

徳島大学先端酵素学研究所「**共同利用**・共同研究」報告書

平成 30 年 3 月 24 日

- 研究名

CRISPR-Cas9 を用いた *Atf6β* flox マウスの作製

- 申請項目

共同利用 A-4. ゲノム編集マウス作製

- 申請者

1) 氏 名 堀 修

2) 所 属 金沢大学 医薬保健研究域医学系 神経解剖学

3) 職 位 教授

- 研究成果

本研究において申請者らは、CRISPR-Cas9 を用いた新たな方法により、Cre 依存的に小胞体ストレス応答遺伝子 *Atf6β* を破壊する *Atf6β* flox マウスを作製し、その後、オリゴデンドロサイト特異的に *Atf6β* を欠損したコンディショナルノックアウトマウスの開発を目指してきた。

2017年6月に、loxP を一つ挿入できた ATF6b マウス由来の受精卵に二つ目の loxP を int11 への挿入を CRISPR/Cas9 法で竹本教授が試みた。その結果、10 匹仔が得られ 8 月～9 月にタイピングとシーケンスを実施したが、目的の仔マウスは得られなかった。そこで、2017 年 9 月、効率的な gRNA 選択のため、新たに設計した gRNA でゲノム編集を試み、胎盤胞期でタイピングとシーケンスを実施して使用 gRNA を確定した。2017 年 10 月には、loxP を一つ挿入できた ATF6b マウス由来の受精卵に二つ目の loxP を int11 への挿入を CRISPR/Cas9 法で竹本教授が試みた。その結果、3 匹仔が得られ、12 月にタイピング及びシーケンスを実施したが、目的の仔マウスは得られなかった。そこで、2017 年 12 月、loxP を一つ挿入できた ATF6b マウス由来の受精卵に二つ目の loxP を int11 への挿入を CRISPR/Cas9 法で竹本教授が試みた。その結果、5 匹仔が得られ、2018 年 3 月現在にタイピング及びシーケンスで確認を行っている。

上記のような状態で徳島大学での遺伝子改変マウスの作製が遅れているために、申請者が計画していた機能解析は実施できていない。一方、申請者は、ミエリン塩基性蛋白質

(MBP)プロモーター下流で Cre を発現するトランスジェニックマウスを既に保持していることから、今後も *Atf6β* flox マウスの作製は継続し、同マウスが完成次第、MBP-Cre マウスと交配させ、オリゴデンドロサイト特異的 *Atf6β* ノックアウトマウスを完成させる予定である。

