

母性Cas9による遺伝子改変マウス及びそのゲノム編集能

Maternal Cas9-mediated genome editing confers reduced mosaicism at target sites and gRNA concentration-dependent transition of heterozygous to homozygous mutations

- 全身発現型Cas9トランスジェニックマウス(sCAT)を開発
- 母性Cas9(mRNA/タンパク質)利用によるゲノム編集可能
⇒ 簡便・安価、高い胎児発生率、低いモザイク率、多遺伝子の同時改変可能

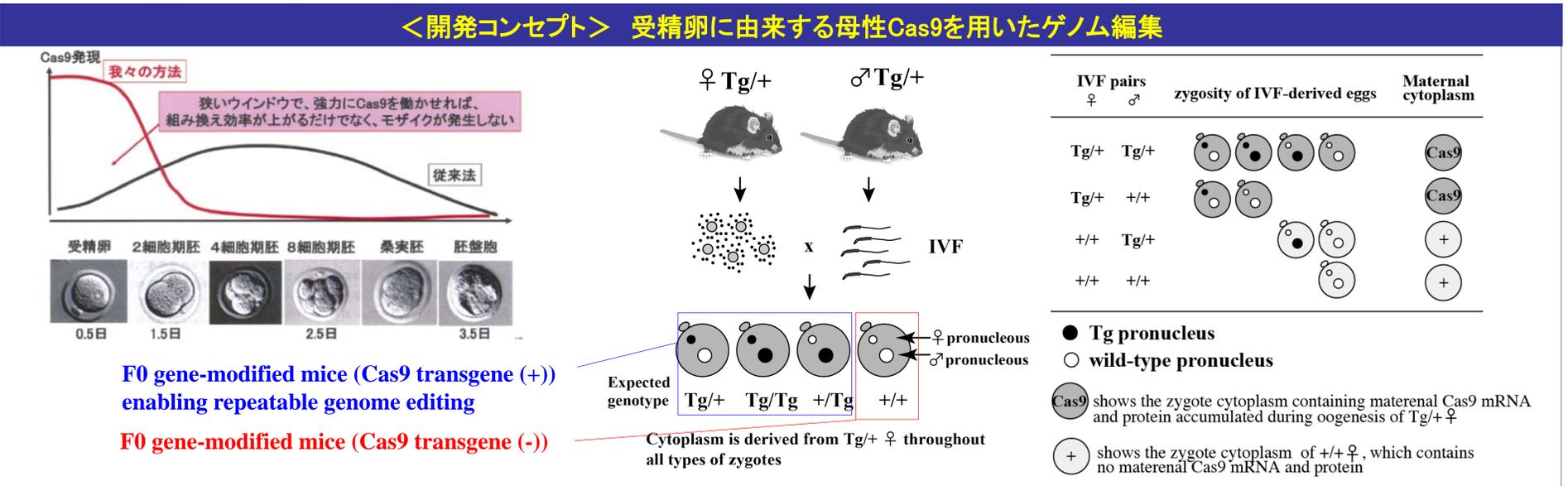
【技術の概要】

sCAT: systemic CAS9 expressed Tg Mice

我々は、in vivo操作による病態マウスモデル作製系の構築のためCas9を恒常的に全身で発現するマウスsCATを樹立した。そして、この受精卵 [受精卵期に一過的に存在する母性型Cas9を蓄積]にgRNA(群)のみを胚導入するだけで高率なゲノム編集が可能となることを初めて示し、「母性Cas9ゲノム編集法」として確立した(Sakurai et al.,2016)。同法は、外部Cas9の調整と胚導入は不要であり、胎児発生率の向上、モザイク率の低減および多遺伝子同時改変に優れた技術である。

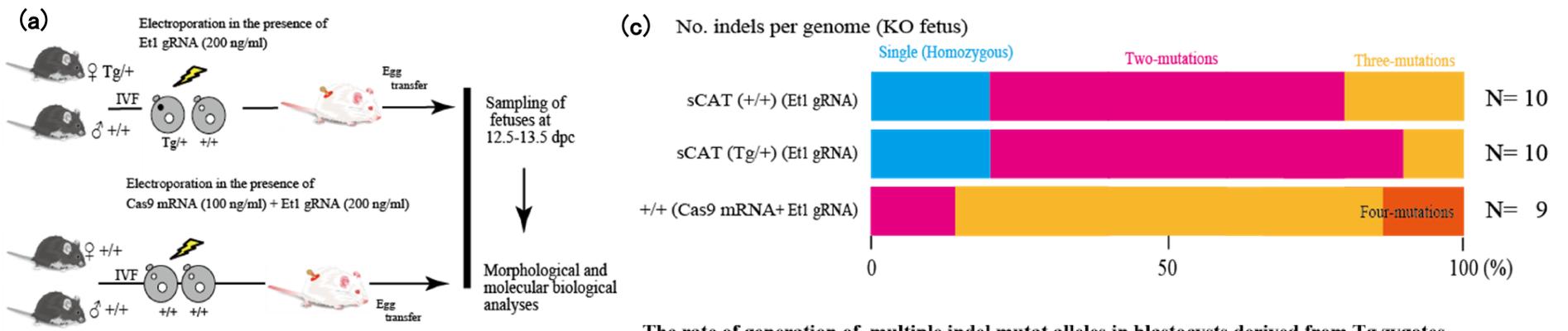
註)本技術の詳細については右記URLをご参照ください <http://www.jst.go.jp/chizai/news/biojapan2018.html>

【全身発現型Cas9トランスジェニックマウス(sCAT)および受精卵】



【競合有意性】 外部からのCas9導入不要 (gRNAのみ必要)、Cas9以外のゲノム編集試薬の増量可能、母性Cas9は一過的に発現

	モザイク率	9遺伝子座同時変異	仔(胎児)発生率
従来のCRISPRシステムを活用した遺伝子改変マウスの作製方法	80%	発表なし	27%
従来技術の一部改良(Cas9タンパク質)による遺伝子改変マウスの作製方法	20%	発表なし	27%
当該技術	15%	可能	48%



The rate of generation of multiple indel mutant alleles in blastocysts derived from Tg zygotes (Tg/+ female x +/+ male) injected with 9 kinds of gRNAs

Concentration of mixed 9 gRNAs (ng/ μ l)	No. alive/ no. injected fertilized eggs (%)	No. blastocyst/ no. alive fertilized eggs (%)	No. blastocysts analyzed				No. Tg/+ blastocysts having indel mutant alleles				No. +/+ blastocysts having indel mutant alleles			
			Tg/+	+/+	0-5	6-7	8	9	0-5	6-7	8	9		
100	24/26 (92)	10/24 (42)	6	4	0	3	1	2	0	3	1	0		
200	22/26 (85)	11/22 (50)	9	2	1	4	4	0	0	1	1	0		
300	22/30 (73)	10/22 (45)	6	4	0	3	1	0	0	3	1	2		

Ave. 7.3 / 9 loci

【想定される用途】

- 多因子性疾患モデルマウス構築 (疾患関連遺伝子群の機能解析、創薬スクリーニング)、1遺伝子改変マウスの効率的な作成

【ライセンス可能な特許】

- 遺伝子改変非ヒト生物、卵細胞、受精卵、及び標的遺伝子の改変方法 (WO2017104404)

代表発明者:

新藤 隆行
信州大学大学院 医学系研究科
循環病態学講座 教授

連絡先 : JST知的財産マネジメント推進部
ライセンス担当

phone: +81-3-5214-8486

e-mail: license@jst.go.jp