

個体遺伝情報研究チーム

Population and Quantitative Genomics Team

チームリーダー 権藤 洋一
GONDO, Yoichi

当研究チームでは、生命を司るゲノム配列全情報を体現している生物個体情報と直接結びつけ、ゲノム機能を生物機能に直結する研究システムを開発してきた。鍵となるのは遺伝学である。古典遺伝学では遺伝子単位で遺伝子型と表現型を解析してきたのに対し、ここでは高速高精度な遺伝解析システムを開発整備し、ゲノム全体で生命機能を網羅的に解明する新しい情報生物学を目指す。マウスをモデル系とし、ENU という強力な突然変異誘発剤でミュータジェネシスをマウスゲノムに施す。その変化した配列、すなわち、ゲノム上の突然変異を高速に発見する。そして、発生工学手法を用いてその変異を持つマウス個体を産生し、網羅的にフェノーム解析を実施しゲノム機能を解読していく。まずはその一步として、年間 100 遺伝子に 1 塩基置換を同定発見できるまでに本年度は至った。すでにチーム発足以来総数にして 200 の点突然変異をさまざまな遺伝子に同定発見しており、いよいよ個体レベルにおける機能解析との直結解明にも取りかかる。

1. 個体遺伝情報研究

ゲノム DNA 配列情報は、進化の過程を経て完成された生命のプログラムである。受精時点から、生命はこのプログラムを適切な時空間において稼働させ、内在性のシグナルや環境からの刺激を受容し、応答処理し、自らを複雑に適応させていく。このプログラムは現時点で「完成品」であるとともに、環境の変化に対応し、また、他生物種との適者生存原理に打ち勝ちながら変化していく可塑性も持ち合わせている。ゲノム配列全体がほぼ解読された今日、ゲノム機能解明を目指して、配列情報に刻み込まれている機能情報と可塑性を解明する様々な研究アプローチが展開されている。その中で、1つの有効な手段が「突然変異」という INPUT を用いて、完成体であるゲノムプログラムそのものを変化させ OUTPUT として表現型を解析する遺伝学的手法である。例えば、マウスをモデル系として、そのゲノム配列 30 億塩基の並びを端から 1 つずつ変化させた 30 億の変異系統を確立し、それぞれの個体表現型を網羅的に集積解析できれば、一塩基ごとのゲノム機能解明が可能となる。当然ながら、現時点において網羅的に 30 億系統確立に取りかかるのは不可能である。そこで、当研究チームは 2000 年 4 月発足以来、ヒト遺伝子疾患解明に重要な鍵を担っている遺伝子群などに絞って、まずはこのゲノム機能解明システム確立の可能性の模索から始めた。昨年度までに、大規模表現型 DB 構築ではオラクル DB を基盤として 20,000 を越える変異候補マウス群に総数 200 万項目ほどの表現型情報を蓄積した。一方、大規模遺伝子型 DB については gene-driven mutagenesis 法を用いて ENU 突然変異を特定の標的遺伝子に 100 個ほど発見同定するに至った。

(1) 大規模表現型 DB 整備開発 (権藤、中井、竹之内、櫻庭、内山、土橋、藤本、合田、本井、石綿、田中; 榊屋、茂木、和田、古瀬 (GSC 動物ゲノム機能情報研究グループ))

マウス個体表現型解析はこれまで全面的に GSC 動物ゲノム機能情報研究グループとの共同研究として DB 構築を進めてきた。東戸塚キャンパスの動物ゲノム機能情報研究棟と昨年度ようやく立ち上がり移動を開始したばかりのつく

ばキャンパスにおけるヒト疾患モデル開発研究棟において、オラクル DB サーバを基幹とするマルチユーザ/マルチタスクをロバストに実行できるネットワーク環境整備から、DB を稼働させるためのソフトウェア、ミドルウェアの開発実装を押し進め、さらには、デスクサポートも含む人材やハードウェアまで整備し、そのエンハンス作業にも力を注いできた。とくに本年度は、行動解析を中心に DB 関連開発を進めた。新規開発アプリケーションとして、Light Dark テストおよび Observation システムを実装した。行動データ閲覧システムについては現在さらに進めている。また、変異体マネジメントシステムのとくに遺伝性テスト部分のエンハンス作業として Open Field テストや Light Dark テストに登録画面や個体識別表示機能など追加した。行動表現型プログラム以外の開発として、主に、東戸塚キャンパスでの画像 DB 処理作業を円滑につくばキャンパスに移行させることを中心として画像解析システムエンハンスも行った。動物ゲノム機能情報研究グループは本年度末までにかなりの部分のつくば移行が完了し、それに先立って移行に必要な DB の開発/エンハンスを含めた情報環境開発整備を進めた。鶴見、つくば、東戸塚、3 拠点間のテレビ会議システムも円滑に作動しており、移行期にあたっていろいろと困難な事態が予想されるなか、動物ゲノム機能情報研究グループの研究活動だけでなく、当研究チームとの連携研究も含めてトラブルを最小限に抑え、活動を維持できる情報環境体制を整えた。(日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社 郡川氏、鈴木氏、増尾氏、株式会社スポック 喜田氏、外川氏、黒澤氏、佐久間氏、安野氏、株式会社ハーテック 渡口氏、入澤氏との共同研究)

さらに鶴見キャンパスでも RCAI マウス実験施設が完成し稼働はじめた、その一部の使用が本年度から可能となったので、当研究チームも独自のマウス実験系構築を鶴見キャンパスで始めた。動物ゲノム機能情報研究棟は phenotype-driven mutagenesis でモデルマウス系統を確立を中心として情報環境整備を進めてきた。一方、鶴見 RCAI マウス実験施設においては、gene-driven mutagenesis で発見してき

た標的遺伝子に点突然変異を持つマウスの表現型解析システムの整備開発を中心に置く。そのために、すでに、動物ゲノム機能情報研究グループから凍結精子や凍結胚から移植によって安全に突然変異マウス系統を搬送するシステムをまず整備した。すでに3系統のマウスを移植によって搬入し、50匹以上の突然変異マウス系統由来の個体が鶴見キャンパスで産まれている。これに伴って、これまでに開発整備してきたDBを活用しながらgene-driven mutagenesisに適した情報環境整備を進めている。

点突然変異表現型解析においては、何ら機能変化をもたらさない中立な変異やサイレントな変異を速やかに識別し解析系から除外していくことが、表現型解析全体の高速化効率化の第一の鍵となる。そこで外見を観察しただけでは識別が容易でない変異体については、マウス生体内の代謝系の変化を鋭敏にかつ網羅的に把握できるメタボローム解析系の開発確立が重要な課題と考える。そこでタンパク質や生体内代謝物の違いを野生型と突然変異型と比較検討するためのシステム整備にも着手した。また点突然変異を起こしたタンパク質が同定されているので、そのタンパク質と周囲の遺伝子ネットワークを構築しているタンパク質群を解析するために抗体も必要に応じて作製を始めている。手始めに当研究チームが重点研究の1つにあげているハンチントン舞踏病原因遺伝子産物であるマウスハンチンティン(HD)ではMAB2166モノクローナル抗体を入手し実際に野生型マウスから検出できることを確認した。さらに、機能変化の有無を速やかに識別する方法として培養細胞系での表現型解析も整備構築している。この方法はHDも含め当研究チームの主眼としているゲノムダイナミクスに関連する遺伝子群の解析にとくに有用となる。ゲノムダイナミクスではHDのようにトリプレットリピートの増長で神経変性疾患を起こすもの他に、組換え/修復系遺伝子のように発がんや老化と関わっている遺伝子群が多く、個体表現型の解析には長期の観察が必要となる。そこで、胎児性繊維芽細胞の初代培養株を樹立し、さまざまなDNA損傷を引き起こす薬剤や刺激を与えるなど、表現型への変化の有無を早期に同定することが可能な方法を検討する。こういった、メタボローム解析系や培養細胞解析系実験は、スペースがなく当研究チームでは、当初実施が困難と思われていたものの、平成16年1月より理研横浜研究所所長裁量スペースに応募し利用が認められ可能となった。

<連携研究>

(i) NMRメタボローム解析システムの開発(権藤;平山(篠崎植物分子生物学研究室);菊地(GSCタンパク質構造・機能研究グループ);茂木,井上,野田(GSC動物ゲノム機能情報研究グループ))

上記のように外見からは把握できない表現型の変化を早期に鋭敏に検出する目的で、当連携研究を開始した。NMR解析を用いると官能基を鋭敏に識別できる。さらに、 ^{13}C や ^{15}N などの同位元素で標識するとその検出感度が飛躍的に上がる。すでに中央研究所篠崎植物分子生物学研究室とGSC NMR計測技術高度化研究チームが共同で植物におけるNMRメタボローム解析に着手していた。そこで、変異マウスにも同様の解析を予備的に実施した。動物ゲノム機能情報研究グループがすでに確立している糖尿病モデルマウスに ^{13}C 標識グルコースを投与して経時的に採尿し、投

与方法の検討や個体内メタボライトの検出感度を解析し数時間のうちに検出できることを確認した。

(ii) 変異マウス解析高速化の検討(権藤,内山,櫻庭;金田(GSC動物ゲノム機能情報研究グループ);古関,長谷川,望月(RCAI免疫器官形成研究グループ))

標的遺伝子に変異を発見したマウス系統は、その個体の表現型を高速に解析できなければ具体的なモデルマウスとしての有用性は実証されない。発見した変異を持つマウスは凍結精子として保存されているので、その体外受精から表現型解析までいかにして高速な解析システムとするかが鍵となる。そこでマウス胚操作や発生工学に優れた技術を持つRCAI免疫器官形成グループと連携して、この流れを高速化する技術開発を始めた。最終的には、ロックアウトアシルなどのコンパウンドヘテロ接合体を高速に産出し、さらに解析速度と感度を高める予定である。現在、すでにIVFおよび移植を試験的に3回ほど開始し、すでに50個体ほど産仔を得ている。

(2) 大規模遺伝子型DB整備開発(権藤,櫻庭,高橋,内山,土橋,藤本,合田,本井,中井,石綿)

動物ゲノム機能情報研究グループではENUで誘発した突然変異を持つ第一世代(G1)マウスをこれまでに約10,000匹凍結精子として保存アーカイブ化した。当研究チームはこの10,000匹のマウスからゲノムDNAアーカイブを構築し、特定遺伝子に変異を発見するgene-driven mutagenesis開発を平成12年度から開始した。平成13年度にはダイレクトシーケンシングによってのべ30Mbをスクリーンし1Mbに平均1個変異を誘発していることを明らかにした。マウスゲノムが3,000Mbであることから、1匹のG1には3,000個、アーカイブ全体には30,000,000個の点突然変異が凍結精子として蓄積されている。平成14年度には、さらに高速な変異検出を可能とするTemperature Gradient Capillary Electrophoresis(TGCE)システムを導入し、本年度はマルチプレックス解析が定着し、年間100の点突然変異を検出できるシステムが確立した。現時点までに、のべ200Mbほどのスクリーンから200近くの点突然変異を様々な標的遺伝子に発見同定している。

そこで、このシステムを外部からも一般的に利用できる体制を強化した。公開遺伝子総数は135となり、そのうち、外部からの依頼のものは半数を超える78遺伝子となった。利用者は研究対象とする遺伝子にPCRプライマーを設計し利用を申し込む。当研究チームにおいて変異発見スクリーンを行う。発見した変異系統は利用者が主たる研究者として表現型解析を実施する。一定の優先解析期間を設けるものの最終的にはすべての変異系統はバイオリソースセンター(BRC)を通して一般に広く公開するという案を提唱している。

年間に100の変異発見の解析速度を得たとは言え、ゲノム機能を網羅的に解明するにはまだまだ高速化が必須である。少なくとも10倍、できれば100倍以上に変異発見効率を上げる技術開発が必要である。そこで新しい変異発見系開発を含め、近い将来におけるDNAシーケンシングの飛躍的な高速化を見越したダイレクトシーケンシング法の応用、さらには、シロイヌナズナやゼブラフィッシュなどで成果を挙げているTILLING法などの比較検討にも本年度着手した。

(3) 知識統合 DB 構築開発 (権藤, 櫻庭, 高橋, 内山, 中井)

これまで, 表現型 DB 開発整備は phenotype-driven mutagenesis を中心に, 遺伝子型 DB 開発整備は gene-driven mutagenesis を基盤として進めてきた。すでに, gene-driven mutagenesis から総数 200 系統の点突然変異マウスを発見しているので, いよいよ, gene-driven mutagenesis から得られたマウス系統の個体表現型の網羅的解析を進め, それぞれの突然変異を, 遺伝子型と表現型で直結する知識統合 DB の構築開発を加速する。集積した実験データから, 作業仮説を構築し, 効率的な検証実験を組み立て, 最終的に遺伝子機能およびゲノム機能を抽出する。

(i) 標的遺伝子に点突然変異を持つマウスの開発研究 (権藤, 櫻庭, 内山, 土橋, 藤本, 合田, 本井, 石綿; 金田, 小林, 梶屋, 井上, 和田, 土岐 (GSC 動物ゲノム機能情報研究グループ); 鈴木, 金森 (GSC 遺伝子構造・機能研究グループ); 阿部 (BRC 動物変異動態解析技術開発チーム); 平野, 西田 (RCAI サイトカイン制御研究グループ); 古関 (RCAI 免疫器官形成研究グループ); 吉川 (BSI 分子精神科学研究チーム))

変異発見そのものは基盤整備を行って集約的に高速高感度でセンター的にスクリーンするのが効率的であるが, 個体表現型の解析はそれぞれの遺伝子に固有の研究となり規格化することは難しい。そこで, その遺伝子を専門に解析している研究者が, 蓄積してきた知識, 技術, データ, ノウハウを活かして, その遺伝子の突然変異マウスを解析し, 遺伝子機能解明にあたるのが効果的であり早い。この場合, マウスミュータジェネシスや発生工学, マウス胚操作といった専門技術がなくとも簡便に変異マウスを入手でき, また, 通常の交配繁殖でマウス実験ができることが一般的に広く活用されるうえでは理想的である。この一般外部研究者に利用可能なシステムを試験的に構築開発するため, 基盤研究 (A) (1) として平成 15 年より研究班を組んで開発している。他にも脳神経系, 行動情動, 形態発生, 老化, 免疫, 発がんなどそれぞれを専門とする研究者が鍵となる遺伝子を提唱し, その遺伝子の点突然変異を当チームにおいて発見し提供する。そして, 発見したマウス系統を各研究者が専門性を活かして解析する, という流れを確立するのが目的である。この研究班を中心に, 本年度 7 月に第一回研究集会を理研横浜研究所交流棟において開催した。班員を含め内外 14 の研究機関, 27 研究室から 51 名が参加して進捗状況を報告するとともに今後の方針について検討した。(北大先端科学技術共同研究センター 北田氏, 東北大学院医学科 菅原氏, 岡崎基礎生物学研究所 上野氏, 熊本大動物資源開発研究センター 山田氏, 新潟大学院医学科 木南氏, 神戸大学院医学部 饗場氏, 東大分子細胞生物学研究所 内藤氏, 国立遺伝学研究所 小出氏, マウントシナイ病院 Roder 氏との共同研究)

(ii) Long conserved non-coding sequences (LCNS) 領域の生物機能解明 (権藤, 櫻庭; 梶屋 (GSC 動物ゲノム機能情報研究グループ); 豊田, 野口, 江島 (GSC ゲノム構造情報研究グループ))

昨年度「非遺伝子領域と呼ばれるゲノム配列の生物機能解明」と題して着手した共同研究である。ここでいう「遺伝子領域」とは, タンパク質をコードする配列にその発現を調

節している cis 配列を加味した分子生物学的なものを意味している。ENU はこの「遺伝子領域」「非遺伝子領域」を問わずランダムに点突然変異を誘発しているため, すべてのゲノム DNA 配列の生物機能解明を行うことが原理的に可能である。もちろんノックアウトマウス法で非遺伝子領域を欠損するマウスを作成し解析することも可能であるが 1 つ 1 つ ES 細胞の候補領域をターゲティングしてマウスとして解析していくのは得られる成果と要する時間費用等の面から現実的ではない。我々は昨年度, この非遺伝子領域ながら生物機能を持つ可能性の高い候補領域として, ヒトとマウスゲノム配列を検索し 500 bp 以上に渡って 90% 以上の相同性を示す領域を多数抽出し Long Conserved Non-coding sequences (LCNS) と呼んでいる。そのなかでさらに他の種にも高い相同性を示す配列やその配列の周囲のゲノム構造などを加味してさらに候補領域を絞り込み, 点突然変異検出用の PCR プライマーを設計した。スクリーンの結果, 5 つの候補領域から 10 を越える点突然変異を検出することに成功した。さらにスクリーンを進めるとともに, 得られた点突然変異については凍結精子からマウスを復元しているところである。

(iii) ゲノム情報統合による変異体マウスの突然変異原因遺伝子同定技術の開発 (権藤, 櫻庭; 豊田 (GSC ゲノム情報科学研究グループ); 梶屋, 若菜 (GSC 動物ゲノム機能情報研究グループ); 河合 (GSC 遺伝子構造機能研究グループ))

唯一, phenotype-driven mutagenesis からゲノム上の突然変異箇所を同定する方向での知識統合 DB 構築を行う連携研究である。突然変異を染色体マッピングだけからポジショナルクローニングしようとする, 戻し交雑によって数千匹のマウスを解析する必要があり数年を要する。動物ゲノム機能情報研究グループは, 大規模なマウス飼育施設を擁しているとは言え, すでに phenotype-driven 法で数百の突然変異系統を確立しており, その 1 つ 1 つに精密な染色体マッピングを実施することは不可能である。そこで, 候補遺伝子探索 (candidate gene approach) 法を進めてきた。当研究チームでは本年度までに positional candidate approach 法によって, 動物ゲノム機能情報グループが確立した突然変異系統のうち, すでに 20 系統以上について原因遺伝子同定と実際に ENU で誘発されていた塩基変化を発見した。さらに高速高精度に原因遺伝子と変異部位を検出できるシステム開発研究として, 生化学代謝ネットワーク情報や公開文献検索情報なども統合したコネクション DB 構築に基づく原因遺伝子の絞り込みと同定への連携研究を昨年度より別途進めてきた。本年度は, タイリングアレー法による高速化を試験的に導入し実施したところ, RNA をラベルして検出すれば転写領域そのものとそのなかで塩基変化が生じている領域を示唆するシグナルがすでに得られた。現在, その再現性や検出感度などを検討している。

Our research objective is to directly connect the genotype and phenotype to understand the function of gene and genome. This kind of studies has been conducted in genetics; however, we apply this genetic approach to whole genome by developing high throughput research infrastructures with the robust ORACLE database system. In the mouse model system, ENU induces many point mutations.

Phenotype-driven as well as gene-driven approaches identify ENU-induced mutant mice in genome-wide manner. In particular, we have discovered ~200 mutations in various target genes. Now, we have started to analyze extensive phenotype analyses for the mutant mouse strains.

1. Population and quantitative genomics research

The program of the life is coded by four letters of base pairs. At present, it is a completed program that encompasses all the information from the fertilization to whole life cycle. At the same time, the program of the life is variable and flexible to adapt various environment and survive the natural selection. To elucidate the functional information of the program, we utilize mutations that alter codes or sequences of genomic DNA. The phenotype of mutants directly reflect the biological function of the altered genomic DNA sequences. One of the most effective mutagens, ENU, mostly induces point mutations in the mouse. Thus, ENU is useful to alter single letters of genomic DNA. We have so far succeeded in discovering ~200 mutant mouse strains in various target genes.

(1) Development of a large-scale phenotype database

The phenotype DB for the mouse mutagenesis project has been constructed in collaboration with the GSC Mouse Functional Genomics Research Gr. since year 2000. This year, several new applications were developed and introduced to the Totsuka and Tsukuba facilities particularly to the phenotype screening for the behavioral analyses e.g., Light Dark test, Observation system, and so forth. Several enhancements were also conducted to the Mutant Management system, Open Field test, 2D Image File Management system, etc. In addition, we have started to develop our own phenotype database system for the Tsurumi Campus, since a part of RCAI mouse facilities has become available for us by RCAI's courtesy. This new database system is focusing on the phenotype assessments for the 200 mutant mouse strains established by the ENU-based gene-driven mutagenesis. The cell culture system as well as metabolome/proteome platforms have been introduced to the temporary allocated experimental room C204 by the Director of the RIKEN Yokohama Institute.

(2) Development of a large-scale genotype database

The Mouse Functional Genomics Research Gr. has so far developed a frozen sperm archive of ~10,000 G1 mice by the ENU mutagenesis. We have been isolating genomic DNA from the G1 mice to construct the mutagenized genomic DNA archive. Our preliminary studies revealed that the frozen sperm archive consisted of 30,000,000 point mutations in the mouse genome. It implies that it is possible to retrieve point mutations in every 100 bp on average from any regions of the mouse genome. To discover ENU-induced mutations in a particular sequence or gene in the mouse genome, we have introduced Temperature Gradient Capillary System (TGCE). This year, we have succeeded in the multiplex analysis of quadruple samples together from the PCR to heteroduplex detection for the TGCE system. In total, we have discovered ~200 novel ENU-induced mutations by screening ~200 Mb of the mutagenized genomic DNA archive. We have also made the ENU-based gene-driven mutagenesis available to any researchers who have engaged in the studies on a particular gene (s). A user may design the PCR primers for the target gene (s), we then screen the mutagenized genomic DNA archive by using the primers, and the user conducts the functional analysis of the gene by using the discovered mutant strains. We have been developing the throughput of the mutation discovery

system. This year, we introduced another detection system, TILLING method, to compare the reproducibility, detectability and throughput with TGCE.

(3) Development of integrated knowledge-database

The phenotype database and genotype database for the ENU mouse mutagenesis had been rather independently developed for phenotype-driven and gene-driven approaches, respectively, until last fiscal year. This year, the phenotype assessment facilities have become available for us at the Tsurumi Campus as described above; thus, we initiated the integration between the phenotype-and genotype database to construct knowledge-database. It directly connects the discovered genotypes by the gene-driven mutagenesis to the corresponding phenotypes. To accelerate this integrated database, the elevation of the throughput of phenotype assessment is the most critical key. The user consortium described in the previous section should enhance the whole mouse phenotype analyses. A part of the feasibility studies organizing the user consortium has been supported by Grants-in-Aids for Scientific Research (A) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in Japan since 2003. Nine laboratories have joined this program.. The first conference for the use of RIKEN ENU-based gene-driven mutagenesis was held at the Koryuto Hall of the RIKEN Yokohama Institute in July gathering a total of 51 researchers from 27 laboratories in 14 research institutions including the member of the program above. The objective target genes are from various fields, neurology, embryology, immunology, senescence, oncology, psychology and so on. Currently, 135 target genes are listed in <http://gsc.riken.jp/Mouse/>, of which 78 genes were from requested by other laboratories. In addition to the functional analyses of various gene function, we have also started the functional elucidation of long conserved non-coding sequences (LCNS). Last year, candidate sequences were chosen by the multispecies comparison. This year we screened 5 candidate regions and found more than 10 point mutations in LCNS. For the phenotype-driven approach, we continue the collaborative development of positional cloning and candidate approaches. This year, we examined the feasibility of a tiling array method to detect point mutations in the candidate region. By using some positive controls, preliminary results suggested detection of the mutations. The reproducibility and resolution of the detection are now under investigation.

Research Subjects

1. Development of a large-scale phenotype database
2. Development of a large-scale genotype database
3. Development of integrated knowledge-database

Staff

Team Leader

Dr. Yoichi GONDO

Research Scientist

Dr. Ryutaro FUKUMURA
Dr. Yoshiyuki SAKURABA

Dr. Ryo TAKAHASI
Dr. Masashi UCHIYAMA

Technical Scientist

Mr. Yuji NAKAI

Technical Staff

Ms. Naomi FUJIMOTO
Ms. Noriko GODA
Ms. Ryoko ISHIWATA
Ms. Kumiko KAROUJI
Ms. Rika MOTOI
Ms. Kaori TAKENOUCI
Ms. Megumi TANAKA
Ms. Keiko TSUCHIHASHI

Assistant

Ms. Miyuki TANIHIRA
Ms. Kazumi HOSHINO

in collaboration with

Dr. Toshihiko SHIROISHI (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Tetsuo NODA (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Shigeharu WAKANA (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Osamu MINOWA (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Hiroshi MASUYA (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Maki INOUE (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Yumiko WADA (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Tomohiro SUZUKI (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Hiromi MOTEGI (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Hideki KANEDA (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Tamio FURUSE (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Mr. Hideaki TOKI (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Mr. Kimio KOBAYASHI (Mouse Funct. Genomics Res. Group, GSC)
Dr. Jun KAWAI (Genome Explor. Res. Group, GSC)
Dr. Harukazu SUZUKI (Genome Explor. Res. Group, GSC)
Dr. Mutsumi KANAMORI (Genome Explor. Res. Group, GSC)
Dr. Jun KIKUCHI (Protein Res. Group, GSC)
Dr. Atsushi TOYODA (Genome Core Technol. Facil., GSC)

Dr. Hideki NOGUCHI (Genome Core Technol. Facil., GSC)

Ms. Fumio EJIMA (Genome Core Technol. Facil., GSC)
Dr. Tetsuro TOYODA (Genomics Knowl. Base Res. Team, GSC)

Dr. Toshio HIRANO (Lab. Cytokine Signaling, RCAI)
Dr. Keigo NISHIDA (Lab. Cytokine Signaling, RCAI)
Dr. Haruhiko KOSEKI (Lab. Dev. Genet., RCAI)
Mr. Takanori HASEGAWA (Lab. Dev. Genet., RCAI)
Mr. Shinobu MOCHIZUKI (Lab. Dev. Genet., RCAI)
Dr. Kuniya ABE (Technol. Dev. Team, for Mamm. Cell. Dyn., BRC)

Dr. Takeo YOSHIKAWA (Lab. Mol. Psychiatry, BSI)
Dr. Takashi HIRAYAMA (Plant Mol. Biol. Lab.)

Visiting Members

Dr. Kazuto KOBAYASHI (Sch. Med., Fukushima Med. Univ.)
Dr. Hideki SEZUTSU (Natl. Inst. Agrobiol. Sci.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Inoue M., Sakuraba Y., Motegi H., Kubota N., Toki H., Matsui J., Toyoda Y., Miwa I., Terauchi Y., Kadowaki T., Shigeyama Y., Kasuga M., Adachi T., Fujimoto N., Matsumoto R., Tsuchihashi K., Kagami T., Inoue A., Kaneda H., Ishijima J., Masuya H., Suzuki T., Wakana S., Gondo Y., Minowa O., Shiroishi T., and Noda T.: "A series of maturity onset diabetes of the young, type 2 (MODY2) mouse models generated by a large-scale ENU mutagenesis program", *Hum. Mol. Genet.* **13**, 1147–1157 (2004). *

Masuya H., Nakai Y., Motegi H., Ninaya N., Kida Y., Kaneko Y., Aritake H., Suzuki N., Ishii J., Koorikawa K., Suzuki T., Inoue M., Kobayashi K., Toki H., Wada Y., Kaneda H., Ishijima J., Takahashi K., Minowa O., Noda T., Wakana S., Gondo Y., and Shiroishi T.: "Development and implementation of a database system to manage a large-scale mouse ENU-mutagenesis program", *Mamm. Genome* **15**, 404–411 (2004). *

Uchiyama M. and Wang T. S.: "The B-subunit of DNA polymerase α -primase associates with the origin recognition complex for initiation of DNA replication", *Mol. Cell. Biol.* **24**, 7419–7434 (2004). *

Masuya H., Shimizu K., Sezutsu H., Sakuraba Y., Nagano J., Shimizu A., Fujimoto N., Kawai A., Miura I., Kaneda H., Kobayashi K., Ishijima J., Maeda T., Gondo Y., Noda T., Wakana S., and Shiroishi T.: "Enamelin (*Enam*) is essential for amelogenesis: ENU-induced mouse mutants as models for different clinical subtypes of human amelogenesis imperfecta (AI)", *Hum. Mol. Genet.* **14**, 575–583 (2005). *

(総 説)

櫻庭喜行, 権藤洋一: “ENU マウスミュータジェネシスと新しい逆向遺伝学”, 蛋白質 核酸 酵素 **49**, 2642–2648 (2004).

[単行本・Proc.]

(総説)

権藤洋一: “大規模マウスミュータジェネシスプロジェクト”, ゲノミクス・プロテオミクスの新展開: 生物情報の解析と応用, 加藤郁之進ほか(編), エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 1062–1070 (2004).

井上麻紀, 権藤洋一: “誘発変異”, モデル動物の作製と維持, エル・アイ・シー, 東京, pp. 120–128 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Uchiyama M. and Wang T. S.: “The B-subunit of DNA polymerase α -primase associates with the origin recognition complex (ORC) for initiation of DNA replication”, DNA Replication and Genome Integrity 2004, (Salk Institute and Caltech), La Jolla, USA, Aug. (2004).

Inoue M., Sakuraba Y., Motegi H., Kubota N., Terauchi Y., Toki H., Matsui J., Toyoda Y., Miwa I., Shigeyama Y., Kaneda H., Ishijima J., Masuya H., Suzuki T., Wakana S., Gondo Y., Minowa O., Shiroishi T., and Noda T.: “A series of maturity onset diabetes of the young, type 2 (MODY2) mouse models generated by a large scale mutagenesis project in RIKEN GSC”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Furuse T., Wada Y., Masuya H., Kaneda H., Kobayashi K., Kawai A., Kushida T., Nishii R., Gondo Y., Noda T., Wakana S., and Shiroishi T.: “Behavioral characterization and linkage analysis of an ENU-induced mouse mutant line that shows learning deficit, reduction of body size, convulsive seizure, and transient immobility”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Motegi H., Ohtaki M., Toki H., Inoue M., Masuya H., Kaneda H., Kobayashi K., Suzuki T., Wada Y., Wakana S., Minowa O., Gondo Y., Shiroishi T., and Noda T.: “Characterization of accumulated data by blood test screening in RIKEN mouse mutagenesis project”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Suzuki T., Furuumi H., Hashimoto M., Kyouno S., Nagashima A., Kumaki K., Kaneda H., Gondo Y., Noda T., Wakana S., Ishino F., Sasaki H., and Shiroishi T.: “Current progress in screening for mutants affecting genomic imprinting in the RIKEN-GSC project”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Masuya H., Shimizu K., Sezutsu H., Sakuraba Y., Nagano J., Shimizu A., Fujimoto N., Ishijima J., Kaneda H., Kobayashi K., Maeda T., Gondo Y., Noda T., Wakana S., and Shiroishi T.: “ENU-Induced mouse enamelin (*Enam*) mutants as models for different clinical subtypes of human amelogenesis imperfecta (AI)”, 18th

Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Sakuraba Y., Sezutsu H., Takahashi K., Uchiyama M., Tsuchihashi K., Fujimoto N., Ichikawa R., Kaneko S., Goda N., Ikeda A., Karashima Y., Inoue M., Kaneda H., Minowa O., Wakana S., Noda T., Shiroishi T., and Gondo Y.: “Genome-wide mutation discovery by TGCE in gene-driven approach of ENU-mutagenesis”, 18th Int. Mouse Genome Conf., Seattle, USA, Oct. (2004).

Minowa O., Inoue M., Sakuraba Y., Motegi H., Toki H., Tada M., Kaneda H., Ishijima J., Masuya H., Kobayashi K., Suzuki T., Wakana S., Gondo Y., Shiroishi T., and Noda T.: “Mouse deafness mutant lines from the RIKEN ENU mutagenesis project”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Wada Y., Masuya H., Kushida T., Kawai A., Nishii R., Miura I., Furuse T., Kobayashi K., Kaneda H., Suzuki T., Minowa O., Gondo Y., Noda T., Wakana S., and Shiroishi T.: “Mouse mutants with hyperactivity: recent progress in RIKEN ENU mutagenesis project”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

Toyoda T., Masuya H., Kawashima T., Hasegawa Y., Sezutsu H., Kaminuma E., Mochizuki Y., Hirokawa K., Heida N., Gondo Y., Kawai J., Wakana S., Konagaya A., Hayashizaki Y., and Shiroishi T.: “*In silico* positional cloning: a web system for exploration of responsible genes in monogenic and multigenic traits”, 18th Int. Mouse Genome Conf., (International Mammalian Genome Society), Seattle, USA, Oct. (2004).

(国内会議)

権藤洋一: “遺伝子機能解明のための ENU 誘発による Gene-driven mouse mutagenesis”, 文科省科研費特定領域研究「発がんと防御」: 蓼科「個体レベル」若手ワークショップ, (個体レベルでの新しい病理形態学的がん研究の推進と支援に関する委員会), 茅野, 1月(2004).

若菜茂晴, 榊屋啓志, 長谷川義和, 望月芳樹, 広沢桂, 豊田哲郎, 川島麗, 河合純, 瀬筒秀樹, 権藤洋一: “ゲノム情報と転写地図を利用したマウス突然変異体原因候補遺伝子の網羅的探索システムの開発”, 第 51 回日本実験動物学会総会, 長崎, 5月(2004).

高橋亮: “共適応の形成過程における正の選択と前適応”, 日本進化学会第 6 回大会, 東京, 8月(2004).

高橋亮, 田嶋文生: “共適応の形成と固定確立”, 日本遺伝学会第 76 回大会, 吹田, 9月(2004).

内山雅司, Wang T.: “The B-subunit dependent DNA polymerase α -primase association with the Origin Recognition Complex(ORC) for initiation of DNA replication”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月(2004).

和田由美子, 古瀬民生, 榊屋啓志, 美野輪治, 小林喜美男, 金田秀貴, 三浦郁生, 串田知子, 川合暁子, 西井瑠美, 渋谷陽子, 権藤洋一, 野田哲生, 若菜茂晴, 城石俊彦: “ENU 誘発突然変異による精神疾患モデルマウスの開発”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12月(2004).

- 和田由美子, 古瀬民生, 榎屋啓志, 美野輪治, 小林喜美男, 金田秀貴, 三浦郁生, 串田知子, 川合暁子, 西井瑠美, 洪川陽子, 榎藤洋一, 野田哲生, 若菜茂晴, 城石俊彦: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-1): 行動変異マウスの表現型解析と遺伝子マッピング”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 古瀬民生, 和田由美子, 榎屋啓志, 金田秀貴, 小林喜美男, 串田知子, 川合暁子, 西井瑠美, 榎藤洋一, 野田哲生, 若菜茂晴, 城石俊彦: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-2): 痙攣・無動発作を示す ENU 誘発行動異常変異マウスの遺伝解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 茂木浩未, 土岐秀明, 大瀧慈, 佐藤健一, 井上麻紀, 榎屋啓志, 鈴木智広, 小林喜美男, 若菜茂晴, 榎藤洋一, 美野輪治, 城石俊彦, 野田哲生: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-3): 血液スクリーニング”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 井上麻紀, 茂木浩未, 櫻庭喜行, 土岐秀明, 茂山豊, 窪田直人, 豊田行康, 松井純子, 榎屋啓志, 金田秀貴, 若菜茂晴, 榎藤洋一, 美野輪治, 城石俊彦, 野田哲生: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-4): 糖尿病モデルマウスの開発と解析”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 榎屋啓志, 清水邦彦, 瀬筒秀樹, 櫻庭喜行, 清水彩, 永野順子, 前田隆秀, 榎藤洋一, 若菜茂晴, 野田哲生, 城石俊彦: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-5): エナメル質形成不全症モデルマウス”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 美野輪治, 井上麻紀, 茂木浩未, 土岐秀明, 榎屋啓志, 和田由美子, 小林喜美男, 金田秀貴, 多田瑞穂, 光岡由貴, 石島淳子, 櫻庭喜行, 若菜茂晴, 榎藤洋一, 城石俊彦, 野田哲生: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-6): 難聴モデルマウスの探索”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 鈴木智広, 古海弘康, 橋本昌和, 京野志保, 長嶋綾子, 熊木健治, 金田秀貴, 榎藤洋一, 野田哲生, 若菜茂晴, 佐々木裕之, 石野史敏, 城石俊彦: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-7): ゲノムインプリンティング”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 櫻庭喜行, 瀬筒秀樹, 内山雅司, 土橋圭子, 藤本尚未, 合田紀子, 本井里佳, 井上麻紀, 金田秀貴, 美野輪治, 若菜茂晴, 野田哲生, 城石俊彦, 榎藤洋一: “体系的なマウス突然変異体開発プロジェクト (2004-8): 遺伝子主導型ミュータジェネシスと全ゲノム DNA 増幅”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 高橋亮: “共通適応的な遺伝子複合の形成過程における中立変異と前適応”, 京都大学数理解析研究所研究集会「生物数学の理論とその応用」ミニシンポジウム「進化生物の数理」, 京都, 12 月 (2004).
- 榎藤洋一, 櫻庭喜行: “二倍体ゲノム 60 億塩基対からの点突然変異ディスカバリー”, 第 27 回日本分子生物学会バイオテクノロジーセミナー「遺伝子変異の高速スクリーニング: 今後の展望とその可能性」, 神戸, 12 月 (2004).
- 井上麻紀, 櫻庭喜行, 茂木浩未, 土岐秀明, 茂山豊, 春日雅人, 窪田直人, 寺内康夫, 門脇孝, 豊田行康, 三輪一智, 若菜茂晴, 榎藤洋一, 美野輪治, 城石俊彦, 野田哲生: “理研マウス突然変異体開発プロジェクトにおいて作出されたグルコキナーゼ遺伝子 (Gck) 変異マウスの解析”, 第 19 回日本糖尿病動物研究会年次学術集会, 京都, 2 月 (2005).
- 榎藤洋一: “マウス ENU ミュータジェネシスと新しい逆遺伝学の展開”, 文部科学省特定領域研究「発がんと防御」公開シンポジウム: 動物発がん人とヒト発がんの架け橋, 東京, 2 月 (2005).