

# 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（兼任）(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.83

代謝生理解析室 P.85

行動様式解析室（客員研究部門） P.86

Section of Mammalian Transgenesis P.83

Section of Metabolic Physiology P.85

Section of Behavior Patterns P.86

## 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応答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 細胞に遺伝子トラップ, 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 を前核期卵卵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 の導入卵卵は細胞周期が 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, 結果的に総処理卵卵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

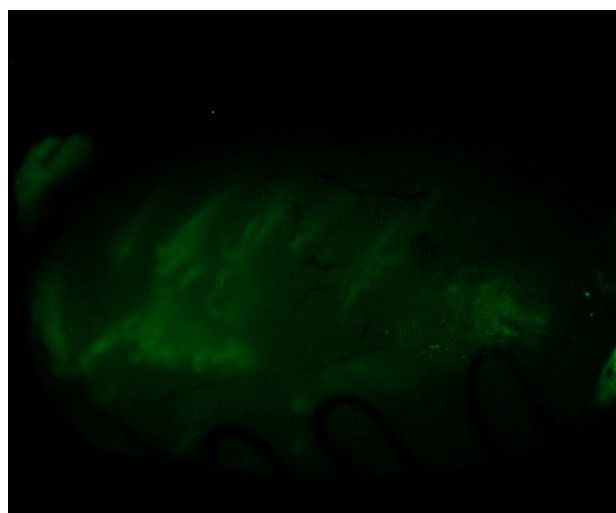


図1. ラット精子幹細胞の精細管内移植

#### 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).

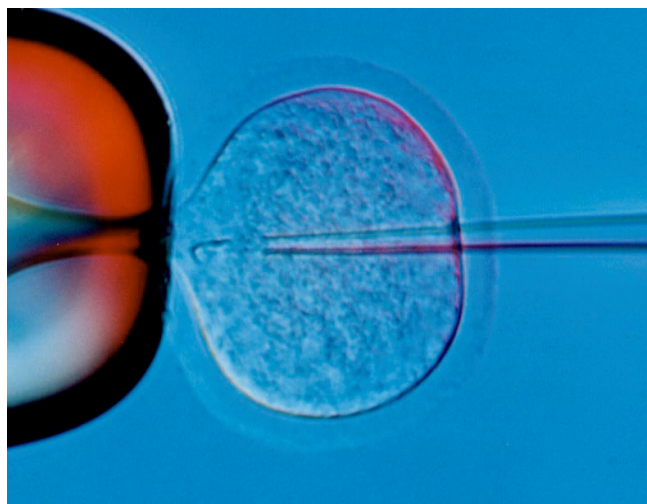


図2. ラットの顕微授精

#### 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

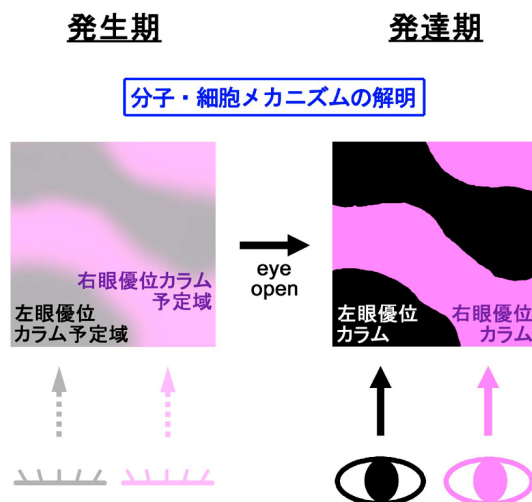


図3. 眼優位カラムの形成プロセス

#### 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.

## 代謝生理解析室 Section of Metabolic Physiology

### 職員 (Staff)



#### 教授 (併任) 箕越 靖彦

愛媛大学医学部卒, 愛媛大学大学院医学研究科博士過程終了, 医学博士。同大学医学部助手, 講師, 助教授, ハーバード大学医学部 Lecturer を経て平成15年11月から現職。  
専攻: 代謝・内分泌学。

#### Professor: MINOKOSHI, Yasuhiko, MD, PhD

1983 Graduated from Ehime University School of Medicine. 1987 Completed the doctoral course in Science in Ehime University. 1987 Research Associate in Ehime University. 1993 Lecturer in Ehime University School of Medicine. 1997 Associate Professor in Ehime University School of Medicine. 2003 Lecturer in Harvard Medical School. 2003 Professor, NIPS.  
Speciality: Endocrinology and metabolism



#### 准教授 (併任) 山中 章弘

静岡県立大学薬学部卒, 筑波大学医学研究科修了, 博士 (医学)。筑波大学薬理学研究室助手, 講師, 日本学術振興会海外特別研究員 (米国エール大学) を経て平成20年2月から生理学研究所 細胞生理研究部門 准教授。  
専攻: 薬理学, 神経科学。

#### Associate Professor: YAMATAKA, Akihiro, PhD

1994 Graduated from University of Shizuoka, Faculty of Pharmacy. 1994-1996 University of Tsukuba, 1996-2000 University of Tsukuba. 2000-2002 Researcher, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba. 2002-2008 Assistant Professor, Institute of Basic Medical Sciences, University of Tsukuba. 2006-2008 Research Fellow in Abroad, JSPS. 2008 Associate Professor, Okazaki Institute for Integrative Bioscience.  
Specialty: Pharmacology, Neuroscience

### 研究内容

代謝生理解析室では, 遺伝子改変動物及び様々な病態生理学的状況に置ける実験動物の代謝, 神経活動を, *in vivo* において解析し, 標的遺伝子, タンパク質の機能を明らかにすることを目的とする。同室では, 遺伝子改変動物作製室あるいは各研究者が作成, 保有する遺伝子改変動物などを用いて以下の項目を計測する。

- 1) 運動系を中心とした覚醒下での単一ニューロン活動などの神経活動の計測
- 2) 自由行動下における脳内特定部位での神経伝達物質の分泌計測

- 3) フラビン及びヘモグロビン由来の内因性シグナルを利用した脳領域活動と膜電位感受性色素を用いた回路活動のイメージング
- 4) 自由行動下における摂食, エネルギー消費の計測
- 5) 自由行動下における体温, 脈拍数, 血圧の計測
- 6) 自由行動下における脳波測定

同業務は, 計画共同研究「マウス・ラットの代謝生理機能解析」として平成23年度より公募を開始する予定。当面, マウスを中心に行う。

### Research works

This section analyzes the *in vivo* neuronal and metabolic activity in mice and rats which were modified their genes and exposed with various environmental conditions. This section examines the following subjects and will be open for the collaborative use of researchers all over Japan from April, 2011:

- 1) Single unit recording from motor related brain regions in awake state.
- 2) Neurotransmitter release in local brain regions in free-moving animals.
- 3) Regional neural activity detected as intrinsic signals with taking the advantage of light fluorescent dynamics of flavin or hemoglobin.
- 4) Energy intake and expenditure in free-moving animals.
- 5) Body temperature, heart rate and blood pressure in free-moving animals.
- 6) EEG (Electroencephalogram) in free-moving animals.



## 行動様式解析室（客員研究部門） Section of Behavior Patterns

### 職員（Staff）

#### 客員教授 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科教授，平成19年9月から現職を併任。

#### Adjunct 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，形成外科。

#### 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, Plastic surgery

#### 特任准教授 高雄 啓三



東京大学文学部心理学科卒，京都大学大学院情報学研究科修士課程知能情報学専攻修了，同大学大学院情報学研究科博士課程研究指導認定退学，博士（情報学）。米国マサチューセッツ工科大学，理化学研究所，京都大学医学研究科助手，藤田保健衛生大学総合医科学研究科助教，京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット講師を経て，平成22年4月から現職。

#### Project Associate Professor: TAKAO, Keizo, PhD

1998 Graduated from the University of Tokyo, Department of Psychology. 2003 Completed a doctoral course in intelligence science and technology, Kyoto University, 2006 PhD from Kyoto University. 2001 Visiting Scholar MIT, 2003 Special Postdoctoral Researcher RIKEN, 2005 Assistant Professor, Kyoto University Graduate School of Medicine. 2007 Assistant Professor, Fujita Health University. 2009 Lecturer Kyoto University, 2010 Associate Professor NIPS.

### 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。当研究室では，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研究を行っている。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月から一通りの網羅的行動テストバッテリーが実施可能となっており，遺伝子改変マウスを用いた共同研究について，計画共同研究や一般共同研究をはじめとして広く受け入れる予定である。

### Research works

The section of behavior patterns was established on 1 April, 2007. Dr. T. Miyakawa assumed the position of the Adjunct Professor of the section. The purpose of our research group is to evaluate the functional significances of genes expressed in the brain and the endophenotype of psychiatric disorders by performing a behavioral test battery and functional brain analyses on genetically engineered mice.

Since April 2009, we are capable of conducting a comprehensive behavioral test battery for mice. We will widely accept collaborative projects such as general collaborative projects and planned collaborative projects.