

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25463184

研究課題名(和文)人工ヌクレアーゼ(TALEN)を用いた遺伝子改変マウス作製法の超簡便化

研究課題名(英文) Super-simplification of the genetically modified mouse production method using TALEN

研究代表者

泰江 章博(YASUE, Akihiro)

徳島大学・大学病院・講師

研究者番号：80380046

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ES細胞を利用する遺伝子改変マウス作製法は非効率で時間を要する欠点があった。近年開発されたTALENとCRISPR/Casシステムによる遺伝子破壊はこれら諸問題を克服するのみならず、ES細胞の確立されていない生物種の遺伝子配列破壊も可能である。我々は、ノックアウトマウスで四肢欠損を呈するFgf10遺伝子を標的に、マウス受精卵へRNAをマイクロインジェクションすることで、F0世代でその表現型を得ることができた。また、その効率はTALENと比較し、CRISPR/Casシステムにおいて非常に高効率であった。

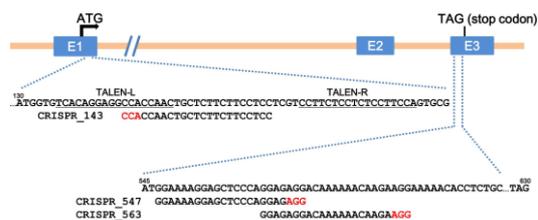
研究成果の概要(英文)：Gene targeting with homologous recombination using the ES cell technique is inefficient and time-consuming. Recently, two new gene-targeting technologies, TALEN and CRISPR/Cas system, have been developed. In addition to aiding researchers in solving conventional problems, these technologies can be used to induce site-specific mutations in various species for which ES cells have not been established. By targeting the Fgf10 gene through RNA microinjection in one-cell mouse embryos with the TALEN and CRISPR/Cas systems, we produced the known limb-defect phenotypes of Fgf10-deficient embryos at the F0 generation. Compared to the TALEN system, the CRISPR/Cas system induced the limb-defect phenotypes with a strikingly higher efficiency. Our results demonstrate that although both gene-targeting technologies are useful, the CRISPR/Cas system more effectively elicits single-step biallelic mutations in mice.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：ゲノム編集 CRISPR/Casシステム TALEN

(4) CRISPR/Cas システム標的配列 (マウス Fgf10 遺伝子)

Exon1 と Exon3 に設計された。



(5) gRNA ならびに Cas9mRNA のマイクロインジェクションにより得られた F0 世代における四肢欠損マウス (E16.5)



F0 世代における四肢欠損胚の獲得は TALEN で 50%以下であったが、CRISPR/Cas システムでは最大 100%であった。

また、これらの破壊された配列は F1 世代への生殖系列移行も確認された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

① Yasue A, Mitsui SN, Watanabe T, Sakuma T, Oyadomari S, Yamamoto T, Noji S, Mito T, Tanaka E. Highly efficient targeted mutagenesis in one-cell mouse embryos mediated by the TALEN and CRISPR/Cas systems. Sci Rep. 2014 Jul 16;4:5705. doi: 10.1038/srep05705.

[学会発表] (計 7 件)

① 泰江章博, 河野仁美, 板東哲哉, 石丸善康, 井上順治, 渡辺崇人, 親泊政一, 野地澄晴, 三戸太郎, 大内淑代, 田中栄二 CRISPR/Cas システムによる Pax6 モザイク欠損マウスの解析. 第 48 回日本発生生物学会 2015 年 6 月 2-5 日, つくば国際会議場 (茨城県つくば市) (展示)

② 河野仁美, 泰江章博, 石丸善康, 井上順治, 渡辺崇人, 板東哲哉, 親泊政一, 野地澄晴, 三戸太郎, 山本卓, 田中栄二, 大内淑代

CRISPR/Cas システムによる Pax6 遺伝子破壊マウスの解析. 第 37 回日本分子生物学会, 2014 年 11 月 25-27 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市) (展示)

③ Yasue A, Mitsui SN, Watanabe T, Sakuma T, Oyadomari S, Yamamoto T, Noji S, Mito T, Tanaka E. Highly efficient targeted mutagenesis in one-cell mouse embryos mediated by TALEN and CRISPR/Cas systems. The X meeting for Spanish Society for Developmental Biology (SEBD), Oct 13-15, 2014, Madrid, Spain. (poster)

④ Mitsui SN, Yasue A, Imoto I, Oyadomari S, Noji S, Mito T, Tanaka E. In vivo study of Mx1 gene in mice using CRISPR/Cas system. 第 47 回日本発生生物学会 2014 年 5 月 27-30 日, ウィンクあいち (愛知県名古屋市) (展示)

⑤ Yasue A, Mitsui SN, Watanabe T, Sakuma T, Oyadomari S, Yamamoto T, Noji S, Mito T, Tanaka E. A high efficient gene targeting in one-cell mouse embryos mediated by TALEN and CRISPR/Cas system. International Symposium on RNAi and Genome Editing Methods. March 14-16, 2014, 徳島大学 (徳島県徳島市) (口演)

⑥ 泰江章博, 三井なおみ, 渡辺崇人, 佐久間哲史, 親泊政一, 山本卓, 野地澄晴, 三戸太郎, 田中栄二 TALEN, CRISPR/Cas system を用いたマウス 1 細胞期胚における標的遺伝子破壊. 第 36 回日本分子生物学会 2013 年 12 月 3-6 日, 神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市) (展示)

⑦ 泰江章博, 三井なおみ, 渡辺崇人, 佐久間哲史, 親泊政一, 山本卓, 野地澄晴, 三戸太郎, 田中栄二 TALEN, CRISPR/Cas システムを用いたマウス 1 細胞期胚における標的遺伝子破壊. 第 3 回ゲノム編集研究会 2013 年 10 月 26-27 日, 広島大学 (広島県・東広島市) (展示)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

泰江 章博 (YASUE, Akihiro)
徳島大学・病院・講師
研究者番号：80380046

(2) 連携研究者

山本 卓 (YAMAMOTO, Takashi)
広島大学・理学研究科・教授
研究者番号：90244102