

BEX もっと簡便！超迅速！ 最新ゲノム編集動物作製法

演題1 大塚 正人 先生 東海大学医学部基礎医学系

演題2 谷原 史倫 先生 徳島大学大学院社会産業理工学部

演題3 堀居 拓郎 先生 群馬大学生体調節研究所

日時:12月7日 木曜日 11:45~12:45

会場:第18会場(神戸国際会議場 502)

演題1 GONAD: *ex vivo*胚操作を要しないゲノム編集マウス作製手法

標的ゲノム領域にDNA二本鎖切断を導入可能なCRISPR/Cas9系を用いることで、個体レベルで容易に遺伝子改変を行うことができるようになった。CRISPRゲノム編集技術を用いて遺伝子改変マウスを作出する場合、古くからのトランスジェニックマウス作製法である受精卵への顕微注入法を用いることが多い。この場合、(1)受精卵の回収、(2)受精卵へのCRISPR溶液の顕微注入、(3)顕微注入卵の偽妊娠マウス卵管への移植、という、熟練した技術と高価な設備を要する3つのステップを経ることとなる。

我々はこれまでに、これら3つのステップ全てを省くことが可能な新規ゲノム編集マウス作製法「GONAD法」の開発を進めてきた。GONAD法では、上記3つのステップに代わって、受精卵を有する妊娠メスマウス卵管へのCRISPR溶液の注入と、卵管全体への*in vivo*エレクトロポレーションを行う。実際に、本手法を用いてノックアウトマウスやノックインマウス等を含めた各種ゲノム編集マウスの作製に成功している。一連の高度で煩雑な工程を全てスキップできるため、熟練した技術や装置を持たない研究者や学生でもマウス個体での遺伝子改変を試みる事が可能である。本セミナーでは、GONAD法によるゲノム編集マウス作製について詳しく紹介したい。

演題2 エレクトロポレーションによるブタ胚へのCRISPR/Cas9 システムの導入とゲノム編集ブタの作製

ブタは生理学的、解剖学的性質や生物学的特性がヒトに近く、実験動物として注目されている。ヒトの病態モデルとなるようなブタを遺伝子改変技術によって作製することができれば、難病疾患の研究や、創薬研究、また、手術トレーニングに活用することができ、医学研究の大幅な発展が期待される。従来、遺伝子改変ブタの作製は、遺伝子改変した体細胞を用いた核移植によるクローンブタ作製によりなされてきた(体細胞クローン法)。ゲノム編集技術の登場により、受精胚細胞質へのマイクロインジェクション法による遺伝子改変ブタの作製も可能となったが、体細胞クローン法とマイクロインジェクション法は共に高度な技術が必要であることから、実施できる研究者・研究機関は限られている。

私たちは、エレクトロポレーションによりCRISPR/Cas9システムをブタ体外受精胚に導入することで、簡便かつ高効率に遺伝子改変を行うGEEP法(genome editing by electroporation of Cas9 protein)を確立し、本手法を用いて遺伝子改変ブタの作製に成功した。GEEP法は高度な技術を必要とせず、簡単な操作で受精胚のゲノム編集が可能である。本セミナーでは、エレクトロポレーションを用いたゲノム編集ブタの作製について詳しく紹介したい。

演題3 loxP配列の2ステップ導入による効率的なコンディショナルノックアウトマウス作製法

我々は最近loxPの2ステップ導入により、高効率でfloxマウスが得られる方法を開発した。本方法によりCre受精卵にloxPを導入することで、最短1ヶ月でCre/loxPマウスを得られるようになった。

