

研究センター Research Facilities

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

センター長（併任）(Director)

教授 重本 隆一

Professor: SHIGEMOTO, Ryuichi, PhD

●概要

遺伝子を改変したラット・マウス, もしくはストレス環境下で飼育したラット・マウスの行動様式を規格化された多種類のパラメータを用いて解析すると同時に, 生きたまま神経系の活動および代謝活性をモニターする。また, センターが管理する施設設備を研究所の内外の研究者の利用に供する。

●Outline

This center produces gene modified rat/mouse and analyzes their behavior using multiple parameters under normal and various stressful conditions. The facilities in this center are open for the collaborative use from researchers all over Japan.

<目次>

遺伝子改変動物作製室 P.78

行動様式解析室（客員研究部門） P.81

Section of Mammalian Transgenesis P.78

Section of Behavior Patterns P.81

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



科学技術振興機構研究員 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専攻修士課程修了, 工学博士。生理学研究所専門研究員, 研究員を経て平成21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, 2009 JST Research Fellow. 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) 精子幹細胞を利用したノックアウトラット作製技術の確立

哺乳類の精巣に存在する精子幹細胞は, 個体の遺伝情報を子孫に伝えることができる唯一の幹細胞である。精子幹細胞の分化方向性は決まっているものの, 無限に増殖するという点はES細胞と共通している。マウスの培養精子幹細胞(Germline stem cells: GS細胞)は, 長期に渡り精子形成能を保持したまま増殖し, 精細管内移植すれば正常な子孫作製に寄与する精子を形成できると証明されている。また, マウスGS細胞に遺伝子トランプ, ターゲティングの二つの方法で遺伝子導入を行うことにより, ノックアウトマウスが作製できることも報告されている。ラットにおいてGS細胞を樹立し, 精細管内移植に適したレシピエント精巣のニッチ環境を調べることを通し, ノックアウトラット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を前核期卵子里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の導入卵子里は細胞周期が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里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, spermatogonial transplantation) 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

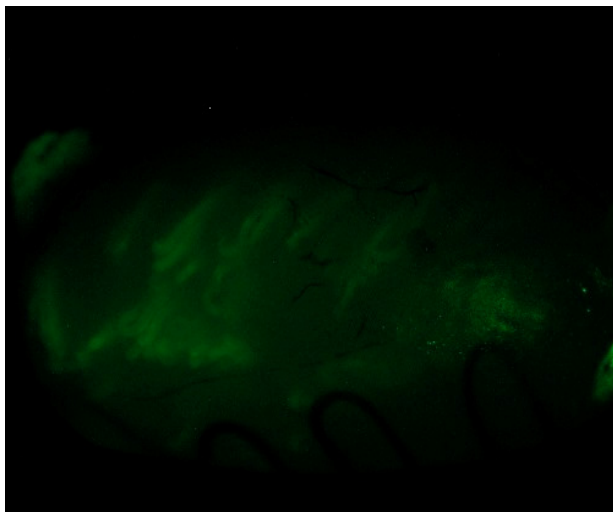


図1. ラット精子幹細胞の精細管内移植

Fig.1 Spermatogonial transplantation in rats

移植した精子幹細胞の定着: *c-myc*-Tg ラットのレシピエント精巣に EGFP-Tg ラット由来の精子幹細胞を移植すれば、3 ヶ月後にはドナー細胞の定着・増殖・分化が確認できる。

Fate of transplanted spermatogonial cells; Donor spermatogonial stem cells originated from EGFP-Tg rats can proliferate and differentiate in the recipient seminiferous tubules of *c-myc*-Tg rats (three months after the spermatogonial transplantation).

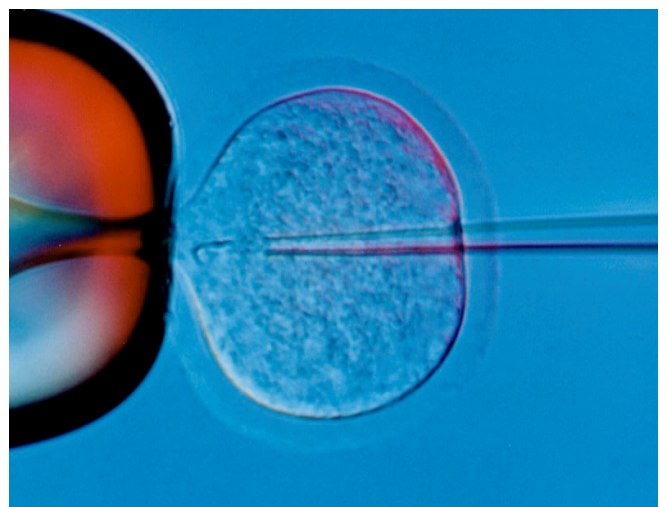


図2. ラットの顕微授精

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

発生期

発達期

分子・細胞メカニズムの解明

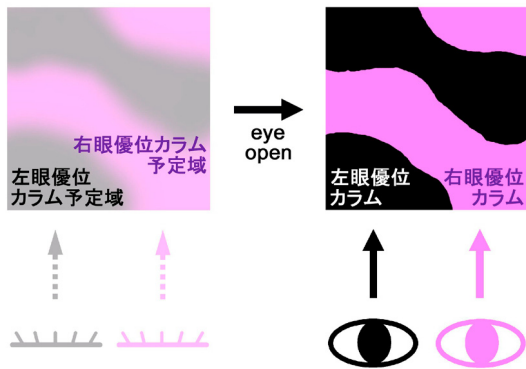


図3. 眼優位カラムの形成プロセス

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（客員研究部門） Section of Behavior Patterns

中間表現系を明らかにしていくことを大きな目標としている。
2009年4月末からの一通りの網羅的行動テストバッテリーが実施できる予定である。

職員（Staff）

教授 宮川 剛



東京大学文学部心理学科卒，同大学大学院人文科学研究科修士課程心理学専攻修了，同大学大学院人文社会系研究科博士課程修了，博士（心理学）。米国国立精神衛生研究所（NIMH），バンダービルト大学，マサチューセッツ工科大学，京都大学医学研究科助教授を経て，現在，藤田保健衛生大学総合医科学研究所教授，平成19年9月から現職を併任。

Professor: Miyakawa, Tsuyoshi, PhD

1993 Graduated from the University of Tokyo, Department of Psychology.
1997 Completed a doctoral course in Psychology, the University of Tokyo.
2003 Associate Professor, Group Leader, Genetic Engineering and Functional Genomics Group, Kyoto University Graduate School of Medicine. 2007 Professor, Institute for Comprehensive Medical Science Fujita Health University. 2007 Adjunct Professor, NIPS.



准教授（併任）木村 透

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月から生理研准教授。
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

Research works

The section of behavior patterns has been established on 1 April, 2007. Dr. T. Miyakawa took office as the visiting professor of this section. In the year of 2008, the mouse breeding room and soundproof room for behavior tests were prepared and the equipments for a high-throughput behavioral test battery were purchased and set up. The purpose of our research group is to reveal functional significances of genes expressed in the brain and the endophenotype of psychiatric disorder by conducting a behavioral test battery and the functional analysis of the brain on genetically engineered mice. At the end of April 2009, we are getting ready for a behavioral test battery using mice.

研究内容

当研究室は2007年4月より立ち上がり，宮川が客員教授に就任した。昨年度は，マウス飼育室や行動実験用の防音室の設営を行い，またマウスを用いた網羅的行動テストバッテリーの実施に必須の各種行動テスト用機器の購入及びセットアップを行った。各種遺伝子改変マウスに対して網羅的行動テストバッテリーを行い，精神疾患様行動を示すマウスを同定し，そのマウスの脳を解析することによって遺伝子と行動・精神疾患の関係，さらには精神疾患の中間表現系を明らかにすることを目的としている。遺伝子改変マウスの行動レベルでの表現型を解析することにより，遺伝子と行動・精神疾患の関係，さらには精神疾患の