

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23700518

研究課題名（和文） C57BL/6N 亜系統グループ内の遺伝的多様性に関する研究

研究課題名（英文） Study of the genetic diversity of C57BL/6N inbred mouse substrains

研究代表者

目加田 和之 (MEKADA KAZUYUKI)

独立行政法人理化学研究所・実験動物開発室・専任研究員

研究者番号：90360651

研究成果の概要（和文）：

本研究課題は、世界のノックアウトマウスプロジェクトでの遺伝背景として、世界中で広く利用されている C57BL/6N 系統グループの亜系統特異的な SNPs の探索を行い、C57BL/6N 亜系統間の遺伝的な違いをモニターできる SNP 情報を整備することを目的とした。結果、C57BL/6N 亜系統間で多型性を示す多くの SNP が同定され、C57BL/6N 亜系統の詳細な遺伝的プロファイリングが可能となり、C57BL/6N を背景とする系統の高度な遺伝背景統御に有用なツールとなることを示した。

研究成果の概要（英文）：

The C57BL/6N strain is widely used as the genetic background for knockout mice generated by large-scale projects worldwide. In this study, we identified novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) specific to the C57BL/6N strain and selected SNPs for genetic monitoring of C57BL/6N substrains. As a result, we confirmed a number of SNP loci that demonstrated genetic differences among C57BL/6N substrains. This SNP information will be useful for accurate genetic monitoring of the C57BL/6N congenic strain background.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：実験動物学・実験動物学

キーワード：マウス、C57BL/6N、近交系、亜系統、SNP、多型

1. 研究開始当初の背景

C57BL/6 マウス系統は、最も知られた標準的な近交系であり、各種ミュータントマウスや遺伝子改変マウスの遺伝背景として広く利用されている。C57BL/6 は 1920 年代に育成され、1950 年代に C57BL/6J と C57BL/6N の 2 つのグループに分岐し、その後、それらを由来として、30 近くの亜系統が世界中で育成されてきている。

これまでの研究により、これら亜系統の間には、行動特性や薬剤耐性等、実験を行う上

で無視することのできない表現型の違いがあることが明らかになっていることから、C57BL/6 マウスを実験に使用する際は、亜系統のレベルまで考慮する必要がある。本研究代表者らは、C57BL/6J と C57BL/6N の間に存在する SNP（一塩基多型）を複数同定し、両群を区別することができる遺伝マーカーをして整備してきた。さらに、C57BL/6J を由来とする J 亜系統グループ内にも数多くの SNPs が存在していることを見だし、その違いの程度は、元系統である C57BL/6J との

分岐の年代に比例していることを明らかにした (図 1)。

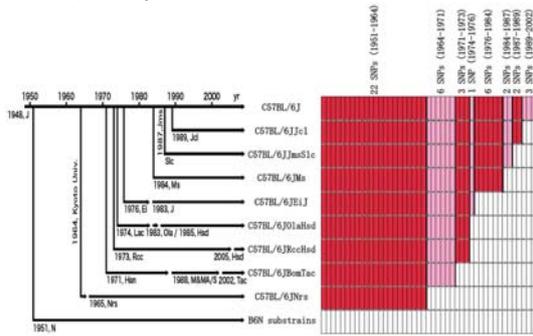


図1 C57BL/6J亜系統の育成の歴史とSNPの蓄積

一方、C57BL/6 系統のもう一つの大きなグループである N 亜系統グループ内には、J 亜系統グループ内で見られるようなグループ内での多型性は確認できていない。これまでの SNP 情報は、C57BL/6J 系統の塩基配列をリファレンスとして、多系統の塩基配列データをマッピングすることで算出されたものである。これらの情報には、C57BL/6N 系統の配列データは含まれておらず、C57BL/6N 系統特異的な SNP の検出には不適であり、C57BL/6N 亜系統の遺伝的相違性の検証を十分に行えなかったものと考えられる。

2. 研究の目的

これまでは、C57BL/6J 系統が機能ゲノム研究の標準として利用されてきたが、近年、C57BL/6N 由来の ES 細胞株が数多く樹立され、世界のノックアウトマウスプロジェクトでの遺伝背景として C57BL/6N 系統が広く利用されてきている。

N 亜系統グループも J 亜系統グループと同様に、多くの系統が異なる時期に元系統から分岐していることから、グループ内での遺伝的な差異が生じている可能性は否定できない。最近、C57BL/6N 系統を用いたリシーケンス解析 (英国 Wellcome Trust Sanger Institute) が行われ、C57BL/6N を対象としたより詳細な塩基配列情報がウェブ等により利用可能となってきた。そこで本研究では、これらのゲノム情報を利用して、C57BL/6N 亜系統特異的な SNPs を検索し、C57BL/6N 系統を由来とする各種亜系統やブリーダー間に置くそれらの多型性について検証するとともに、得られた情報を用いて、C57BL/6N 亜系統グループの遺伝背景を識別するための遺伝マーカーの整備を目指した。

3. 研究の方法

C57BL/6NJ と reference C57BL/6J との塩基配列情報の比較データ (<http://www.sanger.ac.uk/cgi-bin/modelorgs/mousegenomes/snp>)

から高信頼度判定されている SNP 遺伝子座を抽出し、17 種類の他近交系の情報との比較により、C57BL/6NJ 特異的なアレルを選別した。

実際のマウスゲノム DNA を用いてダイレクトシーケンス解析により遺伝子型を判定し、SNP が存在しているかどうかを確認した。SNP が確認できたものについて、染色体領域に均等に配置されるよう遺伝子座の選定を行い、世界各地から入手した 11 種類の C57BL/6N 系統マウスについてそれぞれの遺伝子型を、ダイレクトシーケンス解析もしくは Allele specific PCR プライマーを設計し、PCR により判定した。

4. 研究成果

データベースから抽出した約 1,400 の C57BL/6NJ 特異的な SNP 候補より、1 から X 染色体までの 456 の遺伝子座に対して、それらの遺伝子型をダイレクトシーケンス解析により判定した結果、267 の遺伝子座で C57BL/6NJ 特異的な SNP を確認することができた。

これらより、染色体上に等間隔 (20~40 Mb) となるよう 96 ヶ所の SNP 遺伝子座をマーカーとして選定し、国内外から入手した 11 種類の C57BL/6N を由来とする亜系統グループの遺伝子型を判定したところ、7 割の遺伝子座で亜系統間の多型を検出することができた。その程度は亜系統により異なっており、それぞれの系統の分岐の年代や経緯に概ね相関していた。これは C57BL/6J 亜系統グループと同様、年代を経ることにより、C57BL/6N 特有の SNP が蓄積していったことが予想される。一方、一部の系統に関しては、SNP の蓄積の程度が前後しており、分岐時にヘテロ接合性を保持していた可能性もしくは、記録されている分岐経緯や年代が異なっている可能性が示唆された。これらの SNP 情報により、C57BL/6N 亜系統の詳細な遺伝的プロファイリングをすることが可能となり、C57BL/6N を背景とする系統の高度な遺伝背景統御に有用なツールとなることが期待された。

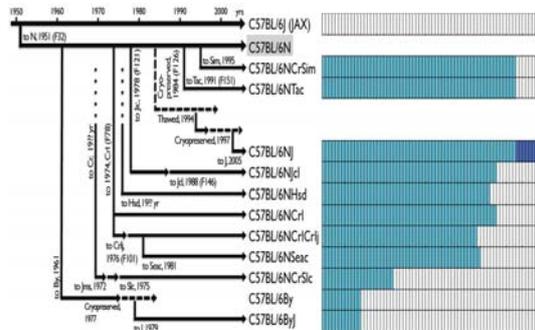


図2 C57BL/6N亜系統の育成の歴史とSNPの蓄積

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. Sugimoto M, Kondo M, Hirose M, Suzuki M, Mekada K, Abe T, Kiyonari H, Ogura A, Takagi N, Artzt K, Abe K. Molecular Identification of *tw5*: Vps52 promotes pluripotential cell differentiation through cell-cell interactions. Cell Reports, 2: 1363-74, 2012. (査読有)
2. 目加田和之, Borodin PM. ハタネズミ属における XY 染色体対合能力の喪失について. 草食実験動物, 34: 25-32, 2012. (査読有)
3. Borodin PM, Basheva EA, Torgasheval AA, Dashkevich OA, Golenishchev FN, Kartavtseva IV, Mekada K, Dumont BL. Multiple independent evolutionary losses of XY pairing at meiosis in the grey vole. Chromosome Research, 20: 259-68, 2011. (査読有)
4. Moriyama K, Hanai A, Mekada K, Yoshiaki A, Ogiwara K, Kimura A, Takahashi T. Kbus/Idr, a mutant mouse strain with skeletal abnormalities and hypophosphatemia: Identification as an allele of 'Hyp'. Journal of Biomedical Science, 18: 60, 2011. (査読有)

[学会発表] (計26件)

1. 澤田和彦, 廣瀬美和, 村上亜弓, 目加田和之, 中田初美, 太田聡史, 吉木 淳. 2種のβ型レチノイド関連オーファン受容体 (RORβ) 遺伝子変異マウスにおける大脳皮質組織構築異常. 第117回日本解剖学会総会・全国学術集会, 高松, 2013年3月28日.
2. 目加田和之. 代表的実験マウス C57BL/6 系統の遺伝的多型性について. 草食実験動物研究会第37回大会, 熱海, 2012年11月24日.
3. 吉木 淳, 池 郁生, 目加田和之, 綾部信哉, 平岩典子, 中田初美, 持田慶司, 小倉淳郎. ゲノム情報に基づく次世代マウスリソースの拡充. 第3期 NBRP 開始記念 ナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP) シンポジウム-第3期の挑戦-, 東京, 2012年11月21日.
4. 持田慶司, 長谷川歩未, 平岩典子, 目加

田和之, 吉木 淳, 小倉淳郎. 胚移植法の改良による野生由来マウス各系統ガラス化保存胚からの産子獲得. 第105回日本繁殖生物学会大会, つくば, 2012年9月7日.

5. 長谷川歩未, 持田慶司, 平岩典子, 渡辺元, 田谷一善, 目加田和之, 吉木淳, 小倉淳郎. 野生由来マウス各系統における抗インヒビン血清およびeCGを用いた過排卵と体外受精成績. 第105回日本繁殖生物学会大会, つくば, 2012年9月7日.
6. 大徳陽子, 長谷川賀一, 関口溪人, 谷本陽子, 水野聖哉, 村上亜弓, 門田雅世, 橋本知美, 目加田和之, 中田初美, 吉木淳, 依馬正次, 杉山文博, 高橋 智, 八神健一. 血管内皮系譜細胞に Cre 酵素発現するトランスジェニックマウスの開発. 第59回日本実験動物学会総会, 別府, 2012年5月24-26日.
7. 長谷川歩未, 持田慶司, 平岩典子, 伊集院麻衣子, 田熊究一, 高橋仁美, 阪口真美子, 大高直樹, 古谷貴史, 山口真輝, 濱 大樹, 高島梨香, 渡辺 元, 田谷一善, 目加田和之, 吉木 淳, 小倉淳郎. 野生由来マウス各系統の保存のための凍結精子および胚の効果的な利用. (1) 過排卵誘起と体外受精の成績. 第59回日本実験動物学会総会, 別府, 2012年5月25日.
8. 長谷川賀一, 関口溪人, 谷本陽子, 大徳陽子, 水野聖哉, 村上亜弓, 門田雅世, 橋本知美, 目加田和之, 中田初美, 吉木淳, 依馬正次, 杉山文博, 高橋 智, 八神健一. 膵β細胞特異的に Cre 酵素発現するトランスジェニックマウスの開発. 第59回日本実験動物学会総会, 別府, 2012年5月24-26日.
9. 平岩典子, 中田初美, 小島怜子, 大高直樹, 村上亜弓, 目加田和之, 吉木 淳. 野生由来マウス系統の内臓性乳癌ウィルスの検討. 第59回日本実験動物学会総会, 別府, 2012年5月24-26日.
10. 門田雅世, 大高直樹, 村上亜弓, 廣瀬真由, 目加田和之, 吉木 淳. ヘアレスコンジェニックマウスの確立と供給. 第59回日本実験動物学会総会, 別府, 2012年5月24-26日.
11. 目加田和之, 廣瀬真由, 吉木 淳. C57BL/6N 亜系統グループ内の遺伝的多様性について. 第59回日本実験動物学会総会, 別府, 2012年5月24-26日.

12. 持田慶司, 長谷川歩未, 平岩典子, 伊集院麻衣子, 田熊究一, 高橋仁美, 阪口真美子, 大高直樹, 古谷貴史, 山口真輝, 濱 大樹, 高島梨香, 渡辺 元, 田谷一善, 目加田和之, 吉木 淳, 小倉淳郎. 野生由来マウス各系統の保存のための凍結精子および胚の効果的な利用. (2) 胚のガラス化保存と移植成績. 第 59 回日本実験動物学会総会, 別府, 2012 年 5 月 25 日.
13. 岡本裕行, 梶田亜矢子, 目加田和之, 中田初美, 吉木 淳, 池 郁生. 理研 BRC における寄託マウスの受入業務について. 第 59 回日本実験動物学会総会, 別府, 2012 年 5 月 24-26 日.
14. 関口溪人, 長谷川賀一, 谷本陽子, 大徳陽子, 水野聖哉, 村上亜弓, 門田雅世, 橋本知美, 目加田和之, 中田初美, 吉木淳, 依馬正次, 杉山文博, 八神健一, 高橋 智. *Rosa26* 遺伝子座への CAG/EGFP-tdsRed 遺伝子挿入による新規 Cre レポーターマウスの開発. 第 59 回日本実験動物学会総会, 別府, 2012 年 5 月 24 日.
15. 関 幸子, 橋本知美, 新井富士美, 小島怜子, 斎藤昭男, 村上亜弓, 目加田和之, 中田初美, 吉木 淳. マウス新規 *Eda^{Ta-Rbrc}* 変異ゲノム欠失領域の解明. 第 59 回日本実験動物学会総会, 別府, 2012 年 5 月 24-26 日.
16. 吉木 淳, 目加田和之, 中田初美, 平岩典子, 池 郁生, 岩間瑞穂, 伊集院麻衣子, 田熊究一, 高橋仁美, 阪口真美子, 廣瀬美智子, 持田慶司, 小倉淳郎, 小幡裕一. 理研 BRC の IMPC (国際マウス表現型解析コンソーシアム) 参画計画 1-ノックアウトマウスの生産. 第 59 回日本実験動物学会総会, 別府, 2012 年 5 月 26 日.
17. 目加田和之, 吉木 淳. がん研究を支援するマウスリソースの整備と利用紹介. 平成 23 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ, 大津, 2012 年 1 月 18 日.
18. 榊屋啓志, 高月照江, 斎藤実香子, 脇 和規, 田中信彦, 目加田和之, 中田初美, 西條 薫, 吉田有子, 蒔田由布子, 若菜茂晴, 中村幸夫, 吉木 淳, 豊田哲郎. Semantic web 技術を利用した哺乳類バイオリソースのデータベース. 第 34 回に本分子生物学会年会, 横浜, 2011 年 12 月 13-16 日.
19. Kamitani M, Gotoda R, Tanaka M, Mekada K, Yoshiki A. Air-conditioning technologies for laboratory animal facilities. The 7th SALAS/6th AMMRA Annual Regional Conference, Lim Chu Kang, Singapore, 30 November - 2 December, 2011.
20. 目加田和之, Borodin PM. ハタネズミ属における XY 染色体対合能力の喪失について. 草食実験動物研究会第 36 回大会, 熱海, 2011 年 11 月 26 日.
21. 田中 真, 下園剛司, 横田将志, 小林めぐみ, 木下雅史, 目加田和之, 高橋 稔, 吉木 淳. 実験動物施設における省エネシステムの評価と実証. 第 42 回筑波実験動物研究会, つくば, 2011 年 11 月 22 日.
22. 澤田和彦, 村上亜弓, 目加田和之, 中田初美, 太田聡史, 吉木 淳. *Rorb* ミュータントマウスにおける大脳皮質組織構築異常. 第 51 回日本先天異常学会学術集会, 東京, 2011 年 7 月 23 日.
23. 大野民生, 空閑雅子, 西村正彦, 目加田和之, 吉木 淳. SMXA リコンビナント近交系群の SDP の追加とウレタン誘発肺腫瘍抵抗性遺伝子座 *Par3* の再検討. 第 58 回日本実験動物学会総会, 船橋, 2011 年 5 月 26 日.
24. 田中 真, 目加田和之, 横田将志, 小林めぐみ, 吉木 淳. 動物飼育施設の環境因子のマウス繁殖への影響. 第 58 回日本実験動物学会総会, 船橋, 2011 年 5 月 25 日.
25. 目加田和之, 飯塚 眞, 横田将志, 小林めぐみ, 吉木 淳. 操作性かつ動物福祉に配慮した炭酸ガス安楽死装置の開発. 第 58 回日本実験動物学会総会, 船橋, 2011 年 5 月 25-26 日.
26. 吉木 淳, 村田武英, 山崎孝人, 豊田 敦, 目加田和之, 太田聡史, 山崎由紀子, 小幡裕一, 阿部訓也. マウス C57BL/6N 亜系統の BAC エンドシーケンス. 第 58 回日本実験動物学会総会, 船橋, 2011 年 5 月 26 日.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.brc.riken.jp/lab/animal/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者
目加田 和之 (MEKADA KAZUYUKI)
独立行政法人理化学研究所・実験動物開発
室・専任研究員
研究者番号：90360651