

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 -

講演要旨集



実験動物マウス



ラット



ショウジョウバエ



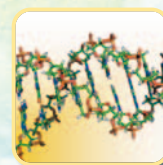
シロイヌナズナ



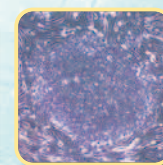
イネ



コムギ



遺伝子材料



ヒト・動物細胞



線虫



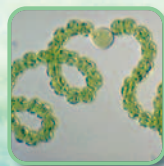
カイコ



メダカ



オオムギ



藻類



広義キク属



研究用ヒト臍帯血幹細胞



ゼブラフィッシュ



ニホンザル



カタユレイボヤ



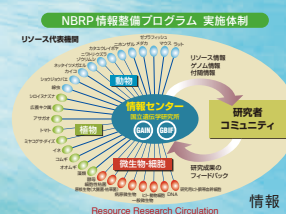
アサガオ



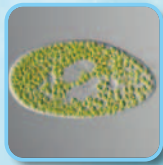
ミヤコグサ・ダイズ



トマト



ニワトリ・ウズラ



ゾウリムシ



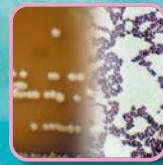
ネッタイツメガエル



細胞性粘菌



病原微生物



一般微生物



原核生物 (大菌菌・枯草菌)



酵母

平成24年11月21日(水)
東京コンファレンスセンター・品川

文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト推進委員会



開催趣旨

文部科学省「ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）」は、国が戦略的に整備することが重要なバイオリソースについて、体系的に収集、保存、提供等を行うための体制を整備することを目的に平成14年度にスタートしました。これまでの第1期（平成14-18年度）と第2期（平成19-23年度）の過去10年間におよぶ活動により、動植物・微生物等のバイオリソースとそれらに関する情報提供の事業拠点が整備されてきました。さらにはゲノム解析等による付加価値向上やバイオリソース保存技術等の開発が実施され、世界的にも類を見ない多様なバイオリソースを横断した体系的なバイオリソース整備プロジェクトとして着実に成長して参りました。これにより、研究基盤の重要な柱として国内外の生命科学の発展に大きく貢献してきました。

本年度から、このプロジェクトは第3期NBRPとして新たなスタートを切ることになりました。第3期では、これまでに無かった4つの新しいリソースも新規課題として加わりました。また、平成24年度のゲノム情報等整備プログラムや基盤技術整備の各プログラムについても新たな事業が選定されスタートしています。この度、この第3期NBRPの門出に、一般公開の形式で「NBRPシンポジウム ー第3期の挑戦ー」というタイトルでシンポジウムを開催する運びとなりました。このシンポジウムでは、過去10年間のNBRPの代表的成果の紹介に続いて、新たに加わった4つの新規リソースについて事業計画や抱負を披露して頂きます。また、バイオリソース事業を進める上では避けては通れない生物多様性条約の問題についても議論して頂く予定になっています。このシンポジウムを通して、事業実施者においては気持ちを新たにプロジェクトに取り組んで頂けるよう、一般市民の方においては、NBRPについてさらにご周知頂き、バイオリソースの重要性についてご理解を深めていただく契機になればと考えております。

それでは、一人でも多くの皆様方に本シンポジウムへ参加して頂き、NBRPに対する幅広い見地からのご意見・ご助言を賜って本プロジェクトの新しいステップへとつなげて参りたいと願っております。

文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト
広報企画ワーキンググループ
主 査 城 石 俊 彦 (国立遺伝学研究所)

プログラム

- 13：00 開 会 NBRP 事務局 佐藤 清（国立遺伝学研究所）
主催者挨拶 NBRP 推進委員会主査 小原 雄治（国立遺伝学研究所）
来賓挨拶 文部科学省研究振興局ライフサイエンス課
- 13：15 第1部 中核的拠点整備プログラムの成果と展望
 座長：林 哲也（宮崎大学）
- ①マウス 吉木 淳（理化学研究所バイオリソースセンター）
②イネ 倉田 のり（国立遺伝学研究所）
③線虫 三谷 昌平（東京女子医科大学）
- 14：20 第2部 ゲノム情報等整備プログラムおよび基盤技術整備プログラムの成果
 座長：林 哲也（宮崎大学）
- ①メダカ 成瀬 清（基礎生物学研究所）
②ラット 金子 武人（京都大学）
- 15：00 休 憩
- 15：30 第3部 新規課題リソースの抱負 座長：城石 俊彦（国立遺伝学研究所）
- ①ニワトリ・ウズラ 松田 洋一（名古屋大学）
②ゾウリムシ 藤島 政博（山口大学）
③ネッタイツメガエル 住田 正幸（広島大学）
④研究用ヒト臍帯血幹細胞 加藤 俊一（東海大学）
- 16：35 第4部 生物多様性条約に関する話題 座長：城石 俊彦（国立遺伝学研究所）
名古屋議定書に伴う遺伝資源の取得と利益配分（ABS）に対する対応
 鈴木 陸昭（国立遺伝学研究所）
- 16：55 閉 会 NBRP 推進委員会委員 森脇 和郎（理化学研究所バイオリソースセンター）

講演目次

第1部 中核的拠点整備プログラムの成果と展望

座長：林 哲也（宮崎大学フロンティア科学実験総合センター センター長）

「ゲノム情報に基づく次世代マウスリソースの拡充」

吉木 淳 理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室 室長・・・ 1

「イネ属多様性リソース・変異体リソースの展開」

倉田 のり 国立遺伝学研究所生物遺伝資源センター 教授・・・ 3

「バイオリソースの収集・保存・提供によるシステムティックな遺伝子機能解析への環境整備」

三谷 昌平 東京女子医科大学医学部第二生理学教室 教授・・・ 5

第2部 ゲノム情報等整備プログラムおよび基盤技術整備プログラムの成果

座長：林 哲也（宮崎大学フロンティア科学実験総合センター センター長）

「メダカ完全長 cDNA クローンの大規模塩基配列決定とゲノム機能解析」

成瀬 清 自然科学研究機構基礎生物学研究所バイオリソース研究室 准教授・・・ 7

「ラット精子に関する基盤技術の整備 – フリーズドライ精子からラットが誕生 –」

金子 武人 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 特定講師・・・ 9

第3部 新規課題リソースの抱負

座長：城石 俊彦（国立遺伝学研究所生物遺伝資源センター 教授）

「ニワトリ・ウズラリソースの整備とその活用に向けて」

松田 洋一 名古屋大学大学院生命農学研究科附属鳥類バイオサイエンス研究センター 教授・・・ 11

「ナショナルバイオリソースとしてのゾウリムシの役割」

藤島 政博 山口大学大学院理工学研究科環境共生系学域 教授・・・ 13

「ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供」

住田 正幸 広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設 施設長・教授・・・ 15

「研究用ヒト臍帯血幹細胞」

加藤 俊一 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 教授・・・ 17

第4部 生物多様性条約に関する話題

座長：城石 俊彦（国立遺伝学研究所生物遺伝資源センター 教授）

「名古屋議定書に伴う遺伝資源の取得と利益配分（ABS）に対する対応」

鈴木 睦昭 国立遺伝学研究所知的財産室 室長・・・ 19



ゲノム情報に基づく次世代マウスリソースの拡充

理化学研究所バイオリソースセンター実験動物開発室 室長 吉木 淳

マウスリソースは近交系、ゲノム情報、遺伝子材料、胚性幹細胞株、個体レベルの遺伝子操作技術の整備が最も進んだ実験動物である。遺伝的に均一な近交系マウスは再現性の高い動物実験系であり、遺伝子機能の解明や病気の治療法の開発に不可欠である。我が国のライフサイエンス研究では先進的なマウスシステムが作出され、世界トップレベルの研究成果が報告されていることから、マウスは国が戦略的に整備すべきリソースと言える。理化学研究所バイオリソースセンター（理研BRC）は第2期NBRPにおいて我が国で開発されたマウスモデルを収集して世界第2位のマウスリソース数を達成し、国内外の850機関に高品質なマウスを提供し、利用者による優れた論文成果が得られている。

第3期NBRPでは我が国がリードする分野で開発された遺伝子操作システムを収集するとともに、次世代マウスモデルとして、遺伝子操作の時空間制御を可能にするCreマウスならびに高次機能解明や疾患の発症機序・病態解析に有用なモデルマウスを拡充する。遺伝子組換え酵素を組織特異的に発現するCreマウスは、ゲノム情報に基づき網羅的に整備されたノックアウト（KO）マウスと組み合わせ、特定の細胞・組織・臓器における遺伝子操作を可能にし、遺伝子機能の解明および疾患モデルの作出に不可欠である。また、特定の蛋白や細胞内小器官、遺伝子発現を蛍光標識した可視化モデルと疾患モデルとの交配により高次機能解明や疾患の発症機序・病態解析に有用なマウスが開発されている。これらのマウスに微生物学的ならびに遺伝学的に高度な品質管理を施して表現型、ゲノムおよび遺伝子発現情報を充実させて世界最高水準の品質を目指す。

国際マウスリソース連盟（Federation of International Mouse Resources: FIMRe）およびアジアマウス突然変異・リソース連盟（Asian Mouse Mutagenesis and Resource Association: AMMRA）の設立メンバーとして欧米ならびにアジア諸国と連携して日本の研究者が開発したシステムを世界に発信する。さらに、全遺伝子の近交系ノックアウトES細胞からKOマウスを作製して表現型解析を実施する国際表現型解析コンソーシアム（International Mouse Phenotyping Consortium: IMPC）に理研BRC・日本マウスクリニックと共に参画している。IMPCの活動を通じて国際的に標準化されたプロトコールによる表現型解析データが付加された網羅的なKOマウスリソースが我が国の研究者にも利用可能となり、我が国で開発されたリソースと共に、ライフサイエンス研究の基盤構築と医薬・創薬研究の発展に役立つことが期待される。

主 要 論 文

1. Cao, L. Q., *et al.* High Resolution Intravital Imaging of Subcellular Structures of Mouse Abdominal Organs Using a Microstage Device. *PLoS One* 7(3), 2012.
2. Mochida, K., *et al.* Cryopreservation of mouse embryos by ethylene glycol-based vitrification. *J Vis Exp* (57), 2011.
3. Yoshiki A. Dissemination of advanced mouse resources and technologies at RIKEN BioResource Center. *IBC* 2(15), Dec 24, 2010
4. Nakata H, et al. Simultaneous detection of multiple transgenes for genetically-modified mouse strains. *Exp Anim.* 58(4): 437-442, 2009.
5. Mekada, K., et al. Genetic Differences among C57BL/6 Substrains. *Exp Anim* 58, 141-149, 2009.



イネ属多様性リソース・変異体リソースの展開

国立遺伝学研究所生物遺伝資源センター 教授 倉田 のり

2002年の発足から10年をへて、大学や研究機関の持つ多様なイネの収集、整備が進み、研究コミュニティにおける利用も拡大しつつある。この間、NBRPにおいては、主に学術的な用途を目的として、2種類の大型リソースを扱って来た。一つは、1940年代から40-50年かけて世界各地から収集された野生イネの系統群で、9ゲノム23種、約1700の系統を擁している。もう一つは化学変異剤により誘起した突然変異系統群とそこから選抜した変異表現型を持つ系統群で、すでに4品種の合計で1万点を超える系統の収集を行った。イネリソースに関しては、NBRPの中核拠点とは別に、農水省ジーンバンクにおいても多くの系統の収集、保存が行われているが、ほとんどが栽培イネの品種に特化した収集となっており、互いに補完し合う形での事業が進んでいる。

2012年からの第3期では、第2期までの整備内容を踏まえて、野生イネにおいては、大規模かつ詳細なゲノム情報を駆使する研究の組み立てをサポートして行く事を計画している。他の研究プロジェクトで読まれた野生イネ系統のゲノム情報や形質情報を積極的に収集・提供して行くことで、多くの系統で利用価値を格段に高める事を目指している。すでに、数百の系統における大規模塩基配列情報の入手が可能になっており、情報センターの協力も得て、イネリソース&ゲノムのデータベースであるOryzabaseから配列情報の公開に取り組んで行く計画である。さらに、栽培種とこれらの情報を持つ近縁の野生イネとの交配によって得られた集団、染色体置換系統等をリソースに加えることにより、実際の実験系統、育種素材としての提供も行う計画である。

突然変異系統については、変異集団として、遺伝的に遠い系統(indica)集団の収集も続けていく。第3期においての、突然変異系統に関する第一の目標は、特定遺伝子の点突然変異を検出するTILLING法と変異系統のDNAを提供し、オープンラボでスクリーニングによる系統の選抜と、種子の分譲までを行うシステムを稼働させる事である。

イネの場合は、NBRP事業と平行して、NBRP事業に欠かせない情報や手法、リソースなどの研究開発を進める事が出来たため、両者を効果的に進めることができ、双方にとって有益であった。今後もこれらの情報、材料を効果的に組み合わせたりソースの提供を行い、研究コミュニティの支援としたい。

主 要 論 文

1. Huang X, Kurata N, Wei X, Wang Z-X et al.(2012) A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. Nature (in press)
2. Yang CC, K.Y., Mizuno H, Wu J, Matsumoto T, Itoh T. (2011). Independent domestication of Asian rice followed by gene flow from japonica to indica. Mol Biol Evol 29(5),1471-1479.
3. Mizuta Y, Harushima Y, Kurata N. (2010) Rice pollen hybrid incompatibility caused by reciprocal gene loss of duplicated genes. Proc. Natl. Acad. Sci. 47: 20417-20422. 2010.
4. Ammiraju J.S.S., S.X., Luo M, et al. (2010) The Oryza BAC resource: a genus-wide and genome scale tool for exploring rice genome evolution and leveraging useful genetic diversity from wild relatives. Breed Sci 60(5),536-543.
5. Hattori Y, N.K., Furukawa S, Song XJ, Kawano R, Sakakibara H, Wu J, Matsumoto T, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Mori H, Ashikari M. (2009) The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water. Nature 460(7258),1026-1030.



バイオリソースの収集・保存・提供による システムティックな遺伝子機能解析への環境整備

東京女子医科大学医学部第二生理学教室 教授 三谷 昌平

線虫 *C. elegans* は S. Brenner が遺伝学的解析に有用なモデル生物として 1970 年代に確立した。受精から成虫に至るまでの全ての体細胞の細胞系譜、および、電顕像再構築によって形態がシナプス結合を含めて詳細に調べられている。1998 年には、多細胞生物として最初にゲノム配列の解読が終了し、今日の多くの生物におけるゲノム解析の基礎となった。最初に RNA 干渉が発見されたこと、最初に GFP がレポーターとして使用されたことも生命科学研究全般に与えた影響は計り知れない。

線虫 NBRP では平成 14 年度（第 1 期）より、欠失変異体の収集・保存・提供を実施してきた。紫外線と Trimethylpsoraren による処理によって線虫ゲノムにランダムな欠失を導入し、これをシャーレに少数ずつ培養して、クローン個体が増殖したところで回収して、凍結保存バンクを作成済みである。回収時に一部の個体から DNA を抽出してあるので、遺伝子型から培養時の個体に辿り着けるシステムとなっている。この手法は、第 1 期から継続してほぼ同じ手法で生産性の高さを維持できていることは驚きである。点変異導入による順遺伝学的手法と異なる点としては、欠失変異体は null 変異になる確率が高いこと、PCR によって容易に遺伝子型を調べることができることから、標準株として多用される例が増えつつある。

約 10 年間の間に収集・保存し、公開した変異体数は約 5000 系統に及んでいる。累積公開変異体数の増加に伴い、提供数も徐々に増え、平成 23 年度では年間約 2000 系統程度になり、累計でも 1 万系統を越えている。提供先のほとんどは、アカデミック研究を行っている世界の 1000 を越える研究室である。破壊された遺伝子機能を解析する研究に用いられているケースが多い。中核機関より提供された変異体を使用して発表される論文数は平成 23 年度では年間 200 編を越えており、提供してからの所用時間は年単位ではあるが、着実に成果になりつつあることが推測される。

比較的最近発表された論文としては、オートファジーのメカニズムによって、受精時に父性のミトコンドリアの除去が行われていることが示す論文が発表されている。我々は、小分子化合物が線虫のクチクラを通過し易い変異体を記載した。今後は、化合物スクリーニング他のより幅広い応用研究にも使用されることを期待している。

主 要 論 文

1. Chalfie et al. Green Fluorescent Protein as a Marker for Gene Expression. *Science* 263, 802-805 (1994).
2. The *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome Sequence of the Nematode *C. elegans*: A Platform for Investigating Biology. *Science* 282, 2012-2018 (1998).
3. Fire et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391, 806-811 (1998).
4. Gengyo-Ando and Mitani. Characterization of mutations induced by ethylmethanesulfonate, UV and trimethylpsoralen in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 269, 64-69 (2000)
5. Kage-Nakadai E et al. Two Very Long Chain Fatty Acid Acyl-CoA Synthetase Genes, *acs-20* and *acs-22*, Have Roles in the Cuticle Surface Barrier in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One* 5 (1), e8857 (2010).



メダカ完全長 cDNA クローンの大規模塩基配列決定とゲノム機能解析

自然科学研究機構基礎生物学研究所バイオリソース研究室 准教授 成瀬 清

第2期バイオリソースプロジェクトが開始された2007年は、メダカゲノム解析プロジェクトの結果がNature誌に発表された年でもある。メダカゲノム解析データはその当時としてもかなり正確で突然変異体のポジショナルクローニングの効率化を大きな目的として開始したプロジェクトとしてかなり成功を取めたと考えている。一方でメダカではゲノムアノテーションの基盤として最も基本である発現遺伝子の情報はほとんどがEST情報であり5'端と3'端の塩基配列が決定されているだけであった。また、5'端の情報では転写開始点の情報が含まれているのかも明らかではないという状態であった。そこでゲノムアノテーションの基本情報を大規模に得るためにNBRPゲノム情報等整備プログラムに応募し、完全長cDNAの塩基配列情報を大規模に取得することを計画した。この計画は3年間にわたり採用され、最終的には11種類の完全長cDNAライブラリーに由来する約26万クローン（各ライブラリーから2 - 2.5万クローンをランダムに選択）の両端配列を決定することができた。3'端と5'端の配列を多重整列した結果、5'端で26,314種類、3'端で21,588種類の異なった配列を同定することができた。異なった配列を持つクローンのうち15,381種類については内部配列を含む完全長塩基配列データも取得した。また今回作成した完全長cDNAライブラリーには含まれない746クローンについても以前EST解析に用いたライブラリーから選択し、その内部配列を決定した。その結果現在では、16,127の異なった完全長cDNA塩基配列データを含む50万を超える完全長cDNA配列情報とそのクローンをNBRP Medaka ウェブサイトからユーザーに提供している。このプロジェクトでは全く同じ方法で11種類のcDNAライブラリーを作成し、あえてランダムにクローンをピックアップした。これによりそれぞれのライブラリーに含まれる同一配列を持つクローンの数が擬似的にそれぞれの遺伝子の発現量を示すと考えられる。そこでこのデータからライブラリーごとに同じ配列を持つクローン数を調べることができる表形式のデータベースとそれをヒートマップによって表示したウェブサイトも作成した。

現在では次世代シーケンサーの発達によって、大量の塩基配列データを得ることも比較的容易で安価になってきた。いまならば当然RNA-Seq法による大量のデータ取得が発現データの解析という点では第一の選択肢となると考えられる。しかし6年前に開始したこのメダカ完全長cDNAプロジェクトではRNA-Seq法では得られない重要なリソースを得ることができた。それは今後も「もの」として使い続けることができるcDNAクローンというリソースである。第3期ではこのプロジェクトから得られた貴重なcDNAリソースをより有効に利用できるようゲノム情報のアップデートを行うとともにゲノムアノテーションをさらに工夫をしていきたい。

主 要 論 文

1. Kasahara, M., Naruse, K., Sasaki, S., Nakatani, Y., Qu, W., Ahsan, B., Yamada, T., Nagayasu, Y., Doi, K., Kasai, Y., *et al.* (2007). The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. *Nature* 447, 714-719.



ラット精子に関する基盤技術の整備 ーフリーズドライ精子からラットが誕生ー

京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 特定講師 金子 武人

近年の遺伝子改変技術の発展に伴い、ラットにおいても遺伝子改変システムのシステム化した開発ができるようになってきた。このため、新規系統の精子をリソースとして保存する重要性が益々高くなると推測している。フリーズドライ（凍結乾燥）は、インスタントコーヒーや宇宙食などの食品あるいは医薬品の長期保存に汎用されている技術である。これまでの研究から、成熟ラットの精巢上体尾部から採取した精子をトリス-EDTA保存液に懸濁してフリーズドライすることで良好に受精能を保持できるという結果を得ていた。今回の基盤技術整備プログラムでは、このフリーズドライ精子保存法をバイオリソースに応用するための更なる研究を行った。その結果、フリーズドライ精子保存法は、クローズドコロニーとして量産されているWistar系ラットのみならず、バイオリソースとして重要な近交系ラットにも応用できることが明らかになり、フリーズドライ後5年間という長期にわたり冷蔵庫（4℃）に保存していた精子から、顕微授精によりラットを得ることができることを確認した。また、フリーズドライ精子は3ヶ月程度であれば常温でも個体作製の可能な状態で保存することができることが分かった。

今回の成果から、以下のことが期待される。1) これまで、ラット精子を安定して保存しておくためには液体窒素タンクとその維持およびメンテナンスが必須であったが、液体窒素を必要としないフリーズドライ保存法を応用すれば保存に必要な経費を大幅に軽減することができる。2) 我が国においては、阪神・淡路大震災や東日本大震災の事例等を想定すると、液体窒素の生産工場の被災や道路の寸断による液体窒素の供給途絶が考えられ、液体窒素タンク内の保存精子が必ずしも安全であるとは言えない。一方、フリーズドライ精子保存法は常温下でも短期保存が可能のため、災害時でも安全に精子を保存することができると考えられる。3) フリーズドライ精子は、常温での保存有効期間を考えると、液体窒素やドライアイスを使用しない簡易な方法で国内外にラットリソースを輸送することができるので、これまでの輸送の困難性を改善できる。

フリーズドライ精子保存法の開発は、他の動物種においても研究が行われており、演者らはマウス精子においても冷蔵庫での長期保存に成功している。「簡易、安全、低コスト」の遺伝資源管理および災害や事故から貴重な遺伝資源を守ることができるフリーズドライ精子保存法は、今後他のバイオリソースへの応用も期待されるところである。

主 要 論 文

1. Takehito Kaneko, Tadao Serikawa: Successful long-term preservation of rat sperm by freeze-drying. PLoS One 7, e35043, 2012.
2. akehito Kaneko, Tadao Serikawa: Long-term preservation of freeze-dried mouse spermatozoa. Cryobiology 64, 211-214, 2012.



ニワトリ・ウズラリソースの整備とその活用に向けて

名古屋大学大学院生命農学研究科附属鳥類バイオサイエンス研究センター 教授 松田 洋一

【事業の概要】

ニワトリ・ウズラは、現存する約9,600種の鳥類を代表するモデル動物として、ライフサイエンス研究に不可欠な生物資源である。しかし、我が国における、研究用リソースとしてのニワトリ・ウズラの保存・供給体制は脆弱であり、多くの貴重なリソースが国内に散在し失われつつある。NBRP「ニワトリ・ウズラ」では、名古屋大学鳥類バイオサイエンス研究センターが中核的拠点を形成し、質と量ともに世界最高水準のニワトリ・ウズラリソースの保存と育成、ならびに安定供給を実現することによって、鳥類を用いたライフサイエンス研究の基盤を補完し、研究者コミュニティへのさらなる貢献を目指す。

【リソース】

現在、研究で広く用いられているニワトリ・ウズラのほとんどは、産業用（複数の親系統の多元交配によって生産されるヘテロ性の極めて高い個体群）からの転用であるため、遺伝的な保証がない。当センターでは、現在、ニワトリの野生原種である赤色野鶏、高度近交系、長期閉鎖系、疾患モデル系および育成系を含む20を超えるニワトリ系統を維持し、ニホンウズラは突然変異系統を含む長期閉鎖系7系統を保有し、提供が可能である。なかでも高度近交系5系統は、多くのマイクロサテライト（MS）マーカー、各種血液型、皮膚移植などの検査によって遺伝的均質度が非常に高いことが確認されており、質的にも国際競争力を兼ね備えた世界屈指のニワトリリソースとなっている。また、ニホンウズラ7系統についても、当研究センターで独自に開発したMSマーカーによって高い遺伝的均質性が確認されている。

【将来計画】

1) リソースの収集・保存・育成

国内に散在している多様な遺伝的特性をもつニワトリ・ウズラリソースを収集し、分子育種学的手法を用いて遺伝的に統御された新たな系統として育成し、研究者に提供する。

2) 遺伝モニタリングによるリソースの高品質化

MSマーカー等を用いた遺伝モニタリングによって遺伝的均質度の向上を図り、遺伝的に保証された高品質のリソース（標準系統など）を整備する。

3) 遺伝子導入・遺伝子改変ニワトリ・ウズラの作出

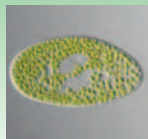
DNAトランスポゾンを用いた始原生殖細胞（PGC）およびES細胞への遺伝子導入法、ならびにPGCを用いた遺伝子ターゲティング法によって遺伝子導入・遺伝子改変動物を作出する。

4) データベースの構築

ニワトリ・ウズラリソースの表現型と遺伝子型に関するデータベースの構築、ならびにリソースを活用した研究成果に基づくリソース情報の高度化と研究者コミュニティへのフィードバックを推進する。

主 要 論 文

1. Yoshimura T, Yasuo S, Watanabe M, Iigo M, Yamamura T, Hirunagi K, Ebihara S. Light-induced hormone conversion of T_4 to T_3 regulates photoperiodic response of gonads in birds. *Nature* 426:178-181, 2003.
2. Nakao N, Ono H, Yamamura T, Anraku T, Takagi T, Higashi K, Yasuo S, Katou Y, Kageyama S, Uno Y, Kasukawa T, Iigo M, Sharp PJ, Iwasawa A, Suzuki Y, Sugano S, Niimi T, Mizutani M, Namikawa T, Ebihara S, Ueda HR, Yoshimura T. Thyrotrophin in the pars tuberalis triggers photoperiodic response. *Nature* 452:317-322, 2008.
3. Nakane Y, Ikegami K, Ono H, Yamamoto N, Yoshida S, Hirunagi K, Ebihara S, Kubo Y, Yoshimura T. A mammalian neural tissue opsin (Opsin 5) is a deep brain photoreceptor in birds. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 107:15264-15268, 2010.
4. Shinomiya A, Kayashima Y, Kinoshita K, Mizutani M, Namikawa T, Matsuda Y, Akiyama T. Gene duplication of the *endothelin 3* gene is closely correlated with the hyperpigmentation of the internal organs (*Fibromelanosis*) of Silky chickens. *Genetics* 190:627-638, 2012.
5. Yoshimura K, Kinoshita K, Mizutani M, Matsuda Y, Saito N. Inheritance and developmental pattern of cerebral hernia in the crested Polish chicken. *Journal of Experimental Zoology Part B. Molecular and Developmental Evolution* (published online 21 August, 2012).



ナショナルバイオリソースとしてのゾウリムシの役割

山口大学大学院理工学研究科環境共生系学域 教授 藤島 政博

ゾウリムシ (*Paramecium*属) は培養と細胞内構造の光学顕微鏡観察が容易なため、細胞内共生成立機構、性的細胞認識、性転換、接合の誘導、自家生殖、受精核の形成と小核と大核の分化、大核の無糸分裂、細胞質分裂、細胞骨格、核のアポトーシス、ゲノムの再編集、ゲノムの水平伝搬、寿命と老化、繊毛運動、走性、浸透圧調整、エンドサイトーシス、エキソサイトーシス、概日リズム、逸脱コドン、イオンチャネル、膜の電氣的興奮、環境適応、病原菌の保菌機能、水の浄化、学習等の多様な研究に使用されている。細胞の性、細胞の寿命、細胞の電氣的興奮、核ゲノムのコドンの逸脱性は、ゾウリムシで最初に発見された現象である。ゾウリムシの1種の *P. tetraurelia* では全ゲノム塩基配列の解読が完了し (Blanc et al, 2010)、現在は *P. caudatum*、*P. multimicronucleatum*、*P. bursaria* のゲノムがインディアナ大学で解読中であり、今後の発展が見込まれるバイオリソースである。

山口大学のゾウリムシの保存種数と株数はATCCやCCAPを遥かに越える世界最大規模で、東北大学、筑波大学、茨城大学、奈良女子大学の30年以上のコレクションを引き継ぎ、さらに山口大学でも30年以上収集した信頼できるバイオリソースである。これらの中には、現在採集可能な *Paramecium* 属25種のうちの23種が含まれている。*P. caudatum* については遺伝的に隔離されたsyngen 8種の全ての相補的接合型株を維持し、*P. bursaria* では日本産syngenの相補的接合型4種の全てを維持している。*P. aurelia* では繊毛運動、トリコシスト、老化の突然変異体も維持している。核内共生細菌 *Holospora* 属については、9種のうちの3種を維持し、さらに *P. caudatum*、*P. bursaria*、*Holospora*、*P. bursaria* の細胞内共生 *Chlorella* に対する多数のモノクローナル抗体産生ハイブリドーマも維持している。利用者のニーズに応じて適切な株を提供し、モノクローナル抗体の利用についても相談にのる。*Paramecium* 属は約50種が記載されているが、現在採集可能な種は25種しかない。この事業は環境変化によって減少しているゾウリムシの種の保存の役割も果たす。

主 要 論 文

1. Kodama Y., Fujishima M. Cell division and density of symbiotic *Chlorella variabilis* of the ciliate *Paramecium bursaria* is controlled by the host's nutritional conditions during early infection process. *Env. Microbiol.* Published online date 4 June 2012. Doi: 10.1111/j.1462-2920.2012.02793.x
2. Kodama Y., Fujishima M. Characteristics of the digestive vacuole membrane of the alga-bearing ciliate *Paramecium bursaria*. *Protist* 163, 658–670, 2012.
3. Fujishima M., Kodama Y. Endosymbionts in *Paramecium*. *Eur. J. Protistol.*, 48, 124–137, 2012.
4. Kodama Y., Fujishima M. Chapter 2. Secondary symbiosis between *Paramecium* and *Chlorella* cells. In, “*Int. Rev. Cell Mol. Biol.*”, (Ed) Jeon K. W., vol. 279, pp. 33–77, Elsevier Inc. San Diego, Burlington, London, Amsterdam, 2010.
5. Fujishima, M. Chapter 8. Infection and maintenance of *Holospira* species in *Paramecium caudatum*. In, “*Endosymbionts in Paramecium*”. *Microbiology Monographs* vol. 12, (Ed) Fujishima M., Springer Dordrecht Heidelberg London New York, pp. 201–225. 2009.



ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供

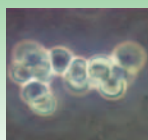
広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設 施設長・教授 住田 正幸

さまざまな生物学分野の発展に大きく寄与したアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) に、さらに優れた特性が付加された次世代の両生類実験動物がネッタイツメガエル (*X. tropicalis*) である。ただし、ネッタイツメガエルはサイエンスコミュニティに登場して日が浅い発展途上の実験動物であり、研究手法などの情報共有が十分な状態とはいえない。本事業では、ネッタイツメガエルをモデル動物として洗練させるための基盤整備と、本リソースユーザー数の増加を目的として、以下の課題を実施している。

- (1) 近交系作出・標準系統確立：ネッタイツメガエルの中でも、全ゲノムが解読された系統である、Nigerian系統の高品質化と近交化を促進している。第3期においては、受精率・生存率が高い親を選抜し、さらに雌核発生法を行うことで、遺伝的に均一であり、かつ、実験に使いやすい、高品質な近交系統を樹立する。これにより、日本発のネッタイツメガエル標準系統を確立することを目標としている。
- (2) 供給体制の改善：ネッタイツメガエルは、やや温度感受性が高いため、夏期・冬期における輸送が国際的にも課題であった。現在、輸送デバイスの検討と、生存実験を実施しており、ネッタイツメガエルの周年供給体制を早急に確立する。
- (3) ユーザー支援：Web上にディスカッションフォーラムを設立し、ユーザー間の情報共有と研究の発展を加速させる試みを開始した。なお、このフォーラムでは、コミュニティ内外の技術アドバイザーによる技術相談ができるという特色がある。さらに、飼育・実験技術講習会と最新研究発表会を実施予定である。加えて、非生体リソースの収集・提供や、短期滞在型オープンラボの設置も開始しており、ユーザーの利便性の向上に努めている。また、ネッタイツメガエル研究において最も発展が見込まれる遺伝子破壊実験の標準プロトコルを作成する予定である。
- (4) 国際連携：英・米のネッタイツメガエルリソースセンターと連携を開始した。これにより、国際間の情報共有の促進とリソースの相互提供による系統の維持体制の確立を図っている。これらの事業を遂行することで、最終的に、バイオリソースとしてのネッタイツメガエルの地位確立を目指し、本リソースユーザーの拡大を図りたいと考えている。

主 要 論 文

1. Nakajima K, Nakajima T, Takase M, Yaoita Y. (2012) Generation of albino *Xenopus tropicalis* using zinc-finger nucleases. *Development, Growth & Differentiation* 54: in press.
2. Ochi H, Tamai T, Nagano H, Kawaguchi A, Sudou N, Ogino H. (2012) Evolution of a tissue-specific silencer underlies divergence in the expression of pax2 and pax8 paralogues. *Nature Communications* 3: 848.
3. Nakajima K, Fujimoto K, Yaoita Y. (2012) Regulation of thyroid hormone sensitivity by differential expression of the thyroid hormone receptor during *Xenopus* metamorphosis. *Genes to Cells* 17: 645-659.
4. Kashiwagi K, Kashiwagi A, Kurabayashi A, Hanada H, Nakajima K, Okada M, Takase M, Yaoita Y. (2010) *Xenopus tropicalis* : An ideal experimental animal in amphibian. *Experimental Animals* 59: 395-405.
5. Takase M, Iguchi T. (2007) Molecular cloning of two isoforms of *Silurana (Xenopus) tropicalis* estrogen receptor mRNA and their expression during development. *Biochimica et Biophysica Acta* 1769: 172-181.



研究用ヒト臍帯血幹細胞

東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学 教授 加藤 俊一

1. バイオリソースとしての細胞の特性

ヒト臍帯血はヒト胎児の血液であり、最も未分化な造血幹細胞を豊富に含むとともに間葉系幹細胞などをも含むことが知られている。

臍帯血幹細胞の性質については主に造血幹細胞としての機能や形質が詳細に研究されているが、間葉系幹細胞や免疫細胞としての性質についても研究が進展している。

2. ライフサイエンス研究における現状

臍帯血幹細胞は白血病などの難治性血液疾患に対する造血幹細胞移植の移植細胞源として臨床応用が進んでいるが、造血幹細胞や間葉系幹細胞を始めとする幹細胞の研究にも広く用いられている。さらに創薬研究、がん研究、免疫研究、感染症研究、遺伝学研究、環境医学研究など広く医学研究においても利用が進められており、ライフサイエンス研究の発展には不可欠のバイオリソースであり、今後もそのニーズは増加するものと考えられる。

また、わが国において開発された革新的技術であるiPS細胞を臍帯血幹細胞から作成する研究もすでに多数報告されており、今後も発展が期待される。

3. 本事業の経緯と他機関との連携

本事業は文部科学省の再生医療実現化プロジェクトにより整備された「研究用幹細胞バンク事業」を発展的に受け継ぐもので、参画する組織も同事業の5臍帯血バンクのうち積極的な貢献の継続が可能な3組織と理化学研究所によって運営される。

提供される臍帯血幹細胞は厚生労働省の補助事業として進められている臍帯血バンク事業において、移植用に用いることができない臍帯血を本事業専用のインフォームド・コンセントを得た上で本事業に提供されるものである。

4. 提供される細胞の種類

(1) 凍結臍帯血幹細胞

- ・単核細胞：Ficoll分離、 1×10^7 以上の単核球入りのチューブ4本組
- ・有核細胞：HES分離、 3×10^8 以上の有核細胞入りのプラスチックバッグ
- ・CD34陽性細胞：磁気ビーズ法、 1×10^5 以上のCD34細胞入りのチューブ

(2) 新鮮臍帯血

- ・採取後36時間以内の新鮮臍帯血：プラスチックバッグ入り

主 要 論 文

1. Ando K, et al. Direct evidence for ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells. *Blood*. 2006 Apr 15;107(8):3371-7.
2. Kametani Y, et al. Development of human-human hybridoma from anti-Her-2 peptide-producing B cells in immunized NOG mouse. *Exp Hematol*. 2006 ;34:1240-8.
3. Takenaka C, et al. Effective generation of iPS cells from CD34+ cord blood cells by inhibition of P53. *Exp Hematol* 2010;38:154-62.
4. Masuda H, et al. Methodological development of a clonogenic assay to determine endothelial progenitor cell potential. *Circ Res* 2011;24;109:20-37.
5. Miharada K, Nakamura Y. In vitro production of enucleated red blood cells from hematopoietic stem and progenitor cells. *Methods Mol Biol* 2012;879:505-12.

名古屋議定書に伴う遺伝資源の取得と利益配分（ABS）に対する対応

国立遺伝学研究所知的財産室 室長 鈴木 睦昭

今回、生物多様性条約と遺伝資源に関する名古屋議定書の説明と各国の対応の最新状況を報告するとともに、大学における遺伝資源の取り扱いの注意点や、対応にあたる課題について述べる。さらに、新たに開設した対応窓口についてのご紹介を行う。

バイオテクノロジーにより新たな価値が生じる可能性がある動物・植物・微生物を遺伝資源と呼ばれている。大昔、地球上の遺伝資源は「人類共通の資源」であったが、1993年発効の生物多様性条約により、遺伝資源は「各国の資源」と規定され、取得と利益配分（Access and Benefit Sharing: ABS）の必要性が記載された。その後、国際的な話し合いが長年に渡って行われ、2002年ボンガイドラインができたものの、長らく具体的な国際的な法的な取り決めがない状態であったが、第10回締約国会議（COP10, 2010年10月）で、はじめての国際的な法的な取り決めである名古屋議定書が、採択され、提供国における国内法や規制の設置義務が明確化された。現時点（2012年9月）において、名古屋議定書は、5カ国が批准し、第11回締約国会議（COP11）がインド・ハイデルバードで開催され、議定書発効に向けて準備が進んでいる。

名古屋議定書において、利用国側との事前同意（PIC）、相互合意事項（MAT）や、遺伝資源の利用についてモニタリングするチェックポイントの設置の義務が規定されている。ABSは金銭的、非金銭的利益を含め具体的にMAT上で規定することとされた。さらにそのほか、伝統的知識に関する事項、保全に寄与する研究促進のための非商用利用、病原体などの非常事態への考慮、国際協定との関連や、国際多国間利益配分メカニズムの検討などが決定されている。

これらの状況において、海外の遺伝資源を国内に持ち込む際の留意点は、相手国における遺伝資源の持ち出しに関する法令等のルールを事前に確認する、遺伝資源へのアクセスと利益配分に関して相互に合意する条件について当事者間で交渉し、契約内容には細心の注意を払うことである。また、留学生が来日する際に海外から遺伝資源を持ち込む行為も、相手国における遺伝資源の持ち出しの規制対象となる可能性に注意する必要がある。

以上のように、大学において海外からの遺伝資源に関するABSに関する名古屋議定書への対応が必要となった。この状況に対応すべく、我々は対応窓口を開設した（<http://遺伝資源.jp>）。主な業務は、大学研究者に向けた名古屋議定書に対応した遺伝資源の取り扱いに関する啓発活動（セミナー、講習会開催）、海外からの遺伝資源の取り扱いに関する情報発信、海外からの遺伝資源の取り扱いに関する相談や意見を聴取する事を行っている。最後に本対応窓口について紹介したい。

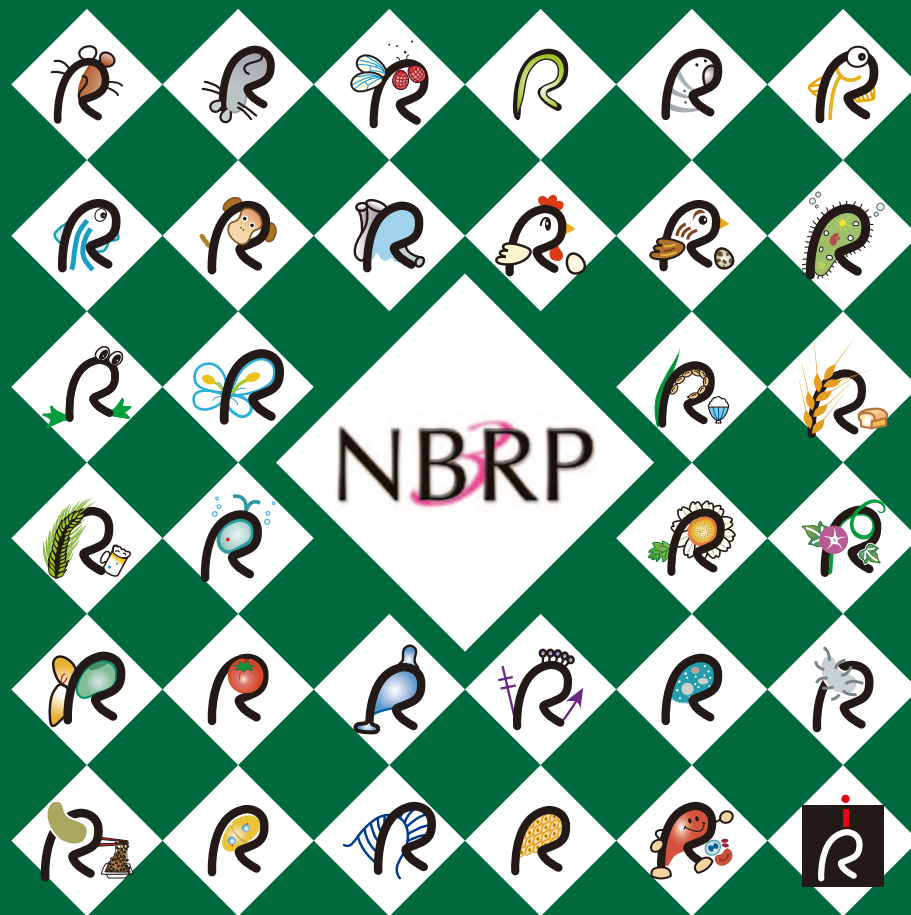
主 要 論 文

1. COP10 報告と大学知財本部が注意すべきこと（後編）リスクを抑え遺伝資源を円滑に流通させ新たなイノベーションを！, 鈴木睦昭, 産学連携ジャーナル Vol.6 No.12 2010
2. COP10 報告と大学知財本部が注意すべきこと（前編）提供国と利用者間で利益を配分, 鈴木睦昭, 産学連携ジャーナル Vol.6 No.11 2010
3. 生物多様性条約と遺伝資源をめぐる状況 (1), 鈴木睦昭, BioResource Now, Vol. 6(12), P2 December 2010
4. 生物多様性条約と遺伝資源をめぐる状況 (2), 鈴木睦昭, BioResource Now, Vol. 7(1), P2 January 2011
5. 生物多様性条約と遺伝資源をめぐる状況 (3), 鈴木睦昭, BioResource Now, (査読なし)Vol.7 (2), P2 February 2011

主 催 文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト
推進委員会

編 集 文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクト
広報企画ワーキンググループ

発 行 国立遺伝学研究所NBRP事務局
〒411-8540 静岡県三島市谷田1111
TEL : 055 - 981 - 6765
<http://www.nbrp.jp/office/>



<http://www.nbrp.jp>