



(52) CPC특허분류

**C12N 15/8775** (2013.01)

A01K 2217/075 (2013.01)

A01K 2227/105 (2013.01)

A01K 2267/025 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

X 염색체 상에 위치하는 생식 유전자의 파괴를 포함하는 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아로서, 여기서 생식 유전자의 파괴는 수컷 생식을 억제하며, 숙주 배아는 파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 도너 만능 세포를 내부에 도입하기에 적합한 것인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 2

(1) X 염색체 상에 위치하는 생식 유전자의 파괴 및 (2) 파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 도너 만능 세포를 포함하는 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아로서, 여기서 생식 유전자 X 염색체 상에 위치하며 생식 유전자의 파괴는 수컷 생식을 억제하는 것인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

생식 유전자는 정자의 생식을 조절하는 것인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 4

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

생식 유전자는 정자형성을 조절하는 것인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 5

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

생식 유전자는 *GILZ*인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 6

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

수컷 비-인간 숙주 배아는 8-세포 단계 배아인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 7

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

수컷 비-인간 숙주 배아는 배반포인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 8

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

수컷 설치류 숙주 배아인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 9

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

수컷 생쥐 숙주 배아인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

#### 청구항 10

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

수컷 쥐 숙주 배아인 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아.

**청구항 11**

비-인간 동물을 번식시키기 위한 제 1 항 또는 제 2 항에 따른 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아의 용도.

**청구항 12**

제 11 항에 있어서,

유전자 변형된 비-인간 동물을 생성하기 위한 것인 용도.

**청구항 13**

대리(surrogate) 또는 양육(foster) 비-인간 동물로의 이식을 위한 제 1 항 또는 제 2 항에 따른 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아의 용도.

**청구항 14**

제 13 항에 있어서,

키메라 비-인간 동물을 생성하기 위한 것인 용도.

**청구항 15**

파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 만능 세포의 생식 계열 전달을 개선하기 위한 제 1 항에 따른 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아의 용도.

**청구항 16**

제 15 항에 있어서,

만능 세포는 게놈에 유전자 변형을 포함하는 것인 용도.

**청구항 17**

제 15 항에 있어서,

만능 세포는 수컷 만능 세포인 용도.

**청구항 18**

제 15 항에 있어서,

만능 세포는 배아 줄기(ES) 세포인 용도.

**청구항 19**

파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 만능 세포를 호스팅하기 위한 제 1 항에 따른 선-이식 수컷 비-인간 숙주 배아의 용도.

**청구항 20**

제 19 항에 있어서,

만능 세포가 게놈에 유전자 변형을 포함하는 것인 용도.

**청구항 21**

제 19 항에 있어서,

만능 세포가 수컷 만능 세포인 용도.

**청구항 22**

제 19 항에 있어서,

만능 세포가 배아 줄기(ES) 세포인 용도.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 일반적으로 유전자 변형 도너 만능 세포를 포함하는 도너 만능 세포의 생식 세포 및 배우자로서의 발현을 위한 숙주로서 사용될 수 있는 파괴된 또는 파괴가능한 생식 유전자를 가진 비-인간 배아를 생산하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 파괴된 생식 유전자를 가진 이런 배아 키메라 비-인간 동물로부터 생산되고 키메라 비-인간 동물을 도너 만능 세포로부터 유래된 실질적으로 모든 배우자 및/또는 생식 세포를 가진 비-인간 동물을 생산하기 위해 파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 동족 비-인간 동물과 번식하기 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 생쥐 배아 줄기(EM) 세포는 만능이며 배반포 주사 이후 생쥐의 모든 조직에 영향을 미칠 수 있다. 이는 또한 상대적으로 쉽게 유전적으로 변형될 수 있고 표적화된 돌연변이의 계승 속도로 도입 이후 유전자 변형 생쥐의 생성에 사용되었다(예를 들어, Doetschman T *et al.*, 1987. Nature 330: 576-578).

[0003] 배반포 배아 환경 속에 주입될 때 유전자 변형에 의한 생쥐 '도너' ES 세포는 숙주 배반포의 내부 세포 덩어리 속에 통합되고 체세포 및 생식 세포 계통으로 분화되어, 결국은 키메라로 알려진 모자이크 생쥐를 생산한다. 키메라즘에서 차이는 도너 ES의 배반포에 대한 기여의 다른 양 때문이다. 더 많이 도너 ES 세포가 배반포에 영향을 미치면 더 많은 배아 세포가 도너 ES 세포로부터 유래되어, 유전자 변형의 생식 계열 속으로의 전달(생식 계열 전달)을 강화시킨다.

[0004] 그러나, (i) 내세포괴(inner cell mass) 발달 과정 속에 통합하기 위한 정확한 시간에 정확한 장소에 있어야 할 도너 세포의 필요조건, (ii) 원시 생식 세포가 되고 뒤이어 기능성 배우자로 발달하기 위한 도너 ES 세포의 고유(유전적 및 후성적) 능력 (iii) 발달 틈새(developmental niche)가 결과적으로 배우자가 되기 위한 통상적인 키메라에서 배아 발달 동안 숙주와 도너 줄기 세포 사이의 경쟁을 포함하는 이해가 잘 안 되는 여러 복잡한 인자 때문에, 키메라에서 도너 ES 세포로부터의 생식 계열 기여는 예상치 못하며 0%로부터 100%까지 변한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0005] 따라서, ES 세포와 같은 유전자 변형 만능 세포의 생식 계열 전달을 개선하고 키메라로부터의 만능 세포 유래 동물의 생성을 가속시킬 필요가 존재한다.

**과제의 해결 수단**

[0006] 본 발명은 내인성 생식 유전자를 포함하는 도너 만능 세포의 생식 계열 전달(예를 들어, 유전자 변형 포함)이 도너 만능 세포가 주입되는 선-이식 비-인간 배아에서 생식 유전자를 파괴함으로써 현저하게 강화될 수 있다는 결정으로부터 부분적으로 시작된다. 적절한 대리 또는 양육 비-인간 동물에 배아의 이식과 임신은 파괴된 생식 유전자를 포함하는 내인성 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물뿐만 아니라 생식 유전자에 파괴를 포함하지 않는 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물을 포함하는 자식을 생산한다. 파괴되지 않은 생식 유전자를 포함하는 동족 비-인간 동물과 번식될 때, 파괴된 생식 유전자를 포함하는 내인성 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물은 손상되거나 억제된 생식능력을 가질 것이며 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물은 정상적이거나 손상되지 않은 생식능력을 가질 것이어서, 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 제 1 한배 자식의 생산을 강화시킨다.

[0007] 따라서, 한 양태에서, 본 발명은 생식 계열에 파괴된 생식 유전자를 포함하거나 필수적으로 이루어진 선-이식 비-인간 숙주 배아를 제공한다. 파괴된 생식 유전자는 임의의 염색체 상에 있을 수 있고 일부 실시태양에서, 생식 유전자는 성 염색체(예를 들어, X 또는 Y 염색체) 상에 위치된다. 특정 실시태양에서, 생식 유전자는 X 염색체 상에 위치된다. 생식 유전자의 파괴는 이형 접합 또는 동형 접합일 수 있으며 특정 실시태양에서, 생식 유전

자의 대립 형질 유전자는 파괴된다. 적절하게는, 생식 유전자의 파괴는 수컷 생식능력을 억제하며 이런 형태의 예시적 실시예에서, 파괴는 정자 기능 또는 정자 형성 과정을 억제한다. 특정 실시태양에서, 생식 유전자는 *GILZ*이다.

- [0008] 관련 양태에서, 본 발명은 파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 도너 만능 세포를 더 포함하는 상계하게 기술된 선-이식 비-인간 숙주 배아를 제공한다. 일부 실시태양에서, 도너 만능 세포는 (예를 들어, 배아 줄기(ES) 세포, 상배엽, 배아 생식 세포, 유도된 만능 줄기 세포, 유전자 변형 ES 세포, 유전자 변형 상배엽 줄기 세포, 유전자 변형 배아 생식(EG) 세포, 유전자 변형 유도 만능 줄기(IPS) 세포 또는 이들의 임의의 둘 이상의 조합으로부터 선택된) 줄기 세포이다. 적절하게는, 만능 세포는 유전자 변형을 포함한다. 특정 실시태양에서, 도너 만능 세포는 수컷 만능 세포이다.
- [0009] 본 발명의 다른 양태는 위에서 대략 정의하고 본 발명의 다른 곳에서 정의한 대로 파괴된 생식 유전자를 포함하는 비-인간 숙주 배아 및 파괴가 없는 생식 유전자를 포함하는 도너 만능 세포를 제공한다. 일부 실시태양에서, 도너 만능 세포는 유전자 변형을 적절하게 포함하는 줄기 세포(예를 들어, ES 세포)이다. 도너 만능 세포는 적절하게는 수컷 만능 세포이다.
- [0010] 본 발명의 또 다른 양태에서, 비-인간 동물을 생산하는 방법이 제공된다. 이런 방법은 일반적으로 위에서 대략 정의하고 본 발명의 다른 곳에서 정의한 대로 선-이식 비-인간 숙주 배아를 가임신 비-인간 동물 속에 주입하는 단계 및 배아의 발달에 적합한 조건하에서 선-이식 비-인간 숙주 배아를 임신시켜 비-인간 동물을 생산하는 단계를 포함하거나 필수적으로 이루어진다.
- [0011] 관련 양태에서, 본 발명은 이런 방법으로부터 얻은 비-인간 동물을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 또 다른 양태는 위에서 대략 정의하고 본 발명의 다른 곳에서 정의한 대로 비-인간 숙주 배아를 포함하거나 필수적으로 이루어진 대리 또는 양육 비-인간 동물을 제공한다.
- [0013] 본 발명의 다른 양태에서, 키메라 비-인간 동물을 생산하는 방법이 제공된다. 이런 방법은 일반적으로 위에서 대략 정의하고 본 발명의 다른 곳에서 정의한 대로 선-이식 비-인간 숙주 배아를 가임신 비-인간 동물 속에 주입하고 배아의 발달에 적합한 조건하에서 선-이식 비-인간 숙주 배아를 임신시키는 단계를 포함하거나 필수적으로 이루어져서, 키메라 비-인간 동물을 생산한다.
- [0014] 관련 양태에서, 본 발명은 이런 방법으로부터 얻은 키메라 비-인간 동물을 제공한다.
- [0015] 본 발명의 또 다른 양태는 파괴된 생식 유전자를 가진 비-인간 숙주 배아를 생산하기 위한 방법을 제공한다. 이런 방법은 일반적으로 1) 파괴가능한 생식 유전자를 가진 제 1 동물 품종을 2) 파괴가능한 생식 유전자를 파괴하는 유전자를 포함하는 불임-활성화 형질전환유전자를 가진 제 2 동물 품종과 교배하는 단계를 포함하거나 필수적으로 이루어져서, 파괴된 생식 유전자를 가진 생식 세포를 포함하는 형질전환 비-인간 숙주 배아를 생성한다. 일부 실시태양에서, 제 1 동물 품종의 암컷 멤버는 제 2 동물 품종의 수컷 멤버와 교배된다. 본 발명에 사용된 대로, 제 1 및 제 2 동물 품종의 각 멤버는 비-인간 동물의 번식 쌍의 번식 파트너이다.
- [0016] 또 다른 양태에서, 본 발명은 (1) 생식 유전자 파괴자 분자에 의해 파괴가능한, 위에서 대략 정의하고 본 발명의 다른 곳에서 정의한 대로 프로모터에 작동가능하게 연결된 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 파괴가능한 생식 형질전환유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너 및 (2) 생식 유전자 파괴자 분자를 암호화하는 프로모터에 작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열("파괴자 뉴클레오티드 서열")을 포함하는 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함하는 비-인간 동물의 번식 쌍을 제공한다. 일부 실시태양에서, 생식 유전자 파괴자 분자는 재조합효소이며 파괴가능한 생식 유전자는 재조합효소의 존재하에서 파괴가능한 생식 유전자의 파괴를 매개하는 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된다. 다른 실시태양에서, 생식 유전자 파괴자 분자는 적절하게는 안티센스 억제 또는 RNA 간섭에 의해, 파괴가능한 생식 유전자의 발현을 억제하는 억제성 RNA 분자이다. 또 다른 실시태양에서, 생식 유전자 파괴자 분자는 파괴가능한 생식 유전자의 폴리펩타이드 생성물과 면역-상호작용하는 항체이다.
- [0017] 일부 실시태양에서, 파괴자 뉴클레오티드 서열은 조건적으로 발현가능하며 이런 형태의 예시적 실시예에서, 파괴자 형질전환유전자는 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현-조절 요소를 포함하며, 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 조건적으로 억제한다. 예를 들어, 발현-조절 요소는 제 1 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 억제할 수 있고 발현-조절 요소의 파괴는 제 2 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 허용할 수 있거나 강화할 수 있다. 일부 실시태양에서, 발현-조절 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 억제하고 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 억제자 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 전

사 종결자)을 포함하며, 재조합효소 인식 위치는 재조합효소의 존재하에서 억제자 뉴클레오티드 서열의 파괴를 매개한다. 이런 형태의 예시적 실시예에서, 제 1 번식 파트너는 프로모터에 작동가능하게 연결된 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는, 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 자극하거나 강화하는 활성화 형질전환유전자를 포함한다.

- [0018] 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다.
- [0019] 적절하게는, 제 1 번식 파트너는 활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합 및/또는 제 2 번식 파트너는 파괴자 형질전환유전자에 대해 동형 접합이다.
- [0020] 관련 양태에서, 본 발명은 (1) 프로모터에 작동가능하게 연결되고 재조합효소의 존재하에서 생식 유전자의 파괴를 매개하는 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 파괴가능한 형질전환유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너 및 (2) 프로모터에 작동가능하게 연결된, 재조합효소를 포함하는 생식 유전자 파괴자 분자를 암호화하는 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함하는 비-인간 동물의 번식 쌍을 제공한다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다.
- [0021] 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 파괴가능한 형질전환유전자에 대해 동형 접합 및/또는 제 2 번식 파트너는 파괴자 형질전환유전자에 대해 동형 접합이다.
- [0022] 일부 실시태양에서, 비-인간 동물의 번식 쌍은 (1) 프로모터에 작동가능하게 연결되고 제 1 재조합효소의 존재하에서 파괴가능한 생식 유전자의 파괴를 매개하는 제 1 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 제 1 파괴가능한 형질전환유전자 및 프로모터에 작동가능하게 연결된, 제 2 재조합효소 인식 위치를 특이적으로 인식하는 제 2 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 제 1 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너, 및 (2) 프로모터에 작동가능하게 연결되고 제 2 재조합효소의 존재하에서 파괴가능한 생식 유전자의 파괴를 매개하는 제 2 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 제 2 파괴가능한 형질전환유전자 및 프로모터에 작동가능하게 연결된, 제 1 재조합효소 인식 위치를 특이적으로 인식하는 제 1 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 제 2 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함한다. 적절하게는, 제 1 번식 파트너는 제 1 파괴가능한 및 제 1 파괴자 형질전환유전자에 대해 동형 접합 및/또는 제 2 번식 파트너는 제 2 파괴가능한 및 제 2 파괴자 형질전환유전자에 대해 동형 접합이다.
- [0023] 다른 관련 양태에서, 본 발명은 (1) 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너; 및 (2) 프로모터에 작동가능하게 연결되고, 파괴가능한 생식 유전자의 발현을 억제하는 억제성 RNA 분자(예를 들어, 안티센스 RNA, siRNA, shRNA 등)를 암호화하는 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함하는 비-인간 동물의 번식 쌍을 제공한다. 일부 실시태양에서, 파괴자 뉴클레오티드 서열은 조건적으로 발현가능하며 이런 형태의 예시적 실시예에서, 파괴자 형질전환유전자는 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현-조절 요소를 포함하며, 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 조건적으로 억제한다. 예를 들어, 발현-조절 요소는 제 1 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 억제할 수 있고 발현-조절 요소의 파괴는 제 2 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 허용 또는 강화할 수 있다. 일부 실시태양에서, 발현-조절 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 억제하고 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 억제자 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 전사 종결자)를 포함하며, 재조합효소 인식 위치는 재조합효소의 존재하에서 억제자 뉴클레오티드 서열의 파괴를 매개한다. 이런 형태의 예시적 실시예에서, 제 2 번식 파트너는 프로모터에 작동가능하게 연결된, 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 활성화 형질전환유전자를 포함한다. 제 2 번식 파트너의 파괴가능한 생식 유전자는 적절하게는 야생형 유전자이다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다.
- [0024] 따라서, 일부 실시태양에서, 비-인간 동물의 번식 쌍은 (1) 프로모터에 작동가능하게 연결된 파괴가능한 생식 유전자 및 프로모터에 작동가능하게 연결된 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 활성화 형질전환유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너; 및 (2) 파괴가능한 생식 유전자의 발현을 억제하는 억제성 RNA 분자(예를 들어, 안티센스 RNA, siRNA, shRNA 등)를 암호화하는 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함하며, 파괴자 뉴클레오티드 서열은 프로모터에 작동가능하게 연결되며 재조합효소의 부존재하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 억제하며 재조합효소의 존재하에서 억제자 뉴클레오티드 서열의 파괴를 매개하는 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 억제자 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 전사 종결자)을 포함하는 발현-조절 요소에 작동가능하게 연결된다. 적절하게는, 제 1 번식 파트너는 활성화 형

질전환유전자에 대해 동형 접합 및/또는 제 2 번식 파트너는 파괴자 형질전환유전자에 대해 동형 접합이다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다.

[0025] 또 다른 관련 양태에서, 본 발명은 (1) 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너; 및 (2) 파괴가능한 생식 유전자의 폴리펩타이드 생성물과 면역-상호작용하는 항체를 암호화하며 프로모터에 작동가능하게 연결된 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함하는 비-인간 동물의 번식 쌍을 제공한다. 일부 실시태양에서, 파괴자 뉴클레오티드 서열은 조건적으로 발현가능하며 이런 형태의 예시적 실시예에서, 파괴자 형질전환유전자는 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현-조절 요소를 포함하며, 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 조건적으로 억제한다. 예를 들어, 발현-조절 요소는 제 1 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 억제할 수 있고 발현-조절 요소의 파괴는 제 2 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 허용 또는 강화할 수 있다. 일부 실시태양에서, 발현-조절 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 억제하고 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 억제자 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 전사 종결자)를 포함하며, 재조합효소 인식 위치는 재조합효소의 존재하에서 억제자 뉴클레오티드 서열의 파괴를 매개한다. 이런 형태의 예시적 실시예에서, 제 1 번식 파트너는 프로모터에 작동가능하게 연결된, 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 활성화 형질전환유전자를 포함한다. 제 2 번식 파트너의 파괴가능한 생식 유전자는 적절하게는 야생형 유전자이다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다.

[0026] 따라서, 일부 실시태양에서, 비-인간 동물의 번식 쌍은 (1) 프로모터에 작동가능하게 연결된 파괴가능한 생식 유전자 및 프로모터에 작동가능하게 연결된 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 활성화 형질전환유전자를 포함하는 제 1 번식 파트너; 및 (2) 생식 유전자의 폴리펩타이드 생성물과 면역-상호작용하는 항체를 암호화하는 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 파괴자 형질전환유전자를 포함하는 제 2 번식 파트너를 포함하며, 파괴자 뉴클레오티드 서열은 프로모터에 작동가능하게 연결되며 재조합효소의 부존재하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 억제하며 재조합효소의 존재하에서 억제자 뉴클레오티드 서열의 파괴를 매개하는 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 억제자 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 전사 종결자)을 포함하는 발현-조절 요소에 작동가능하게 연결된다. 적절하게는, 제 1 번식 파트너는 활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합 및/또는 제 2 번식 파트너는 파괴자 형질전환유전자에 대해 동형 접합이다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다.

[0027] 다른 양태에서, 본 발명은 파괴된 생식 유전자를 포함하는 비-인간 숙주 배아를 생산하는 방법을 제공한다. 이 방법은 일반적으로 위에서 대략 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 (a) 비-인간 동물의 번식 쌍의 제 1 번식 파트너를 번식 쌍의 제 2 번식 파트너와 짝짓기하는 단계; 및 (b) 배아가 생식 계열에 생식 유전자의 파괴를 포함하는 번식 쌍의 암컷 일원으로부터 선-이식 비-인간 숙주 배아를 생산하는 단계를 포함하거나 필수적으로 이루어진다. 일부 실시태양에서, 상기 방법은 선-이식 비-인간 숙주 배아의 형성을 허용하는 조건하에서 비-인간 숙주 배아를 배양하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 암컷이고 제 2 번식 파트너는 수컷이다. 일부 실시태양에서, 상기 방법은 예로서 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로, 선-이식 비-인간 숙주 배아 속에 도너 만능 세포를 주입하는 단계를 더 포함한다. 적절하게는, 만능 세포는 유전자 변형을 포함한다. 특정 실시태양에서, 만능 세포는 수컷 만능 세포이다.

[0028] 관련 양태에서, 본 발명은 상기 방법으로부터 얻은 비-인간 숙주 배아를 제공한다.

[0029] 또 다른 양태에서, 본 발명은 키메라 비-인간 동물을 생산하는 방법을 제공한다. 이런 방법은 일반적으로 (1) 예로서 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 생식 계열에 생식 유전자의 파괴를 포함하며 예로서 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 이형 만능 세포를 더 포함하는 선-이식 비-인간 배아를 이식하는 단계; 및 (2) 배아의 발달에 적합한 조건하에서 (1)의 비-인간 숙주 배아를 임신시켜, 생식 계열에 파괴된 생식 유전자 및 유전자 변형을 가진 키메라 비-인간 동물을 생산하는 단계를 포함하거나 필수적으로 이루어진다. 적절하게는, 키메라 비-인간 동물은 수컷 키메라 비-인간 동물이다.

[0030] 관련 양태에서, 본 발명은 이런 방법으로부터 얻은 키메라 비-인간 동물을 제공한다.

[0031] 본 발명의 또 다른 양태는 계놈에 유전자 변형을 포함하는 비-인간 동물을 생산하는 방법을 제공한다. 이런 방법은 일반적으로 (1) 예로서 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 생식 계열에 생식 유전자의 파괴를 포함하며 예로서 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 이형 만능 세포를 더 포함하는 선-이식 비-인간 배아를 이식하는 단계; (2) 배아의 발달에 적합한 조건하에서 (1)의 비-인간 숙주 배아를 임신시켜, 생식 계열에 파괴된 생식 유전자 및 유전자 변형을 가진 키메라 비-인간 동물을 포함하는 한배 새끼를 생산

하는 단계; (3) 한배 새끼로부터의 수컷 키메라 비-인간 동물을 게놈에 파괴 없는 생식 유전자를 포함하는 동족 암컷 비-인간 동물과 번식하여 수컷 키메라 비-인간 동물이 이형 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함할 때 유전자 변형을 포함하는 비-인간 동물을 생산하는 단계를 포함하거나 필수적으로 이루어진다.

[0032] 관련 양태에서, 본 발명은 상기 방법으로부터 얻은 유전자 변형을 포함하는 비-인간 동물을 제공한다.

[0033] 다른 양태에서, 본 발명은 대략 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 그 안에 이식된 선이식 비-인간 숙주 배아를 가진 비-인간 동물(예를 들어, 대리 또는 양육 비-인간 동물)을 제공한다.

[0034] 본 발명의 다른 양태는 대략 위에서 기술하고 본 발명의 다른 곳에서 기술한 대로 선-이식 비-인간 숙주 배아로부터 유래된 키메라 비-인간 동물을 제공한다.

### 발명의 효과

[0035] 본 발명의 내용 중에 포함되어 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 Tsc22d3 조건적 낙아웃 표적 벡터의 개략적 설명이다. 블루 박스: 엑손; neo: ES 세포에서 선택을 위한 네오마이신 카세트; FRT: flp 재조합효소 매개 neo 제거를 위한 인식 서열; loxP: cre 재조합효소 매개 엑손 결실에 대한 인식 서열; amp: 앰피실린 저항 유전자; ori: 복제 기원.

도 2는 표적화된 ROSA26 대립형질 유전자 변형체 A를 도시하는 개략적 도면이다. Ubic: 인간 유니퀴틴 프로모터; neo: ES 세포에서 선택을 위한 네오마이신 카세트; cre: Cre 재조합효소; STOP: 전사/번역 '정지' 요소; loxP: Cre 재조합효소 매개 STOP 결실에 대한 인식 서열; pA: 폴리아데닐화 신호; 파괴자 요소: 생식 유전자의 발현 또는 단백질 생성물의 기능을 파괴하는 임의의 요소(예를 들어, shRNA, 항체).

도 3은 표적화된 ROSA26 대립형질 유전자 변형체 B를 도시하는 개략적 도면이다. Ubic: 인간 유니퀴틴 프로모터; neo: ES 세포에서 선택을 위한 네오마이신 카세트; cre: Cre 재조합효소; STOP: 전사/번역 '정지' 요소; loxP: Cre 재조합효소 매개 STOP 결실에 대한 인식 서열; pA: 폴리아데닐화 신호; 파괴자 요소: 생식 유전자의 발현 또는 단백질 생성물의 기능을 파괴하는 임의의 요소(예를 들어, shRNA, 항체).

도 4는 새끼에서 표적화된 ROSA26 대립형질 유전자 변형체 A를 도시하는 개략적 도면이다. Ubic: 인간 유니퀴틴 프로모터; neo: ES 세포에서 선택을 위한 네오마이신 카세트; cre: Cre 재조합효소; STOP: 전사/번역 '정지' 요소; loxP: Cre 재조합효소 매개 STOP 결실에 대한 인식 서열; pA: 폴리아데닐화 신호; 파괴자 요소: 생식 유전자의 발현 또는 단백질 생성물의 기능을 파괴하는 임의의 요소(예를 들어, shRNA, 항체).

도 5는 본 발명의 방법의 실시태양에 의해 생산된 제 1-한배 새끼의 비-제한적인 예를 도시하는 사진 도면이다. 이 도면에 도시된 새끼는 두 키메라의 완전한 한배 새끼이다. 키메라는 Tsc22d3 conKO/conKO 배반포를 기초로 하여 생산되었다. 모든 새끼는 표적화된 ES 세포로부터 유래된 동물에 대해 예상되는 백색 코트 색깔을 도시한다.

도 6은 유전자형에 대한 서든-블롯 분석의 대표적 예를 도시하는 사진 도면이다. 생검 샘플이 용해되고 BamHI로 분해되었다. 예상 크기는 wt 대립형질 유전자에 대해 17.5kb이며 표적화된 대립형질 유전자에 대해 9.7kb이다. A045, A046, A049, A055, A077, A078, A065, A066, A056, A057, A058, A059, A064 & A074는 wt/targeted으로 측정되었고; A047, A048, A050, A076, A080, A067, A068, A069, A060, A070 & A075는 wt/wt로 측정되었고 A054, A079 & A070은 측정되지 않았다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 1. 정의

[0038] 달리 정의하지 않는 한, 본 발명에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 가진다. 비록 본 발명에 기술된 것과 유사하거나 동일한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에서 사용될 수 있으나, 바람직한 방법과 재료가 기술된다. 본 발명을 위해서, 다음 용어는 아래에 정의된다.

[0039] 관사 "a" 및 "an"는 본 발명에서 관사의 문법적 대상의 하나 또는 하나 초과(즉 적어도 하나)를 의미한다. 예를 들어, "한 생식 유전자"는 단일 생식 유전자 또는 하나 초과(적어도 하나)의 생식 유전자를 의미한다.

- [0040] 본 발명에 사용된 "및/또는"은 관련 나열된 항목의 하나 이상의 임의의 및 모든 가능한 조합뿐만 아니라 선택적 (또는)으로 해석될 때 조합의 결여를 의미하고 포함한다.
- [0041] 용어 "항체"는 항원 결합 지역을 가진 임의의 항체-유사 분자를 의미하는데 사용되고 Fab', Fab, F(ab')<sub>2</sub>, 단일 도메인 항체(DABs), Fv, scFv(단일 사슬 Fv) 등과 같은 항체 단편을 포함한다.
- [0042] 용어 "안티센스"는 뉴클레오티드 잔기의 서열이 DNA 이중체의 센스 가닥에서 데옥시뉴클레오티드 잔기의 서열과 관련하여 5' to 3' 방향과 반대인 뉴클레오티드 서열을 의미한다. DNA 이중체의 "센스 가닥"은 자연 상태에서 세포에 의해 "센스 mRNA"로 전사되는 DNA 이중체에서 가닥을 의미한다. 따라서 "안티센스" 서열은 DNA 이중체에서 비-암호화 가닥과 동일한 서열을 가진 서열이다. 용어 "안티센스 RNA"는 표적 주요 전사체 또는 mRNA의 전부 또는 일부에 상보적이며 주요 전사체 또는 mRNA의 가공, 수송 및/또는 번역을 방해함으로써 표적 유전자의 발현을 차단하는 RNA 전사체를 의미한다. 안티센스 RNA의 상보성은 특정 유전자 전사체의 임의의 일부, 다시 말하면, 5' 비-암호화 서열, 3' 비-암호화 서열, 인트론 또는 암호화 서열에 의할 수 있다. 또한, 본 발명에 사용된 대로, 안티센스 RNA는 유전자 발현을 차단하기 위해 안티센스 RNA의 효율을 증가시키는 리보자임 서열의 지역을 함유할 수 있다. "리보자임"은 촉매적 RNA를 의미하며 서열-특이적 엔도리보뉴클레아제를 포함한다. "안티센스 억제"는 표적 단백질의 발현을 예방할 수 있는 안티센스 RNA 전사체의 생산을 의미한다.
- [0043] 본 발명에서 사용된 용어 "번식"은 수정이 발생하도록 하는 수컷 및 암컷 배우자의 결합을 의미한다. 이런 결합은 짝짓기(교미) 또는 인비트로 또는 인비보 안공 방법에 의해 발생할 수 있다. 이런 인공 방법은 인공 수정, 외과적 지원 인공 수정, 인비트로 수정, 세포질내 정자 주입, 투명대 천공, 수정된 난모세포의 인비트로 배양, 난소 전달 및 난소 분리를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0044] "세포", "숙주 세포", "변형 숙주 세포" 등은 특정 대상 세포뿐만 아니라 이런 세포의 자손 또는 잠재적 자손을 의미하는 용어이다. 특정 변형은 돌연변이 또는 환경 영향에 의해 후대에서 일어날 수 있기 때문에, 이런 자손은, 사실상, 부모 세포와 동일하지 않을 것이나 본 발명에 사용된 용어와 범위 내에 여전히 포함된다.
- [0045] 본 발명에 사용된 용어 "*cis*-작용 서열" 또는 "*cis*-조절 지역" 또는 유사 용어는 발현가능한 유전자 서열로부터 유래된 뉴클레오티드의 임의의 서열을 의미하는 것으로 이해되며 유전자 서열의 발현은 뉴클레오티드의 서열에 의해 적어도 부분적으로 조절된다. 당업자는 *cis*-조절 지역은 임의의 구조 유전자 서열의 발현의 수준 및/또는 세포-형태-특이성 및/또는 발달 특이성을 활성화, 침묵, 강화, 억제 또는 변화시킬 수 있다는 것을 알 것이다.
- [0046] "암호화 서열"에 의해, 암호화 지역 등은 유전자의 폴리펩타이드 생성물에 대한 암호에 기여하는 임의의 핵산 서열을 의미한다. 반대로, 용어 "비-암호화 서열" 및 "비-암호화 지역"은 유전자의 폴리펩타이드 생성물의 암호에 기여하지 않는 임의의 핵산 서열을 의미한다.
- [0047] 용어 "구조체"는 유전자 또는 자연 조건하에서 이런 서열 또는 단편을 결합하지 않는 종들로부터의 적어도 2개의 핵산 서열 또는 단편을 포함하는 핵산 서열 또는 단편을 의미하는데 사용되며 또는 이런 서열 또는 단편은 비변형된 숙주의 천연 게놈 또는 뉴클레옴에서 정상적으로 발생하지 않는 방식으로 위치되거나 연결된 서
- [0048] 본 발명에서 사용된 "상보적" 폴리뉴클레오티드는 표준 왓슨-크릭 상보성 규칙에 따른 염기 페어링을 통해 혼성화될 수 있는 것들이다. 구체적으로, 퓨린은 피리미딘과 염기쌍을 이루어 시토신과 쌍을 이룬 구아닌(G:C) 및 DNA의 경우 티민과 쌍을 이룬 아데닌(A:T) 또는 RNA의 경우 우라실과 쌍을 이룬 아데닌(A:U)의 조합을 형성할 것이다. 예를 들어, 서열 "A-G-T"는 상보적 서열 "T-C-A"에 결합한다. 두 폴리뉴클레오티드는, 각각이 서로에 대해 실질적으로 상보적인 적어도 하나의 지역을 갖는 한, 서로에 대해 완전하게 또는 전적으로 상보적이지 않은 경우에도 서로에 대해 혼성될 수 있다고 이해된다. 본 발명에 사용된 용어 "상보적" 또는 "상보성"은 염기 페어링에 의해 투과성 염 및 온도 조건하에서 폴리뉴클레오티드의 자연적 결합을 의미한다. 두 단일 가닥 분자 사이의 상보성은 뉴클레오티드의 단지 일부가 결합하는 "부분적"일 수 있거나 전체 상보성이 분자의 전장을 따라 또는 단일 가닥 분자의 일부 또는 지역을 따라 단일 가닥 분자들 사이에 존재할 때 완벽할 수 있다. 핵산 가닥 사이의 상보성의 정도는 핵산 가닥 사이의 혼성화의 효과 및 강도에 대한 현저한 효과를 가진다. 본 발명에 사용된 용어 "실질적으로 상보적" 또는 "부분적으로 상보적"은 두 핵산 서열은 뉴클레오티드의 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90%가 상보적인 것을 의미한다. 일부 실시태양에서, 두 핵산 서열은 뉴클레오티드의 적어도 약 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상이 상보적일 수 있다. 용어 "실질적으로 상보적" 및 "부분적으로 상보적"은 또한 두 핵산 서열이 높은 엄격성 조건하에서 혼성화될 수 있다는 것을 의미하며 이런 조건은 당업계에 공지되어 있다.
- [0049] 본 명세서를 통하여, 내용상 달리 요구되지 않는 한, 용어 "포함하다", "포함하는" 및 "포함한"은 언급된 단계,

또는 구성요소, 또는 단계 또는 구성요소의 그룹을 포함하지만, 임의의 다른 단계, 또는 구성요소, 또는 단계 또는 구성요소의 그룹을 배제하지 않는 것을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 따라서, 용어 "포함하는" 등의 사용은 기재된 구성요소가 필수적이거나 의무적이지만, 다른 구성요소는 선택적이고 존재하거나 존재하지 않을 수 있다는 것을 나타낸다. 용어 "구성되는"은 상기 "구성되는"이라는 표현 뒤의 것만을 포함하고 그것으로 제한하는 것을 의미한다. 따라서, 표현 "구성되는"은 기재된 구성요소가 필수적이거나 의무적이고 다른 구성요소가 존재하지 않는다는 것을 나타낸다. 용어 "필수적으로 구성되는"은 상기 표현 뒤에 기재된 임의의 구성요소를 포함하고, 기재된 구성요소에 대한 설명에서 구체화된 활성 또는 작용에 대해 방해하거나 기여하지 않는 다른 구성요소로 제한된다는 것을 의미한다. 따라서, 용어 "필수적으로 구성되는"은 기재된 구성요소가 필수적이거나 의무적이지만, 다른 구성요소가 선택적이고, 그들이 기재된 구성요소의 활성 또는 작용에 영향을 미치지거나 미치지 않는지에 따라 존재하거나 존재하지 않을 수 있다는 것을 의미한다.

[0050] "항시성 프로모터"는 유기체의 여러 또는 모든 조직에서 작동가능하게 연결된 전사가가능한 서열의 발현을 이끄는 프로모터를 의미한다.

[0051] 용어 "구조체"는 다른 소스로부터의 하나 이상의 분리된 핵산 서열을 포함하는 재조합 유전자 분자를 의미한다. 본 발명에 사용된 용어 "발현 구조체", "재조합 구조체" 또는 "재조합 DNA 구조체"는 하나 이상의 핵산 분자가 작동가능하게 연결된 핵산 분자를 포함하는, 계놈 통합 또는 자동 복제 가능한, 임의의 소스로부터 유래된, 플라스미드, 코스미드, 바이러스, 자동 복제 폴리뉴클레오티드 분자, 파아지 또는 선형 또는 원형 단일 가닥 또는 이중 가닥 DNA 또는 RNA 핵산 분자와 같은 임의의 재조합 핵산 분자를 의미한다. "발현 구조체"는 일반적으로 관심 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 적어도 하나의 제어 서열을 포함한다. 이런 방식으로, 예를 들어, 발현될 뉴클레오티드 서열과 작동가능하게 연결된 식물 프로모터는 식물, 식물 일부, 식물 기관 및/또는 식물 세포에서 발현을 위한 발현 구조체에 제공된다. 전사가가능한 폴리뉴클레오티드분자가 번역되어 단백질 생성물로서 발현되는 기능성 mRNA 분자로 전사되는 방식으로 구조체를 세포 속에 주입하는 방법이 공지되어 있다. 구조체는 또한, 예를 들어, 관심 특정 RNA 분자의 번역을 억제하기 위해서, 억제성 RNA 분자를 발현할 수 있도록 만들어질 수 있다. 본 발명의 실시를 위해서, 구조체 및 숙주 세포를 제조하고 사용하기 위한 통상적인 조성물 및 방법은 당업자에게 주지되어 있고, 예를 들어, Molecular Cloning : A Laboratory Manual, 3.sup.rd edition Volumes 1, 2, and 3. 3. F. Sambrook, D. W. Russell, and N. Irwin, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000 참조.

[0052] "제어 요소" 또는 "제어 서열"은 작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열의 발현(예를 들어, 관련된 암호화 서열의 전사, RNA 처리 또는 안정성 또는 번역)에 영향을 미치는 핵산 서열(예를 들어, DNA)을 의미한다. 조절 서열은 인핸서, 프로모터, 번역 리더 서열, 인트론 및 폴리아데닐화 신호 서열을 포함한다. 제어 요소 또는 제어 서열은 암호화 서열의 상류(5' 비-암호화 서열), 내부, 또는 하류(3' 비-암호화 서열)에 위치될 수 있다. 이들은 천연 및 합성 서열뿐만 아니라 합성 및 천연 서열의 조합일 수 있는 서열을 포함한다. 예를 들어, 원핵 세포에서 작동가능하게 연결된 뉴클레오티드 서열의 발현에 적합한 제어 서열은, 예를 들어, 프로모터 및 선택적으로 작동자 서열과 리보솜 결합 위치와 같은 *cis*-작용 서열을 포함한다. 진핵 세포에 적합한 제어 서열은 프로모터, 폴리아데닐화 신호, 전사 인핸서와 같은 전사 제어 서열, 번역 인핸서와 같은 번역 제어 서열 및 내부 리보솜 결합 위치(IRES), RNA 안정성을 조절하는 핵산 서열뿐만 아니라 세포 내의 세포내 구획 또는 세포외 환경에 대해 전사된 폴리뉴클레오티드에 의해 암호화된 생성물을 표적으로 하는 표적 서열을 포함한다. 대표적 제어 서열은 천연 및 합성 서열뿐만 아니라 합성 및 천연 서열의 조합일 수 있는 서열을 포함한다.

[0053] "상응한다" 또는 "상응하는"은 참조 핵산 서열에 대해 상당한 서열 동일성(참조 핵산 서열의 전부 또는 일부에 대해 적어도 약 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 97, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% 또는 100%까지의 서열 동일성)을 나타내는 핵산 서열 또는 참조 아미노산 서열에 대해 상당한 서열 유사성 또는 동일성(참조 아미노산 서열의 전부 또는 일부에 대해 적어도 약 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 97, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% 또는 100%까지의 서열 유사성 또는 동일성)을 나타내는 아미노산 서열을 의미한다.

[0054] 용어 "배양", "배양된" 및 "배양하는"은 본 발명에서 교환적으로 사용되어 배아 또는 만능 세포가 인비트로 성장되는 과정을 의미한다.

[0055] 핵산에 대해 적용된 용어 "파괴" 및 "파괴된"은 본 발명에서 교환적으로 사용되어 핵산 또는 이의 발현 생성물

의 발현 및/또는 기능적 활성을 감소 또는 제거하는 임의의 유전자 변형을 의미한다. 예를 들어, 유전자의 파괴는 유전자의 발현 및/또는 상응하는 유전자 생성물(예를 들어, mRNA 및/또는 단백질)의 기능적 활성을 감소 또는 제거하는 임의의 유전자 변형의 범위 내에 포함된다. 유전자 변형은 핵산(예를 들어, 유전자)의 완전 또는 부분 불활성화, 억제, 결실, 방해, 봉쇄 또는 하강 조절을 포함한다. 예시적 유전자 변형은 유전자 낙아웃, 불활성화, 돌연변이(예를 들어, 유전자 생성물의 발현 또는 활성을 파괴하는 삽입, 결실, 점 또는 프레임시프트 돌연변이) 또는 억제성 핵산(예를 들어, 센스 또는 안티센스 RNA와 같은 억제성 RNA, siRNA, shRNA, miRNA과 같은 RNA 간섭을 매개하는 분자; 등), 억제성 폴리펩타이드(예를 들어, 항체, 폴리펩타이드-결합 파트너, 우성 음성(dominant negative) 폴리펩타이드, 효소 등) 또는 생식 유전자의 활성 또는 생식 유전자의 발현 생성물의 수준 또는 기능적 활성을 억제하는 임의의 다른 분자의 사용을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

- [0056] "우성 음성"은 세포가 이형 접합일 때에도 동일한 세포 내의 야생형 유전자 생성물과 공동 발현될 때 정상적인, 야생형 유전자 생성물의 기능에 나쁘게 영향을 미치고, 차단하거나 폐지하는 유전자 생성물을 의미한다(야생형 및 우성 음성). 소극성 우성 돌연변이의 발현은 일반적으로 야생형 유전자 생성물의 정상적인 기능의 감소를 초래한다.
- [0057] 본 발명에 사용된 "초기 상태 배아"는 난모 세포의 수정(즉, 수정된 난모 세포)에 의해 시작하고, 2-세포 단계, 4-세포 단계, 8-세포 단계 및 상실배(16 내지 32-세포 단계 배아)를 통해 연장되는 모든 배아 발달 단계를 포함한다. 본 발명에서 정의한 대로, 초기 단계 배아는 발달의 포배 단계를 포함하지 않는다. "포배"는 할강이라 불리는 공동을 둘러싸는 세포의 속이 빈 공의 발달을 특징으로 하는 배아 발달 단계를 의미한다. 당업자는 포배의 전체 기관이 유기체에 따라 변할 것을 알 것이다. 예를 들어, "배반포"는 외부 영양막 세포 및 내부 세포 덩어리로 만들어진 세포의 속이 빈 공을 특징으로 하는 분열 단계 포유류 배아를 의미한다.
- [0058] 용어 "배아 줄기 세포" 및 ES 세포는 교환적으로 사용되어 생식 세포를 포함하는 배아 또는 성인에서 여러 분화된 세포 형태를 생성할 수 있는 세포를 의미한다. ES 세포는 이런 세포가 퇴행성(anaplasticity)(전능성)을 유지하면서 증식할 수 있다는 것을 특징으로 하는 초기 배아-유래 배양 세포를 포함한다. 일반적으로, 배아 줄기 세포는 동물의 초기 배아에서 배반포 내부에 존재하는, 미분화 줄기 세포인 내부 세포 덩어리의 세포를 배양함으로써 확립되는 세포주이며, 따라서 세포는 미분화 상태를 유지하면서 증식할 수 있다.
- [0059] EG 세포로도 불리는 본 발명에 사용된 용어 "배아 생식 세포"는 원시 생식 세포로부터 유래된 배양 세포를 의미하며, 상기 배아 줄기 세포의 능력과 거의 동일한 능력을 가지는 것을 특징으로 한다. 배아 생식 세포는 수정 후 수일 내지 수주된 배아(예를 들어, 생쥐의 경우, 대략 8.5일 된 배아)로부터 얻은 원시 생식 세포를 배양함으로써 확립되는 세포주이며, 따라서 세포는 미분화 상태를 유지하면서 증식할 수 있다.
- [0060] 본 발명에 사용된 용어 "암호화하다", "암호화하는" 등은 다른 핵산 또는 폴리펩타이드를 제공하는 핵산의 능력을 의미한다. 예를 들어, 핵산 서열은 전사 및/또는 번역되어 폴리펩타이드를 생산할 수 있고 전사 및/또는 번역되어 폴리펩타이드를 생산할 수 있는 형태로 처리될 수 있는 경우 폴리펩타이드를 "암호화한다"고 말한다. 이런 핵산 서열은 암호화 서열 또는 암호화 서열 및 비-암호화 서열 모두를 포함할 수 있다. 따라서, 용어 "암호화하다", "암호화하는" 등은 DNA 분자의 전사로부터 얻은 RNA 생성물, RNA 분자의 번역으로부터 얻은 단백질, RNA 생성물을 얻기 위한 DNA 분자의 전사 및 RNA 생성물의 후속 번역으로부터 얻은 단백질 또는 RNA 생성물을 제공하기 위한 DNA 분자의 전사, 처리된 RNA 생성물(예를 들어, mRNA)을 제공하기 위한 RNA 생성물의 처리 및 처리된 RNA 생성물의 후속 번역으로부터 얻은 단백질을 포함한다.
- [0061] 본 발명에 사용된 "멸종 위기 포유류"는 숫자가 적어서 멸종될 위기에 처하거나 환경 또는 포식 변수의 변화에 따라 위협해진, 코끼리, 희색 늑대를 포함하는 대형 고양이 및 비-인간 영장류, 줄무늬토끼왈라비, 재규어, 아시아 코끼리, 사이가산양 및 북부흰코뿔소(*Ceratotherium simum cottoni*)와 같은 포유류의 집단에 속한다.
- [0062] 핵산 또는 단백질의 내용에서 용어 "내인성"은 숙주 유기체 또는 숙주 세포에서 정상적으로 발견되는 핵산 서열 또는 단편 또는 아미노산 서열 또는 단편을 의미한다.
- [0063] 본 발명에서 사용된 용어 "내인성 배우자" 및 "내인성 생식 세포"는 숙주 배아"로부터 기원하거나 생산된" 배우자 및 생식 세포를 의미하며 도너 만능 세포로부터 유래된 숙주 배아에서 배우자 및 생식 세포를 배제한다.
- [0064] 유전자 서열에 대한 용어 "발현"은 유전자의 전사 및 적절한 경우, 얻은 mRNA 전사체의 단백질로의 번역을 의미한다. 따라서, 내용으로부터 명백해질 것과 같이, 암호화 서열의 발현은 암호화 서열의 전사 및 번역으로부터 발생된다. 반대로, 비-암호화 서열의 발현은 비-암호화 서열의 전사로부터 발생된다.
- [0065] 본 발명에 사용된 "생식 유전자"는 자손을 생산하거나 임신 능력에 관여하는 유전자를 의미한다. 따라서, 생식

유전자의 파괴는 비-인간 동물의 임신 능력 또는 자손 생산 능력을 감소, 손상 또는 폐지하여, 불임에 이르게 할 수 있다. 초래된 불임은 수컷 또는 암컷에 존재할 수 있다. 불임의 비-제한적인 예는 무정자증; 불완전 정자형성과 관련된 유전 질환(예를 들어, 클라인펠터 증후군 및 성선형성부전증); 희소정자증, 정계정맥류, 및 적은 정자수, 정자 활동성 및 정자 모양을 포함하나 이에 제한되지 않는 손상된 정자 기능과 관련된 다른 정자 질환; 및 난소 이상(예를 들어, 다낭난소증후군(PCOS) 또는 만성 무배란)을 포함한다. 본 발명에서 사용된 것과 같이, (예를 들어, 파괴자 분자에 의해) 파괴가능한 생식 유전자는 "파괴가능한 생식 유전자"로 불린다.

- [0066] 본 발명의 표적 구조체에서 둘 이상의 뉴클레오티드 서열 사이의 관계에 적용될 때 용어 "플랭킹 된", "플랭킹" 등은 이런 뉴클레오티드 서열의 하나가 다른 뉴클레오티드 서열에 바로 인접하게 위치될 필요로 하지 않는다. 예를 들어, 3개의 참조 뉴클레오티드 서열(A, B 및 C)은, 참조 서열 B가 이런 위치에 바로 인접하지 않는 경우에도, 재조합 표적 위치 서열에 의해 플랭킹될 수 있거나 재조합 표적 위치 서열은 이런 참조 서열에 의해 플랭킹될 수 있다. 따라서, 용어 "플랭킹 된"은 재조합 위치 "사이에" 있는 것과 동일하며 용어 "플랭킹"은 참조 서열의 상류 또는 하류가 되는 재조합 위치와 동일하다.
- [0067] "기능성 유전자"는 정의가능한 기능을 실행하는 유전자 생성물을 생산하는 유전자를 의미한다. 특정 실시태양에서, 기능성 유전자는 내인성 유전자이다.
- [0068] 용어 "배우자" 및 "배우자들"은 서로 교환적으로 사용되고 난모 세포, 난자, 정충 및 정자를 포함하는 2차 생식 세포를 의미한다.
- [0069] 본 발명에서 사용된 용어 "유전자"는 mRNA, 안티센스 RNA, siRNA, shRNA, miRNA 등을 생산하는데 사용될 수 있는 핵산 분자를 의미한다. 유전자는 기능성 단백질을 생산하는데 사용될 수 있거나 없다. 유전자는 암호화 및 비-암호화 지역(예를 들어, 인트론, 조절 요소, 프로모터, 인핸서, 종결 서열 및 5' 및 3' 미번역 지역)을 포함할 수 있다.
- [0070] 용어 "유전자 변형"은 새로운 핵산(즉, 세포에 대해 외인성인 핵산)의 주입 이후 세포에서 유도된 영구적 또는 일시적 유전자 변화를 의미한다. 유전자 변화("변형")는 숙주 세포의 게놈 속으로 새로운 핵산의 포함 또는 염색체의 요소로서 새로운 핵산의 일시적 또는 안정적 유지에 의해 성취될 수 있다. 세포가 진핵세포인 경우, 영구적 유전자 변화는 세포의 게놈 속에 핵산의 주입에 의해 성취될 수 있다. 유전자 변형은 이의 범위 내에 낙-인 및 낙-아웃 유전자 변화를 포함한다.
- [0071] 용어 "생식 세포", "생식 세포들" 및 "생식 계열"은 서로 교환적으로 사용되며 배우자를 발생시키는 세포를 의미한다. 이런 용어는 원시 생식 세포, 알칼리성 포스파타제에 양성인 세포, 1차 난모 세포, 난원 세포, 정조줄기세포, 정원세포 및 1차 정자 세포를 포함한다.
- [0072] 용어 "이형"은 특정 유기체, 조직 또는 세포 내에서부터 기원하지 않는 대상(예를 들어, 핵산 분자, 폴리펩타이드, 세포, 조직 등)을 의미한다. 예를 들어, "이형 만능 세포"를 포함하는 "이형 세포"는 유기체 또는 유기체의 조직에서 정상적으로 또는 자연적으로 발견되지 않는 세포를 의미한다.
- [0073] 용어 "이형 폴리뉴클레오티드" "외래 폴리뉴클레오티드", "외인성 폴리뉴클레오티드" 등은 서로 교환적으로 사용되어 숙주 유기체의 게놈 속으로 인공적으로 주입되었거나 주입될 예정인 유전자 재료 및 그 숙주의 자손에게 전달되는 유전자 재료를 기술한다. 이중 폴리펩타이드는 주입된 폴리뉴클레오티드가 자연적으로 발생하는 폴리뉴클레오티드에 대해 일부 변형(예를 들어, 점 돌연변이, 선택가능한 마커 유전자의 존재, loxP 위치의 존재 등)을 포함하는 한 주입되거나 주입될 예정인 유기체에서 발견된 유전자 서열을 포함할 수 있다. 이형 폴리뉴클레오티드는 적절한 조건하에서 RNA로 전사될 수 있고 선택적으로 번역 및/또는 발현될 수 있는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시태양에서, 이형 폴리뉴클레오티드는 전사 또는 번역을 방해하는 분자(예를 들어, 안티센스 분자) 또는 RNA 간섭을 매개하는 분자(예를 들어, siRNA 또는 shRNA) 속에 전사된다. 일부 실시태양에서, 이형 폴리뉴클레오티드는 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 대한 암호화 서열을 포함한다. 일부 실시태양에서, 이형 폴리뉴클레오티드는 게놈 속에 유전자 변형을 도입하기 위한 표적 카세트(targeting cassette)를 포함한다.
- [0074] 용어 "이형 폴리펩타이드" "외래 폴리펩타이드", "외인성 폴리펩타이드" 등은 서로 교환적으로 사용되어 위에서 정의한 대로 "이형 폴리뉴클레오티드" "외래 폴리뉴클레오티드" 및 "외인성 폴리뉴클레오티드"에 의해 암호화된 임의의 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 의미한다.
- [0075] 용어 "숙주 세포"는 구조체 또는 본 발명의 구조체가 주입되는 세포를 의미한다. 본 발명의 숙주 세포는 박테리아, 효모, 동물(척추동물 포함), 곤충 및 식물 세포를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 숙주 세포는 단세포일 수 있거나 액체 배지, 단층 등으로서 조직 배양에서 성장될 수 있다. 숙주 세포는 또한 조직으로부터 직접 또는

간접적으로 유래될 수 있거나 동물을 포함하는 유기체 내에 존재할 수 있다. 특정 실시태양에서, 숙주 세포는 동물 숙주 세포, 특히 포유류 숙주 세포를 포함하는 척추동물 숙주 세포이다.

- [0076] "면역-상호활성"에 대한 언급은 분자들 사이의 임의의 상호작용, 반응 또는 결합의 다른 형태에 대한 언급 및 특히 분자들의 하나가 면역 시스템의 구성요소이거나 모방하는 경우에 대한 언급을 포함한다.
- [0077] 용어 "낙-인(knock-in)"은 일반적으로 동형 재조합을 통해 게놈 속으로 삽입된 이형 또는 외래 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 낙-인 폴리뉴클레오티드는 내인성, 야생형 유전자 또는 유전자 일부를 대체하는 유전자 또는 유전자 일부의 돌연변이 형태일 수 있다. 이런 돌연변이는 이형 서열의 삽입, 결실, 점 돌연변이, 프레임시프트 돌연변이 및 정상적인 유전자 발현을 예방, 파괴 또는 변화시킬 수 있는 임의의 다른 돌연변이를 포함한다. 따라서, 본 발명에 사용된 "낙-인" 동물은 이형 또는 외래 폴리뉴클레오티드가 동물의 게놈 속에 삽입되거나 동물의 게놈의 특정 유전자 또는 이의 일부가 외래 유전자 또는 DNA 서열에 의해 대체되는 유전자 변형 동물을 의미한다. "조건적 낙-인"은 이의 범위 내에 동형 재조합을 통해 게놈 속에 삽입되었고 지정된 발달 단계에서 또는 특정 환경 조건하에서 활성(예를 들어, 암호화 및/또는 비-암호화 서열을 포함하는 뉴클레오티드 서열의 전사 또는 번역, 생산의 조절)을 끌어내는 이형 또는 외래 폴리뉴클레오티드를 포함한다. "조건적 낙-인 벡터"는 동형 재조합을 통해 게놈 속에 삽입될 수 있고 지정된 발달 단계에서 또는 특정 환경 조건하에서 활성(예를 들어, 암호화 및/또는 비-암호화 서열을 포함하는 뉴클레오티드 서열의 전사 또는 번역, 생산의 조절)을 끌어낼 수 있는 이형 또는 외래 유전자 또는 이의 일부를 포함하는 벡터이다.
- [0078] "낙-아웃(knock-out)"은 유전자의 발현 생성물의 수준 또는 기능적 활성을 감소, 폐지 또는 억제하는 유전자의 불활성화 또는 파괴를 의미한다. "낙-아웃" 동물은 유전자가 파괴된 유전자 변형 동물을 의미한다. "조건적 낙-아웃"은 조직-특이적 또는 일시적-특이적 패턴에서 파괴된 유전자와 같은 특정 조건하에서 파괴되는 유전자를 의미한다. "조건적 낙-아웃 벡터"는 특정 조건하에서 파괴될 수 있는 유전자를 포함하는 벡터이다.
- [0079] "마커 유전자"는 마커 유전자를 발현하는 세포에 뚜렷한 표현형을 부여하여 이런 변형된 세포가 마커를 갖지 않는 세포와 구별되게 하는 유전자를 의미한다. 선택가능한 마커 유전자는 선택적 물질(예를 들어, 미변형된 세포에 손상을 주는 제조제, 항생제, 방사능, 열 또는 다른 처리)에 대한 저항성을 기초로 '선택할 수 있는' 형질을 제공한다. 선별가능한 마커 유전자(또는 리포터 유전자)는 관찰 또는 테스트를 통해, 즉 '스크리닝'을 통해 확인할 수 있는 형질(예를 들어, 미변형된 세포에 존재하지 않는  $\beta$ -글루쿠로니다아제, 루시페라제, 녹색 형광 단백질 또는 다른 활성)을 제공한다.
- [0080] 용어 "마이크로RNA" 또는 "miRNA"는 식물을 포함하는 다양한 종류의 진핵생물에서 발견된 작은, 비 암호화 RNA 분자를 의미한다. miRNA 전구체는 짧은 '헤어핀' RNA를 형성하는 특징적인 2차 구조를 공유한다. 용어 "miRNA"는 처리된 서열뿐만 아니라 상응하는 긴 1차 전사체(pri-miRNA) 및 처리된 전구체(pre-miRNA)를 포함한다. 유전자 및 생화학 연구는 miRNA는 다이스, RNAse III 패밀리를 포함하는 핵산 분해 효소를 통해 성숙한 형태로 처리되고, RNA-매개 간섭(RNAi) 및 관련 경로를 통해 작동하여 표적 유전자의 발현을 조절한다(Hannon, 2002, Nature 418, 244-251; Pasquinelli, et al., 2002, Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 18, 495-513). miRNA는 합성 사일런싱이 '짧은 헤어핀 RNA'(shRNA)를 유발함에 따라 세포에서 유전자 발현의 실험적 조작을 허용하도록 구성될 수 있다(Paddison et al., 2002, Cancer Cell 2, 17-23). shRNA에 의한 사일런싱은 RNAi 기작을 필요로 하고 RNAi의 신호인 작은 간섭 RNA(shRNA)의 생산과 관련이 있다.
- [0081] 본 발명에서 사용된 "자연적으로-발생하는" 핵산 분자는 자연적으로 발생하는 뉴클레오티드 서열을 가진 RNA 또는 DNA 분자를 의미한다. 예를 들어, 자연적으로-발생하는 핵산 분자는 자연적으로 발생하는 단백질을 암호화할 수 있다.
- [0082] 용어 "비-암호화 서열"은 유전자의 폴리펩타이드 생성물에 대한 암호에 기여하지 않는 임의의 핵산 서열을 의미한다.
- [0083] 용어 "비-인간 동물"은 인간을 배제한 동물이며 포유류, 새, 파충류, 양서류 및 물고기와 같은 임의의 척추동물을 포함한다. 적절한 포유류는 설치류, 비-인간 영장류, 말 같은 말과, 양, 염소, 토끼와 같은 토끼목, 개, 고양이, 소, 동물원 동물뿐만 아니라 멸종위기 또는 외래 포유류를 포함한다. 일부 실시태양에서, 비-인간 동물은 쥐와 생쥐를 포함하는 설치류 과로부터 선택된다. 특정 실시태양에서, 비-인간 동물은 생쥐이다.
- [0084] "뉴클레옴"은 전체 핵산 보체를 의미하며 게놈, 염색체의 핵산 분자 및 mRNA, 이형 핵 RNA(hnRNA), 소형 핵 RNA(snRNA), 소형 뉴클레올라 RNA(snoRNA), 소형 세포질 RNA(scRNA), 리보솜 RNA(rRNA), 번역 제어 RNA(tcRNA), 전달 RNA(tRNA), eRNA, 메신저-RNA-간섭 상보성 RNA(micRNA) 또는 간섭 RNA(iRNA), 염록체 또는

색소체 RNA(cpRNA) 및 미토콘드리아 RNA(mtRNA)와 같은 모든 RNA 분자를 포함한다.

- [0085] 용어 "작동가능하게 연결된", "작동가능하게 결합된", "작동가능한 결합", "작동가능한 연결" 등은 기능적 관계에서 폴리뉴클레오티드 요소의 결합을 의미하도록 본 발명에 사용된다. 핵산은 다른 핵산 서열과 기능적 관계에 놓일 때 "작동가능하게 결합된다". 예를 들어, 재조합효소 인식 위치가 충분히 가깝게 위치하여 숙주 세포 계놈에서 표적 카세트와 표적 위치 사이에 재조합을 촉진할 때 재조합효소 인식 위치는 표적 카세트와 작동가능하게 연결된다. 일부 실시태양에서, 재조합효소 인식 위치는 표적 카세트로부터 10 kb, 9 kb, 8 kb, 7 kb, 6 kb, 5 kb, 4 kb, 3kb, 2kb, 1kb, 900 bp, 800 bp, 700 bp, 600 bp, 500 bp, 400 bp, 300 bp, 200 bp, 100 bp, 90 bp, 80 bp, 70 bp, 60 bp, 50 bp, 40 bp, 30 bp, 20 bp 또는 10 bp 이하로 위치된다. 다른 실시태양에서, "작동가능한 연결" 등은 서열의 전사 및 선택적으로 번역을 제어하는, 프로모터의 조절 제어하에서 전사가능한 서열의 배치를 의미한다. 이형 프로모터/전사가능한 서열 조합의 제조시에, 유전자 서열 또는 프로모터를 유전자 서열 또는 프로모터와 이것이 자연적 환경에서 제어하는 유전자, 즉, 유전자 서열 또는 프로모터가 유래된 유전자 사이의 거리와 대략 동일한 유전자 전사 시작 위치로부터의 거리에 위치시키는 것이 일반적으로 바람직하다. 당업계에 공지된 것과 같이, 이 거리에 일부 변형은 기능의 손실 없이 수용될 수 있다. 유사하게, 이형 핵산 서열 또는 이의 제어하에 놓일 이형 핵산 서열이 유래된 유전자에 대한 다른 제어 요소의 바람직한 위치설정은 자연적 환경에서 요소의 위치선택에 의해 정해진다. 이런 용어는 또한 이의 범위 내에 발현-조절 요소가 사용되어 제 1 조건하에서 전사가능한 서열의 전사를 억제하고 발현-조절 요소의 파괴가 사용되어 제 2 조건하에서 전사가능한 서열의 전사를 허용 또는 강화하는 프로모터와 전사가능한 서열 사이의 작동가능한 결합 또는 연결을 포함한다.
- [0086] 본 발명에 사용된 용어 "전사 후 유전자 사일런싱"(PTGS)은 억제 메커니즘이 전사 후에 일어나는 유전자 사일런싱의 형태를 의미한다. 이것은 특이적 RNA 표적의 감소된 정상 상태 수준 또는 번역의 억제를 초래할 수 있다 (Tuschl et al., 2001, ChemBiochem 2: 239-245). 문헌에서, 용어 RNA 간섭(RNAi) 및 전사 후 공동 억제는 주로 전사 후 유전자 사일런싱을 나타내는데 사용된다.
- [0087] 용어 "만능"은 성숙한 유기체(예를 들어, 비-인간 동물)에 존재하는 여러 분화된 세포 형태로 분화하는 세포의 능력을 의미한다. 만능 세포는 전능 세포와 비교하여 분화 능력이 제한된다. 만능 세포는 ES 세포, 외배엽 줄기 세포(EpiSC 또는 epi 줄기 세포), 배아 생식(EG) 세포 및 유도 만능 줄기(iPS) 세포와 같은 생식 세포로 분화할 수 있는 줄기 세포를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 용어 "만능 세포"는 유전자 변형 만능 세포를 포함한다.
- [0088] 본 발명에서 사용된 용어 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 mRNA, RNA, cRNA, cDNA, iRNA, siRNA, shRNA, miRNA 또는 DNA를 나타낸다. 용어는 통상적으로 30개 뉴클레오티드 길이 초과인 올리고뉴클레오티드를 의미한다.
- [0089] "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 교환적으로 사용되어 본 명세서에서 아미노산 잔기의 폴리머 및 그의 변이체 및 합성된 유사체를 의미한다. 따라서, 이들 용어는 자연-발생 아미노산 폴리머뿐만 아니라, 하나 이상의 아미노산 잔기가 합성되는 비-자연 발생 아미노산인, 예컨대 상응하는 자연-발생 아미노산의 화학적 유사체인 아미노산 폴리머에 적용된다.
- [0090] 용어 "자손", "형질전환 비-인간 동물의 자손" 등은 최초 변형된 비-인간 동물에 뒤이은 각 세대의 임의의 및 모든 새끼를 의미한다.
- [0091] "프로모터"는 전사의 개시 및 수준을 적어도 부분적으로 제어하는 DNA의 지역을 의미한다. "프로모터"에 대한 언급은 가장 넓은 의미로 해석될 것이며 TATA 박스 및 CCAAT 박스 서열뿐만 아니라 발달 및/또는 환경 자극에 반응하여 또는 조직-특이적 또는 세포-형태-특이적 방식으로 유전자 발현을 변형하는 추가 조절 요소(즉, 활성화 서열, 인핸서 및 사일런서)를 포함하는 전통적인 계놈 유전자의 전사 조절 서열을 포함한다. 프로모터는 필수적이지 않으나 주로 전사가능한 서열(예를 들어, 암호화 서열 또는 기능성 RNA를 암호화하는 서열)의 상류 또는 5'에 위치하며, 이의 발현은 프로모터가 조절한다. 또한, 프로모터를 포함하는 조절 요소는 주로 유전자의 전사의 시작 위치의 2kb 내에 위치된다. 본 발명에 따른 프로모터는 세포에서 발현을 더 강화하기 위해 및/또는 작동가능하게 연결된 구조 유전자의 발현의 시기 또는 유도성을 변화하기 위해 시작 위치에 더욱 멀게 위치한 추가 특이적 조절 요소를 함유할 수 있다. 용어 "프로모터"는 또한 이의 범위 내에 유도성, 억제성 및 항시성 프로모터뿐만 아니라 최소 프로모터를 포함한다. 최소 프로모터는 통상적으로 작동가능하게 연결된 선택된 DNA 서열의 전사를 개시할 수 있는 최소 발현 제어 요소를 의미한다. 일부 예에서, 최소 프로모터는 추가 조절 요소(예를 들어, 인핸서 또는 다른 *cis*-작용 조절 요소)의 부존재하에서 기본 수준 이상으로 전사를 개시할 수 없다. 최소 프로모터는 주로 TATA 박스 또는 TATA-유사 박스로 이루어진다. 여러 최소 프로모터 서열은 문헌에

공지되어 있다. 예를 들어, 최소 프로모터는 여러 다른 것들 중에서 fos, CMV, SV40 및 IL-2로부터의 프로모터 지역을 포함하는 매우 다양한 공지된 서열로부터 선택될 수 있다. 최소 CMV 프로모터 또는 최소 IL2 유전자 프로모터(시작 위치에 대해 -72 내지 +45; Siebenlist, 1986)를 사용하는 예시적 예가 제공된다.

[0092] 본 발명에 사용된 "회귀종 또는 멸종위기종"은 위협을 받거나 멸종위기인 것으로 임의의 기관에 의해 나열된 임의의 동물 또는 집단 또는 서식지가 위협받는 임의의 동물 또는 감금 상태에서 번식이 바람직한 임의의 동물을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 멸종위기종의 목록은 미국 물고기 및 야생생물 서비스, 멸종위기종 프로그램에서 발견될 수 있거나 멸종위기종보호법(ESA)에 나열될 수 있다.

[0093] "재조합효소 인식 위치"(RRS)는 재조합효소가 결합하거나 상호작용하는 핵산 위치 또는 서열을 의미한다. 이런 결합 또는 상호작용은 직접적이거나 간접적일 수 있다.

[0094] 용어 "조절가능한 프로모터"는 유전자 발현을 항시적이 아닌 일시적- 및/또는 공간적-조절 방식으로 이끌며 조직-특이적 및 유도성 프로모터 모두를 포함하는 프로모터를 의미한다. 이는 천연 및 합성 서열뿐만 아니라 합성 및 천연 서열의 조합일 수 있는 서열을 포함한다. 다른 프로모터는 다른 조직 또는 세포 형태에서, 또는 발달의 다른 단계에서 또는 다른 환경 조건에 반응하여 유전자의 발현을 이끌 수 있다. 숙주 세포에 유용한 여러 형태의 새로운 프로모터는 지속적으로 발견된다. 대부분의 경우에 조절 서열의 정확한 경계는 완벽하게 정의되지 않았기 때문에, 다른 길이의 핵산 단편은 동일한 프로모터 활성을 가질 수 있다.

[0095] 본 발명에 사용된 용어 "RNA 간섭" 및 "RNAi"는 서열-특이적 과정을 의미하며 이에 의해 표적 분자(예를 들어, 표적 유전자, 단백질 또는 RNA)가 발현의 하강조절을 통해 하강조절된다. 특정 메커니즘에 한정되지 않고, 당업자가 현재 이해하는 것과 같이, RNAi는 RNA 분자, 예를 들어, 세포 내의 mRNA 분자의 효소, RNA-유도 사일런스 복합체(RISC)에 의해 촉매작용되는 분해를 필요로 한다. RNAi는 밀접하게 동형인 서열을 가진 다른 RNA 서열에 대한 분해성 메커니즘을 이끄는 긴 dsRNA로부터 분해된 dsRNA 단편에 의해 유발된 외래 RNA(예를 들어, 바이러스 RNA)를 제거하기 위해 세포에서 자연스럽게 일어난다. 기술로서 실행됨에 따라, RNAi는 세포에서 외인성으로 합성된 dsRNA 또는 전사된 dsRNA(예를 들어, 짧은 헤어핀 구조를 형성하는 서열로서 합성)의 발현을 감소 또는 심지어 침묵시키기 위해 인간 간섭에 의해 개시될 수 있다.

[0096] 본 발명에 사용된 용어 "소형 간섭 RNA" 및 "짧은 간섭 RNA"("siRNA")는 약 10-50개 뉴클레오티드 길이, 바람직하게는 약 15-25 뉴클레오티드 길이의 짧은 RNA 분자, 일반적으로 이중-가닥 RNA 분자(용어 "뉴클레오티드"는 뉴클레오티드 유사체를 포함)를 의미한다. 대부분의 경우에, siRNA는 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 또는 25 개 뉴클레오티드 길이이다. 이런 siRNA는 오버행 말단(예를 들어, 1, 2 또는 3개 뉴클레오티드(또는 뉴클레오티드 유사체)의 3'-오버행)을 가질 수 있다. 이런 siRNA는 RNA 간섭을 매개할 수 있다.

[0097] 본 발명과 연결하여 사용될 때, 용어 "shRNA"는 스템-루프 구조를 가진 RNA 분자를 의미한다. 스템-루프 구조는 2개의 상호 상보적 서열을 포함하며, 상보성의 개별 방향 및 정도는 두 서열 사이의 염기 페어링을 허용한다. 상호 상보적 서열은 루프 지역에 의해 연결되며, 루프는 루프 지역 내의 뉴클레오티드(또는 뉴클레오티드 유사체) 사이의 염기 페어링의 결여로부터 초래된다.

[0098] 본 발명에 사용된 용어 "서열 동일성"은 비교의 창에 걸쳐 서열이 뉴클레오티드 하나하나 또는 아미노산 하나하나를 기준으로 동일한 정도를 지칭한다. 따라서, "서열 동일성의 백분율"은 비교의 창에 걸쳐 두 개의 최적으로 배열된 서열을 비교하고, 동일한 핵산 염기(예, A, T, C, G, I) 또는 동일한 아미노산 잔기(예, Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Trp, Lys, Arg, His, Asp, Glu, Asn, Gln, Cys 및 Met)가 두 개의 서열에서 발생하는 위치의 수를 측정하여 일치된 위치의 수를 수득하고, 일치된 위치의 수를 비교의 창 내의 위치의 총 수(즉, 창의 크기)로 나누고, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 수득함으로써 계산된다. 본 발명의 이러한 목적을 위해, "서열 동일성"은 DNASIS 컴퓨터 프로그램(윈도우용 버전 2.5; 미국 캘리포니아주 사우스 샌프란시스코 소재 히타치 소프트웨어 엔지니어링 사(Hitachi Software Engineering Co., Ltd.)에서 시판)에 의해 소프트웨어에 첨부된 참고 물질에서 사용된 바와 같이 표준 디폴트를 사용하여 계산된 "일치 백분율"을 의미하는 것으로 이해될 수 있다.

[0099] "유사성"은 표 1에 정의된 것과 동일하거나 보존성 치환을 구성하는 아미노산의 백분율 숫자를 의미한다.

[0100] [표 1]

| 최초 잔기 | 예시적 치환        |
|-------|---------------|
| Ala   | Ser           |
| Arg   | Lys           |
| Asn   | Gln, His      |
| Asp   | Glu           |
| Cys   | Ser           |
| Gln   | Asn           |
| Glu   | Asp           |
| Gly   | Pro           |
| His   | Asn, Gln      |
| Ile   | Leu, Val      |
| Leu   | Ile, Val      |
| Lys   | Arg, Gln, Glu |
| Met   | Leu, Ile      |
| Phe   | Met, Leu, Tyr |
| Ser   | Thr           |
| Thr   | Ser           |
| Trp   | Tyr           |
| Tyr   | Trp, Phe      |
| Val   | Ile, Leu      |

[0101]

[0102] 유사성은 GAP와 같은 서열 비교 프로그램을 사용하여 측정될 수 있다(Deveraux et al. 1984, Nucleic Acids Research 12, 387-395). 이런 방식으로, 본 발명에 인용된 것과 유사한 또는 실질적으로 다른 길이의 서열은 배열 속에 틸의 삽입에 의해 비교될 수 있고, 이런 틸은, 예를 들어, GAP에 의해 사용된 비교 알고리즘에 의해 측정된다.

[0103] 둘 이상의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩타이드 사이의 서열 관계를 설명하기 위하여 사용된 용어는 "참고 서열", "비교 창", "서열 동일성", "서열 동일성의 백분율" 및 "실질적인 동일성"을 포함한다. "참고 서열"은 뉴클레오티드 및 아미노산 잔기를 포함하는 적어도 12개, 종종 15 내지 18개, 자주 적어도 25개인 단량체 단위 길이이다. 두 개의 폴리뉴클레오티드는 각각 (1) 두 개의 폴리뉴클레오티드 사이에서 유사한 서열(즉, 완전한 폴리뉴클레오티드 서열의 일부만), 및 (2) 두 개의 폴리뉴클레오티드 사이의 구분되는 서열을 포함할 수 있기 때문에, 두 개(이상)의 폴리뉴클레오티드 사이의 서열 비교는 전형적으로 "비교 창"에 걸쳐 두 개의 폴리뉴클레오티드의 서열을 비교함으로써 수행되어 서열 유사성의 국소 지역을 확인하고 비교한다. "비교 창"은, 두 개의 서열이 최적으로 배열된 후 서열이 인접한 위치의 동일한 수의 참고 서열에 비교되는, 적어도 6개, 보통 약 50 내지 약 100개, 더욱 일반적으로 약 100 내지 약 150개의 인접한 위치의 개념적인 분절을 지칭한다. 비교 창은 두 개의 서열의 최적 배열에 대해 (삽입 또는 결실을 포함하지 않는) 참고 서열에 비교해보면 약 20% 이하의 삽입 또는 결실(즉, 틸)을 포함할 수 있다. 비교 창을 배열하기 위한 서열의 최적 배열은 알고리즘(GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, USA)의 컴퓨터화된 구현에 의해, 또는 선택된 임의의 다양한 방법에 의해 생성되는 (즉, 비교 창에 걸쳐 가장 높은 백분율 상동성을 야기하는) 최적 배열 및 검사에 의해 수행될 수 있다. 또한, 예를 들어 Altschul et al., 1997, Nucl. Acids Res. 25:3389에 개시된 프로그램의 BLAST 패밀리를 참고할 수 있다. 서열 분석에 대한 자세한 논의는 Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons Inc, 1994-1998, Chapter 15의 19.3 단원에서 찾아 볼 수 있다.

[0104] 용어 "위치-특이적 상동성 재조합"은 뉴클레오티드 조성물에서 실질적으로 유사한 핵산 서열 사이의 가닥 교환 교차 사건을 의미한다. 이런 교차 사건은 본 발명의 표적 구조체에 함유된 서열 및 내인성 게놈 핵산 서열 사이에 발생할 수 있다. 또한, 하나 이상의 위치-특이적 상동성 재조합 사건이 발생할 수 있고, 이는 표적 구조체 내에 함유된 핵산 서열이 내인성 게놈 서열 내에 존재하는 특정 서열을 대체한 대체 사건을 초래할 수 있다는 것이 가능하다.

[0105] 유전자의 파괴 또는 재조합효소 인식 위치의 인식에 대해 적용된 용어 "특이적으로"는 다른 유전자의 실질적인 파괴 또는 다른 재조합효소 인식 위치의 실질적인 인식 없는 유전자의 파괴 또는 이런 재조합효소 인식 위치의 인식을 의미한다. 예를 들어, 생식 유전자를 특이적으로 파괴하는 물질은 다른 생식 유전자 또는 생식과 관련이 없는 유전자의 파괴에 대해 약 2배, 5배, 10배, 20배, 50배 초과 또는 약 100배, 500배, 1000배 초과 또는 생식 유전자에 대한 특이성을 나타내는 물질이다. 다른 예에서, 특이화된 재조합효소의 인식 위치를 특이적으로 인식하는 물질은 다른 재조합효소의 인식 위치에 대한 특이성에 대해 약 2배, 5배, 10배, 20배, 50배 초과 또는 약

100배, 500배, 1000배 초과인 인식 위치에 대한 특이성을 나타내는 물질이다.

- [0106] 본 발명에 사용되는 용어 "엄격성(stringency)"은, 혼성화 및 세정 과정 동안 온도 및 이온 강도 조건, 및 특정 유기 용매의 존재 또는 부재를 지칭한다. 엄격성이 높을수록, 세정 후 표적에 혼성화된 채 남는, 라벨링된 프로브 폴리뉴클레오티드 서열 및 고정화된 표적 뉴클레오티드 서열 사이의 상보성의 정도가 높을 것이다.
- [0107] 용어 "엄격한 조건(stringent condition)"은 고빈도의 상보적 염기를 가지는 뉴클레오티드 서열만이 혼성화될 수 있는 온도 및 이온 조건을 지칭한다. 필요한 엄격성은 뉴클레오티드 서열 의존적이고, 혼성화 동안 존재하는 다양한 구성성분에 의존한다. 일반적으로 엄격한 조건은 정의된 이온 강도 및 pH에서 특이적 서열에 대하여 열 용융점( $T_m$ )보다 약 20 내지 25°C 낮도록 선택된다.  $T_m$ 은 특이적 표적 서열의 50%가 정의된 이온 강도 및 pH 하에서 용액에 있는 완벽하게 상보적 프로브에 혼성화되는 온도이다. 일반적으로, 혼성화된 서열의 적어도 약 85% 뉴클레오티드 상보성을 필요로 하기 위해서, 매우 엄격한 세척 조건은  $T_m$ 보다 약 5 내지 15°C 낮게 선택된다. 혼성화된 서열의 적어도 약 70% 뉴클레오티드 상보성을 필요로 하기 위해서, 매우 엄격한 세척 조건은  $T_m$ 보다 약 15 내지 30°C 낮게 선택된다. 고 투과성(낮은 엄격성) 세척 조건은  $T_m$ 보다 50°C 정도로 낮을 수 있어서, 혼성화된 서열 사이에 높은 수준의 불일치를 허용한다. 당업자는 혼성화 및 세척 단계에서 다른 물리적 및 화학적 변수는 표적과 프로브 서열 사이의 서열 동일성의 특정 수준으로부터 탐지가능한 혼성화 신호의 결과에 영향을 미치도록 변화될 수 있다는 것을 인식할 것이다.
- [0108] 용어 "표적 카세트", "표적 구조체" 등은 동형 재조합에 의해 유기체 또는 숙주 세포의 게놈에서 특정 핵산 서열의 파괴 또는 삽입을 촉진하는 핵산 구조체를 의미한다. 일반적으로, 표적 카세트는 (1) 숙주 세포 내인성 유전자 좌위에 존재하는 서열과 실질적으로 동일하거나 실질적으로 상보적인 서열을 가진 적어도 하나의 상동성 지역 또는 상동성 압, 및 (2) 표적 구조체 상동성 지역과 내인성 유전자 좌위 서열 사이에 동형 재조합에 의해 숙주 세포 내인성 유전자 속에 통합되는 표적 지역을 포함한다. 표적 지역은 내인성 유전자 서열에 실질적으로 동형인 서열을 포함 및/또는 일부 실시태양에서 선택가능한 머커(예를 들어, *neo*, *tk*, *gpt*)와 같은 비-동형 서열 또는 이형 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 용어 "표적 카세트", "표적 구조체" 등은 표적 지역이 숙주 게놈 속으로 통합되는 유전자를 포함한다는 것을 필수적으로 나타내지 않으며, 표적 지역이 완벽한 구조 유전자 서열을 포함하는 것을 필수적으로 나타내지 않는다. 당업계에 사용된 대로, 용어 "표적 카세트", "표적 구조체" 등은 본 발명에 사용된 용어 "형질전환유전자"와 동의어이다.
- [0109] 용어 "전능"은 성숙한 유기체(예를 들어, 비-인간 동물)의 모든 세포 형태로 분화하는 세포의 능력을 의미한다.
- [0110] 용어 "전사가능한 핵산 서열" 또는 "전사된 핵산 서열"은 전사를 진행하는 비-전사된 조절 서열을 배제한다. 본 발명의 양태에 따라, 전사가능한 서열은 식물, 곰팡이, 동물, 박테리아 게놈 또는 에피솜, 진핵세포, 핵 또는 플라스미드 DNA, cDNA, 바이러스 DNA 또는 화학적으로 합성된 DNA를 포함하는 당업계에 공지된 임의의 소스로부터 전체적으로 또는 부분적으로 유래될 수 있다. 전사가능한 서열은 암호화 또는 미번역 지역에 하나 이상의 변형을 함유할 수 있고, 이는 발현 구조체의 생물학적 활성 또는 화학적 구조, 발현의 속도 또는 발현 제어의 방식에 영향을 미칠 수 있다. 이런 변형은 하나 이상의 뉴클레오티드의 삽입, 결실 및 치환을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 전사가능한 서열은 중단되지 않은 암호화 서열을 함유할 수 있거나 적절한 접합 경계에 의해 제한된 하나 이상의 인트론을 포함할 수 있다. 전사가능한 서열은 또한 융합 단백질을 암호화한다. 다른 실시태양에서, 전사가능한 서열은 비-암호화 영역만을 포함한다.
- [0111] "형질감염"은 핵산 분자(예를 들어, 플라스미드 또는 DNA 단편)가 진핵 세포 속에 삽입되는 과정을 의미한다. 통상적으로, 세포의 2-50%가 플라스미드를 차지하고 플라스미드 DNA 또는 DNA 단편을 세포의 염색체 속에 포함시키지 않고 ~3일 동안 단백질 생성물을 발현한다(= 일시적 형질감염). 이런 세포의 작은 부분은 결국 플라스미드 DNA를 이들의 염색체 속에 포함시킬 것이고 단백질 생성물을 영구적으로 발현한다(= 안정적 형질감염).
- [0112] 용어 "형질전환유전자"는 숙주 유기체의 게놈 속에 인공적으로 주입된 또는 주입될 예정이며 그 숙주의 자손에게 전달되는 유전자 물질을 기술하는데 사용된다. 형질전환유전자는 필수적이지 않으나 주로 활성(예를 들어, 비-암호화 및/또는 암호화 서열을 포함하는 뉴클레오티드 서열의 전사 또는 번역, 생산의 조절 등)을 부여하거나 유도하는 비-암호화 및/또는 암호화 서열을 함유하는 폴리뉴클레오티드를 통상적으로 포함한다. 일부 실시태양에서, 형질전환유전자는 적절한 조건하에서 RNA로 전사되고 선택적으로, 번역 및/또는 발현될 수 있는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시태양에서, 형질전환유전자는 전사 또는 번역을 방해하는 분자(예를 들어, 안티센스 분자) 또는 RNA 간섭을 매개하는 분자(예를 들어, siRNA 또는 shRNA)로 전사된다. 일부 실시태양에서, 형질전환유전자는 폴리펩타이드에 대한 암호화 서열을 포함한다. 일부 실시태양에서, 형질전환유전자는 유전자

변형을 게놈 속에 도입하기 위한 표적 카세트를 포함한다. 여러 방법 중 임의의 것이 형질전환유전자를 비-인간 동물 속에 주입하여 형질전환 동물을 생산하는데 사용될 수 있다. 이런 기술은 당업계에 주지되어 있고 배아 줄기 세포 및 iPS 세포의 친핵 미세주사, 바이러스 감염 및 형질변형을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 사용될 수 있는 형질전환 동물을 생산하는 방법은 J. P. Sundberg and T. Ichiki, Eds., *Genetically Engineered Mice Handbook*, CRC Press; 2006; M. H. Hofker and I. van Deursen, Eds., *Transgenic Mouse Methods and Protocols*, Humana Press, 2002; A. L. Joyner, *Gene Targeting: A Practical Approach*, Oxford University Press, 2000; *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3rd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2002, ISBN-10: 0879695919; K. Turksen (Ed.), *Embryonic stem cells: methods and protocols in Methods Mol. Biol.* 2002; 185, Humana Press; *Current Protocols in Stem Cell Biology*, ISBN : 978047015180; Meyer et al. *PNAS USA*, vol. 107 (34), 15022-15026에 기술된 것들을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

- [0113] 숙주 세포, 숙주 일부, 숙주 조직 또는 숙주 동물에 대해 본 발명에 사용된 용어 "형질전환" 또는 "형질변형"은 통상적으로 형질전환유전자에 의해 숙주 세포, 숙주 일부, 숙주 조직 또는 숙주 동물의 뉴클레옴, 특히 게놈 속에 도입된 유전자 변형을 포함하는 숙주 세포, 숙주 일부, 숙주 조직 또는 숙주 동물을 의미한다.
- [0114] 용어 "벡터"는 핵산 서열이 그 내부로 삽입되거나 복제될 수 있는, 예를 들어 플라스미드, 박테리오파지, 식물 바이러스로부터 유래된 핵산 분자, 적절하게는 DNA 분자를 의미한다. 벡터는 통상적으로 하나 이상의 독특한 제한 부위(restriction site)를 함유하고, 표적 세포 또는 조직 또는 그의 자손 세포(progenitor cell) 또는 조직을 포함하는 정의된 숙주 세포에서 자율적으로 복제할 수 있거나, 또는 복제된 서열이 재생가능하도록 정의된 숙주의 게놈에 통합될 수 있다. 따라서, 벡터는 자율적으로 복제하는 벡터, 즉 염색체 복제와 독립적으로 복제하는 염색체 외의 독립체(extra-chromosomal entity), 예를 들어 선형 또는 닫힌 원형 플라스미드, 염색체 외 구성요소, 미니 염색체, 또는 인공 염색체로서 존재하는 벡터일 수 있다. 벡터는 자가-복제를 보장하는 임의의 수단을 함유할 수 있다. 선택적으로, 벡터는 숙주 세포로 도입되는 경우, 유전체에 통합되고 통합된 염색체와 함께 복제되는 것일 수 있다. 벡터 시스템은 단일 벡터 또는 플라스미드, 숙주 세포의 게놈 속에 도입될 전체 DNA를 함께 함유하는 두 개 이상의 벡터 또는 플라스미드, 또는 트랜스포존(transposon)을 포함할 수 있다. 벡터의 선택은 벡터가 도입될 숙주 세포와 벡터의 양립성에 전형적으로 의존할 것이다. 벡터는 또한 적합한 형질 전환체의 선택에 사용될 수 있는 항생물질 내성 유전자와 같은 선택 마커를 포함할 수 있다. 이러한 내성 유전자의 예는 당 분야의 통상의 기술을 가진 자에게 알려져 있다.
- [0115] 용어 "5' 비-암호화 지역"은 가장 넓은 의미로 유전자의 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 잔기를 암호화하는 서열들 이외의 발현 유전자의 상류 부위로부터 유도된 모든 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 여기서 5' 비-암호화 지역은 적어도 부분적으로 유전자의 발현을 일으키거나 활성화시키거나 촉진시킨다.
- [0116] 본 발명에 사용된 용어 "5' 비번역 지역" 또는 "5' UTR"은 프로모터 지역의 3' 및 하류 암호화 지역의 5'에 위치한 서열을 의미한다. 따라서, 이런 서열은 전사되는 동안, 번역 개시 코돈의 상류(즉, 5')이며 따라서 일반적으로 폴리펩타이드 생성물의 일부로 번역되지 않는다.
- [0117] 용어 "3' 비번역 지역" 또는 "3' UTR"은 암호화 서열의 뉴클레오티드 서열 하류(즉, 3')를 의미한다. 이는 암호화 서열의 정지 코돈 이후 제 1 뉴클레오티드로부터 상응하는 전사된 miRNA의 폴리(A) 꼬리 바로 직전까지 연장된다. 3' UTR은 번역 효율, mRNA 안정성, mRNA 표적화 및/또는 폴리아데닐화를 조절하는 서열을 함유할 수 있다.
- [0118] 용어 "야생형"은 자연적으로 발생하는 서열로부터 분리될 때 그 유전자 또는 유전자 생성물의 특징을 가지는 유전자 또는 유전자 생성물을 의미한다. 야생형 유전자는 집단에서 가장 빈번하게 관찰되며, 따라서 임의적으로 유전자의 "정상" 또는 "야생형" 형태를 나타내는 것이다. 반대로, 용어 "변형된", "변형체" 또는 "돌연변이체"는 야생형 유전자 또는 유전자 생성물과 비교할 때 서열 및/또는 기능적 특성에 변형을 나타내는 유전자 또는 유전자 생성물을 의미한다. 자연적으로 발생하는 돌연변이체는 분리될 수 있고; 이들은 야생형 유전자 또는 유전자 생성물과 비교될 때 변형된 특성을 가진다는 사실에 의해 확인된다는 것에 유의한다.
- [0119] 본 발명에 사용된 유전자의 이름에 밑줄을 치거나 이탤릭체를 사용하는 것은 이의 단백질 생성물과 반대로, 임의의 밑줄 치기 또는 이탤릭체 사용 없이 나타내어진 유전자를 나타낸다. 예를 들어, "*GILZ*"는 *GILZ* 유전자를 의미하는 반면, "GILZ"는 "*GILZ*" 유전자의 단백질 생성물을 나타낸다.
- [0120] 본 발명에 기술된 각 실시태양은 구체적으로 달리 나타내지 않는 한 각각의 실시태양에 필요한 변경을 가하여

적용될 것이다.

[0121]

**2. 약어**

[0122]

다음 약어는 명세서 전체에서 사용된다:

[0123]

dpc = 교배 후 일(days post coitum)

[0124]

ES 세포 = 배아 줄기 세포

[0125]

epi 줄기 세포 = 외배엽 줄기 세포

[0126]

EG 세포 = 배아 생식 세포

[0127]

iPS 세포 = 유도된 만능 줄기 세포

[0128]

d = 일

[0129]

h = 시간

[0130]

s = 초

[0131]

**3. 도너 만능 세포의 생식 계열 전달을 강화하기 위한 파괴된 생식 유전자를 가진 비-인간 배아의 사용**

[0132]

본 발명은 유전자 변형된 것인 도너 만능 세포의 생식 계열 전달을 강화하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 비-인간 숙주 배아에서 기원한 생식 세포는 변형되어 생식에 기여하는 적어도 하나의 유전자(즉, 생식 유전자)가 파괴된다. 변형된 비-인간 숙주 배아는 기능적 생식 유전자(즉, 파괴되지 않은 생식 유전자)를 가진 도너 만능 세포가 주입된 "숙주"에 사용된다. 대리 또는 양육 비-인간 동물에서 최종 비-인간 숙주 배아의 이식 및 임신은 두 형태의 키메라 새끼: 비-인간 숙주 배아로부터 일반적으로 유래된 파괴된 생식 유전자를 가진 내인성 생식 세포 또는 배우자를 가진 것 및 도너 만능 세포로부터 일반적으로 유래된 기능적 생식 유전자를 가진 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 것을 주로 포함하는 한배 새끼를 생산한다. 기능적 생식 유전자를 포함하는 동족 비-인간 동물과 번식될 때, 파괴된 생식 유전자를 가진 내인성 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물은 손상되거나 억제된 생식 능력을 가질 것이다. 반대로, 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물은 정상적인 또는 손상되지 않은 생식 능력을 가질 것이어서, 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 첫 번째 한배 새끼의 생산을 강화한다.

[0133]

**3.1 생식 유전자**

[0134]

임의의 적절한 생식 유전자 또는 생식 유전자의 조합은 본 발명에 따른 비-인간 숙주 배아뿐만 아니라 유래된 비-인간 동물 및 새끼를 제공하도록 파괴될 수 있다. 생식 유전자의 비-제한적인 예는 예시적 돌연변이(위첨자로 제공) 및 생식 유전자 파괴를 일으키고 불임(예를 들어, 수컷 불임)을 유도하는 대립 형질 조성물과 함께 표 2에 나열된다. 또한, 생식 유전자의 파괴가 불임(예를 들어, 수컷 불임)을 유도하는 예시적 유전자 배경이 표 2에 제공된다.

[0135]

[표 2]

[0136] 생식 유전자 및 불임을 유도하는 예시적 돌연변이

| Fertility Gene(s)   | Allelic Composition<br>(Genetic Background)   |
|---------------------|---|
| Abcg5               | $Abcg5^{Frac}/Abcg5^{Frac}$<br>(A/J- $Abcg5^{Frac}$ )   |
| Acox1               | $Acox1^{tm1Dkr}/Acox1^{tm1Dkr}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)  |
| Acr<br>Smcp<br>Tnp2 | $Acr^{tm1Wen}/Acr^{tm1Wen}$<br>$Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}$<br>$Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6J * CD-1) |
| Adad1               | $Adad1^{tm1Reb}/Adad1^{tm1Reb}$<br>(129X1/SvJ-Tenr <sup>tm1Reb</sup> )  |
| Adad1               | $Adad1^{tm1Reb}/Adad1^{tm1Ret}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Adam1a              | $Adam1a^{tm1Tba}/Adam1a^{tm1Tba}$<br>(involves: 129S2/SvPas * ICR)  |
| Adam3               | $Adam3^{tm1Bhg}/Adam3^{tm1Bhg}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)  |
| Adam3               | $Adam3^{tm1Pmkf}/Adam3^{tm1Pmkf}$<br>(Not Specified)  |
| Adamts2             | $Adamts2^{tm1Prc}/Adamts2^{tm1Prc}$<br>(involves: 129/Sv)   |
| Adcy10              | $Adcy10^{tm1Lex}/Adcy10^{tm1Lex}$<br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Adra1b              | $Adra1b^{tm1Cts}/Adra1b^{tm1Cts}$<br>(involves: 129 * C57BL/6J)   |
| Adrm1               | $Adrm1^{GKOST128063}lex/Adrm1^{GKOST128063}lex$<br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Aes<br>Runx2        | $Aes^{tm1Gne}/Aes^{tm1Gnd}$<br>$Runx2^{tm1Hic}/Runx2^{+}$<br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6)   |
| Aff4                | $Aff4^{tm1Nosa}/Aff4^{tm1Nosa}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Agfg1               | $Agfg1^{tm1Jvc}/Agfg1^{tm1Jvc}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)   |
| Agps                | $Agps^{ts2}/Agps^{ts2}$<br>(STOCK $Agps^{ts2}/J$ )  |

[0137]

|                         |   |
|-------------------------|---|
| Agtbbp1                 | $Agtbbp1^{pcd-33}/Agtbbp1^{pcd-33}$<br>(involves: BALB/cByJ)  |
| Agtbbp1                 | $Agtbbp1^{pcd-67}/Agtbbp1^{pcd-67}$<br>(DBA/2J)   |
| Agtbbp1                 | $Agtbbp1^{pcd-83}/Agtbbp1^{pcd-83}$<br>(BALB/cJ-Agtbbp1 <sup>pcd-83</sup> /GrsrJ)   |
| Agtbbp1                 | $Agtbbp1^{pcd-B6r}/Agtbbp1^{pcd-B6r}$<br>(C57BL/6J-Agtbbp1 <sup>pcd-B6r</sup> )   |
| Agtbbp1                 | $Agtbbp1^{pcd-Tg(Dhrf)12w}/Agtbbp1^{pcd-Tg(Dhrf)12w}$<br>(involves: C57BL/6J * CD-1 * DBA/2J)   |
| Agtbbp1                 | $Agtbbp1^{pcd}/Agtbbp1^{pcd}$<br>(involves: C57BR/cdJ * CBA)  |
| Ak7                     | $Ak7^{SR(CST434404)Lex}/Ak7^{SR(CST434404)Lex}$<br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Ak7                     | $Ak7^{Tg(tetO-Hmox1)675ami}/Ak7^{Tg(tetO-Hmox1)675ami}$<br>(FVB/N-Ak7 <sup>Tg(tetO-Hmox1)675ami</sup> )   |
| Akap4                   | $Akap4^{tm1Etdy/Y}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Alpl<br>Dnmt3a          | $Alpl^{tm1(cre)Kagy}/Alpl^{+}$<br>$Dnmt3a^{tm3.1Eml}/Dnmt3a^{tm3.2Eml}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ)                                 |
| Alpl<br>Ehmt2           | $Alpl^{tm1(cre)Kagy}/Alpl^{+}$<br>$Ehmt2^{tm2Yshk}/Ehmt2^{tm2.1Yshk}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 * CBA)                                 |
| Amh<br>Amhr2            | $Amh^{tm1Bhr}/Amh^{tm1Bhr}$<br>$Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}$<br>(Not Specified)   |
| Amhr2                   | $Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Amhr2                   | $Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd)  |
| Amhr2                   | $Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2^{+}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * C57BL/6)   |
| Amhr2<br>Ar             | $Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2^{+}$<br>$Ar^{tm1Ghr}/Y$<br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6)   |
| Amhr2<br>Ctnnb1         | $Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2^{+}$<br>$Ctnnb1^{tm1Bhr}/Ctnnb1^{+}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Amhr2<br>Nr5a1          | $Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2^{+}$<br>$Nr5a1^{tm1Kip}/Nr5a1^{tm2Kip}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Amhr2<br>Smad1<br>Smad5 | $Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2^{+}$<br>$Smad1^{tm2Rob}/Smad1^{tm2.1Rob}$<br>$Smad5^{tm1Huv}/Smad5^{tm1Huv}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * C57BL/6) |

[0138]

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Amhr2<br>Smad1<br>Smad5 | <u>Amhr2<sup>tm3(Cre)Ehr</sup>/Amhr2<sup>+</sup></u><br><u>Smad1<sup>tm3(KO)S</sup>/Smad1<sup>tm3(KO)B</sup></u><br><u>Smad5<sup>tm1(Huv)/Smad5<sup>tm1(Zuk)</sup></sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6) |
| Apaf1                   | <u>Apaf1<sup>tm1(Her)/Apaf1<sup>tm1(Her)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Ar<br>Plekha5           | <u>Ar<sup>tm1(Cc)/Y</sup></u><br><u>Plekha5<sup>tg(AMH-Cre)1Flor/0</sup></u><br>(Involves: 129S/SvEv * C57BL/6 * SJL)  |
| Ar<br>Plekha5           | <u>Ar<sup>tm1(Cc)/Y</sup></u><br><u>Plekha5<sup>tg(AMH-Cre)1Flor/0</sup></u><br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6 * SJL)  |
| Ar<br>Rnase10           | <u>Ar<sup>tm1(Ves)/Y</sup></u><br><u>Rnase10<sup>tm1(Cre)1Flor/Rnase10<sup>+</sup></sup></u><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Arhgdia<br>Arhgdib      | <u>Arhgdia<sup>tm1(Vic)/Arhgdia<sup>tm1(Vic)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S/SvEv * C57BL/6 * DBA)  |
| Arhgdia<br>Arhgdib      | <u>Arhgdia<sup>tm1(Vic)/Arhgdia<sup>tm1(Vic)</sup></sup></u><br><u>Arhgdib<sup>tm1(Huv)/Arhgdib<sup>tm1(Huv)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S/SvEv)  |
| Arl                     | <u>Arl<sup>tm2(Vic)/Arl<sup>tm2(Vic)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Asz1                    | <u>Asz1<sup>tm1(Zuk)/Asz1<sup>tm1(Zuk)</sup></sup></u><br>(Involves: 129 * C57BL/6)  |
| Atf4                    | <u>Atf4<sup>tm1(Tow)/Atf4<sup>tm1(Tow)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * NIH Black Swiss)   |
| Atrn                    | <u>Atrn<sup>tm1(Koch)/Atrn<sup>tm1(Koch)</sup></sup></u><br>(either: 129S6/SvEvTac-Atrn <sup>tm1(Arb)</sup> or (Involves: 129S6/SvEvTac * NIH Black Swiss))  |
| Atrn                    | <u>Atrn<sup>tm1(Bal)/Atrn<sup>tm1(Bal)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae)  |
| Atrn                    | <u>Atrn<sup>tm1(Fws)/Atrn<sup>tm1(Fws)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)  |
| Atrn                    | <u>Atrn<sup>tm1(Lac)/Atrn<sup>tm1(Lac)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * Black Swiss)  |
| Atp1a4                  | <u>Atp1a4<sup>tm1(H)/Atp1a4<sup>tm1(H)</sup></sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Atp2b4                  | <u>Atp2b4<sup>tm1(Ges)/Atp2b4<sup>tm1(Ges)</sup></sup></u><br>(Involves: 129X1/SvJ * Black Swiss)  |
| Atp2b4                  | <u>Atp2b4<sup>tm1(Ges)/Atp2b4<sup>tm1(Ges)</sup></sup></u><br>(BKSW.129X1-Atp2b4 <sup>tm1(Ges)</sup> )   |
| Atp2b4                  | <u>Atp2b4<sup>tm1(Ksch)/Atp2b4<sup>tm1(Ksch)</sup></sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Atp7a                   | <u>Atp7a<sup>TM6-b6/Y</sup></u><br>(Not Specified)   |

[0139]

|                       |  |
|-----------------------|--|
| Atp7a                 | Atp7a <sup>tm109</sup> /Y<br>(Not Specified)   |
| Atxn7                 | Atxn7 <sup>tm182</sup> /Atxn7 <sup>+</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Axl<br>Mertk<br>Tyro3 | Axl <sup>tm184</sup> /Ax <sup>tm184</sup><br>Mertk <sup>tm184</sup> /Mertk <sup>tm184</sup><br>Tyro3 <sup>tm184</sup> /Tyro3 <sup>tm184</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * C57BL/6J) |
| B4galnt1              | B4galnt1 <sup>tm186</sup> /B4galnt1 <sup>tm186</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| B4galnt1              | B4galnt1 <sup>tm186</sup> /B4galnt1 <sup>tm186</sup><br>Str8sia1 <sup>tm186</sup> /Str8sia1 <sup>tm186</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac)  |
| Bax<br>Bcl2l1         | Bax <sup>tm193</sup> /Bax <sup>+</sup><br>Bcl2l1 <sup>tm193</sup> /Bcl2l1 <sup>tm193</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * 129X1/Sv) * C57BL/6)  |
| Bax                   | Bax <sup>tm193</sup> /Bax <sup>tm193</sup><br>(involves: 129X1/SvJ)  |
| Bax                   | Bax <sup>tm193</sup> /Bax <sup>tm193</sup><br>(B6.129X1-Bax <sup>tm193</sup> /J)   |
| Bax<br>Bcl2l1         | Bax <sup>tm193</sup> /Bax <sup>tm193</sup><br>Bcl2l1 <sup>tm193</sup> /Bcl2l1 <sup>tm193</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * 129X1/Sv) * C57BL/6)  |
| Bax<br>Bcl2l1         | Bax <sup>tm193</sup> /Bax <sup>tm193</sup><br>Bcl2l1 <sup>tm1.1Aet</sup> /Bcl2l1 <sup>tm1.1Aet</sup><br>(B6.129-Bcl2l1 <sup>tm1.1Aet</sup> Bax <sup>tm193</sup> )                            |
| Bbs1                  | Bbs1 <sup>tm195</sup> /Bbs1 <sup>tm195</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)   |
| Bbs2                  | Bbs2 <sup>tm195</sup> /Bbs2 <sup>tm195</sup><br>(either: (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) or (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J))  |
| Bbs4                  | Bbs4 <sup>tm195</sup> /Bbs4 <sup>tm195</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) * C57BL/6J)   |
| Bcl2l1                | Bcl2l1 <sup>tm196</sup> /Bcl2l1 <sup>tm196</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Bcl2l2                | Bcl2l2 <sup>GR105A/41Sor</sup> /Bcl2l2 <sup>GR105A/41Sor</sup><br>(Involves: 129S5/SvEvBrd)  |
| Bcl2l1<br>Bik         | Bcl2l1 <sup>tm1.1Aet</sup> /Bcl2l1 <sup>tm1.1Aet</sup><br>Bik <sup>tm1Aet</sup> /Bik <sup>tm1Aet</sup><br>(B6.Cg-Bcl2l1 <sup>tm1.1Aet</sup> Bik <sup>tm1Aet</sup> )                          |
| Bgn<br>Dcn            | Bgn <sup>tm197</sup> /Y<br>Dcn <sup>tm197</sup> /Dcn <sup>tm197</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ)  |
| Bmp5                  | Bmp5 <sup>tm198</sup> /Bmp5 <sup>tm198</sup><br>Bmp6 <sup>tm198</sup> /Bmp6 <sup>tm198</sup><br>(involves: 129S/SvEv)  |

[0140]

|               |  |
|---------------|--|
| Bmp7<br>Bmp8a | $Bmp7^{tm183b} / Bmp7^{+}$<br>$Bmp8a^{tm183h} / Bmp8a^{tm183h}$<br>(involves: 129S/SvEv * 129S6/SvEvTac * Black Swiss * C57BL/6) |
| Bmp8b         | $Bmp8b^{tm183h} / Bmp8b^{tm183h}$<br>(involves: 129/Sv * Black Swiss)  |
| Boll          | $Boll^{tm1E9} / Boll^{tm1E9}$<br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Brca1         | $Brca1^{tm2.1Th} / Brca1^{tm2.1Th}$<br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Brca1         | $Brca1^{tm2A9g} / Brca1^{tm2A9g}$<br>(129-Brca1 <sup>tm2A9g</sup> )  |
| Brca1         | $Brca1^{tm2A9g} / Brca1^{tm2A9g}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6) * MF1)   |
| Brca1         | $Brca1^{tm3.1Th} / Brca1^{tm3.1Th}$<br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Brca2         | $Brca2^{tm1Cam} / Brca2^{tm1Cam}$<br>(involves: 129S/SvEv * MF1)   |
| Brca2         | $Brca2^{tm1Caf} / Brca2^{tm1Caf}$<br>(either: (involves: 129S2/SvPas * C57BL/10) or (involves: 129S2/SvPas * C57BL/6 * DBA/2))   |
| Brdt          | $Brdt^{tm1Djw} / Brdt^{tm1Djw}$<br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6J)  |
| Brwd1         | $Brwd1^{tm1rep5} / Brwd1^{tm1rep5}$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Bsg           | $Bsg^{tm1Tms} / Bsg^{tm1Tms}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6J)  |
| Bsg           | $Bsg^{tm1Tms} / Bsg^{tm1Tms}$<br>(involves: 129/Sv * 129S2/SvPas)  |
| Bub1b         | $Bub1b^{tm1Jed} / Bub1b^{tm1Jed}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Cacnb4        | $Cacnb4^{tm-41} / Cacnb4^{tm-41}$<br>(C3Fe(SWV)-Cacnb4 <sup>tm-41</sup> /GrsrJ)  |
| Cacng2        | $Cacng2^{tm29} / Cacng2^{tm29}$<br>(B6C3Fe a/a-Cacng2 <sup>tm29</sup> )  |
| Cadm1         | $Cadm1^{tm1.2Br} / Cadm1^{tm1.2Br}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)   |
| Cadm1         | $Cadm1^{tm1Momo} / Cadm1^{tm1Momo}$<br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6J)  |
| Cadm1         | $Cadm1^{tm1Mkm} / Cadm1^{tm1Mkm}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)  |
| Calr3         | $Calr3^{tm1Cst} / Calr3^{tm1Cst}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)   |
| Camk4         | $Camk4^{tm1Am} / Camk4^{tm1Am}$<br>(involves: 129 * C57BL/6J)  |
| Capza3        | $Capza3^{tm1rep32} / Capza3^{tm1rep32}$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |

[0141]

|                  |   |
|------------------|---|
| Catsper1         | Catsper1 <sup>tm1Cgh</sup> /Catsper1 <sup>tm1Cgh</sup><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6J)  |
| Catsper2         | Catsper2 <sup>tm1Gar</sup> /Catsper2 <sup>tm1Gar</sup><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)  |
| Catsper3         | Catsper3 <sup>tm1Cgh</sup> /Catsper3 <sup>tm1Cgh</sup><br>(Involves: 129S4/SvJae)   |
| Catsper3         | Catsper3 <sup>tm1Wyan</sup> /Catsper3 <sup>tm1Wyan</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)  |
| Catsper4         | Catsper4 <sup>tm1Cgh</sup> /Catsper4 <sup>tm1Cgh</sup><br>(Involves: 129S4/SvJae)   |
| Catsper4         | Catsper4 <sup>tm1Wyan</sup> /Catsper4 <sup>tm1Wyan</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)  |
| Catsperd         | Catsperd <sup>tm1Cgh</sup> /Catsperd <sup>tm1Cgh</sup><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Cbx3             | Cbx3 <sup>tm1Pbs</sup> /Cbx3 <sup>tm1Pbs</sup><br>(Involves: 129)   |
| Cby1             | Cby1 <sup>tm1Kkn</sup> /Cby1 <sup>tm1Kkn</sup><br>(B6.129-Cby1 <sup>tm1Kkn</sup> )  |
| Ccna1            | Ccna1 <sup>tm1Coll</sup> /Ccna1 <sup>tm1Coll</sup><br>(Involves: 129S/SvEv * MF1)   |
| Ccna1            | Ccna1 <sup>tm1Djw</sup> /Ccna1 <sup>tm1Djw</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd)   |
| Ccne2            | Ccne2 <sup>tm1Psc</sup> /Ccne2 <sup>tm1Psc</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas)   |
| Cdk2             | Cdk2 <sup>tm1Kald</sup> /Cdk2 <sup>tm1Kald</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Cdk4             | Cdk4 <sup>tm1Kiyg</sup> /Cdk4 <sup>tm1Kiyg</sup><br>(Involves: 129S1/Sv)  |
| Cdk4             | Cdk4 <sup>tm1Kiyg</sup> /Cdk4 <sup>tm1Kiyg</sup><br>Lin9 <sup>tm1Ox</sup> /Lin9 <sup>tm1Ox</sup><br>(Involves: 129S1/Sv)                                  |
| Cdk5rap2         | Cdk5rap2 <sup>tm1RRF465Dyg</sup> /Cdk5rap2 <sup>tm1RRF465Dyg</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)   |
| Cdk16            | Cdk16 <sup>tm1.2Sge</sup> /Cdk16 <sup>tm1.2Sge</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * BALB/cJ * C57BL/6 * SJL)  |
| Cdkn2a           | Cdkn2a <sup>tm1Lw</sup> /Cdkn2a <sup>tm1Lw</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Cdkn2c<br>Cdkn2d | Cdkn2c <sup>tm1Bbd</sup> /Cdkn2c <sup>tm1Bbd</sup><br>Cdkn2d <sup>tm1Bam</sup> /Cdkn2d <sup>tm1Bam</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * 129S1/Sv * C57BL/6) |
| Cdo1             | Cdo1 <sup>tm1.18Bst</sup> /Cdo1 <sup>tm1.18Bst</sup><br>(Involves: C57BL/6)   |
| Celf1            | Celf1 <sup>tm1Cba</sup> /Celf1 <sup>tm1Cba</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)   |
| Cep290           | Cep290 <sup>tm1.11kg</sup> /Cep290 <sup>tm1.11kg</sup><br>(B6.129-Cep290 <sup>tm1.11kg</sup> )  |

[0142]

|         |  |
|---------|--|
| Cga     | <u>Cga<sup>tm1Sac</sup>/Cga<sup>tm1Sac</sup></u><br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6J)   |
| Cib1    | <u>Cib1<sup>tm1Prse</sup>/Cib1<sup>tm1Prse</sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Cks2    | <u>Cks2<sup>tm1Sar</sup>/Cks2<sup>tm1Sar</sup></u><br>(Not Specified)  |
| Clcn1   | <u>Clcn1<sup>acr</sup>/Clcn1<sup>acr</sup></u><br>(A2G)  |
| Clcn2   | <u>Clcn2<sup>tm1Ti</sup>/Clcn2<sup>tm1Ti</sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * C57BL/6)   |
| Cldn11  | <u>Cldn11<sup>tm1Eai</sup>/Cldn11<sup>tm1Eai</sup></u><br>(Not Specified)  |
| Cldn11  | <u>Cldn11<sup>tm1Sls</sup>/Cldn11<sup>tm1Sls</sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)  |
| Clgn    | <u>Clgn<sup>tm1Gsb</sup>/Clgn<sup>tm1Gsb</sup></u><br>(either: 129 or (Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J))   |
| Cnot    | <u>Cnot7<sup>tm1Jpr</sup>/Cnot7<sup>tm1Jpr</sup></u><br>(Involves: 129/Sv * C57BL/6)   |
| Cnot7   | <u>Cnot7<sup>tm1Tno</sup>/Cnot7<sup>tm1Tno</sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6J)   |
| Cnpy4   | <u>Cnpy4<sup>G(Tyr)2356C-2a1Ove</sup>/Cnpy4<sup>Tg(Tyr)2356C-2a1Ove</sup></u><br>(FVB/N-Cnpy4 <sup>Tg(Tyr)2356C-2a1Ove</sup> )   |
| Cplx1   | <u>Cplx1<sup>tm1Rmd</sup>/Cplx1<sup>tm1Rmd</sup></u><br>(Not Specified)  |
| Crem    | <u>Crem<sup>tm1Gsc</sup>/Crem<sup>tm1Gsc</sup></u><br>(Involves: 129/Sv * C57BL/6)   |
| Crem    | <u>Crem<sup>tm1Saco</sup>/Crem<sup>tm1Saco</sup></u><br>(Involves: 129/Sv * C57BL/6)   |
| Crem    | <u>Crem<sup>tm1Saco</sup>/Crem<sup>tm1Saco</sup></u><br>(Involves: C57BL/6)  |
| Crtc1   | <u>Crtc1<sup>G(XK522)Byg</sup>/Crtc1<sup>G(XK522)Byg</sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Csnk2a2 | <u>Csnk2a2<sup>tm1Dcc</sup>/Csnk2a2<sup>tm1Dcc</sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Cstf2t  | <u>Cstf2t<sup>tm1Cma</sup>/Cstf2t<sup>tm1Cma</sup></u><br>(Involves: 129S/SvEv * C57BL/6)  |
| Ctnnb1  | <u>Ctnnb1<sup>tm2Kem</sup>/Ctnnb1<sup>tm2Kem</sup></u><br><u>Emx1<sup>tm1(cra)Val</sup>/Emx1<sup>+</sup></u><br>(B6.129-Emx1 <sup>tm1(cra)Val</sup> Ctnnb1 <sup>tm2Kem</sup> ) |
| Cul4a   | <u>Cul4a<sup>tm12Pa</sup>/Cul4a<sup>tm12Pa</sup></u><br>(Not Specified)  |
| Cxcl16  | <u>Cxcl16/Zmynd15<sup>tm1Ifc</sup>/Cxcl16/Zmynd15<sup>tm1Ifc</sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)  |
| Ccl16   | <u>Cxcl16/Zmynd15<sup>tm1Ifc</sup>/Cxcl16/Zmynd15<sup>tm1Ifc</sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)  |

[0143]

|                   |   |
|-------------------|---|
| Cyp19a1           | Cyp19a1 <sup>tm1Esi</sup> /Cyp19a1 <sup>tm1Esi</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)   |
| Cyp19a1           | Cyp19a1 <sup>tm1Sb</sup> /Cyp19a1 <sup>tm1Sb</sup><br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6)   |
| D15Erttd621e      | D15Erttd621e <sup>Tg(Tyr)2261Cove</sup> /D15Erttd621e <sup>Tg(Tyr)2261Cove</sup><br>(FVB/N-D15Erttd621e <sup>Tg(Tyr)2261Cove</sup> )                |
| Dab1              | Dab1 <sup>scm</sup> /Dab1 <sup>scm</sup><br>(involves: C3HeB/FeJ * DC/Le)   |
| Dazap1            | Dazap1 <sup>tm1Pysn</sup> /Dazap1 <sup>tm1Pysn</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Dazl              | Dazl <sup>tm1Hyc</sup> /Dazl <sup>tm1Hyc</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * MF1)  |
| Dbf               | Dbf/Dbf <sup>+</sup><br>(involves: 101/H * C3H/HeH)   |
| Ddx4              | Ddx4 <sup>tm1Tnc</sup> /Ddx4 <sup>tm1Tnc</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6N3cl)  |
| Ddx25             | Ddx25 <sup>tm1Mig</sup> /Ddx25 <sup>tm1Mig</sup><br>(involves: 129S4/SvJae)   |
| Defb41<br>Dicer1  | Defb41 <sup>tm1Ocro</sup> Flap/Defb41 <sup>+</sup><br>Dicer1 <sup>tm1Bch</sup> /Dicer1 <sup>tm1Bch</sup><br>(involves: 129/Sv * C57BL/6N)           |
| Derl2             | Derl2 <sup>tm1ZHp</sup> /Derl2 <sup>tm1ZHp</sup><br>(involves: BALB/cJ)   |
| Dgka              | Dgka <sup>Tg(Tnfab-cHS4,Tyr)2320A-2Dve</sup> /Dgka <sup>Tg(Tnfab-cHS4,Tyr)2320A-2Dve</sup><br>(FVB/N-Dgka <sup>Tg(Tnfab-cHS4,Tyr)2320A-2Dve</sup> ) |
| Dhcr24            | Dhcr24 <sup>tm1Lax</sup> /Dhcr24 <sup>tm1Lax</sup><br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)   |
| Dhh               | Dhh <sup>tm1Aenc</sup> /Dhh <sup>tm1Aenc</sup><br>(involves: 129S1/Sv)  |
| Dhh               | Dhh <sup>tm1Aenc</sup> /Dhh <sup>tm1Aenc</sup><br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6J)   |
| Dhh               | Dhh <sup>tm1Aenc</sup> /Dhh <sup>tm1Aenc</sup><br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6J * Swiss Webster)   |
| Dicer1<br>Plekha5 | Dicer1 <sup>tm1Bch</sup> /Dicer1 <sup>tm1Bch</sup><br>Plekha5 <sup>Tg(Alex-crs)1Flav</sup> /0<br>(involves: 129 * C57BL/6 * SJL)                    |
| Dmc1              | Dmc1 <sup>Mei11</sup> /Dmc1 <sup>+</sup><br>(involves: 129S4/SvJae * C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Dmc1              | Dmc1 <sup>Mei11</sup> /Dmc1 <sup>+</sup><br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6J)  |
| Dmc1              | Dmc1 <sup>Mei11</sup> /Dmc1 <sup>Mei11</sup><br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6J)  |
| Dmc1              | Dmc1 <sup>tm1Tcs</sup> /Dmc1 <sup>tm1Tcs</sup><br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6J)  |
| Dmc1              | Dmc1 <sup>tm1Tkn</sup> /Dmc1 <sup>tm1Tkn</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)  |

[0144]

|              |   |
|--------------|---|
| Dmd          | Dmd <sup>tm1.1Khas/Y</sup><br>(involves: C57BL/6 * CBA)   |
| Dmrt1        | Dmrt1 <sup>tm1.1Zsk/Dmrt1<sup>tm1.1Zsk</sup></sup><br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Dmrtc2       | Dmrtc2 <sup>tm1.2Zsk/Dmrtc2<sup>tm1.2Zsk</sup></sup><br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Dms          | Dms/Dms <sup>+</sup><br>(involves: C57BL/6 * DBA/2)   |
| Dnah1        | Dnah1 <sup>tm1Hsd/Dnah1<sup>tm1Hsd</sup></sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * CD-1)   |
| Dnd1         | Dnd1 <sup>Ter/Dnd1<sup>Ter</sup></sup><br>(129S1/Sv-Kit <sup>W</sup> Oca2 <sup>P</sup> Tyr <sup>c-ch</sup> )  |
| Dnd1         | Dnd1 <sup>Ter/Dnd1<sup>Ter</sup></sup><br>Sf1 <sup>G4303/Sf1<sup>G4303</sup></sup> /Sf1 <sup>+</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * 129S1/SvImJ * 129T1/Sv)             |
| Dnmt3l       | Dnmt3l <sup>tm1Bos/Dnmt3l<sup>tm1Bos</sup></sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Dpcd/Poll    | Dpcd/Poll <sup>G1057803551ex/Dpcd/Poll<sup>G1057803551ex</sup></sup><br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6Brd-Tyr <sup>c-Brd</sup> )                                  |
| Dpcd/Poll    | Dpcd/Poll <sup>tm1Nsk/Dpcd/Poll<sup>tm1Nsk</sup></sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Dpy19l2      | Dpy19l2 <sup>tm1Lex/Dpy19l2<sup>tm1Lex</sup></sup><br>(B6;129S5-Dpy19l2 <sup>tm1Lex</sup> /Mmucd)   |
| Dspd         | Dspd/Dspd <sup>+</sup><br>(involves: C3H * C57BL/6)   |
| Dync1h1      | Dync1h1 <sup>Swt/Dync1h1<sup>+</sup></sup><br>(involves: 101/H * C3H/HeH)   |
| E2f1<br>E2f3 | E2f1 <sup>tm1Meg/E2f1<sup>tm1Meg</sup></sup><br>E2f3 <sup>tm2.1Gle/E2f3<sup>tm2.1Gle</sup></sup><br>(involves: 129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac * FVB/N * NIH Black Swiss) |
| Efnb2        | Efnb2 <sup>tm1Hsd/Efnb2<sup>+</sup></sup><br>(either: 129 or (involves: 129 * C57BL/6) or (involves: 129 * CD-1))   |
| Egr1         | Egr1 <sup>tm1Pch/Egr1<sup>tm1Pch</sup></sup><br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6J)  |
| Egr4         | Egr4 <sup>tm1Bos/Egr4<sup>tm1Bos</sup></sup><br>(involves: C57BL/6)   |
| Ehd1         | Ehd1 <sup>tm1.2Hsd/Ehd1<sup>tm1.2Hsd</sup></sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * FVB/N)   |
| Ehd1         | Ehd1 <sup>tm1.2Hsd/Ehd1<sup>tm1.2Hsd</sup></sup><br>(FVB.Cg-Ehd1 <sup>tm1.2Hsd</sup> )  |
| Eif4h        | Eif4h <sup>G1E4279Bys/Eif4h<sup>G1E4279Bys</sup></sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Elk1         | Elk1 <sup>tm1Nz/Y</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6N)  |

[0145]

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Elovi2                | $Elovi2^{tm1Eloc}/Elovi2^{tm1Eloc}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)  |
| Emx1<br>Numb<br>Numb1 | $Emx1^{tm1Emx1}/Emx1^{tm1Emx1}$<br>$Numb^{tm1Numb}/Numb^{tm1Numb}$<br>$Numb1^{tm1Numb}/Numb1^{tm1Numb}$<br>(involves: 129S2/SvPas * 129X1/SvJ * CD-1) |
| En1                   | $En1^{tm1En1A}/En1^{tm1En1A}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)   |
| Entpd5                | $Entpd5^{tm1Entpd5}/Entpd5^{tm1Entpd5}$<br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Epb4.1l2              | $Epb4.1l2^{Gt(Al0682)Wtsl}/Epb4.1l2^{Gt(Al0682)Wtsl}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| esgd12d               | $esgd12d/esgd12d$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6)  |
| Esp1<br>Meox2         | $Esp1^{tm1Esp1}/Esp1^{tm1Esp1}$<br>$Meox2^{tm1Meox2}/Meox2^{tm1Meox2}$<br>(involves: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd)                                  |
| Esr1                  | $Esr1^{tm1JGust}/Esr1^{tm1JGust}$<br>(B6.129X1-Esr1 <sup>tm1JGust</sup> )   |
| Esr1<br>Esr2          | $Esr1^{tm1Hms}/Esr1^{tm1Hms}$<br>$Esr2^{tm1Hms}/Esr2^{tm1Hms}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6 * SJL)   |
| Esr1                  | $Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)  |
| Esr1                  | $Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)   |
| Esr1<br>Esr2          | $Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}$<br>$Esr2^{tm1Unc}/Esr2^{tm1Unc}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Esr2                  | $Esr2^{tm1JFon}/Esr2^{tm1JFon}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6 * SJL)  |
| Etl4<br>Etn2          | $Etl4^{Gt(BlcSR)429Gos}/Etl4^{Gt(BlcSR)429Gos}$<br>$Etn2^{tm1Etn2}/Etn2^{tm1Etn2}$<br>(involves: 129/Sv * 129S2/SvPas * C57BL/6 * NMR1)               |
| Etv4                  | $Etv4^{tm1Hsc}/Etv4^{tm1Hsc}$<br>(involves: 129S4/SvJae * BALB/c)   |
| Etv5                  | $Etv5^{tm1Kcm}/Etv5^{tm1Kcm}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac)  |
| Evx2                  | $Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}/Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)  |
| Evx2                  | $Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}/Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)  |
| Evx2                  | $Evx2^{tm1Ddu}/Evx2^{tm1Ddu}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6J)   |
| Ewsr1                 | $Ewsr1^{tm1Sbes}/Ewsr1^{tm1Sbes}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * Black Swiss)  |

[0146]

|        |  |
|--------|--|
| Exo1   | Exo1 <sup>tm1Wed</sup> /Exo1 <sup>tm1Wed</sup><br>(Involves: 129/Sv * C57BL/6J * SJL)  |
| Eya4   | Eya4 <sup>tm1Jae</sup> /Eya4 <sup>tm1Jae</sup><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * CBA/J)  |
| Fads2  | Fads2 <sup>tm1Mtna</sup> /Fads2 <sup>tm1Mtna</sup><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)                                   |
| Fads2  | Fads2 <sup>tm1Wst</sup> /Fads2 <sup>tm1Wst</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd)   |
| Fancc  | Fancc <sup>tm1Hah</sup> /Fancc <sup>tm1Hah</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * C57BL/6J)                              |
| Fanci  | Fanci <sup>tm1</sup> /Fanci <sup>tm1</sup><br>(Involves: C57BL/6J * CBA/J)   |
| Fanci  | Fanci <sup>tm1Csb</sup> /Fanci <sup>tm1Csb</sup><br>(Involves: 129/Sv * C57BL/6 * FVB/N)                                     |
| Fanci  | Fanci <sup>tm1Csb</sup> /Fanci <sup>tm1Csb</sup><br>(either: (involves: 129S7/SvEvBrd) or (involves: 129S7/SvEvBrd * FVB/N)) |
| Fgfr3  | Fgfr3 <sup>tm1J</sup> /Fgfr3 <sup>tm1J</sup><br>(CByJ.Cg-Fgfr3 <sup>tm1J</sup> /GrsrJ)                                       |
| Fgfr3  | Fgfr3 <sup>tm1J</sup> /Fgfr3 <sup>tm1J</sup><br>(Involves: 129S6/SvEvTac)  |
| Fkbp4  | Fkbp4 <sup>tm1Dvts</sup> /Fkbp4 <sup>tm1Dvts</sup><br>(Involves: 129X1/Sv) * C57BL/6)  |
| Fkbp4  | Fkbp4 <sup>tm1Dvts</sup> /Fkbp4 <sup>tm1Dvts</sup><br>(either: (involves: CD-1) or (involves: 129X1/Sv) * C57BL/6))          |
| Fkbp6  | Fkbp6 <sup>tm1Pcp</sup> /Fkbp6 <sup>tm1Pcp</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)                                       |
| Fmn1   | Fmn1 <sup>tm1</sup> /Fmn1 <sup>tm1</sup><br>(NOD.Cg Prkdc <sup>tm1</sup> /J-Fmn1 <sup>tm1</sup> /GrsrJ)                      |
| Fndc3a | Fndc3a <sup>tm1</sup> /Fndc3a <sup>tm1</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C3H * C57BL/6 * FVB/N)                             |
| Fndc3a | Fndc3a <sup>tm1</sup> /Fndc3a <sup>tm1</sup><br>(Involves: C3H * FVB/N)  |
| Fndc3a | Fndc3a <sup>tm1</sup> /Fndc3a <sup>tm1</sup><br>(B6.Cg-Fndc3a <sup>tm1</sup> )   |
| Foxi1  | Foxi1 <sup>tm1Sv</sup> /Foxi1 <sup>tm1Sv</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv)  |
| Foxp3  | Foxp3 <sup>tm1</sup> /Y<br>(Involves: STOCK MR)  |
| Foxp3  | Foxp3 <sup>tm1</sup> /Y<br>(Involves: C57BL/6)   |
| Fus    | Fus <sup>tm1(DOT3)Dron</sup> /Fus <sup>tm1(DOT3)Dron</sup><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * CD-1)                               |
| Fzd4   | Fzd4 <sup>tm1Nat</sup> /Fzd4 <sup>tm1Nat</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * C57BL/6)                                 |

[0147]

|                 |   |
|-----------------|---|
| Gai3st1         | <u>Gai3st1<sup>tm1Khs</sup>/Gai3st1<sup>tm1Khc</sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Gaint3          | <u>Gaint3<sup>tm1Msc</sup>/Gaint3<sup>tm1Mjc</sup></u><br>(Involves: 129S/SvEv * C57BL/6J)  |
| Gamt            | <u>Gamt<sup>tm1Isb</sup>/Gamt<sup>tm1Isb</sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)  |
| Gapdhs          | <u>Gapdhs<sup>tm1Das</sup>/Gapdhs<sup>tm1Dsc</sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6N)  |
| Gatm            | <u>Gatm<sup>tm1Isb</sup>/Gatm<sup>tm1Isb</sup></u><br>(B6.129-Gatm <sup>tm1Isb</sup> )  |
| Gdf7            | <u>Gdf7<sup>tm1Kng</sup>/Gdf7<sup>tm1Kng</sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)   |
| Ggt1            | <u>Ggt1<sup>tm1Zsk</sup>/Ggt1<sup>tm1Zsk</sup></u><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)  |
| Gja1<br>Plekha5 | <u>Gja1<sup>tm1Kw</sup>/Gja1<sup>tm1Kw</sup></u><br><u>Plekha5<sup>tm1Ahr-cre1Pier</sup>/0</u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL)  |
| Gja1            | <u>Gja1<sup>tm2(Gja1)Kw</sup>/Gja1<sup>tm2(Gja1)Kw</sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Gja1            | <u>Gja1<sup>tm3(Gja3)Kw</sup>/Gja1<sup>tm3(Gja3)Kw</sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Gja1            | <u>Gja1<sup>tm7(Gja2)Kw</sup>/Gja1<sup>tm7(Gja2)Kw</sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL)  |
| Gli2<br>Gli3    | <u>Gli2<sup>tm3.1(Gli3)Al</sup>/Gli2<sup>+</sup></u><br><u>Gli3<sup>X1</sup>/Gli3<sup>+</sup></u><br>(either: (involves: 129S6/SvEvTac * C3H/HeJ) or (Involves: 129S6/SvEvTac * Black Swiss * C3H/HeJ)) |
| Gira1           | <u>Gira1<sup>spd</sup>/Gira1<sup>spd</sup></u><br>(B6C3Fe a/a-Gira1 <sup>spd</sup> /J)  |
| Gnpat           | <u>Gnpat<sup>tm1Jus1</sup>/Gnpat<sup>tm1Jus1</sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Gnrhr           | <u>Gnrhr<sup>tm181A6)Cmbd</sup>/Gnrhr<sup>tm181A6)Cmbd</sup></u><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)   |
| Golga3          | <u>Golga3<sup>tm2(Golga3)TEG4Kozd</sup>/Golga3<sup>tm2(Golga3)TEG4Kozd</sup></u><br>(Involves: C3H * C57BL/6)   |
| Gopc            | <u>Gopc<sup>tm1ITno</sup>/Gopc<sup>tm1ITno</sup></u><br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Gpx4            | <u>Gpx4<sup>tm2Marc</sup>/Gpx4<sup>tm2Marc</sup></u><br>(Involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Grid2           | <u>Grid2<sup>ho-5J</sup>/Grid2<sup>ho-5J</sup></u><br>(C57BLKS/J)   |
| Grid2           | <u>Grid2<sup>ho-BBr</sup>/Grid2<sup>ho-BBr</sup></u><br>(C57BL/6J-Grid2 <sup>ho-BBr</sup> )   |
| Grid2           | <u>Grid2<sup>ho-13r</sup>/Grid2<sup>ho-13r</sup></u><br>(Involves: C57BL/10J * DBA/2J)  |

[0148]

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Grid2                   | Grid2 <sup>hc</sup> /Grid2 <sup>ho</sup><br>(C57BLKS/J)  |
| Grm1                    | Grm1 <sup>crv4</sup> /Grm1 <sup>crv4</sup><br>(BALB/cPas-Grm1 <sup>crv4</sup> )  |
| Gtsf1                   | Gtsf1 <sup>tm1.8Mya</sup> /Gtsf1 <sup>tm1.8Mya</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Gusb                    | Gusb <sup>mp9</sup> /Gusb <sup>mp9</sup><br>(Involves: C57BL/6By)  |
| Gusb                    | Gusb <sup>mp9</sup> /Gusb <sup>mp9</sup><br>(B6.C-H2-K <sup>bm1</sup> /ByBir-Gusb <sup>mp9</sup> /J)   |
| H1fnt                   | H1fnt <sup>tm1.1Ynr</sup> /H1fnt <sup>tm1.1Ynr</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * C57BL/6)   |
| H3f3b                   | H3f3b <sup>tm1.1Psk</sup> /H3f3b <sup>tm1.1Psk</sup><br>(Involves: C57BL/6N * FVB/N)   |
| H3f3b                   | H3f3b <sup>tm1.29hes</sup> /H3f3b <sup>+</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129S1/SvImJ * 129S4/SvJaeSor)  |
| Hdlk                    | Hdlk/Hdlk<br>(STOCK Hdlk/GrsrJ)  |
| hem6                    | hem6/hem6<br>(Involves: 129P2/OlaHsd * 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Herc2                   | Herc2 <sup>1</sup> /Herc2 <sup>1</sup><br>(BALB/cJ-Herc2 <sup>1</sup> )  |
| Herc2                   | Herc2 <sup>def-1R</sup> /Herc2 <sup>def-1R</sup><br>(Not Specified)  |
| Herc2                   | Herc2 <sup>def-2R</sup> /Herc2 <sup>def-2R</sup><br>(Not Specified)  |
| Herc2                   | Herc2 <sup>def-3R</sup> /Herc2 <sup>def-3R</sup><br>(Not Specified)  |
| Herc2                   | Herc2 <sup>def-6R</sup> /Herc2 <sup>def-6R</sup><br>(Not Specified)  |
| Hfe2                    | Hfe2 <sup>tm1.4chr</sup> /Hfe2 <sup>tm1.4chr</sup><br>(Involves: 129S4 * 129X1/SvJ)  |
| Hfm1                    | Hfm1 <sup>GRDST347241JLex</sup> /Hfm1 <sup>GRDST347241JLex</sup><br>(Involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6 * SJL)  |
| Hip1                    | Hip1 <sup>tm2.1Tsr</sup> /Hip1 <sup>tm2.1Tsr</sup><br>(Involves: 129X1/SvJ)  |
| Hist1h1<br>Smcp<br>Tnp2 | Hist1h1 <sup>tm1.0rab</sup> /Hist1h1 <sup>tm1.0rab</sup><br>Smcp <sup>tm1.1Wen</sup> /Smcp <sup>tm1.1Wen</sup><br>Tnp2 <sup>tm1.1Wen</sup> /Tnp2 <sup>+</sup><br>(Involves: 129 * C57BL/6J)        |
| Hist1h1<br>Smcp<br>Tnp2 | Hist1h1 <sup>tm1.0rab</sup> /Hist1h1 <sup>tm1.0rab</sup><br>Smcp <sup>tm1.1Wen</sup> /Smcp <sup>tm1.1Wen</sup><br>Tnp2 <sup>tm1.1Wen</sup> /Tnp2 <sup>tm1.1Wen</sup><br>(Involves: 129 * C57BL/6J) |

[0149]

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Hist1h1<br>Smcp<br>Tnp2    | $\text{Hist1h1}^{\text{tm1DraB}}/\text{Hist1h1}^{\text{tm1DraB}}$<br>$\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}/\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}$<br>$\text{Tnp2}^{\text{tm1Wen}}/\text{Tnp2}^+$<br>(Involves: 129 * C57BL/6J)               |
| Hist1h1<br>Smcp<br>Tnp2    | $\text{Hist1h1}^{\text{tm1DraB}}/\text{Hist1h1}^{\text{tm1DraB}}$<br>$\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}/\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}$<br>$\text{Tnp2}^{\text{tm1Wen}}/\text{Tnp2}^{\text{tm1Wen}}$<br>(Involves: 129 * C57BL/6J) |
| Hmga1                      | $\text{Hmga1}^{\text{tm1Cha}}/\text{Hmga1}^+$<br>(chimera involves: 129S1/Sv * C57BL/6J)  |
| Hmga2                      | $\text{Hmga2}^{\text{P9}}/\text{Hmga2}^{\text{P9}}$<br>(Involves: A/St * C57BL * MacArthur's small stock)   |
| Hmga2                      | $\text{Hmga2}^{\text{tm1Cha}}/\text{Hmga2}^{\text{tm1Cha}}$<br>(Involves: 129S7/SvEvBrd)  |
| Hormad1                    | $\text{Hormad1}^{\text{tm1.2Atof}}/\text{Hormad1}^{\text{tm1.2Atof}}$<br>(Involves: 129/Sv * BALB/c * C57BL/6 * SJL)  |
| Hormad1                    | $\text{Hormad1}^{\text{tm1Atof}}/\text{Hormad1}^{\text{tm1Atof}}$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J0laHsd)  |
| Hormad1                    | $\text{Hormad1}^{\text{tm1Pajk}}/\text{Hormad1}^{\text{tm1Pajk}}$<br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Hormad2                    | $\text{Hormad2}^{\text{tm1.2Atof}}/\text{Hormad2}^{\text{tm1.2Atof}}$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/c * C57BL/6 * SJL)  |
| Hormad2                    | $\text{Hormad2}^{\text{tm1Atof}}/\text{Hormad2}^{\text{tm1Atof}}$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J0laHsd)  |
| Hormad2                    | $\text{Hormad2}^{\text{tm1Kura}}/\text{Hormad2}^{\text{tm1Kura}}$<br>(either: B6.Cg-Hormad2 <sup>tm1Kura</sup> or (Involves: C57BL/6J * C57BL/6NCrij * CBA/JNCrij))   |
| Hoxa10                     | $\text{Hoxa10}^{\text{tm1Ipc}}/\text{Hoxa10}^{\text{tm1Ipc}}$<br>(either: (Involves: 129S2/SvPas) or (Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6))   |
| Hoxa10                     | $\text{Hoxa10}^{\text{tm1Khm}}/\text{Hoxa10}^{\text{tm1Khm}}$<br>(either: (Involves: 129S4/SvJae) or (Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6))   |
| Hoxa11<br>Hoxc11<br>Hoxd11 | $\text{Hoxa11}^{\text{tm1Dmwe}}/\text{Hoxa11}^+$<br>$\text{Hoxc11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxc11}^+$<br>$\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxd11}^+$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129S7/SvEvBrd * 129X1/SvJ * C57BL/6)      |
| Hoxa11                     | $\text{Hoxa11}^{\text{tm1Dmwe}}/\text{Hoxa11}^{\text{tm1Dmwe}}$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Hoxa11<br>Hoxc11<br>Hoxd11 | $\text{Hoxa11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxa11}^+$<br>$\text{Hoxc11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxc11}^+$<br>$\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxd11}^+$<br>(Involves: 129S7/SvEvBrd)  |
| Hoxa11<br>Hoxc11<br>Hoxd11 | $\text{Hoxa11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxa11}^+$<br>$\text{Hoxc11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxc11}^+$<br>$\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mec}}/\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mec}}$<br>(Involves: 129S7/SvEvBrd)                          |

[0150]

|                            |   |
|----------------------------|---|
| Hoxa11<br>Hoxc11<br>Hoxd11 | Hoxa11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxa11 <sup>+</sup><br>Hoxc11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxc11 <sup>+</sup><br>Hoxd11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxd11 <sup>+</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd)      |
| Hoxa11<br>Hoxc11<br>Hoxd11 | Hoxa11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxa11 <sup>tm1Mrc</sup><br>Hoxc11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxc11 <sup>+</sup><br>Hoxd11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxd11 <sup>+</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd) |
| Hoxa11<br>Hoxd11           | Hoxa11 <sup>tm1Mrc</sup> /Hoxa11 <sup>tm1Mrc</sup><br>Hoxd11 <sup>tm2.1(Hoxc11)Mrc</sup> /Hoxd11 <sup>tm2.1(Hoxd11)Mrc</sup><br>(Involves: BALB/cJ)                               |
| Hoxa11                     | Hoxa11 <sup>tm1Sp</sup> /Hoxa11 <sup>tm1Sp</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * CF1)   |
| Hoxa13                     | Hoxa13 <sup>Hd</sup> /Hoxa13 <sup>Hd</sup><br>(B6C3Fe-a/a Hoxa13 <sup>Hd</sup> Mcoln3 <sup>Va-2/J</sup> )   |
| Hoxd4<br>Rarg              | Hoxd4 <sup>tm1Bnr</sup> /Hoxd4 <sup>tm1Bnr</sup><br>Rarg <sup>tm1Bnr</sup> /Rarg <sup>tm1Bnr</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * 129S7/SvEvBrd * CD-1)                              |
| Hoxd9<br>Hoxd10            | Hoxd9 <sup>tm1Emca</sup> /Hoxd9 <sup>tm1Emca</sup><br>Hoxd10 <sup>tm1Emca</sup> /Hoxd10 <sup>tm1Emca</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)                                 |
| Hoxd11                     | Hoxd11 <sup>tm1Bpc</sup> /Hoxd11 <sup>tm1Bpc</sup><br>(either: (involves: 129/Sv * 129S2/SvPas) or (involves:<br>129S2/SvPas * C57BL/6))  |
| Hoxd13                     | Hoxd13 <sup>Dyc</sup> /Hoxd13 <sup>Dyc</sup><br>(BALB/c-Hoxd13 <sup>Dyc</sup> )   |
| Hoxd13                     | Hoxd13 <sup>spdh</sup> /Hoxd13 <sup>spdh</sup><br>(B6C3Fe a/a-Hoxd13 <sup>spdh/J</sup> )  |
| Hoxd13                     | Hoxd13 <sup>tm1Bsp</sup> /Hoxd13 <sup>tm1Bsp</sup><br>(either: (involves: 129S2/SvPas * 129/Sv) or (involves:<br>129S2/SvPas * C57BL/6))  |
| Hsd17b4                    | Hsd17b4 <sup>tm1Bass</sup> /Hsd17b4 <sup>tm1Bass</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)  |
| Hsf1<br>Hsf2               | Hsf1 <sup>tm1Hsv</sup> /Hsf1 <sup>tm1Hsv</sup><br>Hsf2 <sup>tm1Hsv</sup> /Hsf2 <sup>tm1Hsv</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * 129X1/SvJ * C57BL/6)                                 |
| Hsp90aa1                   | Hsp90aa1 <sup>GHS17-2G1)Sw</sup> /Hsp90aa1 <sup>GHS17-2G1)Sw</sup><br>(Involves: 129S4/SvJaeSor)  |
| Hsp90aa1                   | Hsp90aa1 <sup>GHE444)Evg</sup> /Hsp90aa1 <sup>GHE444)Evg</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Hsp90aa1                   | Hsp90aa1 <sup>Ta(Tyr)2396bOvw</sup> /Hsp90aa1 <sup>Ta(Tyr)2396bOvw</sup><br>(FVB/N-Hsp90aa1 <sup>Ta(Tyr)2396bOvw</sup> )  |
| Hsp90aa1                   | Hsp90aa1 <sup>tm3.1Udon</sup> /Hsp90aa1 <sup>tm3.1Udon</sup><br>(Involves: C57BL/6 * FVB)   |
| Hspa2                      | Hspa2 <sup>tm1Dlx</sup> /Hspa2 <sup>tm1Dlx</sup><br>(either: 129S/SvEv or C57BL/6)  |
| Hspa4                      | Hspa4 <sup>tm1Hvad</sup> /Hspa4 <sup>tm1Hvad</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)  |

[0151]

|                |   |
|----------------|---|
| Hstx1          | Hstx1 <sup>PWD/Ph/Y</sup><br>(involves: C57BL/6J * PWD/Ph)  |
| Htt<br>668Hay  | Htt <sup>tm1Hay</sup> /Htt <sup>tm1Hay</sup><br>Tg(YAC46)668Hay/0<br>(involves: FVB/N)  |
| Htt<br>2511Hay | Htt <sup>tm1Hay</sup> /Htt <sup>tm1Hay</sup><br>Tg(YAC72)2511Hay/0<br>(involves: FVB/N)   |
| Hydin          | Hydin <sup>C23</sup> /Hydin <sup>hy3</sup><br>(involves: CBA)   |
| Immp2l         | Immp2l <sup>Ts(Tyr)9790ve</sup> /Immp2l <sup>Ts(Tyr)9790ve</sup><br>(FVB/N-Immp2l <sup>Ts(Tyr)9790ve</sup> )  |
| Ing2           | Ing2 <sup>tm1.1Ccha</sup> /Ing2 <sup>tm1.1Ccha</sup><br>(involves: 129/Sv * C57BL/6J * FVB/N)   |
| Ing2<br>Trp53  | Ing2 <sup>tm1.1Ccha</sup> /Ing2 <sup>tm1.1Ccha</sup><br>Trp53 <sup>tm1Brd</sup> /Trp53 <sup>tm1Brd</sup><br>(involves: 129/Sv * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/N) |
| Inha           | Inha <sup>tm1Bay</sup> /Inha <sup>tm1Bay</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)   |
| Inpp5b         | Inpp5b <sup>tm1Nbm</sup> /Inpp5b <sup>tm1Nbm</sup><br>(either: (involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6) or (involves:<br>129S6/SvEvTac * NIH Black Swiss))             |
| Inpp5b         | Inpp5b <sup>tm1Nbm</sup> /Inpp5b <sup>tm1Nbm</sup><br>(129S6/SvEvTac)   |
| Inpp5b         | Inpp5b <sup>tm2.1Nbm</sup> /Inpp5b <sup>tm2.1Nbm</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * FVB/N)   |
| Insl3          | Insl3 <sup>tm1Mad</sup> /Insl3 <sup>tm1Mad</sup><br>(involves: 129/Sv * CD-1)   |
| Insl3          | Insl3 <sup>tm1Far</sup> /Insl3 <sup>tm1Far</sup><br>(involves: 129/Sv * CD-1)   |
| Insl5          | Insl5 <sup>tm1Mad</sup> /Insl5 <sup>tm1Mad</sup><br>(129(B6)-Insl5 <sup>tm1Mad</sup> )  |
| Insl6          | Insl6 <sup>tm1Mad</sup> /Insl6 <sup>tm1Mad</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J * CD-1)  |
| Ip6k1          | Ip6k1 <sup>tm1.1Srye</sup> /Ip6k1 <sup>tm1.1Srye</sup><br>(involves: 129X1/SvJ * BALB/c * C57BL/6)  |
| Izumo1         | Izumo1 <sup>tm1Ost</sup> /Izumo1 <sup>tm1Ost</sup><br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)   |
| Jam3           | Jam3 <sup>tm1.2Chav</sup> /Jam3 <sup>tm1.2Chav</sup><br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Jam3           | Jam3 <sup>tm1.2Chav</sup> /Jam3 <sup>tm1.2Chav</sup><br>(B6.129-Jam3 <sup>tm1.2Chav</sup> )   |
| Jam3           | Jam3 <sup>tm1Rha</sup> /Jam3 <sup>tm1Rha</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Jam3<br>1Maal  | Jam3 <sup>tm1Rha</sup> /Jam3 <sup>tm1Rha</sup><br>Tg(Tek.Jam3)1Maal/?<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * C57BL/6J * CBA)                                      |

[0152]

|         |  |
|---------|--|
| Jund    | $Jund^{tm126y4}/Jund^{tm126y5}$<br>(either: 129S2/SvPas or (involves: 129S2/SvPas * C57BL/6))      |
| Katnal1 | $Katnal1^{3H}/Katnal1^{1H}$<br>(involves: C3H/HeH * C57BL/6J)                                      |
| Katnb1  | $Katnb1^{1ally}/Katnb1^{1ally}$<br>(involves: C57BL/6 * CBA)                                       |
| Kcnj6   | $Kcnj6^{60}/Kcnj6^{+}$<br>(involves: C57BL/6J)   |
| Kcnj6   | $Kcnj6^{60}/Kcnj6^{60}$<br>(involves: C57BL/6 * CBA/CaGnLe)  |
| Kcnu1   | $Kcnu1^{tm12Cln}/Kcnu1^{tm12Cln}$<br>(B6.Cg-Kcnu1 <sup>tm1.2Cln</sup> )                            |
| Kcnu1   | $Kcnu1^{tm1Cmsa}/Kcnu1^{tm1Cmsa}$<br>(Not Specified)   |
| Kdm3a   | $Kdm3a^{Grl(Y*1A185)Byg}/Kdm3a^{Grl(Y*1A185)Byg}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)            |
| Kdm3a   | $Kdm3a^{tm13su}/Kdm3a^{tm13su}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)                             |
| Khdrbs1 | $Khdrbs1^{tm1Rchd}/Khdrbs1^{tm1Rchd}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)                |
| Kiss1   | $Kiss1^{tm1Ria}/Kiss1^{tm1Ria}$<br>(involves: 129S1/SvImJ)   |
| Kiss1r  | $Kiss1r^{tm1JLex}/Kiss1r^{tm1JLex}$<br>(involves: 129S4/SvJae)                                     |
| Kiss1r  | $Kiss1r^{tm1Gsh}/Kiss1r^{tm1Gsh}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)                                      |
| Kiss1r  | $Kiss1r^{tm1Ria}/Kiss1r^{tm1Ria}$<br>(involves: 129S1/SvImJ)                                       |
| Kit     | $Kit^{Hhasow2}/Kit^{Hhasow2}$<br>(C3HeB/FeJ-Kit <sup>Hhasow3</sup> )                               |
| Kit     | $Kit^{5sm}/Kit^{+}$<br>(involves: C57BL/10 * Non-inbred)   |
| Kit     | $Kit^{tm116sm}/Kit^{tm116sm}$<br>(involves: 129S1/Sv * BALB/c * C57BL/6J * FVB/N)                  |
| Kit     | $Kit^{tm18pr}/Kit^{tm18pr}$<br>(either: (involves: 129/Sv) or (involves: 129/Sv * C57BL/6))        |
| Kit     | $Kit^{tm1Hhr}/Kit^{tm2Hhr}$<br>(either: (involves: 129/Sv * C57BL/6 * DBA/2) or (involves: 129S1)) |
| Kit     | $Kit^{W-18ao}/Kit^{+}$<br>(C57BL/6J-Kit <sup>W-18ao</sup> )  |
| Kit     | $Kit^{W-22}/Kit^{W-44}$<br>(involves: C3H/HeJ * C57BL/6J)  |
| Kit     | $Kit^{W-44}/Kit^{W-44}$<br>(B6.C3-Kit <sup>W-44</sup> )  |

[0153]

|           |   |
|-----------|---|
| Kit       | $Kit^{W-552}/Kit^{W-553}$<br>(C57BL/6J)   |
| Kit       | $Kit^{W-551}/Kit^{W-551}$<br>(C57BL-Kit <sup>W-551</sup> )  |
| Kit       | $Kit^{W-p/c}/Kit^+$<br>(Involves: STOCK Prop1 <sup>df</sup> Myo5a <sup>d</sup> Bmp5 <sup>se</sup> )     |
| Kit       | $Kit^{W-p/v}/Kit^{W-v}$<br>(Involves: STOCK Prop1 <sup>df</sup> Myo5a <sup>d</sup> Bmp5 <sup>se</sup> ) |
| Kit       | $Kit^{Wacs}/Kit^{Wacs}$<br>(C57BL/6J-Kit <sup>Wacs</sup> )  |
| Kit       | $Kit^{S1-174}/Kit^{S1-174}$<br>(C3H/HeH-Kit <sup>S1-174</sup> )   |
| Kitl      | $Kitl^{S1-m}/Kitl^{S1-m}$<br>(C57BL/6)  |
| Kihl10    | $Kihl10^{tm120k}/Kihl10^+$<br>(chimera involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)                              |
| Kmt2e     | $Kmt2e^{tm1.1Hf}/Kmt2e^{tm1.1Hf}$<br>(B6.129P2-Kmte <sup>tm1.1Hf</sup> )                                |
| Kmt2e     | $Kmt2e^{tm1Aps}/Kmt2e^{tm1Aps}$<br>(129S6/SvEvTac-Kmt2e <sup>tm1Aps</sup> )                             |
| L1cam     | $L1cam^{tm1Sor}/Y$<br>(either: 129S7/SvEvBrd-L1cam <sup>tm1Sor</sup> or (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)F1)   |
| Large     | $Large^{em-Tg(MobReg)36Pas}/Large^{em-Tg(MobReg)36Pas}$<br>(Involves: C57BL/6J * DBA/2J)                |
| Large     | $Large^{myc-31}/Large^{myc-31}$<br>(STOCK Large <sup>myc-31</sup> /Grsr1)                               |
| Lbr       | $Lbr^{GR(E356)Eyg}/Lbr^{GR(E356)Eyg}$<br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6Cr)                           |
| Ldhc      | $Ldhc^{tm1Ers}/Ldhc^{tm1Erg}$<br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6N)                                   |
| Lep       | $Lep^{ob}/Lep^{ob}$<br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Lep       | $Lep^{ob}/Lep^{ob}$<br>(Involves: V)  |
| Lep Npy2r | $Lep^{ob}/Lep^{ob}$<br>$Npy2r^{tm1.1Hrz}/Npy2r^{tm1.1Hrz}$<br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)           |
| Lepr      | $Lepr^{ob-NCSU}/Lepr^{ob-NCSU}$<br>(Involves: CD-1)   |
| Lepr      | $Lepr^{ob-Pas}/Lepr^{ob-Pas}$<br>(DW/Pas)   |
| Lepr      | $Lepr^{tm1Y8}/Lepr^{tm1Y8}$<br>(B6.129-Lepr <sup>tm1Y8</sup> )  |
| Lepr      | $Lepr^{tm2Y8}/Lepr^{tm2Y8}$<br>(B6.129-Lepr <sup>tm2Y8</sup> )  |

[0154]

|               |   |
|---------------|---|
| Lfng          | $Lfng^{tm1Rjg}/Lfng^{tm1Rjs}$<br>(either: (involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J) or (involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/N))           |
| Lfng          | $Lfng^{tm1Rjg}/Lfng^{tm1Rje}$<br>Tg(Lfng-LFNG)1Dihz/0<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * CBA)                                       |
| Lfng<br>2Dihz | $Lfng^{tm1Rjg}/Lfng^{tm1Rje}$<br>Tg(Lfng-LFNG)2Dihz/?<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * CBA)                                       |
| Lgr4          | $Lgr4^{Gt(pGTTMg6)1Wcs}/Lgr4^{Gt(pGTTMg6)1Wcs}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * CD-1)  |
| Lgr4          | $Lgr4^{Gt(pU-21)1Kymm}/Lgr4^{Gt(pU-21)1Kymm}$<br>(CBA.Cg-Lgr4 <sup>Gt(pU-21)1Kymm</sup> )   |
| Lhb           | $Lhb^{tm1Kmr}/Lhb^{tm1Kmr}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Lhcgf         | $Lhcgf^{tm1Cvr}/Lhcgf^{tm1Cvr}$<br>(either: 129X1/SvJ-Lhcgf <sup>tm1Cvr</sup> or (involves: 129X1/SvJ * C57BL/6))                         |
| Lhcgf         | $Lhcgf^{tm1Hht}/Lhcgf^{tm1Hht}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Lhx9          | $Lhx9^{tm1Lagc}/Lhx9^{tm1Lagc}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Lipe          | $Lipe^{tm1Saw}/Lipe^{tm1Gam}$<br>(involves: 129S4/SvJae)  |
| Lipe          | $Lipe^{tm1Lsh}/Lipe^{tm1Lsh}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Lipe          | $Lipe^{tm1Land}/Lipe^{tm1Land}$<br>(involves: 129 * C57BL/6J)   |
| Lmtk2         | $Lmtk2^{tm17ya}/Lmtk2^{tm17ya}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Lmx1a         | $Lmx1a^{dr-63}/Lmx1a^{dr-63}$<br>(C3H/HeJ)  |
| Lnp           | $Lnp^{d}/Lnp^{+}$<br>(involves: 101/H * C3H/HeJ)  |
| Lnp           | $Lnp^{d}/Lnp^{+}$<br>(involves: 101/H * C3H/HeJ * C57BL/6J)   |
| Lpin1         | $Lpin1^{flc-23}/Lpin1^{flc-23}$<br>(C3H/HeJ-Lpin1 <sup>flc-23</sup> /J)   |
| Lpin1         | $Lpin1^{flc}/Lpin1^{flc}$<br>(BALB/cByJ-Lpin1 <sup>flc</sup> )  |
| Lrp8          | $Lrp8^{tm1Her}/Lrp8^{tm1Her}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac)  |
| Lsr           | $Lsr^{tm1Mdr}/Lsr^{tm1Mdr}$<br>(either: (involves: 129P2/OlaHsd) or (involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6) or (involves: 129P2/OlaHsd * MF1)) |
| M1ap          | $M1ap^{Gt(RRQ290)8yg}/M1ap^{Gt(RRQ290)8yg}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)   |

[0155]

|          |  |
|----------|--|
| Mab2111  | Mab2111 <sup>tm1N99</sup> /Mab2111 <sup>tm1Kae</sup><br>(involves: C57BL/6)  |
| Mad2l2   | Mad2l2 <sup>tm1Pmw</sup> /Mad2l2 <sup>tm1Pmw</sup><br>(involves: 129 * C57BL/6J)   |
| Mael     | Mael <sup>tm1Bort</sup> /Mael <sup>tm1Bort</sup><br>(B6.129S4-Mael <sup>tm1Bort</sup> )  |
| Man2a2   | Man2a2 <sup>tm1PRU</sup> /Man2a2 <sup>tm1PRU</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)   |
| Map3k4   | Map3k4 <sup>tm1GJi</sup> /Map3k4 <sup>tm1GJi</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)  |
| Map7     | Map7 <sup>G(RGS&amp;Betagex)1Sor</sup> /Map7 <sup>G(RGS&amp;Betagex)1Sor</sup><br>(either: 129S4/SvJaeSor-Map7 <sup>G(RGS&amp;Betagex)1Sor</sup> or (involves: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6J)) |
| Map7     | Map7 <sup>msn1</sup> /Map7 <sup>msn1</sup><br>(BALB/cBy)   |
| Mapk8ip2 | Mapk8ip2 <sup>tm1Pjd</sup> /Mapk8ip2 <sup>tm1Kjd</sup><br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Mcm8     | Mcm8 <sup>tm1.1Gemo</sup> /Mcm8 <sup>tm1.1Gemo</sup><br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6J)   |
| Mcph1    | Mcph1 <sup>tm1.2Kall</sup> /Mcph1 <sup>tm1.2Kall</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Mdc1     | Mdc1 <sup>G(OST441263)Lex</sup> /Mdc1 <sup>G(OST441263)Lex</sup><br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Mecp2    | Mecp2 <sup>tm1.1Vnar</sup> /Mecp2 <sup>tm1.1Vnar</sup><br>(B6N.129-Mecp2 <sup>tm1.1Vnar</sup> )  |
| Mecp2    | Mecp2 <sup>tm1Vnar</sup> /Y<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6NCrI)  |
| Mei1     | Mei1 <sup>tm1Jen</sup> /Mei1 <sup>tm1Jen</sup><br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6J)  |
| Meig1    | Meig1 <sup>tm1.22Jha</sup> /Meig1 <sup>tm1.22Jha</sup><br>(Not Specified)  |
| Meig1    | Meig1 <sup>tm1Snp1</sup> /Meig1 <sup>tm1Snp1</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/c)  |
| Mgat2    | Mgat2 <sup>tm1.1Jem</sup> /Mgat2 <sup>tm1.1Jem</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICR)   |
| Mhstq1   | Mhstq1 <sup>M. macedonius</sup> /Mhstq1 <sup>M. macedonius</sup><br>(involves: C57BL/6J * M. macedonius)   |
| Mhstq2   | Mhstq2 <sup>M. macedonius</sup> /Mhstq2 <sup>M. macedonius</sup><br>(involves: C57BL/6J * M. macedonius)   |
| Mir9-3   | Mir9-3 <sup>tm1Sia</sup> /Mir9-3 <sup>tm1Sia</sup><br>(involves: C57BL/6 * CBA)  |
| Mitf     | Mitf <sup>PH-L.c</sup> /Mitf <sup>PH-L.c</sup><br>(CBA/CaCrc)  |
| Mitf     | Mitf <sup>emi-enu5</sup> /Mitf <sup>emi-enu5</sup><br>(involves: 102 * C3H/EI)   |

[0156]

|              |  |
|--------------|--|
| Mitf         | $Mitf^{tm1-PHdabcc2} / Mitf^{tm1-PHdabcc2}$<br>(C3HeB/FeJ)   |
| Mkks         | $Mkks^{tm1Vcs} / Mkks^{tm1Vcs}$<br>(either: (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) or (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)) |
| Mih1         | $Mih1^{tm1Lsk} / Mih1^{tm1Lsk}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd)   |
| Mih1         | $Mih1^{tm1Bak} / Mih1^{tm1Bak}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Mih1         | $Mih1^{tm1Wed} / Mih1^{tm1Wed}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6J * SJL)   |
| Mih3         | $Mih3^{tm1Lpkn} / Mih3^{tm1Lpkn}$<br>(involves: 129S/SvEv)   |
| Mmei1        | $Mmei1^{tm1Lsg} / Mmei1^{tm1Lsg}$<br>(involves: 129S/SvEv * MF1)   |
| Mns1         | $Mns1^{tm1Jw} / Mns1^{tm1Jw}$<br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Morc1        | $Morc1^{tm1Tyr1Aa} / Morc1^{tm1Tyr1Aa}$<br>(FVB/N)   |
| Mov10l1      | $Mov10l1^{tm1.2Eno} / Mov10l1^{tm1.2Eno}$<br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6)   |
| Mov10l1      | $Mov10l1^{tm1.2W} / Mov10l1^{tm1.2W}$<br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6 * FVB/N)   |
| Mpz          | $Mpz^{tm1} / Mpz^{tm1}$<br>(B6.Cg-Mpz <sup>tm1</sup> /GrnrJ)   |
| Msh4         | $Msh4^{tm1Wed} / Msh4^{tm1Wed}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6 * SJL)  |
| Msh4<br>Msh5 | $Msh4^{tm1Wed} / Msh4^{tm1Wed}$<br>$Msh5^{tm1Rak} / Msh5^{tm1Rak}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6 * SJL)                     |
| Msh5         | $Msh5^{tm1Htr} / Msh5^{tm1Htr}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * FVB)  |
| Msh5         | $Msh5^{tm1Rak} / Msh5^{tm1Rak}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6J * SJL)   |
| Mybl1        | $Mybl1^{tm1Egr2} / Mybl1^{tm1Egr2}$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Mybl1        | $Mybl1^{tm1Egr} / Mybl1^{tm1Egr}$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Mybl1        | $Mybl1^{tm1Egr} / Mybl1^{tm1Egr}$<br>(Not Specified)   |
| Myo7a        | $Myo7a^{sh1-63} / Myo7a^{sh1-63}$<br>(involves: C57BLKS/J)   |
| Nanos2       | $Nanos2^{tm1Ysa} / Nanos2^{tm1Ysa}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICR)  |
| Nanos3       | $Nanos3^{tm1Ysa} / Nanos3^{tm1Ysa}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICR)  |

[0157]

|               |   |
|---------------|---|
| Nek1          | <u>Nek1<sup>kat-21</sup>/Nek1<sup>kat-21</sup></u><br>(C57BL/6J-Nek1 <sup>kat-21/J</sup> )  |
| Nek1          | <u>Nek1<sup>kat</sup>/Nek1<sup>kat</sup></u><br>(involves: C3HeB/Fe1Le * RBF/Dn)  |
| Neur1a        | <u>Neur1a<sup>tm1Lcd</sup>/Neur1a<sup>tm1Lcd</sup></u><br>(Involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Nfia          | <u>Nfia<sup>tm1Rmg</sup>/Nfia<sup>tm1Rmg</sup></u><br>(involves: 129P2/OlaHsd * Black Swiss)  |
| Nhh2          | <u>Nhh2<sup>tm1Trk</sup>/Nhh2<sup>tm1Trk</sup></u><br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Nos1          | <u>Nos1<sup>tm1Pfb</sup>/Nos1<sup>tm1Pfb</sup></u><br>(Not Specified)   |
| Notch3        | <u>Notch3<sup>tm1Gsk</sup>/Notch3<sup>tm1Gsk</sup></u><br>(C57BL/6J-Notch3 <sup>tm1Gsk/Grsr1</sup> )  |
| Npc1          | <u>Npc1<sup>tm1N</sup>/Npc1<sup>tm1N</sup></u><br>(involves: BALB/c)  |
| Npepps        | <u>Npepps<sup>tm1Gsk</sup>/Npepps<sup>tm1Gsk</sup></u><br>(involves: 129P2/OlaHsd * BALB/cA)  |
| Nphp1         | <u>Nphp1<sup>tm1JHung</sup>/Nphp1<sup>tm1JHung</sup></u><br>(B6.Cg-Nphp1 <sup>tm1JHung</sup> )  |
| Nphp4         | <u>Nphp4<sup>tm1F32</sup>/Nphp4<sup>tm1F32</sup></u><br>(Involves: C57BL/6J)  |
| Nr0b1         | <u>Nr0b1<sup>tm1Lja/Y</sup></u><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)   |
| Nr5a1         | <u>Nr5a1<sup>tm1Hain</sup>/Nr5a1<sup>tm1Hain</sup></u><br>(Not Specified)   |
| Nr5a1<br>3Sac | <u>Nr5a1<sup>tm1Kip</sup>/Nr5a1<sup>tm1Kip</sup></u><br>Tg(Cqa-cre)3Sac/0<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * SJL)  |
| Nsun2         | <u>Nsun2<sup>GRC14D11/Wnt1</sup>/Nsun2<sup>GRC14D11/Wnt1</sup></u><br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6J * CBA)  |
| Nsun2         | <u>Nsun2<sup>tm1a(EUCOMM)WES1</sup>/Nsun2<sup>tm1a(EUCOMM)WES1</sup></u><br>(involves: C57BL/6N)  |
| Nup210l       | <u>Nup210l<sup>Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP;130910Eps</sup>/Nup210l<sup>Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP;130910Eps</sup></u><br>(FVB/NTac-Nup210l <sup>Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP;130910Eps/Mmh)</sup> ) |
| Nxf2          | <u>Nxf2<sup>tm1.23w/Y</sup></u><br>(involves: 129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Nxf2          | <u>Nxf2<sup>tm1.23w/Y</sup></u><br>(B6.Cg-Nxf2 <sup>tm1.23w</sup> )   |
| Nxph1         | <u>Nxph1<sup>tm1Sac</sup>/Nxph1<sup>tm1Sac</sup></u><br>(129S6/SvEvTac)   |
| Oaz3          | <u>Oaz3<sup>tm1Hain</sup>/Oaz3<sup>tm1Hain</sup></u><br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Oca2          | <u>Oca2<sup>P-6H</sup>/Oca2<sup>P-6H</sup></u><br>(involves: 101/H * C3H/HeH)   |

[0158]

|                      |  |
|----------------------|--|
| Oca2                 | $Oca2^{P-12DTR}/Oca2^{P-12DTR}$<br>(Involves: 101/RI * C3H/RI)   |
| Oca2                 | $Oca2^{P-103G}/Oca2^{P-103G}$<br>(Involves: 101/RI * C3H/RI)   |
| Oca2                 | $Oca2^{P-5}/Oca2^{P-5}$<br>(Not Specified)   |
| Ocln                 | $Ocln^{tm1Sls}/Ocln^{tm1Sls}$<br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Ocln                 | $Ocln^{tm2Sls}/Ocln^{tm2Sls}$<br>(Involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Odf1                 | $Odf1^{tm1Ghf}/Odf1^{tm1Ghf}$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)   |
| Odf2                 | $Odf2^{GK(M169)878}/Odf2^{+}$<br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Odf2                 | $Odf2^{tm1.2Sks}/Odf2^{+}$<br>(Involves: C57BL/6 * C57BL/6J)   |
| P2rx1                | $P2rx1^{tm1Qsr}/P2rx1^{tm1Qsr}$<br>(Involves: 129P2/OlaHsd * MF1)  |
| Pafah1b1             | $Pafah1b1^{GRI(PESbetageo)11Ma}/Pafah1b1^{GRI(PESbetageo)11Ma}$<br>(Involves: 129/Sv * NMRI)   |
| Pafah1b2             | $Pafah1b2^{GRI(Betageo)1C1a}/Pafah1b2^{GRI(Betageo)1C1a}$<br>(Involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Pafah1b2<br>Pafah1b3 | $Pafah1b2^{GRI(Betageo)1C1a}/Pafah1b2^{GRI(Betageo)1C1a}$<br>$Pafah1b3^{tm1C1a}/Pafah1b3^{tm1C1a}$<br>(Involves: 129S6/SvEvTac)                |
| Pafah1b2<br>Pafah1b3 | $Pafah1b2^{tm1Arai}/Pafah1b2^{tm1Arai}$<br>$Pafah1b3^{tm1Arai}/Pafah1b3^{tm1Arai}$<br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6N)                         |
| Paip2                | $Paip2^{tm1.2Nso}/Paip2^{tm1.2Nso}$<br>(B6.129-Paip2 <sup>tm1.2Nso</sup> )   |
| Paip2<br>Paip2b      | $Paip2^{tm1.2Nso}/Paip2^{tm1.2Nso}$<br>$Paip2b^{tm1.2Nso}/Paip2b^{tm1.2Nso}$<br>(B6.129-Paip2b <sup>tm1.2Nso</sup> Paip2 <sup>tm1.2Nso</sup> ) |
| Pank2                | $Pank2^{tm1.15Ujs}/Pank2^{tm1.15Ujs}$<br>(Involves: 129S/SvEv * C57BL/6J * FVB/N)  |
| Pank2                | $Pank2^{tm1Jst}/Pank2^{tm1Jst}$<br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6J)  |
| Pap01b               | $Pap01b^{tm1Tba}/Pap01b^{tm1Tba}$<br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)   |
| Patz1                | $Patz1^{tm1Pchi}/Patz1^{tm1Pchi}$<br>(Not Specified)   |
| Pax8                 | $Pax8^{tm1Psr}/Pax8^{tm1Psr}$<br>(either: (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) or (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6))                      |

[0159]

|                    |   |
|--------------------|---|
| Pdgfra<br>Plekha1  | Pdgfra <sup>tm1Sor</sup> /Pdgfra <sup>+</sup><br>Plekha1 <sup>GR(KOSA)82Sor</sup> /Plekha1 <sup>GR(KOSA)82Sor</sup><br>(either: (involves: 129S4/SvJaeSor) or (Involves: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))                                 |
| Pdgfra<br>Sgpi1    | Pdgfra <sup>tm1Sor</sup> /Pdgfra <sup>+</sup><br>Sgpi1 <sup>GR(KOSA)76Sor</sup> /Sgpi1 <sup>GR(KOSA)76Sor</sup><br>(either: (involves: 129S4/SvJaeSor) or (Involves: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))                                     |
| Pdgfrb<br>Plekha1  | Pdgfrb <sup>tm1Sor</sup> /Pdgfrb <sup>+</sup><br>Plekha1 <sup>GR(KOSA)82Sor</sup> /Plekha1 <sup>GR(KOSA)82Sor</sup><br>(either: (involves: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd) or (Involves: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)) |
| Pdgfrb<br>Sgpi1    | Pdgfrb <sup>tm1Sor</sup> /Pdgfrb <sup>+</sup><br>Sgpi1 <sup>GR(KOSA)76Sor</sup> /Sgpi1 <sup>GR(KOSA)76Sor</sup><br>(either: (involves: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd) or (Involves: 129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6))     |
| Pdilt              | Pdilt <sup>tm1Dsb</sup> /Pdilt <sup>tm1Csb</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas)   |
| Pex5<br>Plekha5    | Pex5 <sup>tm1Fec</sup> /Pex5 <sup>tm1Fec</sup><br>Plekha5 <sup>tm1Fec</sup> /Plekha5 <sup>tm1Fec</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv3)  |
| Pfdn5              | Pfdn5 <sup>tm1F5a</sup> /Pfdn5 <sup>tm1F5a</sup><br>(C57BL/6-Pfdn5 <sup>tm1F5a</sup> )  |
| Pgk2               | Pgk2 <sup>tm1Daa</sup> /Pgk2 <sup>tm1Daa</sup><br>(Involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6NCrl)   |
| Pgm3               | Pgm3 <sup>GR(N037806)Wes</sup> /Pgm3 <sup>mid1</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Pgm3               | Pgm3 <sup>mid1</sup> /Pgm3 <sup>mid1</sup><br>(C57BL/6-Pgm3 <sup>mid1</sup> )   |
| Pl4k2a             | Pl4k2a <sup>GR(AK0084)Wes</sup> /Pl4k2a <sup>GR(AK0084)Wes</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * BALB/c)   |
| Pick1              | Pick1 <sup>tm1Rb</sup> /Pick1 <sup>tm1Rb</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv3)  |
| Pifo               | Pifo <sup>tm1Hsb</sup> /Pifo <sup>+</sup><br>(chimera involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)   |
| Pip5k1a<br>Pip5k1b | Pip5k1a <sup>tm1Tba</sup> /Pip5k1a <sup>tm1Tba</sup><br>Pip5k1b <sup>tm1Tba</sup> /Pip5k1b <sup>tm1Tba</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Piwil1             | Piwil1 <sup>tm1.1Embry</sup> /Piwil1 <sup>+</sup><br>(Involves: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6)   |
| Piwil1             | Piwil1 <sup>tm1.1Embry</sup> /Piwil1 <sup>tm1.2Embry</sup><br>(Involves: 129S4/SvJaeSor * BALB/c) * C57BL/6)  |
| Piwil1             | Piwil1 <sup>tm1.2Embry</sup> /Piwil1 <sup>tm1.2Embry</sup><br>(Involves: 129S4/SvJaeSor * BALB/c) * C57BL/6)  |
| Piwil1             | Piwil1 <sup>tm1Rb</sup> /Piwil1 <sup>tm1Rb</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * C57BL/6J)   |
| Piwil2             | Piwil2 <sup>tm1.1Doca</sup> /Piwil2 <sup>tm1.1Doca</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * 129S4/SvJaeSor * C57BL/6J)  |

[0160]

|         |  |
|---------|--|
| Piwi12  | Piwi12 <sup>tm11Rkn</sup> /Piwi12 <sup>tm11Rkn</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)  |
| Plcd4   | Plcd4 <sup>tm11Kfu</sup> /Plcd4 <sup>tm11Kfu</sup><br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6J)   |
| Pld6    | Pld6 <sup>tm11Hsas</sup> /Pld6 <sup>tm11Hsas</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)  |
| Pld6    | Pld6 <sup>tm11Hsf</sup> /Pld6 <sup>tm11Hsf</sup><br>(Involves: C57BL/6)  |
| Plekha1 | Plekha1 <sup>GR(O5A)825or</sup> /Plekha1 <sup>GR(O5A)825or</sup><br>(either: (involves: 129S4/SvJaeSor) or (involves: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6))   |
| Plekha5 | Plekha5 <sup>Tg(AH1-cre)1Flor/0</sup><br>Wt1 <sup>tm11Jae</sup> /Wt1 <sup>tm11Jae</sup><br>(Involves: 129S4/SvJae * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6 * SJL) |
| Plin2   | Plin2 <sup>GR(O5T170322)1lex</sup> /Plin2 <sup>GR(O5T170322)1lex</sup><br>(Involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)                                     |
| Pmis2   | Pmis2 <sup>tm11Csk</sup> /Pmis2 <sup>tm11Csk</sup><br>(Involves: 129 * C57BL/6)  |
| Pms2    | Pms2 <sup>tm11Lsk</sup> /Pms2 <sup>tm11Lsk</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)  |
| Pms2    | Pms2 <sup>tm11Lsk</sup> /Pms2 <sup>tm11Lsk</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas)  |
| Pomgnt1 | Pomgnt1 <sup>GR(O5T179231)1lex</sup> /Pomgnt1 <sup>GR(O5T179231)1lex</sup><br>(Involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)                                 |
| Pomk    | Pomk <sup>GR(O5T243203)1lex</sup> /Pomk <sup>GR(O5T243203)1lex</sup><br>(Involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6J)                                       |
| Ppm1d   | Ppm1d <sup>tm11Lsd</sup> /Ppm1d <sup>tm11Lsd</sup><br>(Involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Ppp1cc  | Ppp1cc <sup>tm11Ver</sup> /Ppp1cc <sup>tm11Ver</sup><br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)  |
| Prdm9   | Prdm9 <sup>tm11Pm7</sup> /Prdm9 <sup>tm11Pm7</sup><br>(B6.C3Fe-Prdm9 <sup>tm11Pm7</sup> /J)  |
| Prdm9   | Prdm9 <sup>tm11Ymat</sup> /Prdm9 <sup>tm11Ymat</sup><br>(Involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Prdm14  | Prdm14 <sup>tm11Ssk</sup> /Prdm14 <sup>tm11Ssk</sup><br>(B6.129P2-Prdm14 <sup>tm11Ssk</sup> )  |
| Prkaca  | Prkaca <sup>tm11Gsm</sup> /Prkaca <sup>tm11Gsm</sup><br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Prkaca  | Prkaca <sup>tm11Gsm</sup> /Prkaca <sup>tm11Gsm</sup><br>(Involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Prkdc   | Prkdc <sup>tm11Doe</sup> /Prkdc <sup>tm11Doe</sup><br>Tafb1 <sup>tm11Doe</sup> /Tafb1 <sup>tm11Doe</sup><br>(Involves: 129 * C3H * CF-1)           |
| Prlr    | Prlr <sup>tm11Cag</sup> /Prlr <sup>tm11Cag</sup><br>(either: (involves: 129/Sv * 129P2/OlaHsd) or (involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6))              |

[0161]

|        |   |
|--------|---|
| Prlr   | $\text{Prlr}^{\text{tm1Cng}}/\text{Prlr}^{\text{tm1Cng}}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * 129S2/SvPas)   |
| Prnd   | $\text{Prnd}^{\text{tm1Aag}}/\text{Prnd}^{\text{tm1Aag}}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)   |
| Prnd   | $\text{Prnd}^{\text{tm1Dwm}}/\text{Prnd}^{\text{tm1Dwm}}$<br>(129P2/OlaHsd)   |
| Prnp   | $\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Aag}}/\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Aag}}$<br>(Not Specified)  |
| Prnp   | $\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Aag}}/\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Aag}}$<br>(Not Specified)  |
| Prnp   | $\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Dwm}}/\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Dwm}}$<br>(129P2/OlaHsd)   |
| Prnp   | $\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Dwm}}/\text{Prnp}/\text{Prnd}^{\text{tm1Dwm}}$<br>(129P2/OlaHsd)   |
| Prop1  | $\text{Prop1}^{\text{of}}/\text{Prop1}^{\text{of}}$<br>(STOCK Prop1 <sup>of</sup> )   |
| Ptch1  | $\text{Ptch1}^{\text{mes}}/\text{Ptch1}^{\text{mes}}$<br>(B6C3Fe a/a-Ptch1 <sup>mes</sup> )   |
| Ptdss2 | $\text{Ptdss2}^{\text{GL(KST114)Byg}}/\text{Ptdss2}^{\text{GL(KST114)Byg}}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Pth2   | $\text{Pth2}^{\text{tm1Vcg}}/\text{Pth2}^{\text{tm1Vcg}}$<br>(involves: 129 * C57BL/6)  |
| Pvrl2  | $\text{Pvrl2}^{\text{tm1Svj}}/\text{Pvrl2}^{\text{tm1Svj}}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6 * DBA/2)  |
| Pvrl2  | $\text{Pvrl2}^{\text{tm1Svj}}/\text{Pvrl2}^{\text{tm1Svj}}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Pvrl3  | $\text{Pvrl3}^{\text{tm1Yk}}/\text{Pvrl3}^{\text{tm1Yk}}$<br>(either: (involves: 129X1/SvJ * C57BL * DBA) or (involves: 129X1/SvJ * BALB/cA * C57BL * DBA)) |
| Rabl2  | $\text{Rabl2}^{\text{mot}}/\text{Rabl2}^{\text{mot}}$<br>(involves: C57BL/6 * CBA)  |
| Rabl2  | $\text{Rabl2}^{\text{mot}}/\text{Rabl2}^{\text{mot}}$<br>(C57BL/6(CBA)-Rabl2 <sup>mot</sup> )   |
| Rad21l | $\text{Rad21l}^{\text{tm1Amp}}/\text{Rad21l}^{\text{tm1Amp}}$<br>(involves: 129 * C57BL/6)  |
| Rad23b | $\text{Rad23b}^{\text{tm1Gch}}/\text{Rad23b}^{\text{tm1Gch}}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Rad51c | $\text{Rad51c}^{\text{tm1Sks}}/\text{Rad51c}^{\text{tm1Sks}}$<br>(involves: 129/Sv * C57BL/6J * FVB/N)  |
| Ranbp1 | $\text{Ranbp1}^{\text{tm1Ys}}/\text{Ranbp1}^{\text{tm1Ys}}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)  |
| Ranbp9 | $\text{Ranbp9}^{\text{GL(RHAD56)Byg}}/\text{Ranbp9}^{\text{GL(RHAD56)Byg}}$<br>(B6.129P2-Ranbp9 <sup>GL(RHAD56)Byg</sup> )                                  |
| Rara   | $\text{Rara}^{\text{tm1Ipc}}/\text{Rara}^{\text{tm1Ipc}}$<br>(involves: 129S2/SvPas)  |

[0162]

|         |  |
|---------|--|
| Rara    | Rara <sup>tm1ipc</sup> /Rara <sup>tm1ipc</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)  |
| Rara    | Rara <sup>tm3.1ipc</sup> /Rara <sup>tm3.1ipc</sup><br>(Involves: 129/Sv * C57BL/6 * SJL)                                       |
| Rarg    | Rarg <sup>tm1ipc</sup> /Rarg <sup>tm1ipc</sup><br>(Involves: 129S2/SvPas)  |
| Rarg    | Rarg <sup>tm1.1ipc</sup> /Rarg <sup>tm1.1ipc</sup><br>(Involves: C57BL/6 * SJL)  |
| Rec8    | Rec8 <sup>tm5Mjm</sup> /Rec8 <sup>tm1Mjm</sup><br>(either: (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ) or (involves: 129S1/Sv * C57BL/6)) |
| Rein    | Rein <sup>1</sup> /Rein <sup>1</sup><br>(Not Specified)  |
| repro2  | repro2/repro2<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro3  | repro3/repro3<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro4  | repro4/repro4<br>(B6;C3Fe-repro4/3)  |
| repro10 | repro10/repro10<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro12 | repro12/repro12<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro13 | repro13/repro13<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro14 | repro14/repro14<br>(B6;C3Fe-repro14/3)   |
| repro15 | repro15/repro15<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro16 | repro16/repro16<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro17 | repro17/repro17<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro20 | repro20/repro20<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro21 | repro21/repro21<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro22 | repro22/repro22<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro23 | repro23/repro23<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro24 | repro24/repro24<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| repro26 | repro26/repro26<br>(Involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |

[0163]

|         |   |
|---------|---|
| repro27 | <u>repro27/repro27</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro28 | <u>repro28/repro28</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro29 | <u>repro29/repro29</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro30 | <u>repro30/repro30</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro31 | <u>repro31/repro31</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro33 | <u>repro33/repro33</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro36 | <u>repro36/repro36</u><br>(B6;C3Fe-repro36/J)   |
| repro46 | <u>repro46/repro46</u><br>(B6;C3Fe-repro46/J)   |
| repro47 | <u>repro47/repro47</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro48 | <u>repro48/repro48</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro49 | <u>repro49/repro49</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro50 | <u>repro50/repro50</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro51 | <u>repro51/repro51</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro52 | <u>repro52/repro52</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro53 | <u>repro53/repro53</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro54 | <u>repro54/repro54</u><br>(involves: C3HeB/Fe) * C57BL/6J)  |
| repro57 | <u>repro57/repro57</u><br>(B6;C3Fe-repro57/J)   |
| Ret     | <u>Ret<sup>tm2.1Cos</sup>/Ret<sup>tm2.1Cos</sup></u><br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6J * FVB/N)                         |
| Rimbp3  | <u>Rimbp3<sup>tm1Gsu</sup>/Rimbp3<sup>tm1Gsu</sup></u><br>(involves: 129/Sv * ICR)                                      |
| Rnf8    | <u>Rnf8<sup>GRRFP26015yg</sup>/Rnf8<sup>GRRFP26015yg</sup></u><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)                    |
| Rnf17   | <u>Rnf17<sup>tm1Dw</sup>/Rnf17<sup>tm1Dw</sup></u><br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Rnf41   | <u>Rnf41<sup>TgTn[sh-rTA,1yr]248CCDys</sup>/Rnf41<sup>TgTn[sh-rTA,7yr]248CCDys</sup></u><br>(involves: C57BL/6 * FVB/N) |

[0164]

|          |   |
|----------|---|
| Rorb     | $Rorb^{mi18Br}/Rorb^{mi18Br}$<br>(C57BL/6J-Rorb <sup>mi18Br</sup> )   |
| Ros1     | $Ros1^{tm1Ckm}/Ros1^{tm1Ckm}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)   |
| Ros1     | $Ros1^{tm1Ckm}/Ros1^{tm1Ckm}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Ros1     | $Ros1^{tm2Ckm}/Ros1^{tm2Ckm}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)   |
| Rsph1    | $Rsph1^{tm1Rtan}/Rsph1^{tm1Rtan}$<br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6J)  |
| Runx1t1  | $Runx1t1^{tm1Pc}/Runx1t1^{tm1Pc}$<br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6)  |
| Rxfp2    | $Rxfp2^{tm1Aia}/Rxfp2^{tm1Aia}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/N)   |
| Rxfp2    | $Rxfp2^{tm1Aia}/Rxfp2^{tm1Aia}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)   |
| Rxrb     | $Rxrb^{tm1Ipc}/Rxrb^{tm1Ipc}$<br>(involves: 129S2/SvPas)  |
| Safb     | $Safb^{tm1So}/Safb^{tm1So}$<br>(involves: 129 * C57BL/6J)   |
| Sbf1     | $Sbf1^{tm1Mlc}/Sbf1^{tm1Mlc}$<br>(involves: C57BL/6)  |
| Scmh1    | $Scmh1^{tm1So}/Scmh1^{tm1So}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Sept4    | $Sept4^{tm1Hs}/Sept4^{tm1Hs}$<br>(involves: 129/Sv * 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)   |
| Sept4    | $Sept4^{tm1Ksh}/Sept4^{tm1Ksh}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6J)   |
| Sept12   | $Sept12^{tm1IPk}/Sept12^{+}$<br>(chimera involves: 129/Sv * C57BL/6)  |
| Serpina5 | $Serpina5^{tm1Gel}/Serpina5^{tm1Gel}$<br>(involves: 129/Sv * Swiss)   |
| Serpine2 | $Serpine2^{tm1Dms}/Serpine2^{tm1Dms}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)   |
| Sgol2    | $Sgol2^{GR(D625603)Wst}/Sgol2^{GR(D625603)Wst}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)                                      |
| Sgp1     | $Sgp1^{GR(R6A)78Sor}/Sgp1^{GR(R6A)78Sor}$<br>(either: (involves: 129S4/SvJaeSor) or (involves: 129S4/SvJaeSor * C57BL/6)) |
| Sh3pxd2b | $Sh3pxd2b^{hee}/Sh3pxd2b^{hee}$<br>(B10.Cg-H2 <sup>h4</sup> Sh3pxd2b <sup>hee</sup> /GrsrJ)                               |
| Siah1a   | $Siah1a^{tm1Dnl}/Siah1a^{tm1Dnl}$<br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6J)  |
| Sirt1    | $Sirt1^{tm1Mcd}/Sirt1^{tm1Mcd}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)  |

[0165]

|          |  |
|----------|--|
| Sit1     | $Sirt1^{tm1Mcb}/Sirt1^{tm1Mcb}$<br>(129/Sv-Sirt1 <sup>tm1Mcb</sup> )                       |
| Sit1     | $Sirt1^{tm1Mcb}/Sirt1^{tm1Mcb}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)                        |
| Sit1     | $Sirt1^{tm2.1Mcb}/Sirt1^{tm2.1Mcb}$<br>(Involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1)             |
| Sit6     | $Sirt6^{tm2.1Csd}/Sirt6^{tm2.1Csd}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * NIH Black Swiss)         |
| Sit6     | $Sirt6^{tm2.2Csd}/Sirt6^{tm2.2Csd}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * FVB/N * NIH Black Swiss) |
| Six5     | $Six5^{tm1Pdd}/Six5^{tm1Red}$<br>(129S4/SvJae-Six5 <sup>tm1Red</sup> )                     |
| Sic4a2   | $Sic4a2^{tm1Msd}/Sic4a2^{tm1Msd}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * FVB)                        |
| Sic9a3   | $Sic9a3^{tm1Gss}/Sic9a3^{tm1Gss}$<br>(Not Specified)                                       |
| Sic9a8   | $Sic9a8^{Gz/VH273}Byg/Sic9a8^{Gz/VH273}Byg$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * Black Swiss)      |
| Sic9c1   | $Sic9c1^{tm1Gar}/Sic9c1^{tm1Gar}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)                  |
| Sic12a2  | $Sic12a2^{tm1Blk}/Sic12a2^{tm1Blk}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * DBA/2J)        |
| Sic12a2  | $Sic12a2^{tm2Blk}/Sic12a2^{tm2Blk}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J * DBA/2J)        |
| Sic19a2  | $Sic19a2^{tm1Fb}/Sic19a2^{tm1Fb}$<br>(involves: 129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac)               |
| Sic19a2  | $Sic19a2^{tm1Gelb}/Sic19a2^{tm1Gelb}$<br>(involves: 129X1/SvJ)                             |
| Sic25a31 | $Sic25a31^{tm1Rte}/Sic25a31^{tm1Rts}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)        |
| Sic26a8  | $Sic26a8^{tm1Gac}/Sic26a8^{tm1Gac}$<br>(involves: 129S/SvEvBrd)                            |
| Smc1b    | $Smc1b^{tm1Ham}/Smc1b^{tm1Ham}$<br>(involves: C57BL/6Jcl * DBA/2Jcl * ICR)                 |
| Smc1b    | $Smc1b^{tm1Jss}/Smc1b^{tm2.2Jss}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6 * SJL)             |
| Smcp     | $Smcp^{tm1Wes}/Smcp^{tm1Wes}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)                          |
| Snai2    | $Snai2^{tm2Gld}/Snai2^{tm2Gld}$<br>(involves: 129S1/Sv)                                    |
| Sohlh2   | $Sohlh2^{tm1Mva}/Sohlh2^{tm1Mva}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)                    |
| Sox3     | $Sox3^{tm1Phe/Y}$<br>(chimera involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 * DBA/2)            |

[0166]

|         |  |
|---------|--|
| Sp4     | $Sp4^{tm15sp}/Sp4^{tm15sp}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * CF-1)   |
| Sp4     | $Sp4^{tm15as}/Sp4^{tm15as}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Spaca1  | $Spaca1^{tm1.105}/Spaca1^{tm1.105}$<br>(Involves: 129S2/SvPas * C57BL * C57BL/6N * DBA)                          |
| Spag6   | $Spag6^{tm12f}/Spag6^{tm12f}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6J)  |
| Spag16  | $Spag16^{tm12f}/Spag16^{*}$<br>(chimera involves: 129/Sv * C57BL/6J)   |
| Spag16  | $Spag16^{tm20f}/Spag16^{tm20f}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Spata22 | $Spata22^{repro42}/Spata22^{repro42}$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Spef2   | $Spef2^{gh}/Spef2^{gh}$<br>(involves: C57BL/6J * C57BL/10J)  |
| Spef2   | $Spef2^{bch}/Spef2^{gh}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J * C57BL/10J)                                     |
| Spem1   | $Spem1^{tm1Wyan}/Spem1^{tm1Wyan}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)                                 |
| Spo11   | $Spo11^{tm105}/Spo11^{tm105}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)   |
| Spo11   | $Spo11^{tm105}/Spo11^{tm105}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd)  |
| Spo11   | $Spo11^{tm105}/Spo11^{tm105}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Sptbn4  | $Sptbn4^{ev-10}/Sptbn4^{ev-10}$<br>(involves: BALB/cJ * C57BL/6J)  |
| Sptbn4  | $Sptbn4^{ev-11}/Sptbn4^{ev-11}$<br>(C57BL/6J-Sptbn4 <sup>ev-11</sup> /J)   |
| Sptbn4  | $Sptbn4^{ev-ind}/Sptbn4^{ev-ind}$<br>(B6.B10-Sptbn4 <sup>ev-ind</sup> )  |
| Stam    | $Stam^{tm15sp}/Stam^{tm15sp}$<br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Stk11   | $Stk11^{tm1Kels}/Stk11^{tm1Kels}$<br>(Not Specified)   |
| Stk36   | $Stk36^{tm1F6}/Stk36^{tm1F6}$<br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Stx2    | $Stx2^{repro34}/Stx2^{repro34}$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Stx2    | $Stx2^{tm1Dcr1}/Stx2^{tm1Dcr1}$<br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6J)  |
| Styx    | $Styx^{tm1.12ed}/Styx^{tm1.12ed}$<br>(either: (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6) or (involves: C57BL/6)) |

[0167]

|                |  |
|----------------|--|
| Styx           | $SvX_{tm1Dsd}/SvX_{tm1Dsd}$<br>(either: (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6) or (involves: C57BL/6))                       |
| Sun1           | $Sun1_{tm1Xkl}/Sun1_{tm1Lp1}$<br>(involves: C57BL/6J * FVB/N)  |
| Sun1           | $Sun1_{tm1Mhaa}/Sun1_{tm1Mhaa}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac)   |
| Swm2           | $swm2/swm2$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6J)  |
| Swm6           | $swm6/swm6$<br>(involves: C3HeB/FeJ * C57BL/6)   |
| Syce1          | $Syce1_{tm1Hgu}/Syce1_{tm1Hgu}$<br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)   |
| Syce2          | $Syce2_{GR/FHCRC-GT-58-7E1J/Sol}/Syce2_{GR/FHCRC-GT-58-7E1J/Sol}$<br>(involves: C57BL/6)   |
| Syce3          | $Syce3_{tm1Rben}/Syce3_{tm1Rben}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Sycp1          | $Sycp1_{tm1Lap}/Sycp1_{tm1Lap}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Sycp2          | $Sycp2_{tm1Lw}/Sycp2_{tm1Lw}$<br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Sycp3          | $Sycp3_{tm1Hooq}/Sycp3_{tm1Hooq}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)  |
| Taldo1         | $Taldo1_{tm1Fer1}/Taldo1_{tm1Fer1}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)   |
| Tarbp2         | $Tarbp2_{tm1Rab}/Tarbp2_{tm1Rab}$<br>(Not Specified)   |
| Tbpl1          | $Tbpl1_{tm1Rgr}/Tbpl1_{tm1Rgr}$<br>(involves: C57BL/6)   |
| Tbpl1          | $Tbpl1_{tm1Sacc}/Tbpl1_{tm1Sacc}$<br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)   |
| Tcte3          | $Tcte3_{tm1Juse}/Tcte3_{tm1Juse}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J)   |
| Tdrd1          | $Tdrd1_{tm1Chem}/Tdrd1_{tm1Chem}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)  |
| Tdrd5          | $Tdrd5_{tm1Sak}/Tdrd5_{tm1Sak}$<br>(involves: C57BL/6 * CBA)   |
| Tdrd6          | $Tdrd6_{tm1Chem}/Tdrd6_{tm1Chem}$<br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)   |
| Tdrd6<br>Tdrd7 | $Tdrd6_{tm1Chem}/Tdrd6_{tm1Chem}$<br>$Tdrd7_{tm1Chem}/Tdrd7_{tm1Chem}$<br>(involves: 129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac * C57BL/6)      |
| Tdrd6          | $Tdrd6_{tm1Jesa}/Tdrd6_{tm1Jesa}$<br>(either: (involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6) or (involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6)) |

[0168]

|               |  |
|---------------|--|
| Tdrd7         | Tdrd7 <sup>nmf166</sup> /Tdrd7 <sup>nmf168</sup><br>(involves: C3H * C57BL/6J)                     |
| Tdrd7         | Tdrd7 <sup>nmf1Cham</sup> /Tdrd7 <sup>nmf1Cham</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6)        |
| Tdrd9         | Tdrd9 <sup>nmf1JCham</sup> /Tdrd9 <sup>nmf1JCham</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL) |
| Tekt2         | Tekt2 <sup>nmf12401Lex</sup> /Tekt2 <sup>nmf12401Lex</sup><br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)  |
| Tex11<br>2Mrt | Tex11 <sup>nmf1Jw/Y</sup><br>Tg(ACFB-cre)2Mrt/0<br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6 * FVB/N)       |
| Tex12         | Tex12 <sup>nmf1Hoog</sup> /Tex12 <sup>nmf1Hoog</sup><br>(involves: 129S2/SvPas)                    |
| Tex14         | Tex14 <sup>nmf1Zuk</sup> /Tex14 <sup>nmf1Zuk</sup><br>(129S6/SvEvTac)                              |
| Tex14         | Tex14 <sup>nmf1Zuk</sup> /Tex14 <sup>nmf1Zuk</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)         |
| Tex15         | Tex15 <sup>nmf1Jw</sup> /Tex15 <sup>nmf1Jw</sup><br>(involves: 129S4/SvJae * C57BL/6)              |
| Tex1011Anak   | Tex1011 <sup>nmf1Cob</sup> /Tex1011 <sup>nmf1Cob</sup><br>(involves: C57BL/6NCR)                   |
| Theg          | Theg <sup>Tg(PDE5A)1Ynk</sup> /Theg <sup>Tg(PDE5A)1Ynk</sup><br>(involves: C3H)                    |
| Tial1         | Tial1 <sup>nmf1Met</sup> /Tial1 <sup>nmf1Met</sup><br>(involves: 129S2/SvPas * C57BL/6)            |
| Tim           | Tim <sup>Tg(17βSLw)</sup> /Tim <sup>+</sup><br>(involves: C57BL/6J * DBA/2J)                       |
| Tir6          | Tir6 <sup>nmf4Bdr</sup> /Tir6 <sup>nmf4Bdr</sup><br>(C57BL/6J-Tir6 <sup>nmf4Bdr</sup> )            |
| Tmf1          | Tmf1 <sup>nmf1Udr</sup> /Tmf1 <sup>nmf1Udr</sup><br>(involves: 129/Sv * ICR)                       |
| Tnp1          | Tnp1 <sup>nmf1Mbr</sup> /Tnp1 <sup>nmf1Mbr</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)           |
| Tnp2          | Tnp2 <sup>nmf1Wen</sup> /Tnp2 <sup>nmf1Wen</sup><br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/SvJ)               |
| Tpgs1         | Tpgs1 <sup>nmf1OSA2205w</sup> /Tpgs1 <sup>nmf1OSA2205w</sup><br>(involves: 129S/SvEv * C57BL/6)    |
| Tpst2         | Tpst2 <sup>nmf1Kim</sup> /Tpst2 <sup>nmf1Kim</sup><br>(involves: 129S6/SvEvTac * 129S7/SvEvBrd)    |
| Trp73         | Trp73 <sup>nmf1Mak</sup> /Trp73 <sup>nmf1Mak</sup><br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6J)          |
| Tsc22d3       | Tsc22d3 <sup>nmf1Jw/Y</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6)                                 |
| Tshr          | Tshr <sup>nmf1Jw</sup> /Tshr <sup>nmf1Jw</sup><br>(involves: BALB/cByJ * RF/J)                     |

[0169]

|             |  |
|-------------|--|
| Tssk1/Tssk2 | $Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}/Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}$<br>(B6.129S5-Tssk1/Tssk2 <sup>tm1.1Agr</sup> )                       |
| Tssk1/Tssk2 | $Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}/Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}$<br>(B6.129S5-Tssk1/Tssk2 <sup>tm1.1Agr</sup> )                       |
| Tssk1/Tssk2 | $Tssk1/Tssk2^{tm1.Joch}/Tssk1^+$<br>(chimera involves: 129X1/SvJ)  |
| Tssk1/Tssk2 | $Tssk1/Tssk2^{tm1.Joch}/Tssk2^+$<br>(chimera involves: 129X1/SvJ)  |
| Tssk6       | $Tssk6^{tm1.Gri}/Tssk6^{tm1.Gri}$<br>(involves: 129 * C57BL/6)   |
| Ttli1       | $Ttli1^{G(DS1772941)1.ox}/Ttli1^{G(CST372941)1.ox}$<br>(involves: 129S5/SvEvBrd * C57BL/6)                           |
| Tyr         | $Tyr^{C-47H}/Tyr^{C-47H}$<br>(involves: 101/H * C3H/HeH)   |
| Tyrp1       | $Tyrp1^{D-1FCHE}/Tyrp1^{D-1FCHE}$<br>(involves: 101/RI * C3H/RI)   |
| Ubb         | $Ubb^{tm1.Rs}/Ubb^{tm1.Psk}$<br>(involves: 129S1/Sv * 129X1/Sv) * C57BL/6)   |
| Ube2b       | $Ube2b^{tm1.Hh}/Ube2b^{tm1.Jhh}$<br>(either: (involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6) or (involves: 129P2/OlaHsd * FVB/N)) |
| Ube2b       | $Ube2b^{tm1.Hh}/Ube2b^{tm1.Jhh}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * FVB/N)   |
| Ubr2        | $Ubr2^{tm1.Yks}/Ubr2^{tm1.Yks}$<br>(involves: 129S1/Sv * C57BL/6)  |
| Unc5c       | $Unc5c^{tm1}/Unc5c^{tm1}$<br>(C57BL/6J-Unc5c <sup>tm1</sup> )  |
| Usp1        | $Usp1^{tm1.1Adp}/Usp1^{tm1.1Ace}$<br>(C57BL/6-Usp1 <sup>tm1.1Ada</sup> )   |
| Usp14       | $Usp14^{ex-1}/Usp14^{ex-1}$<br>(involves: STOCK Mafb <sup>tr</sup> )   |
| Utp14b      | $Utp14b^{sd}/Utp14b^{sd}$<br>(involves: C3H/HeJ) * C57BL/6J)   |
| Vangl2      | $Vangl2^{Lp}/Vangl2^{Lp}$<br>(B6.A(Cg)-Vangl2 <sup>Lp</sup> )  |
| Vangl2      | $Vangl2^{ska17}/Vangl2^{ska17}$<br>(involves: 129S6/SvEvTac * C57BL/6J)  |
| Vdac3       | $Vdac3^{tm1.Wjz}/Vdac3^{tm1.Wjz}$<br>(Not Specified)   |
| Vdr         | $Vdr^{tm1.Ska}/Vdr^{tm1.Ska}$<br>(involves: C57BL/6 * CBA)   |
| Vrk1        | $Vrk1^{G(RRE178)0y2}/Vrk1^{G(RRE178)0y2}$<br>(involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6)                                      |
| Vsx2        | $Vsx2^{20r-21}/Vsx2^{20r-21}$<br>(NOR2/LtDn-Vsx2 <sup>20r-21</sup> /J)   |

[0170]

|        |   |
|--------|---|
| Wnt7a  | Wnt7a <sup>Ex-22</sup> /Wnt7a <sup>Ex-22</sup><br>(B6;C3Fe-Wnt7a <sup>Ex-22</sup> /GrsrJ)             |
| Wnt7a  | Wnt7a <sup>Ex-1</sup> /Wnt7a <sup>Ex-1</sup><br>(C57BL/6J-Wnt7a <sup>Ex-1</sup> /GrsrJ)               |
| Wnt7a  | Wnt7a <sup>tm</sup> /Wnt7a <sup>tm</sup><br>(involves: STOCK Sox18 <sup>Ra</sup> )                    |
| Wnt7a  | Wnt7a <sup>tm3Amc</sup> /Wnt7a <sup>tm1Amc</sup><br>(involves: 129S1/Sv)                              |
| Wt1    | Wt1 <sup>tm2Hst</sup> /Wt1 <sup>+</sup><br>(chimera involves: 129P2/OlaHsd * C57BL/6JLac * CBA/CaLac) |
| Ybx2   | Ybx2 <sup>tm18Nth</sup> /Ybx2 <sup>tm18Nth</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd)                         |
| Ybx3   | Ybx3 <sup>tm1Lay</sup> /Ybx3 <sup>tm1Lay</sup><br>(involves: 129X1/SvJ * C57BL/6)                     |
| Zbtb16 | Zbtb16 <sup>tm15Rc</sup> /Zbtb16 <sup>tm15Rc</sup><br>(involves: C57BL/6 * Swiss)                     |
| Zbtb16 | Zbtb16 <sup>tm15Rc</sup> /Zbtb16 <sup>tm15Rc</sup><br>(involves: C57BL/6)                             |
| Zbtb16 | Zbtb16 <sup>tm</sup> /Zbtb16 <sup>tm</sup><br>(Not Specified)   |
| Zc3hc1 | Zc3hc1 <sup>tm1.2Dey</sup> /Zc3hc1 <sup>tm1.2Dey</sup><br>(B6.129S6(Cg)-Zc3hc1 <sup>tm1.2Dey</sup> )  |
| Zfp148 | Zfp148 <sup>tm1Kt</sup> /Zfp148 <sup>+</sup><br>(Not Specified)                                       |
| Zfp384 | Zfp384 <sup>tm1Trk</sup> /Zfp384 <sup>tm1Trk</sup><br>(involves: C57BL/6 * CBA)                       |
| Zglp1  | Zglp1 <sup>tm1Ears</sup> /Zglp1 <sup>tm1Ears</sup><br>(((129X1/SvJ x 129S1/Sv)F1-Kitl <sup>+</sup> )  |
| Zpbp   | Zpbp <sup>tm1Zuk</sup> /Zpbp <sup>tm1Zuk</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)                |
| Zpbp2  | Zpbp2 <sup>tm1Zuk</sup> /Zpbp2 <sup>tm1Zuk</sup><br>(involves: 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)              |

[0171]

[0172]

다른 실시태양에서, 생식 세포는 정자형성 유전자로부터 선택되며, 이의 예시적 예는 전문이 참조로 포함된 미국특허출원 공개공보 2005/017943에 개시된 것들을 포함한다. 대표적 유전자는 본 공개공보의 SEQ ID NOs: 1 - 89에 나열된 핵산 서열을 가진 전사체를 포함하는 유전자를 포함한다. 이런 유전자의 비-제한적인 예는 AKAP110, Rbcc728, Trim36, Noppl40, ATR, HSpb, 스페진-1, 아릴설파타아제 A, 드락틴블라(Drctnmb1a), CDC14B, 시스템인-관련 정소상체 정자형성 단백질(cystatin-related epididymal spermatogenic protein), 임신-유도 성장 억제제, 지방산 코엔자임 A 리가아제, 긴 사슬, Fern, 주요 80,000 Mr 섬유 덩개 구성요소, 글리세롤 포스페이트 탈수소효소 1, 미토콘드리아, 1 함유 Lim 도메인, oaz-t, pctp-1, 교환-특이적 포스포글리세라이트 키나아제, 포스포리파제 C 델타 4, 프로타민 1, 프로타민 2, scot-t1, scot-t2, 미토콘드리아 캡슐 셀레노단백질, 스페진(Spehzin), oppo 1, Gal beta-1, 3-GalNAc-특이적 GalNAc alpha-2, 6-살리실트랜스페라제, 융합 동족체의 억제제, t-액틴 1, t-액틴 2, t-복합체 Tcp-10a, tektin-t, teek 1, TP-2, tsec-1, tssk 1.2 기질, 세린/트레오닌 키나아제 22B (정자형성 관련), tsga2, Gapd-S, 메이크로아시딘, halap-X, Ssecks, gsgl, haspin, gsg3, hils1, shippol, 및 추정 리소포스파티드산 아실트랜스페라제를 포함한다.

[0173]

유리한 실시태양에서, 생식 유전자는 성 염색체 상에 위치한 유전자이다. 이런 형태의 예시적 예에서, GILZ(TSC22d3)와 같으나 이에 제한되지 않는 생식 유전자(즉, X-연결 생식 유전자)는 X 염색체 상에 위치된다.

[0174]

생식 유전자는 임의의 적절한 기술을 사용하여 파괴될 수 있다. 일부 실시태양에서, 파괴는 표적 구조체를 사용하여 실행되며, 표적 구조체에서 생식 유전자의 일부는 표적 카세트와 표적 위치 사이의 동형 재조합을 허용하도록 세포 계능에서 표적 위치의 지역과 충분히 동일한 표적 카세트의 두 플랭킹 부분 사이에 작동가능하게 위치된다. 예를 들어, 표적 위치는 생식 유전자의 엑손 또는 암호화 서열 또는 제어 서열(예를 들어, 프로모터)을 포함할 수 있고 특정 실시태양에서, 파괴자 서열(예를 들어, 마커 유전자)은 생식 유전자의 적어도 일부를 파괴 또는 대체하기 위해 표적 카세트의 플랭킹 부분 곁에 위치되어 생식 유전자를 불활성화하여 작동하지 않게 한다. 이런 형태의 예시적 예에서, 플랭킹 부분의 하나는 생식 유전자의 5' 미번역 서열의 일부에 실질적으로 동형이며 다른 것은 내인성 유전자의 3' 미번역 서열의 적어도 일부와 실질적으로 동형이다. 다른 예시적 예에서, 표적 카세트의 플랭킹 부분은 생식에 필요한 생식 유전자에 의해 암호화된 폴리펩타이드의 도메인을 암호화하는 간접 암호화 서열과 경계를 이루는 생식 유전자의 지역과 실질적으로 동형이다. 이런 실시태양에서, 표적 구조체와 표적 위치 사이의 위치-특이적 동형 재조합은 생식 유전자의 적어도 일부의 마커 유전자에 의한 대체 및 생식 유전자의 파괴를 뒤이어 초래한다.

[0175]

특정 실시태양에서, 생식 유전자는 그 유전자에 내에 또는 인접하게 위치되고 재조합효소 인식 위치 사이에 걸

합하고 위치-특이적 재조합에 촉매 작용함으로써 유전자의 파괴를 유도하는 생식 유전자 파괴자 분자로서 작용하는 위치-특이적 재조합효소에 의해 인식되는 재조합효소 인식 위치(또한 억셉터 서열로 알려짐)가 제공된다. 재조합효소는 위치 사이의 분자내- 또는 분자간 재조합에 촉매 작용할 수 있다. 예를 들어, 분자내 재조합의 경우에, 동일한 배향을 가진 두 재조합 위치가 동일 분자 내에 존재할 때, 위치 사이의 위치-특이적 재조합은 위치에 의해 플랭킹된 DNA 서열을 절단할 것인 반면(절단 반응) 세포간 분자 재조합에서, 다른 분자 상의 두 재조합 인식 위치 사이의 위치-특이적 재조합은 동시-통합을 초래할 것이다(삽입 반응). 이런 실시태양의 예시적 예에서, 프로모터에 작동가능하게 연결된 위치-특이적 재조합효소 암호화 서열을 포함하는 형질전환유전자는 생식 유전자를 조건적으로 파괴하는데 사용된다. 위치-특이적인 예시적 재조합효소는 Cre, 변형된 Cre, Dre, Hp, FLP-야생형(wt), FLP-L, FLPe, Flpo 또는 phi C31를 포함한다. 재조합효소 인식 위치의 비제한적인 예는 loxP, FRT, rax 및 attP/B를 포함한다. 재조합은 임의의 당업계-공지 방법, 예를 들어, Doetschman 등의 방법(1987, Nature 330:576-578); Thomas 등의 방법(1986, Cell 44:419-428); Cre-loxP 재조합 시스템(Sternberg and Hamilton, 1981, J. Mol. Biol. 150:467-486; Lakso et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6232-6236); 사카로미세스 세레비시애(Saccharomyces cerevisiae)의 FLP 재조합효소 시스템(O'Gorman et al., 1991, Science 251 : 1351-1355; Lyznik et al., 1996, Nucleic Acids Res.24(19):3784-3789); Cre-loxP-테트라사이클린 제어 스위치(Gossen and Bujard, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 5547-51); 및 리간드-조절 재조합효소 시스템(Kellendonk et al., 1999, 3. Mol. Biol. 285: 175-82)에 의해 일어날 수 있다. 바람직하게는, 재조합효소는 매우 활성이며, 예를 들어, Cre-loxP 또는 FLPe 시스템, 강화된 열안정성을 가진다(Rodrguez et al., 2000, Nature Genetics 25: 139-40). 특정 실시태양에서, 생식 유전자의 적어도 일부(적절한 경우, 이의 조절 서열을 포함)는 Cre 재조합효소에 의해 특이적으로 인식되는 loxP 표적 위치 또는 FLP 재조합효소에 의해 특이적으로 인식되는 FRT 표적 위치에 의해 플랭킹된다. loxP 표적 위치 서열의 예시적 예는 5'-ATAACTTCGTATAGCATACATTATACGAAGTTAT-3' [SEQ ID NO: 1]이다. FRT 표적 위치 서열의 예시적 예는 5'-GAAGTTCCTATTCCGAAGTTCCTATTCTCTAGTAAGTATAGGAAGTTC-3' [SEQ ID NO:2]이다.

[0176] 다른 실시태양에서, 생식 유전자 파괴자 분자는 RNA 간섭(RNAi) 또는 전사후 유전자 사일런싱(PTGS)에 의한 생식 유전자의 발현을 억제하는 발현 생성물이다. 이런 형태의 예시적 예에서, 발현 생성물은 생식 유전자의 뉴클레오티드 서열에 상응하는 표적 지역을 포함하며 생식 유전자의 발현을 약화 또는 파괴하는 RNA 분자(예를 들어, siRNA, shRNA, miRNA, dsRNA 등)이다. 이런 생식 유전자의 비제한적인 예는 표 2 및 본 발명의 다른 곳에 나열된다.

[0177] 예시적 예에서, 표적 서열은 생식 유전자의 뉴클레오티드 서열에 적어도 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% 상동성을 나타낸다. 다른 예시적 예에서, 표적 서열은 적어도 낮은 엄격성 조건하에서, 더욱 적합하게는 적어도 중간 엄격성 조건하에서 및 더욱더 적합하게는 높은 엄격성 조건하에서 표적 유전자의 뉴클레오티드 서열에 혼성화된다. 낮은 엄격성 조건에 대한 언급은 42°C에서 혼성화를 위한 적어도 약 1% v/v 내지 적어도 약 15% v/v 포름아마이드 및 적어도 1M 내지 적어도 약 2M 염 및 42°C에서 세척을 위한 적어도 약 1M 내지 적어도 약 2M 염을 포함한다. 낮은 엄격성 조건은 또한 65°C에서 혼성화를 위한 1% 소혈청 알부민(BSA), 1mM EDTA, 0.5M NaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2), 7% SDS 및 실온에서 세척을 위한 (i) 2 x SSC, 0.1% SDS; 또는 (ii) 0.5% BSA, 1 mM EDTA, 40 mM NaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2), 5% SDS를 포함할 수 있다. 중간 엄격성 조건은 42°C에서 혼성화를 위한 적어도 약 16% v/v 내지 적어도 약 30% v/v 포름아마이드 및 적어도 0.5M 내지 적어도 약 0.9M 염 및 42°C에서 세척을 위한 적어도 약 0.5M 내지 적어도 약 0.9M 염을 포함한다. 중간 엄격성 조건은 또한 65°C에서 혼성화를 위한 1% 소혈청 알부민(BSA), 1mM EDTA, 0.5M NaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2), 7% SDS 및 42°C에서 세척을 위한 (i) 2 x SSC, 0.1% SDS; 또는 (ii) 0.5% BSA, 1 mM EDTA, 40 mM NaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2), 5% SDS를 포함할 수 있다. 높은 엄격성 조건은 42°C에서 혼성화를 위한 적어도 약 31% v/v 내지 적어도 약 50% v/v 포름아마이드 및 적어도 0.01M 내지 적어도 약 0.15M 염 및 42°C에서 세척을 위한 적어도 약 0.01M 내지 적어도 약 0.15M 염을 포함한다. 높은 엄격성 조건은 또한 65°C에서 혼성화를 위한 1% 소혈청 알부민(BSA), 1mM EDTA, 0.5M NaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2), 7% SDS 및 65°C 초과 온도에서 세척을 위한 (i) 0.2 x SSC, 0.1% SDS; 또는 (ii) 0.5% BSA, 1 mM EDTA, 40 mM NaHPO<sub>4</sub>(pH 7.2), 1% SDS를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 표적 서열은 생리학적 조건하에서 생식 유전자의 뉴클레오티드 서열에 혼성화된다.

[0178] 다른 엄격한 조건은 당업계에 주지되어 있다. 당업자는 여러 인자가 조작되어 혼성화의 특이성을 최적화할 수 있다는 것을 인식할 것이다. 최종 세척의 엄격성의 최적화는 높은 등급의 혼성화를 보장하는 역할을 할 수

있다. 상세한 예를 들어, Ausubel et al., 상기 페이지 2.10.1 내지 2.10.16 및 Sambrook et al., 상기 섹션 1.101 내지 1.104 참조.

- [0179] 적절하게는, 표적화 지역은 생식 유전자의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥과 서열 상동성을 가진다. 특정 실시태양에서, RNA 분자는 비폴리아데닐화되어, 예를 들어, Waterhouse et al., U.S. 특허 No. 6,423,885에 의해 기술된 대로, 생식 유전자의 발현에 효율적인 감소를 유도할 수 있다.
- [0180] 통상적으로, 표적 지역의 길이는 약 10 뉴클레오티드(nt)로부터 생식 유전자의 길이(뉴클레오티드)와 동일한 길이까지 변할 수 있다. 일반적으로, 표적 지역의 길이는 적어도 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25nt, 주로 적어도 약 50nt, 더욱 주로 적어도 약 100nt, 특히 적어도 약 150nt, 더욱 특히 적어도 약 200nt, 더욱더 특히 적어도 500nt이다. 생식 유전자의 전체 길이 이외에, 표적 지역의 전체 길이에 대한 상한은 없는 것으로 예상된다. 그러나 실제적 이유(예를 들어, 표적 구조체의 안정성) 때문에 표적 지역의 길이는 5000nt를 초과하지 않아야 하며, 특히 2500nt를 초과하지 않아야 하며 약 1000nt로 제한될 수 있다.
- [0181] RNA 분자는 하나 이상의 다른 표적 지역(예를 들어, 약 1 내지 약 10, 또는 약 1 내지 약 4, 또는 약 1 내지 약 2 다른 표적 지역)을 더 포함할 수 있고 이의 각각은 표적 유전자의 뉴클레오티드 서열과 상동성을 가진 서열을 가진다. 일반적으로, 표적 지역은 서로 동일하거나 적어도 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% 서열 상동성을 공유한다.
- [0182] RNA 분자는 표적 지역의 역보체를 더 포함할 수 있다. 통상적으로, 이런 실시태양에서, RNA 분자는 역보체로부터 표적 지역의 간격을 띄우는 스페이서 서열을 더 포함한다. 스페이서 서열은 적어도 약 100-500 뉴클레오티드 길이 또는 선택적으로 적어도 약 50-100 뉴클레오티드 길이 및 다른 대안에서 적어도 약 10-50 뉴클레오티드의 서열을 포함한다. 통상적으로, 스페이서 서열은 비-암호화 서열이며, 일부 경우에, 인트론이다. 스페이서 서열이 비-인트론 스페이서 서열인 실시태양에서, 핵산 서열의 전사는 줄기가 표적 지역의 역보체에 대한 혼성화에 의해 형성되며 루프가 이런 '역전 반복체'를 연결하는 비-인트론 스페이서 서열에 의해 형성되는 헤어핀 또는 스템-루프 구조를 형성하는 RNA 분자를 생산할 것이다. 선택적으로, 스페이서 서열이 인트론 스페이서 서열인 실시태양에서, 인트론 서열의 한쪽 상의 인트론/엑손 접합 경계 서열의 존재는 루프 구조를 형성할 수 있는 것의 제거를 촉진하며 얻은 RNA는 한 말단 또는 두 말단에 선택적 오버행 3' 서열을 가진 이중-가닥 RNA(dsRNA) 분자를 형성할 것이다. 이런 dsRNA 전사체는 본 발명에서 '완벽한 헤어핀'으로 불린다. RNA 분자는 이중-가닥 RNA 서열의 지역에 인접하게 발생하는 단일-가닥 RNA의 "돌출"을 포함하는 단일 헤어핀 또는 다중 헤어핀을 포함할 수 있다.
- [0183] 선택적으로, 상기한 대로 dsRNA 분자는 추가 RNA 분자를 생산할 수 있는 추가 폴리뉴클레오티드를 사용하여 편리하게 얻을 수 있으며, 표적 지역의 역보체를 포함한다. 이 실시태양에서, 표적 지역의 역보체는 제 2 뉴클레오티드로부터 전사된 RNA 분자의 표적 지역에 혼성화된다.
- [0184] 다른 예에서, 상기한 대로 dsRNA 분자는 이중체를 포함하는 제 2 폴리뉴클레오티드를 사용하여 제조되며, 이중체의 한 가닥은 표적 유전자의 뉴클레오티드 서열과 서열 상동성을 공유하며 다른 가닥은 그 뉴클레오티드서열의 보체와 서열 상동성을 공유한다. 이 실시태양에서, 이중체는 두 프로모터에 플랭킹되는데, 하나는 가닥의 하나의 전사를 제어하고, 다른 하나는 상보적 가닥의 전사를 제어한다. 두 가닥의 전사는 각각 다른 것의 지역에 대해 상보적인 지역을 포함하는 RNA 분자의 쌍을 생산하여, 생식 유전자의 발현을 억제하는 dsRNA 분자를 생산한다.
- [0185] 다른 예에서, 생식 유전자의 PTGS는 미국특허 출원공개공보 No 2003/0036197에 기술된 Glassman et al에 의한 전략을 사용하여 얻는다. 이 전략에서, 적절한 핵산 서열과 이들의 역보체는 적절한 핵산 서열 및 이의 역보체에 가깝게 위치하는 임의의 동형, 내인성 표적 RNA(즉, 생식 유전자의 전사체를 포함)의 발현을 변형시키는데 사용될 수 있다. 적절한 핵산 서열 및 이의 역보체는 숙주에 있는 임의의 내인성 RNA와 관련이 없거나 핵산 서열이 임의의 표적 mRNA 또는 표적 RNA와 실질적으로 유사한 임의의 서열을 암호화하지 않는 경우 숙주의 게놈에 있는 임의의 핵산 서열에 의해 암호화될 수 있다. 따라서, 본 발명의 일부 실시태양에서, RNA 분자는 숙주 세포에 있는 임의의 내인성 RNA와 관련이 없고 표적 지역에 가깝게 위치한 두 상보적 RNA 지역을 더 포함한다. 다른 실시태양에서, RNA 분자는 서열이 생식 유전자의 뉴클레오티드 서열과 서열 상동성을 갖지 않는 경우 숙주의 게놈에 있는 임의의 핵산 서열에 의해 암호화되는 두 상보적 RNA 지역을 더 포함하며, 이 지역은 표적 지역에 가깝게 위치한다. 상기 실시태양에서, 상보적 RNA 지역의 하나는 표적 지역의 상류에 위치될 수 있고 다른 하나는 표적 지역의 하류에 위치될 수 있다. 선택적으로, 두 상보적 지역은 표적 지역의 상류 또는 하류에 위치될 수

있거나 표적 지역 자체 내에 위치될 수 있다.

[0186] 일부 실시태양에서, RNA 분자는 생식 유전자에 암호화된 RNA의 특정 지역에 표적화된 안티센스 분자이며, 이는 번역에 중요하다. 미리-결정된 유전자의 발현 수준을 감소시키기 위한 안타센스 분자의 사용은 당업계에 공지되어 있다. 안티센스 분자는 생식 유전자로부터 전사된 전장 RNA 또는 이의 단편 또는 일부에 상응하도록 설계될 수 있다. 이런 유전자 사일런싱 효과는 생식 유전자 암호화 서열의 센스 및 안티센스 RNA 모두를 형질전환적으로 과다 생산함으로써 강화될 수 있어서 다량의 dsRNA가 상기한 대로 생산된다(예를 들어, Waterhouse et al, (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95: 13959 13964 참조).

[0187] 또 다른 실시태양에서, 생식 유전자 파괴자 분자는 생식 유전자의 폴리펩타이드 생성물과 번역-상호작용하는 항체이다. 이런 형태의 비-제한적인 예에서, 폴리펩타이드 생성물은 표 2 및 본 발명의 다른 곳에서 나열된 생식 유전자에 의해 암호화된 것이다. 본 발명의 실시예에 사용하기 위한 예시적 항체는 단클론 항체, Fv, Fab, Fab', 및 F(ab')<sub>2</sub> 면역글로불린 단편뿐만 아니라 단일 도메인 항체(DABs), 합성 안정화 Fv 단편, 예를 들어, 단일 사슬 Fv 단편(scFv), 이황화 안정화 Fv 단편(dsFv), 단일 가변 지역 도메인(dAbs) 미니항체, 다이어바디와 같은 콤비바디 및 다가 항체 및 멀티-scFv 또는 가공 인간 등가체와 같으나 이에 제한되지 않는 합성 항체를 포함한다. 다양한 항체-기반 구조체 및 단편을 제조하고 사용하는 기술은 당업계에 주지되어 있다. 예시적 예에서, 항체는 파아지 디스플레이 또는 리보솜 디스플레이 라이브러리(예를 들어, Cambridge Antibody Technology, BiolInvent, Affitech and Biosite로부터 이용가능)로부터 선택 후, 대장균에서 주로 발현된, 생식 유전자의 폴리펩타이드 생성물의 적어도 일부에 상응하는 분리되고, 정제되거나 재조합 펩타이드 또는 단백질 또는 생식 유전자의 폴리펩타이드 생성물의 적어도 일부에 상응하는 재조합 단편에 의한 통상적인 면역화(예를 들어, 다클론 혈청 및 하이브리도마)에 의해 만들어질 수 있다. 이런 항체의 항원-결합 지역(예를 들어, 상보성-결정 지역)의 지식은 예를 들어 상기한 합성 항체를 제조하는데 사용될 수 있다.

[0188] 3.2 파괴된 생식 유전자를 가진 비-인간 배아를 생산하는 시스템

[0189] 본 발명에 따라, 시스템은 파괴된 생식 유전자를 가진 비-인간 숙주 배아를 생산하는데 사용된다. 예를 들어, 파괴된 생식 유전자를 포함하는 비-인간 배아는 1) 파괴가능한 생식 유전자를 가진 제 1 동물 품종("조건적 불임 품종")을 2) 파괴가능한 생식 유전자를 파괴하는 생식 유전자 파괴자 분자를 암호화하는 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 불임-활성화 형질전환유전자를 가진 제 2 동물 품종("불임-활성화 품종")과 교배하여, 파괴된 생식 유전자를 가진 생식 세포를 포함하는 형질전환 비-인간 숙주 배아를 생성하는 단계에 의해 생성될 수 있다. 일부 실시태양에서, 제 1 동물 품종의 암컷 일원은 제 2 동물 품종의 수컷 일원과 교배된다. 본 발명에 사용된 대로, 제 1 및 제 2 동물 품종의 개별 일원은 비-인간 동물의 번식 쌍의 번식 파트너이다.

[0190] 일부 실시태양에서, 조건적 불임 품종의 생식 유전자는 형질전환유전자("조건적 불임 형질전환유전자") 형태이며 여기서 생식 유전자는 프로모터 및 재조합효소의 존재하에서 생식 유전자의 파괴를 허용하는 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된다. 이런 실시태양에서, 불임-활성화 형질전환유전자는 프로모터에 작동가능하게 연결된 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하고 재조합효소 인식 위치는 주로 생식 유전자 내에 또는 인접하게 위치되고 생식 유전자의 파괴를 매개한다. 이런 형태의 비-제한적인 예에서, 불임-활성화 품종의 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 재조합효소는 Cre이며 조건적 불임 생식 품종의 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 재조합효소 인식 위치는 loxP 서열이다. 예시적 예에서, 조건적 불임 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 조건적 불임 품종의 암컷 일원을 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 불임-활성화 품종의 수컷 일원과 교배하면 생식 유전자의 이형 파괴를 가진 적어도 일부 생식 세포를 가진 비-인간 동물 배아를 생산한다. 유리한 예에서, 조건적 불임 품종의 생식 유전자는 X 염색체 상에 위치되며(즉, X-연결 생식 유전자) 조건적 불임 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 조건적 불임 품종의 암컷 일원을 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 불임-활성화 품종의 수컷 일원과 교배하면 생식 유전자의 동형 파괴를 가진 적어도 일부 생식 세포를 가진 비-인간 동물 배아를 생산한다.

[0191] 다른 실시태양에서, 파괴된 생식 유전자를 포함하는 비-인간 배아는 (1) (a) 제 1 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 제 1 조건적 불임 형질전환유전자 및 (b) 제 2 파괴가능한 생식 유전자를 파괴하는 유전자를 포함하는 제 1 불임-활성화 형질전환유전자를 가진 제 1 동물 품종("제 1 조건적 불임-활성화 품종")을 (2) (a) 제 2 파괴가능한 생식 유전자를 포함하는 제 2 조건적 불임 형질전환유전자 및 (b) 제 1 파괴가능한 생식 유전자를 파괴하는 유전자를 포함하는 제 2 불임-활성화 형질전환유전자를 가진 제 2 동물 품종("제 2 조건적 불임-활성화 품종")과 교배하여, 파괴된 생식 유전자를 가진 생식 세포를 포함하는 형질전환 비-인간 숙주 배아를 생성하는 단계에 의해 생성되며, 제 1 불임-활성화 형질전환유전자는 제 2 파괴가능한 생식 유전자를 특이적으로 파괴하

며 제 2 불임-활성화 형질전환유전자는 제 1 파괴가능한 생식 유전자를 특이적으로 파괴한다. 불임-활성화 형질전환유전자의 존재하에서 제 1 및 제 2 파괴가능한 생식 유전자의 파괴를 매개하는 제 1 및 제 2 조건적 불임 형질전환유전자의 요소를 제외하고, 조건적 불임 형질전환유전자의 생식 유전자는 적절하게는 동일 또는 상응하는 유전자이다. 이런 실시태양에서, 제 1 조건적 불임 형질전환유전자 및 제 1 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 제 1 조건적 불임-활성화 품종의 번식 파트너를 제 2 조건적 불임 형질전환유전자 및 제 2 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 제 2 조건적 불임-활성화 품종의 번식 파트너와 교배하면 생식 유전자의 동형 파괴를 가진 적어도 일부 생식 세포를 가진 비-인간 동물 배아를 생산한다. 일부 실시태양에서, 제 1 동물 품종의 암컷 일원은 제 2 동물 품종의 수컷 일원과 교배된다. 다른 실시태양에서, 제 1 동물 품종의 수컷 일원은 제 2 동물 품종의 암컷 일원과 교배된다.

[0192] 일부 실시태양에서, 제 1 조건적 불임 형질전환유전자는 프로모터 및 제 1 재조합효소의 존재하에서 제 1 파괴가능한 생식 유전자의 파괴를 매개하는 제 1 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 제 1 파괴가능한 생식 유전자를 포함하며, 제 1 불임-활성화 형질전환유전자는 프로모터에 작동가능하게 연결된 제 2 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하며, 제 2 재조합효소는 제 2 재조합효소 인식 위치를 특이적으로 인식한다. 제 2 조건적 불임 형질전환유전자는 프로모터 및 제 2 재조합효소의 존재하에서 제 2 파괴가능한 생식 유전자의 파괴를 매개하는 제 2 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 제 2 파괴가능한 생식 유전자를 포함하며, 제 2 불임-활성화 형질전환유전자는 프로모터에 작동가능하게 연결된 제 1 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하며, 제 1 재조합효소는 제 1 재조합효소 인식 위치를 특이적으로 인식한다. 이런 형태의 예시적 예에서, 제 1 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 제 2 재조합효소는 FLP이며, 제 1 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 재조합효소 인식 위치는 loxP 서열이며, 제 2 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 제 1 재조합효소는 Cre이며, 제 2 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 재조합효소 인식 위치는 Frt 서열이다. 다른 예시적 예에서, 제 1 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 제 2 재조합효소는 Cre이며, 제 1 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 재조합효소 인식 위치는 Frt 서열이며, 제 2 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 제 1 재조합효소는 FLP이며, 제 2 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 재조합효소 인식 위치는 loxP 서열이다.

[0193] 일부 실시태양에서, 제 1 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 제 2 재조합효소는 FLP이며, 제 1 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 표적 위치는 loxP 서열이며, 제 2 불임-활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 제 1 재조합효소는 Cre이며, 제 2 조건적 불임 형질전환유전자에 포함된 표적 위치는 Frt 서열이다. 이런 실시태양에서, 제 1 조건적 불임 형질전환유전자 및 제 1 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 제 1 조건적 불임-활성화 품종의 암컷 일원을 제 2 조건적 불임 형질전환유전자 및 제 2 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 제 2 조건적 불임-활성화 품종의 수컷 일원과 교배하면 생식 유전자의 동형 파괴를 가진 적어도 일부 생식 세포를 가진 비-인간 동물 배아를 생산한다.

[0194] 또 다른 실시태양에서, 파괴된 생식 유전자를 포함하는 비-인간 배아는 1) 파괴가능한 생식 유전자를 가진 제 1 동물 품종("조건적 불임 품종")을 2) 파괴가능한 생식 유전자를 파괴하는 생식 유전자 파괴자 분자를 암호화하는 파괴자 뉴클레오티드 서열을 포함하는 불임-활성화 형질전환유전자를 가진 제 2 동물 품종("불임-활성화 품종")과 교배함으로써 생성될 수 있고, 생식 유전자 파괴자는 억제성 핵산(예를 들어, 센스 또는 안티센스 RNA와 같은 억제성 RNA, siRNA, shRNA, miRNA와 같은 RNA 간섭을 매개하는 분자 등), 억제성 폴리펩타이드(예를 들어, 항체, 폴리펩타이드-결합 파트너, 우성 음성(dominant negative) 폴리펩타이드, 효소 등) 또는 생식 유전자의 활성 또는 생식 유전자의 발현 생성물의 수준 또는 기능적 활성을 억제하는 임의의 다른 분자로부터 선택된다. 이런 실시태양에서, 불임-활성화 형질전환유전자는 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현-조절 요소를 적절하게 포함하며, 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 조건적으로 억제하고 조건적 불임 품종은 발현-조절 요소의 활성을 억제하는 활성화 형질전환유전자를 가져서, 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 초래한다.

[0195] 따라서, 조건적 불임 품종의 번식 파트너가 불임-활성화 균주의 번식 파트너와 교배될 때, 활성화 형질전환유전자가 발현되어 발현-조절 요소의 억제 및 생식 유전자 파괴자 분자의 생산에 의한 파괴 뉴클레오티드 서열의 발현의 탈억제를 유도하여, 생식 유전자의 파괴를 초래하는 배아가 형성될 것이다. 이런 실시태양에서, 활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 조건적 불임 품종의 번식 파트너를 불임-활성화 형질전환유전자에 대해 동형 접합인 불임-활성화 품종의 번식 파트너와 교배하면 생식 유전자의 동형 파괴를 가진 적어도 일부 생식 세포를 가진 비-인간 동물 배아를 생산한다.

[0196] 일부 실시태양에서, 발현-조절 요소는 제 1 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 억제하고 발현-조절

요소의 파괴는 제 2 조건하에서 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 허용 또는 강화할 수 있다. 일부 실시태양에서, 발현-조절 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현을 억제하고 재조합효소 인식 위치에 작동가능하게 연결된 억제자 뉴클레오티드 서열(예를 들어, 전사 종결자)을 포함하며, 재조합효소 인식 위치는 재조합효소의 존재하에서 억제자 뉴클레오티드 서열의 파괴를 매개한다. 이런 형태의 예시적 예에서, 제 2 번식 파트너는 프로모터에 작동가능하게 연결된 재조합효소에 대한 암호화 서열을 포함하는 활성화 형질전환유전자를 포함한다. 제 2 번식 파트너의 생식 유전자는 적절하게는 야생형 유전자이다. 일부 실시태양에서, 제 1 번식 파트너는 수컷이며 제 2 번식 파트너는 암컷이다.

[0197] 이런 형태의 예시적 예에서, 파괴자 뉴클레오티드 서열은 유도가능한 전사 조절 시스템에 파괴자 뉴클레오티드 서열을 작동가능하게 연결시킴으로써 조건적으로 발현된다. 활성화 형질전환유전자로부터 생산된 교차활성자는 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 조절 요소 속에 처리된 서열과 특이적으로 상호작용하여 활성화 형질전환유전자의 발현 생성물의 존재하에서 뉴클레오티드 서열의 전사를 유도한다. 따라서, 이런 실시태양에서, 활성화 형질전환유전자는 통상적으로 전사 유도체를 암호화하는 핵산 서열을 포함하며 발현-조절 요소는 파괴자 뉴클레오티드 서열의 프로모터에 작동가능하게 연결된 전사 유도체에 대한 결합 위치를 포함하며, 전사 유도체의 생산은 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현의 증가 또는 상승을 일으키고 생식 유전자 파괴자 분자의 수준 또는 기능적 활성의 증가 또는 상승을 일으킨다. 이런 형태의 대표적 예에서, 전사 유도체는 (a) 적어도 하나의 전사 활성화 도메인, (b) 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터에 결합하거나 상호작용하는 적어도 하나의 DNA-결합 도메인을 포함하며 DNA-결합 도메인(들)은 전사 유도체와 상호작용하여 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 활성화한다. 작동시에, 활성화 형질전환유전자의 전사는 DNA-결합 도메인(들)을 통해 파괴자 뉴클레오티드 서열의 프로모터와 상호작용하고 전사 활성화 도메인을 통해 전사 장치와 상호작용하는 전사 유도체의 생산을 초래하여 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 활성화하며, 이것이 생식 유전자 파괴자 분자의 수준 또는 기능적 활성의 증가 또는 상승을 초래한다.

[0198] 전사 활성화 도메인의 비-제한적인 예는 HSV1-VP16의 산 교차활성화 도메인(TAD)(예를 들어, 아미노산 406 내지 488, Triezenberg et al., 1988, Genes & Development 2:718-729; Triezenberg, 1995, Current Opinions in Genetics and Development 5: 190-196; 또는 아미노산 413 내지 490, Regier et al., 1993, Proc Natl Acad Sci U S A. 90(3):883-887; 또는 아미노산 411 내지 487; 또는 아미노산 453-499; 또는 아미노산 413 내지 454; 또는 아미노산 410 내지 452, Walker et al., 1993, Mol Cell Biol. 13(9):5233-5244; 아미노산 411 내지 455, Nettelbeck et al., 1998, Gene Ther. 5(12):1656-1664), Oct-2의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 438 내지 479, Tanaka et al., 1994, Mol Cell Biol. 14(9): 6046-6055; 또는 아미노산 3 내지 154, Das et al., 1995, Nature. 374(6523):657-660), SP1의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 340 내지 485, Courey and Tijan, 1988, Cell. 55(5):887-898), NFY의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 1 내지 233, Li et al., 1992, J Biol Chem. 267(13):8984-8990; van Huijnduijnen et al., 1990, EMBO J. 9(10):3119-3127; Sinha et al., 1995, Proc Natl Acad Sci U S A. 92(5):1624-1628; Coustry et al. 1995, J Biol Chem. 270(1):468-475), ITF2의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 2 내지 452, Seipel et al., 1992, EMBO J. 11(13):4961-4968), c-Myc의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 1 내지 262, Eilers et al. 1991, EMBO J. 10(1):133-141), CTF의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 399 내지 499, Mermod et al., 1989, Cell 58(4): 741-753; Das and Herr, 1993, J Biol Chem 268(33):25026-25032) 또는 P65의 활성화 도메인(예를 들어, 아미노산 286-550). 일부 실시태양에서, DNA-결합 도메인은 Gal4 단백질의 DNA-결합 도메인(예를 들어, 아미노산 1 내지 147, Chasman and Romberg, 1990, Mol Cell Biol. 10(6):2916-2923), LexA 단백질의 DNA-결합 도메인(예를 들어, 아미노산 1 to 81, Kim et al., 1992, Science 10:255(5041):203-206; 또는 아미노산 2-202; 또는 전체 LexA 단백질, 예를 들어, 아미노산 1 내지 202, Brent and Ptashne, 1985, Cell 43(3 Pt 2):729-736), lac 리프레 (Lad) 단백질의 DNA-결합 도메인(예를 들어, Brown et al., 1987, Cell 49(5):603-612; Fuerst et al., 1989, Proc Natl Acad Sci U S A. 86(8):2549-2553), 테트라사이클린 억제자(TetR) 단백질의 DNA-결합 도메인(예를 들어, Gossen et al., 1992, Proc Natl Acad Sci U S A. 89( 12):5547-5551; Dingermann et al., 1992, EMBO J. 11(4):1487-1492) 또는 ZFHD1 단백질의 DNA-결합 도메인(예를 들어, Pomerantz et al., 1995, Science 267(5194):93-96)으로부터 선택된다. DNA-결합 도메인의 3' 말단에 핵 국소화 신호(NLS)를 첨가하는 것이 일반적으로 유리하다.

[0199] 파괴자 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터는 전사 유도체가 상호작용하는 *cis*-작용 서열을 적절하게 포함한다. *cis*-작용 서열은 전사 유도체 및 특히 DNA-결합 도메인에 대한 거러합 서열을 포함한다. 따라서, 결합 서열은 발현 시스템에 사용된 전사 인자의 DNA-결합 도메인의 선택에 의존하며 (A) 예를 들어 Chasman and Kornberg (1990, supra)에 기술된 뉴클레오티드 서열: 5'-CGGACAACCTGTGACCG-3' [SEQ ID NO: 3]; 또는 뉴클레오티드 서열: 5'-CGGAGG ACTGTCCTCCG-3' [SEQ ID NO: 4]; 또는 예를 들어, Giniger et al.(1988, Proc

Nat1 Acad Sci USA. 85(2):382-386)에 기술된 뉴클레오티드 서열: 5'-CGGAGTACTGTCTCCG-3' [SEQ ID NO: 5]와 같으나 이에 제한되지 않는 Gal4 단백질에 대한 결합 서열; (B) 뉴클레오티드 서열: 5'-TACTGTATGTACATACAGTA-3' [SEQ ID NO:6]; 또는 Brent and Ptashne(1984, Nature 312(5995):612-615)에 의해 기술된 LexA 작동자와 같으나 이에 제한되지 않는 Gal4 단백질에 대한 결합 서열; (C) Fuerst et al. (1989, supra) and Simons et al. (1984, Proc Nat1 Acad Sci U S A. 81(6):1624-1628)에 의해 기술된 LacI 억제자 단백질이 결합하는 뉴클레오티드 서열: 5'-GAATTGTGAGGCTCACAATTC-3' [SEQ ID NO: 7]과 같으나 이에 제한되지 않는 *lac* 작동자; (D) 테트라사이클린 억제자(TetR) 단백질이 결합하는 뉴클레오티드 서열: 5'-TCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTAAAG-3' [SEQ ID NO:8]과 같으나 이에 제한되지 않는 테트라사이클린 작동자(tet O); (E) 예를 들어, Pomeranz et al. (1995, supra)에 기술된 뉴클레오티드 서열: 5'-TAATGATGGCG-3' [SEQ ID NO:9]와 같으나 이에 제한되지 않는 ZFHD-1에 대한 결합 서열; (F) 5'-GGAAGCAGACCAGCTGGTCTGCTCC-3' [SEQ ID NO: 10]과 같으나 이에 제한되지 않는 c-Myc 단백질에 대한 결합 서열을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0200] 다른 실시태양에서, 파괴자 뉴클레오티드 서열의 조건적 발현은 그 서열의 발현을 시작하는데 사용된 재조합효소 시스템에 의해 조절된다. 이런 형태의 비-제한적인 예에서, 재조합효소 시스템은 프로모터와 파괴자 뉴클레오티드 서열 사이에 삽입된 간섭 서열을 포함하며, 이는 프로모터로부터 파괴자 뉴클레오티드 서열의 전사를 억제 또는 파괴한다. 적절하게는, 간섭 서열은 하류 서열의 전사를 억제 또는 억압하는 전사 종결자를 포함한다. 바람직하게는, 간섭 서열은 활성화 형질전환유전자에 의해 암호화된 위치 특이적 재조합효소에 의해 특이적으로 인식된 재조합효소 인식 위치를 포함하여, 재조합효소의 존재하에서 간섭 서열을 파괴하고 파괴자 뉴클레오티드 서열이 프로모터와 작동가능한 연결상태로 만들고 그 서열의 전사를 허용한다. 선택적으로, 재조합효소 시스템은 파괴자 뉴클레오티드 서열의 상류 부분과 하류 부분 및 상류 및 하류 부분 사이에 삽입된 절단가능한 간섭 서열을 포함하는 쪼개진 또는 나뉜 형질전환유전자를 포함한다. 상류 부분은 프로모터에 작동가능하게 연결되거나 간섭 서열은 하류 부분의 전사를 억제 또는 억압하여, 기능적 생식 유전자 파괴자 분자의 발현을 예방한다. 파괴자 뉴클레오티드 서열의 발현에 의한 위치 특이적 재조합효소의 생산은 절단가능한 간섭 서열을 절단하여 기능적 생식 유전자 파괴자 분자의 생산을 허용하는 전장 전사가 가능한 파괴자 뉴클레오티드 서열을 만든다.

[0201] 따라서, 상기한 대로 일부 유리한 실시태양에서, 교배는 생식 계열에 생식 유전자의 파괴를 포함하는 비-인간 배아의 생산을 초래할 것이며, 이 상태에서 적절하게는 생식 유전자의 두 대립 형질 유전자는 파괴되고 생식(예를 들어, 정자형성 또는 정자기능)이 억제된다.

[0202] 본 발명은 또한 위에서 대략 기술하고 다른 곳에서 기술한 대로 비-인간 동물의 번식 쌍으로 확대된다.

[0203] 3.3 도너 만능 세포

[0204] 도너 만능 세포는 일반적으로 ES 세포, epi 줄기 세포, EG 세포 및 iPS 세포와 같은 생식 세포로 분화할 수 있다. 특정 실시태양에서, 만능 세포는 ES 세포이다. 도너 만능 세포는 유전자 변형될 수 있고 이런 형태의 예시적 예에서 형질전환유전자를 포함한다. 형질전환유전자는 만능 세포의 계능 속에 형질전환유전자의 주입을 촉진하는 벡터를 사용하여 만능 세포 속에 주입될 수 있으며(예를 들어, 랜덤 통합 또는 동형 재조합에 의함), 예시적 방법은 Transgenic Mouse: Methods and Protocols(Hofker, MH., 2003. Methods Mol Biol. 209 : 1-8), Advanced Protocols for Animal Transgenesis(2011, edited by S. Pease and T. L. Saunders, Springer Protocols Handbooks) 및 Transgenic Animals, Generation and Use( 1997, edited by L. M, Houdebine, Hardwood Academic Publishers)에 개시된다.

[0205] 도너 만능 세포는 암컷 만능 세포(XY) 또는 수컷 만능 세포(XX) 또는 XO 만능 세포일 수 있다. 특정 실시태양에서, 도너 만능 세포는 수컷 만능 세포이다. 수컷(XY), 암컷(XX) 및 XO 만능 세포는 임의의 적절한 기술을 사용하여 선-이식 숙주 배아 속에 주입될 수 있다.

[0206] 비-인간 포유류의 한 종으로부터의 도너 만능 세포는 비-인간 포유류의 다른 종의 숙주에 주입되어 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포를 생산할 수 있다. 이런 형태의 예시적 예에서, 도너 만능 세포는 비-인간 영장류, 말 같은 말과, 양, 염소, 토끼와 같은 토끼목, 개, 고양이, 소, 동물원 동물뿐만 아니라 멸종위기 또는 외래 포유류로부터 유래된다. 일부 실시태양에서, 도너 만능 세포는 iPS 세포이다.

[0207] 3.4 비-인간 숙주 배아

[0208] 만능 세포를 주입하는데 사용될 수 있는 비-인간 숙주 배아는 비-인간 영장류 및 설치류와 같은 비-인간 포유류를 포함하는 임의의 비-인간 동물 종의 배아를 포함한다. 본 발명의 일부 실시태양에 따라, 비-인간 숙주 배아

는 설치류 배아, 특히 생쥐 또는 쥐 배아이다. 일반적으로, 비-인간 숙주 배아는 만능 세포와 동일한 종으로부터 얻어진다. 그러나, 일부 실시태양에서, 비-인간 숙주 배아는 만능 세포와 다른 동물 종(예를 들어, 다른 포유류 종)으로부터 얻어진다. 만능 세포가 주입되는 비-인간 숙주 배아는 일반적으로 2-세포 단계, 4-세포 단계, 8-세포 단계, 16-세포 단계, 32-세포 단계, 64-세포 단계, 상실배, 또는 배반포를 포함하는 선-이식 비-인간 숙주 배아이다. 일부 실시태양에서, 선-이식 비-인간 숙주 배아는 상실배 이전 단계, 상실배 단계, 조밀하지 않은 상실배 단계, 조밀한 상실배 단계 및 배반포 단계 배아로부터 선택된다. 일부 실시태양에서, 선-이식 비-인간 숙주 배아는 생쥐 배아를 위한 발생학적 나이 단계 E1, E1.5, E2, E2.5, E3 및 E3.5로부터 선택된다. 적절하게는 선-이식 비-인간 숙주 배아는 Theiler (1989) *The House Mouse: Atlas of Mouse Development*, by Theiler Springer-Verlag, NY에 기술된 테일러 단계를 참조하여, 테일러 단계 2(TS2), TS3, TS4, TS5 및 TS6로부터 선택된 발달 단계를 가진 숙주 배아로부터 선택된다. 특정 실시태양에서, 선-이식 비-인간 숙주 배아는 테일러 단계 TS3, TS4 및 TS5로부터 선택된다. 다른 특정 실시태양에서, 선-이식 비-인간 숙주 배아는 상실배이다. 또 다른 특정 실시태양에서, 선-이식 비-인간 숙주 배아는 배반포이다.

[0209] 일반적으로, 하나 이상(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16)의 도너 만능 세포가 적절하게는 2-세포 단계, 4-세포 단계, 8-세포 단계, 16-세포 단계, 32-세포 단계, 64-세포 단계, 상실배, 또는 배반포인 선-이식 비-인간(예를 들어, 생쥐 또는 쥐) 숙주 배아 속에 주입된다. 일부 실시태양에서, 선-이식 비-인간 숙주 배아는 배반포이며 주입된 도너 만능 세포의 숫자는 5 내지 12개 세포이다. 이런 형태의 예시적 예에서, 숙주 배아는 8-세포 단계 배아이며 도너 만능 세포의 숫자는 2 내지 10개 세포이다.

[0210] 3.5 숙주 배아 속에 만능 세포의 주입

[0211] 임의의 적절한 방법이 선-이식 비-인간 숙주 배아 속에 도너 만능 세포를 주입하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 단일 도너 만능 세포의 그룹을 미세 추출 유리 바늘(20-25 마이크로미터 내부 지름)을 사용하여 선택하고 배반포를 위한 마이크로-조작기가 장착된 역전 현미경을 사용하여 배반포 공동(분할강) 속에 초기 단계 배아에 대한 배아 투명대를 통해 주입한다. 대략 9-10개 줄기 세포(ES 또는 iPS 또는 epi 줄기 세포)를 배반포 또는 8-세포 단계 배아당 주사하고 4-세포 단계당 6-9개 줄기 세포 및 2-세포 단계당 약 6개 줄기 세포를 주사한다. 줄기 세포 주사는 투명대를 천공하여 개방하는 레이저 또는 피에조 펄스로 지원될 수 있다(Kraus et al., 2010, *Genesis* 48:394-399 참조). 선택적으로, 줄기 세포는 상실배와 통합될 수 있거나 투명대를 갖거나 갖지 않은 초기 단계 배아(예를 들어, 2-세포, 4-세포, 8-세포, 상실배 전 또는 상실배) 속에 주사될 수 있다.

[0212] 3.6 배아, 키메라 동물 및 새끼의 임신

[0213] 배아의 발달에 적합한 조건하에서 배아를 임신시키는 것은 표준 방법에 따라 실행한다. 도너 만능 세포를 포함하는 비-인간 배아는 당업계에 공지된 가임신 암컷 속에 이식된다(*Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3rd edition (A. Nagy et al. 2002, CSHL Press, ISBN-10:0879695919; Nagy et al., 1990, *Development* 110, 815-821; U.S. Pat. No. 7,576,259, U.S. Pat. No. 7,659,442, U.S. Pat. No. 7,294,754, Kraus et al. 2010, *Genesis* 48, 394-399 참조). 간략하게, 특정 설치류 실시태양에서, 6-8주령 사이의 수정능력이 있는 암컷 설치류를 정관절제된 또는 불임 설치류 수컷과 교배하여 인공적으로 주입된 설치류 배아를 지원하는 것을 수용하는 호르몬 상태를 유도한다. 배반포를 함유하는 2.5dpc 내지 15까지의 줄기 세포를 자궁뿔 속에 주입(이식)한다. 초기 단계 배아 및 상실배의 경우, 이런 배아는 배반포 속에 인비트로 배양되거나 난관 속의 배아 단계에 따라 0.5dpc 또는 1.5dpc 가임신 암컷 속에 이식된다.

[0214] 이식된 비-인간 배아로부터 발달된 키메라 비-인간 동물은 전달 이후, 출생이 이식 및 종에서 배아 나이에 따라 의존한다고 칭할 수 있도록 발달된다. 두 형태의 키메라 비-인간 동물이 이런 과정에 의해 생산된다: 일반적으로 비-인간 숙주 배아로부터 유래된, 파괴된 생식 유전자를 가진 내인성 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 것, 및 일반적으로 도너 만능 세포로부터 유래된, 기능적 생식 유전자를 가진 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 것.

[0215] 이런 키메라 비-인간 동물이 기능적 생식 유전자를 포함하는 동족 비-인간 동물과 교배되어 새끼를 생산할 때, 파괴된 생식 유전자를 가진 내인성 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물은 손상되거나 억제된 생식 능력을 가질 것이어서 새끼를 생산하지 않거나 매우 적은 새끼를 생산할 것이다. 그러나, 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 키메라 비-인간 동물은 정상적인 또는 손상되지 않은 생식 능력을 가질 것이어서, 도너 만능 세포로부터 유래된 생식 세포 또는 배우자를 포함하는 제 1 한배 새끼의 생산을 강화한다.

- [0216] 표준 분석 도구는 정자 또는 새끼의 정체를 테스트하는데 사용될 수 있다. 방법은 시퀀싱, 서든 블롯 분석, SNP 분석, PCR 기술뿐만 아니라 단백질 마커, 코트 컬러 마커, 아이소자임 분석(예를 들어, GPI, 글루코오스 인산염 아이소머라제 아이소자임 분석) 및 당업계에 주지된 표준 방법을 사용하여 줄기 세포에 존재하는 임의의 리포터 유전자 또는 형질전환유전자의 탐지를 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0217] 제 1 한배 새끼의 배우자는 수집되어 인비트로 수정(IVF) 또는 인공 수정(AI)에 사용될 수 있다. 제 1 한배 새끼로부터 분리된 배우자는 또한 세포동결될 수 있고 당업계에 공지된 방법을 사용하여 저장될 수 있다. 선택적으로, 제 1 한배 새끼의 생식 세포는 수집되고, 인비트로 또는 인비보 성숙되고 인비트로 수정 또는 인공 수정에 사용될 수 있다.
- [0218] IVF 방법이 잘 정립되어 있다. 예를 들어, 나기 등(2002, *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, 3rd edition, CSHL Press) 참조. IVF는 일반적으로 각각 암컷 및 수컷으로부터 난모 세포 및 정자를 수집하는 단계를 포함하여, 암컷으로부터의 난모 세포를 수컷으로부터의 정자와 수정하여 수정된 난모 세포의 배아로의 발달에 적절한 조건하에 얻은 수정된 난모 세포를 유지한다. 배아는 다른 단계에서 채취될 수 있다. 암컷은 IVF를 위해 난모 세포를 수집하기 전에 과배란될 수 있다. 수정은 IVF, 세포질내 정자 주입 또는 투명대 천공에 의해 성취될 수 있다. 예를 들어, Nagy et al. (2002, *supra*); Byers et al. (2006, *Theriogenology* 65:1716-26); Ostermeier et al. (2008, *PLOS One* 3(7):e2792) 참조. IVF는 단일 암컷으로부터 얻은 배아의 숫자를 증가시키는데 유용한 도구일 수 있다.
- [0219] 세포질내 정자 주입(ICSI)은 수정 속도를 개선하거나 수정을 성취하는데 사용될 수 있다. ICSI 절차는 난모 세포를 둘러싸는 퇴적 세포의 제거 및 보통 유리 피펫을 통한 정자 또는 반수 정자 세포의 주입을 필요로 한다 (Kimura et al., 1995, *Biol Reprod.* 53(4) : 855-62 참조). 정자 세포, 정조줄기세포 및 수컷 생식 세포는 인비트로로 분화되어 ICSI에 사용될 수 있다(Marh et al., 2003, *Biol Reprod* 69( 1):169-76; Movahedin et al., 2004, *Andrologia* 36(5):269-76; Ogura et al., 1996, *J Assist Reprod Genet.* 13(5):4-31-4; Shinohara et al., 2002, *Hum Reprod* 17( 12):3039-45; Chuma et al., 2005, *Development* 132( 1):117-22).
- [0220] 암컷으로부터 IVF를 위해 성숙한 난모 세포를 수집하는 것에 대한 대안으로서, 이 기술은 "인비트로 성숙"으로 알려져 있고, 미성숙 난모 세포를 얻어 인비트로 성숙되게 할 수 있다. 다른 실시태양에서, 난포, 예를 들어, 1차 난포 또는 생식 세포는 수정에 유용한 난모 세포를 얻기 위해 암컷으로부터 분리되고 인비트로 배양될 수 있다. 포유류에서, 단지 작은 비율의 미성숙 난모 세포가 성숙 난모 세포로 발달하며; 나머지는 퇴화되어 죽는다. 동물로부터 미성숙 난모 세포를 분리하고 이를 인비트로 성숙시킴으로써, 짧은 시간 구간에서 소정의 암컷으로부터 IVF에 적합한 여러 더 많은 난모 세포를 얻을 수 있다. 포유류 난모 세포는 인비트로 성숙을 진행하는 것으로 알려져 있다. 생쥐, 소 및 다른 포유류의 경우, 인비트로 성숙 난모 세포는 인비트로 수정되어 배아가 적절한 자궁에 전달될 때 정상적인 건강한 새끼를 생산한다(Schroeder et al., 1984, *Dev. Biol.* 102:493; Sirard et al., 1988, *Biol. Reprod.* 39: 546). 인비트로 성숙 기술은 당업계에 주지되어 있다. 예를 들어, Chiu et al.(2003, *Human Reprod.* 18: 408-416) 및 O'Brien et al. (2003, *Biol. Reprod.* 68: 1682-1686) 참조.
- [0221] 인공 수정은 정자의 수동 주입 또는 도포에 의해 암컷 동물을 수정시키는 과정이다. 이런 절차에서, 수컷 동물은 수정시에 필요하지 않으며; 동물로부터 얻은 저장된 정자가 사용될 수 있다(Wolfe, 1967, *Lab Anim Care* 17(4):426-32 and Sato et al., 2002, *J Assist Reprod Genet.* 19(11):523-30 참조).
- [0222] 제 1 한배 새끼로부터 살아있는 새끼를 생산하는데 사용될 수 있는 다른 방법은 외과적 지원 인공 수정, 난소 전달 및 난소 분리, 난소 단편 전달, 난모 세포, 난포, 정조줄기세포의 인비트로 성숙, 생식 세포의 인비트로 분화 및 원시 세포의 인비트로 분화를 포함한다.
- [0223] 일부 실시태양에서, 수컷 제 1 한배 새끼의 배우자가 수집된다. 다른 실시태양에서 수컷 제 1 한배 새끼의 생식 세포 또는 정조 만능 세포가 수집된다. 다른 실시태양에서, 배우자, 생식 세포 또는 정조 만능 세포가 세포동결된다. 다른 실시태양에서, 암컷 제 1 한배 새끼가 번식에 의해 새끼를 생산하는데 사용된다. 또 다른 실시태양에서 암컷 제 1 한배 새끼의 배우자가 분리된다. 이런 형태의 예시적 예에서, 암컷 제 1 한배 새끼의 난소가 분리된다. 다른 예시적 예에서, 암컷 제 1 한배 새끼의 배우자 또는 난소는 세포동결된다.
- [0224] 본 발명이 쉽게 이해되고 실제적 효과를 나타내기 위해서, 특정 바람직한 실시태양은 이제 다음 비-제한적인 예에 의해 기술될 것이다.
- [0225] **실시예**

- [0226] 실시예 1
- [0227] **조건적 GILZ(Tsc22d3) 낙아웃 생쥐의 생산**
- [0228] 표적 벡터를 동형 재조합을 통해 loxP 위치를 가진 생쥐 Tsc22d3 (ENSMUSG00000031431) 유전자의 엑손 4(ENSMUSE00000815383)에 플랭킹하여 제조하였다. loxP 위치의 Cre-재조합효소 매개 재조합은 엑손 4(예를 들어, 다음 배가 등록번호 No.OTTMUST00000045354를 가진 전사체 Tsc22d3-006의)의 결실을 유도한다. 엑손 4의 CDS는 TSC22(PF01166)의 완전 서열을 암호화한다. 표적 벡터의 개략적 개관은 도 1에 도시된다.
- [0229] ES 세포에서 선택을 위한 네오마이신 선택 카세트(neo)는 엑손 4의 하류에 삽입되었다. 선택 카세트를 FRT 위치에 플랭킹하여 FLP-매개 재조합에 의한 제거를 가능하게 하였다. 개별 loxP 위치를 엑손 4의 상류 및 선택 카세트의 하류에 삽입하였다. 벡터의 5' 및 3' 동형 암은 각각 대략 8.0kb 및 6.0kb이었다.
- [0230] 선형 표적 벡터를 Bruce4 ES 세포 속에 전기천공하였다. 네오마이신 저항 클론을 선택하여 서든 블릿 분석에 의해 선별하여 표적 클론을 정확하게 확인하였다. 이런 클론을 BALB/c 배반포 속에 주입하고 이를 뒤이어 가임신 CBB6F1 양육 암컷 속에 전달하였다. 얻은 키메라를 C57BL/6 암컷에 교배하였다. 이들의 새끼를 코트 컬러로 선택하고 서든 블릿 분석으로 추가 분석하였다. 네오마이신 카세트를 표적 생쥐를 C57BL/6 FLPe-재조합효소 균주에 교배하여 제거하였다.
- [0231] 실시예 2
- [0232] **배반포 도너로서 암컷 Tsc22d3 조건적 낙아웃 생쥐를 사용하는 표적 생쥐의 생산**
- [0233] C57BL/6 배경의 21 내지 25일령 Tsc22d3 조건적 낙아웃 암컷 생쥐에 임신한 암말 혈청을 주입한다. 이틀 후 생쥐에 인간 융모성 생식샘자극호르몬을 주입하고 24h 동안 C57BL/6 Cre-재조합효소 수컷과 짝짓기한다. 6일 후 제 1 주입 배반포를 TSc22d3 조건적 낙아웃 암컷으로부터 추출한다. 이런 배반포를 표적 BALB/c ES-세포의 미세 주입을 위한 수령자로 사용하고 미세주입된 배반포를 가임신 CFF6F1 양육 암컷 속에 전달한다. 얻은 키메라를 BALB/c 암컷과 교배한다. 배반포 세포로부터 유래된 교환을 가진 수컷 키메라는 불임될 것으로 예상된다.
- [0234] 실시예 3
- [0235] **배반포 도너로서 조건적 낙아웃 생쥐의 생산**
- [0236] 생식 유전자 RSSA26 대립 형질 유전자 변형체 A의 조건적 낙아웃은 파괴자 분자(표적으로 생식 유전자의 전사체를 가진 shRNA, 생식 유전자에 의해 암호화된 단백질에 대항하는 항체 등)를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 함유한다. floxed STOP 카세트는 파괴자 분자의 발현을 억제한다. 표적화된 RSSA26 대립 형질 유전자 A를 제조하기 위한 예시적 표적 벡터는 도 2에 도시된다.
- [0237] ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 B는 Cre 재조합효소에 대한 CDS를 함유한다. 표적화된 ROSA26 대립 형질 유전자 B를 제조하기 위한 표적 벡터의 비-제한적인 예는 도 3에 도시된다.
- [0238] 번식 파트너 1은 ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 A에 대해 동형접합이다.
- [0239] 번식 파트너 2는 ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 B에 대해 동형접합이다.
- [0240] 번식 파트너 1은 수컷 또는 암컷일 수 있다. 번식 파트너 2는 반대이다.
- [0241] 번식 파트너 1과 번식 파트너 2의 교배로부터 얻은 새끼는 예로서 도 4에 도시된 대로 한 ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 A 및 한 ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 B를 가진 배아를 생산할 것이다. ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 B의 재조합효소는 ROSA26 대립 형질 유전자 변형체 A에서 STOP 카세트를 제거할 것이며 이에 의해 파괴자 분자의 발현을 개시할 것이다. 이제 파괴자 분자는 표적화된 생식 유전자의 기능적 낙-아웃을 유도할 것이다.
- [0242] 실시예 4
- [0243] **표적화된 생식 유전자를 가진 배아 속에 만능 세포의 주입 및 제 1-한배 새끼의 생산**
- [0244] 재료 & 방법
- [0245] C57BL/6 Tsc22d3 conKO/conKO 암컷 생쥐 또는 암컷 wt 대조군 생쥐(표적화된 Bruce4 C57BL/6 ES-세포의 경우에 BALB/c x C57BL/6 알비노, 아구티 및 표적화된 BALB/c ES 세포-세포의 경우에 C57BL/6)에 21-25일령에서 임신한 암말 혈청(PMS)을 주입하였다. 이틀 후 인간 융모성 생식샘자극호르몬(HCG)의 후속 주입을 적용하였다. 동

일한 날에 C57BL/6 Tsc22d3 conKO/conKO 암컷 생쥐 또는 wt BALB/c x C57BL/6 알비노, 아구티 생쥐(대조군)를 각각 ROSA26 좌위(cre/cre)에서 Cre 재조합효소의 낙-인(KI)을 가진 수컷 생쥐 또는 wt 생쥐(대조군)와 짝짓기 하였다(수컷 대조군 생쥐의 배경은 표적화된 BALB/c ES-세포의 경우에 C57BL/6 및 표적화된 Bruce4 C57BL/6 ES-세포의 경우에 BALB/c이었다). 다음날 짝짓기 파트너를 분리하였다. 짝짓기의 얻은 배반포를 분리 3일 후 채취하고 표적화된 BALB/c 및 Bruce4 C57BL/6 ES 세포의 주입에 사용하였다. 변형된 배반포를 CBB6F1 수령자 속에 전달하였다. 약 9주 후 수컷 키메라 새끼를 표적화된 BALB/c 세포의 경우에 암컷 BALB/c 생쥐 및 Bruce4 C57BL/6 ES-세포의 경우에 BALB/c 암컷 C57BL/6 생쥐와 짝짓기하였다. 새끼를 10일령에서 코트 컬러에 대해 분석하였고 서든-블러 분석에 의해 21일령에 유전자형으로 나타내었다.

[0246] **결과**

[0247] 표적화된 BALB/c ES-세포주의 주입

[0248] 주입된 Tsc22d3 KO/KO 배반포를 3마리 수령자 속에 전달하여 16마리 키메라를 얻었고 이중 11마리는 추가 번식에 사용된 수컷이다. 5마리 낮은 백분율 키메라는 새끼를 생산하지 않았다. 나머지 5마리 키메라는 전체 181마리 새끼를 생산하였다. 이런 동물 중 146마리를 코트 컬러에 대해 평가하고 35마리는 하지 않았다. 전체 146마리 평가된 동물(100%)은 표적 BALB/c ES-세포로부터 유래된 동물에 대해 예상된 백색 코트 컬러를 가졌다(도 5 참조).

[0249] 이런 146마리 동물 중 63마리는 서든-블러 분석으로 유전자형으로 나타내었다(도 6, 서든 블러 참조). 31마리(49%) 동물을 wt/표적화된 것으로 측정되었고 32(51%)를 wt/wt 생쥐로 측정하였다.

[0250] 대조군으로서 동일한 BALB/c ES-세포주를 wt BALB/c x C57BL/6 알비노 배반포 속에 주입하고 14마리 수령자 속에 전달하였다. 이것이 총 6마리 키메라를 생산하였고 이중 5마리는 수컷이고 한 마리는 암컷이다. 5마리 수컷 키메라는 전체 155마리 새끼를 생산하였다. 이런 동물 중 119마리를 코트 컬러에 대해 분석하였다. 60(50%)마리 생쥐는 백색 코트 컬러(ES 세포 유래)를 가졌고 59(50%)마리는 아구티 코트 컬러(배반포 유래)를 가졌다.

[0251] 표적화된 C57BL/6 Bruce4 ES-세포주의 주입

[0252] 주입된 Tsc22d3 KO/KO 배반포를 2마리 수령자 속에 전달하고 수컷인 전체 3마리 키메라를 생산하였다. 키메라는 전체 10마리 새끼를 생산하였다. Tsc22d3 KO/KO 배반포(키메라를 생산하는데 사용)의 배경은 C57BL/6xBALB/c F1 이고 주입된 ES 세포는 Bruce4 C57BL/6 배경이기 때문에, 코트 컬러를 기초로 한 유전자형 표현은 가능하지 않았다. 대신, 8마리 생쥐를 서든-블러 분석으로 유전자형으로 나타내었고 이의 4(50%)마리는 wt/표적화된 것으로 측정되었고 4(50%)마리는 wt/wt 생쥐로 측정되었다. 이것은 키메라의 새끼가 단지 표적화된 ES-세포로부터 유래된 경우 예상된 wt/표적화된 생쥐 vs. wt/wt 생쥐의 비율과 정확하게 관련된다.

[0253] 대조군으로서, 동일한 Bruce4 C57BL/6 ES-세포주를 wt BALB/c x C57BL/6 알비노, 아구티 배반포 속에 주입하고 11마리 수령자 속에 전달하였다. 이것이 총 13마리 키메라를 생산하였고 이중 8마리는 수컷이고 5마리는 암컷이다. 8마리 수컷 키메라는 전체 324마리 새끼를 생산하였다. 이런 동물 중 149마리를 코트 컬러에 대해 분석하였다. 53(35%)마리 생쥐는 검은색 코트 컬러(ES 세포 유래)를 가졌고 97(65%)마리 는 아구티 코트 컬러(배반포 유래)를 가졌다.

[0254] 따라서, 유전자 변형 ES-세포주의 숙주로서 Tsc22d3 KO/KO 배반포의 사용은 자손 동물에 대한 유전자 변형의 생식 계통 전달을 현저하게 개선한다. 이 실험 후, 생식 계통 전달에 필적할만한 개선이 다른 유전자 변형을 가진 8개 다리 ES-세포주에 대해 성취하였다.

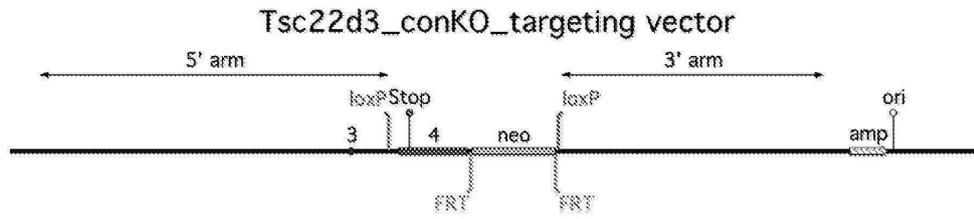
[0255] 본 발명에 인용된 각 특허, 특허출원 및 공개공보의 내용은 전문이 참조로 본 발명에 포함된다.

[0256] 임의의 참조문헌의 인용은 이런 참조문헌이 본 출원의 "종래 기술"로서 이용가능하다는 것의 허용으로 해석되지 않아야 한다.

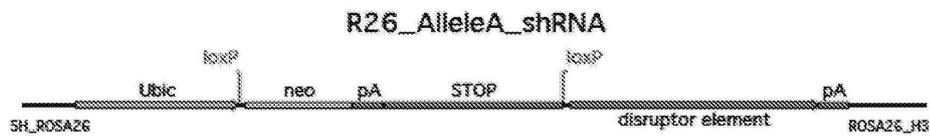
[0257] 명세서 전체에서 목표는 임의의 한 실시태양 또는 특징들의 특정 집합에 본 발명을 제한하지 않고 본 발명의 바람직한 실시태양을 기술하는 것이었다. 당업자는 따라서, 본 발명의 관점에서, 다양한 변형 및 변화가 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 예시된 특정 실시태양에서 이루어질 수 있다는 것을 알 것이다. 모든 이런 변형 및 변화는 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되는 것으로 생각된다.

도면

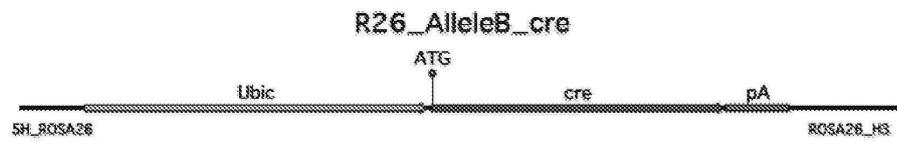
도면1



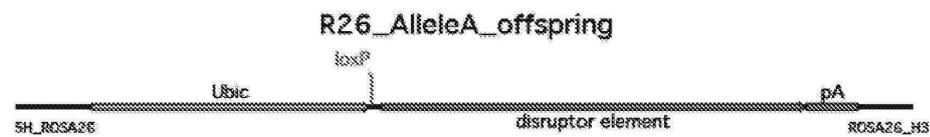
도면2



도면3



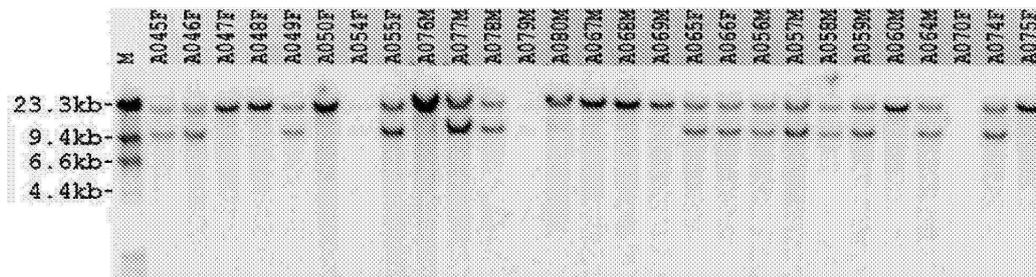
도면4



도면5



도면6



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.