

【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】

【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】

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設は、平成 14 年度から 18 年度まで、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・提供事業を行いました。平成 19 年 3 月の事業終了を控え、以下にその概要並びに成果を報告します。

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、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。この事業では、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を目的としました。

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

国内 52 機関、海外 2 機関より 375 系統のラットを収集しました(平成 19 年 2 月 21 日現在)。その内訳は、近交系 113 系統、ミュータント系 75 系統、コンジェニック系 146 系統、トランスジェニック系 41 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 1,735 匹の G1 ラットの凍結精子バンクとゲノム DNA バンクからなる Kyoto University Rat Mutant Archive を収集しました。

胚・配偶子の凍結保存は、中核機関において、164 系統から 11,686 個の 2 細胞期胚と 3,266 個の桑実胚を保存しました。また、91 系統(309 個体)から人工授精用の精子を凍結保存しました。その他に、サブ機関の(財)実験動物中央研究所、自治医科大学において、253 系統から 9,721 個の胚を採取・保存し、中核機関にて保管しました。不測の事態に備え、サブ機関の理研 BRC に 19 系統 960 個の胚を輸送し、保管しました。162 系統から高品質のゲノム DNA を抽出し保存しました。

海外 9 機関、国内 68 機関に延べ 399 件(1,863 匹・検体)の提供を行いました。

以上の事業により、NBRP-Rat は、質と量ともに世界最大規模のラットリソースセンターに成長しました。

2)ラットフェノームプロジェクト

NBRP ラットでは、集められたラット系統の利用価値を高めるために、「ラットフェノームプロジェ

クト」を行いました。このフェノームプロジェクトは、特性検査と遺伝検査の2本柱からなっています。

特性検査では、機能観察総合評価、行動解析、血圧・心拍数、血液生化学検査、血液学的検査、尿量・尿中電解質、解剖検査からなる109の項目について検査を行い、それぞれのラット系統について「特性プロフィール」を作成しました。これらの検査は、サブ機関である日精バイリス滋賀研究所が担当しました。

特性検査の結果から、「ラット」の生理学、血液学、解剖学的な基準値(平均値、標準偏差など)が得られました。また、各検査項目について、最大の検査値を持つ系統から最小値の系統までを並べることができました。これを「系統ランキング」と呼んでいます。「系統ランキング」の作成により、新たな疾患モデルの候補の発見、実験目的にあった系統選択の重要性などが明らかになりました。

遺伝検査では、ラット全染色体に散在する357個のマイクロサテライトマーカーを用いて各系統の「ゲノムプロフィール」を作成しました。この「ゲノムプロフィール」は、遺伝モニタリング、遺伝解析の基礎的情報を提供します。さらに「ゲノムプロフィール」から作成した「ラット系統樹」により、系統間の遺伝的な近似性、相違性がゲノムレベルで明らかとなりました。

3) データベース

収集したラット系統のリスト及び得られた系統データは、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。フェノームプロジェクトの特性検査、遺伝検査で得られた全ての検査値についても、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。

4) 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との連携

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)を作製しました。これらのライブラリーは約600枚の384穴プレートからなり、中核機関とバックアップとして理研GSCにて保存されています。次いで、これらBACライブラリーを対象に、各クローンのBACエンドシーケンスを実施しました。シーケンス情報は、既存のゲノムブラウザで閲覧できるよう分析・整理して、公開する予定です。

5) ラット胚・配偶子の保存技術の標準化とその普及

ラット胚連絡会議を定期的に関催し、ラット胚・配偶子の保存技術の標準化を行いました。サブ機関の(財)実験動物中央研究所、生理学研究所、麻布大学と協力して、詳細なプロトコール(DVD)を作成し、関係者に無償で配布しました。また、平成18年10月28日、ラット生殖技術の進歩に関するシンポジウムを日本実験動物技術者協会と共催し、ラット胚・配偶子の保存技術の普及活動を行いました。

NBRP-Rat の成果により、表現型と遺伝型が明確なラット系統を、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「ラット」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。

第 1 期NBRP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

- Serikawa, T. Colourful history of Japan's rat resources. *Nature* 429:15, 2004
- Kuramoto, T., Kuwamura, M. and Serikawa, T., Rat neurological mutations cerebellar vermis defect and hobble are caused by mutations in the netrin-1 receptor gene *Unc5h3*, *Brain Res Mol Brain Res*, 122 103-8 (2004).
- Kuwamura, M., Kanehara, T., Tokuda, S., Kumagai, D., Yamate, J., Kotani, T., Nakane, Y., Kuramoto, T. and Serikawa, T., Immunohistochemical and morphometrical studies on myelin breakdown in the demyelination (dmy) mutant rat, *Brain Res*, 1022 110-6 (2004).
- Tokuda, S., Kuramoto, T. and Serikawa, T., PCR-based genotyping of the rat *Atrn(mv)* mutation, *Exp Anim*, 53 73-6 (2004).
- Mashimo T, Voigt B, Kuramoto T, Serikawa T. Rat Phenome Project: the untapped potential of existing rat strains. *J Appl Physiol*. 2005 Jan;98(1):371-9.
- Choose Your Rat. *Science*, July 2005; 309:361
- Kuramoto, T., Morimura, K., Nomoto, T., Namiki, C., Hamada, S., Fukushima, S., Sugimura, T., Serikawa, T. and Ushijima, T., Sparse and Wavy Hair: A New Model for Hypoplasia of Hair Follicle and Mammary Glands on Rat Chromosome 17, *J Hered* (2005).
- Kuwamura, M., Muraguchi, T., Matsui, T., Ueno, M., Takenaka, S., Yamate, J., Kotani, T., Kuramoto, T., Guenet, J.L., Kitada, K. and Serikawa, T., Mutation at the *Lmx1a* locus provokes aberrant brain development in the rat, *Brain Res Dev Brain Res*, 155 99-106 (2005).
- Mashimo, T., Voigt, B., Kuramoto, T. and Serikawa, T., Rat Phenome Project: the untapped potential of existing rat strains, *J Appl Physiol*, 98 371-9 (2005).
- Kuramoto, T., Gohma, H., Kimura, K., Wedekind, D., Hedrich, H.J. and Serikawa, T., The rat pink-eyed dilution (p) mutation: an identical intragenic deletion in pink-eye dilute-coat strains and several Wistar-derived albino strains, *Mamm Genome*, 16 712-9 (2005).
- Aitman, T.J., Dong, R., Vyse, T.J., Norsworthy, P.J., Johnson, M.D., Smith, J., Mangion, J., Robertson-Lowe, C., Marshall, A.J., Petretto, E., Hodges, M.D., Bhangal, G., Patel, S.G., Sheehan-Rooney, K., Duda, M., Cook, P.R., Evans, D.J., Domin, J., Flint, J., Boyle, J.J., Pusey, C.D., and Cook, H.T. Copy number polymorphism in *Fcgr3* predisposes to glomerulonephritis in rats and humans. *Nature*, 439: 851-855., 2006.
- Gohma, H., Kuramoto, T., Kuwamura, M., Okajima, R., Tanimoto, N., Yamasaki, K., Nakanishi, S.,

- Kitada, K., Makiyama, T., Akao, M., Kita, T., Sasa, M., and Serikawa, T. WTC deafness Kyoto (dfk): a rat model for extensive investigations of Kcnq1 functions. *Physiol Genomics*, 24: 198-206, 2006.
- Mashimo T, Voigt B, Tsurumi T, Naoi K, Nakanishi S, Yamasaki K, Kuramoto T, and Serikawa T A set of highly informative rat simple sequence length polymorphism (SSLP) markers and genetically defined rat strains. *BMC Genetics* 7: 19, 2006
- 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 alpha1A 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.