

遺伝子材料開発室

Gene Engineering Division (RIKEN BRC Gene Bank)

室 長 横 山 和 尚
YOKOYAMA, Kazunari K.

国内外のライフサイエンス研究の動向を踏まえ、研究推進に必要な遺伝子材料を収集、管理、保存および提供するとともに、自ら新しい材料や関連技術の開発を行い、国内外の官、学、民の研究者に広く普及させることを目的とする。さらに最近の遺伝子工学技術を習得し、次世代ライフサイエンス研究に必要な遺伝子資源の整備および自己開発研究を行い、中核機関としてのバイオリソースセンターの業務を遂行する。

1. 遺伝子材料の開発およびバンキング技術の開発

宿主、ベクター、組換え DNA クローン、YAC、BAC、フォスミド、コスミド、cDNA クローン化ライブラリー等の遺伝子材料のバンキング技術の開発と変異同定法の技術開発（横山、村田、木村、鵜飼、井鍋^{*1}、寺島^{*1}、山崎^{*1}、久次米^{*1}、広瀬^{*1}、山岡^{*1}、山本（美）^{*2}、上野^{*2}）

宿主 82 株、ベクター 424 株、DNA クローン 1,342 株、STS マーカー 53 株、ヒト、哺乳類などの cDNA ライブラリー 29 株、ヒト SEREX 抗原クローン 584 株、ヒト HLA クローン 40 株、中村 & White RFLP マーカークローン 123 株、YAC クローン 35,712 株、マウス cDNA 整列化クローンライブラリー 45,216 株、マウス cDNA 整列化クローンライブラリー 22,407 株、マウス BAC 整列化クローンライブラリー 60,000 株、霊長類ゲノムライブラリー 599,520 株の複製および保存、検定、管理技術の開発を行い、遺伝子材料を整備した。次世代型分譲業務システムの開発を継続し、遺伝子材料の保存、輸送中の品質管理のための変異検出法の技術開発も行った。本年度は Gene Catalog 第 10 版を発行した。また毎月 E-メールニュースも発行した。

2. プロモーターバンクの創設と遺伝子のセット化技術の開発

（横山、村田、木村、鵜飼、中出^{*1}、久次米^{*1}、広瀬^{*1}、山崎^{*1}、井鍋^{*1}、山岡^{*1}、山本（美）^{*2}）

ゲノムおよび cDNA ライブラリーより各研究テーマ別に有用遺伝子群のセット化を行った。またプロモーター領域の DNA 断片を単離し、これらの DNA 断片にレポーター遺伝子を接続してプロモーター・レポーター遺伝子群を構築し、本年度は 84 株をバンキングした。

3. 組換えウイルス・コアバンク創設のための組換えウイルス作製と高感度検出法の開発研究

（横山、村田、木村、鵜飼、潘^{*1}、劉^{*1}、寺島^{*1}、井鍋^{*1}、山崎^{*1}、広瀬^{*1}、瀬尾^{*3}、若山^{*3}、濱田^{*4}、斎藤^{*4}、安部井^{*4}、唐^{*4}）

東京大学医科学研究所 菅野博士より供与されたヒト完全長 cDNA クローンの組換えウイルス化を行い、現在までに 372 株を作製し、管理、保存した。現在もこの作業を継続中である。組換えウイルスのプロモーターの改変、キメラ組換えウイルス作製、組換えウイルス変異部位の検出を TDI 法、Exonuclease 共役法で解析し、その変異部位の決定を

行った。また共同研究として、筑波大学医学部や札幌医科大学および中国科学院・生物化学細胞生物学研究所（中国上海市）と ES 細胞への遺伝子導入や胆道がんや肝がんの遺伝子治療のための基礎研究および前臨床研究を行った。

4. 遺伝子材料の品質評価に関する共同研究

（横山、久次米^{*1}、孫^{*5}、劉^{*1}、唐^{*4}）

昨年に引き続き寄託遺伝子材料の品質評価の一部を中国医科大学（中国瀋陽市）、复旦大学・遺伝学研究所（中国上海市）や中国科学院・生物化学・細胞生物学研究所（中国上海市）と共同で行い、その評価を行った。

5. 機能性核酸、ウイルスベクターを用いた遺伝子治療法の技術開発と医薬品開発のための研究

（横山、村田、木村、鵜飼、潘^{*1}、久次米^{*1}、広瀬^{*1}、侯^{*4}、山崎^{*1}、井鍋^{*1}、寺島^{*1}、山本（美）^{*2}）

アンチセンス、リボザイムベクター・siRNA や shRNA を用いた遺伝子の機能研究および医薬品開発研究を行い発現効率のよいベクターを作製した。

6. 遺伝機能解析のための変異導入、遺伝子変異置換法に関する開発研究とその発現システムの評価研究

（横山、村田、木村、鵜飼、潘^{*1}、中出^{*1}、劉^{*1}、唐^{*4}、山崎^{*1}、野口^{*3}、谷川^{*3}、平野^{*6}）

昨年に引き続き胚性幹細胞や胚性腫瘍細胞を材料とし、その分化誘導やがん化等に関わる遺伝子群への変異導入、その変異置換法の研究を行う。転写因子 JDP2 の作用機序の解析とウイルスタンパク質 E1 の機能解析を行った。

7. モデル動物由来 ES 細胞への遺伝子導入法と個体発生の技術開発

（横山、村田、木村、鵜飼、井鍋^{*1}、齋藤^{*4}、山本（裕）^{*4}、南橋^{*4}）

ラット、ウシ、ウマの ES 細胞を *in vitro* で神経系、血球系の細胞に分化させることに成功し、またウシの ES 細胞由来クローン化個体の作製に成功した。さらにヒトテロメアーゼ遺伝子およびヒト HLA 抗原遺伝子をウシ ES 細胞に導入し、トランスジェニック細胞の確立を行った。

^{*1} 研究協力員、^{*2} 業務委託、^{*3} 研修生、^{*4} 共同研究員、

The Gene Engineering Division (RIKEN DNA Bank) is organized as a unique, not-for-profit resource center that provides genetic resources, technical services and educational programs to qualified investigators in governmental and academic organizations and to private companies around the world. The Division performs research to ensure the authenticity of the genetic materials in the collection and to improve and standardize the methods for characterization, maintenance, preservation and distribution of genetic materials, as well as the databases that contain the molecular and structural information relevant to these collections and related resources. We distribute cloned DNAs, gene libraries (e.g., cDNA, genomic DNA cloned into phage, cosmid, BAC, phosmid, and YAC), vectors, hosts, recombinant viruses and ordered library-sets derived from animal cells that include human and mouse cells, microorganisms and viruses. Our division also performs and sponsors research directed toward the advancement, validation and application of scientific knowledge.

Research Subjects

1. Development of banking system of DNA resources
2. Construction of "Promoter Bank" and development of technology for preparation of cloned-sets
3. Construction of "Recombinant Virus-Core Bank" and study of "Viro-therapy"
4. Collaborative work for large-scale preparation of DNA resources
5. Therapeutic use of antisense, ribozyme and siRNA technologies
6. Development of methods for studies of "Transcriptome" and "Gene-Replacement"
7. Epigenetic study of ES Cells and generation of cloned animals

Staff

Head

Dr. Kazunari K. YOKOYAMA

Members

Dr. Takehide MURATA
 Dr. Makoto KIMURA
 Dr. Hideyo UGAI
 Dr. Jianzhi PAN*
 Dr. Kouji NAKADE*
 Dr. Bingbing LIU*
 Ms. Kumiko INABE*
 Ms. Miho TERASHIMA*
 Mr. Takahiro YAMASAKI*
 Ms. Megumi HIROSE*
 Ms. Yukari KUJIME*

Ms. Sanae YAMAOKA*

* Contract Researcher

Visiting Members

Dr. Masato ABEI (Med. Sch., Univ. Tsukuba)
 Dr. Hirofumi HAMADA (Sapporo Med. Univ.)
 Dr. Tetsuo HIRANO (Hiroshima Univ.)
 Dr. De-Xing HOU (Kagoshima Univ.)
 Mr. Akira MINAMIHASHI (Hokkaido Anim. Res. Cen.)
 Dr. Izumu SAITO (Inst. Med. Sci., Univ. Tokyo)
 Dr. Shigeo SAITO (Saito Lab. Cell Technol.)
 Dr. Kailai SUN (China Med. Univ., China)
 Dr. Yusuke YAMAMOTO (Hokkaido Anim. Res. Cen.)
 Ms. Hong TONG (Shanghai Inst. Biol. Sci. CAS, China)
 Ms. Kazuko UENO (Science Service Inc.)
 Ms. Miyuki YAMAMOTO (Science Service Inc.)

Trainees

Mr. Michiya NOGUCHI (Biosyst. Stud., Grad. Sch., Univ. Tsukuba)
 Mr. Shunsuke TANIGAWA (Dep. Agric., Kagoshima Univ.)
 Ms. Emiko SEO (Med. Sch., Univ. Tsukuba)
 Ms. Mariko WAKAYAMA (Med. Sch., Univ. Tsukuba)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

- (原著論文) *印は査読制度がある論文
- Song H., Li Y., Chen G., Xing Z., Zhao J., Yokoyama K. K., Li T., and Zhao M.: "Human MCRS2, a cell-cycle-dependent protein, associates with LPTS/PinX1 and reduces the telomere length", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **316**, 1116–1123 (2004). *
- Wu C., Zhao W., Kishi H., Dokan J., Jin Z., Wei X., Yokoyama K. K., and Muraguchi A.: "Activation of mouse *RAG-2* promoter by Myc-associated zinc finger protein", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **317**, 1096–1102 (2004). *
- Song J., Pang S., Lu Y., Yokoyama K. K., Zheng J., and Chiu R.: "Gene silencing in androgen-responsive prostate cancer cells from the tissue-specific *prostate-specific antigen* promoter", *Cancer Res.* **64**, 7661–7663 (2004). *
- Saito S., Liu B., and Yokoyama K. K.: "Animal embryonic stem (ES) cells: Self-renewal, pluripotency, transgenesis and nuclear transfer", *Hum. Cell* **17**, 107–115 (2004). *
- Song J., Lu Y., Yokoyama K. K., Rossi J., and Chiu R.: "Cyclophilin A is required for retinoic acid-induced neuronal differentiation in p19 cells", *J. Biol. Chem.* **279**, 24414–24419 (2004). *
- Kimura M. and Ishihama A.: "Tfg3, a subunit of the general transcription factor TFIIF in *Schizosaccharomyces pombe*, functions under stress conditions", *Nucleic Acids*

Res. **32**, 6706–6715 (2004). *

Pan J., Jin C., Murata T., and Yokoyama K. K.: “Histone modification activities of JDP2 associated with retinoic acid-induced differentiation of F9 cells”, *Nucleic Acids Symp. Ser.*, No. 48, pp. 189–190 (2004). *

Suzuki E., Murata T., Watanabe S., Kujime Y., Hirose M., Pan J., Yamazaki T., Ugai H., and Yokoyama K. K.: “A simple method for the simultaneous detection of E1A and E1B in adenovirus stocks”, *Oncol. Rep.* **11**, 173–178 (2004). *

Seo E., Abei M., Wakayama M., Fukuda K., Ugai H., Murata T., Todoroki T., Matsuzaki Y., Tanaka N., Hamada H., and Yokoyama K. K.: “Effective gene therapy for biliary tract cancer by a conditionally replicative adenovirus expressing uracil phosphoribosyltransferase: Significance of timing of 5-fluorouracil administration”, *Cancer Res.* **65**, 546–552 (2005). *

Mitsuzawa H., Kimura M., Kanda E., and Ishihama A.: “Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and actin associate with RNA polymerase II and interact with its Rpb7 subunit”, *FEBS Lett.* **579**, 48–52 (2005). *

安部井誠人, 福田邦明, 瀬尾恵美子, 松崎靖司, 田中直見, 濱田洋文, 横山和尚: “腫瘍選択的増殖型アデノウイルスを用いた胆道癌の遺伝子治療の研究とその展望”, *医学と薬学* **52**, 885–893 (2004). *

齋藤成夫, 村田武英, 横山和尚: “動物 ES 細胞: 多分化能、遺伝子導入と核移植”, *細胞工学* **24**, 264–269 (2005). * (総説)

児島洋, 本田和男, 横山和尚, 串畑史樹, 小林展章: “ラット胆管上皮に対するアデノウイルスベクターを用いた p53 遺伝子導入”, *胆道* **18**, 174–181 (2004).

[単行本・Proc.]

(総説)

木村誠: “RNA ポリメラーゼ”, キーワードで理解する転写イラストマップ, 羊土社, 東京, pp. 19–26 (2004).

横山和尚, 池田正明, 加藤光保: “細胞の増殖制御と癌化”, キーワードで理解する転写イラストマップ, 羊土社, 東京, pp. 176–193 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Kishikawa S. and Yokoyama K. K.: “Control of transcription of the Dnmt1 gene by Sp1, Sp3 and p300 coactivator”, 69th Cold Spring Harbor Symp. on Quantitative Biology: Epigenetics, Cold Spring Harbor, USA, June–June (2004).

Jin C. and Yokoyama K. K.: “Transcription factor JDP2 has activities associated with histone modification and nucleosome assembly”, 13th Int. Symp. on Molecular Cell Biology of Macrophages 2004, (Senri Life Science Center), Osaka, July (2004).

Pan J., Jin C., Murata T., and Yokoyama K. K.: “JDP2 mediated-histone modification is critical for regulation of retinoic acid-induced differentiation of F9 cells”, Cold Spring Harbor Laboratory Meet. on Cancer Genetics &

Tumor Suppressor Genes, Cold Spring Harbor, USA, Aug. (2004).

Pan J., Jin C., Murata T., and Yokoyama K. K.: “Histone modification activities of JDP2 associated with retinoic acid-induced differentiation of F9 cells”, 31st Symp. on Nucleic Acids Chemistry, Tokyo, Nov. (2004).

(国内会議)

横山和尚: “転写因子 JDP2 によるヒストン修飾と分化制御”, 第 3 回転写研究会, つくば, 1 月 (2004).

木村誠: “分裂酵母 RNA ポリメラーゼ II と CTD ホスファターゼ Fcp1 の相互作用”, 第 3 回転写研究会, つくば, 1 月 (2004).

横山和尚: “ヒストン修飾による分化制御”, 第 8 回がん分子標的治療研究会総会, 鹿児島, 5 月 (2004).

山崎孝仁, 鷗飼英世, 久次米夕佳里, 井鍋久美子, 廣瀬めぐみ, 寺島美保, 山本美幸, 木村誠, 村田武英, 横山和尚: “ヒト完全長 cDNA を搭載した組換えアデノウイルスベクターの作製と開発”, 第 10 回日本遺伝子治療学会総会, 東京, 8 月 (2004).

鷗飼英世, 山崎孝仁, 廣瀬めぐみ, 井鍋久美子, 久次米夕佳里, 寺島美保, 木村誠, 村田武英, 小幡裕一, 濱田洋文, 横山和尚: “超遠心法と限外濾過法による 2 時間での感染性組換えアデノウイルスの精製法の開発”, 第 10 回日本遺伝子治療学会総会, 東京, 8 月 (2004).

中出浩司: “The tumour suppressor p53 inhibits an effector of Ras/ERK signalling, Net”, 第 63 回日本癌学会学術総会, 福岡, 9 月 (2004).

若山真理子, 安部井誠人, 福田邦明, 瀬尾恵美子, 鷗飼英世, 村田武英, 濱田洋文, 田中直見, 横山和尚: “RGD ファイバー変異の挿入による制限増殖型アデノウイルス (Ad) の胆道癌に対する抗腫瘍効果の改善”, 第 63 回日本癌学会学術総会, 福岡, 9 月 (2004).

横山和尚, 村田武英, 鷗飼英世, 潘建治: “レチノイン酸による胚性腫瘍細胞の分化誘導とヒストン修飾”, 第 63 回日本癌学会学術総会, 福岡, 9 月 (2004).

山崎孝仁, 鷗飼英世, 村田武英, 横山和尚: “完全長 cDNA を搭載した組換えアデノウイルスの作製”, 第 63 回日本癌学会学術総会, 福岡, 9 月 (2004).

瀬尾恵美子, 安部井誠人, 若山真理子, 福田邦明, 田中直見: “Uracil Phosphoribosyl Transferase (UPRT) 遺伝子導入癌選択的増殖型アデノウイルスベクターによる胆道癌の遺伝子治療”, 第 40 回日本胆道学会学術集会, つくば, 9 月 (2004).

福田邦明, 安部井誠人, 瀬尾恵美子, 若山真理子, 濱田洋文, 横山和尚, 田中直見: “腫瘍選択的増殖型アデノウイルスの胆道癌に対する抗腫瘍効果および 5-fluorouracil 併用による有効性の検討”, 第 40 回日本胆道学会学術集会, つくば, 9 月 (2004).

若山真理子, 安部井誠人, 瀬尾恵美子, 福田邦明, 田中直見: “胆道癌に対する RGD ファイバー変異制限増殖型アデノウイルス (Ad) による抗腫瘍効果の改善”, 第 40 回日本胆道学会学術集会, つくば, 9 月 (2004).

横山和尚, 村田武英, 木村誠, 鷗飼英世, 潘建治, 中出浩司: “転写因子 JDP2 のヒストン修飾能とクロマチンアッセンブリー能の解析”, 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 10 月

- (2004).
- 横山和尚: “組換えアデノウイルスベクターを用いた癌治療と安全性評価”, 第 48 回日本薬学会関東支部大会, 千葉, 10 月 (2004).
- 中出浩司, 横山和尚: “JDP2, the transcription factor that regulates adipogenesis”, 日仏科学シンポジウム, (フランス大使館), 東京, 11 月 (2004).
- 村田武英, 金春元, 潘建治, 中出浩司, 鶴飼英世, 木村誠, 小川健司, 横山和尚: “Jun dimerization protein 2 に対する抗体の作製”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- Liang L., 唐紅, 横山和尚, Mujun Z.: “Molecular cloning and expression study of CIDEc, a novel member of the cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor (DFF45)-like effector family”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 久次米夕佳里, 廣瀬めぐみ, 井鍋久美子, 寺島美保, 山本美幸, 山崎孝仁, 山岡早苗, 鶴飼英世, 木村誠, 村田武英, 横山和尚: “RIKEN DNA Bank の活動”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 木村誠: “Tfg3, a subunit of the general transcription factor TFIIF in *Schizosaccharomyces pombe*, functions under stress conditions”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 寺島美保, 鶴飼英世, 廣瀬めぐみ, 井鍋久美子, 山崎孝仁, 久次米夕佳里, 山岡早苗, 山本美幸, 木村誠, 村田武英, 横山和尚: “アデノウイルスの簡便精製法の評価”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 野口道也, Liu B., 山崎孝仁, 村田武英, 木村誠, 鶴飼英世, 王碧昭, 横山和尚: “アラニンスキヤニング変異体を用いた転写因子 Jun Dimerization Protein 2 (JDP2) の機能解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 潘建治, 村田武英, 中出浩司, 鶴飼英世, 井鍋久美子, 木村誠, 吉木淳, 横山和尚: “ノックアウトマウスを用いた転写因子 JDP2 の機能解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 山岡早苗, 山崎孝仁, 廣瀬めぐみ, 井鍋久美子, 寺島美保, 山本美幸, 鶴飼英世, 木村誠, 村田武英, 横山和尚: “ヒト・プロモーターバンクの創設と整備事業”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 山崎孝仁, 金春元, 村田武英, 木村誠, 鶴飼英世, 横山和尚: “レンチノイン酸による胚性腫瘍細胞の分化誘導とヒストン修飾”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 横山和尚, 鶴飼英世, 井鍋久美子, 寺島美保, 山崎孝仁, 廣瀬めぐみ, 久次米夕佳里, 山本美幸, 山岡早苗, 木村誠, 村田武英: “組換え p53 アデノウイルスの自然発生変異に関する研究”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 井鍋久美子, 鶴飼英世, 寺島美保, 廣瀬めぐみ, 山崎孝仁, 山本美幸, 久次米夕佳里, 木村誠, 村田武英, 横山和尚: “組換えウイルスコアバンク: 完全長 cDNA を搭載したアデノウイルス用シャトルベクターの作製”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 若山真理子, 瀬尾恵美子, 福田邦明, 安部井誠人, 鶴飼英世, 村田武英, 田中直見, 濱田洋文, 横山和尚: “胆道癌における RGD ファイバー変異制限増殖型アデノウイルス (CRAd) による抗腫瘍効果の改善”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 中出浩司, 村田武英, 潘建治, 横山和尚: “転写制御因子 JDP2 (Jun dimerization protein 2) のリン酸化機構の解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 加藤篤, 横山和尚: “ウイルスの増殖戦略を利用したウイルス治療法: 遺伝子治療法 (ベクター) の開発と応用”, 第 27 回日本分子生物学会年会ワークショップ, 神戸, 12 月 (2004).
- 横山和尚: “動物と微生物の DNA”, 第 27 回日本分子生物学会年会特別企画: ナショナルバイオリソースプロジェクトシンポジウム, 神戸, 12 月 (2004).