research. (Fig.2).



図2 提供を開始した培養細胞のうちの3株
Fig.2 Images of cell lines released for distribution

(4) 植物リソースの品質管理

2014年度に整備した品質管理に関わる方針に基づき、寄託時及び提供時の検査を行い、検査結果を寄託者と利用者へ提供している。2021年度も手順書に基づきバーコードを使用しつつ収集・提供・増殖・保存・品質管理・提供業務を行った。

(4) Quality control of plant resources

Accordance with the Protocols implemented in 2014, we characterize the quality of plant resources at the acceptance and distribution. The results obtained were provided to the depositors and recipient users. In 2021, collection, amplification, preservation, quality control and distribution of plant resources were carried out in accordance with the protocols that utilize the barcode system.

2021年度の成果

Development of Technology in 2021-2022

植物－微生物共生研究の基盤整備

栽培室に共存する微生物の単離と解析は種子リソースの品質管理に重要である。当室ではシロイヌナズナT87培養細胞と共生する細菌Methylobacterium rpc08red株を単離して解析を進めている。これまでにrpc08red株はシロイヌナズナ植物体の成長を促進すること、rpc08red株を含めBRCが保有する8系統のMethylobacterium属の菌が植物ホルモンのオーキシンの生産能を有することを明らかにした。2021年度は懸濁培養下におけるT87培養細胞とrpc08redとの共培養系を確立した。T87培養細胞は増殖にオーキシンを必要とするが、rpc08redと共培養すると増殖が回復した(図3)。このことから、rpc08redはオーキシンを生産することを通じて植物細胞の増殖を促進し個体の生長を促していることが示唆された

Establishment of resource infrastructure for plant-microbe symbiosis research

Isolation and characterization of microorganisms exist in the laboratory space is important for the quality control of plant seed resources. We isolated the bacteria strain named as rpc08red from the culture of Arabidopsis T87 cells. Under the collaboration with the Microbe Division and Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team, it was revealed that rpc08red belongs to Methylobacterium species and is able to enhance the growth of Arabidopsis seedlings. Next, we analyzed the plant hormone auxin in rpc08red and 7 other Methylobacterium strains preserved in the Microbe Division. As a result, we found that all strains can produce auxin that promotes plant growth. In 2021, we developed a co-culture system of Arabidopsis T87 cells and Methylobacterium. Arabidopsis T87 cells require auxin for proliferation. However, co-culturing with Methylobacterium could restore the proliferation rate of Arabidopsis T87 cells in the absence of auxin (Fig.3). The results indicate that rpc08red promotes the growth of Arabidopsis through the production of auxin.

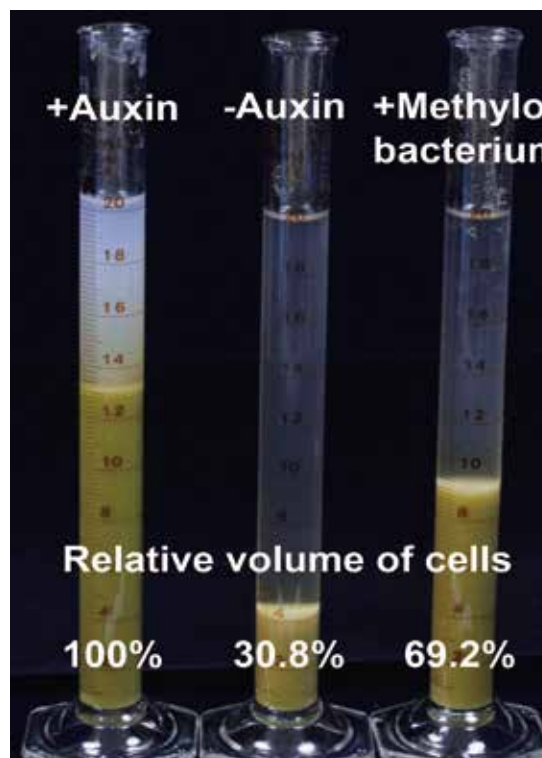


図3 Methylobacteriumとの共培養によるシロイヌナズナT87培養細胞の増殖促進効果

Fig.3 Co-culturing with Methylobacterium restored the growth of Arabidopsis T87 cells under the absence of auxin

2021年度のトピックス

Topics in 2021-2022

第4期ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) が2021年度で終了した。当室の課題「シロイヌナズナ/植物培養細胞・遺伝子」は2022年度より始まる第5期NBRPに採択され、引き続きNBRPのもとで収集・保存・提供事業を継続する。第5期には保有リソースの付加情報充実を通じた利用価値の向上に取り組む。

The 4th National BioResource Project (NBRP) terminated by the end of 2021 fiscal year. From April 2022, we join with the 5th NBRP and carry out the project “Arabidopsis/Cultured plant cells, genes”. Through the project, we characterize the genotypes and phenotypes of our resources to increase their value for scientific research.

理研BRC設立20周年記念シンポジウム「バイオリソースが駆動する生命科学とイノベーション」の初日(2021年10月20日)に「植物、微生物、共生：食料と環境を支える生き物たちの科学」のセッションを開催した。植物分野の招待講演者として東山哲也教授、松林嘉克教授をお迎えした結果、リモート開催にもかかわらず300名を超える参加者を迎え、盛会のうちに終了することができた。

RIKEN BRC 20th Anniversary Online Symposium was held from October 20th to 22nd, 2021. On the first day of Symposium, we organized the session “Plant, Microbe, and Symbiosis: Living Organisms That Support Food and Environment”. In the session, two eminent plant scientists, Prof. Tetsuya Higashiyama and Prof. Yoshikatsu Matsubayashi gave lectures on their research and technology to more than 300 online attendees.

職員とメンバー構成

Members

- 室長 [Director of Experimental Plant Division]
小林 正智 Masatomo KOBAYASHI, Ph.D.

- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
安部 洋 Hiroshi ABE, Ph.D.
井内 聖 Satoshi IUCHI, Ph.D.
小林 俊弘 Toshihiro KOBAYASHI, Ph.D.

- 専門技術員 [Expert Technician]
菅原 真由美 Mayumi SUGAWARA

- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
阿相 幸恵 Yukie ASO
井内 敦子 Atsuko IUCHI
石山 賀奈子 Kanako ISHIYAMA
太田 しおり Shiori OTA
部 有里 Yuri SHITOMI
松田 厚子 Atsuko MATSUDA
森 文江 Fumie MORI

- アシスタント [Assistant]
児矢野 裕美 Hiromi KOYANO

- 客員研究員 [Visiting Scientist]
富高 保弘 Yasuhiro TOMITAKA, Ph.D.

- 派遣職員 [Agency Staff]
齊藤 裕子 Hiroko SAITO

- パートタイマー [Part-Timer]
朝倉 芳子 Yoshiko ASAKURA 安部 直美 Naomi ABE
新井 亜矢子 Ayako ARAI 糸川 富美代 Fumiyo ITOKAWA
木皿 由美子 Yumiko KISARA 小山 由美子 Yumiko KOYAMA
坂倉 まさみ Masami SAKAKURA 佐藤 観津希 Mizuki SATO
秦 香 Kaori HATA 根本 久江 Hisae NEMOTO



細胞材料開発室

Cell Engineering Division



室長 中村 幸夫 (医博)
Yukio NAKAMURA, M.D., Ph.D.

ミッションと事業概要

20世紀初頭の約100年前に開発された細胞培養技術は、生命科学研究に大きな発展をもたらした。特に、長期培養が可能で繰り返して使用できる不死化細胞株の樹立は、より多くの研究者が共通して同質の研究材料を使用できるという画期的な状況を産み出した。加えて、多分化能を有する不死化細胞株を容易に作製できるiPS細胞技術の開発は、細胞を利用した研究分野を飛躍的に大きく広げた。当室では、研究者コミュニティで樹立された不死化細胞株を中心的に収集し、品質管理検査を厳密に実施し、実験再現性のある細胞材料を、広く国内外の研究者に提供する業務を遂行している。Methods for culturing cells in vitro were first developed approximately 100 years ago in the beginning of 20th century and they have been vital for many studies that have contributed very considerably to the development of the life sciences. In particular, generation of immortalized cell lines has enabled the repeated use of defined cell types by many scientists as a common research resource. In addition, the development of technology to generate induced Pluripotent Stem (iPS) cells, which can differentiate to any and all kinds of tissue, tremendously extended the fields of research to which cell lines can contribute. Our division is principally concerned with collecting and distributing such immortalized cell lines. We perform the important function of quality control of the cell lines so as to ensure the reproducibility of experimental results using these cell materials.

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

研究には複数種類の細胞材料が必要となることが多いが、必要となる細胞を多数の研究者又は機関から個別に調達しなければならない状況は、研究の迅速な発展の妨げとなる。そこで、様々な細胞材料を一括して集中的に管理する細胞バンク事業が重要な役割を果たすことになる。また、細胞株を樹立した研究者が現役を退いた後には、樹立研究者に代わって細胞を管理する組織が存在しなければ、貴重な細胞株材料は消滅することになってしまう。従って、貴重な細胞材料の恒久的な利用という観点からも細胞バンク事業が必須である。加えて、近年の医学を含む生命科学分野の急速な発展に伴う研究の細分化に伴って、研究に必要な細胞材料はきわめて多岐にわたることとなったため、益々もって細胞バンク事業の役割が重要となっている。近年最も重要性を増している細胞材料はiPS細胞である。

上記のような研究者コミュニティのニーズに応えるべく、理研細胞バンクでは、より多くの細胞材料を収集する努力を続けている。従来の細胞バンク事業の中心は上述した不死化細胞株であったが、近年隆盛している再生医学研究分野においては、体性幹細胞のようなプライマリー細胞のニーズも高くなっており、そうした細胞材料の収集・提供にも取り組んでいる。現在は、ヒト臍帯血細胞（未培養）及びヒト間葉系幹細胞（短期培養）を提供している。また、ヒト由来の

体性幹細胞のようなプライマリー細胞の利用には倫理的な対応も重要であるため、こうした対応を含めて一般の研究者がヒト細胞をより迅速に使用できる体制の整備に努めている。

(1) Collection of bioresources

In many types of research, multiple different cell lines are required. The gathering of these resources from other scientists or institutions can be a laborious process and can cause significant delay to the research. Thus, Cell Repositories (Cell Banks) that hold a wide range of preserved cell lines offer a considerable benefit to the life sciences research community. In addition, in the absence of such a facility, it is likely that many precious cell lines might be lost, for example, after retirement of the scientists who originally generated the cell lines. The Cell Repositories are therefore also essential for the sustainable preservation of cell materials generated in the community. Furthermore, due to the current diversity of research topics across the whole spectrum of biological sciences, the cell materials required by the life sciences research community are increasing exponentially. Thus, the role of the Cell Repositories is expanding and becoming increasingly more important. The most important recent topic relating to cell materials is iPS cells.

In order to respond to the high demands of the life sciences research community, the RIKEN Cell Bank is enthusiastically

collecting new cell materials. Until recently, the main cell materials were immortalized cell lines, such as human cancer cell lines. However, researchers in the fields of regenerative medicine and developmental biology now have increasing need of primary cells (non-cultured cells or cells cultured for a short term), such as somatic stem cells. Therefore, the RIKEN Cell Bank has established a system for collecting such cells and is now able to distribute human umbilical cord blood cells and human mesenchymal stem cells. Needless to say, the appropriate ethical issues have been considered and taken into account in our use of such human cell materials. All of the procedures relating to human cells received the approval of the ethical committee of the RIKEN Tsukuba Institute before their initiation.

(2) バイオリソースの保存・整備

科学とは、時と場所を超えて再現可能な「事実（真理）」や「技術」を発見したり開発したりすることである。従って、科学材料である細胞自身にも材料としての再現性が要求される。細胞バンク機関が細胞を保存・整備するということは、実験再現性の担保された細胞を確認し、これを維持する、ということに他ならない。

細胞の基本的な品質管理として、「微生物汚染」と「他の細胞との誤認」に関する検査がある。微生物汚染としては、細菌、真菌、ウイルスなどのありとあらゆる微生物汚染の可能性があるが、最も注意を払わなければいけないのが、マイコプラズマ汚染である。何故ならば、マイコプラズマ汚染を起こした細胞のほとんどは死滅することなくそのまま増え続けるからである。細胞バンクでは古くからマイコプラズマ汚染検査をルーチン検査として取り入れ、マイコプラズマ汚染のない細胞を提供している。

細胞は形態的にはきわめて類似した細胞が多く、ほとんどの細胞に関して形態観察のみでは識別が不可能である。それ故に、遺伝子レベルでの識別検査が開発される以前の段

階で、細胞誤認（他の細胞株との取り違い）ということが多発してしまった。現在では、遺伝子多型解析を用いた検査により、細胞誤認を検出可能であり、当該検査は世界の主要な細胞バンクにおいてルーチン検査となっている。

(2) Preservation of bioresources

The aim of science is to discover fundamental truths and, as a direct or indirect consequence, new technologies may be developed. The insights and technologies derived from scientific research must be reproducible in time and space. To ensure such reproducibility, the quality of experimental materials is very critical. The most important contribution of the Cell Bank to ensuring reproducibility is the stringent quality control of cell materials.

There are two characteristics of cell materials that are essential for maintenance of quality: freedom from contamination by microorganisms; and free of misidentification. Many different microorganisms, such as bacteria, fungi, viruses, and mycoplasmas, can infect cell cultures. Contamination by bacteria or fungi is less of a problem since they tend to overwhelm the culture and cause it to be discarded. In contrast, mycoplasma infection is very problematic, since infected cells can survive, usually without any effects on cell growth. Therefore, cell banks around the world routinely carry out examination of cell cultures for mycoplasma infection.

Most cultured cells share a similar range of morphologies irrespective of their origin. For example, adherent cells can be separated into a small number of categories, e.g., fibroblast-like cells, epithelial-like cells, etc. Thus, it is impossible to distinguish cell lines solely by morphology. This characteristic of cultured cells has resulted in many cases of misidentification of cell lines. Nowadays, molecular genetic techniques have been established to enable detection of misidentification and the major cell banks around the world routinely perform these analyses to ensure distribution of cells free of misidentification.

(3) バイオリソースの提供

細胞バンクが細胞を一括管理することの意義は、研究に必要となる細胞材料のすべてを研究者は細胞バンクから一度に入手できることである。「一度に入手できる。」とは、言い換えれば、必要な細胞を即座に入手できるということである。幸いなことに、細胞材料（特に不死化細胞株）はほぼ例外なく凍結保存が可能であるため、即時提供可能な状態に整備することが可能である。理研細胞バンクでは、これまでに2,600種類以上の細胞を即時提供可能な状態に整備している。その数は、今後も順次増やしていく予定である。ここ数年の年間提供総数は4,000件以上に達しており、国の内外、非営利機関・営利機関を含め、広く多くの研究者に細胞材料を提供し、生命科学研究分野に貢献している。

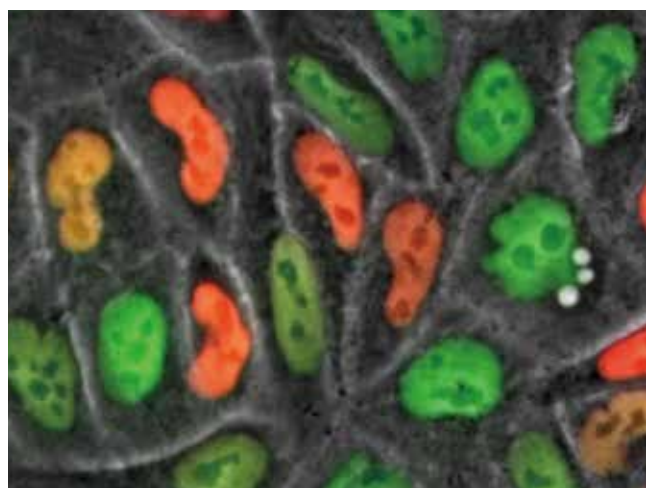


図1 HeLa.S-Fucci (細胞周期マーカーであるFucciを発現しているHeLa細胞)
Fig.1 HeLa.S-Fucci, a subline of HeLa expressing a cell cycle indicator, Fucci.

(3) Distribution of bioresources

One requirement of a Cell Bank is to provide all of the cell lines requested by researchers at the same time, i.e., to produce and dispatch the requested cell lines in as short a time as is feasible. Fortunately, the vast majority of cell lines can be easily cryopreserved, and thus it is a relatively straight forward process to prepare cells for immediate supply. At the moment, the RIKEN Cell Bank possesses more than 2,600 cell lines as immediately available cells, and the number of lines is gradually increasing. In the recent several years, the RIKEN Cell Bank has distributed more than 4,000 cell samples in a year to institutions around the world, including not-for-profit and commercial institutions. Thus, our service provides an essential infrastructure for sustainable and rapid development of the life sciences.

2021年度の成果

Development of Technology in 2021-2022

疾患特異的iPS細胞の整備

京大山中伸弥教授が開発した人工多能性幹細胞 (induced Pluripotent Stem cells: iPS細胞) 樹立技術は、生命医科学研究分野に新しいページを開く画期的な技術であり、山中教授は2012年のノーベル生理学医学賞を受賞した。理研細胞バンクは、山中教授グループが樹立したiPS細胞に関する世界で唯一の細胞バンク機関として、その整備・提供を実施している。iPS細胞技術は、再生医学研究分野のみならず、疾患研究への応用も期待されている。例えば、脳神経疾患の患者から脳神経を採取することは不可能であるが、患者の血液細胞等からiPS細胞を樹立し、そのiPS細胞から脳神経細胞を作製 (分化誘導) すれば、これを「疾患モデル細胞」として基礎的な疾患研究や創薬研究等で利用することが可能である。また、ヒト疾患特異的iPS細胞を研究に使用するにあたっては、細胞を提供した患者の臨床情報がきわめて重要である。寄託を受けたヒト疾患特異的iPS細胞の中には臨床情報も一緒に寄託されている細胞があるが、その利用にあたっては個人情報保護法等の関連する法令や指針を遵守した取り扱いが必要であり、臨

床情報の提供に関するガイドラインを作成・公開し、臨床情報の提供を実施している。

Development of infrastructure for iPS cells

The technology for generating iPS cells was developed by Dr. Yamanaka of Kyoto University, Japan, and was a landmark breakthrough in life sciences. Dr. Yamanaka won the Nobel Prize in 2012. The RIKEN Cell Bank is providing all of the iPS cell lines that Dr. Yamanaka has generated and has described in publications in major scientific journals such as Nature, Science, and Cell. The technology for generating iPS cell lines is attracting the attention of researchers not only in the field of regenerative medicine but also in the field of disease research. For example, it is possible to obtain neural cells from iPS cells generated using cells from patients with neural disease. Such iPS cells are termed disease-specific iPS cells. In relation to a part of disease-specific iPS cell lines, clinical information of the patients who donated their cells are also deposited to the RIKEN Cell Bank. According to the relevant laws and guidelines in Japan about private information we made our guidelines to provide the clinical information, and we are providing the information to users who want to utilize them.

2021年度のトピックス

Topics in 2021-2022

2020年初頭から発生し、今なお続くコロナウイルス (COVID-19) によるパンデミックは、感染症研究の継続的実施の重要性を如実に示した。理研細胞バンクから提供している細胞株もCOVID-19研究に活用され、下記のような論文発表があった (References)。

The pandemic of COVID-19 occurred at the beginning of 2020 and is still prevailing around the world. This pandemic is strongly indicating the importance of researches regarding infectious diseases. The cell lines we provided have been used for the researches of COVID-19 (References).

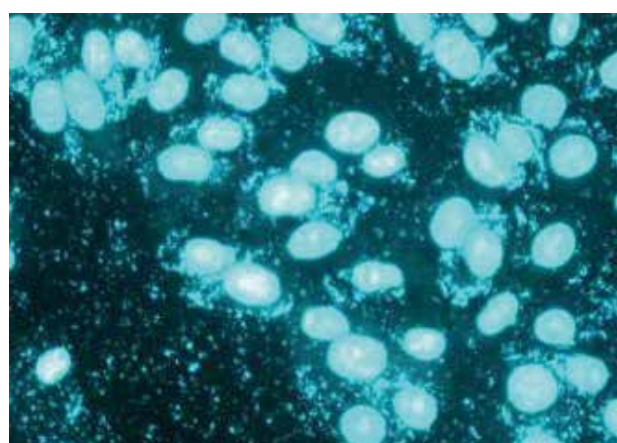
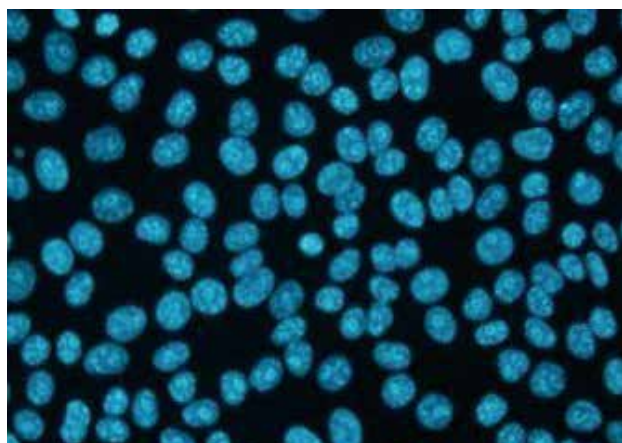


図2 マイコプラズマ汚染検査。陰性細胞 (左) と陽性細胞 (右)。
Fig.2 Mycoplasma infection. Negative cells (left) and positive cells (right)

References

1. HSC-4 (RCB1902): Expression of SARS-CoV-2 entry factors in human oral tissue. PMID: 33421967 (2021)
2. CACO-2 (RCB0988), 293T (RCB2202): MRC5 cells engineered to express ACE2 serve as a model system for the discovery of antivirals targeting SARS-CoV-2. PMID: 33686154 (2021)
3. MRC-5 (RCB0211): Highly specific monoclonal antibodies and epitope identification against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein for antigen detection tests. PMID: 34027498 (2021)
4. A549 (RCB0098): Air-liquid interphase culture confers SARS-CoV-2 susceptibility to A549 alveolar epithelial cells. PMID: 34517212 (2021)
5. 253G1 (HPS0002): Development of alveolar and airway cells from human iPS cells: toward SARS-CoV-2 research and drug toxicity testing. PMID: 34470994 (2021)
6. A549 (RCB0098), CACO-2 (RCB0988), HuH-7 (RCB1942): 5-Hydroxymethyl- tubercidin exhibits potent antiviral activity against flaviviruses and coronaviruses, including SARS-CoV-2. PMID: 34541466 (2021)
7. XTC-YF (RCB0771): Culture of SARS-CoV-2 in a panel of laboratory cell lines, permissivity, and differences in growth profile. PMID: 33389257 (2021)
8. SKW-3 (RCB1168): Identification of TCR repertoires in functionally competent cytotoxic T cells cross-reactive to SARS-CoV-2. PMID: 34857854 (2021)
9. Vero (RCB0001): Non-propagative human parainfluenza virus type 2 nasal vaccine robustly protects the upper and lower airways against SARS-CoV-2. PMID: 34805782 (2021)
10. A549 (RCB0098), CACO-2 (RCB0988): SARS-CoV-2 inhibits induction of the MHC class I pathway by targeting the STAT1-IRF1-NLRC5 axis. PMID: 34782627 (2021)
11. HUDEP-2 (RCB4557): Identification of LZTFL1 as a candidate effector gene at a COVID-19 risk locus. PMID: 34737427 (2021)
12. CACO-2 (RCB0988): Host cellular RNA helicases regulate SARS-CoV-2 infection. PMID: 35107372 (2022)
13. MDCK (RCB0995): Stability of SARS-CoV-2 and influenza virus varies across different paper types. PMID: 34799238 (2022)
14. CACO-2 (RCB0988): Indigo plant leaf extract inhibits the binding of SARS-CoV-2 spike protein to angiotensin-converting enzyme 2. PMID: 35251340 (2022)

職員とメンバー構成
Members

- 室長 [Director of Cell Engineering Division]
中村 幸夫 Yukio NAKAMURA, M.D., Ph.D.
- 特別嘱託技師 [Special Temporary Technical Scientist]
西條 薫 Kaoru SAJO
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
寛山 隆 Takashi HIROYAMA, Ph.D.
- 上級研究員 [Senior Research Scientist]
笠井 文生 Fumio KASAI, Ph.D.
- 専任技師 [Senior Technical Scientist]
藤岡 剛 Tsuyoshi FUJIOKA
- 上級技師 [Senior Technical Scientist]
野口 道也 Michiya NOGUCHI, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
須藤 和寛 Kazuhiro SUDO, Ph.D.
- 開発技師 [Technical Scientist]
羽鳥 真功 Masanori HATORI, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
飯村 恵美 Emi IIMURA 栗田 香苗 Kanae KURITA
小川 早英里 Saeri OGAWA 磯村 尚子 Naoko ISOMURA
梶谷内 純恵 Sumie TOGAYACHI 水越 久美子 Kumiko MIZUKOSHI
本庄 恵 Megumi HONJO
- アシスタント [Assistant]
宮本 由香利 Yukari MIYAMOTO
- 研修生 [Student Trainee]
瀬山 侑亮 Yusuke SEYAMA, M.D. 廣瀬 優 Yu HIROSE, M.D.
- 派遣職員 [Agency Staff]
高井 則子 Noriko TAKAI 新倉 潤子 Jyunko NIKURA
岡田 奈緒子 Naoko OKADA 内山 幸子 Sachiko UCHIYAMA
杉山 孝子 Takako SUGIYAMA 穴戸 牧子 Makiko SHISHIDO
石井 浩志 Hiroshi ISHII 浜田 裕子 Yuko HAMADA
井上 循 Jun INOUE 福田 龍樹 Tatsuki FUKUDA
宅野 美月 Mizuki TAKUNO 小野木 成美 Narumi ONOGI
福島 誠 Makoto FUKUSHIMA 近藤 公彦 Jun INOUE
武田 基志 Motoshi TAKEDA 原 正子 Masako HARA
吉沼 真由美 Mayumi YOSHINUMA
- パートタイマー [Part-Timer]
黒川 輝美 Terumi KUROKAWA 山口 直美 Naomi YAMAGUCHI
村田 晴美 Harumi MURATA



遺伝子材料開発室

Gene Engineering Division



室長 三輪 佳宏 (理博)
Yoshihiro MIWA, Ph.D.

ミッションと事業概要

近年の塩基配列決定能力の向上により、ヒトおよび種々の生物の全ゲノム配列が解読され、膨大な遺伝情報が蓄積されつつある。また、急速に普及したゲノム編集技術は、研究対象とする生物の範囲を劇的に拡大した。これらの進展に基づいて、高次生命現象及び疾患の発症機序解明、治療法開発、創薬、感染症への迅速な対応、環境の保全・浄化等の重要な課題を解決する研究を実施することが、学術的また社会的に求められている。これらの研究では、最先端でかつ即利用可能な遺伝子材料が必要とされている。

当室では、ヒト、動物、微生物およびウイルス由来の重要かつ有用な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。また、バイオリソースの利活用促進のための研究開発を実施している。これらの活動により、基礎学術研究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。

Enormous amount of genome information of human and various organisms has been accumulating due to the dramatic improvement of the DNA sequencing ability in recent years. In addition, rapid application of genome editing technology has increased varieties of organisms dramatically as research materials. The main approach in the life science is now based on these advancements. Cutting-edge and ready-to-use genetic materials are essential in researches to elucidate underlying mechanisms of sophisticated biological phenomena, to discover causes of diseases, and to develop therapeutic methods and drug, rapid response to infectious diseases as well as to solve the environmental problems.

The Division collects important and valuable genetic materials of human, animal, microbe and virus origins developed in Japanese and international scientific community, and distributes these materials to scientists after rigorous quality control in order to ensure the reproducibility of experimental results. We also carry out research and development that facilitates the use and application of bioresources. By these activities, we aim to contribute to both the basic academic research and the 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

(1) 遺伝子材料の収集

当室は、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。平成26年以来、累計で約199,500報の論文の中から日本人著者の学術論文を抽出し、遺伝子材料を開発した約1,570名の研究者に寄託願いを送付した。その結果、基礎研究のみならず、遺伝子やタンパク質を用いた診断方法開発等の医療・創薬イノベーションへの貢献も期待できる数多くのリソースを寄託していただいた。

今年度特筆すべきは、継続的に寄託していただいている大阪大学の長田重一先生のグループによる細胞死解析リ

ソース89株、東北大学の福田光則先生のグループによる細胞内物質輸送の機能解析リソース129株である。また、細胞の分化・活動状態を可視化するリソースとして、理研CBSの下郡智美先生、木下暢暁先生のグループによる細胞同士との接触を蛍光で検出できるdGRAPHIC (Kinoshita, N. et al., Sci. Rep. 10 (1): 14437, 2020)、北海道大学の大場雄介先生のグループによるオルガネラを可視化できる蛍光タンパク質 (Kashiwagi, S. et al., Cell Struct. Funct. 44 (2): 183-194, 2019)、東京大学の尾藤晴彦先生、坂本雅行先生、井上昌俊先生のグループによるカルシウムイオンセンサーG-CaMP9a (Sakamoto, M. et al., Cell Reports Methods 2: 100168, 2022) 等がある。また、NBRP「ヒト病原ウイルス」代表機関である長崎大学の安田二郎先生と連携して、新型コロナウイルスSARS-CoV-2遺伝子リソースを整備した。

これまでの研究コミュニティの理解と支援により、遺伝子材料の保存数は今年度末までに3,814,494株に達した。

(1) Collection of Genetic Materials

By comprehending the research trends and the needs in the life science community, we have been collecting valuable genetic materials developed by Japanese and foreign researchers. Since 2014, we have selected articles written by Japanese researchers from about 199,500 scientific papers and have asked about 1,570 Japanese authors for deposition of their materials. As the result, many of bioresources have been deposited to us. They will be expected to contribute not only to basic sciences but also to the development of medical sciences, drug discovery, and development of diagnostic technology.

Some of highlights of deposited bioresources in this fiscal year are as follows: eighty nine cell death analysis resources by Dr. Shigekazu Nagata's laboratory of Osaka University and 129 functional analysis resources of intracellular mass transport by Dr. Mitsunori Fukuda's laboratory of Tohoku University that have been continuously deposited; As resources for visualizing the differentiation and activity state of cells, dGRAPHIC for detecting cell-cell contact with fluorescence (Kinoshita, N. et al., Sci. Rep. 10 (1): 14437, 2020) by Drs. Tomomi Shimogori and Nagatoki Kinoshita of RIKEN CBS, fluorescent protein for visualizing organelles (Kashiwagi, S. et al., Cell Struct. Funct. 44 (2): 183-194, 2019) by Dr. Yusuke Ohba of Hokkaido University, and G-CaMP9a calcium ion sensor by Drs. Haruhiko Bito, Masayuki Sakamoto and Masatoshi Inoue of the University of Tokyo; as resources for human pathogenic viruses, we developed cDNA clones of the SARS-CoV-2 virus gene by collaboration with Dr. Jiro Yasuda of Nagasaki University, NBRP core facility of human pathogenic virus. By continuous support from the scientific community, genetic materials have been accumulated to a total 3,814,494 items by this fiscal year.

(2) 遺伝子材料の品質管理

研究コミュニティが遺伝子材料を共有することは、研究成果の積み上げと研究開発の効率化を可能とする。他の研究者が開発した遺伝子材料を安心して利用するため、品質検査は必要なステップである。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したリソースの整備を進め、研究全体の質の向上と効率化に貢献している。収集した遺伝子材料は、増殖を確認後、凍結保存し、提供の依頼を受けた後に制限酵素地図、塩基配列等の品質検査を実施している。提供中のバイオリソースの品質にかかわる不具合、付随情報の追加・修正、品質検査結果等をウェブで公開している。収集したリソースには10%以上に誤り(コンタミネーション、取違い、付随情報の食い違い等)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を反映しており、放置されれば研究費、労力、時間の10%以上が無駄に費やされていることを意味するため、我が国だけではなく世界的な問題である。正しいリソー

スのみを提供可能とするため、当室では可能な限りリソースの誤りを是正し、是正が不可能であったリソースは排除している。

(2) Quality Control of Genetic Materials

Sharing genetic resources in the research community is necessary and useful for accumulating research results and improving the efficiency of scientific researches. In order to use genetic resources developed by other researcher without any concern, quality tests of them are indispensable. Our Division provides materials with ensured reproducibility under rigorous quality testing to contribute to the quality and efficiency of scientific researches. Deposited genetic materials are examined for their growth and then preserved under frozen condition. When request comes, the quality tests such as restriction enzyme mapping and nucleotide sequencing on the requested clone are performed. We have posted in our web site the announcements about corrections in quality and relevant information of distributed bioresources. The results of quality control tests are shown in the web catalog. In our records, more than 10% of collected clones have some errors such as contamination, mis-identification or with wrong information. These errors reflect the fact that more than 10% of resources used in research community contain errors. This is a problem not only in Japan but also in the world. In other words, 10% of time, effort and funding are wasted because of these defects. To provide only authentic resources, we have corrected errors when possible or have removed resources that were impossible to be corrected.

(3) 遺伝子材料の提供

当室では、ヒト全遺伝子の約8割をカバーするcDNAクローン、マウス、コモンマウス、ツメガエル、カタツムリ、ボヤのESTクローン、マウス、ラット、ニホンザル、ショウジョウバエのゲノムのほぼ全域をカバーするBACクローン、分裂酵母*S. pombe*、好熱菌*Thermus thermophilus*のORFクローン等、網羅的リソースを整備している。各々の遺伝子のクローンは当開発室検索ページ(<https://dna.brc.riken.jp/ja/kensaku>)や、KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) を介して検索することが可能である。また、可視化レポーターに使用する蛍光タンパク質及びルシフェラーゼのクローン、遺伝子発現ベクター、ゲノム編集及び遺伝子導入用プラスミドクローン等最先端のリサーチツールを提供しており、それらの情報はリソース特設ページを設けて研究コミュニティに向けて発信している。

今年度は、ゲノムネットワークプロジェクトヒトcDNAクローン等の網羅的リソースの提供依頼が最も多かった。続いて、細胞周期を可視化できるFucciやマイトファジーを定量的にイメージングできるmito-SRAI等の蛍光タンパク質リソース、故三好浩之博士により開発されたレンチウイルスベクター、クローニングや遺伝子発現のためのベクター、微生物ゲノムDNA、発現させたタンパク質の分解を植物ホルモンオーキシ

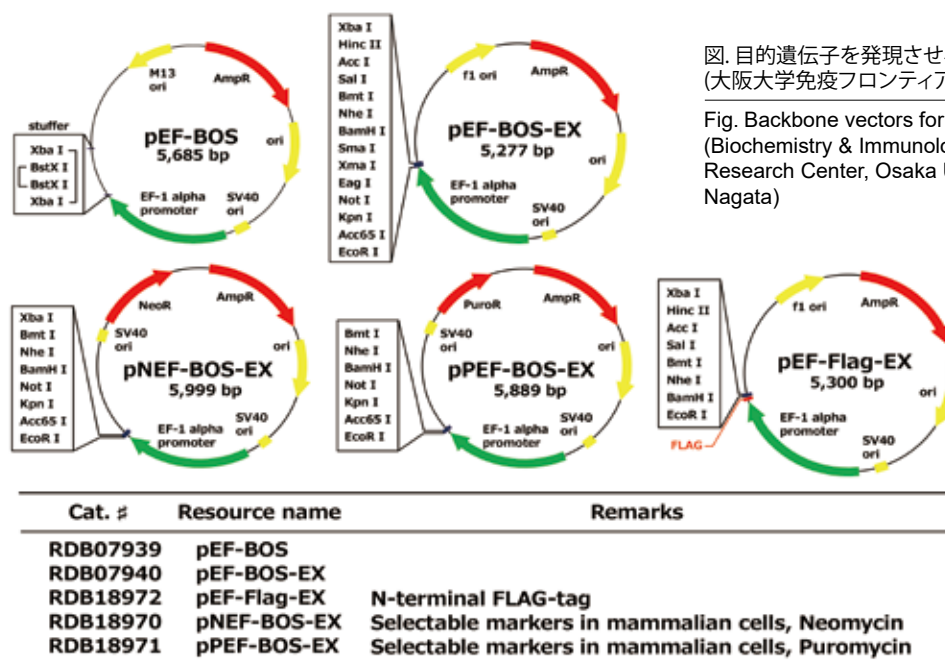


図. 目的遺伝子を発現させるためのバックボーンベクター (大阪大学免疫フロンティア研究センター 長田重一先生)

Fig. Backbone vectors for expressing target gene (Biochemistry & Immunology, Immunology Frontier Research Center, Osaka University Dr. Shigekazu Nagata)

ンによって制御できるAIDシステムクローンの依頼が多く、以上で約8割を占めた。当室では、毎年約1,000件の遺伝子リソースを提供している。海外への提供は例年約30%であるが、恐らくコロナ禍の影響により2021年度は約15%であり、提供先は15カ国に留まった。

(3) Distribution of Genetic Materials

We have comprehensive libraries such as cDNA clones corresponding to 80% of human genes, EST clones of mouse, common marmoset, *Xenopus* and *Ciona intestinalis*, BAC clones covering almost entire genome of mouse, rat, Japanese macaque and *Drosophila*, and ORF clones of fission yeast *S. pombe* and thermophile *T. thermophilus*. The clones can be searched in our web site at <https://dna.brc.riken.jp/en/searchen> and KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) database. Furthermore, we provide cutting-edge research tools such as fluorescent proteins and luciferases incorporated in reporter vectors visualizing biological activity, expression vectors, plasmid clones for genome editing and gene transduction. We also dispatch their information via our web site.

In this fiscal year, the request for comprehensive resources such as Genome Network Project Human cDNA clones were the most frequent. The next was placed by the expression vector of the Fucci, a fluorescent indicator of cell cycle, mito-SRAI, a fluorescent sensor that can quantitatively visualize mitophagy both in live and fixed conditions and lentivirus vector plasmids developed by the late Hiroyuki Miyoshi, cloning and gene expression vectors, microbial genomic DNA, and controlled protein degradation system with plant hormone, auxin (AID) which accounted for about 80% of the total number of distribution. We distribute about 1,000 genetic resources each year. On the other hand, the number of overseas provisions was

about 30% every year, but probably due to the COVID-19 pandemic, only about 15% were provided in FY2021 to only 15 countries.

2021年度の研究開発の成果 Development of Technology in 2021-2022

生きたまま細胞の分化状態を可視化できれば、研究の進展に大きく寄与する。そこで我々は、CRISPR/Cas9ゲノム編集技術を用い、分化や未分化状態に特異的に発現するマーカー遺伝子を健常人由来iPS細胞に導入した細胞株を作製した。細胞材料開発室及びiPS細胞高次特性解析開発チームと共同で細胞分化に伴う蛍光発現の確認実験を行い、これまでに42遺伝子の導入細胞で、細胞の分化状態に応じたマーカー遺伝子の発現を確認し、うち一つの成果を論文として発表した (Tsukamoto et al., Stem Cell Res.53:102363, 2021)。

平成26年度から実験動物開発室と連携して、CRISPR/Cas9システムを利用したゲノム編集マウスを作出してきた。これまでにノックアウト、点変異、ノックインなど75系統を作製した。ノックアウトマウスについてはInternational Mouse Phenotyping Consortiumの一環として表現型解析を進め、順次データは公開されている。日本チャールス・リバー社との共同研究「ゲノム編集マウスの効率的な作製および遺伝品質検査に関する研究」に一昨年、昨年に引き続き参加して技術開発に努めた。ノックアウトにより致死となる遺伝子については、コンディショナルノックアウトマウス系統を作出するための高効率な遺伝子挿入法を開発している。

近赤外蛍光を用いた生きたマウスの非侵襲イメージングは、今後利用が期待される技術であり、この技術に応用した筑波大学のグループとの共同研究の成果を2本の論文として発表した。(Kulathunga et al., Sci. Rep. 11:21827. 2021, Yamaki et al., Int. J. Hematol. 113: 493. 2021)

Utilization of the iPS cells can be accelerated by the

establishment of methods for visualizing differentiation states of living cells. We have transfected marker genes reporting differentiation or undifferentiation states into human iPS cells derived from healthy donors by CRISPR/Cas9 genome editing technology. By the collaboration with the Cell Engineering Division and iPS Cell Advanced Characterization and Development Team, we have established so far 42 cell lines expressing a respective marker gene under the differentiation conditions and published a paper (Tsukamoto et al., Stem Cell Res.53:102363, 2021).

We have been participating in the project of the CRISPR/Cas9 genome editing mutant mouse production together with the Experimental Animal Division for last six years. We have successfully generated 75 strains including gene-knock-out, point-mutation, and knock-in. Knockout mice will become available after phenotypic analysis by the International Mouse Phenotyping Consortium pipeline. To upgrade the genome editing technology, we have collaborated with the Charles River Laboratories Japan, Inc. for four years. We have been continuously trying to improve efficiency for gene knock-in that lead us to accelerate production of conditional knock out mice for the essential or nearly essential genes.

Non-invasive imaging of living mice using NIR fluorescence is expected to be used by many researchers in the future and we reported two papers applying the NIR-imaging technique in collaboration with groups of University of Tsukuba (Kulathunga et al., Sci. Rep. 11:21827, 2021, Yamaki et al., Int. J. Hematol. 113: 493, 2021)

2021年度のトピックス Topics in 2021-2022

昨年度、ナショナルバイオリソースプロジェクト中核的拠点整備プログラム「ヒトに対する病原性ウイルス及び人獣感染ウイルス」に長崎大学を代表とする「ヒト病原ウイルスのリソース拠点の整備」の分担機関として採択され、今年度よりウイルス遺伝子リソースの整備を開始した。長崎大学との連携により新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の遺伝子リソースを整備し、感染検査用リソースとしてスパイクタンパク質の cDNA の提供を行った。

The proposal “Establishment of the base for bioresources of human pathogenic viruses” by a group represented by Nagasaki University was accepted as the National BioResource Project last year and this year we started development, collection and distribution of virus gene resources. We developed genetic resources of SARS-CoV-2 virus by collaboration with Nagasaki University and distributed the cDNA of spike protein for examination of the infection with COVID-19.

職員とメンバー構成 Members

- 室長 [Director of Gene Engineering Division]
三輪佳宏 Yoshihiro MIWA, Ph.D.
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
村田 武英 Takehide MURATA, Ph.D.
- 研究員 [Research Scientist]
飯田 哲史 Tetsushi IIDA, Ph.D.
- 技師 [Technical Scientist]
岸川 昭太郎 Shotaro KISHIKAWA, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
中出 浩司 Koji NAKADE, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
久次米 夕佳里 Yukari KUJIME
栗原 千登勢 Chitose KURIHARA
益崎 智子 Satoko MASUZAKI
中村 宣篤 Nobuatsu NAKAMURA, Ph.D.
中島 謙 Kenichi NAKASHIMA, Ph.D.
酒寄 めぐみ Megumi SAKAYORI
笹沼 俊一 Shunichi SASANUMA
谷川 由希子 Yukiko TANIGAWA
吉田和人 Kazuhito YOSHIDA
- 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]
番奏絵 Kanae BAN
- 派遣職員 [Agency Staff]
長谷川 聡 Satoshi HASEGAWA, Ph.D.
- パートタイマー [Part-Timer]
古谷 昭江 Terue FURUYA 服部 ひとみ Hitomi HATTORI
平栗 麻奈美 Manami HIRAGURI 勝谷 敦子 Atsuko KATSUYA
木村 明子 Akiko KIMURA 村瀬 良子 Ryoko MURASE
中島 緑 Midori NAKAJIMA 高原 祐子 Yuko TAKAHARA
辻 綾子 Ayako TSUJI 山村 美貴 Miki YAMAMURA
眞野かをる Kaworu SHINNO 柳川優太 Yuuta YANAGAWA



微生物材料開発室

Microbe Division: Japan Collection of Microorganisms



室長 大熊 盛也 (農博)
Moriya OHKUMA, Ph.D.

ミッションと事業概要

当室は、学術・研究に重要な微生物資源の確保とその利活用の促進を目的として、細菌・アーキア・真菌などの多様な微生物を対象とし、特に社会のかかえる課題の解決のためにニーズの高い「環境と健康の研究に資する微生物」に焦点をあて、世界最高水準をめざしたバイオリソース整備事業を推進している。新規微生物リソースの開発や微生物の系統分類・同定技術、共生微生物・難培養微生物の取扱・解析技術などの先導的な微生物リソース関連の技術開発研究も行っている。

The Microbe Division in RIKEN-BRC known as Japan Collection of Microorganisms (JCM) has been collecting, preserving, and distributing microbial cultures. Our mission is contribution to scientific communities in a variety of research fields with microbial resources useful for researches related to environmental and human health issues as well as for general microbial studies. As a research and development laboratory, we are working to continuously improve our function as a microbial resource center, to exploit new microbial resources, and to develop techniques investigating diversity and function of symbionts and yet-uncultured microorganisms.

Mission

バイオリソースの収集・保存・提供 Collection, Preservation, and Distribution

1981年にJCM (Japan Collection of Microorganisms)として発足して以来、当室は、乳酸菌、放線菌を含む各種好気性・嫌気性細菌、極限環境細菌、アーキア (古細菌)、酵母、糸状菌など多様な微生物を対象として、微生物材料の収集・保存・品質管理・提供事業を推進している。現在は特に、「環境」と「健康」のための研究に役立つ微生物材料の整備に焦点をあてている。ナショナルバイオリソースプロジェクト「一般微生物」の中核機関として、国内外の研究開発の動向を把握しつつ、世界最高水準の微生物リソースを整備して、学術・研究の発展に貢献することをめざしている。

Since established in 1981, JCM collects, preserves and distributes microbial strains representing a wide variety of species of aerobic and anaerobic bacteria including actinomycetes and lactic acid bacteria, extremophiles, archaea, yeasts, and filamentous fungi. JCM has been focusing on microbial strains that are useful for researches for environmental and human health science. JCM has been engaged in the National BioResource Project of Japan as a

core facility of “general microbes”, and aims to strategically establish biological resources of the highest level in the world.

(1) 微生物材料の収集

2021年度は、16カ国から数多くの微生物株の寄託を受けた。これらには、生態系の物質循環に働く微生物、バイオエネルギー産生や環境保全に働く微生物などの環境の研究に有用なもの、ヒトの常在微生物や発酵食品に付加価値をもたらす微生物など健康の研究に有用なものが含まれる。収集数の7割以上が国外からの寄託であった。

当室ではこれまでに、微生物種の標準となる株である「基準株」とそれに由来する株の収集を積極的に推進し、特に細菌・アーキア・酵母の基準株の整備で世界最高水準の地位を築いている。基準株は、様々な性状や遺伝情報が解析されており、付加価値の高い優れたリソースでもある。微生物の特徴は多機能性にあるが、これは様々な機能をもった多種多様な微生物種が存在していることによる。多様な微生物種の標準リソースが当室に整備されており、生物多様性の保全にも重要な役割を果たしている。

(1) Collection

JCM annually accessions a large number of microbial strains deposited by researchers in various countries. These

depositions included strains very useful for researches related to environmental and human health issues, such as species involving carbon or nitrogen cycling in ecosystems, those for bioenergy production or environmental conservation, isolates from commensal or symbiotic microbiota associated with human body, and value-adding strains for fermented foods. More than 70% of the deposited strains came from abroad.

A typical feature of the JCM collection is abundance of type strains and their derivatives, which are very important for researches in general microbiology as well as microbial systematics. Concerning the collection of type strains particularly of bacteria, archaea, and yeasts, JCM has received the world-wide reputation for one of the highest positions as microbial resource centers. Therefore, JCM greatly contributes to the conservation of biological diversity. Type strains are well characterized physiologically and genetically and valuable microbial resources for researches in various fields of science.

(2) 微生物材料の保存・品質管理

収集した微生物株は、混入微生物の汚染検査、各種性状試験、rRNA 遺伝子配列の解析等により徹底した受入検査を実施している。毎年 10% を超える受入微生物株で、株の取り違えを含む不適合性が見出され、このうちの約半数を是正して正当な株のみを登録・保存している。これにより、正確性や再現性など微生物リソースを利用する研究の質的向上と効率化に貢献を果たしている。また、品質マネジメントの国際規格である ISO9001:2015 の認証を継続取得し、その認証下での運営体制により事業を実施して、高い信頼性を得るために努めている。収集した微生物株は原則、凍結法、凍結乾燥法などの 2 種類の保存法を用いて安全確実な保存を実施している。

On receiving a deposited strain, JCM extensively checks its viability, purity, and authenticity. Over 10% of strains deposited to JCM every year unfortunately found to be unacceptable and JCM asked the depositor for resubmission of the strains in order to pursue high quality of the JCM collections and to ensure the accuracy and reproducibility of the researches using JCM strains. JCM has been accredited by an international standard of quality management system, ISO9001:2015, and tries to improve the system continuously. JCM basically applies two preservation methods, freezing and freeze-drying, in order to maintain microbial strains safely and stably.

(3) 微生物材料の提供

JCM は、30,000 以上の微生物株を保有し、年間約 5,000 の微生物株を提供している。2021 年度は 35 カ国へ提供し、約 3 割は国外へ、約 2 割は営利機関への提供である。微生物系統分類学のみならず一般の微生物学研究にも重要な基準株は、提供数の 7 割以上を占める当室の特色となっている。依頼に応じて微生物株を培養して提供をしている他、微生物のゲノム DNA も理研 BRC 遺伝子材料開発室と共同で提供している。当室の微生物株を利用した論文は毎年 550 報以上が発表され、数多くの公開特許にも当室の微生物株が利用されている。

当室では、微生物株の基本的情報や系統分類、特性情報、ゲノム情報、微生物株を利用した論文を含む論文情報などをオンラインのカタログデータベースとして公開し、常時更新をしている。遺伝情報や関連論文情報等が豊富な NCBI データベースにおける当室のリソースのウェブページへのリンクも充実させている。これらの情報は、リソースの利用を促進するばかりでなく、リソースを利用する研究の質的向上にもつながる。

(2) Preservation and quality control



図1 左：液体窒素下での微生物株の保存 右：提供用の微生物株の凍結乾燥標品

Fig.1 Left, Preservation of microbial cultures in liquid nitrogen tank. Right, Ampoules of freeze-dried microbial cultures used for distributions.

(3) Distribution

JCM now holds over 30,000 microbial strains. Every year, near 5,000 strains are distributed, and 30% of them are distributed abroad. This year we distributed JCM strains to 35 countries. More than 70% of distributions from JCM are those of type strains. JCM also distributes microbial genome DNA in collaboration with the Gene Engineering Division of RIKEN-BRC. Using JCM strains, 550 or more original scientific papers and a large number of patent applications have been annually published in these years.

Through our on-line catalogue database, JCM exhibits not merely basic information, taxonomic classification, and characteristics of JCM strains but also related publications including those using JCM strains. The catalogue database is continuously updated. We set the links to web pages corresponding to JCM strains in the NCBI database, if available, where information of many related publications and genes is further linked. We also tried to enrich the information of genome sequence, useful characters such as assimilation abilities in yeast strains, and so on. The information related to microbial resources contributes to the improvement of research quality as well as the enhancement of the use of them.

2021年度の成果

Development of Technology in 2021-2022

以下の微生物リソース関連の研究・技術開発に取り組んでいる。

- (1) 環境と健康の研究に資する新規微生物リソースの開発
- (2) ゲノム配列解読情報の整備など、微生物リソースの付加価値の向上
- (3) 微生物の分類・同定・品質管理技術、リソース利用関連技術の開発
- (4) 難培養微生物・共生微生物の解析技術と培養技術の開発

地球環境や人の健康に関連する微生物、課題解決等の研究に有用な新規の微生物リソースとして、各種環境・生態系の微生物や動物の常在微生物を、国内外の研究者と連携あるいは自ら分離し、系統分類・同定を行い、毎年多数の新種を提唱している。国際連携も含め、整備した微生物株のゲノム配列情報を解読して、公的データベース等から情報公開をして付加価値の向上に努めている。また、より高度な品質管理のための技術開発やシングルセルでのゲノム解析技術を適用した難培養の共生微生物の機能解明も実施している。

We aim the followings as our research and developments.

- (1) Exploitation of new microbial strains as beneficial biological resources
- (2) Addition of values to microbial strains with genome sequence information and other studies

(3) Development of efficient methods for microbial identification and quality control, and techniques using microbial resources

(4) Development of analytical and handling techniques for microbial symbionts and yet-uncultured microorganisms

As new microbial resources useful for researches of environmental issues, health science, and other microbiological studies, microbial strains of various isolation sources have been identified and proposed a number of novel species annually, often in collaborations with domestic or foreign researchers. Genome sequences of our microbial strains have been determined and exhibited through public databases in order to enrich their information. We are trying to develop techniques for quality control of our strains, and for single-cell genome analyses of yet-uncultured microbial symbionts to infer their function and ecological role.

2021度のトピックス

Topics in 2021-2022

DPANNと呼ばれるアーキアの系統群は様々な環境で生息し、アーキア全体の種多様性に占める割合も大きい。しかし、これまでに培養された種は極めて少なく、それらの生理生態に関する研究のほとんどは培養を介さないゲノム情報の解析などから推測されたものに過ぎない。増殖が非常に遅く、嫌気性または微好気性で取り扱いが難しいことに加え、他の微生物に生育を依存する寄生性の生態が培養を困難にしていると考えられている。今年度、インドネシアの酸性温泉試料から分離培養され、新門 *Microcaldota* として提唱された DPANN アーキア種の研究を創価大らのグループと共同発表し、培養株を *Microcaldus variisymbioticus* JCM 33787 として利用可能に整備した。リソース整備機関で利用可能となった世界初の DPANN アーキアである。本株は *Metallosphaera* 属アーキアとの共培養で得られたものであるが、DPANN アーキアの寄生する宿主は特定の微生物種に限られるというこれまでの常識をくつがえし、複数の異なるアーキア種を宿主として生育することが示された。また、本株は取り扱いが比較的容易な好気性条件で増殖することができる。DPANN に代表される、微生物ダークマターと呼ばれる未培養細菌・アーキア系統群の研究の進展に有用なリソースとして期待される。

The so-called DPANN groups of Archaea distribute widely in various environments and share a large part of archaeal species diversity. However, our understanding of their physiology and ecology is limited to mere inferences through culture-independent genome and other analyses because of the scarcity of the cultured representatives. Their parasitic life-styles dependent on other microorganisms as well as their slow-growing, anaerobic or microaerophilic nature render the cultivation of them formidably difficult. This year a study

based on the culture of a DPANN archaeal strain from a hot spring, proposing the novel phylum Microcaldota, was published from a research team of Soka University in collaboration with JCM. This strain *Microcaldus variisymbioticus* JCM 33787 is now opened from JCM. This strain was at first established by co-culture with the archaeal species *Metallosphaera* sp., and then surprisingly found to be able to grow with a number of different archaeal species as its host. This is the first example of DPANN archaeal strain available in the microbial resource center as well as the aerobically growing strain in the DPANN groups. Therefore, this strain is useful for studies related to the yet-uncultured microbial diversity known as “microbial dark matter”.

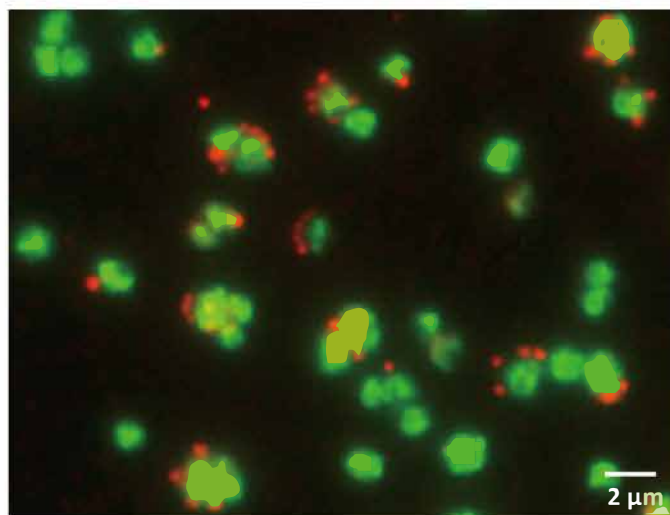


図2 *Microcaldus variisymbioticus* JCM 33787 (赤)とその宿主 *Metallosphaera*属アーキア(緑)の共培養において、それぞれの種の細胞を特異的に検出した蛍光顕微鏡像

Fig.2 Fluorescent microscopic image specifically detecting the co-cultured cells of *Microcaldus variisymbioticus* JCM 33787 (red) and its host *Metallosphaera* sp. (green).

職員とメンバー構成

Members

- 室長 [Director of Microbe Division]
大熊 盛也 Moriya OHKUMA, Ph.D
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
飯田 敏也 Toshiya IIDA, Ph.D. 坂本 光央 Mitsuo SAKAMOTO, Ph.D.
飯野 隆夫 Takao IINO, Ph.D.
- 研究員 [Research Scientist]
遠藤 力也 Rikiya ENDOH, Ph.D.
- 専門技術員 [Expert Technician]
押田 祐美 Yumi OSHIDA
- テクニカルスタッフ I [Technical Staff I]
清水 美智留 Michiru SHIMIZU, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
鈴 幸二 Koji SUZU 森下 羊子 Youko MORISHITA
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
雪 真弘 Masahiro YUKI, Ph.D. 加藤 真悟 Shingo KATO, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
橋本 陽 Akira HASHIMOTO, Ph.D.
- アシスタント [Assistant]
岩城 志乃 Shino IWAKI
- 特別嘱託研究員 [Special Temporary Research Scientist]
岡田 元 Gen OKADA, Ph.D. 伊藤 隆 Takashi ITOH, Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]
サディヤワシヤトウス Wasiatus SADIYAH
逆井 青空 Sora SAKASAI 森 浩佐 Kosuke MORI
見取 虎人 Taketo MIDORI 成松 星哉 Seiya NARIMATSU
- 派遣職員 [Agency Staff]
柳生 麻美 Asami YAGYU 天野 寸矢夫 Yasuo AMANO
寺門 真木夫 Makio TERAKADO 樋口 由佳 Yuka Higuchi
小泉 優子 Yuko KOIZUMI 山崎 光正 Mitsumasa YAMAZAKI
- パートタイマー [Part-Timer]
矢内 直美 Naomi YANAI 小船 友子 Tomoko KOBUNE
櫻井 直美 Naomi SAKURAI 伊藤 未央 Mio ITO
水野 美咲 Misaki MIZUNO 井上 真理 Mari INOUE
中村 有希 Yuki NAKAMURA, Ph.D. 大和田 貴子 Takako OWADA
佐藤 渚 Nagisa SATO 野田 なほみ Nahomi NODA
参輪 佳奈 Kana MIWA 堀山 麻衣子 Maiko HORIYAMA
神戸 一美 Kazumi KOBE 大津 和子 Kazuko OTSU
分領 和歌子 Wakako BUNRYO 池山 菜緒 Nao IKEYAMA



統合情報開発室

Integrated Bioresource Information Division



室長 栴屋 啓志 (理博)
Hiroshi MASUYA, Ph.D.

ミッションと事業概要

「情報なくしてリソースの価値なし」と表されるように、バイオリソースが科学の基盤として機能するために「情報」は必要不可欠な要素である。統合情報開発室では、バイオリソースを研究や産業分野に広く効果的かつ効率的に活用するために、バイオリソースの特性情報、ゲノム情報、画像情報等のバイオリソース関連情報を記述し、統合する技術開発を行うとともに、センターのホームページ等を通して、バイオリソース情報を世界に発信する。統合情報開発室は、バイオリソース研究センターの中核であるバイオリソース整備事業の一つの室として、以下の3つのプログラムに取り組む。

- (1) バイオリソース関連情報データ統合・国際標準化・横断検索等の研究開発
- (2) バイオリソースと情報のコミュニケーションツールとしてのホームページの拡充
- (3) 大規模データ解析技術及びデータ可視化技術等の研究開発

As it is exactly said “No data, No resource”, “Information” is an essential element of bioresources as the basic infrastructure for promotion of the life science. Integrated Bioresource Information Division aims to develop novel utilities and create new “values” of bioresources by analyses of bioresource-related big data, and facilitate wide, effective and efficient use of bioresources for R&D in science and industry. As the one of the BioResource Infrastructure Divisions, core activity of BioResource Research Center, we work on the three research plans;

- (1) Integration of metadata, international standardization and development of cross-resource search
- (2) Homepage contents
- (3) Big data analysis and its visualization as follows:

2021年度の成果

Development of Technology in 2021-2022

(1) バイオリソース関連情報データ統合・国際標準化・横断検索等の研究開発

バイオリソースの高付加価値化と利活用促進を目的として、バイオリソースに関連する情報の発信および、統合化、標準化を行うとともに、健康、食料、環境・資源等の重要な研究領域でのバイオリソース利用拡大に向けた高度なデータ検索アプリケーションの開発を行う。

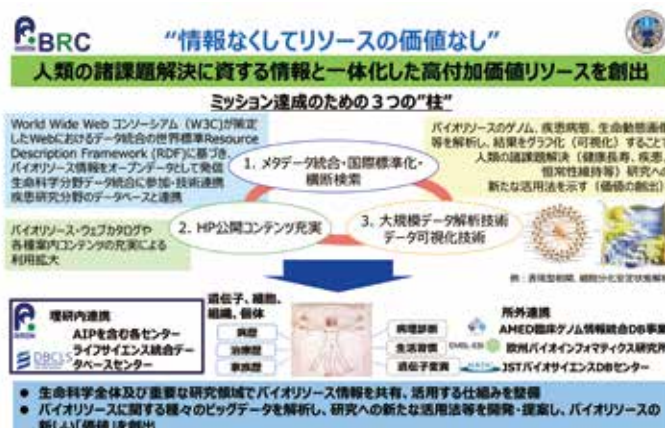
令和3年度は、World Wide Web コンソーシアム (W3C) が策定したWebにおけるデータ統合の世界標準 Resource Description Framework (RDF) を用いた横断検索システムをさらに拡張し、遺伝子の生物種間の相同関係のデータを整備、バイオリソースとの関連付けを行うことで、遺伝子キーワードを用いた横断検索機能を向上させた。これにより、遺伝子キーワードによる横断検索機能を向上させ、バイオリソース利活用向上に向けた情報基盤の充実をはかった。また、新型コロナウイルス感染症関連リソース検索を実現し、検索ページ公開した。

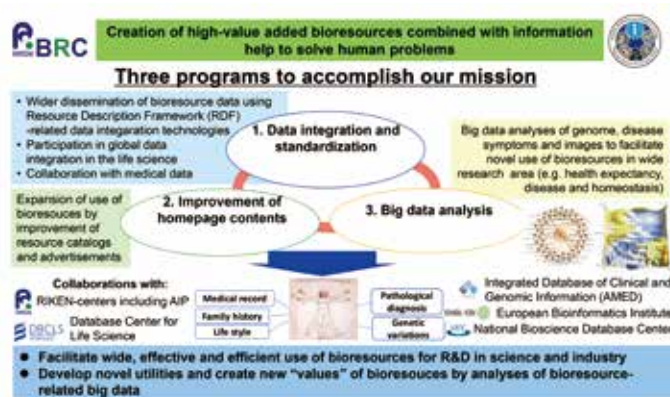
(1) Data integration and standardization

Aiming adding value and promotion of use for bioresources, we work on the data dissemination, integration and standardization of bioresource-related information. We will develop information

technologies on data integration and retrieval, and implement advanced data searching system helps expanded use of bioresources in the important research fields such as health, foods, environments and energy production.

In FY 2021, we enhanced search function of the online catalog system using Resource Description Framework (RDF) related technologies which are standardized technology recommended by the Web recommended by World Wide Web Consortium (W3C). We integrated homologous relationships among genes across species to our knowledgebase to improve cross search using genes as key





words for enhancement of informational infrastructure to improve utilization of bioresources. In addition, we have released a search page for bioresources related to COVID-19.

(2) バイオリソースと情報のコミュニケーションツールとしてのホームページの拡充

バイオリソース情報提供において、Webページは中心的な役割を果たしている。バイオリソース研究センターのウェブサイトを実定的に運用するとともに、各種疾患、健康長寿、食料環境等の社会のニーズ、さらには、研究における各種課題を解決するバイオリソースの案内など、様々なリソース利用ニーズに応えるコンテンツ公開を行う。令和3年度は、利便性を高めるための変更、セキュリティ対策、マウスソースカタログ更新、アクセスログ解析、利用者へのメールニュース配信、開発室・チームのホームページ更新支援を引き続き行い、これに加えて、バイオリソース関連動画の公開、20周年記念事業コンテンツの公開により、情報発信力の強化を図った。

(2) Homepage contents

For the dissemination of bioresource information, the website plays crucial roles to promote uses of bioresource, by carrying resource catalog, documents and advertisement of resources to potential users. We operate workflow of homepage maintenance and development to provide homepage articles to respond to the social needs (e.g. disease problems, healthy life span and food production) and to research needs by proposing bioresources which can be used in the researches for solution of these issues. In FY 2021, we continuously operated BRC homepage to update articles, modifications to improve usability and security maintenance. We also operated update of mouse resource catalog, analysis of access log, supporting Divisions to circulate mail news to bioresource users. In addition, we released web contents for 20th anniversary of BRC.

(3) 大規模データ解析技術及びデータ可視化技術等の研究開発

種々のビッグデータ解析による新たな生命機能や法則性の発見を試み、その社会活用を推進、および大規模データに基づく客観的エビデンスを起点として自然現象の解明を目指す「データ駆動生命科学」の基盤構築を先導することを目指す。令和3年度は、BRCが参画する International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) へのデータ送付に加え、多項目データを用いて、各状態の擬似的なエネルギーを計算し、安定性や状態操作の指標とする新たな数理解析手法「エネルギーランドスケープ解析」を用いて、マウス腸内微生物叢の解析を行うとともに、解析方法チュートリアルを公開した。

(<https://community.wolfram.com/groups/-/m/t/2358581>)。

また、バイオリソース整備にかかる、論文からの知識抽出についての多様なニーズに応えるため、機械学習データ処理のためのプラットフォームをクラウド上に構築し、これを用いて、論文からのバイオリソース情報抽出を試みた。

(3) Big-data analysis

We try to discover novel biological functions or principles of life systems applying large-scale data analysis technologies with mathematical analysis. We also try to introduce new practical technologies such as deep learning by which computers may give a decision focusing on the different view point from human decision, in which feature of data are extracted independently to human definition. In FY 2021, we operated data transmission to the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC), in which BRC participates. We analyzed state change of microflora in mouse intestine using the newly developed mathematical method "energy landscape analysis" that calculates calculates the pseudo energy states using multiple parameters. In addition, in order to meet the various needs for knowledge extraction from literatures related to Bioresource Infrastructure Programs, we built a platform for machine learning data processing on the cloud and tried to extract bioresource information from papers.

職員とメンバー構成 — Members —

- 室長 [Director of Bioresource Information Division]
樹屋 啓志 Hiroshi MASUYA, Ph.D.
- 研究員 [Research Scientist]
櫛田 達矢 Tatsuya KUSHIDA, Ph.D.
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
岩瀬 秀 Shigeru IWASE, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
田中 信彦 Nobuhiko TANAKA, Ph.D. 鈴木 健大 Kenta SUZUKI, Ph.D.
高田 豊行 Toyoyuki TAKADA, Ph.D.
- 開発研究員 (兼務) [Research & Development Scientist (concurrent)]
小林 紀郎 Norio KOBAYASHI, Ph.D.
- 客員研究員 [Visiting Scientist]
権藤 洋一 Yoichi GONDO, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
湯原 直美 Naomi YUHARA 臼田 大輝 Daiki USUDA
栗原 恵子 Keiko KURIHARA 並木 由理 Yuri NAMIKI
- 派遣職員 [Agency Staff]
森 祐介 Yusuke MORI 内田 真允 Masanobu UCHIDA
佐々木 大志 Taishi SASAKI
- パートタイマー [Part-Timer]
山田 達也 Tatsuya YAMADA 進藤 省一郎 Shoichiro SHINDO
三部 知美 Tomomi MIBE





ユニットリーダー 小林 正智
Masatomo KOBAYASHI, Ph.D.

バイオリソース 品質管理支援ユニット

Support Unit for Quality Management

ミッションと事業概要

ISOは、国際標準化機構 (International Organization for Standardization) が策定する国際統一規格で、ISO 9001は品質に関するマネジメントシステムの規格である。ISO 9001の認証は、理研BRCが高品質のバイオリソースやサービスを一貫して提供できる能力があることを実証するとともに、業務プロセスの合理化、利害関係者の満足、継続的な成長のための確固たる基盤を提供するものである。

バイオリソース品質管理ユニットは、ISO 9001マネジメントシステム、総合的品質管理や設計品質重視の信頼性工学に関する取り組みを推進することにより、バイオリソース事業の柱である信頼性に貢献している。2021年度は研究所の情報環境が大きく変化するもとの業務の信頼性維持に焦点をあてた活動を行った。

ISO stands for an internationally uniform standard promulgated by the International Organization for Standardization, and ISO 9001 is ISO's flagship management system standard for quality. Getting the ISO 9001 certification does help RIKEN BRC (BRC) demonstrate to the interested parties that we, BRC, can securely distribute biological resources and services with consistently the highest quality on time. It acts as an active system to streamline our processes and make us more efficient at what we do. Furthermore, it endorses BRC to raise stakeholder satisfaction, and provides a coherent framework for growth and sustained success.

We, "the Support Unit for Quality Management (QMU)", endeavors to take all possible measures for Quality Management System (QMS), Total Quality Management (TQM) and Reliability Engineering (RE) focusing the quality by design. Our activities contribute the "Trust" which is the most important principle of BioResource Project. This year, we focus our efforts on the maintenance of management system under the changes in the communication environments of RIKEN.

2021年度の成果 Activities in 2021-2022

(1)ISO 9001:2015維持審査

審査登録機関であるビューローベリタスジャパン株式会社 (BVJC) によるISO 9001の認証維持のための審査を、2021年6月10日及び11日に受審し、不適合なしの成績で合格した。その結果、是正処置及びそのフォローアップを受けることなく、ISO 9001:2015の認証を維持した。同審査報告書の概要は次のとおり。なお、本審査は感染症対策のためリモートで受審した。

【審査日程】2021年6月10日及び11日

【適用規格】ISO 9001:2015 (JIS Q 9001:2015)

【認証範囲】バイオリソース (生物遺伝資源) の収集・保存・提供

【産業分類】35. その他専門的サービス、38. 医療及び社会事業

【審査員】BVJC主任審査員 木野山博文 (チームリーダー)

【審査対象部門】BRCセンター長、管理責任者及び支援ユニット

細胞材料開発室、微生物材料開発室

【審査対象品質マニュアル】BRC品質マニュアル 第18版

【審査の結論】

今回審査の範囲において、貴組織マネジメントシステムに不適合事項はなく、規格要求事項等の審査基準に適合している事が検証されました。また、システムの運用状況についても認証を阻害する重大事案は確認されませんでした。従って、認証維持を推薦するとともに審査計画に示した目的が達成されたものといたします。

(1)ISO9001:2015 Surveillance Audit

BRC took ISO 9001 Surveillance Audit by Bureau Veritas Japan Co., Ltd. (BVJC) on June 10 & 11, 2021. The audit was carried out using

teleconference system to prevent the COVID-19 infection. BRC successfully passed this audit without any nonconformity. As a result, the continuation of ISO 9001 certification was achieved without any Corrective Action and follow-up visit. The following is the summary of the report of this audit.

【Audit dates】June 10 & 11, 2021.

【Standard conducted against】ISO 9001:2015 (JIS Q 9001:2015).

【Scope of supply】Collection, Preservation and Distribution of Biological Resources.

【Industrial classification code】35.Other services, 38. Health and social work.

【Auditor】BVJC Lead Auditor, Mr. Hirofumi Kinoyama (Team Leader)

【Object departments】BRC Director, Management Representative and QMU

Cell Engineering Division, Microbe Division.

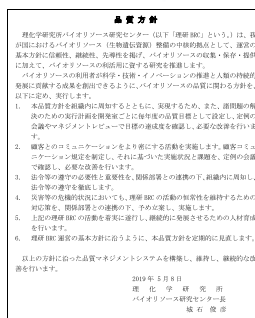
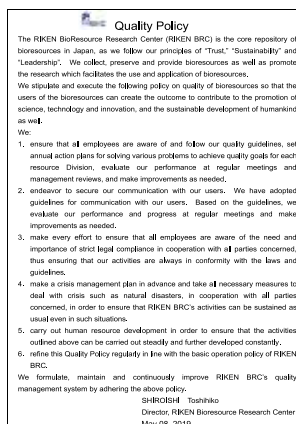


図1 ISO 9001 品質方針
Fig.1 ISO 9001 Quality Policy



インプット【骨子】	
「第27回マネジメントレビューへのインプット」	
2021年11月26日 ISO 管理責任者 小林	
【MR アジェンダ】（目標所要時間 90min）	
1. 監査（15min）	
2. 顧客からのフィードバック（10min）	
3. プロセスの実施状況及び製品の適合性（15min）	
4. 是正処置及び予防処置の状況（10min）	
5. 前回までのマネジメントレビューの結果に対するフォローアップ（5min）	
6. 品質マネジメントシステムに影響を及ぼす可能性のある変更（5min）	
7. 改善のための提案（3min）	
8. 品質方針のレビュー及び品質目標の達成度の確認（10min）	
9. 資源の必要性（3min）	
10. リスク及び機会に取り組むためにとった処置の有効性（10min）	
11. その他（4min）	

図2 第27回マネジメントレビューのアジェンダ

Fig.2 The 27th Management Review (agenda)

【Object Quality Manual】BRC Quality Manual 18th edition.

【Conclusion of the audit】

Any nonconformity was not found in BRC QMS in the scope of this audit, and it was verified that it was conformable to the criteria for the audit such as standard requirement items. Moreover, there was no serious problem to obstruct ISO 9001 certification as for the practical operation appearance of the system. As a result, the continuation of certification was recommended, and the purpose of the audit plan was also achieved.

(2) 品質マネジメントシステムの組織体制

城石センター長より品質方針 (Fig.1) の堅持の指示を受け、リソースの品質管理への取り組みを継続した。設立以来のメンバーの退職があったが、新メンバーの参加により本ユニットの体制維持を図った。

(2) Changes in the BRC QMS

Under the Quality Policy (Fig.1) authorized by the Director Dr. Toshihiko Shiroishi, we continuously make efforts to maintain the QMS. While the unscheduled retirement of experienced member took place, a new member has joined the QMU to keep activities.

(3) 内部監査、及びマネジメントレビュー

IISO 9001:2015 の要求事項（リスク及び機会、組織の知識、ヒューマンエラーの防止などの取組み）への適合状況を確認するため、2022年1月から2月にかけて、第22回内部監査をリモートにより実施した。監査にあたり、新たな情報ツールの導入が急速に進んでいる状況を背景として、研究所が進める情報環境の整備への対応状況、及び感染症のリスクに加えて国際情勢の変化に着目し、リソースの収集・提供に伴う運搬業務に関わる諸問題への対応状況を重点項目とした。また、城石センター長による第26回マネジメントレビューを2021年4月27日に、第27回マネジメントレビューを11月26日にリモートにより開催し (Fig.2)、QMSの改善の機会及び変更の必要性に関わる評価を実施した。

(3) Internal Quality Audit, and Management Review Conference

We carried out the 22nd Internal Quality Audit from January to February 2022 using teleconference system. Through the Audit, we assessed the conformity of the activities of Cell Engineering Division, Microbe Division and Support Unit for Quality Management with the requirements from ISO 9001:2015. Actions to address the risks from the revision of information systems in RIKEN, and from the cross-border transportation of biological materials under the COVID-19 epidemic and strained international

relations were also measured. The BRC Director reviewed the QMS on Apr. 27 and Nov 26, 2021 (the 26th and 27th conference) in order to assess the opportunities for improvement and the need for changes of the QMS (Fig.2).

(4) ISO マネジメントシステム概念の水平展開

ISO9001 品質マネジメント活動の向上のため、昨年配布した「これならわかる！ ISO マネジメントシステム 入門読本」を追加で取り寄せ、所内関係者に情報提供した。また細胞材料開発室及び微生物材料開発室以外のスタッフにむけて、内部監査チームへの参加を促した。

(4) Horizontal deployment of ISO Management Systems framework

To improve the QMS activities in BRC, we distributed the guidebooks for ISO management system to the QC members as last year. In addition, we nominated staffs in Experimental Animal, Experimental Plant, and Gene Engineering Divisions to be the team members of Internal Quality Audit.

(5) 総合的品質管理の推進、及び後継人材の育成

ISO 審査員補の資格維持への支援6名、内部監査員資格取得への支援4名、IATA 認定航空危険物の判定資格者3名のリカレントコース、及び1名がイニシャルコースを受講した。さらに、OJT教育やISO継続的職能開発等の外部研修への積極的な派遣を通し、後継人材の育成に取り組んだ。

(5) Acceleration of Total Quality Management, and cultivation of successors

We support 6 staffs to attend the Continuing Professional Development course for QMS auditor. We grew up 4 staff as an internal auditor, and support 3 staffs to maintain qualification as IATA (International Air Transport Association) accredited Dangerous Goods Regulations expert. Moreover, 1 staff successfully completed the training of IATA initial course. We have supported the development of successors through On-the-Job Training and the active participation in OFF-the-Job Training such as “ISO Continuous Performance Development Education”.

職員とメンバー構成 Members

● ユニットリーダー [Unit Leader]

管理責任者 [Management representative]

小林 正智 Masatomo KOBAYASHI, Ph.D.

● メンバー [Member]

飯村 恵美 Emi IIMURA, M.P.H. (～ Nov 2021)

飯田 敏也 Toshiya IIDA, Ph.D. 遠藤 力也 Rikiya ENDOH, Ph.D.

栗田 香苗 Kanae KURITA 磯村 尚子 Naoko ISOMURA

岩城 志乃 Shino IWAKI 森下 羊子 Yoko MORISHITA



遺伝工学基盤技術室

Bioresource Engineering Division



室長 小倉 淳郎 (農博)
Atsuo OGURA, D.V.M., Ph.D.

ミッションと事業概要

当研究室では、理研 BRC が各リソース、特に実験動物および幹細胞をより高度なクオリティにて維持供給するために必要な遺伝関連技術開発を行う。また、これらの技術が広く研究コミュニティに活用されるべく、研修事業を行う。

To develop genetics-related techniques, especially those essential for maintenance and supply of laboratory mice and stem cell lines at a high quality in RIKEN BioResource Research Center.

Activities:

- I. Development of mouse somatic nuclear transfer techniques
- II. Development of microinsemination techniques
- III. Development of reliable cryopreservation techniques for mouse embryos or gametes
- IV. Development of new stem cell lines and animal models

2021年度の成果

Research & Development in 2021-2022

(1) 体細胞核移植クローン技術の開発

理研 BRC には、世界各地から収集された貴重な野生由来マウス系統が多数保存されている。しかし、これらのうち数系統は、胚・配偶子凍結や過排卵処理などの生殖補助技術が適用できないために、生体での保存を続けている。そこで、これらの野生マウス系統の遺伝的資源のバックアップとして、体細胞核移植クローン技術を利用した核移植由来胚性幹細胞株 (ntESC) の樹立を行なっている。本年度は、異種野生マウス (*Mus spretus*) の末梢血由来白血球を実験用マウスの卵子に移植する異種間核移植によって、ntESC の樹立を試みた。核移植後、通常の培養方法では、ほぼすべての核移植胚が2細胞期で発生停止したが、培養液に発生を促進する薬剤を添加することで、発生停止の解除に成功した。樹立したntESCは、正常な染色体数を示すことが確認された。

(1) Development of mouse somatic cell nuclear transfer (SCNT) techniques

RIKEN BRC maintains valuable wild mice collected from all over the world. However, there are some strains to which assisted reproductive technologies such as embryo/gamete freezing and superovulation treatment cannot be applied and it makes continuous breeding difficult. In order to maintain and preserve these wild mouse strains stably, we established nuclear transfer-derived embryonic stem cell (ntESC) lines using somatic cell nuclear transfer (SCNT) technology. In this year, we attempted to establish ntESCs by interspecies SCNT using leukocytes from wild mice (*Mus spretus*). After nuclear transfer, embryo development was largely arrested at the 2-cell stage, but this arrest was successfully released by adding development-promoting drugs to the culture medium. Using the ntESCs thus established, the expression of pluripotency marker genes, chromosome number, and teratoma formation were

confirmed, indicating that these cell lines were pluripotent.

(2) 顕微授精技術の開発

一次精母細胞を用いた顕微授精において、注入に用いる卵子の細胞質サイズを小さくすることにより、染色体分配エラーが減少し、その結果、産子率が1%から19%まで改善された。しかしながら、本法によって得られた産子のうち調べた11匹中の4匹で性染色体の異常が確認された(図)。この原因が、染色体分配エラーが性染色体で生じやすいことによるのか、それとも常染色体でも異常が生じているのかを明らかにするため、一次精母細胞注入胚をMII期にてmulticolor FISH解析を行った。その結果、常染色体・性染色体に関わらず異常が生じていることが認められた。このことより、正常な常染色体を所持した胚のみが選抜されて産子まで発生し、産まれた産子の一部に性染色体異常のみが残ることが明らかになった(旭川医大日野敏昭先生と共同研究)。

(2) Development of microinsemination techniques

The primary spermatocyte nucleus can support full term development following injection into immature oocytes, but the birth rates are extremely low. We used the “down-sized oocytes” to increase the precise chromosome segregation following injection with primary spermatocytes. As a result, we obtained about 20 fold higher (19% vs. 1%) birth rate. Among eleven spermatocyte-derived mice we analyzed, four had sex chromosomal abnormalities (Figure), and none had autosomal abnormalities. Then, we applied multicolor FISH analysis to MII oocytes derived from spermatocyte injection. Chromosomal abnormalities were also found in most autosomes and the X chromosome. This finding indicated that chromosomal abnormalities occurred randomly in all chromosomes and only embryos that had normal autosomes survived to term (collaboration with Dr. T. Hino, Asahikawa Medical University).

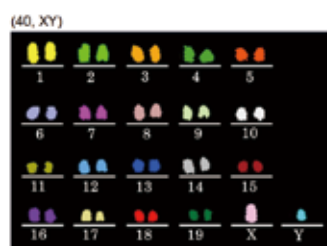


図 一次精母細胞由来産子の multicolor FISH による染色体解析。解析した3匹のうち2匹は正常で(上)、1匹はXYY 性染色体を持っていたが、常染色体は正常であった(下)。

Normal male

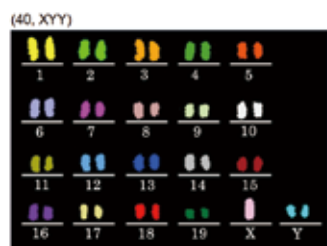


Fig. Chromosomal multicolor FISH analysis of the offspring derived from spermatocytes. Of the three males analyzed, one had XYY sex chromosomes. No abnormalities were found in autosomes in these mice.

XYY male

(3) 効率的な胚・配偶子の凍結保存法の開発

昨年度、プロゲステロン投与による性周期同期化と抗インヒビンモノクローナル抗体(AIMA)投与を組み合わせることにより自然交配後のC57BL/6系統マウスの平均産子数が1.4倍(8.6匹vs. 12.4匹)に増加したことを報告した。今年度は、ICR系統でも1.4倍(15.3匹vs. 21.2匹)、A系統で1.7倍(7.5匹vs. 12.7匹、雄はICR)に増加することを確認した。更に高齢C57BL/6雌でも産子数が2倍(3匹vs. 6匹)となり、妊娠率も2.7倍になったことから、繁殖効率率は5.3倍に改善できた。ラットの主要系統であるF344雌の発情後期もしくは休止期にAIMAを投与して翌日から雄と連続同居したところ、3日間で80%が交配し、産子数は1.9倍(8.6匹vs. 12.4匹)に増加した(日本クレアとの共同研究)。ゴールデンハムスターでは産子数が1.4倍(5.8匹vs. 8.0匹、有意差なし)に増加した(日本エスエルシーとの共同研究)。以上より、AIMA投与による産子数の増加はマウスを含む複数の齧歯動物で効果的であることが確認された。

(3) Development of reliable cryopreservation techniques for mouse embryos or gametes

We have reported that the average size of litters in C57BL/6 mice increased 1.4-fold (8.6 pups vs. 12.4 pups) when progesterone-administered females were injected with anti-inhibin monoclonal antibody (AIMA) and mated with males. Next, we applied this technique to other strains and species. The size of litters in ICR strain increased 1.4-fold (15.3 vs. 21.2) and that in A strain increased 1.7-fold (7.5 vs. 12.7 [males were ICR]). Furthermore, even with aged C57BL/6 females, the size of litters doubled (3 vs. 6). As the pregnancy rate increased 2.7-fold, the overall reproductive efficiency increased 5.3-fold. When female F344 strain rats were administered with AIMA at their metestrus or diestrus period and paired with males, 80% of them mated within the following 3 days. The size of litters increased 1.9-fold (8.6 vs. 12.4). In golden hamsters, the size of litters increased 1.4-fold (5.8 vs. 8.0). Thus, AIMA administration is effective in increasing litter size in major rodent species.

(4) 新規幹細胞および新規動物モデルの開発

顕微授精(ICSI)技術を利用し、ゲノム編集Floxノックインマウス作出の作出を試みた。2つのloxP配列を含むTrp53遺伝子をドナーDNAとして用いた。Triton-X処理を施したマウス精子をドナーDNA、Cas9蛋白質、gRNAと懸濁した後、未受精卵

子へ注入した。発生した35個の2細胞期胚をレシピエント雌へ移植した結果、12匹の産子が生まれた。生存した9匹のうち1匹は、予定された2か所にloxP配列が挿入されたホモマウスであった。ICSI技術は、ノックインマウスを作製するための一つのオプションとなり得ることが示された。(実験動物開発室との共同)

(4) Development of new stem cell lines and animal models

We have attempted to generate genome-edited Flox knockin mice using the ICSI technique. Donor DNA was prepared as ... Mouse spermatozoa were treated with Triton-X and then suspended with a medium containing donor DNA, Cas9 protein, and gRNAs. After 35 2-cell embryos obtained were transferred into recipient females, 12 pups were born. Of the 9 surviving pups, one pup was proved to be a homozygous knockin mouse with two loxP sites at expected positions. Thus, ICSI-mediated transfection can be one of the options for generation of gene-edited knockin mice. (collaboration with Experimental Animal Division)

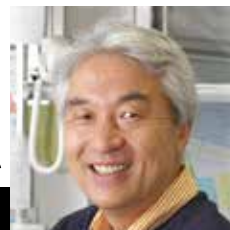
職員とメンバー構成 Members

- 室長 [Director of Bioresource Engineering Division]
小倉 淳郎 Atsuo OGURA, D.V.M., Ph.D.
- 専任研究員 [Senior Research Scientist]
井上 貴美子 Kimiko INOUE, Ph.D. 的場 章悟 Shogo MATOBA, D.V.M., Ph.D.
- 専任技師 [Senior Technical Scientist]
持田 慶司 Keiji MOCHIDA 越後 成美 Narumi OGONUKI
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
廣瀬 美智子 Michiko HIROSE 長谷川 歩未 Ayumi HASEGAWA
富島 俊子 Toshiko TOMISHIMA
- アシスタント (無期雇用職員) [Assistant (Indefinite-term Employee)]
塚原 文乃 Ayano TSUKAHARA
- 客員研究員 [Visiting Scientist]
神沼 修 Osamu KAMINUMA, D.V.M., Ph.D. 本多 新 Arata HONDA, Ph.D.
三浦 健人 Kento MIURA, D.V.M., Ph.D. 畑中 勇輝 Yuki HATANAKA, Ph.D.
馬場 忠 Tadashi BABA, Ph.D. 黒滝 陽子 Yoko KUROTAKE, Ph.D.
羽田 政司 Masashi HADA, Ph.D.
- 訪問研究員 [Visiting Researcher]
伊丹 暢彦 Nobuhiko ITAMI, Ph.D.
- 大学院生リサーチアソシエイト [Junior Research Associate]
モスト シュモナ アクター Most Sumona AKTER
四方 大樹 Daiki SHIKATA
- 研修生 [Student Trainee]
渡邊 奈穂美 Naomi WATANABE
- パートタイマー [Part-Timer]
百々 由希子 Yukiko DODO



疾患ゲノム動態解析技術開発チーム

Technology and Development Team for Mammalian Genome Dynamics



チームリーダー 阿部 訓也 (理博)
Kuniya ABE, Ph.D.

ミッションと事業概要

当技術開発チームでは、バイオリソースセンターに収集された生物遺伝資源の genotype, phenotype, epigenotype を解析するための新しい技術・リソースの開発を行い、バイオリソースを用いた新しい研究プラットフォームの構築、研究アプローチの確立を目指す。これらを基礎として、生物の発生・成長の制御機構や、生体システムが破綻した状態である疾患発症との関連を解析するための技術、モデル系の開発を行う。

Aim of our team is to develop technologies and experimental tools/ resources for characterization of 'genotype, phenotype and epigenotype' of biological resources. Through these efforts, we will extend utilities of bioresources collected at RIKEN BRC. Based on these technologies and resource development, we will establish analytical platform for analyses of dynamic nature of mammalian genome in the process of normal development and in the course of pathogenesis.

2021年度の成果

Research & Development 2021-2022

(1) バイオリソース分子表現型解析のためのシングルセル解析プラットフォームの構築：サンプル多重化技術開発

近年、一細胞レベルの網羅的遺伝子発現解析としてシングルセル解析が用いられるようになってきた。しかし、シングルセル解析は、その有用性にもかかわらず、技術的難度やコストの問題などで未だ積極的に利用されていない。昨今の単一細胞取得装置では、一度に数万個の細胞を取得することが出来るが、例えば 10 種類の異なるサンプルを一挙に解析できれば、各サンプルから数千個の細胞の情報を取得可能となり、実験に係わる労力やコストの削減に加え、バッチ効果などの実験エラーも低減することが出来る。これを可能とするのが、サンプル多重化技術である。

図に示すように、複数のサンプルをまとめた後、1 回の実験操作で解析する手法をサンプル多重化と呼ぶ。この際、あらかじめ各サンプルを固有のバーコード DNA で標識しておくことにより、各細胞がどのサンプルに由来するか知ることができる。従来の方法では細胞表面抗原に対する抗体を用いているため、発現している表面抗原の種類に依存することとなり、細胞の種類によってはうまく標識することができなかった。そこで、特定の抗原ではなく、あらゆる細胞表面蛋白質を標識可能なビオチン化という手法を用い、その後、ビオチン結合蛋白質であるストレプトアビジンを介してバーコード DNA を細胞に結合させることにより原理的にはあらゆる細胞についてサンプル多重化が適用可能となった。実際、従来の多重化法が適用できなかった細胞にも適用できることを示した (Sugimoto ら、2022)。

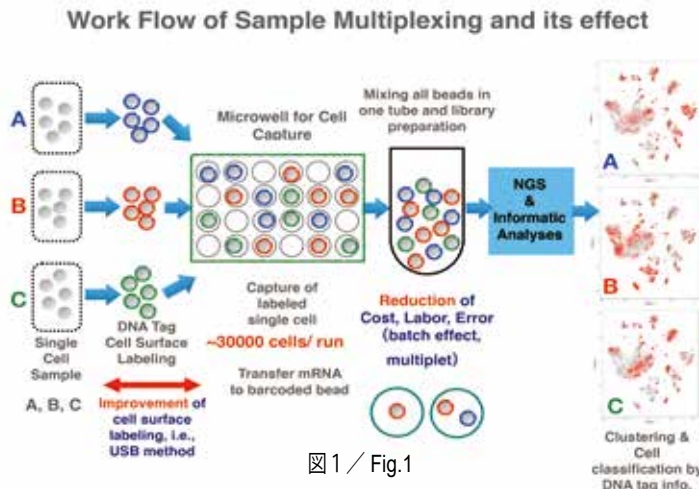
シングルセル解析は、従来の bulk 解析では埋没してしまう生命現象を検出可能であり、複雑な細胞集団であるバイ

オリソースの特性・表現型解析、品質管理に最適な手法と考えられる。今後、この技術の発展によりバイオリソースの特性情報、表現型情報を飛躍的に充実させることが期待される。

(1) Development of improved single cell analysis technology for molecular phenotyping of bioresources

To understand functions of tissues/organs of multicellular organisms, it is important to know gene networks operating in each cell that comprises the multicellular bodies. Microarray or RNA-Seq have been used for global gene expression analysis as an essential tool for understanding biological phenomenon at molecular level. However, tissues/organs are consist of multiple distinct cell types. Although cultured cells appear to be homogenous population of cells, these are also mixture of subpopulations with distinct cellular status. Therefore, the conventional 'bulk' analysis of cells is not able to delineate differences in status of each individual cell in culture or in organs. Our team joined "The RIKEN Single Cell Project" and had acquired techniques for both experimental and informatic analysis through intra-institutional collaborations. In this project, we studied transcriptomic dynamics in stem cell development using our novel naïve-to-primed pluripotency conversion system. Remarkably, the results revealed novel "pre-primed" pluripotency status for the first time (Böttcher, Tada, Abe, submitted), suggesting the advantage of single cell analysis over the conventional expression analysis.

Despite of its great utilities in life science, single cell analysis has not yet been widely used partly due to its technical difficulties and high cost. We are now developing improved and (relatively) low cost single cell technologies applicable for multiple bioresource samples. As shown in Figure 1, individual single cells prepared from cultured cells or tissues/organs will be captured in a microwell of ca. 50 μm diameter. Cells are lysed in these microwells and poly(A) RNAs bind to the bar-coded magnetic beads, which will be subjected to cDNA library



construction. Before capturing in a microwell, cell samples from different sources are labeled with different tags so that different samples can be distinguished by computational analysis later. We are now working on this novel efficient multiplexing technique (Sugimoto et al. 2022), which enables more accurate and low-cost analysis.

Single cell analysis should reveal biologically important phenomena, which likely to be obscured by the bulk analysis, and we believe that the improved single cell analysis should be essential for molecular phenotyping and quality control of bioresources from multicellular organisms.

(2) 画像処理・機械学習・遺伝子発現解析を組み合わせた細胞分化状態解析技術の開発

生物の発生・分化過程では、時系列に沿って分化状態の異なる細胞が出現するが、多くの場合、分化状態と細胞の形態には関連があり、従来から細胞の形態変化を基にして細胞状態を判断することが行われてきた。しかし、人の眼によって、異なる形態の細胞を判別、定量することは困難であった。そこで、我々は細胞の分化状態を非侵襲的かつ客観的に捉える技術として、画像処理と機械学習を組み合わせ、画像に有る分化状態の異なるタイプの細胞を検出・判別し、集団中での割合を定量的に表現する技術開発を共同研究を通じて実施してきた (Chang et al., 2019)。現在、モデル解析系としてヒト臍帯血からiPS細胞が形成されていく細胞変換過程、ヒトiPS細胞の微小基盤上での分化プロセスを解析し、各プロセスにおける異なる形態の細胞の判別・定量が可能となってきた。同時に細胞形態の変化の裏付けとして、個々の細胞でどのような遺伝子レベルの変動が生じているかを調べるために、1細胞遺伝子発現解析を実施し、発現レベルからの細胞分類を行った。この2種類のデータセットを統合・解析することにより、究極的には細胞の非侵襲的観察から細胞分化状態を推測する技術の確立を試みている。

これらは、今後、細胞の品質管理や細胞分化過程の定量的評価技術の開発等に資する基盤となる技術であり、細胞リソースを用いた研究を始めとして、ライフサイエンス研究を革新する可能性を秘めている。

(2) Integrated technology for characterization of cellular status using image processing, machine learning and single cell transcriptomics

During cell differentiation/development, cells with different cellular states will emerge in time. In general, changes in cellular morphologies are relevant to changes in cell differentiation status and biologists have been using morphologies as indicators of cellular characteristics. However, it has also been difficult for human eyes to classify and quantitate distinct cell types in an unbiased manner. We therefore have been developing unbiased and non-invasive technology for cellular characterization based on the regular bright-field images. This technology combines image analysis and machine learning, which enables detection, classification and quantitation of different cell types within a cell population (Chang et al., 2019) through the collaboration with Dr. Yokota's group in RIKEN Wako and Dr. Tsai's group in Chung Yuan University in Taiwan. We have been analyzing dynamics of cellular characteristic changes during formation process of iPS cells from human cord blood cells as well as three germ layer formation from human iPS on micropattern culture system. Simultaneously, we have performed single cell expression profiling of each cell developing in these experimental system and succeeded to identify multiple clusters of cells. By integrating these two kinds of datasets, i.e. imaging-derived and gene-derived, we are aiming to ultimately establish technologies to infer cell differentiation status solely from morphological information.

These techniques should represent basic methodologies for unbiased and quantitative characterization of cellular differentiation process and for quality control of cellular resources.

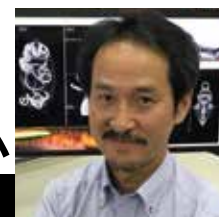
職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
阿部 訓也 Kuniya ABE, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
杉本 道彦 Michihiko SUGIMOTO, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
田郷 祐喜 Yuhki TADA, Ph.D.
- デジタルスタッフ II [Technical Staff II]
古賀 裕美子 Yumiko KOGA 趙 杜善 Dooseon CHO
- アシスタント (無期雇用職員) [Assistant (Indefinite-term Employee)]
草山 美和子 Miwako KUSAYAMA



マウス表現型解析開発チーム



チームリーダー 田村 勝 (理博)
Masaru TAMURA, Ph.D.

ミッションと事業概要

マウス表現型解析開発チームは、ヒト疾患病態理解を目的とし、約700検査項目に及ぶ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、突然変異マウス系統の表現型解析を実施している。この解析によりマウスリソースの付加価値を向上させ、リソース整備および知的基盤整備に寄与する。さらに国際マウス表現型解析コンソーシアム (IMPC: International Mouse Phenotyping Consortium) に参画して、マウス表現型解析整備事業に関して国際貢献している。

We have constructed a systematic and comprehensive phenotypic platform, including about 700 items based on an understanding of human disease, and have performed various phenotypic analyses about the mouse resources deposited mainly at RIKEN BioResource Research Center. New phenotypes that can be used as models to evaluate human disease are expected to be found among these mouse lines. We are cooperating with the international large-scale projects to analyze mouse phenotypes including Asian mouse phenotype facilities, and have joined the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) for the international contribution to the improvement of mouse phenotypic analyses. Finally, 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.

2021年度の成果

Research & Development in 2021-2022

(1) マウスクリニックシステムの運用

表現型解析依頼者からの申請受付、検査マウス系統の導入、検査個体生産、表現型検査、さらにデータ解析と外部へのデータ開示までの一連の体制を運用している。

①検査動物導入体制

ヒト疾患モデル開発研究棟はSPF (Specific Pathogen Free) での運用である。外部機関からのマウス導入においては、検査用マウスの微生物的・遺伝学的統御を厳重にするため体外受精・受精卵移植法による微生物クリーニングを実施する。また遺伝子改変の確認と同時にゲノムスキャンニングによる系統の遺伝的背景の確認を実施している。

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) と行動検査パイプライン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令和2年3月までに258系統のマウス導入を行い、うち229系統についてマウスクリニック検査を終了している。

(1) Management of a system for the Japan Mouse Clinic system

We are managing a system for the Japan Mouse clinic based on a sequential process: receipt of an examination request, introduction and production of mouse resources, comprehensive phenotyping, phenotypic data analyses, and publication of the data on our website.

① Systematic introduction and production of mice for the Japan Mouse Clinic

We are conducting 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 required for a comprehensive phenotyping.

② Construction of a pipeline for 'Fundamental screening' 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 behavioral characterization.

③ Results of the Japan Mouse Clinic

A total of 239 lines had been introduced to the Japan Mouse Clinic as of March 2020. A total of 219 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

マウスクリニックにおける表現型解析結果閲覧アプリケーション Pheno-pub (<http://phenopub.brc.riken.jp/>) を開発し、利用者の利便性を高めている。

(2) Development of a database providing phenotypic information from the Japan Mouse Clinic

	No. of test	Screens	Methods	Age(weeks)																					
				7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26		
Fundamental screen	P1-01	Behavior	Open-field test																						
	P1-02	Morphology/ Behavioral/ Sensory	Modified-SHRPA																						
	P1-03		Hematological test																						
	P1-04	Hematology/ Clinical Chemistry	Urinalysis																						
	P1-05		Clinical biochemical test																						
	P1-06	Pathology	Autopsy, Histology																						
In depth screen	P1-07	Sensory	ABR (Auditory brainstem response)																						
	P1-08	Metabolism	IPGTT (Intra-peritoneal glucose tolerance test)																						
	P1-09		Adipocytokine and clinical biochemical test																						
	P1-10		Funduscopy																						
	P1-11	Sensory	ERG (Electroretinography)																						
	P1-12	Cardiovascular	Blood pressure																						
	P1-13	Metabolism	Body fat percentage and Bone Mineral Density (DEXA)																						
	P1-14	Cardiovascular	ECG (Electrocardiography)																						

Fig.1 The workflow of pipeline 1 in Japan Mouse Clinic -Fundamental screen-

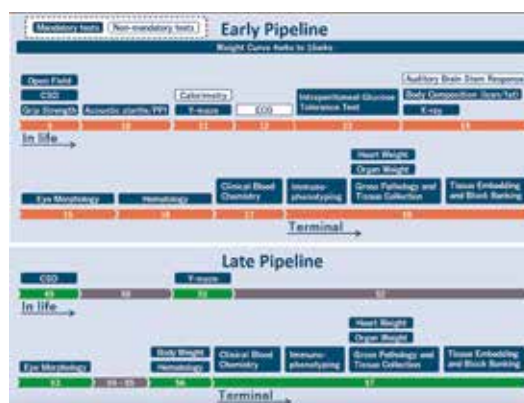


Fig. 2 IMPC Mouse Phenotyping Pipeline

We have developed an application called “Pheno-Pub”, which shows the phenotypic information of various mouse resources screened at the Japan Mouse Clinic (<http://phenopub.brc.riken.jp/>).

(3) 国際貢献

国際マウス表現型解析コンソーシアム (IMPC) に参加し、マウスゲノム上の全遺伝子に対する遺伝子欠損マウスの表現型解析を世界標準手法により実施している。(Fig. 2)

(3) International Contribution

We have participated the International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC), which have aimed to identify the function of every protein-coding gene in the mouse genome. In this project, we systematically analyzed new knockout mice using the standardized phenotyping protocols. (Fig. 2)

(4) 解析研究開発

機械学習や深層学習といった人工知能を用いた新規行動イメージング解析法の開発を行っている。機械学習は、RFIDタグによる個体識別と社会行動のアノテーションを組み合わせることにより、複数のマウスが自由に行動する中で社会行動の解析を定量的、かつ詳細に行うことを可能にする。また深層学習は、動画中のマウスの体の部位を自動で認識することにより、運動機能やマウスの動きを実験者による観察によるものと近い精度で自動解析すること可能である。

(4) Research & Development

We are developing novel imaging methods for behavioral analysis using the artificial intelligence (AI) including machine learning and deep learning. A combination of automatic annotations of social behaviors with the machine learning and individual identification with RFID-chip implements the deep and quantitative analysis of social behaviors of free moving multiple mice.

職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
田村 勝 Masaru TAMURA, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
古瀬 民生 Tamio FURUSE, Ph.D.
- 開発技師 [Technical Scientist]
三浦 郁生 Ikuko MIURA, Ph.D. 山田 郁子 Ikuko YAMADA, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
澁谷 仁寿 Hirotohi SHIBUYA, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
串田 知子 Tomoko KUSHIDA 池田 恭子 Kyoko IKEDA
尾崎 藍 Ai OZAKI 篠木 晶子 Akiko SHINOBU
小澤 恵代 Yasuyo KOZAWA 尾崎 真央 Mao OZAKI
金 順丹 ShunDan JIN
- 研究嘱託 [Research Consultant]
木南 凌 Ryo KOMINAMI, M.D., Ph.D.
- 客員研究員 [Visiting Researcher]
野村 慎太郎 Shintaro NOMURA
- 研究生 [Research Fellow]
田邊 瑠里子 Ruriko TANABE
- アシスタント [Assistant]
佐谷 昌子 Masako SAYA 無期雇用職員 [Indefinite-term Employee]
神谷 直美 Naomi KAMIYA
- 派遣職員 [Agency Staff]
大塚 智恵子 Chieko OTSUKA 柳沢 僚子 Ryoko YANAGISAWA
永瀬 茜 Akane NAGASE 新保 和也 Kazuya SHINBO
及川 智菜 Tomona OIKAWA 佐川 亜美 Ami SAGAWA
佐藤 敏樹 Toshiki SATO 入沢 幸代 Yukiyo IRISAWA
- パートタイマー [Part-Timer]
西村 静佳 Shizuka NISHIMURA





iPS創薬基盤開発チーム

iPSC-based Drug Discovery and Development Team



チームリーダー 井上 治久 (医博)
Haruhisa INOUE, M.D., Ph.D.

ミッションと事業概要

理研BRCでは、様々な疾患の患者さんから樹立された疾患特異的iPS細胞をバイオリソースとして提供している。疾患特異的iPS細胞を活用することで、培養皿で疾患病態を再現し、疾患メカニズム解明・創薬開発を加速すると期待されている。当チームでは、理研BRCの世界最大規模の疾患特異的iPS細胞バンクの疾患特異的iPS細胞から、様々な疾患細胞を作製し、解析する方法を確立して来た。疾患細胞の遺伝子発現、タンパク質レベル、細胞機能などを解析し、病態解明・創薬開発のための基盤技術を開発している。

At RIKEN BRC, disease-specific iPS cells established from patients with various diseases are provided as bioresources. By utilizing disease-specific iPS cells, the reproduction of disease pathology in a culture dish, accelerated exploration of disease mechanisms, and development of drug discoveries are expected. Our team works to establish methods to prepare and analyze various cells from disease-specific iPS cells of RIKEN BRC's largest disease-specific iPS cell bank. By analyzing gene expression, protein levels, and cell function, etc., of disease-target cells, this team develops fundamental technologies for the elucidation of disease pathomechanisms, drug discovery and development.

2021年度の成果

Research & Development in 2021-2022

(1) バイオリソースセンターのiPS細胞を用いた創薬・病態研究の基盤技術の開発

理研BRCでは、有効な治療法が確立されていない約300種類の疾患のiPS細胞を保有している。国が難病に指定している疾患の5割以上をカバーしている。本チームでは、これらの疾患特異的iPS細胞から、疾患に罹患する細胞を作製し、創薬・病態研究の基盤技術の開発を行なうために、iPS細胞培養技術、分化誘導技術、病態解析・アッセイ技術、薬効・スクリーニング技術の開発を行っている。

本年度は、京都大学iPS細胞研究所から、iPS細胞から病態解析・化合物スクリーニングのための脳オルガノイドへの分化誘導方法について技術移転を受けた。

(1) Using iPS cells of RIKEN BRC to develop infrastructure technology for drug discovery and development

At RIKEN BRC, iPS cells of approximately 300 kinds of diseases for which an effective treatment method has not been established are being stored. This covers more than 50% of the diseases the country has designated as intractable diseases. Our team develops basic technologies for iPS cell culture technology, differentiation technology, pathomechanism analysis, and screening methods by preparing disease-target cells from these disease-specific iPS cells.

This year, our team received a technology transfer from the center

for iPS cell research and application (CiRA), Kyoto University, regarding the method of generating brain organoids from iPS cells for pathomechanism analysis and compound screening.

(2) 実用化・一般化を目指した創薬技術研究を先導

疾患特異的iPS細胞から、疾患に罹患する細胞を作製し、創薬・病態研究の基盤技術の開発を行なう過程は以下である。

- iPS細胞の維持・拡大培養、疾患に罹患する細胞を作製する分化誘導する。
- 分化誘導した細胞を健常・疾患間で比較し、その差異となる細胞の表現型の同定とその背景の病因を解明する。
- その表現型を指標にして、その指標を改善する物質を同定する。

本チームでは、上記の過程での、培養液や分化誘導のための使用する試薬の検討など幹細胞培養系の改善、各々のステップでかかる時間を短縮するための分化誘導方法の改良、アッセイ簡便化や培養機器などの利用によるエフォートの軽減を目指した研究を先導して行く。

本年度は、感覚器の疾患特異的iPS細胞を用いた新たな疾患解析研究を行った。

(2) Bridging disease-specific iPS cells and academia / industry in the field of translational research

Our team is working on the study aimed at improvement of the stem cell culture system, differentiation method, and application of effort for practical and general uses.

In 2021, our team conducted a novel research sensory organ disease-specific iPS cells.

(3) アカデミア・企業とiPS細胞の橋渡し

創薬・病態研究の基盤技術の開発を行うために、アカデミア・製薬企業などとの共同研究を進める。実用化・一般化を目指した創薬技術の開発のために、機器製造企業などとの共同研究を進める。同時に、創薬・病態研究の基盤技術の開発・実用化・一般化を目指した創薬技術の開発の結果について、シーズを導出、技術指導・移転を行うことによって、研究の成果を速やかに社会に還元することを目指す。

本年度は、製薬企業、ベンチャー企業と共同研究を継続実施した。

(3) Bridging disease-specific iPS cells and academia / industry in the field of translational research

To develop basic technologies for drug discovery and pathological research, bridging academia and industry with iPSCs, we promote joint research with academia, pharmaceutical companies, etc.

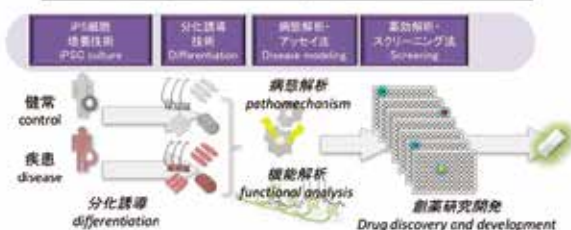
To develop drug discovery technologies for practical application and spread, we promote joint research with device manufacturing companies, etc.

We aim to promptly return to society the results of our research.

In 2021, we conducted joint research with pharmaceutical and venture companies.

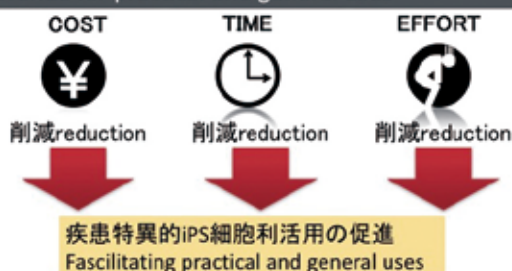
疾患特異的iPS細胞を活用したiPS創薬基盤開発 iPSC-based drug discovery and development

1. 創薬・病態研究の基盤技術の開発 Using iPS cells of RIKEN BRC to develop infrastructure technology for drug discovery and development



疾患特異的iPS細胞を活用したiPS創薬基盤開発 iPSC-based drug discovery and development

2. 実用化・一般化を目指した創薬技術研究を先導 Innovating the technology that will open an avenue for practical and general uses



疾患特異的iPS細胞を活用したiPS創薬基盤開発 iPSC-based drug discovery and development

3. アカデミア・企業とiPS細胞の橋渡し Bridging disease-specific iPS cells and academia / industry in the field of translational research



職員とメンバー構成

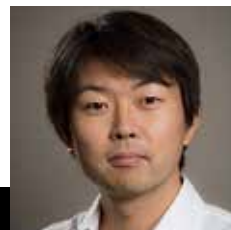
Members

- チームリーダー [Team Leader]
井上 治久 Haruhisa INOUE, M.D., Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
菅 三佳 Mika SUGA, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
矢田 祐一郎 Yuichiro YADA, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
澁川 蘭 Ran SHIBUKAWA 佐柄 友佳子 Yukako SAGARA
- アシスタント [Assistant]
安居 麻貴子 Makiko YASUI
- 客員研究員 [Visiting Scientist]
今村 恵子 Keiko IMAMURA, M.D., Ph.D. 近藤 孝之 Takayuki KONDO, M.D., Ph.D.
宮本 恵優 Norimasa MIYAMOTO, Ph.D. 北尻 真一郎 Shin-ichiro KITAJIRI, M.D., Ph.D.
吉田 善紀 Yoshinori YOHIDA, M.D., Ph.D. 鈴木 郁郎 Ikuo SUZUKI, Ph.D.
江川 斉宏 Naohiro EGAWA, M.D., Ph.D. 小林 千浩 Kazuhiro KOBAYASHI, Ph.D.
中垣 岳大 Takehiro NAKAGAKI, M.D., Ph.D. 金子 美穂 Miho KANEKO, Ph.D.
加藤 友久 Tomohisa KATO, Ph.D.
- 客員技師 [Visiting Scientist]
月田 香代子 Kayoko TSUKITA 西 洋平 Yohei NISHI
- 研修生 [Student Trainee]
大塚 悠生 Yuki OTSUKA, M.D. 野中 俊章 Toshiaki NONAKA, M.D.
鈴木 英文 Hidefumi SUZUKI, M.D.
- 派遣職員 [Agency Staff]
岡田 龍 Ryu OKADA, Ph.D. 竹綱 椰々 Yaya Taketsuna
- パートタイマー [Part-Timer]
ダン スン Suong DANG, Ph.D. レ ミン Le MINH, Ph.D.
- 嘱託職員 [Temporary Staff]
飯島 実木江 Mikie IJIMA



iPS細胞高次特性解析開発チーム

iPS Cell Advanced Characterization and Development Team



チームリーダー 林 洋平 (学術博)
Yohei HAYASHI, Ph.D.

ミッションと事業概要

当チームでは、疾患特異的iPS細胞株に対して、分化能解析（疾患原因細胞や関与細胞への分化能の評価）、疾患原因遺伝子の解析、全ゲノム解析等の特性解析を実施する。また、ゲノム編集技術等を利用して、(1)疾患特異的iPS細胞における疾患原因遺伝子を正常遺伝子に置換した細胞(isogenic control cell)、(2)正常遺伝子を疾患原因遺伝子に置換した細胞株(人工作製疾患特異的iPS細胞株)、(3)組織特異的及び／又は分化段階特異的にマーカー（蛍光マーカー等）を発現する加工iPS細胞株を作製する。

The mission of our team is to characterize disease-specific induced pluripotent stem cell (iPSC) lines, which were deposited in RIKEN cell bank, for their differentiation potency (esp. targeted cell types in each disease) and genomic sequence (esp. responsible genes in each disease). Also, we aim to generate genetically modified iPSC lines including mutation-introduced iPSC lines from healthy-donor iPSC lines, mutation-corrected iPSC lines from disease-specific iPSC lines, and reporter-introduced iPSC lines. Through these research and development, we will provide the information accompanying to each iPSC line and the cell lines that we will develop through RIKEN cell bank.

2021年度の成果

Research & Development of in 2021-2022

(1) iPS細胞株の特性解析

理研BRC細胞材料開発室が細胞バンク事業として提供しているiPS細胞株について、以下の特性解析を実施している。

- 自己複製能解析：iPS細胞の自己複製能を調べるため、増殖能と未分化マーカーの陽性率を解析する。
 - 多分化能解析：iPS細胞の多分化能を調べるために、テマトーマ形成実験及び胚様体形成実験を行う。また、疾患標的細胞（原因細胞、関与細胞等）が判明している疾患であり、該当細胞の分化誘導法が確立されている場合には、その分化誘導法を用いて特定の細胞系列、種への分化能を解析する。
 - 遺伝子・ゲノム解析：それぞれのiPS細胞株の染色体構成が維持されているかを核型解析により検討する。さらに、原因遺伝子が特定されている疾患に関して、理研細胞バンクが保有する疾患特異的iPS細胞を用いて、当該の原因遺伝子の配列を解析し、発表されている原因遺伝子と同様の配列であることを確認する。原因遺伝子が特定されていない場合には、全ゲノム解析などの網羅的遺伝子配列解析を実施し、原因遺伝子を探索するとともに下記の加工iPS細胞作製に用いるゲノム編集技術に必要な配列情報を得る。
- 今年度は、副腎白質ジストロフィー患者由来iPS細胞の特性解析結果について、公表した(Kuramochi et al., Stem Cell Research, 2021)。

(1) Characterization of iPSC lines

We examine iPSC lines deposited in and provided by RIKEN cell bank for their characteristics described below.

- Self-renewal: We analyze proliferation rate and self-renewal marker expression in these iPSC lines.
- Pluripotency: We analyze their pluripotency with embryoid and teratoma formation. Furthermore, if the targeted cell types in each

disease are identified and can be obtained by established induction protocol, we analyze the differentiation potency into these cell lineages.

- Genes and genome: We analyze genomic integrity by karyotyping methods. If the responsible mutations are identified in each disease type, we analyze targeted sequences in each iPSC lines. If the responsible mutations are unknown, we perform whole genome sequencing or other genomic analyzing methods to gain insight of the genetic cause of the disease and to use the sequence information for genome editing to generate modified iPSC lines.

In this fiscal year, we reported the characterization data of iPSC lines from Adrenoleukodystrophy patients (Kuramochi et al., Stem Cell Research, 2021).

(2) 加工iPS細胞株の作製

理研BRC細胞材料開発室が細胞バンク事業として提供しているiPS細胞株について、その利活用を促進すべく、加工iPS細胞を作製し、理研BRC細胞材料開発室から提供している。作製方法と種類は以下の通りである。

- 原因遺伝子が特定されている疾患のiPS細胞に関して、ゲノム編集技術等を用いて原因遺伝子を正常遺伝子に置換し、比較対照細胞(isogenic control cells)を作製している。
 - 原因遺伝子が特定されている疾患であり、寄託細胞数（由来患者数）が少ない疾患に関して、ゲノム編集技術を用いて正常遺伝子を病因遺伝子に置換し、疾患特異的iPS細胞を人工的に作製している。元となる健常者由来iPS細胞としては、理研細胞バンクが提供している日本人健常者由来iPS細胞を用いている。
 - 分化をより簡便に検出できるよう、組織特異的及び／又は分化段階特異的プロモーターによってマーカー（蛍光タンパク質等）を発現する加工iPS細胞を作製する。疾患特異的iPS細胞のみならず、比較対照となる健常者由来iPS細胞に関しても作製する。
- 今年度は、運動神経（前駆）細胞などのマーカーであるISL1の蛍光レポーターiPS細胞の作製について、公表した(Tsukamoto et al., Stem Cell Research, 2021)。さらに、アラジール症候群の原因遺伝子であるJAG1を両アリルで欠失させたiPS細胞株をゲノム

編集技術で作製した (Song et al., Stem Cell Research, 2021)。

(2) Generation of modified iPSC lines

We modify iPSC lines deposited in and provided by RIKEN cell bank in order to enhance their usefulness. The type and methods of the modification are as follows:

- We make isogenic control cells by correcting specific mutations responsible for a disease using genome editing technology.
 - We make mutation-introduced iPSC lines if the responsible genes are identified, but the number of disease-specific iPSC lines is not enough to be examined. We will use Japanese healthy-donor iPSC lines provided by the RIKEN cell bank as the original iPSC lines for this purpose.
 - We generate reporter-introduced iPSC lines from disease-specific or healthy-donor iPSC lined with in order to monitor the differentiation status visually by using transgenic or knock-in to tissue or cell type specific promoters with fluorescent proteins.
- In this fiscal year, we reported the generation of iPSC lines carrying the fluorescent reporter of a motor neuron marker, ISL1 (Tsukamoto et al., Stem Cell Research, 2021) and the generation of iPSC lines carrying homozygous deletion of JAG1, a responsible gene of Alagille syndrome (Song et al., Stem Cell Research, 2021)

(3) 疾患特異的iPS細胞を用いた難病・創薬研究

理研BRC細胞材料開発室が細胞バンク事業として提供している疾患特異的iPS細胞を用いて、以下の難病・創薬研究を推進している。

- 疾患標的細胞の分化誘導法の開発を実施している。
 - 培養条件下において疾患を再現可能な細胞レベルでの異常表現型を同定する。この同定は、iPS細胞からの分化細胞種において、疾患特異的iPS細胞と健康人由来iPS細胞(あるいはisogenic control cells)の結果と比較することで見出している。
 - 上記の比較解析系を確立したのちには、疾患特異的iPS細胞での異常表現型をもたらす原因遺伝子の解析、および異常表現型を修復させる化合物探索を実施している。
- これまでに銅代謝異常であるウィルソン病(指定難病171)に関して、疾患特異的iPS細胞から肝細胞を分化誘導し、患者の肝臓で見られる異常表現型を再現できることを見出している。さらに、共同研究者とともに、健康人iPS細胞に変異を導入したもの、患者iPS細胞から変異を修復したもの、それぞれゲノム編集株を作製した (Song et al., Human Molecular Genetics, in press)。

(3) Basic medical research and drug development using disease-specific iPSC lines

We perform research projects on basic medicine and drug development using disease-specific iPSC lines provided by RIKEN cell bank.

- We develop the differentiation-induction system toward specific disease-targeted cell types.
 - We identify the abnormal cellular phenotypes recapitulating the disease using the differentiated cells from iPSCs *in vitro*, by comparing the results between disease-specific iPSCs and healthy-donor iPSCs (or isogenic control iPSCs).
 - After we establish the assay system described above, we perform the experiments to search for the responsible genes and screening drug candidates.
- So far, we have focused on Wilson's disease, which is suffered from abnormal copper metabolism, and recapitulated these patients' phenotypes using hepatocytes derived from patient-specific iPSCs. We have also generated gene-edited iPSC lines, in which mutations were corrected in patient-derived iPSCs or were introduced in healthy-donor iPSCs (Song et al., Human Molecular Genetics, in press).

(4) iPS細胞の培養・観察・操作に関する技術開発

iPS細胞研究を推進する上で、急速に進歩するAI(人工知能)技術、光学技術、材料化学技術などを取り入れ、技術開発を実施していくことが欠かせない。基礎研究のみならず再生医療や創薬におけるiPS細胞関連技術への応用を図っている。

- iPS細胞の樹立に必須のリプログラミング因子であるKLF4について、より高効率、かつ均一にiPS細胞の作製が行える改変体を見出した (Borisova et al., iScience 2022)。
- 共同研究において、非標識の細胞形態情報をAIで高速に判別し、目的細胞を分取する技術を開発した (Ugawa et al., eLife, 2021)。

(4) Technological development on human iPSC culture, observation, and handling

It is essential to develop related technologies in order to enhance iPSC research. Incorporating emerging technologies of AI (artificial intelligence), photonics, materials, and so on, we develop applications of iPSCs for regenerative medicine and/or drug development as well as basic studies.

- We have identified a KLF4 variant as a reprogramming factor, which can generate iPSCs more efficiently and homogeneously (Borisova et al., iScience 2022).
- In a collaborative research, we have developed an "in silico-labeling" method, where a machine learning approach was used to identify unique optical features that matched cellular phenotypes (Ugawa et al., eLife, 2021).

職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
林 洋平 Yohei HAYASHI, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
高崎 真美 Mami TAKASAKI, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
伊藤 秀矩 Hidenori ITO, Ph.D.
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]
若林 玲実 Tamami WAKABAYASHI, Ph.D. 辺見 康子 Yasuko HEMMI
佐藤 伊織 Iori SATO
- 大学院生リサーチアソシエイト [Junior Research Associate]
荒井 優 Yutaka ARAI 渡邊 峻 Shun WATANABE, M.D.
- 研修生 [Student Trainee]
下田 柚須乃 Yuzuno SHIMODA
- 研究支援パートタイマー [Research Support Part Timer]
天野 晋作 Shinsaku AMANO 清水 智哉 Tomoya SHIMIZU
- 事務パートタイマー [Administrative Pat-Timer]
大森 久美子 Kumiko OMORI



次世代ヒト疾患モデル研究開発チーム

Next Generation Human Disease Model Team



チームリーダー 天野 孝紀 (生命科学博)
Takanori AMANO, Ph.D.

ミッションと事業概要

本チームでは、厚生労働省の指定難病ならびに加齢性疾患や生活習慣病等の患者・家族および社会的負担がきわめて大きい疾患を対象として、疾患モデルマウスの開発と病態の評価を行う。患者の病態を再現するモデルマウスを開発するために、ゲノム編集技術を用いて、患者のゲノム情報・バリエーション情報に基づいたマウスを作製する。モデルマウスの表現型解析に際しては、BRCの国際標準解析プラットフォームを利用するとともに、理研外部の臨床研究者と連携して、より詳細な病態評価や治療候補物質の薬効薬理評価を行い、診断・治療・創薬の基盤となる前臨床研究の推進に貢献する。

The mission of our team is to develop and evaluate mouse models of human diseases. We focus on intractable diseases designated by Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare, aging-associated diseases and life-style diseases that impose the huge burden on patients, their families and society. In order to generate better mouse models for precision medicine research, patient-specific variants are introduced into mice via the genome editing technique. The humanized mouse models are analyzed through the standard phenotyping platforms built by the International Mouse Phenotyping Consortium. In addition, we evaluate the disease-specific phenotype of the mouse models and conduct compound screening by collaborating with clinical experts to promote preclinical studies as a basis for diagnosis, therapy and drug discovery.

2021年度の成果

Research & Development in 2021-2022

(1) ヒト疾患バリエーションのノックインマウスの作製

モデルマウス作製に有用なゲノム編集技術の基盤整備として、ゲノム編集酵素の受精卵エレクトロポレーション並びにマウス卵管に直接エレクトロポレーションを行うi-GONAD法の効率化を行い、Cas9に加えてCpf1タンパク質を用いてゲノム改変マウスを開発した。本年度は、国内の臨床専門家との共同研究を進め、神経変性症・腎疾患・骨形成異常に関連する4系統のヒト疾患変異の導入マウスを樹立した。さらに、PhiC31 インテグラーゼを用いたヒト遺伝子のノックインシステムを利用するため、*Ace2*と*Tmprss2*のCovid-19関連遺伝子座ならびにアルツハイマー病関連遺伝子座にattP挿入認識配列を有するマウス系統を作製した。また、前年度に作製していた*Rosa26*と*Hipp11*座位にattPを有するマウスならびに培養細胞を利用して蛍光遺伝子のノックインを行い、導入されたレポーター遺伝子の機能性発現を確認した。

(1) Generation of knock-in mouse models with patient-specific variants

We optimized our genome editing technology of the zygote electroporation and i-GONAD methods through use of the Cas9 and Cpf1 genome editing enzymes. In 2021, we collaborate with experts who conduct clinical genetic testing, and generated four genetically modified mouse strains containing human pathogenic variants associated with neurodegenerative diseases, renal diseases and osteodystrophy.

Furthermore, we improved the PhiC31 integrase-mediated knock-in system for evaluating the genetic function of human genes and generated mouse strains harboring the PhiC31-recognition attP site at the Covid-19 associated loci including *Ace2* and *Tmprss2*, and an Alzheimer's disease associated locus. By using PhiC31-mediated recombination, the fluorescent reporter was knocked into the mice and cultured cells harboring the attP site at *Rosa26* and *Hipp11* loci. A single copy of the reporter gene was integrated into the loci and the fluorescent expression was confirmed.

(2) 疾患に関連するノンコーディングバリエーションの機能評価

疾患に関連するリスクバリエーションの多くは、ノンコーディング領域に存在することがわかっている。ゲノムのノンコーディング領域がどのように疾患発症に影響するのかを明らかにする目的で、ゲノム編集によるノンコーディングバリエーションの機能評価を行った。難聴・腎尿路奇形を主徴とする鰓弓耳腎症候群を対象とした解析では、疾患候補遺伝子のシス制御因子2ヶ所を欠失させることで、内耳の機能以上に起因すると思われる異常行動の表現型を確認した。ヒルシュスプルング病のモデルマウスであるJF1マウスは、*Ednrb*遺伝子のイントロンにトランスポゾンの挿入変異を有する。JF1マウスへのゲノム編集によるこの変異の修復によって、白斑症状と腸管の異常の改善が認められた。ヒルシュスプルング病モデルとして発現遺伝子群を評価するため、転写産物上のバリエーションを区別してマウス亜種特異的な遺伝子発現を検出する発現評価系を開発した。JF1とB6マウスの正逆交配F1雑種を作製し、各系統のアレル毎の比較遺伝子発

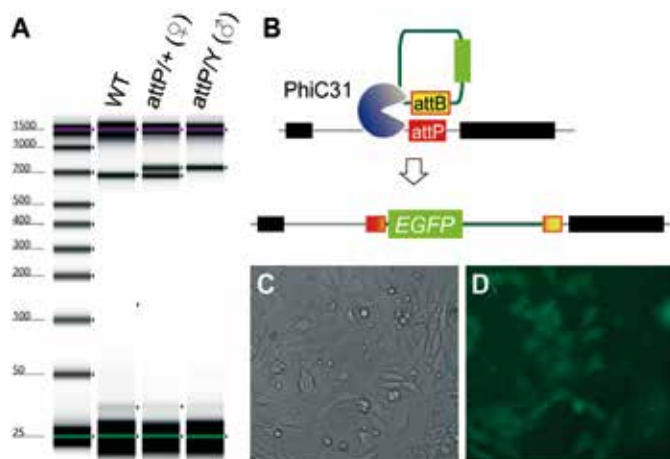


図1 (A) *Ace2*遺伝子座へattPをノックインしたマウス系統のジェノタイプング結果。

(B) PhiC31組換え酵素によるattPサイトへの蛍光遺伝子のノックイン。PhiC31組換え系を用いたマウス培養細胞の*Rosa26*座位への蛍光遺伝子ノックイン (C, 明視野像; D, 蛍光像)。

Fig.1 (A) genotyping results of attP knock-in mice at the *Ace2* locus.

(B) A diagram of PhiC31-mediated integration of an *EGFP* plasmid at the attP site. By using the PhiC31 integration system, *EGFP* was knocked into the *Rosa26* locus of cultured mouse cells (C, bright field image; D, fluorescence image).

現解析を行った。これにより、JF1とB6で発現レベルに影響のあるシス多型を有する遺伝子座を複数見いだすことができた。

(2) Functional evaluation of non-coding risk variants

Disease-associated variants discovered by whole genome sequencing (WGS) are mostly located in non-coding regions of genome. To clarify the impact of non-coding variants on disease onset, we started the functional analysis of *cis*-regulatory variants *in vivo*. Branchiootorenal (BOR) syndrome is characterized by anomalies of kidney and urinary tract and hearing impairment. We generated a mouse strain in which two *cis*-regulatory elements was deleted at a BOR syndrome-linked gene locus, and observed abnormal behavior probably caused by impairment of the inner ear. JF1, which is a model mouse of Hirschsprung's disease (HSCR), has an insertion of transposon in the first intron of *Ednrb*. Removal of the transposon by CRISPR/Cas9 relieved the piebald coat color and intestinal defects. We developed a high-throughput method to detect allele-specific expression in mouse subspecies and analyzed on the transcriptome of JF1 and B6 for evaluating as HSCR model. Allele specific expression in the F1 hybrid mice revealed *cis*-acting polymorphisms that possibly affect gene expression in the mouse subspecies.

(3) 遺伝的背景の異なるマウスを用いたモデルマウスの開発

複数のリスク因子を有する多因子疾患は、発症メカニズムの解明が非常に困難である。ヒト集団のゲノム多様性と疾患表現型の多様性をマウスモデルに反映するために、基準系統のC57BL/6に加えて *Mus musculus molossinus* 亜種のJF1マウスを用いたゲノム編集系を確立した。Cas9もしくはCpf1ゲノム編集酵素を用いたエレクトロポレーション法を行い、JF1系統のメラニン色素生成の主要酵素をコードする *Tyr* 遺伝子に変異を導入して、白化個体を得ることに成功した。



図2 エレクトロポレーションを用いたゲノム編集による *Tyr* 遺伝子への変異導入。JF1マウス系統において毛色の白化が確認された。

Fig.2 Targeted disruption of *Tyr* gene using the CRISPR/Cas9 genome editing by electroporation. White coat color was observed in the founder generation of JF1 mice.

(3) Development of mouse models that have different genetic background

Multiple risk factors make it difficult to elucidate the etiology and mechanism of the common diseases. To reflect genetic and phenotypic diversity in human population into mouse models, we use mouse subspecies archived as resources at RIKEN BRC. In addition to C57BL/6 (*Mus musculus domesticus*), JF1 (*Mus musculus molossinus*) was adopted for the electroporation method of Cas9 and Cpf1-mediated genome editing. We introduced mutations in the *Tyr* gene and confirmed an albino phenotype in the JF1 mouse.

職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
天野 孝紀 Takanori AMANO, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
吉田 圭介 Keisuke YOSHIDA
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
Tra Thi Huong Dinh, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
井村 智草 Chigusa IMURA
塩川 真悠 Mayu SHIOKAWA
- アシスタント [Assistant]
星山 恵美子 Emiko HOSHIYAMA



植物-微生物共生研究開発チーム

Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team



チームリーダー 市橋 泰範 (理博)
Yasunori ICHIHASHI, Ph.D.

ミッションと事業概要

植物が生育する土壌は、地球上で最も微生物が豊富な環境であり、菌根菌などの植物と共生する土壌中の微生物が植物の成長を助けている。そのため植物-微生物の共生関係の理解が進めば、地球規模での持続可能な食料供給や環境負荷軽減への貢献が期待できる。本チームでは、植物-微生物共生研究に資する根圏微生物のリソース開発と、これを活用した植物-微生物共生の実験系の確立、更には農業現場への応用に資する情報整備を行う。内外の研究コミュニティとの連携により、共生現象の実態解明と産業利用につながる研究基盤の構築をめざす。

Since most agricultural crops grow in soil, where is one of the richest microbial ecosystems on Earth, plants and microbes are strongly associated with each other, and symbiotic microbes such as mycorrhizal fungi support plant growth. Elucidation of the plant-microbe symbiosis should contribute to building a sustainable solution for world food and environmental problems. Our team plans to construct bioresources and experimental systems of plants and microbes for the symbiosis studies, as well as perform large-scale omics studies on agricultural fields. Through collaborations with research communities, we aim to fully understand regulatory mechanism behind the plant-microbe symbiosis and provide a research platform leading to industrial applications.

2021年度の成果

Research & Development of in 2021-2022

(1) 根圏微生物のバイオリソース開発

地球上にはおよそ1兆種の微生物が存在し、99%以上は難培養性である。特に植物が生育する土壌には多くの微生物が存在しているため、植物-微生物共生分野の理解を進めるためには難培養性微生物の単離培養は必須である。植物-微生物共生で最も一般的な共生微生物の一つであるアーバスキュラー菌根(AM)菌109株の単離培養に成功し、うち19株はin vitro培養に成功した。また植物関連細菌1,920株の単離培養に成功する等、国内の様々な土壌から有用な植物共生微生物の新規リソース開発を進めている。加えて、マイクロドロプレット技術と次世代シーケンサーを活用して、従来技術の1,000倍以上の高効率で、膨大な未知環境微生物から病原菌の拮抗微生物を分離培養し、リソース化する技術基盤の構築を進めている(図1、特許出願中)。これにより、シーケンズ技術・ゲノム編集に次いで、

スクリーニング技術にイノベーションを起こし、微生物によるものづくりに貢献したい。

(1) Construction of bioresources of rhizosphere microbes

Earth has 1 trillion of microorganisms, but more than 99% of them are unculturable. Since soils have maintained various microorganisms, culturing the unculturable microorganisms is necessary for plant-microbe symbiosis studies. We have collected 109 soil culture strains of arbuscular mycorrhizal fungi, of which 19 strains were successfully established as the in vitro monoxenic culture. In addition, we collected 1,920 bacterial isolates from plant root and soils. We are developing a wide range resource of plant symbiotic microbes from various soils in Japan. In addition, we have established the high-throughput screening system to isolate antagonistic microorganisms against plant pathogens,

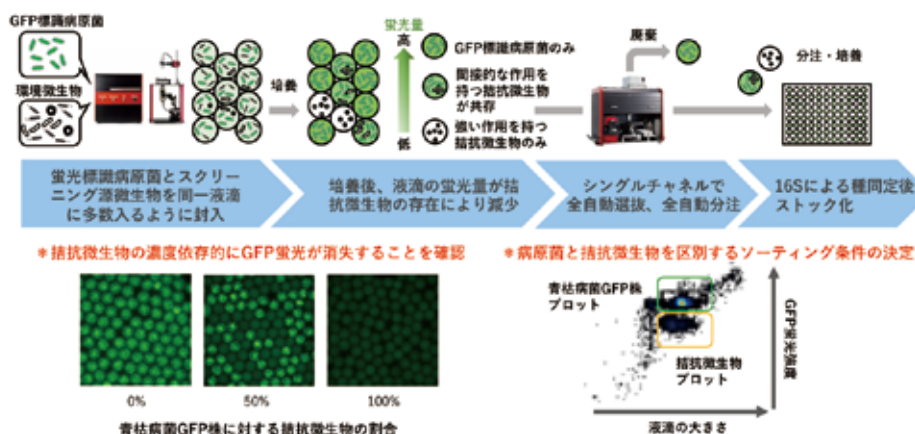


図1 マイクロドロプレット技術を使った病原菌に対する拮抗微生物のスクリーニングプラットフォームの確立

Fig.1 Screening platform to isolate antagonistic microorganisms against plant pathogens utilizing the microdroplet technology

utilizing the microdroplet and next-generation sequencing technologies (Fig. 1, Patent pending). By making innovation in screening technology next to sequencing and genome editing, we would like to contribute to the promotion of bio-production.

(2) 植物-微生物共生の実験系の確立

植物-微生物共生のモデル実験系はマメ科植物や大型穀物に限られており、共生の分子メカニズムの実態解明や農業分野への応用を目指した大規模かつ詳細な実験を進めるにはまだ不十分である。そこで、モデル植物シロイヌナズナと同程度に栽培や分子遺伝学解析が容易で、AM菌との共生が解析可能なミナトカモジグサ (*Brachypodium distachyon*) を新しい共生モデル実験系として確立する。様々な栽培条件におけるミナトカモジグサ-AM菌のトランスクリプトームデータに加えて、今年度では細胞レベルで植物-微生物相互作用を明らかにできる single-nucleus RNA-Seq 解析を進めた。

(2) Establishment of experimental systems for the symbiosis studies

Current symbiosis studies mainly use legumes and cereal plants, but these plants are not enough to perform large-scale and detailed experiments for future symbiosis studies. Since *Brachypodium distachyon* can be infected by AM fungi and has advantages for the cultivation and molecular genetics like a primary model plant, *Arabidopsis thaliana*, we have started established an experimental model system of *B. distachyon* - AM fungi. To dissect the molecular mechanisms in plant-microbe interaction at the cellular level, we have performed the single-nucleus RNA-Seq in this fiscal year, in addition to transcriptome data under various cultivation conditions.

(3) 農業現場における植物-微生物共生の情報整備

人類は緑の革命により人口増加を支える食料供給を実現した一方、農地への過剰な施肥により環境汚染や土壌の劣化を招いた。そのため植物-微生物-土壌の農業環境のバランスを整え、持続的な作物生産を可能とする環境共存型の新しい技術体系が必要である。そこで本チームでは農業現場でのマルチオミクス解析により農業生態系のデジタル化を試みており (Ichihashi et al., 2020)、これらのデジタル化技術を使って、農業生態系をサイバー空間でエンジニアリングする農業デジタルツイン「農業環境エンジニアリングシステム」を開発し、国内外で事業化および産業化するプロジェクトを始動した (図2)。本システムでは、収穫時期までの気象予測とその土地の土壌データを入力して、作物の収量や品質さらに環境負荷を自由に選択でき、その実現に最適な栽培管理法を出力させることで、作付けの意思決定をサポートする。本システムの開発により、それぞれの土地で安定した収量・品質の作物をオーダーメイド生産することを可能とし、高収益化とともに効率的な資源循環を実現したい。また本プロジェクトを進める上でオミクス解析のハイスループット化は不可欠であるため、トランスクリプトーム、マイクロバイオームやメタゲノム解析技術の改良を進めている。

(3) Large-scale omics studies on agricultural fields

20th green revolution including the industrialization of chemical fertilizer has fed the human population, while the excessive use of chemical fertilizer has led to numerous environmental problems. Therefore, engineering the agroecosystem that contains plants, microbes and soils for sustainable agriculture is necessary. We have leveraged a multiomics approach to dissect the complex interactions in the agroecosystem (Ichihashi et al., 2020). Our team starts a national project aimed to develop an “Agroecosystem engineering system” that simulate crop production in cyberspace utilizing

integrated reduction models with large-scale digital data by field multiomics (Fig. 2). The Agroecosystem engineering system integrates weather prediction and soil data to provide the best solution for the farming management practice. The system will allow farmers to produce crops with high yield and high quality without any empirical knowledge and minimize their environmental impacts. In addition, since large-scale omics studies on agricultural fields need high-throughput technology, we have improved our own technologies of high-throughput RNA-seq, DNA-seq and microbiome analysis.



図2 農業デジタルツイン「農業環境エンジニアリングシステム」に向けて
Fig.2 Digital Twins for agriculture "Agroecosystem engineering system"

職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
市橋 泰範 Yasunori ICHIHASHI, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
成川 (奈良) 恵 Megumi NARUKAWA-NARA, Ph.D.
- 特別研究員 [Postdoctoral Researcher]
佐藤 匠 Takumi SATO, Ph.D. 島崎 智久 Tomohisa SHIMASAKI, Ph.D.
- 日本学術振興会特別研究員PD [JSPS Research Fellow]
小泉 敬彦 Takahiko KOIZUMI
- テクニカルスタッフII [Technical Staff II]
熊石 妃恵 Kie KUMAISHI
- 客員研究員 [Visiting Scientist]
伊沢 剛 Tsuyoshi ISAWA, Ph.D.
- 研究嘱託 [Research Consultant]
平山 孝 Takashi HIRAYAMA
- アシスタント [Assistant]
南部 真夕 Mayu NANBU
- パートタイマー [Part-Timer]
鶴田 昭子 Akiko TSURUTA 坂口 恵 Megumi SAKAGUCHI
仲谷 珠緒 Tamao NAKATANI 田伏 美峰 Mine TABUSE
久野 智美 Satomi KUNO 猪瀬 篤子 Atsuko INOSE
能勢 結衣 Yui NOSE



篠崎連携研究グループ (機能開発研究グループ)

Shinozaki Research Collaborative Group



ラボラトリーヘッド 篠崎 一雄 (理博)
Kazuo SHINOZAKI, Ph.D.

ミッションと事業概要

当グループは、モデル植物の変異体や完全長 cDNA などのリソース開発および変異体の形質評価系の開発を通じてバイオリソース研究センターのリソース業務に貢献してきた。また、収集したリソースを活用し、メタボロームやホルモノーム、プロテオーム、あるいはフェノームなどの網羅的解析によって得られた情報と統合することで、ストレス耐性などの植物の生産性に関わる有用因子の探索と機能解明を進めている。さらに、得られた有用因子を作物育種やバイオマス増産に応用することで環境・食料問題に取り組んでいる。また、当グループは、環境資源科学研究センターに所属し、バイオリソース研究センターとの連携推進に貢献している。

This research group contributes to Bio Resource Center (BRC) through collection of full-length cDNAs from various plants and Arabidopsis mutant lines and their phenotype analysis. In combination with transcriptome, hormonome, metabolome, proteome or phenome analyses, we utilize the resources of the BRC to discover Arabidopsis genes of which functions are linked to quantitative improvements in plants and those with new functions for minimizing the effects of the environmental stresses to achieve maximum productivity. We are also trying to apply the stress related genes for molecular breeding of drought tolerant crops and biomass production. This group also contributes to active collaboration between BRC and Center for Sustainable Resource Science (CSRS).

2021年度の成果

Research and Development 2021-2022

(1) 環境ストレス応答に関わる制御因子およびシグナル伝達因子の探索と解析

本研究グループでは、温暖化、乾燥化の進む地球環境での安定した農業生産やバイオマス生産を目指し、環境ストレス応答に関連した遺伝子探索と機能解析を中心に研究を進めており、2021年度は以下の研究成果を得た。

■植物の小胞体ストレス応答を媒介する二つの相同性転写因子、bZIP17とbZIP28を機能欠損させた *bz1728* 変異株は、根の伸長成長阻害を示す。その *bz1728* に更なる突然遺伝変異を誘導し、根の伸長回復を示す一連のサプレッサー変異系統 *nobiro6* を作出した (図1)。その一つである *nobiro6* 変異体の分子遺伝学研究を通して、根の伸長回復に寄与した原因変異が基本転写因子コンプレックスの構成因子である TAF12b の機能欠損であり、その欠損が植物の小胞体ストレスに対する応答性を低下させることで、過剰なストレス応答による根の伸長阻害を和らげていることを明らかにした (Kim et al., PNAS, 2022)。

■乾燥ストレスや浸透圧ストレスに応答した葉の形態変化と植物体の生長を調節する TCP13 転写因子に注目し、その機能欠損植物や過剰発現植物を解析した。その結果、TCP13 はストレス下で ABA と IAA シグナル遺伝子の活性化に関与し、ストレスに応答した形態変化を制御することで、植物にストレス耐性を付与することを明らかにした (Urano et al., Plant

Mol Biol, 2022)。さらに、植物の水分損失に応答する遺伝子に注目し、表層ワックス蓄積を調節する新規 AP2/ERF 転写因子を単離し解析した。この転写因子の量を調節することで、葉の表層ワックス合成が上昇し、乾燥ストレス時の水分損失を防ぐ効果があることを明らかにした (論文準備中)。



図1 根の伸長が抑制された *bz1728* 変異体と伸長が回復した *nobiro6* 株
Fig.1 Short root phenotype of *bz1728* mutant and recovered root elongation of its suppressor *nobiro6* (*taf12b*).

(1) Exploration and analysis of regulatory and signaling factors in environmental stress responses

This research group has been focusing on gene discovery and functional analysis related to environmental stress responses in

order to achieve stable agricultural production and biomass production in a rapidly warming and drying global environment. The following research achievements were obtained in FY2021.

- The plant lacking two redundant transcription factors bZIP17 and bZIP28 that mediate unfolded protein response (*bz1728*) presented the severe reduction of primary root growth. Additional mutagenesis on this *bz1728* mutant generated a series of suppressor mutant lines with recovered root growth, named as *nobiro* (Fig. 1). Studies on one of them *nobiro6* revealed that the malfunction of a component of general transcription factor complex TAF12b alleviated the excessive stress-responsive root growth repression in *bz1728* (Kim et al., PNAS, 2022).
- Plants modulate their shape and growth in response to environmental stress. The CINCINNATA (CIN)-like TEOSINTE BRANCHED1/CYCLOIDEA/PCF (TCP) family of transcription factors (TFs) are key regulators for limiting the growth of leaves through negative effect of auxin response (Urano et al., Plant Mol Biol, 2022). Furthermore, a novel water loss responsive AP2/ERF transcription factor that regulates wax accumulation was isolated and analyzed. We found that regulation of the expression of this transcription factor elevated leaf surface wax synthesis and prevented water loss during drought stress (paper in preparation).

(2) 植物の表現型解析システムの開発および環境と生長に関わるデータ解析

植物の複雑な環境応答機構を理解するためには、土壌・光・湿度・温度などの様々な環境条件を精密に制御し、これらの変化に対する成長の経時的な変化を解析する必要がある。我々は、植物の自動育成解析装置 RIPPS (RIKEN Integrated Plant Phenotyping System) を開発し、精密な育成環境コントロール下での表現型解析プラットフォームの構築を行っている。本年度は、BRCリソースである国産のシロイヌナズナ野生型系統の表現型解析を開始した。さらにダイズやトマトなど、より大きな作物の解析を行うための CRIPPS の開発を進めた(図2)。光要求性の高い植物の育成を可能にするために、太陽光を模した連続波長を有するLEDを用いて、光強度のパターンを制御できるシステムの開発を行った。CRIPPSを用いてダイズの結実までの観察が可能になった。

(2) Development of plant phenotyping system RIPPS for evaluation of plant growth response to environmental conditions

To elucidate plant growth response to various environmental conditions in detail, we constructed an automatic growth and imaging system named RIPPS (Integrated Plant Phenotyping System) that control pot soil moisture precisely. This year, we started phenotypic analysis of domestic Arabidopsis wild-type lines, a BRC resource. We also developed the CRIPPS to analyze larger crops such as soybean and tomato (Fig. 2). To enable the growth of light-demanding plants, we developed a

system that can control the pattern of light intensity using LEDs with continuous wavelengths that mimic sunlight. This made it possible to observe soybean plants up to the time of fruiting.



図2 調光可能な強光LEDを搭載した作物型植物表現型解析システム CRIPPSの開発

Fig.2 Development of CRIPPS, a crop-based plant phenotyping system with dimmable high intensity LEDs

職員とメンバー構成

Members

- ラボラトリーヘッド [Laboratory Head]
篠崎 一雄 Kazuo SHINOZAKI, Ph.D.
- 研究員 [Research Scientist]
藤田 美紀 Miki FUJITA, Ph.D.
浦野 薫 Kaoru URANO, Ph.D.
金 俊植 June-Sik KIM, Ph.D. (バイオ生産情報研究チーム)
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
水門 佐保 Saho MIZUKADO (特任職員)
下田 芙裕子 Fuyuko SHIMODA
- アシスタント [Assistant]
新井 美華 Mika ARAI (環境資源科学研究センター CSRS)
- パートタイマー [Part Timer]
増田 真奈美 Manami MASUDA
野田 美絵子 Miekko NODA



研究発表

Publications

Experimental Animal Division

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Gurumurthy CB, et al. "Response to correspondence on "Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation"" *Genome Biol.* doi: 10.1186/s13059-021-02320-3. (2021)

Mizuno-Iijima S, Ayabe S, Kato K, Matoba S, Ikeda Y, Dinh TTH, Le HT, Suzuki H, Nakashima K, Hasegawa Y, Hamada Y, Tanimoto Y, Daitoku Y, Iki N, Ishida M, Ibrahim EAE, Nakashiba T, Hamada M, Murata K, Miwa Y, Okada-Iwababu M, Iwababu M, Yagami K, Ogura A, Obata Y, Takahashi S, Mizuno S, Yoshiki A, Sugiyama F, "Efficient production of large deletion and gene fragment knock-in mice mediated by genome editing with Cas9-mouse Cdt1 in mouse zygotes" *Methods.* doi: 10.1016/j.jymeth.2020.04.007. (2021)

Birling MC, Yoshiki A, Adams DJ, Ayabe S, Beaudet AL, Bottomley J, Bradley A, Brown SDM, Bürger A, Bushell W, Francesco Chiani F, Chin HJG, Christou S, Codner GF, DeMayo FJ, Dickinson ME, Doe B, Donahue LR, Fray MD, Gambadoro A, Gao X, Gertsenstein M, Gomez-Segura A, Goodwin LO, Heaney JD, Héroult Y, Angelis MH, Jiang ST, Justice MJ, Kasperek P, King RE, Kühn R, Lee H, Lee YJ, Liu Z, Lloyd KCK, Lorenzo I, Mallon AM, Colin McKerlie C, Meehan TF, Fuentes VM, Newman S, Nutter LMJ, Oh GT, Pavlovic G, Ramirez-Solis R, Rosen B, Ryder EJ, Santos LA, Schick J, Seavitt JR, Sedlacek R, Seisenberger C, Seong JK, Skarnes WC, Sorg T, Steel KP, Tamura M, Tocchini-Valentini GP, Wang CKL, Hannah Wardle-Jones H, Wattenhofer-Donzé M, Wells S, Wiles MV, Willis BJ, Wood JA, Wurst W, Xu Y, IMPC, Teboul L, Murray SA, "A resource of targeted mutant mouse lines for 5,061 genes" *Nat Genet.* doi: 10.1038/s41588-021-00825-y. (2021)

Takada T, Fukuta K, Usuda D, Kushida T, Kondo S, Kawamoto S, Yoshiki A, Obata Y, Fujiyama A, Toyoda A, Noguchi H, Shiroishi T, Masuya H, "MoG+: a database of genomic variations across three mouse subspecies for biomedical research" *Mamm Genome.* doi: 10.1007/s00335-021-09933-w. (2021)

Načeradská M, Pekova S, Danesi P, Furlanello T, Calleo R, Martin P, Ike F, Malik R, "A novel *Filobacterium* sp can cause chronic bronchitis in cats" *PLoS One.* doi:

10.1371/journal.pone.0251968. (2021)

Mizuno-Iijima S, Nakashiba T, Ayabe S, Nakata H, Ike F, Hiraiwa N, Mochida K, Ogura A, Masuya H, Kawamoto S, Tamura M, Obata Y, Shiroishi T, Yoshiki A, "Mouse resources at the RIKEN BioResource Research Center and the National BioResource Project core facility in Japan" *Mamm Genome.* doi: 10.1007/s00335-021-09916-x. (2021)

Chin HJ, Dobbie MS, Gao X, Hennessy JE, Nam KH, Seong JK, Shiroishi T, Takeo T, Yoshiki A, Zao J, Wang CL, "Asian Mouse Mutagenesis Resource Association (AMMRA): mouse genetics and laboratory animal resources in the Asia Pacific" *Mamm Genome.* doi: 10.1007/s00335-021-09912-1. (2021)

Kuno A, Ikeda Y, Ayabe S, Kato K, Sakamoto K, Suzuki SR, Morimoto K, Wakimoto A, Mikami N, Ishida M, Iki N, Hamada Y, Takemura M, Daitoku Y, Tanimoto Y, Dinh TTH, Murata K, Hamada M, Muratani M, Yoshiki A, Sugiyama F, Takahashi S, Mizuno S, "DAJIN enables multiplex genotyping to simultaneously validate intended and unintended target genome editing outcomes" *PLoS Biol.* doi: 10.1371/journal.pbio.3001507. (2022)

Vergara P, Ballard G, Besch-Williford C, Hayashimoto N, Pekow C, Perez A, Schmidt K, Shek W, Toft M, Yoshiki A. "ICLAS LAQ Network for the Promotion of Animal Quality in Research" *ILAR J.* doi: 10.1093/ilar/ilac003. (2022)

Sasaguri H, Hashimoto S, Watamura N, Sato K, Takamura R, Nagata K, Tsubuki S, Ohshima T, Yoshiki A, Sato K, Kumita W, Sasaki E, Kitazume S, Nilsson P, Winblad B, Saito T, Iwata N, Saido TC. "Recent Advances in the Modeling of Alzheimer's Disease" *Front Neurosci.* doi: 10.3389/fnins.2022.807473. (2022)

International Conferences (Invited)

Yoshiki A. "Advancing mouse resources for studies of health and disease" Session 5, Animal Research Resources: Forefront and Diversity. ANRRC 2021 hosted by NSTDA online, Thailand. Oct, 2021.

Domestic Conferences (Invited)

久野 朗広, "機械学習を用いたロングリード配列解析による多サンプルでのゲノム編集変異アレル解析" 日本ゲノム編集

学会第6回大会, Online開催, 6月, 2021年

吉木 淳 “NBRPによるマウスリソースの研究基盤の整備”
第127回日本解剖学会総会・全国学術集会・教育講演,
Online開催, 3月, 2022年

Experimental Plant Division

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Isono K, Tsukimoto R, Iuchi S, Shinozawa A, Yotsui I, Sakata Y, Taji T, “An ER-golgi tethering factor SLOH4/MIP3 is involved in long-term heat tolerance of Arabidopsis” *Plant Cell Physiol* 62 272-279 (2021)

Yoshida K, Uefune M, Ozawa R, Abe H, Okemoto Y, Yoneya K, Takabayashi J, “Effects of prohydrojasmon on the number of infesting herbivores and biomass of field-grown Japanese radish plants” *Front Plant Sci* 12:695701 (2021)

Agrahari RK, Enomoto T, Ito H, Nakano Y, Yanase E, Watanabe T, Sadhukhan A, Iuchi S, Kobayashi M, Panda SK, Yamamoto YY, Koyama H, Kobayashi Y, “Expression GWAS of PGIP1 identifies STOP1-dependent and STOP1-independent regulation of PGIP1 in aluminum stress signaling in Arabidopsis” *Front Plant Sci* 12:774687 (2021)

Tsukimoto R, Isono K, Kajino T, Iuchi S, Shinozawa A, Yotsui I, Sakata Y, Taji T “Mitochondrial fission complex is required for long-term heat tolerance of Arabidopsis” *Plant Cell Physiol* 63 296-304 (2022)

Shimizu K, Suzuki H, Uemura T, Nozawa A, Desaki Y, Hoshino R, Yoshida A, Abe H, Nishiyama M, Nishiyama C, Sawasaki T, Arimura GI, “Immune gene activation by NPR and TGA transcriptional regulators in the model monocot *Brachypodium distachyon*” *Plant J* Epub ahead of print (2022)

Reviews

Sadhukhan A, Kobayashi Y, Iuchi S, Koyama H, “Synergistic and antagonistic pleiotropy of STOP1 in stress tolerance” *Trends Plant Sci* 10 1014-1022 (2021)

International Conferences (Invited)

Hiroshi A, “Development of an agricultural pest repellent started from Arabidopsis resources” ANRRC2021 Bangkok Thailand, October 2021

Hiroshi A, “Practical application starting with Arabidopsis research “Development of repellent against agricultural pest” Tsukuba Conference 2021, Tsukuba, September 2021

International Conferences (Participants): 1

Domestic Conferences (Invited)

小林俊弘、第63回日本植物生理学会年会シンポジウム『ゲノムと新技術が磨くバイオリソース』、オンライン開催、2022年3月

Domestic Conferences (Participants): 12

Cell Engineering Division

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Sudo, K., Yamazaki, S., Wilkinson, A.C., Nakauchi, H., and Nakamura, Y. Polyvinyl alcohol hydrolysis rate and molecular weight influence human and murine HSC activity ex vivo. *Stem Cell Res.* 56: 102531. doi: 10.1016/j.scr.2021.102531. PMID: 34509158 (2021)

Ma, Y., Liu, S., Gao, J., Chen, C., Zhang, X., Yuan, H., Chen, Z., Yin, X., Sun, C., Mao, Y., Zhou, F., Shao, Y., Liu, Q., Xu, J., Cheng, L., Yu, D., Li, P., Yi, P., He, J., Geng, G., Guo, Q., Si, Y., Zhao, H., Li, H., Banes, G.L., Liu, H., Nakamura, Y., Kurita, R., Huang, Y., Wang, X., Wang, F., Fang, G., Engel, J.D., Shi, L., Zhang, Y.E., and Yu, J. Genome-wide analysis of pseudogenes reveals HBBP1's human-specific essentiality in erythropoiesis and implication in β -thalassemia. *Dev. Cell* 56: 478-493. e11. doi: 10.1016/j.devcel.2020.12.019. PMID: 33476555 (2021)

Ishii, S., Suzuki, T., Wakahashi, K., Asada, N., Kawano, Y., Kawano, H., Sada, A., Minagawa, K., Nakamura, Y., Mizuno, S., Takahashi, S., Matsui, T., and Katayama, Y. FGF-23 from erythroblasts promotes hematopoietic progenitor mobilization. *Blood* 137: 1457-1467. doi: 10.1182/blood.2020007172. PMID: 33512467 (2021)

Li, X., Chen, M., Liu, B., Lu, P., Lv, X., Zhao, X., Cui, S., Xu, P., Nakamura, Y., Kurita, R., Chen, B., Huang, D.C.S., Liu, D.P., Liu, M., and Zhao, Q. Transcriptional silencing of fetal hemoglobin expression by NonO. *Nucleic Acids Res.* 49: 9711-9723. doi: 10.1093/nar/gkab671. PMID: 34379783 (2021)

Cruz, L.J., van Dijk, T., Vepris, O., Li, T.M.W.Y., Schomann, T., Baldazzi, F., Kurita, R., Nakamura, Y., Grosveld, F., Philipsen, S., and Eich, C. PLGA-Nanoparticles for Intracellular Delivery of the CRISPR-Complex to Elevate Fetal Globin Expression in Erythroid Cells. *Biomaterials* 268: 120580. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120580. PMID: 33321292 (2021)

Mingoia, M., Caria, C.A., Ye, L., Asunis, I., Marongiu, M.F., Manunza, L., Sollaino, M.C., Wang, J., Cabriolu, A., Kurita, R., Nakamura, Y., Cucca, F., Kan, Y.W., Marini, M.G., and Moi, P. Induction of therapeutic levels of HbF in genome-edited primary β 0 39-thalassaemia haematopoietic stem and progenitor cells. *Br. J. Haematol.* 192: 395-404. doi: 10.1111/bjh.17167. PMID: 33216968 (2021)

Fugazza, C., Barbarani, G., Elangovan, S., Marini, M.G., Giolitto, S., Font-Monclus, I., Marongiu, M.F., Manunza, L., Strouboulis, J., Cantù, C., Gasparri, F., Barabino, S.M.L., Nakamura, Y., Ottolenghi, S., Moi, P., and Ronchi, A.E. The Coup-TFII orphan nuclear receptor is an activator of the γ -globin gene. *Haematologica* 106: 474-482. doi: 10.3324/haematol.2019.241224. PMID: 32107331 (2021)

Bagchi, A., Nath, A., Thamodaran, V., Ijee, S., Palani, D., Rajendiran, V., Venkatesan, V., Datari, P., Pai, A.A., Janet, N.B., Balasubramanian, P., Nakamura, Y., Srivastava, A., Mohankumar, K.M., Thangavel, S., and Velayudhan, S.R. Direct Generation of Immortalized Erythroid Progenitor Cell Lines from Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Cells* 10: 523. doi: 10.3390/cells10030523. PMID: 33804564 (2021)

Wuputra, K., Tsai, M.H., Kato, K., Yang, Y.H., Pan, J.B., Ku, C.C., Noguchi, M., Kishikawa, S., Nakade, K., Chen, H.L., Liu, C.J., Nakamura, Y., Kuo, K.K., Lin, Y.C., Chan, T.F., Wu, D.C., Hou, M.F., Huang, S.K., Lin, C.S., and Yokoyama, K.K. Dimethyl sulfoxide stimulates the AhR-Jdp2 axis to control ROS accumulation in mouse embryonic fibroblasts. *Cell Biol. Toxicol.*, doi: 10.1007/s10565-021-09592-2. PMID: 33723743 (2021)

Papasavva, P.L., Papaioannou, N.Y., Patsali, P., Kurita, R., Nakamura, Y., Sitarou, M., Christou, S., Kleanthous, M., and Lederer, C.W. Distinct miRNA Signatures and Networks Discern Fetal from Adult Erythroid Differentiation and Primary from Immortalized Erythroid Cells. *Int. J. Mol. Sci.* 22: 3626. doi: 10.3390/ijms22073626. PMID: 33807258 (2021)

Bao, X., Zhang, X., Wang, L., Wang, Z., Huang, J., Zhang, Q., Ye, Y., Liu, Y., Chen, D., Zuo, Y., Liu, Q., Xu, P., Huang, B., Fang, J., Lao, J., Feng, X., Li, Y., Kurita, R., Nakamura, Y., Yu, W., Ju, C., Huang, C., Mohandas, N., Li, D., Zhao, C., and Xu, X. Epigenetic inactivation of ERF reactivates γ -globin expression in β -thalassemia. *Am J Hum. Genet.* 108: 709-721. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.03.005. PMID: 33735615 (2021)

Chen, Y., Sakurai, K., Maeda, S., Masui, T., Okano, H., Dewender, J., Selmann, S., Kurtz, A., Masuya, H., Nakamura, Y., Sheldon, M., Schneider, J., Stacey, G.N., Panina, Y., and Fujibuchi, W. Integrated Collection of Stem Cell Bank Data, a Data Portal for Standardized Stem Cell Information. *Stem Cell Reports*. 16: 997-1005. doi: 10.1016/j.stemcr.2021.02.014. PMID: 33740463 (2021)

Breda, L., Ghiaccio, V., Tanaka, N., Jarocho, D., Ikawa, Y., Abdulmalik, O., Dong, A., Casu, C., Raabe, T.D., Shan, X., Danet-Desnoyers, G.A., Doto, A.M., Everett, J., Bushman, F.D., Radaelli, E., Assenmacher, C.A., Tarrant, J.C., Hoepp, N., Kurita, R., Nakamura, Y., Guzikowski, V., Smith-Whitley, K., Kwiatkowski, J.L., and Rivella, S. Lentiviral vector ALS20 yields high hemoglobin levels with low genomic integrations for treatment of beta-globinopathies. *Mol. Ther.* 29: 1625-1638.

doi: 10.1016/j.ymthe.2020.12.036. PMID: 33515514 (2021)

Funato, K., Abe, T., Kurita, R., Watanabe, Y., Nakamura, Y., Miyata, S., Furukawa, Y., and Satake, M. Identification of characteristic proteins at late-stage erythroid differentiation *in vitro*. *Hum. Cell* 34: 745-749. doi: 10.1007/s13577-021-00503-5. PMID: 33616868 (2021)

Wessels, M.W., Cnossen, M.H., van Dijk, T.B., Gillemans, N., Schmidt, K.L.J., van Lom, K., Vinjamur, D.S., Coyne, S., Kurita, R., Nakamura, Y., de Man, S.A., Pfundt, R., Azmani, Z., Brouwer, R.W.W., Bauer, D.E., van den Hout, M.C.G.N., van Ijcken, W.F.J., and Philipsen, S. Molecular analysis of the erythroid phenotype of a patient with BCL11A haploinsufficiency. *Blood Adv.* 5: 2339-2349. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003753. PMID: 33938942 (2021)

Tsukamoto, S., Nakade, K., Wakabayashi, T., Nakashima, K., Takami, M., Hemmi, Y., Kuramochi, Y., Shimizu, T., Arai, Y., Matsuo-Takasaki, M., Noguchi, M., Nakamura, Y., Miwa, Y., and Hayashi, Y. Generation of two ISL1-tdTomato reporter human induced pluripotent stem cell lines using CRISPR-Cas9 genome editing. *Stem Cell Res.* 53: 102363. doi: 10.1016/j.scr.2021.102363. PMID: 34087992 (2021)

Kuramochi, Y., Awaya, T., Matsuo-Takasaki, M., Takami, M., An, Y., Li, J., Hemmi, Y., Wakabayashi, T., Arai, Y., Inoue, J., Noguchi, M., Nakamura, Y., Asaka, I., Akimoto, K., Saito, M.K., and Hayashi, Y. Generation of two human induced pluripotent stem cell lines derived from two X-linked adrenoleukodystrophy patients with ABCD1 mutations. *Stem Cell Res.* 53: 102337. doi: 10.1016/j.scr.2021.102337. PMID: 33901816 (2021)

Ma, S.P., Xi, H.R., Gao, X.X., Yang, J.M., Kurita, R., Nakamura, Y., Song, X.M., Chen, H.Y., and Lu, D.R. Long noncoding RNA HBBP1 enhances γ -globin expression through the ETS transcription factor ELK1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 552:157-163. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.03.051. PMID: 33744764 (2021)

Liang, Y., Zhang, X., Liu, Y., Wang, L., Ye, Y., Tan, X., Pu, J., Zhang, Q., Bao, X., Wei, X., Li, D., Kurita, R., Nakamura, Y., Li, D., and Xu, X. GATA zinc finger domain-containing protein 2A (GATAD2A) deficiency reactivates fetal haemoglobin in patients with β -thalassaemia through impaired formation of methyl-binding domain protein 2 (MBD2)-containing nucleosome remodelling and deacetylation (NuRD) complex. *Br. J. Haematol.* 193: 1220-1227. doi: 10.1111/bjh.17511. PMID: 33997955 (2021)

Ku, C.C., Wuputra, K., Kato, K., Pan, J.B., Li, C.P., Tsai, M.H., Noguchi, M., Nakamura, Y., Liu, C.J., Chan, T.F., Hou, M.F., Wakana, S., Wu, Y.C., Lin, C.S., Wu, D.C., and Yokoyama, K.K. Deletion of Jdp2 enhances Slc7a11 expression in Atoh-1 positive cerebellum granule cell progenitors *in vivo*. *Stem Cell*

Res. Ther. 12: 369. doi: 10.1186/s13287-021-02424-4. PMID: 34187574 (2021)

Soboleva, S., Kurita, R., Ek, F., Åkerstrand, H., Silvério-Alves, R., Olsson, R., Nakamura, Y., and Miharada, K. Identification of potential chemical compounds enhancing generation of enucleated cells from immortalized human erythroid cell lines. *Commun. Biol.* 4: 677. doi: 10.1038/s42003-021-02202-1. PMID: 34083702 (2021)

Daniels, D.E., Ferguson, D.C.J., Griffiths, R.E., Trakarnsanga, K., Cogan, N., MacInnes, K.A., Mordue, K.E., Andrienko, T., Ferrer-Vicens, I., Ramos Jiménez, D., Lewis, P.A., Wilson, M.C., Canham, M.A., Kurita, R., Nakamura, Y., Anstee, D.J., and Frayne, J. Reproducible immortalization of erythroblasts from multiple stem cell sources provides approach for sustainable RBC therapeutics. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 22: 26-39. doi: 10.1016/j.omtm.2021.06.002. PMID: 34485592 (2021)

Jeffery, N.N., Davidson, C., Peslak, S.A., Kingsley, P.D., Nakamura, Y., Palis, J., and Bulger, M. Histone H2A.X phosphorylation and Caspase-Initiated Chromatin Condensation in late-stage erythropoiesis. *Epigenetics Chromatin.* 14: 37. doi: 10.1186/s13072-021-00408-5. PMID: 34330317 (2021)

Himadewi, P., Wang, X.Q.D., Feng, F., Gore, H., Liu, Y., Yu, L., Kurita, R., Nakamura, Y., Pfeifer, G.P., Liu, J., Zhang, X. 3'HS1 CTCF binding site in human β -globin locus regulates fetal hemoglobin expression. *Elife.* 10: e70557. doi: 10.7554/eLife.70557. PMID: 34585664 (2021)

Song, D., Zheng, Y.W., Hemmi, Y., An, Y., Noguchi, M., Nakamura, Y., Oda, T., Hayashi, Y. Generation of human induced pluripotent stem cell lines carrying homozygous JAG1 deletions. *Stem Cell Res.* 57: 102588. doi: 10.1016/j.scr.2021.102588. PMID: 34736037 (2021)

Pires Lourenco, S., Jarocha, D., Ghiaccio, V., Guerra, A., Abdulmalik, O., La, P., Zezulin, A., Smith-Whitley, K., Kwiatkowski, J.L., Guzikowski, V., Nakamura, Y., Raabe, T., Breda, L., and Rivella, S. Inclusion of a short hairpin RNA targeting BCL11A into a β -globin expressing vector allows concurrent synthesis of curative adult and fetal hemoglobin. *Haematologica* 106: 2740-2745. doi: 10.3324/haematol.2020.276634. PMID: 34047176 (2021)

Nath, A., Rayabaram, J., Ijee, S., Bagchi, A., Chaudhury, A.D., Roy, D., Chambayil, K., Singh, J., Nakamura, Y., and Velayudhan, S.R. Comprehensive Analysis of microRNAs in Human Adult Erythropoiesis. *Cells* 10: 3018. doi: 10.3390/cells10113018. PMID: 34831239 (2021)

King, R., Lin, Z., Balbin-Cuesta, G., Myers, G., Friedman, A., Zhu, G., McGee, B., Saunders, T.L., Kurita, R., Nakamura, Y., Engel, J.D., Reddy, P., and Khoriaty, R. SEC23A rescues

SEC23B-deficient congenital dyserythropoietic anemia type II. *Sci. Adv.* 7: eabj5293. doi: 10.1126/sciadv.abj5293. PMID: 34818036 (2021)

Domestic Conferences (Participants): 5

Gene Engineering Division

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Mizuno-Iijima S, Ayabe S, Kato K, Matoba S, Ikeda Y, Dinh TTH, Le HT, Suzuki H, Nakashima K, Hasegawa Y, Hamada Y, Tanimoto Y, Daitoku Y, Iki N, Ishida M, Ibrahim EAE, Nakashiba T, Hamada M, Murata K, Miwa Y, Okada-Iwababu M, Iwababu M, Yagami KI, Ogura A, Obata Y, Takahashi S, Mizuno S, Yoshiki A, Sugiyama F, "Efficient production of large deletion and gene fragment knock-in mice mediated by genome editing with Cas9-mouse Cdt1 in mouse zygotes" *Methods* 191 23-31 doi: 10.1016/j.ymeth.2020.04.007. Epub 2020 Apr 22. PMID: 32334080. (2021)

Gurumurthy CB, O'Brien RA, Quadros RM, Adams J Jr, Alcaide P, Ayabe S, Ballard J, Batra SK, Beauchamp MC, Becker KA, Bernas G, Brough D, Carrillo-Salinas F, Chan W, Chen H, Dawson R, DeMambro V, D'Hont J, Dibb K, Eudy JD, Gan L, Gao J, Gonzales A, Guntur A, Guo H, Harms DW, Harrington A, Hentges KE, Humphreys N, Imai S, Ishii H, Iwama M, Jonasch E, Karolak M, Keavney B, Khin N, Konno M, Kotani Y, Kunihiro Y, Lakshmanan I, Larochelle C, Lawrence CB, Li L, Lindner V, Liu XD, Lopez-Castejon G, Loudon A, Lowe J, Jerome-Majeweska L, Matsusaka T, Miura H, Miyasaka Y, Morpurgo B, Motyl K, Nabeshima Y, Nakade K, Nakashiba T, Nakashima K, Obata Y, Ogiwara S, Ouellet M, Oxburgh L, Piltz S, Pinz I, Ponnusamy MP, Ray D, Redder RJ, Rosen CJ, Ross N, Ruhe MT, Ryzhova L, Salvador AM, Alam SS, Sedlacek R, Sharma K, Smith C, Staes K, Starrs L, Sugiyama F, Takahashi S, Tanaka T, Trafford A, Uno Y, Vanhoutte L, Vanrockeghem F, Willis BJ, Wright CS, Yamauchi Y, Yi X, Yoshimi K, Zhang X, Zhang Y, Ohtsuka M, Das S, Garry DJ, Hocchepied T, Thomas P, Parker-Thornburg J, Adamson AD, Yoshiki A, Schmouth JF, Golovko A, Thompson WR, Lloyd KCK, Wood JA, Cowan M, Mashimo T, Mizuno S, Zhu H, Kasperek P, Liaw L, Miano JM, Burgio G, Response to correspondence on "Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation". *Genome Biol.* Apr 7;22(1):99 doi: 10.1186/s13059-021-02320-3. PMID: 33827648; PMCID: PMC8025318 (2021)

Tsukamoto S, Nakade K, Wakabayashi T, Nakashima K, Takami M, Henmi Y, Kuramochi Y, Shimizu T, Arai Y, Takasaki M, Noguchi M, Nakamura Y, Miwa Y, Hayashi Y, "Generation of two ISL1-tdTomato reporter human induced pluripotent stem cell lines using CRISPR-Cas9 genome editing" *Stem Cell Res*

53 102363 doi:10.1016/j.scr.2021.102363 (2021)

Kulathunga K, Wakimoto A, Hiraishi Y, Yadav MK, Gentleman K, Warabi E, Sakasai T, Miwa Y, Mizuno S, Takahashi S, Hamada M, “Albino mice with the point mutation at the tyrosinase locus show high cholesterol diet-induced NASH susceptibility” *SCIENTIFIC REPORTS* 11:21827 doi: 10.1038/s41598-021-00501-5 (2021)

Yamaki Y, Fukushima T, Yoshida N, Nishimura K, Fukuda A, Hisatake K, Aso M, Sakasai T, Kijima-Tanaka J, Miwa Y, Nakanishi M, Sumazaki R, Takada H, “Utilization of a novel Sendai virus vector in ex vivo gene therapy for hemophilia A” *Int J Hematol* 113:493 doi: 10.1007/s12185-020-03059-6 (2021)

Domestic Conferences (Invited)

三輪佳宏 “複合的アプローチで拓く新規フードサイエンス”
日本農芸化学会 2022 年度大会、京都、オンライン 3 月 18 日 2022 年

Domestic Conferences (Participants): 2

Microbe Division

Japan collection of Microorganisms

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Shi W, Sun Q, Fan G, Sugawara H, Ohkuma M, Itoh T, Zhou Y, Cai M, Kim SG, Lee JS, Sedlacek I, Arahall D, Lucena T, Kawasaki H, Evtushenko L, Weir B, Alexander S, Dénes D, Tanasupawat S, Eurwilaichitr L, Ingsriswang S, Gomez-Gil B, Hazbón M, Riojas M, Suwannachart C, Su Y, Vandamme P, Peng F, Chen Z, Liu D, Sun X, Zhang X, Zhou Y, Meng Z, Wu L, Ma J, “gcType: a high-quality type strain genome database for microbial phylogenetic and functional research” *Nucleic Acids Res* 49 D694-D705 (2021)

Kanchanasin P, Yuki M, Kudo T, Ohkuma M, Phongsopitanun W, Tanasupawat S, “*Nocardia terrae* sp. nov., an actinomycete isolated from soil in Thailand” *Arch Microbiol* 203 1071-1077 (2021)

Ochi K, Tokuda M, Yanagiya K, Suzuki-Minakuchi C, Nojiri H, Yuki M, Ohkuma M, Kimbara K, Shintani M, “Oxygen concentration affects frequency and range of transconjugants for the incompatibility (Inc) P-1 and P-7 plasmids pBP136 and pCAR1” *Biosci Biotechnol Biochem* 85 1005-1015 (2021)

Endoh R, Horiyama M, Ohkuma M, “D-fructose assimilation and fermentation by yeasts belonging to *Saccharomycetes*: rediscovery of universal phenotypes and elucidation of fructophilic behaviors in *Ambrosiozyma platypodis* and *Cyberlindnera americana*” *Microorganisms* 9 758 (2021)

Tourlousse DM, Narita K, Miura T, Sakamoto M, Ohashi A,

Shiina K, Matsuda M, Miura D, Shimamura M, Ohyama Y, Yamazoe A, Uchino Y, Kameyama K, Arioka S, Kataoka J, Hisada T, Fujii K, Takahashi S, Kuroiwa M, Rokushima M, Nishiyama M, Tanaka Y, Fuchikami T, Aoki H, Kira S, Koyanagi R, Naito T, Nishiwaki M, Kumagai H, Konda M, Kasahara K, Ohkuma M, Kawasaki H, Sekiguchi Y, Terauchi J, “Validation and standardization of DNA extraction and library construction methods for metagenomics-based human fecal microbiome measurements” *Microbiome* 9 95 (2021)

Suzuki-Hashido N, Tsuchida S, Sakamoto M, Hayakawa T, Azumano A, Seino S, Matsuda I, Ohkuma M, Ushida K, “*Lactobacillus nasalidis* sp. nov., isolated from the forestomach of a captive proboscis monkey (*Nasalis larvatus*)” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 004787 (2021)

Ikeyama N, Sakamoto M, Ohkuma M, Hiramoto S, Wang J, Tone S, Shiiba K, “Fecal microbiota perspective for evaluation of prebiotic potential of bamboo hemicellulose hydrolysate in mice: a preliminary study” *Microorganisms* 9 888 (2021)

Iino T, Oshima K, Hattori M, Ohkuma M, Amachi S, “*Iodidimonas gelatinilytica* sp. nov., aerobic iodide-oxidizing bacteria isolated from brine water and surface seawater” *Antonie Van Leeuwenhoek* 114 625-631 (2021)

Sakamoto M, Nao Ikeyama N, Toyoda A, Murakami T, Mori H, Iino T, Ohkuma M, “*Coprobacter secundus* subsp. similis subsp. nov. and *Solibaculum mannosilyticum* gen. nov., sp. nov., isolated from human faeces” *Microbiol Immunol* 65 245-256 (2021)

Ogata Y, Sakamoto M, Ohkuma M, Hattori M, Suda W, “Complete genome sequence of *Longicatena caecimuris* strain 3BBH23 isolated from healthy Japanese feces” *Microbiol Resour Announc* 10 e00282-21 (2021)

Tohno M, Tanizawa Y, Kojima Y, Sakamoto M, Ohkuma M, Kobayashi H, “*Lactobacillus corticis* sp. nov., isolated from hardwood bark” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 004882 (2021)

Maejima Y, Iino T, Moriuchi R, Kushimoto K, Muraguchi Y, Fukuda K, Nojiri H, Ohkuma M, Dohra H, Kimbara K, Shintani M, “*Fluviispira sanaruensis* sp. nov., isolated from a brackish lake in Hamamatsu, Japan” *Curr Microbiol* 78 3268-3276 (2021)

Saeng-in P, Kanchanasin P, Yuki M, Kudo T, Ohkuma M, Phongsopitanun W, Tanasupawat S, “*Actinoplanes lichenicola* sp. nov., and *Actinoplanes ovalisporus* sp. nov., isolated from lichen in Thailand” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 004921 (2021)

Kobayashi H, Tanizawa Y, Sakamoto M, Ohkuma M, Tohno M, “Taxonomic status of the species *Clostridium methoxybenzovorans* Mechichi et al. 1999” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 004951 (2021)

Kato S, Ohkuma M, “A single bacterium capable of oxidation

and reduction of iron at circumneutral pH” *Microbiol Spectr* 9 e0016121 (2021)

Chen Y, Nishihara A, Iino T, Ohkuma M, Haruta S, “Caldicellulosiruptor diazotrophicus sp. nov., a thermophilic, nitrogen-fixing fermentative bacterium isolated from a terrestrial hot spring in Japan” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 005014 (2021)

Kanno N, Kato S, Ohkuma M, Matsui M, Iwasaki W, Shigeto S, “Machine learning-assisted single-cell Raman fingerprinting for in situ and nondestructive classification of prokaryotes” *iScience* 24 102975 (2021)

Iino T, Shono N, Ito K, Nakamura R, Sueoka K, Harayama S, Ohkuma M, “Nitrite as a causal factor for nitrate-dependent anaerobic corrosion of metallic iron induced by *Prolixibacter* strains” *MicrobiologyOpen* 10 e1225 (2021)

Gile GH, Taerum SJ, Jasso-Selles DE, Sillam-Dussès D, Ohkuma M, Kitade O, Noda S, “Molecular phylogenetic position of *Microjoenia* (Parabasalia: Spirotrichonymphea) from *Reticulitermes* and *Hodotermopsis* termite hosts” *Protist* 172 125836 (2021)

Kobayashi H, Tanizawa Y, Yagura M, Sakamoto M, Ohkuma M, Tohno M, “*Clostridium zeae* sp. nov., isolated from corn silage” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 005088 (2021)

Sa’ diyah W, Hashimoto A, Okada G, Ohkuma M, “Notes on some interesting sporocarp-inhabiting fungi Isolated from Xylarialean fungi in Japan” *Diversity* 13 574 (2021)

Sakamoto M, Ikeyama N, Yuki M, Murakami T, Mori H, Iino T, Ohkuma M, “*Adlercreutzia hattorii* sp. nov., an equol non-producing bacterium isolated from human faeces” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 005121 (2021)

Kanchanasin P, Phongsopitanun W, Yuki M, Kudo T, Ohkuma M, Nakashima T, Tanasupawat S, “*Actinomadura violacea* sp. nov., a madurastatin A1-producing strain from lichen in Thailand” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 005126 (2021)

Tohno M, Tanizawa Y, Kojima Y, Sakamoto M, Ohkuma M, Kobayashi H, “*Lentilactobacillus fungorum* sp. nov., isolated from spent mushroom substrates” *Int J Syst Evol Microbiol* 71 005184 (2021)

Omokawa H, Kurosawa N, Kato S, Itoh T, Ohkuma M, Sakai HD, “Complete genome sequence of a novel *Sulfolobales* archaeon strain, HS-7, isolated from the Unzen hot spring in Japan” *Microbiol Resour Announc* 10 e0058221 (2021)

Ogata Y, Sakamoto M, Kumar N, Ohkuma M, Hattori M, Suda W, “Complete genome sequence of *Megamonas funiformis* strain 1CBH44, isolated from human feces” *Microbiol Resour Announc* 10 e0078521 (2021)

Sakai H, Nur N, Kato S, Yuki M, Shimizu M, Itoh T, Ohkuma M, Kurosawa N, Suwanto A, “Insight into the symbiotic lifestyle of DPANN archaea revealed by cultivation and genome analyses” *Proc Natl Acad. Sci. USA* 119 e2115449119 (2022)

Kuncharoen N, Yuki M, Kudo T, Ohkuma M, Booncharoen A, Mhuanthong W, Tanasupawat S, “Comparative genomics and proposal of *Streptomyces radices* sp. nov., an endophytic actinomycete from roots of plants in Thailand” *Microbiol Res* 254 126889 (2022)

Igai K, Kitade O, Fu J, Omata K, Yonezawa T, Ohkuma M, Hongoh Y, “Fine-scale genetic diversity and putative ecotypes of oxymonad protists coinhabiting the hindgut of *Reticulitermes speratus*” *Mol Ecol* 31 1317-1331 (2022)

Delgado G, Miller AN, Hashimoto A, Iida T, Ohkuma M, Okada G, “A phylogenetic assessment of *Endocalyx* (Cainiaceae, Xylariales) with *E. grossus* comb. et stat. nov.” *Mycological Progress* 21 221–242 (2022)

Shinkai T, Ikeyama N, Kumagai M, Ohmori H, Sakamoto M, Ohkuma M, Mitsumori M, “*Prevotella lacticifex* sp. nov., isolated from the rumen of cows” *Int J Syst Evol Microbiol* 72 005184 (2022)

International Conferences (Invited)

Ohkuma M, “Sustainable development of JCM as a microbial resource center over the pandemic era” ANRRC 2021 Conference (The Asian Network of Research Resource Centers), Online, October 2021

Endoh R, “Exploring new yeast resources - lessons from Japanese oak wilt -” 2021 Korea-Japan Joint Symposium on Mycology, Online, October 2021

Ohkuma M, “Sustainable development of JCM and contribution to microbial research community” WFCC and WDCM Global Catalogue of Microorganisms Online Workshop, Online, December 2021

International Conferences (Participants):1

Domestic Conferences (Invited)

橋本陽, “Uncultured fungus”との死闘—eDNA の実体を捉える— 日本菌学会第65回大会 (The 65th Annual Meeting of The Mycological Society of Japan) オンライン 8月2021年

加藤真悟, “シングルセルソーティングの威力〜鉄サイクルを駆動する微生物生態の新展開〜 シンポジウムポストコッホ型の生態を見る・知る (Symposium on Observation and Understanding of Post-Koch-Type Ecology) オンライン 7月2021年

Kato S, "Research and Resource Development of Diverse Microorganisms in RIKEN-JCM" Tsukuba Conference 2021, online, September 2021

伊藤隆, "アーキア研究とカルチャーコレクション" 日本 Archaea 研究会第33回講演会 (The 33rd Symposium of Japan Society for Archaea) オンライン 7月2021年

Domestic Conferences (Participants): 31

Integrated Bioresource Information Division

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Ross S, Suzuki Y, Kondoh M, Suzuki K, Villa Martin P, Dornelas M, "Illuminating the intrinsic and extrinsic drivers of ecological stability across scales" *Ecol Res* Vol.36 364-378 doi: 10.1111/1440-1703.12214 (2021)

Chen Y, Sakurai K, Maeda S, Masui T, Okano H, Dewender J, Seltmann S, Kurtz A, Masuya H, Nakamura Y, Sheldon M, Schneider J, Stacey GN, Panina Y, Fujibuchi W, "Integrated Collection of Stem Cell Bank Data, a Data Portal for Standardized Stem Cell Information" *Stem Cell Rep* Vol. 16 997-1005 doi: 10.1016/j.stemcr.2021.02.014 (2021)

Suzuki K, Nakaoka S, Fukuda S, Masuya H, "Energy landscape analysis elucidates the multistability of ecological communities across environmental gradients" *Ecol Monogr* Vol.91 doi:10.1002/ecm.1469 (2021)

Ninomiya Y, Kuriki S, Shiroishi T, Takada T, "A modification of MaxT procedure using spurious correlations" *J Stat Plan Inference* Vol.214 128-138 (2021)

Mizuno-Iijima S, Nakashiba T, Ayabe S, Nakata H, Ike F, Hiraiwa N, Mochida K, Ogura A, Masuya H, Kawamoto S, Tamura M, Obata Y, Shiroishi T, Yoshiki A, "Mouse resources at the RIKEN BioResource Research Center and the National BioResource Project core facility in Japan" *Mamm Genome* Vol.33 181-191 doi:10.1007/s00335-021-09916-x (2021)

Takada T, Fukuta K, Usuda D, Kushida T, Kondo S, Kawamoto S, Yoshiki A, Obata Y, Fujiyama A, Toyoda A, Noguchi H, Shiroishi T, Masuya H, "MoG+: a database of genomic variations across three mouse subspecies for biomedical research" *Mamm Genome* Vol.33 31-43 doi:10.1007/s00335-021-09933-w (2021)

Suzuki K, Abe MS, Kumakura D, Nakaoka S, Fujiwara F, Miyamoto H, Nakaguma T, Okada M, Sakurai K, Shimizu S, Iwata H, Masuya H, Nihei N, Ichihashi Y, "Chemical-Mediated Microbial Interactions Can Reduce the Effectiveness of Time-Series-Based Inference of Ecological Interaction Networks" *Int J Environ Res Public Health* Vol.19

doi:10.3390/ijerph19031228 (2022)

Domestic Conferences (Participants): 9

Bioresource Engineering Division

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Morimoto H, Yamamoto T, Miyazaki T, Ogonuki N, Ogura A, Tanaka T, Kanatsu-Shinohara M, Yabe-Nishimura C, Zhang H, Pommier Y, Trumpp A, Shinohara T. "An interplay of NOX1-derived ROS and oxygen determines the spermatogonial stem cell self-renewal efficiency under hypoxia." *Genes Dev* 35 250-260 (2021)

Ogura A, Matoba S, Inoue K. "Epigenetic abnormalities associated with somatic cell nuclear transfer." *Reproduction* 162 45-58 (2021)

Kobayashi Y, Tomizawa SI, Ono M, Kuroha K, Minamizawa K, Natsume K, Dizdarević S, Dočkal I, Tanaka H, Kawagoe T, Seki M, Suzuki Y, Ogonuki N, Inoue K, Matoba S, Anastassiadis K, Mizuki N, Ogura A, Ohbo K. "Tsga8 is required for spermatid morphogenesis and male fertility in mice." *Development* 148 8 196212 (2021)

Loubalova Z, Fulka H, Horvat F, Pasulka J, Malik R, Hirose M, Ogura A, Svoboda P. "Formation of spermatogonia and fertile oocytes in hamsters requires piRNAs." *Nat Cell Biol* 23 992-1001 (2021)
doi: 10.1007/s00335-021-09916-x. E

Kamimura S, Inoue K, Mizutani E, Kim J-M, Inoue H, Ogonuki N, Miyamoto K, Ihashi S, Itami N, Wakayama T, Ito A, Nishino N, Yoshida M, Ogura A. "Improved development of mouse SCNT embryos by chlamydocin analogues, class I and IIa histone deacetylase inhibitors." *Biol Reprod* 105 543-553 (2021)

Morimoto H, Ogonuki N, Kanatsu-Shinohara M, Matoba S, Ogura A, Shinohara T. "Spermatogonial stem cell transplantation into nonablated mouse recipient testes." *Stem Cell Rep* 16 1832-1844 (2021)

Mochida K, Hasegawa A, Shikata D, Itami N, Hada M, Watanabe N, Tomishima T, Ogura A. "Easy and quick (EQ) sperm freezing method for urgent preservation of mouse strains." *Sci Rep* 11 14149 (2021)

Akter MS, Hada M, Shikata D, Watanabe G, Ogura A, Matoba S. "CRISPR/Cas9-based genetic screen of SCNT-reprogramming resistant genes identifies critical genes for male germ cell development in mice." *Sci Rep* 11 15438 (2021)

Sun S, Yano S, Nakanishi MO, Hirose M, Nakabayashi K, Hata

K, Ogura A, Tanaka S. "Maintenance of mouse trophoblast stem cells in KSR-based medium allows conventional 3D culture." *J Reprod Dev* 67 197-205 (2021)

Mizuno-Iijima S, Nakashiba T, Ayabe S, Nakata H, Ike F, Hiraiwa N, Mochida K, Ogura A, Masuya H, Kawamoto S, Tamura M, Obata Y, Shiroishi T, Yoshiki A. "Mouse resources at the RIKEN BioResource Research Center and the National BioResource Project Core Facility in Japan." *Mam Genome* 33 1 181-191 (2021)

Hayashi E, Wakayama S, Ito D, Hasegawa A, Mochida K, Ooga M, Ogura A, Wakayama T. "Mouse in vivo-derived late 2-cell embryos have the higher developmental competence after high osmolality vitrification and -80°C preservation compared with IVF or ICSI embryos." *J Reprod Dev* 67 197-205 (2021)

Hada M, Miura H, Tanigawa A, Matoba S, Inoue K, Ogonuki N, Hirose M, Watanabe N, Nakato R, Fujiki K, Hasegawa A, Sakashita A, Okae H, Miura K, Shikata D, Arima T, Shirahige K, Hiratani I, Ogura A. "Highly rigid H3.1/H3.2-H3K9me3 domains set a barrier for cell fate reprogramming in trophoblast stem cells." *Genes Dev* 36 84-102 (2022)

Kanatsu-Shinohara M, Ogonuki N, Matoba S, Morimoto H, Shiromoto Y, Ogura A, Shinohara, T. "Regeneration of spermatogenesis by mouse germ cell transplantation into allogeneic and xenogeneic testis primordia or organoids." *Stem Cell Reports* (in press)

Hasegawa A, Mochida K, Nakamura A, Miyagasaki R, Ohtsuka M, Hatakeyama M, Ogura A. "Use of anti-inhibin monoclonal antibody for increasing the litter size of mouse strains and its application to i-GONAD." *Biol Reprod* (in press)

Matoba S, Kozuka C, Miura K, Inoue K, Kumon M, Hayashi R, Ohhata T, Ogura A, Inoue A. "Non-canonical imprinting sustains embryonic development and restrains placental overgrowth." *Genes Dev* (in press)

Domestic Conferences (Invited)

小倉淳郎「論文執筆・投稿からacceptまで～私の経験」
日本繁殖生物学会オンラインセミナー, web開催 5月 2021年

小倉淳郎「小型実験動物を用いた受精・胚発生・胎盤発生機構の解明」第5回HAC鹿児島, web開催 11月 2021年

小倉淳郎、廣瀬美智子、富島俊子「ゲノム編集技術を用いたノックアウトハムスターの作出」第94回日本生化学会, web開催 11月 2021年

小倉淳郎「核移植クローンによる胎盤エピゲノムの特性解析」大阪大学蛋白質研セミナー 生殖細胞・減数分裂研究の最前線, 大阪 3月 2022年

Domestic Conferences (Participants):14

Technology and Development Team for Mammalian Genome Dynamics

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Chu S-L, Abe K, Yokota H and Tsai M, "Recurrent Neural Network for monitoring mouse embryonic stem cell colony in vitro using time-lapse fluorescence microscopy images" *Biomedical Engineering*, in press.

Sugimoto M, Tada Y, Shichino S, Koyamatsu S, Tsumaki N and Abe K, "Universal Surface Biotinylation: A simple, versatile and cost-effective sample multiplexing method for single-cell RNA-seq analysis" *DNA Res.* (2022) DOI: 10.1093/dnares/dsac017

Furuhata R, Imasaka M, Sugimoto M, Yoshinobu K, Araki M and Arak, K, "LincRNA-p21 exon 1 expression correlates with Cdkn1a expression in vivo" *Genes to Cells* Vol. 27 14-24 (2022).

Kamatani T, Hagsawa H, Yarimitsu S, Morioka M, Koyamatsu S, Sugimoto M, Kodama J, Yamane J, Ishiguro H, Shichino S, Abe K, Fujibuchi W, Fujie H, Kaito T and Tsumaki N, "Human iPS-cell derived cartilaginous tissue spatially and functionally replaces nucleus pulposus" *Biomaterials* Vol. 284 121491 (2022)

Chu S-L, Abe K, Yokota H, Cho D, Chen Y-H, Tsai M, "High resolution U-Net for quantitatively analyzing early spatial patterning of human induced pluripotent stem cells on micropatterns" Accepted as a contributed paper for the 43rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (2021)

Yokota H, Abe K, Chang Y-H, Cho D, Tsai M, "Visualization and quantitative analyses for mouse embryonic stem cell tracking by manipulating hierarchical data structures using time-lapse confocal microscopy images" Accepted as a contributed paper for the 43rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (2021)

International Conferences (Participants): 2

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

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Birling MC, Yoshiki A, Adams D, Ayabe S, Beaudet AL, Bottomley J, Bradley A, Brown SDM, Bürger A, Bushell W, Chiani F, Christou S, Codner GF, DeMayo FJ, Dickinson ME, Doe B, Donahue LR, Fray MD, Gambadoro A, Gertsenstein M, Gomez-Segura A, Goodwin LO, Heaney JD, Hérault Y, Hrabé Angelis M, Justice MJ, King RE, Kühn R, Lee H, Lee YJ, Lloyd KCK, Lorenzo I, Mallon AM, McKerlie C, Meehan TF, Nutter LMJ, Oh GT, Pavlovic G, Ramirez-Solis R, Rosen B, Ryder EJ, Santos LA, Schick J, Seavitt JR, Seong JK, Skarnes WC, Steel K, Tamura M, Tocchini-Valentini GP, Wardle-jones H, Wattenhofer-donze M, Wells S, Willis BJ, Wood JA, Wurst W, The International Mouse Phenotyping Consortium, Teboul L, Murray SA. "A resource of targeted mutant mouse lines for 5,061 genes". *Nature Genetics* 2021, 53: 416–419. <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00825-y>

Nakano T., Aochi H., Hirasaki M., Takenaka Y., Fujita K., Tamura M., Soma H., Kamezawa H., Koizumi T., Shibuya H. Inomata R., Okuda A., Murakoshi T., Shimada A. and Inoue I. Effects of Ppar γ 1 deletion on late-stage murine embryogenesis and cells that undergo endocycle. *Developmental Biology* 2021, 478: 222-235. DOI: 10.1016/j.ydbio.2021.07.003

Miura I., Kikkawa Y., Yasuda S., Shinogi A., Usuda D., Kumar V., Takahashi JS., Tamura M., Masuya H. and Wakana S. Characterization of single nucleotide polymorphisms for forward genetics approach using genetic crosses in C57BL/6 and BALB/c substrains of mice. *Experimental Animals* 2021, 21:0181. <https://doi.org/10.1538/expanim.21-0181>

Hirata T., Kobayashi A., Furuse T., Yamada I., Tamura M., Tomita H., Tokoro Y., Ninomiya A., Fujihara Y., Ikawa M., Maeda Y., Murakami Y., Kizuka Y. and Kinoshita T. Loss of the N-acetylgalactosamine side chain of the GPI-anchor impairs bone formation and brain functions and accelerates the prion disease pathology " *Journal of Biological Chemistry* 2021 298, 3: 101720. doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101720

Reviews

Sato Y., Tamura M. and Yanagita M. Tertiary lymphoid tissues: a regional hub for kidney inflammation. *Nephrology Dialysis and Transplantation* 2021, 36: 212. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfab212>

Iijima-Mizuno S., Nakashiba T., Ayabe S., Nakata H., Ike F., Hiraiwa N., Mochida K., Ogura A., Masuya H., Kawamoto S., Tamura M., Obata Y., Shiroishi T. and Yoshiki A. Mouse resources at RIKEN BioResource Research Center and the National Bioresource Project Core Facility in Japan.

Mammalian Genome 2021, doi: 10.1007/s00335-021-09916-x

International Conferences (Invited)

Masaru Tamura, Progress report of technology development at Japan Mouse Clinic. 2021 Asian Mouse Mutagenesis and Resource Association (AMMRA)/Asia Mouse Phenotyping Consortium (AMPC) Annual Meeting and Workshop on Mouse Model Research in Taiwan, Web. 2021, May 28

Domestic Conferences (Invited)

田村 勝, 日本マウスクリニック, 理研BRC 20周年記念シンポジウム・バイオリソースが駆動する生命科学とイノベーション・「マウスモデルを用いた健康・医療問題への挑戦」Web開催 10月2021年.

田村 勝, X線で軟組織をみる: 造影X線CTイメージングによるマウス形態表現型解析. 山形大学・生命科学セミナー, Web開催 2月2022年

田村 勝, 「見えぬなら, 見せてみせよう, 造影X線CT」理研科技ハブ・異分野交流会. Web開催 3月2022年

Domestic Conferences (Participants): 6

iPSC-based Drug Discovery and Development Team

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Imamura K, Sakurai Y, Enami T, Shibukawa R, Nishi Y, Ohta A, Shu T, Kawaguchi J, Okada S, Hoenen T, Yasuda J, Inoue H, "iPSC screening for drug repurposing identifies anti - RNA virus agents modulating host cell susceptibility" *FEBS open bio* 11(5): 1452-1464, DOI: 10.1002/2211-5463.13153 (2021)

Yada Y, Kondo T, Suga M, Tsukita K, Enami T, Shibukawa R, Sagara Y, Okanishi Y, Imamura K, Kihara T, Inoue H, "Human induced pluripotent stem cells generated from a patient with idiopathic basal ganglia calcification" *Stem Cell Research* 53:102274, DOI: 10.1016/j.scr.2021.102274 (2021)

Imamura K, Yada Y, Izumi Y, Morita M, Kawata A, Arisato T, Nagahashi A, Enami T, Tsukita K, Kawakami H, Nakagawa M, Takahashi R, Inoue H, "Prediction model of amyotrophic lateral sclerosis by deep learning with patient induced pluripotent stem cells" *Annals of Neurology* 89(6):1226-1233, DOI : 10.1002/ana.26047 (2021)

Kondo T, Banno H, Okunomiya T, Amino Y, Endo K, Nakakura A, Uozumi R, Kinoshita A, Tada H, Morita S, Ishikawa H, Shindo A, Yasuda K, Taruno Y, Maki T, Suehiro T, Mori K, Ikeda M, Fujita K, Izumi Y, Kanemaru K, Ishii K, Shigenobu K, Kutoku Y, Sunada Y, Kawakatsu S, Shiota S, Watanabe T, Uchikawa O, Takahashi R, Tomimoto H, Inoue H, "Repurposing bromocriptine for A β metabolism in Alzheimer's

disease (REBRAnD) study: randomised placebo-controlled double-blind comparative trial and open-label extension trial to investigate the safety and efficacy of bromocriptine in Alzheimer's disease with presenilin 1 (PSEN1) mutations" *BMJ Open* 11(6): e051343, PMID: 34193504 PMCID: PMC8246358 DOI: 10.1136/bmjopen-2021-051343 (2021)

Yada Y, Suga M, Shibukawa R, Sagara Y, Okanishi Y, Enami T, Tsukita K, Kondo T, Imamura K, Sugihara G, Murai T, Inoue H, "Establishment of induced pluripotent stem cells from schizophrenia discordant fraternal twins" *Stem Cell Research* 55: 102504, DOI: 10.1016/j.scr.2021.102504 (2021)

Tan GW, Kondo T, Imamura K, Suga M, Enami T, Nagahashi A, Tsukita K, Inoue I, Kawaguchi J, Shu T, Inoue H, "Simple derivation of skeletal muscle from human pluripotent stem cells using temperature-sensitive Sendai virus vector" *J Cell Mol Med* 25(20):9586-9596, doi: 10.1111/jcmm.16899 (2021)

Suong D, Imamura K, Inoue I, Kabai R, Sakamoto S, Okumura T, Kato Y, Kondo T, Yada Y, Klein WL, Watanabe A, Inoue H, "Induction of inverted morphology in brain organoids by vertical-mixing bioreactors" *Communications Biology* 4 (1):1213, 10.1038/s42003-021-02719-5 (2021)

Kondo T, Yamamoto T, Okayama K, Narumi H, Inoue H. "Metabolites of soil microorganisms modulate amyloid β production in Alzheimer's neurons" *Sci Rep.*12(1):2690, doi: 10.1038/s41598-022-06513-z (2022)

Kondo T, Hara N, Koyama S, Yada Y, Tsukita K, Nagahashi A, Ikeuchi T, Ishii K, Asada T, Arai T, Yamada R, Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI), Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI), Inoue H, "Dissection of the polygenic architecture of neuronal A β production using a large sample of individual iPSC lines derived from Alzheimer's disease patients" *Nature Aging* 2, pages125-139, 2022.2.17 DOI: 10.1038/s43587-021-00158-9 (2022)

Otsuka Y, Imamura K, Oishi A, Kondo T, Suga M, Yada Y, Shibukawa R, Okanishi Y, Sagara Y, Tsukita K, Tsujikawa A, Inoue H, "One-step induction of photoreceptor-like cells from human iPSCs by delivering transcription factors" *iScience* 25 (4):103987, 2022.4.15 DOI: 10.1016/j.isci. (2022)

Reviews

Imamura K, Kawaguchi J, Shu T, Inoue H. "Generation of Motor Neurons from Human ESCs/iPSCs Using Sendai Virus Vectors" *Neural Reprogramming*, Springer, DOI: 10.1007/978-1-0716-1601-7_9 (2021)

International Conferences (Invited)

Inoue H, "Drug discovery for neurodegenerative disorders using disease-specific iPSCs" Symposium 02 Novel therapeutic approach for neurological disorders

using stem cell technology, 62nd Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology, Kyoto(Hybrid), May 2021

Inoue H, "AI drug discovery and diagnosis support with ALS patient iPSC panel" 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society/The 1st CJK International Meeting, Kobe (Hybrid), July 2021

Inoue H, "iPSC-based translational research and innovation for amyotrophic lateral sclerosis" Topic symposium iPS cell technology bringing innovation to therapeutic development for ALS, PACTALS 2021 NAGOYA, September 2021

Domestic Conferences (Invited)

井上治久, "リプログラミング技術を用いた脳神経疾患研究" 第4回クリニカルニューロサイエンス in 愛媛, WEB開催, 6月2021年

井上治久, "アルツハイマー病の基礎研究の進歩～ iPS細胞研究を中心に～" 第10回認知症予防学会学術集会, ハイブリッド開催, 6月2021年

井上治久, "認知症のiPS細胞研究のお話" 日本認知症予防学会第9回米子研修会, WEB開催, 9月2021年

井上治久, "リプログラミング技術を用いた創薬基盤開発" 理研バイオリソースセンター設立20周年記念シンポジウム, WEB開催, 10月2021年

井上治久, "リプログラミング技術を用いたALS研究" 第7回 Nagoya Neurology Forum, ハイブリッド開催, 11月2021年

井上治久, "iPS細胞とAIを用いた脳神経疾患研究" 第12回ニューロフォーラム東京, ハイブリッド開催, 11月2021年

井上治久, "リプログラミング技術とAIを用いた創薬研究開発" 第40回日本認知症学会学術集会, ハイブリッド開催, 11月2021年

井上治久, "認知症のゲノム医療 iPS細胞研究から認知症ゲノム医療へ" 第40回日本認知症学会学術集会, ハイブリッド開催, 11月2021年

井上治久, "リプログラミング技術を用いた認知症研究" 第40回日本認知症学会学術集会, オンデマンド配信, 11月2021年

Inoue H, "Neurodegenerative disease research using reprogramming data" RIKEN Symposium~Mechanistic Insights into Neurodegenerative Disorders~, Online, 2月2022年

井上治久, "霊長類のiPS細胞を用いた生命医科学「霊長類

幹細胞研究オーバービュー」第21回日本再生医療学会総会, オンライン開催, 3月2022年

Domestic Conferences (Participants): 3

iPS Cell Advanced Characterization and Development Team

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Shimizu T, Matsuo-Takasaki M, Luijckx D, Takami M, Arai Y, Noguchi M, Nakamura Y, Hayata T, Saito MK, Hayashi Y. "Generation of human induced pluripotent stem cell lines derived from four DiGeorge syndrome patients with 22q11.2 deletion" Stem Cell Res 61:102744 (2022)

Furukawa R, Hayashi Y, Kano H, Matsumoto J, Honda S, and Hotta K. "Discovery of Effective Spectrum for Classifying iPS Cells Taken with CARS Microscope" In Proceedings of the 15th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies - BIOSIGNALS 28-235 (2022)

Borisova E, Nishimura K, An Y, Takami M, Li J, Song D, Matsuo-Takasaki M, Luijckx D, Aizawa S, Kuno A, Sugihara E, Sato T, Yumoto F, Terada T, Hisatake K, Hayashi Y "Structurally-discovered KLF4 variants accelerate and stabilize reprogramming to pluripotency." iScience 25:103525 (2022)

Aizawa S, Nishimura K, Mondejar SG, Kumar A, Bui PL, Tran THY, Kuno A, Muratani M, Kobayashi S, Sugihara E, Sato T, Fukuda A, Hayashi Y, Hisatake K. "Early reactivation of clustered genes on the inactive X chromosome during somatic cell reprogramming" Stem Cell Reports. 17(1):53-67 (2022)

Ugawa M, Kawamura Y, Toda K, Teranishi K, Morita H, Adachi H, Tamoto R, Hiroko Nomaru H, Nakagawa K, Sugimoto K, Borisova E, An Y, Konishi Y, Tabata S, Morishita S, Imai M, Takaku T, Araki M, Komatsu N, Hayashi Y, Sato I, Horisaki R, Noji H, Ota S. "In silico-labeled ghost cytometry" eLife 10:e67660 (2021)

Song D, Zheng YW, Hemmi Y, An Y, Noguchi M, Nakamura Y, Oda T, Hayashi Y. "Generation of human induced pluripotent stem cell lines carrying homozygous JAG1 deletions" Stem Cell Res 57:102588 (2021)

Tsukamoto S, Nakade K, Wakabayashi T, Nakashima K, Takami M, Hemmi Y, Kuramochi Y, Shimizu T, Arai Y, Matsuo-Takasaki M, Noguchi M, Nakamura Y, Miwa Y, Hayashi Y. "Generation of two ISL1-tdTomato reporter human induced pluripotent stem cell lines using CRISPR-Cas9 genome editing" Stem Cell Res 53:102363 (2021)

Kuramochi Y, Awaya T, Matsuo-Takasaki M, Takami M, An Y, Li J, Hemmi Y, Wakabayashi T, Arai Y, Inoue J, Noguchi M, Nakamura Y, Asaka I, Akimoto K, Saito MK, Hayashi Y. "Generation of two human induced pluripotent stem cell lines derived from two X-linked adrenoleukodystrophy patients with ABCD1 mutations" Stem Cell Res. 53:102337 (2021)

Reviews

Hayashi Y, Borisova E. "Disease-Focused Research Using Stem Cells" Biomedicine 9:1643 (2021)

International Conferences (Invited)

Hayashi Y, "Research activities on Bioresources in the COVID19 pandemic" Tsukuba Conference 2021, Online, September 2021

International Conferences (Participants): 3

Domestic Conferences (Invited)

林 洋平, "分子構造に基づく次世代リプログラミング因子の開発", 第21回日本再生医療学会大会, オンライン, 2022年3月

林 洋平, "機械学習を基盤とする培養細胞のレーザープロセッシング", 第69回応用物理学会春季学術講演会, オンライン, 2022年3月

林 洋平, "バイオリソースとしてのiPS細胞に対する特性解析と解析技術の開発", 理研バイオリソース研究センター設立20周年記念シンポジウム, オンライン, 2021年10月

Domestic Conferences (Participants):3

Next Generation Human Disease Model Team

International Conferences (Participants): 2

Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Ogawa S, Wakatake T, Spallek T, Ishida JK, Sano R, Kurata T, Demura T, Yoshida S, Ichihashi Y, Schaller A, Shirasu K, "Subtilase activity in the intrusive cells mediates haustorium maturation in parasitic plants" Plant Physiol Vol. 185 1381-1394 (2021).

Masumoto N, Suzuki Y, Cui S, Wakazaki M, Sato M, Kumaishi K, Shibata A, Furuta MK, Ichihashi Y, Shirasu K, Toyooka K,

Sato Y, Yoshida S, “Three-dimensional reconstructions of the internal structures of haustoria in parasitic Orobanchaceae” *Plant Physiol* Vol. 185 1429-1442 (2021)

Boukteb A, Sakaguchi S, Ichihashi Y, Kharrat M, Nagano AJ, Shirasu K, Bouhadida M, “Analysis of genetic diversity and population structure of *Orobancha foetida* populations from Tunisia using RADseq” *Front Plant Sci* Vol. 12 618245 (2021)

Fujii T, Minami M, Watanabe T, Sato Takumi Kumaishi K, Ichihashi Y, “Characterization of inter-annual changes in soil microbial lora of *Panax ginseng* cultivation fields in Shimane Prefecture of Western Japan by DNA metabarcoding using next-generation sequencing” *J Nat Med* Vol. 75 1067-1079 (2021)

Jhu MY, Ichihashi Y, Farhi M, Wong C, Sinha N, “LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN 25 functions as a key regulator of haustorium development in dodders” *Plant Physiol* Vol. 186 2093-2110 (2021)

Sato K, Uehara T, Holbein J, Sasaki-Sekimoto Y, Gan P, Bino T, Yamaguchi K, Ichihashi Y, Maki N, Shigenobu S, Ohta H, Franke RB., Siddique S, Grundle FM.W., Suzuki T, Kadota Y, Shirasu K, “Transcriptomic analysis of resistant and susceptible responses in a new model root-knot nematode infection system using *Solanum torvum* and *Meloidogyne arenaria*” *Front Plant Sci* Vol. 12 680151 (2021)

Ayukawa Y, Asai S, Gan P, Tsushima A, Ichihashi Y, Shibata A, Komatsu K, Houterman PM., Rep M, Shirasu K, Arie T, “A pair of effectors encoded on a conditionally dispensable chromosome of *Fusarium oxysporum* suppress host-specific immunity” *Commn Biol* Vol. 4 707 (2021)

Notaguchi M, Kurotani K, Huang C, Okayasu K, Suzuki T, Ichihashi Y, Shirasu K, Higashiyamam T, Niwa M, “Discovery of the interfamilial grafting capacity of *Petunia*, a floricultural species” *Hortic Res* Vol. 9 uh056 (2021)

Suzuki K, Abe M. S, Kumakura D, Nakaoka S, Fujiwara F, Miyamoto H, Nakaguma T, Okada M, Sakurai K, Shimizu S, Iwata H, Masuya H, Nihei N, Ichihashi Y, “Chemical-Mediated Microbial Interactions Can Reduce the Effectiveness of Time-Series-Based Inference of Ecological Interaction Networks” *Int J Environ Res Public Health* Vol. 19 1228 (2021)

Jathar V, Saini K, Chauhan A, Rani R, Ichihashi Y, Ranjan A, “Spatial control of cell division by GA-OsGRF7/8 module in a leaf explains the leaf length variation between cultivated and wild rice” *New Phytol* Vol. 234 867-883 (2021)

Domestic Conferences (Invited)

市橋 泰範、マルチオミクス解析による農業生態系のデジタル化、第3回センサ&IoTセミナー、オンライン、2021年

4月

市橋 泰範、マルチオミクス解析による農業生態系のデジタル化、第15回メタボロームシンポジウム、オンライン、2021年10月

市橋 泰範、有機農業の普及と土壌のデジタル化の将来性について、有機農業者対象「有機農業の普及と土壌のデジタル化の将来性について」、和歌山県伊都郡かつらぎ町、2021年10月

市橋 泰範、マルチオミクス解析による農業生態系のデジタル化、シスメックスとの技術交流会、兵庫県神戸市、2021年11月

市橋 泰範、マルチオミクス解析による農業生態系のデジタル化、ジョイントシンポジウム“植物を「観る」から農作物を「みる」へ”、オンライン、2022年3月

市橋 泰範、エンジニアリングオブ複雑発酵—我が家の糠床は科学技術で完コピできるのか?—、超異分野学会東京大会2022、東京都品川区西五反田、2022年3月

市橋 泰範、植物-微生物相互作用から拡張する農業環境エンジニアリングの未来像、日本農芸化学会2022年度大会、オンライン、2022年3月

市橋 泰範、植物 x 微生物で21世紀の緑の革命をめざす、日本農芸化学会2022年度大会 産学官学術交流フォーラム、オンライン、2022年3月

Shinozaki Research Collaborative Group

Journals in English or non-Japanese (Peer reviewed)

Bolortuya B, Kawabata S, Yamagami A, Davaapurev B O, Takahashi F, Inoue K, Kanatani A, Mochida K, Kumazawa M, Ifuku K, Jigjidsuren S, Battogtokh T, Udval G, Shinozaki K, Asami T, Batkhui J, Nakano T, “Transcriptome Analysis of *Chloris virgata*, Which Shows the Fastest Germination and Growth in the Major Mongolian Grassland Plant” *Front Plant Sci*, 12 684987 (2021)

Fernando A, Selvaraj M, Ishitani M, Nakashima K, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, “How utilizing the genes involved in drought tolerance could tackle the climate change-related food crisis?” *Mol Plant*, 14 1601-1603 (2021)

Kamiyama Y, Hirotsu M, Ishikawa S, Minegishi F, Katagiri S, Rogan C J, Takahashi F, Nomoto M, Ishikawa K, Kodama Y, Tada Y, Takezawa D, Anderson J C, Peck S C, Shinozaki K, Umezawa T, “Arabidopsis group C Raf-like protein kinases negatively regulate abscisic acid

signaling and are direct substrates of SnRK2” *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118 (2021)

Soma F, Takahashi F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, “Affinity Purification Followed by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry to Identify Proteins Interacting with ABA Signaling Components” *Methods Mol Biol*, 2462 181-189 (2022)

Urano K, Maruyama K, Koyama T, Gonzalez N, Inze D, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, “CIN-like TCP13 is essential for plant growth regulation under dehydration stress ” *Plant Mol Biol*, 108 257-275 (2022)

Kim J S, Sakamoto Y, Takahashi F, Shibata M, Urano K, Matsunaga S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, “Arabidopsis TBP-ASSOCIATED FACTOR 12 ortholog NOBIR6 controls root elongation with unfolded protein response cofactor activity” *Proc Natl Acad Sci U S A*, 119 (2022)

Maeda H, Takahashi K, Ueno Y., Sakata K, Yokoyama A, Yarimizu K, Myouga F., Shinozaki K, Ozawa SI, Takahashi Y, Tanaka A, Ito H, Akimoto S, Takabayashi A, Tanaka R “Characterization of photosystem II assembly complexes containing ONE-HELIX PROTEIN1 in *Arabidopsis thaliana*” *J Plant Res* 135 361 376 (2022)

Reviews

Soma F, Takahashi F, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, “Cellular Phosphorylation Signaling and Gene Expression in Drought Stress Responses: ABA-Dependent and ABA-Independent Regulatory Systems” *Plants (Basel)*, 10 756 (2021)

Yoshida T, Fernie AR, Shinozaki K and Takahashi F, (2021) “Long-distance stress and developmental signals associated with abscisic acid signaling in environmental responses” *Plant J*. 105, 477–488 (2021)

Kidokoro S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, “Transcriptional regulatory network of plant cold-stress responses” *Trends Plant Sci*, (2022)

Kuromori T, Fujita M, Takahashi F, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, “Inter-tissue and inter-organ signaling in drought stress response and phenotyping of drought tolerance” *Plant J*, 109 342-358 (2022)

Domestic Conferences (Invited)

藤田 美紀, “植物フェノタイピングは何を明らかにするか” 第69回日本生態学会大会 (Online), 3月, 2022

Domestic Conferences (Participants):2

広報活動

Publicity Activities

社会とのつながり

Interaction with General Public

バイオリソース事業の意義や活動を広く市民にご理解頂けるよう、情報発信に努めています。

We are working to make information available to help more people understand the significance of bioresources project and learn about the activities of these projects that rely on the support of the general public.

理研 BRC 設立 20 周年記念式典

Ceremony of RIKEN BRC 20th Anniversary

- 2021 年 10 月 19 日
- オンライン開催 (Zoom Webinar、YouTube)
- つくば国際会議場中ホール 200

理研 BRC は、2021 年に設立 20 周年を迎えました。その記念事業の一環として、設立 20 周年記念式典をオンライン形式で開催しました。

記念式典では、20 年間の理研 BRC の歩みをスライドとともに紹介し、最後に城石センター長が関係する方々へ感謝の意を表するとともに、今後理研 BRC をどのように発展させていくかについて決意を述べました。

本式典は当初つくば国際会議場とオンラインのハイブリッド形式で開催する予定でしたが、新型コロナウイルス感染が急拡大する状況を考慮し、オンライン形式で執り行いました。この急な形式変更にもかかわらず、約 400 人という多くの方々にご視聴いただきました。

RIKEN BRC celebrated its 20th anniversary in 2021. As part of the commemorative activities, the 20th anniversary ceremony was held online.

At the ceremony, Director Shiroishi thanked everyone involved and expressed his determination for the future development of RIKEN BRC.

The ceremony was originally scheduled to be held in a hybrid style at the Tsukuba International Congress Center, but it was held online due to the rapid spread of COVID-19. Despite this sudden change, the ceremony was viewed by a large audience of approximately 400 people.



記念式典城石センター長挨拶の様子
Speech by Director Shiroishi

理研 BRC 設立 20 周年記念シンポジウム

RIKEN BRC 20th Anniversary Online Symposium

- 2021 年 10 月 20 日～ 22 日
- オンライン開催 (Zoom Webinar)
- 日本語のみ Japanese only

設立 20 周年の記念事業の一環として、10 月 20、21、22 日の 3 日間にわたり記念シンポジウム「バイオリソースが駆動する生命科学とイノベーション」を完全オンライン形式で開催しました。このシンポジウムは、20 周年という節目にあたり、バイオリソースの開発者・寄託者であり、利用者でもある研究者の皆様に、理研 BRC の活動内容をよりよく知っていただき、今まで以上にバイオリソースを活用し研究を進展させていただきたい、という趣旨で企画されたものでした。各日はそれぞれ異なるサブテーマを持ち、午前中の第



一部では理研BRCのPIによるバイオリソース事業への取り組みについて、午後の第二部では各分野をリードする研究者の方々の最新の成果を発表していただく、という構成で開催されました。

本シンポジウムは、事前登録が必要でしたが、約1100人の登録者があり、連日500人以上の参加者（のべ1500人程度）を集め、大盛況のうちに終了することとなりました。

As part of our 20th anniversary celebration, we held a commemorative symposium, "Life Science and Innovation Driven by Bioresources," over three days on October 20, 21, and 22, in a completely online format. The symposium was planned to mark the 20th anniversary of RIKEN BRC, with the aim of familiarizing researchers who are both developers, depositors, and users of bioresources with the activities of the BRC, and to encourage them to make better use of bioresources and advance their research than ever before. Each day had a different sub-theme, with the first part of the morning session focusing on the efforts of BRC PIs in the bioresource business, and the second part of the afternoon session featuring presentations by leading researchers in their respective fields on their latest findings.

Pre-registration was required for this symposium, but the event was a great success, attracting approximately 1,100 registrants and more than 500 participants each day (about 1,500 in total).



リソースユーザーへ20周年記念イベントのお便り /
Announcement about 20th anniversary events for
BioResource users

KYOTO STEAM 2022 国際アートコンペティション KYOTO STEAM 2022 International Art Competition

- 2021年1月29日～2月13日
- 京都市京セラ美術館 新館 東山キューブ

植物-微生物共生研究開発チームが「KYOTO STEAM 2022 国際アートコンペティション」に参画しました。アーティストと企業・研究機関等がコラボレーション制作した作品を展覧し、表彰する、日本で類を見ない形式の国際コンペティションであり、公募にエントリーした企業等と100以上の作品プランの中から、11組のアーティストと企業等の組合せが選抜されました。植物-微生物共生研究開発チーム市橋泰範チームリーダーはアーティストである川松康徳氏に素材や知見を提供することで制作過程に関わりました。

Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team participated in the "KYOTO STEAM 2022 International Art Competition". It is an unprecedented international competition in Japan where artists, companies, research institutions, and other organizations collaborate to create artworks that are exhibited and awarded. Yasunori Ichihashi, team leader, was involved in the creation process by providing materials and knowledge to the artist, Yasunori Kawamatsu.

ラジオ番組「サイエンス・エクスプレス」出演 To be in a radio program "Science Express"

- 2021年3月14日、21日、28日 放送
- サイエンス・エクスプレス (FM84.2ラヂオつくば)

茨城県の研究所や科学館を紹介する科学系ラジオ番組「サイエンス・エクスプレス」(FM84.2ラヂオつくば)にiPS細胞高次特性解析開発チーム林洋平チームリーダーがゲストとして出演しました。BRCの活動やiPS細胞について中高生、一般に向けてわかりやすい解説がありました。

Yohei Hayashi, Team Leader of iPS Cell Advanced Characterization and Development Team, appeared as a guest on "Science Express" (FM84.2 Radio Tsukuba), a science radio program introducing research institutes and science museums in Ibaraki Prefecture, and gave an easy-to-understand explanation of iPS cells to middle and high school students and the general public.

ラジオ収録の様子 /
Radio recording



人材育成への取り組み

Efforts to Foster Personnel

第8回 Wakate BRC Conference 8th Wakate BRC Conference

- 2022年3月23日
- オンライン開催
- 第8回 WBC 実行委員会

Wakate BRC Conference (WBC) は研究室から非PIメンバーを募り運営される理研BRC内の交流イベントです。年に1度講演会等を開催しています。今回のWBCはオンライン開催となりました。研究系職員だけでなく、事務系職員からも参加者を募りました。プログラムには「スキルアップ」や「プレゼンテーションのノウハウ」について、分かりやすい講演が盛り込まれ、テクニカルセミナーとポスターによる研究紹介もありました。延べ120名以上の参加がありました。

The Wakate BRC Conference (WBC) is a social event run by non-PI members from laboratories. The WBC holds a lecture meeting once a year. This year's WBC was held online. Participants were invited not only from research staff but also from administrative staff. The program included easy-to-understand lectures on "skill-building" and "presentation know-how," as well as a technical seminar and poster presentation of research. In total, more than 120 people participated.



開催風景 (上)
Scene of WBC (Upper)



プログラム (右上)
Program (Upper-right)
ポスター (右下)
Poster (Lower-right)

研究業務報告会 Progress Report Session

実施日 Date	テーマ Theme	講演者 Speaker	所属 Division
2021. 4.15	レチノイドは、ウィルソン病特異的肝細胞において、セルロプラスミンの分泌を回復させ、脂肪蓄積による酸化ストレスを緩和する Retinoids rescue ceruloplasmin secretion and alleviate oxidative stress induced by lipid accumulation in Wilson's disease-specific hepatocytes	だん さん Dan Song	iPS細胞高次特性解析開発チーム iPS Cell Advances Characterization and Development Team
2021. 4.20	性スペクトラム表現型に対するマウスY染色体遺伝子の役割 Roles of mouse Y chromosome genes for sex spectrum phenotypes	的場章悟 Shogo Matoba	遺伝工学基盤技術室 Gene Engineering Division
2021. 5.27	マイクロバイオーム解析におけるシンプルな実験手法 High-throughput option of amplicon sequencing library preparation for plant root microbial community profiling	熊石 妃恵 Shikie Kumai	植物-微生物共生研究開発チーム Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team
2021. 6. 8	高輝度発光レポーターマウス Bright Bioluminescent Reporter Mice	仲柴 俊昭 Toshiaki Nakashiba	実験動物開発室 Experimental Animal Division
2021. 6.21	蛍光タンパク質の歴史と見分け方 Identification of Fluorescent Proteins based on their history	三輪 佳宏 Yoshihiro Miwa	遺伝子材料開発室 Gene Engineering Division
2021. 7. 6	細胞品質検査の継続的改善 Continuous improvement of quality inspection for cell lines	野口 道也 Michiya Noguchi	細胞材料開発室 Cell Engineering Division
2021. 7.15	細胞分化レポーターノックイン系における非特異的遺伝子挿入とその対処法 Solution for the non-specific gene insertions in the cell differentiation reporter knock-in system	中出 浩司 Koji Nakade	遺伝子材料開発室 Gene Engineering Division
2021. 7.29	腸内細菌叢研究の発展に貢献することを目指して Toward contribution to the development of intestinal microbiota research	坂本 光央 Mitsuo Sakamoto	微生物材料開発室 Microbe Division; JCM
2021. 8.26	シロイヌナズナ野生株の自動植物表現型解析システムRIPPSを用いた表現型解析 Phenotyping of Arabidopsis wild strains using an automated phenotyping system, RIPPS	井内 聖 Satoshi Iuchi 藤田 美紀 Miki Fujita	実験植物開発室 Experimental Plant Division
2021. 9. 2	バイオリソース表現型解析に資するシングルセル解析の高度化：細胞表面ビオチン化を利用した高精度マルチプレックス技術の開発 Improvement of single-cell RNA-sequencing technique for phenotypic analysis of bioresources: A highly efficient cell multiplexing method based on a universal cell surface labeling	杉本 道彦 Michihiko Sugimoto	疾患ゲノム動態解析技術開発チーム Technology and Development Team for Mammalian Genome Dynamics
2021. 9. 9	2020年度 BRC ウェブサイト アクセス数からわかること What we can see from the access count data of BRC website in 2020	栗原 恵子 Keiko Kurihara	統合情報開発室 Integrated Bioresource Information Division
2021. 9.30	新規ASD モデルマウスの開発と行動薬理解析 Development and behavioral-pharmacological analyses of a novel ASD model mouse	古瀬 民生 Tamio Furuse	マウス表現型解析開発チーム Technology and Development Team for Mouse Phenotype Analysis: Japan Mouse Clinic
2021.10. 7	疾患特異的オルガノイドによる脳神経疾患研究 Neurological disease research using disease-specific organoids	今村 恵子 Keiko Imamura	PS創薬基盤開発チーム iPSC-based Drug Discovery and Development Team
2021.11. 4	暗黒ゲノムの覗き方 How will we shine light on the dark genome?	天野 孝紀 Takanori Amano	次世代ヒト疾患モデル研究開発チーム Next Generation Human Disease Model Team
2021.11.18	マウスの遺伝品質検査の課題解決 Solving issues of genetic quality testings in mice	中田 初美 Hatsumi Nakata	実験動物開発室 Experimental Animal Division

■ 研究業務報告会 Progress Report Session

実施日 Date	テーマ Theme	講演者 Speaker	所属 Division
2021.11.25	シロイヌナズナゲノム編集リソースの寄託時および提供時検査 Inspection of genome edited Arabidopsis resources at depositing and providing	阿相 幸恵 Yukie Aso	実験植物開発室 iExperimental Plant Division
2021.12.16	ヒト造血幹細胞（ぞうけつかんさいぼう）増幅培養系の開発と細胞バンクにおける利用 Development of the culture system to expand human hematopoietic stem cells and its usage in RIKEN Cell Bank	須藤 和寛 Kazuhiro Sudo	細胞材料開発室 Cell Engineering Division
2021.12.23	酵母の遺伝学からバイオリソース研究への転換：ゲノム安定性維持の研究から遺伝子リソース配列解析系へ High-throughput option of amplicon sequencing library preparation for plant root microbial community profiling	飯田 哲史 Tetsushi Iida	遺伝子材料開発室 Bioresource Engineering Division
2022. 1. 6	Prolixibacter 属細菌 2 新種の硝酸からの亜硝酸生成による金属鉄腐食 Iron corrosion with nitrite reduced nitrate by two novel Prolixibacter species	飯野 隆夫 Takao Iino	微生物材料開発室 Microbe Division; JCM
2022. 1.20	マウス胎盤幹細胞のエピゲノム特性 —胎盤らしさを支えるクロマチン構造の解明— Epigenomic features of mouse trophoblast stem cells - Chromatin structure that supports the placental nature -	小倉 淳郎 Atsuo Ogura	遺伝工学基盤技術室 Bioresource Engineering Division
2022. 2. 3	情報工学を用いたリソース情報統合と横断検索の実現 Integration of Bioresource Information using IT and Implementation of the Cross Searches	白田 大輝 Daiki Usuda	統合情報開発室 Integrated Bioresource Information Division
2022. 2.17	微小液滴技術を用いた有用微生物スクリーニングプラットフォームの開発 Development of a screening platform for useful microorganisms using microdroplet technology	成川 恵 Megumi Narukawa	植物-微生物共生研究開発チーム Plant-Microbe Symbiosis Research and Development Team
2022. 3.17	患者特異的 iPS 細胞由来の血管オルガノイドを用いた病態モデルの構築 Development of disease models by blood vessel organoids derived from patient-specific iPS cells	伊藤 秀矩 Hidenori Ito	iPS 細胞高次特性解析開発チーム iPS Cell Advances Characterization and Development Team

■ プレスリリース Press Release

発表日 Date	タイトル Title	著者 Author	雑誌 Journal
2021. 4. 7.	RNAウイルスの感染を阻害する既存薬の同定 —複数の異なるRNAウイルスに対して宿主細胞の感受性を下げることで感染を抑制する薬剤— iPSC-screening for drug repurposing identifies anti-RNA virus agents modulating host cell susceptibility	Keiko Imamura, Yasuteru Sakurai, Takako Enami, Ran Shibukawa, Yohei Nishi, Akira Ohta, Tsugumine Shu, Jitsutaro Kawaguchi, Sayaka Okada, Thomas Hoenen, Jiro Yasuda, Haruhisa Inoue	FEBS Open Bio 10.1002/2211-5463.13153
2021. 4. 29	マイクロバイーム解析のための推奨分析手法を開発 —ヒト連微生物相解析データの産業利用に向けた信頼性向上に貢献— Validation and standardization of DNA extraction and library construction methods for metagenomics-based human fecal microbiome measurements	Mitsuo Sakamoto, Moriya Ohkuma, etc	Microbiome
2021. 5. 7	テングザルのお腹から新種の乳酸菌を発見！ 「ラクトバチルス ナサリディス」と命名 Lactobacillus nasalidis sp. nov., isolated from the forestomach of a captive proboscis monkey (Nasalis larvatus)	Suzuki-Hashido N, Tsuchida S, Hayakawa T, Sakamoto M, Azumano A, Seino S, Matsuda I, Ohkuma M, Ushida K.	International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2021 10.1099/ijsem.0.004787
2021.5.18	微生物生態系の安定性を俯瞰できる新手法 —腸内細菌叢の変動予測や制御への応用に期待— Energy landscape analysis elucidates the multistability of ecological communities across environmental gradients	Kenta Suzuki, Shinji Nakaoka, Shinji Fukuda, Hiroshi Masuya	Ecological Monographs 10.1002/ecm.1469

■プレスリリース Press Release

発表日 Date	タイトル Title	著者 Author	雑誌 Journal
2021. 7. 2	実験用マウスはメラトニンを合成できないので合成できるようにした — 時差ぼけ、成長、繁殖効率、消費エネルギーを調節 — Impact of endogenous melatonin on rhythmic behaviors, reproduction, and survival revealed in melatonin-proficient C57BL/6J congenic mice	Chongyang Zhang, Shannon J. Clough, Ekue B. Adamah-Biassi, Michele H. Sveinsson, Anthony J. Hutchinson, Ikuo Miura, Tamio Furuse, Shigeharu Wakana, Yui K. Matsumoto, Kazuo Okanoya, Randall L. Hudson, Tadafumi Kato, Margarita L. Dubocovich, Takaaki Kasahara	Journal of Pineal Research 10.1111/jpi.12748
2021. 9. 2	単独で鉄を酸化も還元もできる微生物の発見 — 微生物による鉄代謝の新たな一面 — A Single Bacterium Capable of Oxidation and Reduction of Iron at Circumneutral pH	Shingo Kato, Moriya Ohkuma	Microbiology Spectrum 10.1128/Spectrum.00161-21
2021. 9. 6	哺乳類の雌雄生殖細胞が小分子 RNA (piRNA) によって転位因子から守られることを証明 — ハムスターモデルを用いて雌性生殖細胞での piRNA 機能を初めて確認 — Formation of spermatogonia and fertile oocytes in golden hamsters requires piRNAs	Zuzana Loubalova, Helena Fulka, Filip Horvat, Josef Pasulka, Radek Malik, Michiko Hirose, Atsuo Ogura, Petr Svoboda	Nature Cell Biology 10.1038/s41556-021-00746-2
2021. 9. 14	農温度感受性センダイウイルスベクターを用いてヒト ES 細胞/iPS 細胞から骨格筋細胞を簡便に作製する技術開発 ～神経筋疾患病態モデル構築と創薬研究への利用～ Simple derivation of skeletal muscle from human pluripotent stem cells using temperature-sensitive Sendai virus vector	YGhee Wan Tan, Takayuki Kondo, Keiko Imamura, Mika Suga, Takako Enami, Ayako Nagahashi, Kayoko Tsukita, Ikuyo Inoue, Jitsutaro Kawaguchi, Tsugumine Shu, Haruhisa Inoue	Journal of Cellular and Molecular Medicine 10.1111/jcmm.16899
2021.10.25	上下動攪拌培養装置を用いた流体制御により誘導した反転型脳オルガノイド 脳オルガノイド誘導の流体シミュレーションと流体力学的理解 Induction of inverted morphology in brain organoids by vertical-mixing bioreactors	Dang Ngoc Anh Suong, Keiko Imamura, Ikuyo Inoue, Ryotaro Kabai, Satoko Sakamoto, Tatsuya Okumura, Yoshikazu Kato, Takayuki Kondo, Yuichiro Yada, William L Klein, Akira Watanabe, Haruhisa Inoue	Communication Biology 10.1038/s42003-021-02719
2021.12.15	次世代リプログラミング因子 KLF4 改変体の開発 — iPS 細胞をより高効率・高品質に作製 — Structurally-discovered KLF4 variants accelerate and stabilize reprogramming to pluripotency	Evgeniia Borisova, Ken Nishimura, Yuri An, Miho Takami, Jingyue Li, Dan Song, Mami Matsuo-Takasaki, Dorian Luijckx, Shihou Aizawa, Akihiro Kuno, Eiji Sugihara, Taka-aki Sato, Fumiaki Yumoto, Tohru Terada, Koji Hisatake, and Yohei Hayashi	iScience 10.1016/j.isci.2021.103525
2021.12.21	非標識の細胞形態情報を AI で高速に判別し、目的細胞を分取する技術を開発 In silico-labeled ghost cytometry	Masashi Ugawa, Yoko Kawamura, Keisuke Toda, Kazuki Teranishi, Hikari Morita, Hiroaki Adachi, Ryo Tamoto, Hiroko Nomaru, Keiji Nakagawa, Keiki Sugimoto, Evgeniia Borisova, Yuri An, Yusuke Konishi, Seichiro Tabata, Soji Morishita, Misa Imai, Tomoiku Takaku, Marito Araki, Norio Komatsu, Yohei Hayashi, Issei Sato, Ryoichi Horisaki, Hiroyuki Noji, & Sadao Ota	eLife 10.7554/eLife.67660
2022. 1. 17	DPANN 群に属する難培養性アーキアの培養に成功 寄生性アーキアの新しい生理生態を発見 Insight into the symbiotic lifestyle of DPANN archaea revealed by cultivation and genome analyses	Hiroyuki D. Sakai, Naswandi Nur, Shingo Kato, Masahiro Yuki, Michiru Shimizu, Takashi Itoh, Moriya Ohkuma, Antonius Suwanto, Norio Kurosawa	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 10.1073/pnas.2115449119
2021. 1. 18	胎盤らしさを支える分子基盤を解明 — 胎盤の細胞は高度に安定化されたクロマチン構造をとる — Highly rigid H3.1/H3.2–H3K9me3 domains set a barrier for cell fate reprogramming in trophoblast stem cells	Masashi Hada, Hisashi Miura, Akie Tanigawa, Shogo Matoba, Kimiko Inoue, Narumi Ogonuki, Michiko Hirose, Naomi Watanabe, Ryuichiro Nakato, Katsunori Fujiki, Ayumi Hasegawa, Akihiko Sakashita, Hiroaki Okae, Kento Miura, Daiki Shikata, Takahiro Arima, Katsuhiko Shirahige, Ichiro Hiratani, and Atsuo Ogura	Genes & Development 10.1101/gad.348782.121
2021.1.19	ゲノム編集の結果を正しく理解する ～複雑なゲノム編集変異を網羅的に解析する手法を開発 DAJIN enables multiplex genotyping to simultaneously validate intended and unintended target genome editing outcomes	Kuno A, Ikeda Y, Ayabe S, Kato K, Sakamoto K, Suzuki RS, Morimoto K, Wakimoto A, Mikami N, Ishida M, Iki N, Hamada Y, Takemura M, Daitoku Y, Tanimoto Y, Dinh TTH, Murata K, Hamada M, Muratani M, Yoshiki A, Sugiyama F, Takahashi S, Mizuno S	PLOS Biology 10.1371/journal.pbio.3001507

■ プレスリリース Press Release

発表日 Date	タイトル Title	著者 Author	雑誌 Journal
2022. 2.17	iPSコホートと機械学習を用いたアルツハイマー病再構成—CDiPテクノロジーによる無病社会に向けた孤発性高齢疾患の解説—ポイント Dissection of the polygenic architecture of neuronal A β production using a large sample of individual iPSC lines derived from Alzheimer' s disease patients	Takayuki Kondo, Norikazu Hara ⁴ , Satoshi Koyama, Yuichiro Yada, Kayoko Tsukita, Ayako Nagahashi, Takeshi Ikeuchi, Kenji Ishii, Takashi Asada, Tetsuaki Arai, Ryo Yamada, Haruhisa Inoue	Nature Aging 10.1038/s43587-021-00158-9
2022. 2.28	アルツハイマー病病因分子の産生量に影響を与える 土壌微生物叢由来代謝物の同定 ～土壌微生物叢 vs アミロイド β から新世代の微生物創薬へ～ Metabolites of soil microorganisms modulate amyloid β production in Alzheimer' s neuron deletion cells from chromosomes.	Takayuki Kondo, Tsuyoshi Yamamoto, Kaoru Okayama, Hideki Narumi, Haruhisa Inoue	Scientific Reports 10.1038/s41598-022-06513-z
2022. 3.29	ヒト iPS 細胞からの視細胞直接誘導法 —視細胞を迅速かつ簡便に分化誘導することが可能に— One-step induction of photoreceptor-like cells from human iPSCs by delivering transcription factors	Yuki Otsuka, Keiko Imamura, Akio Oishi, Takayuki Kondo, Mika Suga, Yuichiro Yada, Ran Shibukawa, Yasue Okanishi, Yukako Sagara, Kayoko Tsukita, Akitaka Tsujikawa, Haruhisa Inoue	Science 10.1016/j.isci.2022.103987

■ 安全な運営のための講習 Training to ensure safe operation

プログラム名 Program	受講者 Participants	受講人数 No. of participants
放射線業務従事者初期教育訓練 Initial education and training for employees working with radiation	新たに放射線管理区域に立入る予定のある者 Employees scheduled to newly take up duties in radiation controlled areas	21名 21 participants
エックス線装置等取扱者初期教育訓練 Initial education and training for employees using X-ray equipment	新たにエックス線装置を使用する予定のある者 Employees scheduled to use X-ray equipment	2名 2 participants
放射線業務従事者等再教育訓練 Secondary education and training for employees working with radiation	全放射線業務従事者及び全エックス線装置等取扱者 Employees working with radiation, X-ray equipment and the like	116名 116 participants
遺伝子組換え実験従事者教育訓練 Education and training for employees experimenting with recombinant DNA	新たに遺伝子組換え実験を行う予定のある者 Employees scheduled to newly commence experiments with recombinant DNA and employees newly working with microbes	38名 38 participants
動物実験従事者及び飼育技術者教育訓練 Education and training for employees conducting animal experiments and animal caretakers	新たに動物実験従事者または飼育技術者の登録を希望する者 Employees who will newly commence animal experiments and employees who wish to register as animal caretakers	29名 29 participants
動物実験従事者及び飼育技術者再教育訓練 Secondary education and training for employees conducting animal experiments and animal caretakers	全動物実験従事者及び飼育技術者 All employees conducting animal experiments and animal caretakers	175名 175 participants
高圧ガス保安教育訓練 Education and training in high-pressure gas safety	新たに液化窒素の液取りを行う予定のある者 Employees scheduled to handle liquid nitrogen	34名 34 participants
バイオセーフティ教育訓練 Education and training for biosafety	新たに各種実験（試薬類の取扱い含む）に従事する者 Employees scheduled to newly commence experiments with various biological interests and reagents	39名 39 participants
微生物取扱者教育訓練 Education and training for experiments involving microorganisms	新たに微生物等を取り扱う予定のある者 Employees scheduled to newly commence experiments with experiments involving microorganisms	20名 20 participants
人を対象とする研究に係る教育訓練 Education and training for research involving human subjects	新たに人（ヒト由来試料を含む）を対象とする研究を行う者 Employees scheduled to newly commence experiments with research involving human subjects	12名 12 participants
ヒトES細胞に係る教育研修 Lecture on research ethics for human ES cells	ヒトES細胞研究に係る全研究者 All employees scheduled to study in human ES cells	62名 62 participants

安全管理の取り組み

Initiatives in the Area of Safety Management

理研筑波事業所では、事業とその推進を支える研究活動が、各種法令、指針に基づき、安全かつ適切に行なわれるよう努めております。

RIKEN Tsukuba Branch endeavors to ensure that the bioresource project and research activities that support promotion of the project are conducted in a safe and proper manner that complies with the relevant laws and guidelines.

1. 遺伝子組換え実験安全管理

Safety management of genetic recombinant experiments

(1) 遺伝子組換え生物等規制法

遺伝子組換え生物の取り扱い等は、法律により、拡散防止措置や廃棄物処理、運搬の手続きが求められています。

(2) 遺伝子組換え実験安全委員会

研究計画は、外部の専門家を含めた委員会において、法令への適合性について審査を受けます。

2021年度末現在の課題数：22件 (P1・P1A・PIP・P2・P2A)

(3) 教育訓練の実施

実験従事者は、法令、規程、執るべき拡散防止措置及び安全取扱い等について教育訓練を受講します。

(4) 実験施設・設備の点検

安全管理室は、実験室の拡散防止措置、表示等の確認及び機器の検査を定期的の実施しています。

(1) Act on the Conservation and Sustainable Use of Biological Diversity through Regulations on the Use of Living Modified Organisms.

Based on the Act, living modified organisms (LMO) must be handled taking necessary measures to prevent their spread and must be disposed of properly. The Act also specifies procedures for transportation of LMO.

(2) Genetic Recombinant Experiment Safety Committee

Research protocols are reviewed by the safety committee, which includes outside experts, for compliance with the Act.

● The number of approved protocols as of the end of FY 2021: 22 (P1・P1A・PIP・P2・P2A)

(3) Education and training

Personnel who perform genetic recombinant experiments receive educational trainings on relevant laws, regulations, measures to prevent the spread of LMO, and safe handling of them.

(4) Inspection of experimental facilities and equipment

The Tsukuba Safety Center conducts periodic checks on required signs and other measures to prevent the spread of LMO and inspects equipment in laboratories.

2. 動物実験管理

Management of animal experiments

(1) 動物の愛護及び管理に関する法律・研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針

理研筑波地区で実施する動物実験は、動物愛護の観点、科学的な観点から動物実験等を適切に実施するためのガイドライン（基本指針）を遵守し、適切な管理を実施しています。

(2) 動物実験審査委員会

研究計画は、外部の専門家を含めた委員会において、特に3R（苦痛度軽減、代替法、使用動物数の低減）を

重点とし、科学的、倫理的な側面から実験実施が妥当か否かの審査を受けます。

さらに審査体制、実験動物の管理、飼育施設、教育訓練状況等に関し、基本指針への適合性について自己点検・評価を毎年行い、更に外部検証も実施しています。

●2020年度自己点検・評価結果

実験報告 適正：10件、要改善：0件

飼育管理報告 適正：6件、要改善：0件

(3) 教育訓練の実施

動物実験従事者は、基本指針等及び動物の取扱い等についての教育訓練を毎年受講します。

(4) 飼育施設等の点検・確認

飼育・保管・実験に応じた設備等の適正維持のため、定期的に点検・確認を実施しています。

(1) Act on Welfare and Management of Animals and Fundamental Guidelines for Proper Conduct of Animal Experiments and Related Activities in Academic Research Institutions

At RIKEN Tsukuba Campus, animal experiments are conducted and managed properly with consideration of both animal welfare and scientific rationale, complying with the Fundamental Guidelines.

(2) Institutional Animal Care and Use Committee of RIKEN Tsukuba Branch

The Institutional Animal Care and Use Committee, which includes outside experts, reviews research proposals from a scientific and ethical perspectives, especially in consideration of the principles of the 3Rs (Reduction of the number of animals used, Refinement of experiments to minimize pain and suffering, and Replacement with alternative techniques).

In addition, the committee conducts self-inspection and evaluation every year on the review system, management of experimental animals, animal rearing facilities, the status of implementation of education and training, etc. in conformity with the Fundamental Guidelines. Furthermore, the results of self-inspection and evaluation are verified by external authorities.

●Results of self-inspection and evaluation for FY 2020
Experiment reports: Appropriate 10, improvement required 0
Rearing management reports: Appropriate 6, improvement required 0

(3) Education and training

Personnel who conduct animal experiments receive educational trainings every year on the Fundamental Guidelines and appropriate handling of experimental animals.

(4) Inspection/check of animal rearing facilities

We conduct periodic inspections and checks in order to maintain facilities appropriate for animal rearing, storage, and experimentation.

3. 研究倫理

Research ethics

(1) 医学系指針、ゲノム指針、ES指針ほか

ヒト由来試料の取扱いは、適用を受ける指針に基づき行われます。これら指針の根本にある考え方は、被験

者（試料提供者）の尊厳、人権、個人情報を守るための機関の長、研究責任者等の責務、インフォームド・コンセント及び試料の管理等を適正に行うことにあります。

(2) 倫理審査委員会

研究計画の倫理的及び科学的妥当性について、医学、生物学、法律、生命倫理に関する専門家及び一般の立場の方を含めた委員会で審査を受け研究を実施しています。

●2021年度末現在の課題数：24件

(3) 教育訓練の実施

研究者等は、指針及び規程等を踏まえた倫理講習を受講します。

(1) Ethical Guidelines for Medical and Health Research Involving Human Subjects, Ethical Guidelines for Human Genome and Genetic Sequencing Research, Ethical Guideline for Human ES cells, etc.

RIKEN researchers handle human derived materials in accordance with the applicable guidelines. The concept underlying these guidelines is that both the institutional officials and the principal investigators are responsible for protecting human dignity, human rights and personal information of the research subjects who provide biological specimens for research. Based on this concept, researchers ensure that informed consent is obtained from the research subjects and that all materials are managed properly.

(2) Research Ethics Committee

The Research Ethics Committee, which comprises specialists in medicine, biology, and law and bioethics, as well as lay persons, reviews research proposals in terms of research ethics and scientific validity.

● The number of approved protocols as of the end of FY 2021: 24

(3) Education and training

Researchers and personnel concerned receive educational trainings based on the ethical guidelines and regulations.

4. 高圧ガス管理

Management of high-pressure gas

(1) 高圧ガス製造設備

貴重なバイオリソースを長期間安定して保存するため、液化窒素を用いて凍結保存容器で保管しています。これら容器へ液化窒素を供給するため液化窒素貯槽（5基）を設置し、さらに非常時でも液化窒素の供給を絶やさないため、液化窒素製造装置（14台）を整備しています。

(2) 高圧ガス保安会議

筑波事業所は第一種製造者として茨城県より製造の許可を受けているため、高圧ガス保安法に基づき、保安管理体制を整備しています。保安管理状況を把握し、危害予防に努めるため、定期的に保安会議を開催しています。



液体窒素製造装置（上）
液体窒素貯槽（左）

(1) High-pressure gas production equipment

In order to preserve valuable bioresources stably for a long period of time, we store them in liquid nitrogen in cryopreservation containers. We have installed 5 liquid nitrogen tanks that provide liquid nitrogen to these containers and 14 liquid nitrogen production facilities that enable continued supply of liquid nitrogen in case of emergency.

(2) High-pressure gas security committee

RIKEN Tsukuba Branch established the security management system based on the High-Pressure Gas Safety Act because we are approved as a Class 1 Producer by Ibaraki Prefecture. The high-pressure gas security committee meets periodically in order to understand the security management situation and thereby prevent high-pressure gas related hazards.

5. その他安全管理

Other issues on safety management

(1) 安全管理が必要なもの

前述の1～3の実験には、化学薬品、高圧ガス、放射性物質及び微生物などの取扱いを伴う場合が多く、各法令等に基づく規程等を定め、適正な取扱いを実施しています。また、研究廃棄物、実験排水等についても法令等を遵守し、適正な管理を行っています。

(2) 労働安全

労働者の安全確保、設備の健全性の確認等のため、定期的に研究室の巡視点検を行うとともに、安全のためのマニュアルや安全衛生情報紙によりその時々トピックス、事例などを踏まえ、労働安全確保のための啓発や周知活動を実施しています。

(1) Items that require safety management

The above-mentioned research activities frequently involve use of chemicals, high-pressure gas, radioactive materials, and microorganisms. The Safety Center has established in-house rules based on the relevant laws and regulations to ensure that they are handled in an appropriate manner. The Safety Center also manages disposal of laboratory waste, the laboratory drainage system, etc., carefully following the applicable laws and regulations.

(2) Occupational safety

RIKEN Tsukuba Branch conducts periodical patrol inspection in the laboratories in order to ensure the safety of workers and check the integrity of equipment. In addition, we provide safety manuals and circulate a monthly report with up-to-date topics and case studies on safety and health so that all personnel are aware of dangers and hazards associated with their activities.

6. 事業の透明性確保のための活動

Ensuring transparency of our activities

理研BRCの事業活動の意義やこれまでの歴史を知っていただくことを目的に、地域住民の方々には、事業活動と安全管理に関する状況を毎年報告する地元説明会を開催し、活動の透明性を確保すべく努めています。

Aiming to provide an opportunity to learn about the history of RIKEN and the significance of RIKEN BRC activities, we hold an annual explanatory meeting for local residents, at which we thoroughly report on our activities, especially our safety management practices, in order to ensure transparency in our activities.

予算と人員

Budget & Personnel Organization

予算 Budget

(百万円/million yen)

● 運営費交付金／Government Funding for Operation	2,983
---	-------

● バイオリソース分譲収入及び技術研修収入／User's Fee and Technical Training Fee*	172
--	-----

● 外部資金獲得額／External Research Grants**	285
--------------------------------------	-----

*令和3年度実績／FY2021 achievement

**間接経費を含まない

人材

Personnel Organization

●研究開発／ Developmental Research Staff	412
●定年制常勤研究者／ Permanent Research Scientist	18
●無期雇用職員／ Indefinite-term Employee	21
●任期制常勤研究者／ Fixed-term Full-time Research Scientist	29
●任期制非常勤研究者／ Fixed-term Part-time Research Scientist	4
●特別嘱託職員／ Special Temporary Employee	5
●テクニカルスタッフ／ Technical Staff	55
●アシスタント／ Assistant	8
●基礎科学特別研究員／ Special Postdoctoral Researcher	2
●大学院生リサーチアソシエイト／ Junior Research Associate	5
●派遣職員／ Agency Staff	49
●客員研究員／ Visiting Scientist	47
●研修生・研究生／ Student Trainee・Research Fellow	12
●業務委託・パート等／ Outsourcing, Part-time Worker	97
●事務職員／ Administrative Employees & Tsukuba Safety Center Staff	60

(2022.4.1)

評価

Evaluations

理研における評価 Evaluation System in RIKEN



リソース検討委員会 Resource Committees

それぞれのバイオリソースに関する整備方針・戦略について、評価並びに助言・提言。

Every year, six Resource Committees offer evaluation and advice, and formulate proposals concerning plans and strategies for each of the bioresources held by the RIKEN BRC.

レビュー委員会 Review Committees

基盤技術開発事業及びバイオリソース関連研究開発プログラムに属する6研究室の成果に対し、2～3年ごとに評価並びに助言・提言。

Every 2-3 years, the Review Committee evaluates the outcomes produced by six laboratories belonging to the Key Technology Development Division or the Bioresource Frontier Programs, and offer advice and formulate proposals.

バイオリソース研究センターアドバイザリー・カウンスル BioResource Research Center Advisory Council (BRAC)

国内外有識者5名と各リソース検討委員長、レビュー委員長により、理研BRCの活動全般を評価し、センター長に対して助言と提言。

Consists of six international and domestic experts and the chairpersons of each of the Center's six Resource Committees and a Review Committee, the RIKEN BRAC evaluates the BRC's activities as a whole, and formulates proposals for the BRC's director.

評価・助言 Evaluation and Advice

日本語 → <https://web.brc.riken.jp/ja/reports>

English → <https://web.brc.riken.jp/en/reports>



理研アドバイザリー・カウンスル RIKEN Advisory Council (RAC)

国内外有識者と各センターAC委員長により、理研の活動全般を評価、理事長に対して提言。

Consists of International and domestic experts and the chairpersons of the Advisory Councils of some of RIKEN's centers, the RAC conducts evaluations of RIKEN's activities as a whole, and formulates proposals for RIKEN's president.

評価・助言 Evaluation and Advice

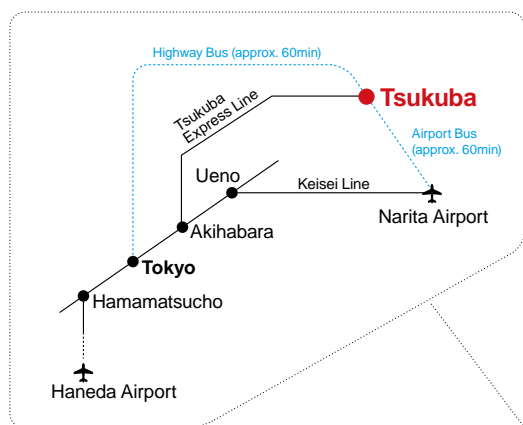
日本語 → https://www.riken.jp/about/plans_reports/evaluations/rac/

English → https://www.riken.jp/en/news_pubs/pubs/reports/rac/index.html

外部評価 External Evaluation

独立行政法人評価
Evaluation as independent administrative institution

総合科学技術・イノベーション会議
Council for Science, Technology and Innovation



Cell Engineering



Experimental Animal



TSUKUBA CAMPUS

Address: 3-1-1 Koyadai, Tsukuba, Ibaraki, 305-0074, Japan
Phone: +81-29-836-9111
Fax: +81-29-836-9109

KEIHAN'NA CAMPUS

Address: 1-7 Hikaridai Seika-cho Soraku-gun Kyoto-fu, Japan