〔ミニレビュー〕

遺伝子機能解明に向けたマウスリソースの整備と今後の発展

吉木 淳・Jan Mei-Ling・目加田和之

独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター・実験動物開発室

Establishment and future development of mouse resources toward unraveling the gene function

Atsushi YOSHIKI, Mei-Ling JAN, Kazuyuki MEKADA

Experimental Animal Division, RIKEN BioResource Center

ヒトのモデルとしてのマウス

ヒトのゲノムの全塩基配列が解読され (Venter ら 2001)、今では遺伝子の機能解明が研究の主流となっている。ヒトを対象とした個体レベルの試験研究には大きな制約があるため (ヘルシンキ宣言)、まずモデル動物を用いて十分な研究を行うことが求められる (APS 2002)。マウスはヒトの最も優れたモデル動物としてあげられる (Silver 1995)。マウスはヒトと同じ哺乳類で、実験動物として約 100 年の歴史があり、遺伝や病気に関する知見が蓄積している (Morse 2007)。体重は成獣で 20 ~ 40 グラムと小型であり、世代間隔も 3 ヶ月程度で短く、飼育・繁殖が比較的容易であることも実験動物として普及する要因となっている (Silver 1995)。さらに、実験の再現性を保証する遺伝的に均一な「近交系」が 450 系統以上確立されていることはモデル動物として特に優れた点である (Beck ら 2000)。マウスゲノムの全塩基配列が決定され、情報が利用可能であり、ヒトの遺伝子との相同性は 99 % と高いことがわかっている (Waterston ら 2002)。発生時期と各組織を網羅した完全長 cDNA ライブラリーが整備されており、遺伝子材料と配列情報が入手可能である (Kawai ら 2001)。人為的操作を加えた遺伝子を受精卵に注入してトランスジェニックマウスを作製することができる (Gordon ら 1980; Gordon と Ruddle 1981)。また相同組換えにより胚性幹 (ES) 細胞の特定の遺伝子を標的とした遺伝子破壊や変異の導入ができ、この遺伝子操作した ES 細胞からノックアウトマウスを作製することもできる (Capecchi 1989; Shehee ら 1993)。さらに、胚や精子の凍結保存が可能であること、様々な生殖補助技術やクローン技術が利用可能であることなど (Nagy 2003)、マウスは遺伝子の機能を個体で調

べるためのモデル生物として最も条件が整っている。

マウス系統の確立とジャクソン研究所の設立

実験用マウスの歴史は 1902 ~ 1905 年にかけてフランスで L. Cuénot がマウスの毛色の遺伝に関する一連の研究論文を発表したことに始まる (Morse 2007)。同じ頃、米国マサチューセッツの Granby 農場で Abbie Lathrop が愛玩マウスの育成をしていた。ここでは毛色の変異や特徴的な行動を示す突然変異系、腫瘍の発生するマウスも見つかっていた (Rader 1997)。ハーバード大学にいた W. E. Castle は Lathrop から愛玩マウスを導入し、毛色変異の遺伝を研究し始めた。1907 年から C. C. Little がこの研究に参加し、pink-eye (*p*)、dilute (*d*)、albinism (*c*) が異なる遺伝子座であり、*A^y* は優性致死遺伝子であることを発表した。さらに、Little と Tyzzer は癌感受性の遺伝を証明するためには、遺伝的に均一な近交系マウスの確立が必要であると考え、近交系 DBA (dilute, brown, non-agouti) の育成を開始した。Little はその後、コールドスプリングハーバーの研究所で DBA の他数種類のマウスを増やして研究を進め、1929 年にはジャクソン研究所を設立し、マウントデザート島に移って研究を開始した。その後数年間で A、BALB/c、CBA、C57BL、C57BR、C57L、C58、DBA 等の多数の近交系を確立し論文を発表した。ジャクソン研究所では当時から研究者各々が自分の

連絡先: 吉木 淳、独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンター・実験動物開発室 〒305-0074 つくば市高野台 3-1-1 (e-mail: yoshiki@brc.riken.jp)

C57BL コロニーを維持し、研究所の内外の研究者の要望に快く応じて繁殖ペアを供給していた (Silver 1995; Morse 2007)。こうした活動の継続により世界中の研究者がマウス系統を容易に入手することができ、ジャクソン研究所は今日まで多くの研究者に感謝され、尊敬される存在となっている。

マウスリソースのライフサイエンスへの貢献

Little と Loeb, Tyzzer, MacDowell, Strong らによって育成された近交系マウスはノーベル賞研究に代表される輝かしい成果を生み、人類の福祉や病気の克服に貢献してきた (Morse 2007)。Kohler と Milstein (1975) は B 細胞とミエローマを細胞融合することで B 細胞特異的な抗体を産生し続けるハイブリドーマを樹立できることを示した。ハイブリドーマの産生するモノクローナル抗体は医学・生物学分野に大きな革新をもたらし、二人は 1984 年にノーベル賞を受賞した。Tonegawa は BALB/c 系統由来のミエローマ細胞と正常胎仔の Ig 遺伝子を比較し、Ig 遺伝子の可変領域と定常領域において遺伝子の再構成が行われていることを示した (Hozumi と Tonegawa 1976)。この研究により自然界の多様な抗原分子に対してリンパ球が特異的な抗体を産生する仕組みが解明され、1987 年に Tonegawa はノーベル賞を受賞した。George Snell は移植腫瘍の拒絶を引き起こしているのが組織適合抗原と呼ばれる細胞表面分子であることを解明し、主要組織適合抗原複合体 (Mhc, Major histocompatibility complex) のコンジェニック系統 (H-2 コンジェニック) を確立してこの遺伝子領域を詳細に解析した (Snell ら 1971)。このマウス Mhc の研究を基盤として、Snell, Benacerraf, Dausset らはヒトの組織適合抗原複合体 (MHC) 遺伝子を研究し、1980 年にノーベル賞を受賞した (Snell 1992)。Zinkernagel と Doherty (1974) は近交系マウスにリンパ球性脈絡髄膜炎 (LCM) ウイルスを感染させ、T 細胞によるウイルス抗原の特異的認識には自己と非自己を区別する MHC が必要であること (MHC 拘束) を示し、1996 年にノーベル賞を受賞した。以上の他にもマウスリソースのライフサイエンスへの輝かしい貢献は多数あり、今後も続くと期待されている。

マウス系統の種類

遺伝的な特徴と作出方法により様々な種類の系統が確立されてきた。

近交系：近親交配、特に同腹の雌雄を用いた兄妹交配を繰り返し、ゲノム全てがホモ型に固定した系統であ

る。計算上 20 世代経過するとゲノムの 98.7 % が、40 世代では 99.98 % がホモ型になる (Silver 1995)。同じ系統の個体はすべて遺伝的に均一なため、実験 (環境) 条件を一定にすれば、結果の再現性が保証される。歴史の古い代表的な近交系、C57BL/6J、DBA/2J、CBA/J、A/J、AKR/J、C3H/eJ、BALB/cJ 等では兄妹交配 200 世代以上に達しており、理論的には完全なホモ型マウスになっている。多種多様な表現型を有する 450 系統の近交系がデータベース上に登録されている (Beck ら 2000)。これら近交系の存在がマウスのモデル生物としての価値を高めている。

遺伝子改変系統：マウスでは遺伝子組換え技術 (Berg ら 1979) と胚操作技術 (Nagy 2003) が融合して個体の遺伝子改変が可能である。特にマウスでは ES 細胞が樹立されており (Evans 1981; Martin 1981)、ES 細胞を介した遺伝子操作が盛んである。主な遺伝子改変マウスを以下に示す。

1. トランスジェニック (Tg) マウス：遺伝子組換え操作により構築した外来遺伝子を前核期マウス受精卵に注入して作出される (Palmiter と Brinster 1986)。Tg マウスの利用法としては遺伝子発現の組織特異性や発生時期特異性の解析 (Brinster ら 1981)、導入遺伝子の発現による個体における表現型の解析 (Wolgemuth ら 1989)、特定の細胞種、細胞内小器官や細胞系譜を *lacZ* や GFP タンパク等のレポーターで標識して可視化する等があげられる (Beddington ら 1989; Kuma ら 2004)。
2. ノックアウト (KO) マウス：ES 細胞を用いて特定の遺伝子を標的として相同組換えにより欠失させ、遺伝子の本来の機能を調べるために作製する。相同組換え用のベクターにネオマイシン耐性遺伝子を組込むことにより、組換え ES 細胞を薬剤耐性により選択的に培養し、組換え ES 細胞を胚盤胞へ注入してキメラマウスを作製する。キメラマウスと C57BL/6 マウス等を交配して KO マウスのヘテロ型動物を得る (Nagy 2003)。
3. ノックイン (KI) マウス：KO マウスと同様の原理で標的遺伝子を別の遺伝子と置換したり、標的遺伝子にレポーター遺伝子を挿入することができる。例えば、マウスのダイオキシン受容体遺伝子をヒトのダイオキシン受容体遺伝子と置換させたり (Moriguchi ら 2003)、マウスの α グロビン遺伝子をヒト型に置換し、さらにヒト α サラセミアの変異を導入したヒト化マウスが作製されている (Wallace ら 2007)。また、転写因子 GATA-2 の機能

と発現パターンを解析する目的で GATA-2 遺伝子の翻訳開始点にレポーターとなる GFP 遺伝子を導入し、GATA-2 遺伝子の発現が蛍光によって観察可能となった (Minegishi ら 2003)。

4. コンディショナルノックアウト (CKO) マウス：単純な KO マウスでは標的とした遺伝子は発生の初期から完全に欠失し (ヌルアリアル)、発生過程で重要な遺伝子を欠失させた場合はホモ型で胎生期致死となり、表現型の詳細な解析は不可能である。この欠点を克服する方法として Cre-loxP や Flp-FRT システムを用いた CKO マウスが考案された (Nagy 2000; Nagy ら 2003)。P1 バクテリオファージの組換え酵素 Cre recombinase は 34 塩基対の標的配列 loxP に挟まれた遺伝子を選択的に除去する (Hamilton と Abremski 1984)。同様に発芽酵母由来の Flp recombinase も 34 塩基対の標的配列 FRT を認識して選択的に除去が起こる (Rodriguez ら 2000)。そこで標的遺伝子を loxP 配列で挟んだターゲティングベクターを用いて CKO マウスを作製し、さらに、組織特異的に Cre を発現する Cre-Tg マウス (下記 5. 参照) を作製し、2 システムを交配することで特定の臓器や特定の発生時期に遺伝子欠損を誘導して表現型を解析することができる (Nagy 2000; Zeng ら 2001; Nakazawa ら 2003)。
5. Cre-Tg マウス：組換え酵素 Cre を様々な組織特異的プロモーターに連結して発現させた Tg マウスで、CKO マウスと交配して特定組織における遺伝子機能を解析するために必須のツールである (Nagy 2000)。Cre-Tg マウスの品質の良否は組換え酵素 Cre の発現制御により決まる。一般に単離されたプロモーターの組織特異性はゲノム上の位置効果により影響を受け、忠実な組織特異性は失われ易い。最近では 150 ~ 300 kb のゲノムのインサートを導入した大腸菌人工染色体 (Bacterial Artificial Chromosome, BAC) ライブラリーを用いてベクターを構築し、目的の遺伝子の発現パターンを忠実に再現した Cre-Tg マウスの作製が可能になってきた (Gong ら 2003; Sparwasser ら 2004)。また、BAC の遺伝子改変技術とノックインにより標的遺伝子の完全な制御領域を利用した Cre-Tg マウスの作製も可能である (Minegishi ら 2003; Sparwasser ら 2004)。Cre-Tg マウスの組織特異性および時期特異性を検定するレポーターマウス (Lobe ら 1999; Novak ら 2000) も重要となっている。
6. ジーントラップ：ベクターのランダムな挿入によ

る遺伝子破壊方法で、ベクター配列をタグにしてトラップされた遺伝子を単離することができる (Stanford ら 2001)。一種類のトラップベクターを構築して電気穿孔法やレトロウイルスベクターにより ES 細胞に導入し、培養系で発生・分化に関わる遺伝子の大規模なスクリーニングを組むことができる (Wurst ら 1995; Ishida と Leder 1999; Wiles ら 2000)。KO マウスと同様、トラップされた遺伝子は破壊されており、遺伝子欠損個体の作製も可能である (Wiles ら 2000)。トラップベクターにはプロモーターが無く、lacZ や GFP 等の標識遺伝子が含まれており、内在遺伝子のプロモーター活性により標識遺伝子が発現し、組織染色や蛍光観察でトラップ遺伝子の発現パターンを追跡できる仕組みである。

ENU 誘発突然変異マウス：N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) は強力な化学変異原であり、雄マウスに投与すると生殖細胞に作用し、主に A:T 塩基対をターゲットとしてゲノム上にランダムに点突然変異が誘発される (Russell 1979; Noveroske ら 2000)。世界的に行われた大規模突然変異マウス作製プロジェクトでは、優性および劣性突然変異マウスを表現型解析プラットフォームで総合的に検査する仕組み (phenotype-driven) と特定の変異遺伝子を検索する仕組み (gene-driven) が構築された (Hrabe de Angelis ら 2000; Nolan ら 2000; Rossant と McKelvie 2001; Svenson ら 2003; Masuya ら 2005; Sakuraba ら 2005)。

自然突然変異マウス：マウス系統の育成過程において親や兄弟と異なる表現型をもつ自然突然変異マウスが発見される。ヌードマウス (Flanagan 1966) や Scid マウス (Bosma ら 1988) は単一遺伝子における自然突然変異マウスの代表例である。日本で確立され、世界的に有名な I 型糖尿病モデル NOD はケージ交換時に床敷きの汚れがひどいことから発見された多遺伝子性の自然突然変異マウスである (Makino ら 1985)。様々な毛色変異 (図 1) も自然突然変異により得られた個体を元に、研究者の地道な系統育成によって確立されたものである。自然突然変異マウスは遺伝子改変マウスの利用が始まる以前から、遺伝学、発生・分化、遺伝子機能の研究に多大な貢献を果たしてきた。

コンジェニック系統：突然変異や遺伝子改変の効果を精密に評価するためには、均一な遺伝背景を持ち、かつ、対象となる遺伝子のみ異なる動物を作製する必要がある。コンジェニック系統は対象とする遺伝子とその近傍の染色体領域のみを他の近交系に戻し交配して

図1. マウス系統の毛色変異。多種多様な近交系、突然変異系、野生マウス由来系統の毛色を示す。上段は系統名。下段は毛色と括弧内は毛色遺伝子型。(巻末カラーページ参照)

図2. 世界各地の野生マウスに由来するマウス系統。種・亜種別に学名を示し系統をグループにまとめた。大文字は近交系。理研BRCから入手可能なリソースである。詳細はYoshikiとMoriwaki(2006)参照。(巻末カラーページ参照)

得られた近交系である。理論値では10回の戻し交配を行うと、99.8%が受容系統のゲノムに置き換わる (Silver 1995)。主要組織適合抗原遺伝子 H-2 のコンジェニック系統は最も有名である (Snell 1948)。今日、遺伝子改変マウスの精密な表現型解析を行うには、C57BL/6 や BALB/c 等の標準近交系へ戻し交配によりコンジェニック化し、遺伝背景を均一化して解析することが望まれている (Yoshiki と Moriwaki 2006)。

リコンビナント近交系：2つの異なる近交系間の複数の F2 ペアを起源として兄妹交配を繰り返すことにより育成された近交系群である (Bailey 1971)。両親系統由来の染色体をモザイク状に持つ近交系群で癌感受性などの多因子形質や量的形質の遺伝解析に威力を発揮する (Taylor 1976; Nishimura ら 1995; Anunciado ら 2001)。

野生マウス由来近交系：代表的な近交系マウスの起源はその確立の歴史と遺伝解析結果から比較的小規模な集団から派生したと考えられ、その遺伝的多様性には限界がある (Yoshiki と Moriwaki 2006)。さらに、C57BL/6 や C3H 系統では実験室環境での近親交配によりマウスが種として元来持っている生物学的特性や遺伝子機能の一部が失われている (Sidman と Green 1965; Ebihara ら 1986)。これらの問題点を補完するリソースとして世界各地に生息する野生マウスに由来する近交系が開発されている (図2)。遺伝的な多様性と表現型の多様性を利用可能な貴重なリソースとして、また行動や脳機能の研究材料として今後も重要性を増すと思われる。

コンソミック系統：ある近交系の特定の染色体をまるごと別の近交系に導入した系統である。2つの近交系の間で一方の全ての染色体を1本づつ他の系統に導入したコンソミック系統群の作製も試みられており、遺伝解析の強力なツールとして期待されている (Nadeau ら 2000; Oka ら 2004)。

マウスリソースの利用状況

我が国における実験動物マウスの利用状況については実験動物の年間総販売数調査報告書 (社団法人日本実験動物協会) にその一部が示されている。平成16年度のマウスの総販売数は約630万匹で平成13年度に比べて3.1%増加した。中でも遺伝子改変系統は前回に比べて5.5倍と激増し、近交系と突然変異系統も前回調査より15%、8.8%それぞれ増加した。突然変異系統のほとんどはヌードマウスと Scid マウスと推測される。近交系の中では標準系統とされている C57BL/6

がマウス販売数全体の14%を占めて最も多く、次いで BALB/c、C3H/He、DBA/2 の順であった。微生物学的性状については Specific Pathogen Free (SPF) 動物が前回より18%増加し、コンベンショナル動物は61%の大幅減少となった。以上の調査結果から我が国の研究コミュニティにおいては遺伝子改変マウスの普及が進み、ゲノム情報が利用可能で実験再現性に優れた SPF マウスの需要が増えていると言える。

英国では動物実験を国 (内務省 Home Office) が管理している為より正確な利用状況が把握できる。その統計 (Statistics of Scientific Procedures on Living Animals, Great Britain Home Office 2005) によれば2005年の動物実験の実施数は290万件で前年よりも1.4%増加した。大多数がマウス (68%) およびラット (15%) を用いた実験であった。英国でも正常マウスの使用数は1995年と比べて減少し、突然変異系統の使用は若干増加、遺伝子改変マウスは約4.4倍に増加している。日英とも遺伝子改変マウスの利用が急増している点が共通である。

遺伝子改変マウスに関する文献数の調査 (図3) では、Tg マウスの文献数が1985年から一定の割合で増加しているのに対して、KO マウスの文献数は1996年以降急増し、1999年にはTg マウスの文献数を追い越し、なお加速度的な増加を示している。欧米を中心として全遺伝子を標的とした KO マウスプロジェクトが開始され (Austin ら 2004; Auwerx ら 2004)、将来的にもこのグラフはさらに急勾配で上昇する見通しである。世界は KO マウスによる遺伝子機能の解明へと突き進んでいる。

図3. Tg マウスおよび KO マウスの文献数の年次推移。NCBI PubMed 検索により1985年から2006年までの毎年の文献数を検索して棒グラフにまとめた。

マウスリソースの整備状況

マウスは、前述した実験動物としての有用性・優位性から、様々な研究分野で使用され、遺伝子改変による新しいマウス系統が次々と開発されている (Collins ら 2007)。欧米と日本を中心に、これまで 10,000 を超える系統が開発されている。これらのマウスを広く利用可能なように整備することは、ライフサイエンス研究の発展に不可欠となっている (Abbott 2004)。

欧米の状況：マウス系統の整備の意義は、欧米では早くから認識され、米国ジャクソン研究所 (1929 年設立) や英国 Medical Research Council (MRC、1947 年設立) を中心に、マウス系統が収集・維持されてきた。特に、ジャクソン研究所は 78 年の歴史と 3,200 系統のマウス保有数を誇り、現在では年間 200 万匹以上のマウスを世界の研究コミュニティに供給し、またノーベル賞受賞者も輩出したマウス研究の殿堂として敬意を集めてきた。遺伝子改変マウスの作製法が普及した 1990 年以降、マウスリソースは急増し、欧米では 2000 年前後にかけて長期安定的なマウスリソースの整備が国家レベルで開始された (小幡 2006)。米国では NIH が資金を投入し、3 施設を Mutant Mouse Regional Resource Centers (MMRRC、<http://www.mmrrc.org/>) として設置し、マウスリソースの保存と供給を開始している。欧州では欧州連合 (EU) の研究基盤整備計画の支援を受けて 6 カ国 7 機関の連携による European Mutant Mouse Archive (EMMA、<http://www.emmanet.org/index.php>) が組織され、活動を行っている。

日本の状況：日本では癌研究や免疫研究を中心として、マウスの研究材料としての重要性が認識されてきた。マウスリソースの国家レベルでの整備の必要性は議論されてきたものの、財政的な裏付けを伴った事業として実現されることはなかった。その結果、研究者個人の努力に依る所が多く、海外のリソース機関から輸入した系統で研究が行われ、また科研費などを用いて作出された貴重なマウス系統も教官の退官とともに霧散・消滅し、日本で開発された優れた疾患モデルも海外へ流出するという状況であった。このような状況を打開すべく、文部科学省および理化学研究所は、「理研バイオリソースセンター (BRC)」を 2001 年に設立した。理研 BRC はライフサイエンス研究に必要な生物遺伝資源 (バイオリソース) の整備を進めることにより、我が国の知的基盤の構築による研究の推進に貢献することを目的とし、「信頼性」、「継続性」、「先導性」をモットーとして掲げて事業を実施している (<http://www.brc.riken.jp/>)。理研 BRC 設立 1 年後の 2002

年には、文部科学省がナショナルバイオリソースプロジェクト (<http://www.nbrp.jp/index.jsp>) を開始し、理研 BRC は実験動物マウス、実験植物シロイヌナズナ、細胞材料と遺伝子材料のリソース中核機関として選定された。

理研 BRC は国内研究コミュニティの多大な支援を受け、遺伝子改変系統、ENU 誘発突然変異マウス、各種近交系および野生マウス由来系統を含む日本独自のマウスを 2,800 系統収集し、保存・品質管理を行い、提供を実施してきた。既に国内外 370 機関の研究者に 5,000 件のマウス提供を行った。提供先の研究者による優れた研究成果・論文も発表されるようになっている (<http://www.brc.riken.jp/lab/animal/info/reflist.shtml>)。数と質を兼ね揃えた世界最高水準のマウスリソースを整備することを目指し、外部の専門家委員により研究ニーズと社会ニーズに関する提言を受けてマウス系統の品揃えを行い、寄託マウスの SPF 化、厳格な微生物学的検査および統御、改変遺伝子および遺伝的背景の正確な検査を実施している。これまでに 1,200 系統の胚および精子の凍結保存を実施しており、凍結胚は融解、移植試験を施して生存性の確認を行っている。また正確な特性情報を収集することにより品質向上を図っている。収集と提供にあたっては生物資源移転同意書 (MTA) を使用して、開発者の知的財産権を保護しつつ、利用促進に心がけている。またマウスリソースの最大活用のためマウス胚・精子の凍結・融解方法の技術移転を、産官学からの希望者を対象に研修事業として実施している。さらに、理研 BRC のマウスの普及を目指して系統紹介の特集記事「今月のマウス (Mouse of the Month)」を含めたホームページを充実し、毎月メールニュースを送信し、学会、シンポジウム、ブース出展などにより啓発・宣伝活動を展開している。

マウスリソースの新たな展開

2003 年に米国の研究者は、コールドスプリングハーバー研究所のバンブリーセンターで会議を行い、今後のライフサイエンスの発展のためには網羅的大規模な KO マウスの作製プロジェクトが必要であることを提言した (Austin ら 2004)。これを受けて 2006 年から米国は NIH が主導する全遺伝子を対象とした KO マウスプロジェクト (KOMP) を開始した。まず、ノックアウトとジーントラップを複合した技術により 5,000 遺伝子の破壊を目指している (Collins ら 2007)。この方法は標的遺伝子を組換え酵素 Flp と Cre の組み合わせでヌルアレル、コンディショナルアレルまたは lacZ 標識

のヌルアレル (null-first conditional ready allele) に変換できる。さらに、Regeneron 社の開発した BacVector 技術 (Valenzuela ら 2003) を用いて 3,500 遺伝子を完全欠失させ、5 年間で合計 8,500 遺伝子のノックアウトを予定している。実際にマウスを作製するのは年間 100 系統程度の予定である。NIH は民間の Deltagen 社と Lexicon 社と契約を結び、2 社の開発した KO マウス 251 系統も研究コミュニティーに解放している (<http://www.nih.gov/science/models/mouse/>)。現在広く普及している 129 系統由来の ES 細胞は個体の遺伝子機能解析には不向きである (Silver 1995)。KOMP には KO マウス作製に必須の ES 細胞をより使いやすい近交系 C57BL/6 から樹立する計画も含まれている (Austin ら 2004)。

欧州では EU の支援により EUCOMM (EUropean Conditional Mouse Mutagenesis Program) が 2005 年 10 月より開始され (Auwerx ら 2004)、EMMA の 7 機関と英国サンガーセンターを含む 11 機関が連携して CKO マウスの大規模作製を行っている (Collins ら 2007)。こちらは CKO で 8,000 遺伝子、コンディショナルジーントラップで 12,000 遺伝子を 2008 年までの目標とし、320 系統のマウスを作製する予定である。カナダでも同様のプログラム NorCOMM が立ち上がり、CKO で 2,000 遺伝子、コンディショナルジーントラップで 10,000 遺伝子、マウス 100 系統の作製を目指している。

現在、マウスリソースの整備で課題となっているのは Cre-Tg マウスの整備である (Nagy 2000)。欧米の国家プロジェクトで整備されつつあるコンディショナルジーントラップや CKO マウスを有効に活用するためには、組織・時期特異性に優れた様々な Cre 遺伝子導入マウスが必要となる。Cre-Tg マウスの整備についてはハイスループット化が困難であり、専門分野ごとに組織・時期特異性に関する解析能力のある個々の研究者の努力に依存するところが大きい。効率良く重複を避けて良質な Cre-Tg マウスを整備するためには、Cre-Tg マウスの所在と発現プロファイル等の情報をデータベース化して共有し、国際的な協力体制を構築する必要がある (Nagy と Mar 2001)。

マウスリソースの今後の発展

欧州連合、カナダおよび米国による網羅的かつ体系的な KO マウス作出により、これまでのマウスの系統数とは桁違いの膨大なリソースがここ数年間で作出されようとしている。このマウスリソースが研究者に円

滑に供給・利用され、本来の目的であるヒトの健康と福祉につながる研究成果へと発展するためには、マウスリソースの受け皿であるリソースセンターの国際的連携と協力が鍵となる。このような認識から、ジャクソン研究所、MMRRC、EMMA、熊本大 CARD、理研 BRC などの世界の中核的マウスリソースセンター 17 機関が参加し、Federation of International Mouse Resources (FIMRe: <http://www.fimre.org>) が 2004 年 11 月に結成された (Abbott 2004; Davisson 2006)。理研 BRC はその副議長を務め、第 4 回の会議は 2006 年 5 月につくばで開催された。さらに FIMRe に参加しているセンターは、提供可能なリソースのリストを International Mouse Strain Resource (IMSR: <http://www.informatics.jax.org/imsr/index.jsp>) に集約して登録し、世界の利用者へ情報発信している。IMSR には現在約 8,600 のマウス系統が登録されており、理研 BRC から登録した日本のマウス系統数は、ジャクソン研究所に次いで世界第 2 位に達しており大きな国際貢献を果たしている。さらに、中国、韓国をはじめとするアジア諸国でも国の支援で大規模なマウス施設を建設し、マウスリソースの整備が急速に行われている。こうしたアジアにおけるマウスリソースの整備を促進させる目的で、アジアのマウスミュータジェネシスの実施機関およびマウスリソースセンター 10 機関が参加して Asian Mouse Mutagenesis and Resource Association (AMMRA: 議長山村研一・熊本大学教授) が 2006 年 11 月に上海で結成された。今後のアジアのマウスリソースの発展には国際的にも大きな期待が寄せられている。

謝辞

マウスリソースの整備事業にあたって理研バイオリソースセンター長・小幡裕一博士ならびに特別顧問・森脇和郎博士のご指導とご助言に深謝致します。理研バイオリソースセンター・実験動物開発室の皆さんにも心より感謝致します。

文献

- Abbott A. 2004. Geneticists prepare for deluge of mutant mice. *Nature*, 432: 541.
- Anunciado RV, Nishimura M, Mori M, Ishikawa A, Tanaka S, Horio F, Ohno T, Namikawa T. 2001. Quantitative trait loci for body weight in the intercross between SM/J and A/J mice. *Experimental Animal*, 50: 319–324.

- APS. The American Physiological Society. 2002. Guiding principles for research involving animals and human beings. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283: R281–283.
- Austin CP, Battey JF, Bradley A, Bucan M, Capecchi M, Collins FS, Dove WF, Duyk G, Dymecki S, Eppig JT, Grieder FB, Heintz N, Hicks G, Insel TR, Joyner A, Koller BH, Lloyd KC, Magnuson T, Moore MW, Nagy A, Pollock JD, Roses AD, Sands AT, Seed B, Skarnes WC, Snoddy J, Soriano P, Stewart DJ, Stewart F, Stillman B, Varmus H, Varticovski L, Verma IM, Vogt TF, von Melchner H, Witkowski J, Woychik RP, Wurst W, Yancopoulos GD, Young SG, Zambrowicz B. 2004. The knockout mouse project. *Nature Genetics*, 36: 921–924.
- Auwerx J, Avner P, Baldock R, Ballabio A, Balling R, Barbacid M, Berns A, Bradley A, Brown S, Carmeliet P, Chambon P, Cox R, Davidson D, Davies K, Duboule D, Forejt J, Granucci F, Hastie N, de Angelis MH, Jackson I, Kioussis D, Kollias G, Lathrop M, Lendahl U, Malumbres M, von Melchner H, Muller W, Partanen J, Ricciardi-Castagnoli P, Rigby P, Rosen B, Rosenthal N, Skarnes B, Stewart AF, Thornton J, Tocchini-Valentini G, Wagner E, Wahli W, Wurst W. 2004. The European dimension for the mouse genome mutagenesis program. *Nature Genetics*, 36: 925–927.
- Bailey DW. 1971. Recombinant-inbred strains. An aid to finding identity, linkage, and function of histocompatibility and other genes. *Transplantation*, 11: 325–327.
- Beck JA, Lloyd S, Hafezparast M, Lennon-Pierce M, Eppig JT, Festing MF, Fisher EM. 2000. Genealogies of mouse inbred strains. *Nature Genetics*, 24: 23–25.
- Beddington RS, Morgenstern J, Land H, Hogan A. 1989. An *in situ* transgenic enzyme marker for the midgestation mouse embryo and the visualization of inner cell mass clones during early organogenesis. *Development*, 106: 37–46.
- Berg PE, Lewin A, Christianson T, Rabinowitz M. 1979. Propagation of restriction fragments from the mitochondrial DNA of *Saccharomyces cerevisiae* in *E. coli* by means of plasmid vectors. *Nucleic Acids Research*, 6: 2133–2150.
- Bosma M, Schuler W, Bosma G. 1988. The scid mouse mutant. *Curr Top Microbiology and Immunology*, 137: 197–202.
- Brinster RL, Chen HY, Trumbauer M, Senear AW, Warren R, Palmiter RD. 1981. Somatic expression of herpes thymidine kinase in mice following injection of a fusion gene into eggs. *Cell*, 27: 223–231.
- Capecchi MR. 1989. The new mouse genetics: altering the genome by gene targeting. *Trends in Genetics*, 5: 70–76.
- Collins FS, Rossant J, Wurst W. 2007. A mouse for all reasons. *Cell*, 128: 9–13.
- Davisson M. 2006. FIMRe: Federation of International Mouse Resources: global networking of resource centers. *Mammalian Genome*, 17: 363–364.
- Ebihara S, Marks T, Hudson DJ, Menaker M. 1986. Genetic control of melatonin synthesis in the pineal gland of the mouse. *Science*, 231: 491–493.
- Evans M. 1981. Origin of mouse embryonal carcinoma cells and the possibility of their direct isolation into tissue culture. *J Reprod Fertil*, 62: 625–631.
- Flanagan SP. 1966. ‘Nude’, a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genetical Research*, 8: 295–309.
- Gong S, Zheng C, Doughty ML, Losos K, Didkovsky N, Schambra UB, Nowak NJ, Joyner A, Leblanc G, Hatten ME, Heintz N. 2003. A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. *Nature*, 425: 917–925.
- Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH. 1980. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 77: 7380–7384.
- Gordon JW, Ruddle FH. 1981. Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei. *Science*, 214: 1244–1246.
- Hamilton DL, Abremski K. 1984. Site-specific recombination by the bacteriophage P1 lox-Cre system. Cre-mediated synapsis of two lox sites. *Journal of Molecular Biology*, 178: 481–486.
- Hozumi N, Tonegawa S. 1976. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 73: 3628–3632.

- Hrabe de Angelis MH, Flaswinkel H, Fuchs H, Rathkolb B, Soewarto D, Marschall S, Heffner S, Pargent W, Wuensch K, Jung M, Reis A, Richter T, Alessandrini F, Jakob T, Fuchs E, Kolb H, Kremmer E, Schaeble K, Rollinski B, Roscher A, Peters C, Meitinger T, Strom T, Steckler T, Holsboer F, Klopstock T, Gekeler F, Schindewolf C, Jung T, Avraham K, Behrendt H, Ring J, Zimmer A, Schughart K, Pfeffer K, Wolf E, Balling R. 2000. Genome-wide, large-scale production of mutant mice by ENU mutagenesis. *Nature Genetics*, 25: 444–447.
- Ishida Y, Leder P. 1999. RET: a poly A-trap retrovirus vector for reversible disruption and expression monitoring of genes in living cells. *Nucleic Acids Research*, 27: e35.
- Kawai J, Shinagawa A, Shibata K, Yoshino M, Itoh M, Ishii Y, Arakawa T, Hara A, Fukunishi Y, Konno H, Adachi J, Fukuda S, Aizawa K, Izawa M, Nishi K, Kiyosawa H, Kondo S, Yamanaka I, Saito T, Okazaki Y, Gojobori T, Bono H, Kasukawa T, Saito R, Kadota K, Matsuda H, Ashburner M, Batalov S, Casavant T, Fleischmann W, Gaasterland T, Gissi C, King B, Kochiwa H, Kuehl P, Lewis S, Matsuo Y, Nikaido I, Pesole G, Quackenbush J, Schriml LM, Staubli F, Suzuki R, Tomita M, Wagner L, Washio T, Sakai K, Okido T, Furuno M, Aono H, Baldarelli R, Barsh G, Blake J, Boffelli D, Bojunga N, Carninci P, de Bonaldo MF, Brownstein MJ, Bult C, Fletcher C, Fujita M, Gariboldi M, Gustincich S, Hill D, Hofmann M, Hume DA, Kamiya M, Lee NH, Lyons P, Marchionni L, Mashima J, Mazzarelli J, Mombaerts P, Nordone P, Ring B, Ringwald M, Rodriguez I, Sakamoto N, Sasaki H, Sato K, Schonbach C, Seya T, Shibata Y, Storch KF, Suzuki H, Toyo-oka K, Wang KH, Weitz C, Whittaker C, Wilming L, Wynshaw-Boris A, Yoshida K, Hasegawa Y, Kawaji H, Kohtsuki S, Hayashizaki Y. 2001. Functional annotation of a full-length mouse cDNA collection. *Nature*, 409: 685–690.
- Kohler G, Milstein C. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256: 495–497.
- Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhisa T, Mizushima N. 2004. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature*, 432: 1032–1036.
- Lobe CG, Koop KE, Kreppner W, Lomeli H, Gertsenstein M, Nagy A. 1999. Z/AP, a double reporter for cre-mediated recombination. *Developmental Biology*, 208: 281–292.
- Makino S, Muraoka Y, Kishimoto Y, Hayashi Y. 1985. Genetic analysis for insulinitis in NOD mice. *Jikken Dobutsu*, 34: 425–431.
- Martin GR. 1981. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America* 78: 7634–7638.
- Masuya H, Inoue M, Wada Y, Shimizu A, Nagano J, Kawai A, Inoue A, Kagami T, Hirayama T, Yamaga A, Kaneda H, Kobayashi K, Minowa O, Miura I, Gondo Y, Noda T, Wakana S, Shiroishi T. 2005. Implementation of the modified-SHIRPA protocol for screening of dominant phenotypes in a large-scale ENU mutagenesis program. *Mammalian Genome*, 16: 829–837.
- Minegishi N, Suzuki N, Yokomizo T, Pan X, Fujimoto T, Takahashi S, Hara T, Miyajima A, Nishikawa S, Yamamoto M. 2003. Expression and domain-specific function of GATA-2 during differentiation of the hematopoietic precursor cells in midgestation mouse embryos. *Blood*, 102: 896–905.
- Moriguchi T, Motohashi H, Hosoya T, Nakajima O, Takahashi S, Ohsako S, Aoki Y, Nishimura N, Tohyama C, Fujii-Kuriyama Y, Yamamoto M. 2003. Distinct response to dioxin in an arylhydrocarbon receptor (AHR)-humanized mouse. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 100: 5652–5657.
- Morse H. 2007. Building a better mouse: One hundred years of genetics and biology. In: *The Mouse in Biomedical Research*, 2nd edition, Vol 1. (Fox JG, Barthold SW, Davisson MT, Newcomer CE, Quimby FW, Smith AL eds) 1-11. Academic Press. New York.
- Nadeau JH, Singer JB, Matin A, Lander ES. 2000. Analysing complex genetic traits with chromosome substitution strains. *Nature Genetics*, 24: 221–225.
- Nagy A. 2000. Cre recombinase: the universal reagent for genome tailoring. *Genesis*, 26: 99–109.
- Nagy A, Mar L. 2001. Creation and use of a Cre recombinase transgenic database. *Methods in*

- Molecular Biology, 158: 95–106.
- Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K, Behringer R. 2003. Manipulating the mouse embryo. A laboratory manual. 3rd edition. 541–627.
- Nakazawa K, Sun LD, Quirk MC, Rondi-Reig L, Wilson MA, Tonegawa S. 2003. Hippocampal CA3 NMDA receptors are crucial for memory acquisition of one-time experience. *Neuron*, 38: 305–315.
- Nishimura M, Hirayama N, Serikawa T, Kanehira K, Matsushima Y, Katoh H, Wakana S, Kojima A, Hiai H. 1995. The SMXA: a new set of recombinant inbred strain of mice consisting of 26 substrains and their genetic profile. *Mammalian Genome*, 6: 850–857.
- Nolan PM, Peters J, Strivens M, Rogers D, Hagan J, Spurr N, Gray IC, Vizor L, Brooker D, Whitehill E, Washbourne R, Hough T, Greenaway S, Hewitt M, Liu X, McCormack S, Pickford K, Selley R, Wells C, Tymowska-Lalanne Z, Roby P, Glenister P, Thornton C, Thaug C, Stevenson JA, Arkell R, Mburu P, Hardisty R, Kiernan A, Erven A, Steel KP, Voegelings S, Guenet JL, Nickols C, Sadri R, Nasse M, Isaacs A, Davies K, Browne M, Fisher EM, Martin J, Rastan S, Brown SD, Hunter J. 2000. A systematic, genome-wide, phenotype-driven mutagenesis programme for gene function studies in the mouse. *Nature Genetics*, 25: 440–433.
- Novak A, Guo C, Yang W, Nagy A, Lobe CG. 2000. Z/EG, a double reporter mouse line that expresses enhanced green fluorescent protein upon Cre-mediated excision. *Genesis*, 28: 147–155.
- Noveroske JK, Weber JS, Justice MJ. 2000. The mutagenic action of N-ethyl-N-nitrosourea in the mouse. *Mammalian Genome*, 11: 478–483.
- Oka A, Mita A, Sakurai-Yamatani N, Yamamoto H, Takagi N, Takano-Shimizu T, Toshimori K, Moriwaki K, Shiroishi T. 2004. Hybrid breakdown caused by substitution of the X chromosome between two mouse subspecies. *Genetics*, 166: 913–924.
- Palmiter RD, Brinster RL. 1986. Germ-line transformation of mice. *Annual Review of Genetics*, 20: 465–499.
- Rader KA. 1997. The origins of mouse genetics: beyond the Bussey Institution. I. Cold Spring Harbor: the station for experimental evolution and the 'Mouse Club of America'. *Mammalian Genome*, 8: 464–466.
- Rodriguez CI, Buchholz F, Galloway J, Sequerra R, Kasper J, Ayala R, Stewart AF, Dymecki SM. 2000. High-efficiency deleter mice show that FLPe is an alternative to Cre-loxP. *Nature Genetics*, 25: 139–140.
- Rossant J, McKerlie C. 2001. Mouse-based phenogenomics for modelling human disease. *Trends in Molecular Medicine*, 7: 502–507.
- Russell WL. 1979. Comments on mutagenesis risk estimation. *Genetics*, 92: s187–194.
- Sakuraba Y, Sezutsu H, Takahashi KR, Tsuchihashi K, Ichikawa R, Fujimoto N, Kaneko S, Nakai Y, Uchiyama M, Goda N, Motoi R, Ikeda A, Karashima Y, Inoue M, Kaneda H, Masuya H, Minowa O, Noguchi H, Toyoda A, Sakaki Y, Wakana S, Noda T, Shiroishi T, Gondo Y. 2005. Molecular characterization of ENU mouse mutagenesis and archives. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 336: 609–616.
- Shehee WR, Oliver P, Smithies O. 1993. Lethal thalassemia after insertional disruption of the mouse major adult beta-globin gene. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 90: 3177–3181.
- Sidman RL, Green MC. 1965. Retinal Degeneration in the Mouse: Location of the Rd Locus in Linkage Group Xvii. *Journal of Heredity*, 56: 23–29.
- Silver L. 1995. *Mouse Genetics*. Oxford University Press. New York.
- Snell GD. 1948. Methods for the study of histocompatibility genes. *Journal of Genetics*, 49: 87–108.
- Snell GD, Graff RJ, Cherry M. 1971. Histocompatibility genes of mice. XI. Evidence establishing a new histocompatibility locus, H-12, and new H-2 allele, H-2bc. *Transplantation*, 11: 525–530.
- Snell GD. 1992. *The Nobel Lectures in Immunology. Lecture for the Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1980: Studies in histocompatibility*. *Scandinavian Journal of Immunology*, 36: 513–526.
- Sparwasser T, Gong S, Li JY, Eberl G. 2004. General method for the modification of different BAC types and the rapid generation of BAC transgenic mice. *Genesis*, 38: 39–50.
- Stanford WL, Cohn JB, Cordes SP. 2001. Gene-trap mutagenesis: past, present and beyond. *Nature Reviews Genetics*, 2: 756–768.

- Svenson KL, Bogue MA, Peters LL. 2003. Invited review: Identifying new mouse models of cardiovascular disease: a review of high-throughput screens of mutagenized and inbred strains. *Journal of Applied Physiology*, 94: 1650–1659; discussion 1673.
- Taylor BA. 1976. Genetic Analysis of Susceptibility to Isoniazid-Induced Seizures in Mice. *Genetics*, 83: 373–377.
- Valenzuela DM, Murphy AJ, Frendewey D, Gale NW, Economides AN, Auerbach W, Poueymirou WT, Adams NC, Rojas J, Yasenchak J, Chernomorsky R, Boucher M, Elsasser AL, Esau L, Zheng J, Griffiths JA, Wang X, Su H, Xue Y, Dominguez MG, Noguera I, Torres R, Macdonald LE, Stewart AF, DeChiara TM, Yancopoulos GD. 2003. High-throughput engineering of the mouse genome coupled with high-resolution expression analysis. *Nature Biotechnology*, 21: 652–659.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, Smith HO, Yandell M, Evans CA, Holt RA, Gocayne JD, Amanatides P, Ballew RM, Huson DH, Wortman JR, Zhang Q, Kodira CD, Zheng XH, Chen L, Skupski M, Subramanian G, Thomas PD, Zhang J, Gabor Miklos GL, Nelson C, Broder S, Clark AG, Nadeau J, McKusick VA, Zinder N, Levine AJ, Roberts RJ, Simon M, Slayman C, Hunkapiller M, Bolanos R, Delcher A, Dew I, Fasulo D, Flanigan M, Florea L, Halpern A, Hannenhalli S, Kravitz S, Levy S, Mobarry C, Reinert K, Remington K, Abu-Threideh J, Beasley E, Biddick K, Bonazzi V, Brandon R, Cargill M, Chandramouliswaran I, Charlab R, Chaturvedi K, Deng Z, Di Francesco V, Dunn P, Eilbeck K, Evangelista C, Gabrielian AE, Gan W, Ge W, Gong F, Gu Z, Guan P, Heiman TJ, Higgins ME, Ji RR, Ke Z, Ketchum KA, Lai Z, Lei Y, Li Z, Li J, Liang Y, Lin X, Lu F, Merkulov GV, Milshina N, Moore HM, Naik AK, Narayan VA, Neelam B, Nuskern D, Rusch DB, Salzberg S, Shao W, Shue B, Sun J, Wang Z, Wang A, Wang X, Wang J, Wei M, Wides R, Xiao C, Yan C, Yao A, Ye J, Zhan M, Zhang W, Zhang H, Zhao Q, Zheng L, Zhong F, Zhong W, Zhu S, Zhao S, Gilbert D, Baumhueter S, Spier G, Carter C, Cravchik A, Woodage T, Ali F, An H, Awe A, Baldwin D, Baden H, Barnstead M, Barrow I, Beeson K, Busam D, Carver A, Center A, Cheng ML, Curry L, Danaher S, Davenport L, Desilets R, Dietz S, Dodson K, Doup L, Ferriera S, Garg N, Gluecksmann A, Hart B, Haynes J, Haynes C, Heiner C, Hladun S, Hostin D, Houck J, Howland T, Ibegwam C, Johnson J, Kalush F, Kline L, Koduru S, Love A, Mann F, May D, McCawley S, McIntosh T, McMullen I, Moy M, Moy L, Murphy B, Nelson K, Pfannkoch C, Pratts E, Puri V, Qureshi H, Reardon M, Rodriguez R, Rogers YH, Romblad D, Ruhfel B, Scott R, Sitter C, Smallwood M, Stewart E, Strong R, Suh E, Thomas R, Tint NN, Tse S, Vech C, Wang G, Wetter J, Williams S, Williams M, Windsor S, Winn-Deen E, Wolfe K, Zaveri J, Zaveri K, Abril JF, Guigo R, Campbell MJ, Sjolander KV, Karlak B, Kejariwal A, Mi H, Lazareva B, Hatton T, Narechania A, Diemer K, Muruganujan A, Guo N, Sato S, Bafna V, Istrail S, Lippert R, Schwartz R, Walenz B, Yooseph S, Allen D, Basu A, Baxendale J, Blick L, Caminha M, Carnes-Stine J, Caulk P, Chiang YH, Coyne M, Dahlke C, Mays A, Dombroski M, Donnelly M, Ely D, Esparham S, Fosler C, Gire H, Glanowski S, Glasser K, Glodek A, Gorokhov M, Graham K, Gropman B, Harris M, Heil J, Henderson S, Hoover J, Jennings D, Jordan C, Jordan J, Kasha J, Kagan L, Kraft C, Levitsky A, Lewis M, Liu X, Lopez J, Ma D, Majoros W, McDaniel J, Murphy S, Newman M, Nguyen T, Nguyen N, Nodell M, Pan S, Peck J, Peterson M, Rowe W, Sanders R, Scott J, Simpson M, Smith T, Sprague A, Stockwell T, Turner R, Venter E, Wang M, Wen M, Wu D, Wu M, Xia A, Zandieh A, Zhu X. 2001. The sequence of the human genome. *Science*, 291: 1304–1351.
- Wallace HA, Marques-Kranc F, Richardson M, Luna-Crespo F, Sharpe JA, Hughes J, Wood WG, Higgs DR, Smith AJ. 2007. Manipulating the mouse genome to engineer precise functional syntenic replacements with human sequence. *Cell*, 128: 197–209.
- Waterston RH, Lindblad-Toh K, Birney E, Rogers J, Abril JF, Agarwal P, Agarwala R, Ainscough R, Alexandersson M, An P, Antonarakis SE, Attwood J, Baertsch R, Bailey J, Barlow K, Beck S, Berry E, Birren B, Bloom T, Bork P, Botcherby M, Bray N, Brent MR, Brown DG, Brown SD, Bult C, Burton J, Butler J, Campbell RD, Carninci P, Cawley S, Chiaromonte F, Chinwalla AT, Church DM, Clamp M, Clee C, Collins FS, Cook LL, Copley RR, Coulson A,

- Couronne O, Cuff J, Curwen V, Cutts T, Daly M, David R, Davies J, Delehaunty KD, Deri J, Dermitzakis ET, Dewey C, Dickens NJ, Diekhans M, Dodge S, Dubchak I, Dunn DM, Eddy SR, Elnitski L, Emes RD, Eswara P, Eyraas E, Felsenfeld A, Fewell GA, Flicek P, Foley K, Frankel WN, Fulton LA, Fulton RS, Furey TS, Gage D, Gibbs RA, Glusman G, Gnerre S, Goldman N, Goodstadt L, Grafham D, Graves TA, Green ED, Gregory S, Guigo R, Guyer M, Hardison RC, Haussler D, Hayashizaki Y, Hillier LW, Hinrichs A, Hlavina W, Holzer T, Hsu F, Hua A, Hubbard T, Hunt A, Jackson I, Jaffe DB, Johnson LS, Jones M, Jones TA, Joy A, Kamal M, Karlsson EK, Karolchik D, Kasprzyk A, Kawai J, Keibler E, Kells C, Kent WJ, Kirby A, Kolbe DL, Korf I, Kucherlapati RS, Kulbokas EJ, Kulp D, Landers T, Leger JP, Leonard S, Letunic I, Levine R, Li J, Li M, Lloyd C, Lucas S, Ma B, Maglott DR, Mardis ER, Matthews L, Mauceli E, Mayer JH, McCarthy M, McCombie WR, McLaren S, McLay K, McPherson JD, Meldrim J, Meredith B, Mesirov JP, Miller W, Miner TL, Mongin E, Montgomery KT, Morgan M, Mott R, Mullikin JC, Muzny DM, Nash WE, Nelson JO, Nhan MN, Nicol R, Ning Z, Nusbaum C, O'Connor MJ, Okazaki Y, Oliver K, Overton-Larty E, Pachter L, Parra G, Pepin KH, Peterson J, Pevzner P, Plumb R, Pohl CS, Poliakov A, Ponce TC, Ponting CP, Potter S, Quail M, Reymond A, Roe BA, Roskin KM, Rubin EM, Rust AG, Santos R, Sapojnikov V, Schultz B, Schultz J, Schwartz MS, Schwartz S, Scott C, Seaman S, Searle S, Sharpe T, Sheridan A, Shownkeen R, Sims S, Singer JB, Slater G, Smit A, Smith DR, Spencer B, Stabenau A, Stange-Thomann N, Sugnet C, Suyama M, Tesler G, Thompson J, Torrents D, Trevaskis E, Tromp J, Ucla C, Ureta-Vidal A, Vinson JP, Von Niederhausern AC, Wade CM, Wall M, Weber RJ, Weiss RB, Wendl MC, West AP, Wetterstrand K, Wheeler R, Whelan S, Wierzbowski J, Willey D, Williams S, Wilson RK, Winter E, Worley KC, Wyman D, Yang S, Yang SP, Zdobnov EM, Zody MC, Lander ES. 2002. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420: 520–562.
- Wiles MV, Vauti F, Otte J, Fuchtbauer EM, Ruiz P, Fuchtbauer A, Arnold HH, Lehrach H, Metz T, von Melchner H, Wurst W. 2000. Establishment of a gene-trap sequence tag library to generate mutant mice from embryonic stem cells. *Nature Genetics*, 24: 13–14.
- Wolgemuth DJ, Behringer RR, Mostoller MP, Brinster RL, Palmiter RD. 1989. Transgenic mice overexpressing the mouse homoeobox-containing gene Hox-1.4 exhibit abnormal gut development. *Nature*, 337: 464–467.
- Wurst W, Rossant J, Prideaux V, Kownacka M, Joyner A, Hill DP, Guillemot F, Gasca S, Cado D, Auerbach A, Ang SL. 1995. A large-scale gene-trap screen for insertional mutations in developmentally regulated genes in mice. *Genetics*, 139: 889–899.
- Yoshiki A, Moriwaki K. 2006. Mouse phenome research: implications of genetic background. *ILAR Journal*, 47: 94–102.
- Zeng H, Chattarji S, Barbarosie M, Rondi-Reig L, Philpot BD, Miyakawa T, Bear MF, Tonegawa S. 2001. Forebrain-specific calcineurin knockout selectively impairs bidirectional synaptic plasticity and working/episodic-like memory. *Cell*, 107: 617–629.
- Zinkernagel RM, Doherty PC. 1974. Restriction of *in vitro* T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature*, 248: 701–702.
- 小幡裕一. 2006. 生体の科学「特集 脳科学が求める先端技術」57 巻, 253–259.