

# 行動代謝分子解析センター CENTER FOR GENETIC ANALYSIS OF BEHAVIOR

## 遺伝子改変動物作製室 Section of Mammalian Transgenesis

### 職員 (Staff)



#### 准教授 平林 真澄

名古屋保健衛生大学(現:藤田保健衛生大学)衛生学部卒, 農学博士。雪印乳業株式会社生物科学研究所研究員, (株)ワイエスニューテクノロジー研究所発生生物学研究室室長, 生理学研究所客員助教授を経て, 平成14年4月から現職。  
専攻: 実験動物学。

#### Associate Professor: HIRABAYASHI, Masumi, PhD

1981 Graduated from Faculty of Hygiene, Fujita Health University. 1981 Research Fellow, Laboratory Animal Center, Fujita Health University. 1983 Researcher, Research Institute of Life Science, Snow Brand Milk Products, Co. Ltd. 1992 Group Leader, YS New Technology Institute, Inc. 2001 Adjunct Associate Professor, 2002 Associate Professor, NIPS. Speciality: Laboratory Animal Science



#### 助教 富田 江一

三重大学医学部卒, 京都大学大学院医学研究科修了, 医学博士。学術振興会特別研究員, 京都大学ウイルス研究所助手, ドイツ Max-Planck 神経生物学研究所非常勤研究員を経て, 平成18年7月より現職。  
専攻: 神経科学。

#### Assistant Professor: TOMITA, Koichi, MD, PhD

1994 Graduated from Mie University, School of Medicine. 1998 Graduated from Kyoto University, Graduate School of Medicine. 1998 Postdoctoral Fellow, Kyoto University. 1999 Assistant Professor, Kyoto University. 2000 Postdoctoral Fellow, Max-Planck Institute of Neurobiology. 2006 Assistant Professor, NIPS. Speciality: Neuroscience



#### 研究員 加藤 めぐみ

信州大学繊維学部卒, 同大学大学院応用生物科学科修士課程修了, 工学博士。生理学研究所専門研究職員を経て平成19年4月から現職。  
専攻: 生殖工学。

#### Postdoctoral Fellow: KATO, Megumi, PhD

2000 Graduated from Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University. 2002 Completed the master course in Graduate School of Science and Technology, Shinshu University. 2004 Research Fellow, NIPS. 2007 Postdoctoral Fellow, NIPS. Speciality: Reproductive Engineering

### 研究内容

ポストゲノム時代の到来により, 脳機能のような複雑な生物反応機構の解明に科学がどこまで迫れるかが問われることになった。よって, 外科的手術が容易で, 脳地図の解析が進み, かつ心理生理学的解析にも汎用されているマウス・ラットが, 今後ますます分子レベルの研究に利用されてくるだろう。遺伝子改変動物作製室では, 遺伝子改変動物(マウス, ラット)の作製技術を提供しつつ, 内在性の遺伝子を狙って破壊したノックアウトラット作製技術(マウス以外では作製不可能)の開発, 外来遺伝子を導入したトランスジェニックラット作製の効率改善, ならびに作製したノックアウトマウスやトランスジェニックマウス・ラットを利用した大脳皮質第一次視覚野に存在するカラム構造の形成メカニズム・発達メカニズムの解明を目的として, 以下の研究を行っている。

#### (1) クローンラット作製技術の確立

核移植(クローン作製)技術を応用することにより, 体細胞等の細胞からキメラを介することなくノックアウトマウスが作製できると証明された。しかしラットの卵母細胞は第二減数分裂中期で減数分裂を停止していないことがクローン個体の作製を困難にしている。われわれはラット卵母細胞における細胞分裂停止因子(Cytostatic factor:CSF)の正体とその役割を追究しており, 得られた知見を元にクローン作製に最も適したラット系統を選抜し, クローン個体の作製方法を確立しようとしている。

#### (2) トランスジェニックラット作製の効率化

外来 DNA を前核期卵子に顕微注入する方法, および精子に外来 DNA を付着させて顕微授精する方法のいずれでも, トランスジェニック動物が作出される割合は著しく低い。外来 DNA の導入卵子は細胞周期が G1ステージに入るたびに発生遅延・阻害を受けることから, この現象の原因を追究しつつその回避策を模索している。発生阻害を受けずに分娩に至る個体数を増やすことを狙い, 結果的に総処理卵子に対するトランスジェニックラットの作製効率を改善しようとしている。

#### (3) 大脳皮質第一次視覚野に存在するカラム構造の形成メカニズム・発達メカニズムの解明

大脳皮質第一次視覚野には, カラム構造をした機能ユニットが多く存在する。中でも, 遠近感の知覚に重要と考えられる眼優位カラムは, 発生研究および可塑性研究の一番の対象である。この眼優位カラム構造は, 出生前後の発生期に大まかに形成され, その後の発達期, 外部からの視覚入力によって機能的なカラム構造へと可塑的に構築される。しかしながら, この過程における詳細な分子メカニズム・細胞メカニズムは明らかにされていない。当教室では, 発生期から発達期にかけて, このカラム構造に特異的に発現している因子群の単離に成功した。ノックアウトマウスおよびトランスジェニックマウスのシステムを利用して, この因子群の機能解析を行うことで, 発生期から発達期における, 眼優位カラム形成を司る分子メカニズムを明らかにする。さらに, この因子群のプロモーター下に蛍光タンパクを発現させたトランスジェニックマウスを作製し, 発生期から発達期にかけて, この動物の眼優位カラム構築の変遷を追跡することで, 眼優位カラム形成の

細胞メカニズムを探る。

## Research works

Our research subjects include two major projects as follows.

First, we have focused on the reproductive biotechnology to understand gamete interactions during fertilization and the development of novel methodology to produce transgenic animals. Among them, we have a special interest in the increasing demand for production of gene-targeted (KO: knock-out) rats because use of rats rather than mice is advantageous in aspects of microsurgery and mapping of brain functions. Embryonic stem cell line and nuclear transfer (cloning) protocol have not yet been established in rats, attributing to slow progress of brain research. At present, we devote all our skills (e.g. in vitro fertilization, animal cloning, microinsemination) to look for the possibility of producing KO rats, and also provide collaborative services to produce conventional knock out mice, and transgenic mice and rats by pronuclear DNA microinjection or intracytoplasmic sperm injection (ICSI)-mediated DNA transfer.

Second, by using techniques of rodent transgenesis, we have analyzed the molecular and cellular mechanisms to form functional ocular dominance (OD) columns in the primary visual cortex. OD columns are known to be fundamental units of processing visual information to sense depth, and are anatomically well documented as models in the research area of neuronal plasticity. Coarse OD columns are set up around birth, which are subsequently remodeled to the functional structure by visual activity after eye open. Our final goal is to understand the comprehensive story underlying formation of functional OD columns, which can be achieved by taking advantage of molecular markers specific for developing OD columns that we have originally isolated.

ラットにおける生殖工学技術

### Advanced Reproductive Technology in Rats



図1. ラットの核移植

#### Fig.1 Nuclear transplantation in rats

連続核移植によるクローン胚の作製;ラット体細胞核を除核未受精卵子に導入後、薬剤処理により活性化させる。形成した疑似前核と除核受精卵をこのように電極ではさみ、直流パルスをかけて融合させる。

Production of cloned rat embryos by serial nuclear transplantation (NT); Somatic cell nuclei are injected into enucleated oocytes (1st NT), and the couplets are activated with a chemical treatment. The karyoplast containing pseudo-pronucleus of the 1st NT embryos and enucleated zygotes are fused by a DC pulse (2nd NT).

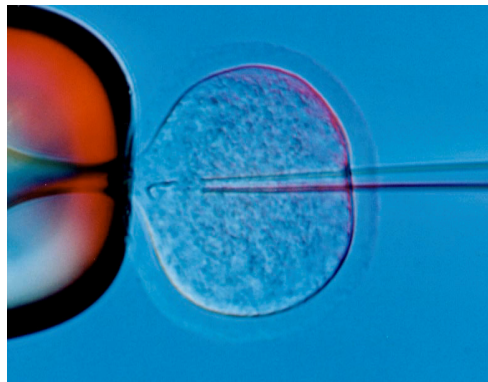


図2. ラットの顕微授精

#### Fig.2 Intracytoplasmic sperm injection in rats

卵細胞質内精子顕微注入法による受精卵の作製;排卵後のラット裸化未受精卵子に釣り針状の形をした精子の頭部1個だけをピエゾマイクロマニピュレーターを用いて注入する。

Production of fertilized rat oocytes by intracytoplasmic sperm injection (ICSI); A single fishhook-shaped sperm head is microinjected into ovulated and denuded oocytes with the aid of Piezo-micromanipulators.

眼優位カラム

### Ocular Dominance (OD) Column

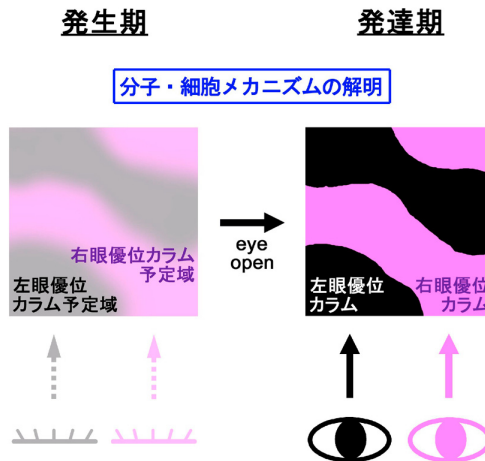


図3. 眼優位カラムの形成プロセス

#### Fig.3 Process of OD column formation

眼優位カラムは、出生前後の発生期、大まかに形成され、その後の発達期、外部からの視覚入力によって機能的なカラム構造となる。Coarse OD columns are set up around birth, and are subsequently instructed by incoming visual inputs to become functional structure after eye open.

---

## 行動様式解析室 Section of Behavior Patterns

### 職員 (Staff)

---



准教授 (併任) 木村 透  
(生理学研究所兼務)

東京農工大学農学研究科修士課程修了,  
博士(獣医学), 日本農産工業㈱, 埼玉第一  
製薬㈱を経て, 平成17年6月から現職。  
専攻: 実験動物学, 獣医皮膚科学。

Associate Professor (concurrent NIPS):

KIMURA, Tohru, DVM, PhD

1983 Graduated from Tokyo University of Technology and Agriculture,  
Faculty of Agriculture. 1985 Completed the master course in Agriculture,  
Tokyo University of Technology and Agriculture. 1986 Nihon Nosan Kogyo  
CO., LTD. 2002 Saitama Daiichi Pharmaceutical CO., LTD. 2005  
Associate Professor, NIPS.

Speciality: Laboratory Animal Science, Veterinary Dermatology

### 研究内容

---

2007年4月より立ち上がり, 現在客員教授の選考を始めてい  
るところである。准教授には動物実験センターの木村が併任す  
る。マウス・ラットの各種行動実験ができるように, 本年度は準備  
に当たる。

### Research works

---

The section of behavior patterns has been established on 1 April,  
2007. We are preparing for the selection of the visiting professor.  
Dr. T. Kimura (the associate professor of Center for Experimental  
Animals) serves concurrently as the associate professor of this  
section. In the current year, we are getting ready for various  
behavior examinations using mice and rats.