

ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat)事業について (平成 19 年 1 月～平成 20 年 12 月)

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設は、第 1 期ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(平成 14 年度から 18 年度)に引き続き、第 2 期ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(平成 19 年度より開始)の中核機関として採択され、ラットリソースの収集・保存・提供事業を行っています。以下にその概要並びに平成 19 年 1 月から平成 20 年 12 月までの成果を報告します。

第 2 期ナショナルバイオリソースプロジェクト

平成 14 年度から文部科学省は、ライフサイエンスの総合的な推進を図る観点から、実験動物や ES 細胞などの幹細胞、各種生物の遺伝子材料などのバイオリソースのうち、国が戦略的に整備することが重要なものについて、体系的な「収集・保存・提供」などを行うための体制を整備することを目的として、ナショナルバイオリソースプロジェクト National Bio Resource Project を開始しました。

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設は、第 1 期(平成 14 年度～18 年度)にひきつづき、第 2 期(平成 19 年度～23 年度)においても、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」(NBRP-Rat)の中核機関として選ばれました。この事業は、遺伝的にも特性においても明確な情報をもったラット系統の利用を容易にすることが目的です。

ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」の事業内容

1)ラット系統の収集・保存・提供

これまでに国内 72 機関、海外 2 機関より 537 系統のラットを収集しました。その内訳は、近交系 123 系統、ミュータント系 85 系統、コンジェニック系 199 系統、トランスジェニック系 53 系統からなります。さらに、ENU ミュータジェネシスにより作製された 4,606 頭の G1 ラットの凍結精子バンクとゲノム DNA バンクからなるラットミュータントアーカイブ(KURMA: Kyoto University Rat Mutant Archive)を収集しました。

収集したすべての系統については、胚・配偶子で凍結保存しています。これまで中核機関において、503 系統から 84,172 個(チューブ本数 9,155)の胚を保存し、214 系統から人工授精用の精子を凍結保存(ストロー本数 11,425 本)しました。不測の事態に備え、サブ機関の理研 BRC に 28 系統 1,412 個の保存胚、10 系統 50 本の凍結精子および KURMA より 1,492 サンプルを輸送し、バックアップ保管しました。また、209 系統から高品質のゲノム DNA を抽出し保存しました。

収集した系統は、MTA(生物遺伝資源提供同意書)を締結して利用することができます。これまで海外 22 機関、国内 101 機関に、延べ 616 件(2,990 匹・検体)の提供を行いました。生体だけでなく、胚、臓器あるいはゲノム DNA 等、ラットユーザーの要望に応じて提供しています。

2)ラットリソースリサーチ研究会

第2期NBRP-Ratから、ラットコミュニティの活性化を計ることを目的として、ラットリソースリサーチ研究会を開催しています。第1回ラットリソースリサーチ研究会は、平成20年1月18日に聖護院御殿荘で開催され、69名の研究者が参加しました。第2回ラットリソースリサーチ研究会は、平成21年1月30日に京都大学百周年時計台記念館で開催され、86名の研究者が参加しました。ラットリソースにおける遺伝子改変技術や胚凍結技術、ラットリソースを用いた応用研究(神経疾患、高脂血症、癌、感染症)に関する講演が行われ、活発な議論が繰り広げられました。

3)データベース

収集したラットシステムのリスト及び得られたシステムデータは、すべてのラットユーザーが自由に活用できるよう、ホームページ(www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr)上で公開しています。平成20年4月に刷新され、より使いやすくなったホームページでは、(1)ラットシステムデータベース、(2)特性検査、(3)ゲノム検査、(4)系統樹、(5)レポーター遺伝子導入ラット、(6)F344-BACブラウザ、(7)ラットミュータントマップ、(8)LEXF/FXLEリコンビナント近交系、(9)ラットミュータントアーカイブ(KURMA)などを、ユーザーフレンドリーなデータベースとして公開しています。以下に各項目を紹介します。

(1)ラットシステムデータベース

NBRP-Ratで収集したラットシステムの系統情報を公開しています。寄託者情報、保存状況、由来、特性情報、遺伝子診断、参考文献などを調べることができます。

(2)特性検査

標準系統やミュータント系統など雌雄を含む約200系統のラットについて、生理学、血液学、行動学、解剖学など、109項目の「特性プロファイル」を作成しました。グラフチャートツールにより、系統間を比較することができます。

(3)ゲノム検査

ラット全染色体上の357個のSSLP(Simple Sequence Length Polymorphism)マーカーによって、ラットシステムの「ゲノムプロファイル」を作成しました。ラットシステム間の多型率を一目で見ることができます。

(4)系統樹

近交系ラット132系統の系統樹を表示します。ラットシステムの遺伝的背景を比較することで、遺伝的に異なる系統や近縁系統を選択することができます。

(5)レポーター遺伝子導入ラット

GFP(Green Fluorescent Protein)などのレポーター遺伝子を導入したトランスジェニックラットは、移植研究や幹細胞研究等に有用なモデル動物です。全身あるいは脳、肝臓等の局所にレポーター遺伝子を発現するラットを検索することができます。

(6)F344-BACブラウザ

ゲノム解析事業において整備した、LE/Stm と F344/Stm の BAC ライブラリーを公開しています。ゲノムブラウザから BAC クローンを選択し、理研 BRC から入手することができます。

(7)ラットミュータントマップ

ミュータントラットの多くはすでに原因遺伝子が同定されており、ヒト疾患のモデル動物として広く利用されています。ラットミュータントマップではそのようなラットを紹介しています。

(8)LEXF/FXLE リコンビナント近交系

多因子疾患の量的形質座位 (QTL: Quantitative Trait Loci) 解析に有用な 34 ラインの LEXF/FXLE リコンビナント近交系の概要と QTL を公開しています。

(9)ラットミュータントアーカイブ (KURMA)

ENU ミュータジェネシスの概要と変異例を紹介しています。NBRP-Rat には、ENU ミュータジェネシスにより作製された G1 ラット約 5,000 匹分のゲノム DNA と凍結精子が寄託されています。KURMA を用いることで、標的とする遺伝子に突然変異が入った遺伝子変異ラットを作製することができます。

4)NBRP-Rat 活動報告

NBRP-Rat の成果により、表現型と遺伝型が明確なラットシステムを、利用者に迅速に提供できる体制が整備できました。その結果、ラットユーザーは、NBRP-Rat から発信される系統情報やリソースそのものを利用して、着実に優れた研究成果を生み出しています。とりわけ平成 20 年は日本でも鼠年にあたり、NBRP-Rat に関連する 3 編の論文が Nature Genetics 5 月号 'Year of the rat' に掲載されました。

ナショナルバイオリソースプロジェクト関連事業

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設は、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」の中核機関として、ラットリソースの収集・保存・提供事業以外にも、以下の関連事業を行いました。

5)ナショナルバイオリソースプロジェクトゲノム解析事業

平成 17 年度、18 年度のナショナルバイオリソースプロジェクトゲノム解析事業に採択され、ラット F344/Stm 系統と LE/Stm 系統の BAC ライブラリー(各約 10 ゲノム分)を作製し、F344/Stm の BAC エンドシーケンスを行いました。平成 20 年度に採択されたゲノム情報等整備事業では、ラット LE/Stm の BAC エンドシーケンスを行い、得られた情報から SNP 情報を整備しました。これらシーケンス情報、BAC クローン情報は、全てゲノムブラウザ(www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr)で公開されています。遺伝子多型と病態発症との関連を調べるためのゲノム解析ツールが整い、QTL 遺伝子の同定が飛躍的に進むと期待しています。

6)ナショナルバイオリソースプロジェクト基盤技術整備事業

平成 19 年度、20 年度の基盤整備事業に採択され、理研 BRC、熊本大学と共にマウスおよびラットリソースの輸送システムの開発を行いました。質の高いラットリソースを安全に輸送するシステムを開発するため、輸送箱の性能試験、胚・精子の簡易輸送法の開発、液体窒素を用いない胚・精子の凍結法の開発を行ってきました。安心、安全、安価な輸送法を開発して成果を利用者に還元していきたいと考えています。

NBRP-Rat 活動記録リスト(平成 19、20 年)

平成 19 年 2 月、EURATools 1st Annual Meeting(チェコ・プラハ)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 4 月、日本実験技術者協会九州支部 創立 30 周年記念講演会にて NBRP-Rat について紹介
平成 19 年 5 月、第 54 回日本実験動物学会(江戸川区)にて NBRP ラットの成果を発表
平成 19 年 6 月、第 15 回筑波実験動物研究会にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 8 月、第 24 回日本疾患モデル学会総会(つくば市)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 9 月、神経科学会にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 9 月、第 43 回高血圧関連疾患モデル学会学術総会(大阪市)にて NBRP ラットの成果発表
平成 19 年 10 月、第 3 回日韓共同繁殖生物学シンポジウム(文京区)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 10 月、第 21 回国際哺乳類ゲノム会議(IMGC)(京都市)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 12 月、American Epilepsy Society 2007 annual meeting(アメリカ Philadelphia)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 12 月、第 30 回日本分子生物学会年会(横浜市)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 19 年 12 月、Rat Genomics & Models(米国 Cold Spring Harbor)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 20 年 1 月、ナショナルバイオリソースプロジェクト「ラット」主催 第 1 回ラットリソースリサーチ研究会(京都市)を開催
平成 20 年 2 月、第 10 回生殖発生工学セミナー(相模原市)にて NBRP ラットの DVD を配布
平成 20 年 3 月、NBRP キックオフシンポジウム(千代田区)にて NBRP ラットのパンフレット・DVD を配布
平成 20 年 3 月、NBRP データベース研究会にて NBRP ラットのデータベースを紹介
平成 20 年 5 月、日本実験動物科学技術 2008 大会(第 55 回日本実験動物学会総会、第 42 回日本実験動物技術者協会総会)にて NBRP ラットの事業を紹介
平成 20 年 6 月、第 13 回国際 SHR シンポジウム(チェコ・プラハ)にて NBRP-Rat について紹介
平成 20 年 7 月、ラット生殖工学ワークショップ(相模原市)にて NBRP-Rat について紹介
平成 20 年 9 月、日本動物学会第 79 回大会特別企画 ナショナルバイオリソースプロジェクト紹介

(福岡市)にて NBRP-Rat について紹介

平成 20 年 9 月、高温耐性 FOK ラットシンポジウム 2008(名古屋市)にて ENU ミュータジェネシス (NBRP-Rat 寄託ラット)について紹介

平成 20 年 9 月、the 3rd AFLAS congress(中国 北京)にて NBRP-Rat について紹介

平成 20 年 12 月、関西実験動物研究会第 100 回研究会(京都市)にて NBRP ラットについて紹介

平成 20 年 12 月、Rat Genomics & Models(英国 Hinxton)にて NBRP ラットの事業を紹介

平成 20 年 12 月、第 31 回日本分子生物学会年会(神戸市)にて NBRP ラットの事業を紹介

NBRP-Rat で整備されたバイオリソースを利用した主な研究成果・論文(平成 19、20 年)

Mashimo T, Yanagihara K, Tokuda S, Voigt B, Takizawa A, Nakajima R, Kato M, Hirabayashi M, Kuramoto T, Serikawa T. An ENU-induced mutant archive for gene targeting in rats. *Nat Genet.* 40(5):514-5, 2008.

Aitman TJ, Critser JK, Cuppen E, Dominiczak A, Fernandez-Suarez XM, Flint J, Gauguier D, Geurts AM, Gould M, Harris PC, Holmdahl R, Hubner N, Izsvák Z, Jacob HJ, Kuramoto T, Kwitek AE, Marrone A, Mashimo T, Moreno C, Mullins J, Mullins L, Olsson T, Pravenec M, Riley L, Saar K, Serikawa T, Shull JD, Szpirer C, Twigger SN, Voigt B, Worley K. Progress and prospects in rat genetics: a community view. *Nat Genet.* 40(5):516-22, 2008.

STAR Consortium, Saar K, Beck A, Bihoreau MT, Birney E, Brocklebank D, Chen Y, Cuppen E, Demonchy S, Dopazo J, Flicek P, Foglio M, Fujiyama A, Gut IG, Gauguier D, Guigo R, Guryev V, Heinig M, Hummel O, Jahn N, Klages S, Kren V, Kube M, Kuhl H, Kuramoto T, Kuroki Y, Lechner D, Lee YA, Lopez-Bigas N, Lathrop GM, Mashimo T, Medina I, Mott R, Patone G, Perrier-Cornet JA, Platzer M, Pravenec M, Reinhardt R, Sakaki Y, Schilhabel M, Schulz H, Serikawa T, Shikhagaie M, Tatsumoto S, Taudien S, Toyoda A, Voigt B, Zelenika D, Zimdahl H, Hubner N. SNP and haplotype mapping for genetic analysis in the rat. *Nat Genet.* 40(5):560-6, 2008.

Kuramoto T, Nakanishi S, Serikawa T. Functional polymorphisms in inbred rat strains and their allele frequencies in commercially available outbred stocks. *Physiol Genomics.* 22:33(2):205-11, 2008.

Voigt B, Kuramoto T, Mashimo T, Tsurumi T, Sasaki Y, Hokao R, Serikawa T. Evaluation of LEXF/FXLE rat recombinant inbred strains for the genetic dissection of complex traits. *Physiol Genomics* 32(3): 335-342, 2008.

Kuwamura M, Okajima R, Yamate J, Kotani T, Kuramoto T, Serikawa T. Pancreatic Metaplasia in the Gastro-achlorhydria in WTC-dfk Rat, a Potassium Channel *Kcnq1* Mutant. *Vet Pathol.* 45(4):586-91, 2008.

Tokuda S, Kuramoto T, Tanaka T, Kaneko S, Takeuchi IK, Sasa M, and Serikawa T. The ataxic groggy rat has a missense mutation in the P/Q-type voltage gated Ca²⁺ channel $\alpha 1A$

subunit gene and exhibits absence seizures. *Brain Res* 1133:168-177, 2007.

Kashiwazaki N, Seita Y, Naoi K, Takizawa A, Kuramoto T, and Serikawa T. Generation of rat offspring derived from cryopreserved spermatozoa in Japanese National Bioresources Reprod Fertil Dev. 19(1):124-125, 2007.