

新しいノックインマウス作成法 (キックイン法)

開発に成功

プロスワンに2月19日掲載

- ・ 福岡大学てんかん分子病態研究所
- ・ 福岡大学医学部 小児科学 廣瀬 伸一
- ・ 福岡大学理学部 化学科 弟子丸 正伸
- ・ 熊本大学発生医学研究所 荒木 喜美
- ・ 他

研究背景

疾患の解明、治療法の開発等にはヒトと同じ遺伝子異常を持つ疾患モデル動物が多数系統必要です。

しかし、いままでのモデル動物の作出には従来技術では膨大な時間と費用が必要です。

本技術（キックイン）は、例えるならオーディオプレーヤーで音楽CDを入れ替えるように、様々な遺伝子変異を自由に入れ替えることのできる技術です。

従来の遺伝子ノックイン技術に比べて作出期間はと費用が大幅に削減され、医学・生物学等の発展に大いに貢献することが期待されます。

変異ノックインマウス

疾患の原因遺伝子と変異の同定

正確な診断

効果的な治療法

変異が疾患を引き起こす機構の解明

患者と相同な遺伝子変異を有する「変異ノックインマウス」

患者体内における変異遺伝子の働きを忠実に再現可能です。

1遺伝子あたり複数種の変異

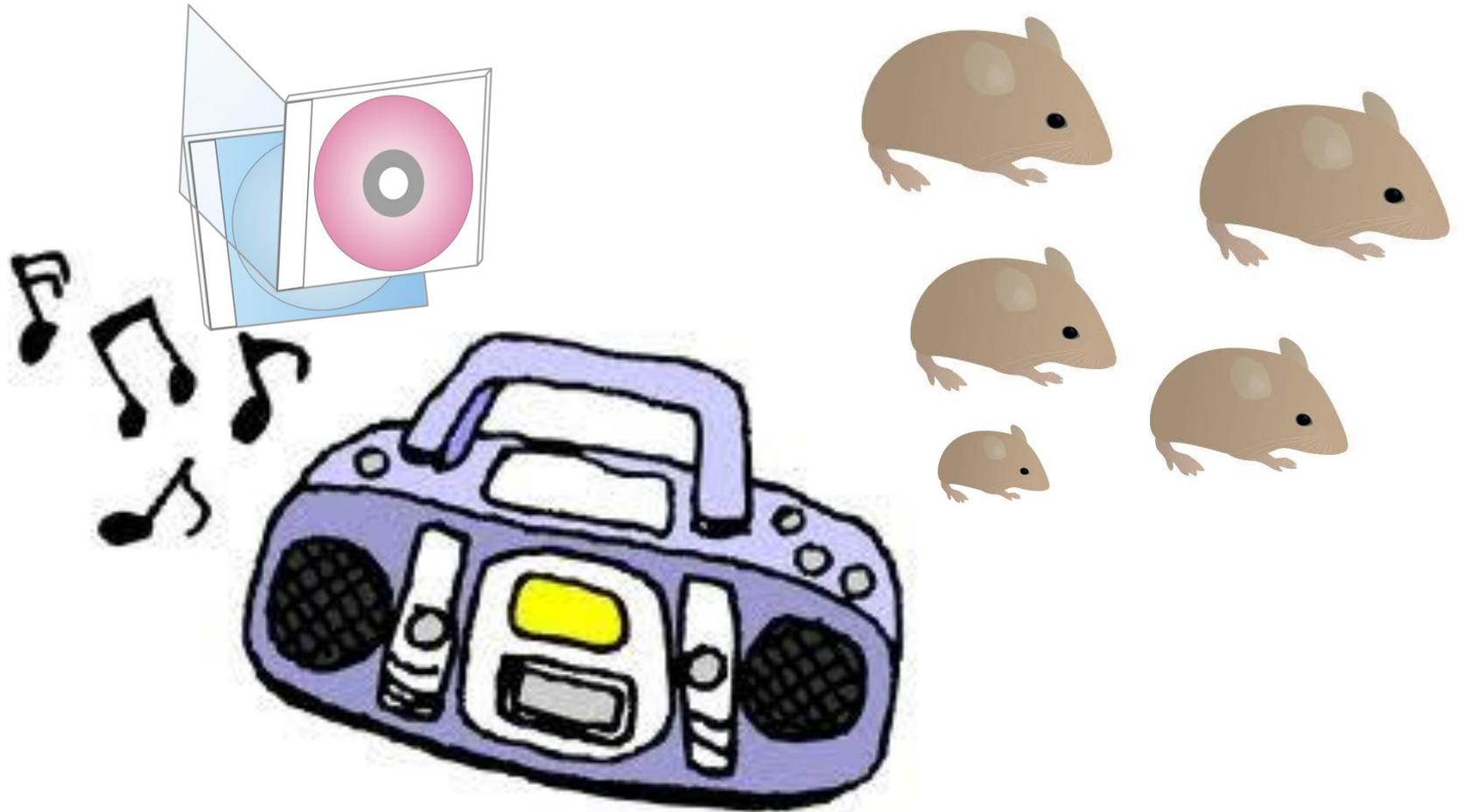
症状・重篤度の差異

各変異に対応した1遺伝子あたり5種類以上の疾患モデル動物が必要です。

従来法による変異マウスの作製費用は高額です。(1系統約500万円)

我々は、より効率的かつ安価に作製する「キックイン法」を開発しました

キックインマウスのイメージ



CDをいれかえるように簡単に

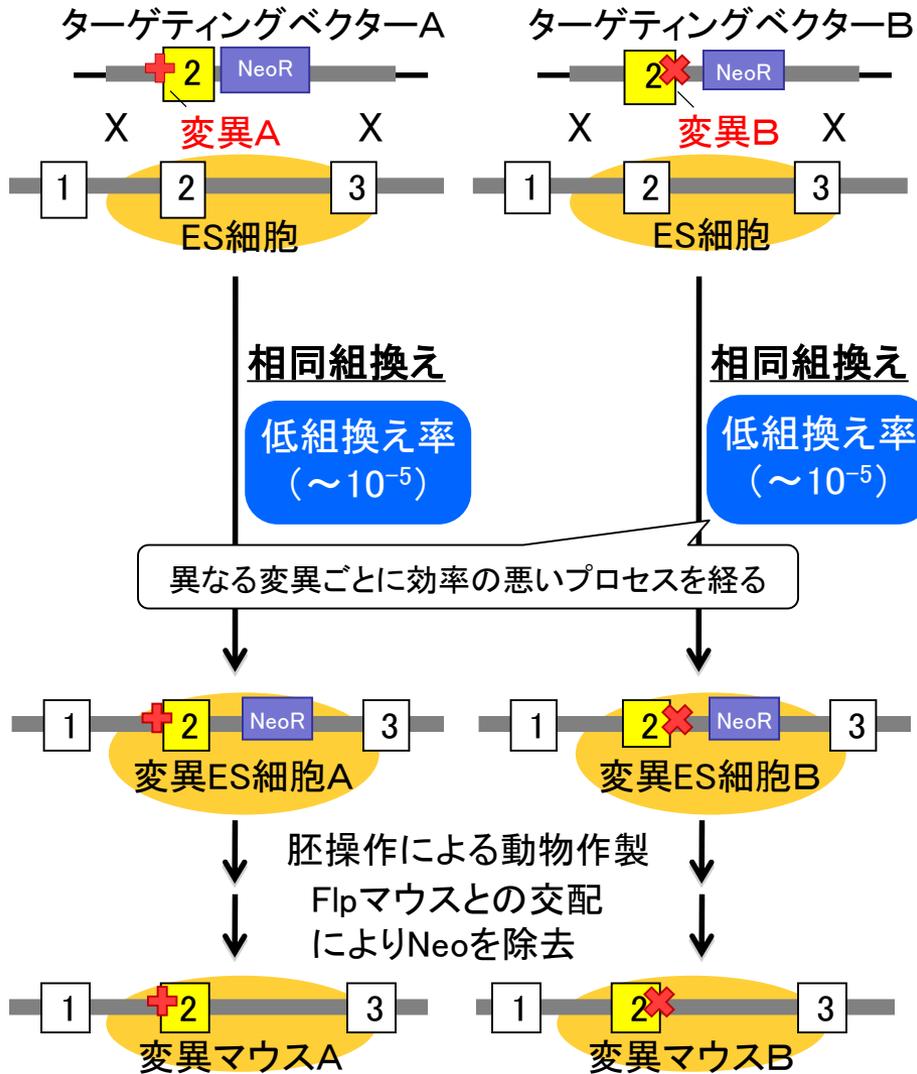
高効率かつ安価な遺伝子変異マウス作製法の開発

ノックイン法 (従来法)	キックイン法 特願2008-273446 PCT/JP2009/068729
変異導入ごとに同等の 長期間・高コスト	2変異目からは 短期間・低コスト
	標的遺伝子の 選定した部分に自由に 変異を導入可能

従来技術とその問題点：既に実用化されている遺伝子ノックイン動物作出技術では、疾患モデル動物1系統あたり1年半の長期間と500万円ほどの高額費用が必要であり、数多くの疾患モデルを容易に作出できない状況です。

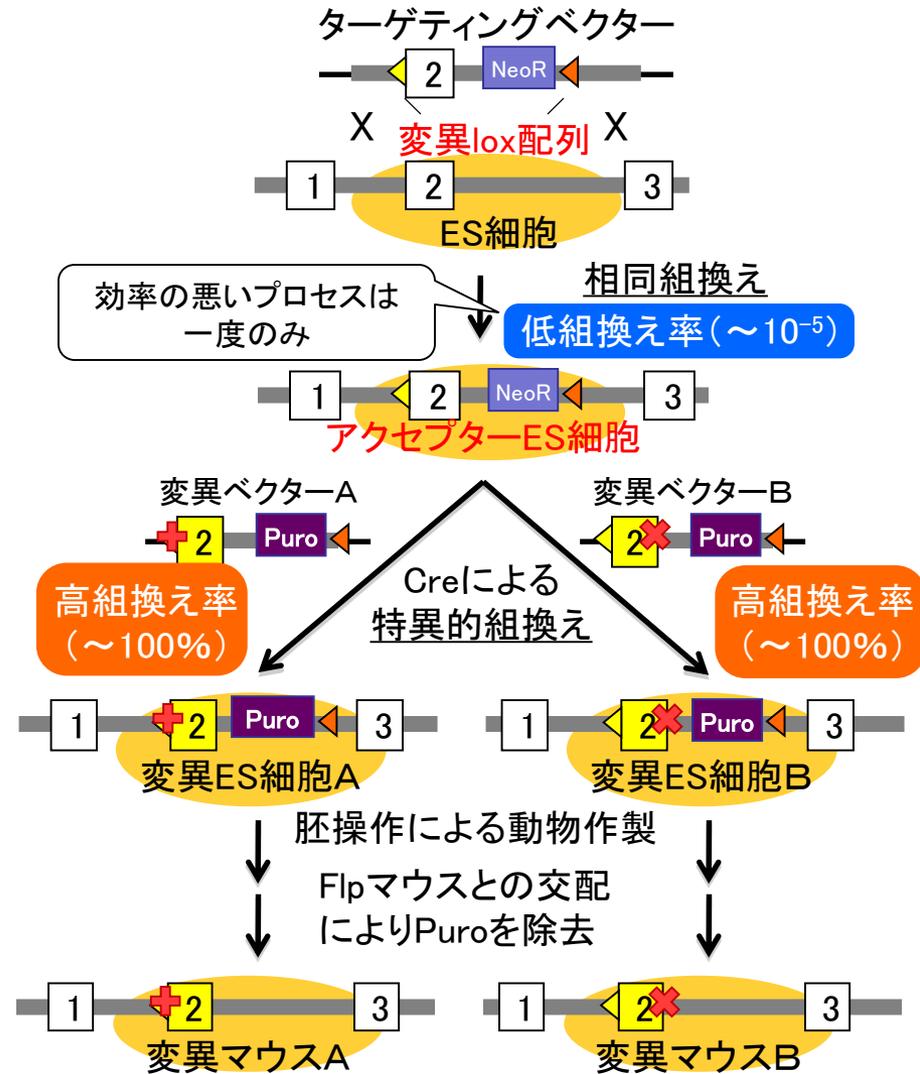
異なる遺伝子変異を導入したマウスを作製する場合

ノックイン法(従来法)



単一システムを作製する場合にのみ有利

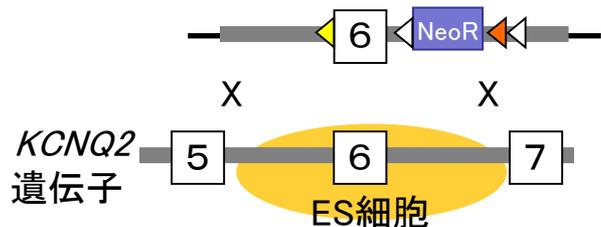
キックイン法



複数システムを作製する場合に有利

キックイン法による変異マウス作製の実例

KCNQ2遺伝子エクソン6の両側にlox配列を配置したターゲティングベクター



相同組換え



Y284C変異ベクター



Creによる
特異的組換え

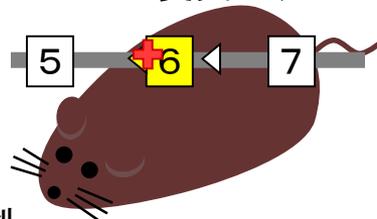
A306T変異ベクター



Y284C変異ES細胞

胚操作による動物作製

Y284C変異マウス

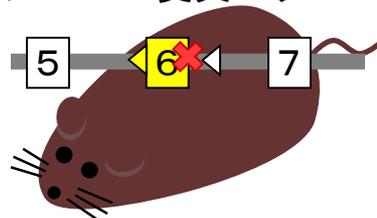


マーカー遺伝子の除去

A306T変異マウス



A306T変異ES細胞



解析



実際にKCNQ2遺伝子のエクソン6に任意の変異を簡単に導入可能するシステムを確立し遺伝子改変マウスを作成することができました。

従来法と「キックイン法」による 変異マウス作製法の比較

	ノックイン法 (従来法)	キックイン法
1変異導入に必要なプロセス数	2ステップ	3ステップ
長所	単一系統の変異マウス作製時には有利	2系統目以降の作製時は2ステップ目から開始 →短期間で安価・確実に変異動物を作製可能
短所	複数系統を作製する場合、すべてのプロセスを繰り返す必要がある	単一系統の変異マウス作製には不向き 標的遺伝子内の <u>限られた領域にしか変異導入できない</u>

まとめと今後の展望

- 短時間で数種類のノックインマウスが作成できます。
- 作成したマウスは、従来のノックインマウスと遜色ない特徴を示しました。
- 新規変異に変更して作成することができます。

いろいろな疾患でのモデル動物作成に貢献し、病態把握や治療法の開発に役立つものと考えます。