

第 48 回 バイオテクノロジー4～遺伝子ノックアウト～

■ノックアウトマウスの作成法を述べよ。

- 遺伝子は、相同染色体に1つずつ計2個持っているので、両方を破壊するのは大変
 - 黄色 (AA)、黒色 (aa) のネズミを使用
 - まず黄色 (AA) マウスの受精卵 (胚盤胞の内部細胞塊) から ES 細胞を得る
 - 目的の遺伝子を含む DNA 断片 (のエキソン) にネオマイシン耐性遺伝子を挿入し、遺伝子を破壊しておく。一方で、ネオマイシンに対する耐性を獲得することになる
 - この DNA 断片を ES 細胞に取り込ませる。非常に少ない確率だが、ES 細胞が持つ正常遺伝子のうち片方が、仕込みをしておいた DNA 断片と相同組換えを起こす (両方の正常遺伝子と相同組換えを起こす確率は天文学的に低すぎて期待できない)
 - ネオマイシン耐性を利用して、これが起こった ES 細胞を選別する。この時点では、ES 細胞は、1つの遺伝子が破壊され、1つは正常という「AA'」の状態
 - 黒色 (aa) マウスの胚盤胞に、この ES 細胞を移植。代理母からこの胚を出産させて育てる。ES 細胞は黄色マウス由来であったので、このマウスは、キメラマウス (aa+AA') となる
 - キメラマウスを黒色 (aa) と交配し、黄色の個体だけ選別する。この黄色個体は A'a または Aa であるので、尻尾の細胞から DNA を抽出し、ネオマイシン耐性を調べることによって A'a のみを選別する
- キメラマウスの中には、運よく生殖細胞が ES 細胞 (AA') 由来で発生してくれた個体が存在し、これと aa を交配すれば黄色が生まれるはず。もし黒色が生まれたら、それは失敗した個体なので、毛の色によって効率的に選別ができる
- 最後に A'a 同士を交配すれば、1/4 の確率で A'A'、すなわち両方の遺伝子が破壊されたノックアウトマウスが完成する