2024年度

創発的研究支援事業　年次報告書【公開版】

研究担当者	水野　聖哉
研究機関名	筑波大学
所属部署名	医学医療系トランスボーダー医学研究センター生命科学動物資源センター
役職名	教授
研究課題名	ミニマル染色体コンソミックマウスの創出
研究実施期間	2024年4月1日～2025年3月31日

研究成果の概要

各生命イベントに必須の遺伝子群を抽出していくことを目的に、発生工学技術とゲノム編集技術を利用することで多重遺伝子機能欠損させた実験用マウスの作製法の開発に取り組んだ。
現在、遺伝子機能欠損(Knock-out, KO)マウスの作製には一般的に二本鎖切断を誘導するCRISPR-Cas9が利用されている。しかし、CRISPR-Cas9ではsmall-indelの様な意図した変異だけでなく数千塩基対以上の欠失などの構造異常が生じることもあり、これは複数の遺伝子を同時にKOする際に大きな障害となる。
そこで標的の塩基のみに一塩基置換を誘導する塩基編集に着目した。塩基編集ツールは二本鎖切断を誘導しないため、複数の遺伝子座に意図した変異の導入が可能である。その一方、塩基編集ツールにて標的遺伝子をKOするためには、煩雑なsgRNAのデザインが必要となる。すなわち、標的遺伝子の特定のコドンをナンセンス変異介在的RNA分解を誘導する様な未成熟終止コドンへと変換するか、標的遺伝子にとって必須のエキソンをスキップさせせるようにスプラシング制御配列を破壊するsgRNAを抽出する必要がある。この問題を解決するため、gRNA設計コマンドラインツールであるKOnezumi-AIDを開発し、多種多様な遺伝子に対するsgRNAを自動でデザインすることを実現した。この成果はInternational Journal of Molecular Sciencesにて公開した(PMID: 39769261)。
更に我々は、時空間制御型の塩基編集ツール発現マウスと多種類のsgRNA発現カセットを保持するトランスジェニックマウスシリーズの作製にも成功し、迅速かつ効率的な多重遺伝子KOマウス作製の基盤が構築された。