

## ENU 変異マウスを用いた行動異常発症に関わる遺伝子の機能解析

●宮川 剛<sup>1)</sup> ◆高雄 啓三<sup>2)</sup> ◇遠山 桂子<sup>1)</sup> ◇権藤 洋一<sup>3)</sup> ◇若菜 茂晴<sup>3)</sup>

1) 藤田保健衛生大学総合医科学研究所 2) 京都大学医学研究科 3) 理化学研究所バイオリソースセンター

### <研究の目的と進め方>

研究代表者の宮川は遺伝子ノックアウトマウスを心理学的テストで解析することにより、世界で初めて情動・感情に影響を与える遺伝子を同定し(Miyakawa et al., Brain Res Mol Brain Res., 1994)、以来、「脳で発現する遺伝子の機能の最終アウトプットレベルは行動である」との発想から、「行動テストバッテリー」を用いて各種の遺伝子改変マウスの網羅的行動解析を行い、その中で、精神疾患モデルマウスとも呼ぶべき著しい行動異常を示すマウスをこれまでに複数系統同定してきた。中でも顕著な行動異常を示す  $\alpha$  CaMK II ヘテロノックアウト (HKO) マウスでは、ケージメートを次々と殺すという驚くべき異常を示し、作業記憶の障害、不安様行動の低下、鬱様行動の低下など一連の精神疾患様の行動異常に加え、ホームケージでの活動量の顕著な増大と気分障害のような周期的な変動を示した。このマウスの海馬歯状回では神経新生が著しく亢進していたが、驚くべきことに海馬歯状回のほぼすべての神経細胞のステージが成熟神経細胞まで達せず未成熟状態にあることが判明し、顆粒細胞層の細胞のステージ・形態・機能が all or none 的に変化していた。さらにこれとは全く別な系統で、精神疾患様の行動異常を示す Shn2 KO マウスでも同様の現象が起きていることが遺伝子発現や組織学、電気生理学的解析により確認され、未成熟な海馬歯状回という現象は一般的な現象である可能性が示唆された。

本研究では、理化学研究所ゲノム科学総合研究センター(理研 GSC)の「大規模ミュータジェネシスプロジェクト」により開発された一万匹からなる ENU 変異マウスライブラリーから複数の観点で解析候補の変異マウスを選び出し、網羅的行動解析を中心とした表現型解析を行い、どのような遺伝子が、さらにはどのような変異が、精神疾患様の行動異常、そして未成熟な歯状回という中間表現型に重要な役割を果たすのかを明らかにすることを目的とする。精神疾患様の行動異常を示すマウスの解析から出発して etiology と病態との関係がはっきりした「マウスの精神疾患」から「ヒトの精神疾患」の研究に結びつけるという戦略は他に類をみないユニークなものであり、それと同時に、現在は症状で分類されているヒトの精神疾患を「生物学的原因に基づく診断」によって分類し直すことを可能にすることも期待される。

### <研究開始時の研究計画>

理研 GSC のゲノム機能情報研究チーム(チームリーダー：連携研究者の若菜)が構築・整備した化学変異原 ENU による総数 3 千万点突然変異からなる一万匹の「ENU 変異マウスライブラリー」を活用する。

#### (1) ENU 突然変異マウスの抽出

ENU 変異マウスライブラリーの中から下記の 1)～3)の観点でスクリーニングを進めて解析候補のマウスを得る。

#### 1) カルシニューリン(CN)関連遺伝子変異マウス (gene-driven)

理研 GCS の個別遺伝情報研究チーム(チームリーダー：連携研究者の権藤)は目的の遺伝子に変異をもつマウスの大規模・ハ

イスループットなスクリーニングシステムを構築した。この高速変異検索システムはマウス 1 万匹のゲノム領域の変異を目的の遺伝子領域に PCR プライマーを設定して「Gene-driven (遺伝子主導の)」検索をする。さらに最近 High Resolution Melt 法を取り入れた高速スクリーンシステムを導入したことにより 200bp 以下の短い PCR 産物の変異でもより鋭敏に検出できる改良整備がされた。スクリーニング対象遺伝子については本領域の先の公募課題(平成 18-19 年度)で取り上げた CN 関連遺伝子を引き継ぐ。これは別途解析した CN の前脳特異的欠損マウス(CN マウス)が統合失調症様の顕著な行動異常(作業記憶の障害、注意の障害、社会的行動の障害など)を示したことや、CN 関連遺伝子のノックアウトマウスが CN マウスと同方向の表現型(=統合失調症様の表現型)を示したことから、CN 遺伝子の信号伝達経路・機能が行動の異常に強く関わっていると示唆されたことによる。

#### 2) 顕著な行動異常を示す ENU 変異マウス (phenotype-driven)

理研 GSC で作出された ENU 変異マウスは体重や生化学データの測定その他、各種の行動テストが実施(一次スクリーニング)されている。この中から活動性に顕著な異常のある系統のマウスに着目し、これを入手して解析する。

#### 3) 精神疾患の疾患感受性遺伝子の ENU 変異マウス (gene-driven)

ENU 変異マウスの中から、すでに遺伝子名が特定されている系統でヒトの精神疾患に関与するとされる遺伝子に着目する。DISC1 の ENU 変異マウスはアミノ酸置換の違いにより「うつ病」と「統合失調症」の 2 つ異なる精神疾患様行動異常を示すとして Neuron 誌(2007 年 5 月)に報告されており、このマウスを入手して解析する。

#### (2) 網羅的行動テストバッテリーによる行動解析

京都大学医学研究科の行動実験施設には 150 ケージ収容可能な飼育室と 11 の独立した防音実験室があり、ハイスループットの行動解析テストバッテリーを遂行できる。研究代表者の宮川と分担研究者の高雄は本研究を遂行するのに必要なマウスを行動実験施設に受け入れ、網羅的行動テストバッテリーを用いて行動表現型を詳細に解析する。8 方向放射状迷路(4 台)、モリス水迷路(2 台)、24 時間ホームケージ社会的行動測定(36 セット)、プレパルス抑制テスト(4 セット)、オープンフィールドテスト(8 セット)、潜在抑制テスト(4 セット)などの装置を用いて行動実験を効率的に進める。行動テストバッテリーを行うのには、実験群・コントロール群の各 20 匹を用いて約 3～4 ヶ月を要する。

#### (3) 精神疾患様の行動異常を示す変異マウスの脳表現型解析

行動異常を示したマウスの脳について、分子生物学的解析(ジョンチップ、リアルタイム PCR)、さらに蛍光タンパク質を発現するウイルスやトランスジェニックマウスを利用することにより神経解剖学的解析(ニューロンの分化、樹状突起、軸索の数・長さ・分枝パターン、スパインの形態・密度など)を行う。これらの解析により、どのような遺伝子の変異が精神疾患様の行動異常を引き起こすのか、またそれらに共通する中間表現型の出現のメカニズムを明らかにする。

<研究期間の成果>

(1) ENU 突然変異マウスのスクリーニング

1) CN 関連遺伝子の ENU 変異マウス

平成 18-19 年度の本領域公募課題から引き継いだ遺伝子のうち 3 種類については、理研 GSC 個体遺伝情報研究チームが ENU 変異マウス 7,500 匹分のスクリーニングを完了させた。これまで PCR 産物の長さによって検出効率の上がらなかった短い coding exon については、変異をより鋭敏に変異検出できる High Resolution Melt (HRM) 法を取り入れた高速スクリーンシステムを整備したことにより検出効率が改善された。スクリーニングの結果を下表に示す。対象とした 21 領域 (延べ 55.2 Mb) から計 22 の変異が見出され、そのうちコード領域 (延べ 18.1 Mb) には CaMK II b 遺伝子に Thr403Ala、Dynamin 遺伝子に Leu225Arg、Lys535Thr、Thr542Ala の各ミスセンス変異が見出された。PSD-95 は遺伝子変異が見つからず、ENU 変異のコード領域における一般的検出頻度と比較してあきらかに検出数が少なく、淘汰圧 (胎生致死など) が影響している可能性が考えられた。

表 1. Gene-driven によって得られた ENU 変異

| Gene    | Region     | PCR amplicon | coding (bp) | G1        | Screening Length (bp) | Coding (bp) | Mutation |                    |
|---------|------------|--------------|-------------|-----------|-----------------------|-------------|----------|--------------------|
| CaMKIib | Exon 2     | 493          | 95          | 7,502     | 3,383,402             | 712,690     | 0        |                    |
|         | Exon 5     | 413          | 88          | 7,502     | 2,790,744             | 495,132     | 4        |                    |
|         | Exon 7-8   | 590          | 188         | 7,502     | 4,038,076             | 1,410,376   | 2        |                    |
|         | Exon 10-11 | 476          | 138         | 7,502     | 3,255,868             | 1,035,276   | 0        |                    |
|         | Exon 13-14 | 574          | 72          | 7,502     | 4,008,068             | 540,144     | 0        |                    |
|         | Exon 15    | 423          | 49          | 7,502     | 2,858,292             | 387,598     | 2        |                    |
| Exon 16 | 510        | 129          | 7,502       | 3,503,434 | 987,758               | 1           |          |                    |
| Dynamin | Exon 3     | 324          | 150         | 7,502     | 2,078,054             | 1,125,300   | 0        |                    |
|         | Exon 5     | 215          | 89          | 6,856     | 1,186,088             | 678,744     | 4        |                    |
|         | Exon 7-8   | 513          | 279         | 7,502     | 3,518,438             | 2,093,058   | 1        |                    |
|         | Exon 10    | 413          | 139         | 7,502     | 2,745,732             | 1,042,778   | 0        |                    |
|         | Exon 11    | 308          | 87          | 6,856     | 1,781,992             | 598,478     | 1        |                    |
|         | Exon 14    | 270          | 114         | 6,856     | 1,583,168             | 781,584     | 4        |                    |
|         | Exon 15    | 575          | 110         | 7,502     | 3,981,056             | 825,220     | 1        |                    |
|         | Exon 16    | 528          | 112         | 7,502     | 3,583,450             | 840,224     | 1        |                    |
| Exon 18 | 238        | 11           | 7,502       | 1,440,384 | 82,522                | 1           |          |                    |
| PSD-95  | Exon 5     | 278          | 57          | 7,502     | 1,770,472             | 427,814     | 0        |                    |
|         | Exon 6     | 210          | 125         | 7,502     | 1,290,344             | 837,750     | 0        |                    |
|         | Exon 8     | 322          | 107         | 7,502     | 2,100,560             | 1,027,774   | 0        |                    |
|         | Exon 12    | 373          | 108         | 7,502     | 2,483,182             | 810,214     | 0        |                    |
|         | Exon 13    | 297          | 177         | 7,502     | 1,920,512             | 1,327,854   | 0        |                    |
|         |            |              |             |           | 55,217,266            | 18,126,082  | 22       | 1 mutation/2.5 Mbp |

ENU 変異は単一塩基置換の変異なので、1つの遺伝子について変異箇所の異なる複数系統の変異マウスを入手することができ、null ノックアウトとは違った遺伝子機能が期待される。CaMK II b の Thr403Ala の変異についてはタンパク質間相互作用に必須と考えられるプロリンリッチ領域に存在するということが、当初解析の有力候補と考えられたが、その後、RNA がスプライスアウトされる exon に存在することが判明し、解析の優先度は低くなった。Dynamin については exon 5,14 に 3 箇所の変異が見出された。これらに対応する系統のマウスはすべて理研 BRC に凍結胚の形で保存されているので個体に戻したものを入手して交配を進める。遺伝子機能の面と一次スクリーニングの結果を参考に、優先度の高いものから繁殖を進めたい。解析候補の遺伝子のうち Cofilin、IL1β、MTFHR、TP53 についてはプライマーを準備しているので、ENU 変異スクリーニングは引き続き依頼したい。

2) 顕著な行動異常を示す ENU 変異マウス

若菜・榎藤らによる一次スクリーニングで得られた ENU 変異マウス M100174 (理研 BRC 登録番号: GSC0036) は過活動の異常がみられた。マウス約 40 匹を受け入れて網羅的行動解析を行ったところ、活動性の亢進 (図 1 左) の他にも不安様行動の低下 (図 1 右) などの行動異常があった。認知機能について作業記憶を調べる 8 方向放射状迷路課題では、コントロールマウスと同様にトレーニングによって迷路先端に置かれた餌を効率よく得ることができるようになったが、試行の途中で 30 秒間の遅延を入れたところ、コントロールマウスに比べてわずかが有意に成績の低下が見られ、軽度の作業記憶の低下が示唆される結果であった。ま

た、文脈記憶を調べる恐怖条件付けテストでは、電気ショック刺激を与えた翌日に同じ実験装置に入れたところ変異マウスはコントロールマウスに比べてすみ反応が有意に少なく、文脈記憶に障害があることが示唆され、情動性の異常だけではなく、認知機能にも異常があることが明らかになった。これらの行動異常は精神疾患と関連が深く疑われ、この変異マウスは精神疾患のモデルマウス候補として有用であると考えられた。

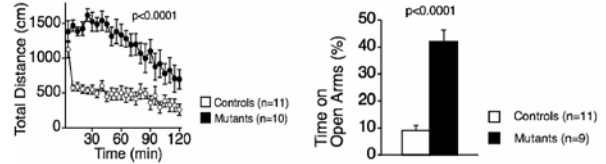


図 1. M100174 変異マウスの行動解析結果

変異マウスはオープンフィールドテストでの活動量の亢進 (左) と高架式十字迷路で見られる不安様行動の顕著な低下 (右) を示した (未発表データ)。

その他に、理研 GSC の phenotype-driven の一次スクリーニングで異常な活動性を示したとしてピックアップされた系統として、M100073、M100786、M100914、M100934 の 4 系統の ENU 変異マウスを理研 BRC の精子 stock から分与を受けた。現在までに個別に個体に戻す作業を進めている。これらの系統については変異の存在する遺伝子が特定されていないが、ヘテロでも顕著な行動異常があるため、行動異常の有無で変異の有無を識別できる。個体に戻したマウスは直ちに行動解析して、未成熟海馬歯状回があるのかどうか脳組織を採取してリアルタイム PCR で遺伝子発現を検討する。

表 2. Phenotype-driven で得られた変異マウスとその表現型

|         |  |
|---------|--|
| M100073 | Hyperactivity in open-field (3.3 to 7.6SD above the mean).<br>Abnormal hunched back posture.<br>Lose balance in rearing.<br>Hyperactivity in home-cage.<br>Some animals show convulsive seizure after cage-change and/or behavioral testing. |
| M100786 | Low activity in open-field test.   |
| M100914 | Non-disclosure strain.<br>High activity in open-field.<br>Learning deficit in passive avoidance test.  |
| M100934 | Hyperactivity in the open-field (3.3 to 9.5 SDs above the mean).   |

3) 精神疾患の疾患感受性遺伝子の ENU 変異マウス

平成 19 年 5 月 Neuron 誌に報告された DISC1 変異 Q31L と L100P の 2 系統のマウスはアミノ酸置換の違いにより「うつ病」と「統合失調症」という異なる精神疾患様行動異常を示した。このマウスの分与を理研 BRC に依頼し、本年 8 月末には、戻し交配がある程度進んだ両系統のマウスを入手することができた。実験解析に使用するための F1 交配を進めて、未成熟海馬歯状回があるのかどうか脳組織を採取してリアルタイム PCR で遺伝子発現を検討する。さらに、DISC1 についてはこの 2 系統に加えて、未公開の系統も共同研究することになり、マウスを受け入れ繁殖を進めている。

(2) 網羅的行動テストバッテリーによる行動解析

京都大学医学研究科先端技術センターの行動実験施設では、遺伝子改変マウスの行動学的・心理学的特性の網羅的解析ではこれまで国内外 60 以上の研究室との共同研究により 118 以上の異なる系統、約 7000 匹のマウスの行動テストバッテリー解析を行い、数多くの成果を上げてきた。研究代表者は藤田保健衛生大学に異動したのち、総合医科学研究所 5F に行動実験専用の実験室の整備を進め、平成 21 年 3 月には行動実験機器や独立した防音室を

導入して稼働を開始した。京都大学の行動実験施設には分担研究者の高雄が着任し、本公募課題のENU変異マウスを受け入れて解析を行った。藤田保健衛生大学の研究室には、疾患モデル教育研究センターのSPF飼育室と研究所5Fのマウス飼育室にあわせて約700ケージの飼育環境を整備でき、本公募課題で入手した系統のENU変異マウスを繁殖させて解析するための環境づくりが完了して、飼育繁殖を進めている。

### (3) 精神疾患様行動異常を示すENU変異マウスの脳表現型解析

これまでに実施した行動解析で異常行動を示したENU変異マウスは1系統で、CaMK II HKOマウスと同様な未成熟海馬歯状回を見出すことができたENU変異マウスはまだない。しかし、遺伝子改変マウスではCaMK II HKOマウスと同様な未成熟海馬歯状回を示す行動異常マウスの系統が複数系統見つかってきている。ENU変異マウスで行動異常を示す系統を、これまでに6系統入手して繁殖を進めているので、今後の脳表現型の解析が期待される。

### <国内外での成果の位置づけ>

ゲノムシークエンスが同定されて以来、米国や欧州では全ての遺伝子のノックアウトマウスを作るというプロジェクトが推進されており、理研のENU突然変異マウス1万匹のライブラリーのスクリーニングも米国や欧州と並ぶプロジェクトと考えられる。様々な遺伝子の機能を個体レベルで調べることが重要であるにもかかわらず、残念ながら海外では変異マウスの行動解析が系統的になされておらず、各系統のマウスを比較することが難しい。研究代表者らの実施する行動解析は、行動解析をできるだけ自動化し、マウスの繁殖・実験・解析などの方法もマニュアル化している。そのため行動テストバッテリーを遂行することにより網羅的かつハイスループットに表現型をスクリーニングでき、得られたデータも比較が容易である。これまでに国内外60以上の研究室と共同研究を進め、118系統、約7000匹のマウスの行動解析を行っており、行動学的・心理学的異常が顕著なマウスの系統を多数同定することができている。その結果得られた大量の行動データはデータベース化しており各種遺伝子変異マウスの行動異常がどの程度異常であるのか容易に比較することができるようになっている。このような手法で運営される施設は世界でも他になく、大変ユニークであるといえる。本課題で行動解析したデータ(M100174系統)はJSTのバイオインフォマティクス推進事業(BIRD)「マウスを用いた脳機能表現型データベースの開発」プロジェクトによって構築した脳表現型データベースに登録している。そのデータベースには、論文投稿済みあるいは投稿中の遺伝子改変マウス1560匹分のデータが現在までに登録されており、登録ユーザーは全てのデータを閲覧できるよう一般に公開している。

### <達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

当初、解析する系統のマウスは研究期間全体を通して分散したタイミングで得られることを想定していたが、実際には、マウスの入手時期が集中し、繁殖に必要な飼育スペースと人手を確保するのが難しかった。解析候補マウスの遺伝的背景をそろえて行動実験用に準備する場合、通常、一系統あたり数年程度の準備期間を要するが、計画段階では、準備が先行している系統から順次実験にまわすので問題はないと想定していた。しかし、実際には、解析候補のマウスの入手が研究期間の後期に集中する結果となった。また、研究代表者自身の所属が変わり、研究室に行動実験施設や飼育室をセットアップするのに多くの時間と労力がかかり、実験用マウスの飼育スペースが十分確保できないなど、本来の研究の遂行に支障があった。連携研究者の若菜・権藤らも所属組織

の発展的解消により本年4月より理研GSCからBRCに所属変更となったことで、研究遂行上支障があった。現在では研究環境も整い、今後の進展が期待できる。

### <今後の課題、展望>

変異マウスを実験に使う場合、入手したマウスの遺伝的背景をそろえることは解析データの信頼性を確実にするうえで必須である。通常、雑種状態の変異マウスを入手して行動実験解析しようとする、近交系マウスで戻し交配を6~8世代程度行い、その後、F1(兄妹)交配してマウスを必要数そろえることになるので、自然交配では、最短でも2年半程度の期間を要することになる。これに加えて、行動実験用マウスの数をそろえる段階では一系統あたり50~70ケージ程度の飼育スペースと人手が必要になり、マウスの維持管理に時間と労力がかかりかかってしまう。研究の効率を上げるために、以下のような技術を導入して、自然交配と併用したい。

(1)マイクロサテライト(MS)やSNPなどの遺伝的マーカーの情報を用い、PCRでスピードコンジュニックを進め、遺伝的背景をそろえるための時間を短縮する。

(2)過排卵処理・体外授精(IVF)により得られた受精卵を凍結保存し、短期間に集中して胚移植する。この技術を使うと条件のそろった実験用マウス個体を必要数計画的に準備することができ、交配待ちのマウスケージを多数維持する必要もなくなるなどメリットは大きい。

遺伝子ノックアウトマウスのスピードコンジュニックについては、研究代表者の研究室で約100種類程度のMSマーカーを用いて数世代分の戻し交配の短縮に成功しているため、今後、SNPも応用し、適用範囲を拡大したい。凍結受精卵の胚移植に必要な施設・設備は大学に整備されており、技術者も確保したので、この技術を活用していきたい。

### <研究期間の全成果公表リスト>

#### 1) 論文

##### 1. 0912032002

Nakatani, J., Tamada, K., Hatanaka, F., Ise, S., Ohta, H., Inoue, K., Tomonaga, S., Watanabe, Y., Chung, Y.J., Banerjee, R., Iwamoto, K., Kato, T., Okazawa, M., Yamauchi, K., Tanda, K., Takao, K., Miyakawa, T., Bradley, A., Takumi, T., Abnormal behavior in a chromosome-engineered mouse model for human 15q11-13 duplication seen in autism. *Cell*, 137(7): 1235-46 (2009)

##### 2. 0912011708

Tanda, K., Nishi, A., Matsuo, N., Nakanishi, K., Yamasaki, N., Sugimoto, T., Toyama, K., Takao, K., Miyakawa, T., Abnormal social behavior, hyperactivity, impaired remote spatial memory, and increased D1-mediated dopaminergic signaling in neuronal nitric oxide synthase knockout mice. *Molecular Brain*, 2:19 (2009)

##### 3. 0912011714

Matsuo, N., Yamasaki, N., Ohira, K., Takao, K., Toyama, K., Eguchi, M., Yamaguchi, S., Miyakawa, T., Neural activity changes underlying the working memory deficit in alpha-CaMKII heterozygous knockout mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3:20 (2009)

##### 4. in press

Ohno, M., Hiraoka, Y., Matsuo, T., Tomimoto, T., Takao, K., Miyakawa, T., Oshima, N., Kiyonari, H., Kimura, T., Kita, T.,

- Nishi, E., Nardilysin regulates axonal maturation and myelination in the central and peripheral nervous system. *Nature Neuroscience*, 5. 0912021958
- Hagihara, H., Toyama, K., Yamasaki, N., Miyakawa, T., Dissection of hippocampal dentate gyrus from adult mice. *Journal of Visualized Experiments*, 17;(33). pii: 1543. doi: 10.3791/1543 (2009)
6. 0901141921  
Yamasaki N\*, Maekawa M\*, Kobayashi K\*, Kajii Y\*, Maeda J\*, Soma M\*, Takao K\*, Tanda K, Ohira K, Toyama T, Kanzaki K, Fukunaga K, Sudo Y, Ichinose H, Ikeda M, Iwata N, Ozaki N, Suzuki H, Higuchi M, Suhara T, Yuasa S, Miyakawa T. (\*These authors contributed equally to this work.), Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders, *Molecular Brain*,1:6 (2008)
7. 0901141928  
Imayoshi I, Sakamoto M, Ohtsuka T, Takao K, Miyakawa T, Yamaguchi M, Mori K, Ikeda T, Itohara S, Kageyama R. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nature Neuroscience*, 11, 1153-1161(2008)
8. 0901141925  
Ikeda M, Hikita T, Taya S, Uruguchi-Asaki J, Toyo-oka K, Wynshaw-Boris A, Ujike H, Inada T, Takao K, Miyakawa T, Ozaki N, Kaibuchi K, Iwata N. Identification of YWHAE, a gene encoding 14-3-3epsilon, as a possible susceptibility gene for schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 17(20): 3212-3222 (2008)
9. 0901141908  
Sakae N, Yamasaki N, Kitaichi K, Fukuda T, Yamada M, Yoshikawa H, Hiranita T, Tatsumi Y, Kira J, Yamamoto T, Miyakawa T, Nakayama KI. Mice lacking the schizophrenia-associated protein FEZ1 manifest hyperactivity and enhanced responsiveness to psychostimulants. *Human Molecular Genetics*, 17(20): 3191-3203 (2008)
10. 0901141911  
Horii Y, Yamasaki N, Miyakawa T, Shiosaka S. Increased anxiety-like behavior in neuropsin (kallikrein-related peptidase 8) gene-deficient mice. *Behavioral Neuroscience*, 122(3), 498-504 (2008)
11. 0901141914  
Hung AY, Futai K, Sala C, Valtchanoff JG, Ryu J, Burgoon M, Kidd FL, Sung CC, Miyakawa T, Bear MF, Weinberg RJ, Sheng M. Smaller Dendritic Spines, Weaker Synaptic Transmission but Enhanced Spatial Learning in Mice Lacking Shank1. *Journal of Neuroscience*, 28(7), 1697-1708(2008)
12. 0801292122  
Niemann, S., Kanki, H., Fukui, F., Takao, K., Fukaya, M., Hynynen, MN., Churchill, MJ., Shefner, JM., Bronson, RT., Watanabe, M., Brown, RH., Jr., Miyakawa, T., Itohara, S., Hayashi, Y.,: Genetic ablation of NMDA receptor subunit NR3B in mouse reveals motoneuronal and non-motoneuronal phenotypes. *Eur J Neurosci*. 26 (6), 1407-1420, (2007)
13. 0801292107  
Ogawa, M., Miyakawa, T., Nakamura, K., Kitano, J., Furushima, K., Kiyonari, H., Nakao, K., Moriyoshi, K., Nakanishi, S.: Altered sensitivities to morphine and cocaine in scaffold protein tamalin knock out mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(37), 14789-14794, (2007)
14. 0801292059  
Sano, H., Nagai, Y., Miyakawa, T., Shigemoto, R., Yokoi, M.: Increased social interaction in mice deficient of the striatal medium spiny neuron-specific phosphodiesterase 10A2. *J Neurochem*. 105(2), 546-556(2008)
15. 708082101  
Aiba, A., Inokuchi K., Ishida Y., Itohara, S., Kobayashi, K., Masu, M., Mishina, M., Miyakawa, T., Mori, H., Nakao, K., Obata, Y., Sakimura, K., Shiroishi, T., Wada, K. and Yagi, T.: Mouse liaison for integrative brain research, *Neuroscience Research*, 58, 103-104, (2007)
16. 0708082025  
Takao, K., Yamasaki, N. and Miyakawa, T.: Impact of brain-behavior phenotyping of genetically-engineered mice on research of neuropsychiatric disorders. *Neuroscience Research*, 58 (2) : 124-132, (2007)
17. 0708081947  
Ihara, M., Yamasaki, N., Hagiwara, A., Tanigaki, A., Kitano, A., Hikawa, R., Tomimoto H., Noda, M., Takanashi, M., Mori, H., Hattori, N., Miyakawa, T. and Kinoshita, M.: Sept4, a Component of Presynaptic Scaffold and Lewy Bodies, Is Required for the Suppression of  $\alpha$ -Synuclein Neurotoxicity. *Neuron* 53(4): 519-533 (2007)
18. 0701191257  
Takao K and Miyakawa T: Light/dark transition test for mice. *Journal of Visualized Experiments*, Issue 1, 11/13/ 2006
19. 0608101120  
Arron JR, Winslow MM, Polleri A, Chanq CP, Wu H, Gao X, Neilson JR, Chen L, Heit JJ, Kim SK, Yamasaki N, Miyakawa T, Francke U, Graef IA and Crabtree GR: NFAT dysregulation by increased dosag of DSCR1 and DYRK1A on chromosome 21., *Nature*, 441(7093), 595-600, (2006)
20. 0606191502  
Takao K, Miyakawa T: "Investigating genes- to-behaviors pathways in psychiatric disorders: An approach using a comprehensive behavioral test battery on genetically engineered mice" , *Annals of the New York Academy of Science*, 1086: 144-159, (2006)
21. 0606191436  
Powell CM, Miyakawa T: "Schizophrenia- relevant behavioral testing in rodent models: a uniquely human disorder?" , *Biological Psychiatry*, 59(12), 1198-207, (2006)
- 2) 学会発表
- 1.K. Takao, K. Tanda, N. Matsuo, K. Nakanishi, K. Toyama, N. Yamasaki, T. Sugimoto, A. Nishi, T. Miyakawa, Abnormal social behavior, hyperactivity, impaired remote spatial memory, and increased D1-mediated dopaminergic signaling in neuronal nitric oxide synthase knockout mice. *Neuroscience* 2009 2009年10月17-21日 (Chicago, USA)
- 2.Miyakawa, T., Omics analysis of immature dentate gyrus: Possible mechanisms underlying maturation failure of granule cells. 4th International Conference of Neurons and Brain

Disease 2009年7月21日-23日 (Toronto Canada)

3. Miyakawa, T., Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders. 17th European Congress of Psychiatry 2009年1月24-28日 (Lisbon, Portugal)
4. Takao, K., Komada, M., Miyakawa, T., A brain-behavior phenotype database consisting of data derived from comprehensive behavioral analyses of genetically engineered mice. Neuroscience 2008 2008年11月15-19日 (Washington DC, USA)
5. Miyakawa, T., Immature dentate gyrus as a potential endophenotype for psychiatric disorders. Integrative Approaches to Brain Complexity 2008年10月1-4日 (Cambridge, UK)
6. Miyakawa, T., Alpha-CaMKII deficiency causes dysregulated behaviours and immature dentate gyrus. International Conference of Neurons and Brain Disease 2007年8月29-31日 (Toronto, Canada)
7. Takao, K., Maekawa, M., Maeda, J., Soma, M., Higuchi, M., Suhara, T., Yuasa, S., and Miyakawa, T., The dentate gyrus of alpha-CaMK II deficient mice is morphologically and histologically immature. 7th IBRO World Congress of Neuroscience 2007年7月12-17日 (Melbourne Australia)
8. Miyakawa, T., Yamasaki, N., Tanda, K., Toyama, K. and Takao, K., Factor analyses of large-scale data justify the behavioral test battery strategy to reveal the functional significances of the genes expressed in the brain” 7th IBRO World Congress of Neuroscience 2007年7月12-17日 (Melbourne Australia)
9. Miyakawa, T., Yamasaki, N., Tanda, K., Fukui, Y., Toyama, K., Takao, K., Effects of various factors on the results of a comprehensive behavioral test battery for genetically engineered mice: A Factor Analytic Study. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress 2006年6月18-23日 (Kyoto)

3) ホームページ

<http://behav.hmro.med.kyoto-u.ac.jp/>

マウスの網羅的行動テストバッテリーに用いる実験設備・施設などの紹介 (京都大学医学研究科 先端技術センター)

4) データベース

<https://behav.hmro.med.kyoto-u.ac.jp/>

JST バイオインフォマティクス推進事業「マウスを用いた脳機能表現型データベースの開発」によるデータベース