

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6845013号

(P6845013)

(45) 発行日 令和3年3月17日(2021.3.17)

(24) 登録日 令和3年3月1日(2021.3.1)

(51) Int.Cl. F I
C 1 2 N 5/073 (2010.01) C 1 2 N 5/073 Z N A
C 1 2 N 5/0735 (2010.01) C 1 2 N 5/0735
A O 1 K 67/027 (2006.01) A O 1 K 67/027
C 1 2 N 15/873 (2010.01) C 1 2 N 15/873
C 1 2 N 15/12 (2006.01) C 1 2 N 15/12

請求項の数 22 (全 80 頁)

(21) 出願番号	特願2016-552650 (P2016-552650)	(73) 特許権者	516134143
(86) (22) 出願日	平成26年11月7日 (2014.11.7)		オズジーン・ホールディングス・プロプラ
(65) 公表番号	特表2016-539660 (P2016-539660A)		イエタリー・リミテッド
(43) 公表日	平成28年12月22日 (2016.12.22)		O z g e n e H o l d i n g s P t y
(86) 国際出願番号	PCT/AU2014/050339		L t d
(87) 国際公開番号	W02015/066768		オーストラリア6102ウエスタン・オー
(87) 国際公開日	平成27年5月14日 (2015.5.14)		ストラリア州ベントレー、パーカー・プレ
審査請求日	平成29年10月20日 (2017.10.20)		イス5番
(31) 優先権主張番号	2013904307	(74) 代理人	100145403
(32) 優先日	平成25年11月7日 (2013.11.7)		弁理士 山尾 憲人
(33) 優先権主張国・地域又は機関	オーストラリア (AU)	(74) 代理人	100122301
(31) 優先権主張番号	2014902162		弁理士 富田 憲史
(32) 優先日	平成26年6月6日 (2014.6.6)	(74) 代理人	100157956
(33) 優先権主張国・地域又は機関	オーストラリア (AU)		弁理士 稲井 史生

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 遺伝子改変動物を作製するための組成物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

妊孕性遺伝子の破壊および生殖細胞に分化することのできるドナー多能性細胞を含む、着床前の雄性齧歯類ホスト胚であって、ここで前記ドナー多能性細胞が前記妊孕性遺伝子の破壊を欠き、前記妊孕性遺伝子がX染色体上に位置し、破壊された妊孕性遺伝子が雄性的妊孕性を阻害する、着床前の雄性齧歯類ホスト胚。

【請求項 2】

ドナー多能性細胞がゲノム中に遺伝子改変をさらに含む、請求項 1 に記載の着床前の雄性齧歯類ホスト胚。

【請求項 3】

多能性細胞が雄の多能性細胞である、請求項 1 または 2 に記載の着床前の雄性齧歯類ホスト胚。

【請求項 4】

妊孕性遺伝子が精子形成を調節する、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の着床前の雄性齧歯類ホスト胚。

【請求項 5】

妊孕性遺伝子がG I L Zである、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の着床前の雄性齧歯類ホスト胚。

【請求項 6】

多能性細胞が幹細胞である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の着床前の雄性齧歯類

ホスト胚。

【請求項 7】

幹細胞が胚性幹（ES）細胞である、請求項 6 に記載の着床前の雄性齧歯類ホスト胚。

【請求項 8】

雄性齧歯類ホスト胚を懐胎している、代理親（surrogate）または里親（foster）である、齧歯類動物であって、

ここで、前記雄性齧歯類ホスト胚が：

（a）妊孕性遺伝子の破壊を含む着床前の雄性齧歯類ホスト胚に、生殖細胞に分化することができ、かつ前記妊孕性遺伝子の破壊を欠くドナー多能性細胞を導入する工程、ここで前記妊孕性遺伝子が X 染色体上に位置し、かつ破壊された妊孕性遺伝子が雄性の妊孕性を阻害する、および

（b）前記代理親または里親齧歯類動物に工程（a）で得られる雄性齧歯類ホスト胚を移植する工程により作製される、齧歯類動物。

【請求項 9】

妊孕性遺伝子の破壊を含む雄性齧歯類ホスト胚の作製方法であって、ここで前記雄性齧歯類ホスト胚が生殖細胞に分化することのできるドナー多能性細胞を含み、ここで前記ドナー多能性細胞が前記妊孕性遺伝子の破壊を欠き、

該方法が：

（A）

1）プロモーターおよび、リコンビナーゼの存在下において、前記妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している妊孕性遺伝子を含む破壊可能な導入遺伝子を保有する第一の齧歯類繁殖パートナーであって、ここで、妊孕性遺伝子が X 染色体上に位置し、妊孕性遺伝子の破壊が雄性の妊孕性を阻害し、かつ第一の齧歯類繁殖パートナーが、前記破壊可能な導入遺伝子についてホモ接合型であり、ここで、第一の齧歯類繁殖パートナーが雌である、第一の齧歯類繁殖パートナーを；

2）プロモーターに作動可能に連結し、かつ前記破壊可能な導入遺伝子の前記妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼをコードする破壊ヌクレオチド配列を含む破壊導入遺伝子を保有する第二の齧歯類繁殖パートナーであって、ここで第二の齧歯類繁殖パートナーが破壊導入遺伝子についてホモ接合型であり、ここで第二の齧歯類繁殖パートナーが雄である、

と交雑させることにより、妊孕性遺伝子が破壊された生殖細胞を含む、雄性齧歯類ホスト胚を作製し、かつ

（B）雄性齧歯類ホスト胚に、生殖細胞に分化することができ、かつ前記妊孕性遺伝子の破壊を欠くドナー多能性細胞を導入することを含む、方法。

【請求項 10】

ドナー多能性細胞の生殖系列伝達を改善するための系であって、該系は、以下を含む：

（A）以下

（1）プロモーターおよび、リコンビナーゼの存在下において、妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している妊孕性遺伝子を含む破壊可能な導入遺伝子を含む第一の齧歯類繁殖パートナーであって、妊孕性遺伝子が X 染色体上に位置し、妊孕性遺伝子の破壊が雄性の妊孕性を阻害し、第一の齧歯類繁殖パートナーが破壊可能な導入遺伝子についてホモ接合型であり、ここで、第一の齧歯類繁殖パートナーが雌である、第一の齧歯類繁殖パートナーおよび

（2）プロモーターに作動可能に連結し、かつ前記破壊可能な導入遺伝子の前記妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼをコードする破壊ヌクレオチド配列を含む破壊導入遺伝子を含む第二の齧歯類繁殖パートナーであって、第二の齧歯類繁殖パートナーが破壊導入遺伝子についてホモ接合型であり、ここで、第二の齧歯類繁殖パートナーが雄である、第二の繁殖パートナー、

を含む、齧歯類動物のつがいであって、

ここで、第一の齧歯類繁殖パートナーおよび第二の齧歯類繁殖パートナーを交雑させるこ

10

20

30

40

50

とが、破壊された妊孕性遺伝子を有する生殖細胞を含みかつ生殖細胞に分化することができ、前記妊孕性遺伝子の破壊を欠くドナー齧歯類多能性細胞が導入可能である雄性齧歯類ホスト胚を作製し、それによりドナー多能性細胞の生殖系列伝達を改善する；ならびに（Ｂ）生殖細胞に分化することができ、前記妊孕性遺伝子の破壊を欠くドナー多能性細胞、を含む、系。

【請求項１１】

該破壊ヌクレオチド配列が条件的に発現可能である、請求項１０に記載の系。

【請求項１２】

該破壊導入遺伝子が、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に連結した発現調節エレメントを含み、該発現調節エレメントが、該破壊ヌクレオチド配列の発現を条件的に阻害する、請求項１１に記載の系。

10

【請求項１３】

該発現調節エレメントが第一の条件下で、破壊ヌクレオチド配列の転写を阻害し、第二の条件下において、該発現調節エレメントの破壊により、破壊ヌクレオチド配列の転写が可能になるか、または増大する、請求項１２に記載の系。

【請求項１４】

該発現調節エレメントが、破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害しかつ第二のリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している阻害ヌクレオチド配列を含み、該第二のリコンビナーゼ認識部位が、第二のリコンビナーゼの存在下において、該阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介し、第一の齧歯類繁殖パートナーが、プロモーターに作動可能に結合した、第二のリコンビナーゼのコード配列を含む活性化導入遺伝子を含む、請求項１２または１３に記載の系。

20

【請求項１５】

キメラ齧歯類動物の作製方法であって、

（１）雄性齧歯類ホスト胚を代理親または里親齧歯類動物に移植する工程、
ここで、前記雄性齧歯類ホスト胚は、妊孕性遺伝子の破壊を含む着床前の雄性齧歯類ホスト胚に、生殖細胞に分化することができ、かつ前記妊孕性遺伝子の破壊を欠くドナー多能性細胞を導入することにより作製され、
ここで前記妊孕性遺伝子はＸ染色体上に位置し、かつ破壊された妊孕性遺伝子は雄性の妊孕性を阻害し、

30

ここで、ドナー多能性細胞が遺伝子改変を含む；および

（２）（１）の前記雄性齧歯類ホスト胚を、胚の発生に適切な条件下で前記代理親または里親齧歯類動物において懐胎させることにより、破壊された妊孕性遺伝子および遺伝子改変を生殖系列中に有する雄のキメラ齧歯類動物を作製することを含む、方法。

【請求項１６】

ゲノム中に遺伝子改変を含む齧歯類動物の作製方法であって、請求項１５に記載の方法により作製される雄のキメラ齧歯類動物を、ゲノム中に破壊されていない妊孕性遺伝子を含む、同族の雌の齧歯類動物と繁殖させ、該雄キメラ齧歯類動物が、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含む場合に、該遺伝子改変を含む齧歯類動物を得ることを含む、方法。

40

【請求項１７】

妊孕性遺伝子の破壊を含む齧歯類ホスト胚の作製方法であって、
該方法が：

１）プロモーターおよび、リコンビナーゼの存在下において、前記妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している妊孕性遺伝子を含む破壊可能な導入遺伝子を保有する第一の齧歯類繁殖パートナーであって、ここで、妊孕性遺伝子がＸ染色体上に位置し、妊孕性遺伝子の破壊が雄性の妊孕性を阻害し、第一の齧歯類繁殖パートナーが雌であり、かつ、前記破壊可能な導入遺伝子についてホモ接合型である、第一の齧歯類繁殖パートナーを；

２）プロモーターに作動可能に連結し、かつ前記破壊可能な導入遺伝子の前記妊孕性遺伝

50

子の破壊を媒介するリコンビナーゼをコードする破壊ヌクレオチド配列を含む破壊導入遺伝子を保有する第二の齧歯類繁殖パートナーであって、第二の齧歯類繁殖パートナーが雄であり、前記破壊導入遺伝子についてホモ接合型である、第二の齧歯類繁殖パートナー、と交雑させることにより、破壊された妊孕性遺伝子を有する生殖細胞を含む雄性齧歯類ホスト胚を作製すること、を含む、方法。

【請求項 18】

ドナー多能性細胞の生殖系列伝達を改善するための系であって、該系が：

1) プロモーターおよび、リコンビナーゼの存在下において、妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している妊孕性遺伝子を含む破壊可能な導入遺伝子を含む第一の齧歯類繁殖パートナーであって、ここで妊孕性遺伝子がX染色体上に位置し、妊孕性遺伝子の破壊が雄性の妊孕性を阻害し、かつ第一の齧歯類繁殖パートナーが雌であり、かつ破壊可能な導入遺伝子についてホモ接合型である、第一の齧歯類繁殖パートナーおよび

(2) プロモーターに作動可能に連結し、かつ前記破壊可能な導入遺伝子の前記妊孕性遺伝子の破壊を媒介するリコンビナーゼをコードする破壊ヌクレオチド配列を含む破壊導入遺伝子を含む第二の齧歯類繁殖パートナーであって、ここで第二の齧歯類繁殖パートナーが雄であり、前記破壊導入遺伝子についてホモ接合型である、第二の齧歯類繁殖パートナー、

を含む齧歯類動物のつがいを含み、

ここで、第一の齧歯類繁殖パートナーおよび第二の齧歯類繁殖パートナーを交雑させることが、破壊された妊孕性遺伝子を有する生殖細胞を含みかつ生殖細胞に分化することができ、前記妊孕性遺伝子の破壊を欠くドナー齧歯類多能性細胞が導入可能である、雄性齧歯類ホスト胚を作製し、それによりドナー多能性細胞の生殖系列伝達を改善する、系。

【請求項 19】

該破壊ヌクレオチド配列が条件的に発現可能である、請求項 18 に記載の系。

【請求項 20】

該破壊導入遺伝子が、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に連結した発現調節エレメントを含み、該発現調節エレメントが、該破壊ヌクレオチド配列の発現を条件的に阻害する、請求項 19 に記載の系。

【請求項 21】

該発現調節エレメントが第一の条件下で、破壊ヌクレオチド配列の転写を阻害し、第二の条件下において、該発現調節エレメントの破壊により、破壊ヌクレオチド配列の転写が可能になるか、または増大する、請求項 20 に記載の系。

【請求項 22】

該発現調節エレメントが、破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害しかつ第二のリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している阻害ヌクレオチド配列を含み、該第二のリコンビナーゼ認識部位が、第二のリコンビナーゼの存在下において、該阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介し、第一の齧歯類繁殖パートナーが、プロモーターに作動可能に結合した、第二のリコンビナーゼのコード配列を含む活性化導入遺伝子を含む、請求項 20 または 21 に記載の系。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2013年11月7日に出願された、豪州仮特許出願第2013904307号“Compositions and Methods for Producing Genetically Modified Animals”および、2014年6月6日に出願された、豪州仮特許出願第2014902162号“Compositions and Methods for Producing Genetically Modified Animals”に基づく優先権

10

20

30

40

50

を主張し、これらは、それぞれ、引用により本明細書にその全体が包含される。

【 0 0 0 2 】

本発明は、一般的に、遺伝子改変ドナー多能性細胞を含む、ドナー多能性細胞の、生殖細胞および配偶子への発生のホストとして使用し得る、破壊された、または破壊可能な妊孕性遺伝子を有する非ヒト胚を作製するための方法および組成物に関する。本発明はまた、該胚から、破壊された妊孕性遺伝子を有するキメラ非ヒト動物を作製するため、および該キメラ非ヒト動物を、破壊されていない妊孕性遺伝子を含む同族の非ヒト動物と繁殖させて、実質的に全てがドナー多能性細胞由来である配偶子および/または生殖細胞を有する非ヒト動物を得るための、方法および組成物に関する。

【 背景技術 】

10

【 0 0 0 3 】

マウス胚性幹(E S)細胞は、多能性であり、胚盤胞注入後、マウスの全ての組織に寄与し得る。該細胞は、遺伝的な操作が比較的容易であり、標的とする変異をゲノム中に導入した後に、遺伝子改変マウスを作製するのに用いられている(例えば、Doetschman T et al., 1987. Nature 330: 576-578参照)。

【 0 0 0 4 】

胚盤胞胚環境に導入されると、遺伝子改変を有するマウス「ドナー」E S細胞は、ホスト胚盤胞の内部細胞塊に取り込まれ、体細胞および生殖細胞系列に分化し、最終的に、キメラとして知られるモザイクマウスが得られる。キメラ化の差異は、胚盤胞に寄与するドナーE S細胞の量の差異によるものである。胚盤胞中でドナーE S細胞が発達する程、ドナーE S由来の胚細胞が多くなり、これは、次いで、生殖系列への遺伝子改変の伝達を増進する(生殖細胞系列伝達)。

20

【 0 0 0 5 】

しかしながら、よく理解されていないいくつかの複雑な要因、例えば、(i) 内部細胞塊(ICM)発生過程に取り込まれるためには、ドナーE S細胞が適切な時に適切な場所にいる必要があること、(ii) ドナーE S細胞が始原生殖細胞に、次いで、機能性の配偶子に発生できる性質が(遺伝的および後成的に)備わっていること、および(iii)通常のキメラにおける、胚発生の中の、最終的に配偶子となるための発生ニッチについてのホストとドナー幹細胞間の競合により、キメラにおけるドナーE S細胞からの生殖細胞系列への寄与は、予測が不可能であり、0%~100%で変動することが挙げられる。

30

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

【 0 0 0 6 】

【 非特許文献 1 】 Doetschman T et al., 1987. Nature 330: 576-578

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

したがって、遺伝子改変多能性の細胞、例えばE S細胞の生殖細胞系列伝達を改善し、キメラから多能性細胞由来の動物の作製を加速することが必要とされている。

【 課題を解決するための手段 】

40

【 0 0 0 8 】

本発明は、部分的には、内在性の妊孕性遺伝子を含む、(例えば遺伝子改変を含む)ドナー多能性細胞の生殖系列伝達は、該ドナー多能性細胞が導入される着床前の非ヒト胚中の妊孕性遺伝子を破壊することにより有意に増強し得るという発見に由来するものである。適当な代理親(surrogate)または里親(foster)となる非ヒト動物に、該胚を着床および懐胎させることにより、破壊された妊孕性遺伝子を含む、内在性の生殖細胞または配偶子を含む、キメラ非ヒト動物ならびに、妊孕性遺伝子が破壊されていないドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物を含む、子孫が得られる。破壊されていない妊孕性遺伝子を含む同族の非ヒト動物と繁殖させた場合、破壊された妊孕性遺伝子を含む内在性生殖細胞または配偶子を含む該キメラ非ヒト動物は、妊孕性が損なわれて

50

いるか、または阻害されており、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含む非ヒト動物は、正常の、または損なわれていない妊孕性を有することにより、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を有する最初の出生仔(first litter offspring)の作製が増進される。

【0009】

したがって、ひとつの局面において、本発明は、生殖細胞系列に、破壊された妊孕性遺伝子を含むか、実質的にそれからなる、着床前非ヒトホスト胚を提供する。破壊された妊孕性遺伝子は、任意の染色体上であってよく、いくつかの態様において、該妊孕性遺伝子は、性染色体（例えばXまたはY染色体）上に位置する。特定の態様において、該妊孕性遺伝子は、X染色体上に位置する。妊孕性遺伝子の破壊は、ヘテロ接合性であっても、またはホモ接合性であってもよく、特定の態様において、妊孕性遺伝子の両方のアレルが破壊されている。妊孕性遺伝子の破壊により、雄性妊孕性が阻害されるのが適当であり、この種の具体的な例において、該破壊により、精子の機能または精子形成が阻害される。特定の態様において、該妊孕性遺伝子はG I L Z（斜体）である。

10

【0010】

関連する局面において、本発明は、破壊されていない妊孕性遺伝子を含む、ドナー多能性細胞をさらに含む、上で広く記載した、着床前非ヒトホスト胚を提供する。いくつかの態様において、該ドナー多能性細胞は、幹細胞である（例えば、胚性幹（ES）細胞、エピブラスト幹細胞、胚性生殖細胞、人工多能性幹細胞、遺伝子改変ES細胞、遺伝子改変エピブラスト幹細胞、遺伝子改変胚性生殖（EG）細胞、遺伝子改変人工多能性幹（iPS）細胞またはこれらの2つ以上の組み合わせから選択される）。該多能性細胞は、遺伝子改変を含んでいるのが適当である。特定の態様において、該ドナー多能性細胞は、雄の多能性細胞である。

20

【0011】

本発明の他の局面は、本明細書で広く定義する、破壊された妊孕性遺伝子を含む非ヒトホスト胚および、破壊されていない妊孕性遺伝子を含む、ドナー多能性細胞を提供する。いくつかの態様において、該ドナー多能性細胞は、適当に遺伝子改変を含む幹細胞（例えばES細胞）である。該ドナー多能性細胞は、雄の多能性細胞であるのが適当である。

【0012】

本発明のさらに他の局面において、非ヒト動物の作製方法を提供する。これらの方法は、一般的に、本明細書で広く定義する、着床前の非ヒトホスト胚を、偽妊娠非ヒト動物に導入し、該胚の発生に適した条件下で、該着床前非ヒトホスト胚を懐胎させることにより、非ヒト動物を作製することを含むか、または本質的にこれらのことからなる。

30

【0013】

関連する局面において、本発明は、これらの方法より得られる非ヒト動物を提供する。

【0014】

本発明のさらに他の局面は、本明細書で広く定義する非ヒトホスト胚を含むか、または本質的にそれからなる、代理親（surrogate）または里親（foster）である、非ヒト動物を提供する。

【0015】

40

本発明の他の局面において、キメラ非ヒト動物の作製方法を提供する。これらの方法は、一般的に、破壊を含まない妊孕性遺伝子を含むドナー多能性細胞を含む、本明細書に広く定義する着床前の非ヒトホスト胚を偽妊娠非ヒト動物に導入し、該着床前の非ヒトホスト胚を、該胚の発生に適当な条件下で懐胎させることにより、キメラ非ヒト動物を作製することを含むか、本質的にこれらのことからなる。

【0016】

関連する局面において、本発明は、これらの方法により得られるキメラ非ヒト動物を提供する。

【0017】

本発明のさらに他の局面は、破壊された妊孕性遺伝子を有する非ヒトホスト胚を作製す

50

る方法を提供する。これらの方法は、一般的に：１）破壊可能な妊孕性遺伝子を保有する第一の動物系統を、２）該破壊可能な妊孕性遺伝子を破壊する遺伝子を含む、不妊活性化導入遺伝子を保有する第二の動物系統と交雑させることにより、破壊された妊孕性遺伝子を有する生殖細胞を含む、遺伝子組換え非ヒトホスト胚を作製することを含むか、または本質的にこのことからなる。いくつかの態様において、第一の動物系統の雌（female member）を、第二の動物系統の雄（male member）と交雑させる。本明細書において、第一および第二の動物系統の各メンバーは、非ヒト動物のつがいの繁殖パートナーである。

【００１８】

さらに他の局面において、本発明は：（１）妊孕性遺伝子破壊分子によって破壊可能である、本明細書で広く定義する破壊可能な妊孕性遺伝子を含み、該破壊可能な妊孕性遺伝子がプロモーターに作動可能に連結している第一の繁殖パートナーおよび（２）妊孕性遺伝子破壊分子をコードするヌクレオチド配列（「破壊ヌクレオチド配列」）を含む、破壊導入遺伝子を含み、該破壊ヌクレオチド配列がプロモーターに作動可能に連結している、第二の繁殖パートナーを含む、非ヒト動物のつがいを提供する。いくつかの態様において、該妊孕性遺伝子破壊分子は、リコンビナーゼであり、該破壊可能な妊孕性遺伝子は、リコンビナーゼの存在下における該破壊可能な妊孕性遺伝子の破壊を媒介する、リコンビナーゼ認識配列に作動可能に連結している。他の態様において、該妊孕性遺伝子破壊分子は、破壊可能な妊孕性遺伝子の発現を、適当には、アンチセンス抑制またはRNA干渉により阻害する、抑制RNA分子である。さらに他の態様において、該妊孕性遺伝子破壊分子は、破壊可能な妊孕性遺伝子のポリペプチド産物と免疫相互作用性である抗体である。

【００１９】

いくつかの態様において、該破壊ヌクレオチド配列は、条件的に発現可能であり、この種の具体的な例において、該破壊導入遺伝子は、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に連結している、発現調節エレメントを含み、ここで、該エレメントは、該破壊ヌクレオチド配列の発現を条件的に阻害する。例えば、該発現調節エレメントは、第一の条件下では、該破壊ヌクレオチド配列の転写を阻害でき、第二の条件下において、該発現調節エレメントの破壊により、該破壊ヌクレオチド配列の転写が可能になるか、または増大し得る。いくつかの態様において、該発現調節エレメントは、該破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害し、リコンビナーゼ認識配列に作動可能に連結した阻害ヌクレオチド配列（例えば転写終結配列）を含み、ここで、該リコンビナーゼ認識配列は、リコンビナーゼの存在下において、該阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介する。この種の具体的な例において、第一の繁殖パートナーは、リコンビナーゼのコード配列を含み、プロモーターに作動可能に結合した、破壊ヌクレオチド配列の発現を刺激するかまたは増大させる、活性化導入遺伝子を含む。

【００２０】

いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。

【００２１】

第一の繁殖パートナーは、活性化導入遺伝子についてホモ接合型であり、かつ/または、第二の繁殖パートナーは、破壊導入遺伝子についてホモ接合型であるのが適当である。

【００２２】

関連する局面において、本発明は：（１）プロモーターおよび、リコンビナーゼの存在下において、妊孕性遺伝子の破壊を媒介する、リコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結した、破壊可能な妊孕性遺伝子を含む第一の繁殖パートナー；および（２）プロモーターに作動可能に連結した、妊孕性遺伝子破壊分子をコードする破壊ヌクレオチド配列を含む、破壊導入遺伝子を含む第二の繁殖パートナーを含む、非ヒト動物のつがいを提供し、ここで、該妊孕性遺伝子破壊分子は、該リコンビナーゼを含む。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは、雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。

【００２３】

いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは、破壊可能な導入遺伝子についてホ

10

20

30

40

50

モ接合型であり、かつ/または、第二の繁殖パートナーは、破壊導入遺伝子についてホモ接合型である。

【 0 0 2 4 】

いくつかの態様において、非ヒト動物のつがいは：(1)プロモーターおよび、第一のリコンビナーゼの存在下において破壊可能な妊孕性遺伝子の破壊を媒介する、第一のリコンビナーゼ認識部位に作動可能に結合している破壊可能な妊孕性遺伝子および、プロモーターに作動可能に連結した第二のリコンビナーゼのコード配列を含む、第一の破壊導入遺伝子を含み、該第二のリコンビナーゼが第二のリコンビナーゼ認識部位を特異的に認識する、第一の繁殖パートナーおよび、(2)プロモーターおよび、第二のリコンビナーゼの存在下において破壊可能な妊孕性遺伝子の破壊を媒介する第二のリコンビナーゼ認識部位に、作動可能に連結した、破壊可能な妊孕性遺伝子を含む、第二の破壊可能な導入遺伝子および、プロモーターに作動可能に連結した第一のリコンビナーゼのコード配列を含む第二の破壊導入遺伝子を含み、第一のリコンビナーゼが、第一のリコンビナーゼ認識部位を特異的に認識する、第二の繁殖パートナーを含む。

10

第一の繁殖パートナーは、第一の破壊可能な導入遺伝子および第一の破壊導入遺伝子についてホモ接合型であり、かつ/または、第二の繁殖パートナーは、第二の破壊可能な導入遺伝子および第二の破壊導入遺伝子についてホモ接合型であるのが適当である。

【 0 0 2 5 】

他の関連する局面において、本発明は：(1)破壊可能な妊孕性遺伝子を含む第一の繁殖パートナー；および(2)プロモーターに作動可能に連結し、破壊可能な妊孕性遺伝子の発現を阻害する抑制RNA分子(例えばアンチセンスRNA、siRNA、shRNA等)をコードする、破壊ヌクレオチド配列を含む破壊導入遺伝子を含む、第二の繁殖パートナーを含む、非ヒト動物のつがいを提供する。いくつかの態様において、該破壊ヌクレオチド配列は、条件的に発現可能であり、この種の具体的な例において、該破壊導入遺伝子は、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に連結した発現調節エレメントを含み、該エレメントは、条件的に、破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害する。例えば、該発現調節エレメントは、第一の条件下において、破壊ヌクレオチド配列の転写を阻害し得、第二の条件下において、発現調節エレメントの破壊により、該破壊ヌクレオチド配列の転写が可能になるか、または増大し得る。いくつかの態様において、該発現調節エレメントは、破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害し、リコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結した、阻害ヌクレオチド配列(例えば転写終結配列)を含み、ここで、該リコンビナーゼ認識部位は、リコンビナーゼの存在下において、該阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介する。この種の具体的な例において、第二の繁殖パートナーは、プロモーターに作動可能に連結した、該リコンビナーゼのコード配列を含む、活性化導入遺伝子を含む。第二の繁殖パートナーの破壊可能な妊孕性遺伝子は、野生型の遺伝子であるのが適当である。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。

20

30

【 0 0 2 6 】

したがって、いくつかの態様において、非ヒト動物のつがいは：(1)プロモーターに作動可能に結合した破壊可能な妊孕性遺伝子および、プロモーターに作動可能に連結したリコンビナーゼのコード配列を含む、活性化導入遺伝子を含む、第一の繁殖パートナー；および(2)破壊可能な妊孕性遺伝子の発現を阻害する抑制RNA分子(例えばアンチセンスRNA、siRNA、shRNA等)をコードする破壊ヌクレオチド配列を含む、破壊導入遺伝子を含む第二の繁殖パートナーを含み、ここで、該破壊ヌクレオチド配列は、プロモーターおよび、リコンビナーゼの非存在下において該破壊ヌクレオチドの発現を阻害し、リコンビナーゼの存在下において阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介するリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している、阻害ヌクレオチド配列(例えば転写終結配列)を含む、発現調節エレメントに作動可能に連結している。第一の繁殖パートナーは、活性化導入遺伝子についてホモ接合型であり、かつ/または第二の繁殖パートナーは破壊導入遺伝子についてホモ接合型であるのが適当である。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは、雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。

40

50

【 0 0 2 7 】

さらに他の関連する態様において、本発明は：(1)破壊可能な妊孕性遺伝子を含む第一の繁殖パートナー；および(2)破壊可能な妊孕性遺伝子のポリペプチド産物と免疫相互作用性である抗体をコードし、プロモーターに作動可能に連結している破壊ヌクレオチド配列を含む、破壊導入遺伝子を含む第二の繁殖パートナーを含む、非ヒト動物のつがいを提供する。いくつかの態様において、該破壊ヌクレオチド配列は条件的に発現可能であり、この種の具体的な例において、該破壊導入遺伝子は、該破壊ヌクレオチド配列に作動可能に連結した発現調節エレメントを含み、ここで、該エレメントは、条件的に、該破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害する。

例えば、該発現調節配列は、第一の条件下で、破壊ヌクレオチド配列の転写を阻害し得、第二の条件下において、該発現調節エレメントの破壊により、破壊ヌクレオチド配列の転写が可能になるか、または増大し得る。いくつかの態様において、該発現調節エレメントは、該破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害し、リコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結した、阻害ヌクレオチド配列（例えば、転写終結配列）を含み、ここで、該リコンビナーゼ認識部位は、リコンビナーゼの存在下において、阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介する。この種の具体的な例において、第一の繁殖パートナーは、プロモーターに作動可能に結合した該リコンビナーゼのコード配列を含む、活性化導入遺伝子を含む。第二の繁殖パートナーの破壊可能な妊孕性遺伝子は、野生型の遺伝子であるのが適当である。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。

【 0 0 2 8 】

したがって、いくつかの態様において、非ヒト動物のつがいは：(1)プロモーターに作動可能に結合した破壊可能な妊孕性遺伝子および、プロモーターに作動可能に連結したリコンビナーゼのコード配列を含む活性化導入遺伝子を含む、第一の繁殖パートナー；および(2)妊孕性遺伝子のポリペプチド産物と免疫相互作用性である抗体をコードする、破壊ヌクレオチド配列を含む破壊導入遺伝子を含む、第二の繁殖パートナーを含み、ここで、該破壊ヌクレオチド配列は、プロモーターおよび、リコンビナーゼの非存在下で破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害し、リコンビナーゼの存在下において阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介するリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している、阻害ヌクレオチド配列（例えば転写終結配列）を含む、発現調節エレメントに、作動可能に連結している。第一の繁殖パートナーは、活性化導入遺伝子についてホモ接合型であり、かつ/または第二の繁殖パートナーは破壊導入遺伝子についてホモ接合型であるのが適当である。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。

【 0 0 2 9 】

他の局面において、本発明は、破壊された妊孕性遺伝子を含む、非ヒト宿主胚の作製方法を提供する。

これらの方法は、一般的に：

- (a) 本明細書に広く定義する、非ヒト動物つがいの第一の繁殖パートナーを、該つがいの第二の繁殖パートナーを交配させること；および
- (b) 該つがいの雌のメンバーから、着床前の非ヒト胚を得ることを含むか、または本質的にこれらのことからなり、ここで、該胚は、生殖系列中に、妊孕性遺伝子の破壊を含む。いくつかの態様において、該方法はさらに、着床前の非ヒト胚の形成を可能にする条件下において、非ヒト宿主胚を培養することを含む。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは雌であり、第二の繁殖パートナーは雄である。いくつかの態様において、該方法は、例えば本明細書に記載するドナー多能性細胞を、着床前の非ヒト胚に導入することをさらに含む。該多能性細胞は、遺伝子改変を含むのが適当である。特定の態様において、該多能性細胞は雄の多能性細胞である。

【 0 0 3 0 】

関連する局面において、本発明は、上述の方法により得られる、非ヒト宿主胚を提供する。

【 0 0 3 1 】

さらに他の局面において、本発明は、キメラ非ヒト動物を作製する方法を提供する。これらの方法は、一般的に：(1)例えば、本明細書に記載する、妊孕性遺伝子の破壊を生殖系列中に含み、さらに、例えば本明細書に記載する、異種多能性細胞をさらに含む、着床前の非ヒト胚を移植すること；および(2)(1)の非ヒト宿主胚を、該胚の発生に適切な条件下で懐胎させることにより、破壊された妊孕性遺伝子および遺伝子改変を生殖系列中に含むキメラ非ヒト動物を作製することを含むか、本質的にこれらのことからなる。該キメラ非ヒト動物は雄のキメラ非ヒト動物であるのが適当である。

【 0 0 3 2 】

関連する局面において、本発明は、これらの方法により得られる、キメラ非ヒト動物を提供する。

10

【 0 0 3 3 】

本発明のさらに他の局面は、ゲノム中に遺伝子改変を含む、非ヒト動物を作製する方法を提供する。これらの方法は、一般的に：(1)例えば本明細書に記載する妊孕性遺伝子の破壊を生殖系列中に含み、さらに、例えば本明細書に記載する異種多能性細胞を含む、着床前の非ヒト胚を移植すること；(2)(1)の非ヒト宿主胚を、該胚の発生に適切な条件下で懐胎させることにより、破壊された妊孕性遺伝子および遺伝子改変をその生殖系列に含む、キメラ非ヒト動物を含む、出生仔を作製すること；(3)該出生仔の中の、雄のキメラ非ヒト動物を、破壊されていない妊孕性遺伝子をゲノム中に含む、同族の雌の非ヒト動物と繁殖させて、該雄キメラ非ヒト動物が、異種多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含む場合は、遺伝子改変を含む非ヒト動物を得ることを含むか、本質的にこれらのことからなる。

20

【 0 0 3 4 】

関連する局面において、本発明は、上述の方法により得られる、遺伝子改変を含む非ヒト動物を提供する。

【 0 0 3 5 】

他の局面において、本発明は、本明細書に広く記載する、着床前の非ヒト宿主胚を移植した非ヒト動物（例えば代理親（surrogate）または里親（foster）である非ヒト動物）を提供する。

【 0 0 3 6 】

本発明の他の局面は、本明細書に広く記載する、着床前の非ヒト宿主胚由来のキメラ非ヒト動物を提供する。

30

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 7 】

【図1】T s c 2 2 d 3 条件的ノックアウトのターゲティングベクターの概略図である。青のボックス：エクソン；n e o：E S 細胞における選択用のネオマイシンカセット；F R T：f l p リコンビナーゼを介するn e o の除去のための認識配列；l o x P：c r e リコンビナーゼを介する、エクソン欠損のための認識配列；a m p：アンピシリン耐性遺伝子；o r i：複製起点。

【図2】ターゲットR O S A 2 6 アレルバリエーションAを表す概略図である。U b i c：ヒトユビキチンプロモーター；n e o：E S 細胞における選択用のネオマイシンカセット；c r e：C r e リコンビナーゼ；S T O P：転写/翻訳「停止（stop）」エレメント；l o x P：C r e リコンビナーゼを介するS T O P の欠損のための認識配列；p A：ポリアデニル化シグナル；破壊エレメント：妊孕性遺伝子の発現またはその蛋白質産物の機能を妨げる任意のエレメント（例えばs h R N A、抗体）。

40

【図3】ターゲットR O S A 2 6 アレルバリエーションBを表す概略図である。U b i c：ヒトユビキチンプロモーター；n e o：E S 細胞における選択用のネオマイシンカセット；c r e：C r e リコンビナーゼ；S T O P：転写/翻訳「停止（stop）」エレメント；l o x P：C r e リコンビナーゼを介するS T O P の欠損のための認識配列；p A：ポリアデニル化シグナル；破壊エレメント：妊孕性遺伝子の発現またはその蛋白質産物の機能

50

を妨げる任意のエレメント（例えばshRNA、抗体）。

【図4】出生仔における、ターゲット ROSA26 アレルバリエーションAを示す概略図である。Ubic: ヒトユビキチンプロモーター; neo: ES細胞における選択用のネオマイシンカセット; cre: Creリコンビナーゼ; STOP: 転写/翻訳「停止(stop)」エレメント; loxP: Creリコンビナーゼを介するSTOPの欠損のための認識配列; pA: ポリアデニル化シグナル; 破壊エレメント: 妊孕性遺伝子の発現またはその蛋白質産物の機能を妨げる任意のエレメント（例えばshRNA、抗体）。

【図5】本発明の方法の一態様により作製された最初の出生仔の非限定的な例を表す写真である。この図中の仔は、2つのキメラの完全な同腹仔である。該キメラは、Tsc22d3 conKO/conKO胚盤胞をベースとして作製した。全ての仔が、標的ES細胞由来の動物について期待される白色の毛色を示す。

10

【図6】遺伝子型決定のためのサザンブロット解析の代表的な例を示す写真である。生検試料を溶解させ、BamHIで消化した。期待されるサイズは、野生型アレルについては17.5kbであり、ターゲットアレルについては9.7kbである。A045、A046、A049、A055、A077、A078、A065、A066、A056、A057、A058、A059、A064およびA074は、wt/ターゲット; A047、A048、A050、A076、A080、A067、A068、A069、A060、A070およびA075は、wt/wtと決定し、A054、A079およびA070は決定することができなかった。

【発明を実施するための形態】

20

【0038】

1. 定義

とくにことわらない限り、本明細書で用いる全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する分野の当業者が通常理解するのと同じ意味を有する。本発明の実施または試験においては、本明細書に記載の方法および物質と類似したまたは同等の任意の方法および材料を用いてよいが、ここには好ましい方法および材料を記載する。本発明の目的のために、次の用語を以下のように定義する。

【0039】

本明細書で用いる冠詞「a」および「an」は、1つ以上（すなわち、少なくとも1つ）の該冠詞の文法的な目的語を指すのに用いられる。例えば「妊孕性遺伝子 (a fertility gene)」は、単一の妊孕性遺伝子または2つ以上の妊孕性遺伝子を指す。

30

【0040】

本明細書において、「および/または」は、1つ以上の、記載する関連のある項目の可能性のある任意の、および全ての組み合わせを指し、これを包含すると同時に、選択肢（または）と解釈されたときは、組み合わせを含まないことを指し、これを含む。

【0041】

「抗体」という語は、抗原結合領域を有する任意の抗体様分子を指すのに用い、Fab'、Fab、F(ab')₂、単一ドメイン抗体(DAB)、FvおよびscFv(一本鎖Fv)等のような、抗体断片を含む。

【0042】

40

「アンチセンス」という語は、ヌクレオチド残基の配列が、DNA二本鎖のセンス鎖のデオキシヌクレオチド残基の配列に対して、5'から3'の方向が逆向きである、ヌクレオチド配列を指す。DNA二本鎖の「センス鎖」は、天然状態の細胞で「センスmRNA」に転写される、DNA二本鎖中の鎖を指す。したがって、「アンチセンス」配列は、DNA二本鎖中の非コード鎖と同じ配列を有する配列である。「アンチセンスRNA」という語は、標的的一次転写物またはmRNAの全体または一部と相補的であり、該一次転写物またはmRNAのプロセッシング、輸送および/または翻訳に干渉することにより、標的遺伝子の発現を遮断する、RNA転写物を指す。アンチセンスRNAは、特定の遺伝子転写物の任意の部分と相補的であってよく、言い換えれば、5'非コード配列、3'非コード配列、イントロンまたはコード配列と相補的であってよい。さらに、本明細書において、

50

アンチセンスRNAは、アンチセンスRNAによる遺伝子発現の遮断の効率を上昇させる、リボザイム配列領域を含んでよい。「リボザイム」は、触媒RNAを指し、配列特異的なエンドリボヌクレアーゼを含む。「アンチセンス阻害」は、標的蛋白質の発現を妨げることができるRNA転写物の産生を指す。

【0043】

本明細書において、「繁殖」という語は、受精が起こるように雄性配偶子および雌性配偶子が結合することを指す。該結合は、交配（交尾）または、試験管内または生体内の人工的な方法によって引き起こし得る。該人工的な方法としては、人工授精、外科手術により補助する人工授精、体外受精、細胞質内精子注入、透明帯開孔法、受精卵母細胞の試験管内培養、卵巣移植および卵巣の分割が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0044】

「細胞」、「ホスト細胞」および「形質転換ホスト細胞」等は、具体的な対象細胞だけではなく、該細胞の子孫または潜在的な子孫も指す用語である。変異または環境の影響により、継代の間に特定の変更が起こり得るため、該子孫は、実際には、親細胞と同一でない場合もあるが、なお、本明細書で用いる該用語の範囲内に含まれる。

【0045】

本明細書において、「シス作用配列」または「シス調節領域」または類似の用語は、発現可能な遺伝子配列由来の任意のヌクレオチド配列であって、遺伝子配列の発現が、少なくとも部分的に、該ヌクレオチド配列により制御されている配列を指すと解し得る。シス調節領域は、任意の構造遺伝子配列の発現レベルおよび/または細胞種特異性および/または発生特異性を活性化、サイレンシング、増進、抑制または他の方法で変更することができることは、当業者が認識していることである。

20

【0046】

「コード配列」およびコード領域等は、遺伝子のポリペプチド産物のコードに貢献する任意の核酸配列を指す。対照的に、「非コード配列」および「非コード領域」という語は、遺伝子のポリペプチド産物のコードに貢献しない任意の核酸配列を指す。

【0047】

「コンストラクト」という語は、本明細書において、天然の条件ではそれらの配列またはセグメントを組み合わせることがない種由来の、または、形質転換を受けていないホストの天然のゲノムまたはヌクレオームでは、通常起こらない方法で位置しているか、または連結している、少なくとも2つの核酸配列またはセグメントを含む、遺伝子または核酸配列またはセグメントを指すのに用いる。

30

【0048】

本明細書において、「相補的な」ポリヌクレオチドは、標準的なワトソン - クリック相補性規則によって塩基対を形成することによりハイブリダイズすることができるヌクレオチドである。具体的には、プリンは、ピリミジンと塩基対を形成して、シトシンと対合したグアニン(G:C)および、DNAの場合には、チミンと対になったアデニン(A:T)、または、RNAの場合にはウラシルと対になったアデニン(A:U)の組み合わせが形成される。例えば、配列「A - G - T」は、相補的な配列である「T - C - A」に結合する。2つのポリヌクレオチドは、互いに完全に(completely)または全体に(fully)相補的でなくとも、それぞれが、互いに実質的に相補的である少なくとも1つの領域を有していれば、互いにハイブリダイズし得ることは理解されることである。本明細書において、「相補的」または「相補性」という語は、許容される塩および温度条件下における、塩基対形成によるポリヌクレオチドの天然の結合を指す。分子の全長にわたって、または一本鎖分子の一部または領域にわたって、一本鎖分子間に全体的な相補性が存在するとき、2本の一本鎖分子間の相補性は、該ヌクレオチドのいくつかのみが結合する「部分的」なものであっても、完全なものであってもよい。核酸鎖間の相補性の程度は、核酸鎖のハイブリダイズの効率および強度に有意に影響を及ぼす。本明細書において、「実質的に相補的」であるまたは「部分的に相補的である」という語は、2つの核酸配列が、ヌクレオチドの少なくとも約50%、60%、70%、80%または90%において相補的であることを指す。

40

50

いくつかの態様において、2つの核酸配列は、ヌクレオチドの少なくとも約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上において相補的であってよい。「実質的に相補的である」および「部分的に相補的である」という語はまた、2つの核酸配列がストリンジェンシーの高い条件下でハイブリダイズできることを指し、該条件は当該分野でよく知られている。

【0049】

本明細書を通じて、文脈がそうでないことを要求していない限り、「含む(comprise, comprises)」および「含んでいる」という語は、記載する工程もしくは要素、または工程もしくは要素の群を含むが、他の工程もしくは要素、または工程もしくは要素の群を除外しないことを示すものであると解される。したがって、「含んでいる」等の語の使用は、記載する要素が必要であるかまたは必須であるが、他の要素を含んでいてもよく、存在しなくてもよいことを示す。「からなる」という語は、「からなる」という記載に続くもの全てを含み、それに限定されることを示す。したがって、「からなる」という語は、記載する要素が必要または必須であり、他の要素は存在し得ないことを示すものである。「本質的になる」という記載は、その記載の後に記載された任意の要素を含み、記載した要素について、明細書中で特定した活性または作用を干渉しないか、またはそれに寄与する他の要素に限定されることを指す。したがって、「本質的になる」という記載は、記載する要素は必要または必須であるが、他の要素は含まれていてもよく、記載する要素の活性または作用に影響を及ぼすかどうかによって、存在してもよい、または存在し得ないことを示す。

【0050】

「構成的プロモーター」は、多くまたは全ての生体組織において、作動可能に連結した転写可能な配列を発現させるプロモーターを指す。

【0051】

「コンストラクト」という語は、異なる供給源由来の、単離された1つ以上の核酸配列を含む、組換え遺伝的分子を指す。本明細書において、「発現コンストラクト」、「組換えコンストラクト」または「組換えDNAコンストラクト」は、任意の組換え核酸分子、例えばプラスミド、コスミド、ウイルス、自己複製ポリヌクレオチド分子、ファージ、または、任意の供給源由来の、ゲノム組み込みまたは自己複製が可能な直鎖もしくは環状の一本鎖もしくは二本鎖のDNAもしくはRNA分子、例えば1つ以上の核酸分子が作動可能に連結した核酸分子を指す。「発現コンストラクト」は、一般的に、所望のヌクレオチド配列に作動可能に連結した調節配列を少なくとも含む。この方法により、例えば、発現させるヌクレオチド配列と作動可能に結合した植物プロモーターを、植物、植物の一部、植物器官および/または植物細胞で発現させるための発現コンストラクト中に提供する。コンストラクトを、転写可能なポリヌクレオチド分子が、翻訳され、蛋白質産物として発現する機能的なmRNA分子に転写されるように導入する方法が知られている。コンストラクトは、例えば特定のRNA分子の翻訳を阻害するために、抑制RNA分子を発現することができるように作製してもよい。本発明の実施のための、コンストラクトおよび宿主細胞の作製および使用のための慣用される組成物および方法は、当業者にはよく知られている。例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3.sup.rd edition Volumes 1, 2, and 3. J. F. Sambrook, D. W. Russell, and N. Irwin, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000を参照のこと。

【0052】

「調節エレメント」または「調節配列」は、作動可能に連結したヌクレオチド配列の発現(例えば転写、RNAプロセッシングもしくは安定性、または関連するコード配列の翻訳)に影響を及ぼす核酸配列(例えばDNA)を指す。調節配列としては、エンハンサー、プロモーター、翻訳リーダー配列、イントロンおよびポリアデニル化シグナル配列が挙げられる。調節エレメントまたは調節配列は、コード配列の上流(5'非コード配列)、配列中または下流(3'非コード配列)に位置してよい。それらは、天然および合成配列ならびに、合成配列と天然配列を組み合わせたものであってもよい配列を含む。例えば、

原核細胞中の、作動可能に連結したヌクレオチド配列の発現に適当な調節配列は、例えば、プロモーターを含み、シス作用性の配列、例えばオペレーター配列およびリボソーム結合部位を含んでいてよい。真核細胞に適当な調節配列は、転写調節配列、例えばプロモーター、ポリアデニル化シグナル、転写エンハンサー、翻訳調節配列、例えば翻訳エンハンサーおよび配列内リボソーム進入部位 (IRES)、RNA安定性を調節する核酸配列ならびに転写されたポリヌクレオチドにコードされる産物を細胞内コンパートメントまたは細胞外環境へと標的化するターゲティング配列を含む。代表的な調節配列は、天然および合成配列ならびに、合成および天然配列の組み合わせであってよい配列を含む。

【0053】

「相当する」または「相当している」は、参照核酸配列と実質的な配列同一性(例えば、参照核酸配列の全体または一部との、少なくとも約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%または100%までの配列同一性)を示す核酸配列または参照アミノ酸配列と実質的な配列類似性または同一性(例えば、参照アミノ酸配列の全体または一部との、少なくとも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%または100%までの配列類似性または同一性)を示すアミノ酸配列を指す。

【0054】

「培養」、「培養した」および「培養している」という語は本明細書中で互換可能に用いられ、胚または多能性細胞を試験管内で成長させる過程を指す。

【0055】

核酸についての「破壊」および「破壊された」という語は、本明細書中で互換可能に用いられ、該核酸またはその発現産物の発現および/または機能的な活性を低下させるかまたは除去する、任意の遺伝子改変を指す。例えば、遺伝子の破壊は、該遺伝子の発現および/またはその相当する遺伝子産物(例えばmRNAおよび/または蛋白質)の機能活性を低下させるかまたは除去する、任意の遺伝子改変をその範囲中に含む。遺伝子改変としては、核酸(例えば遺伝子)の完全または部分的な不活化、抑制、欠失、中断、遮断または下方制御が挙げられる。例示的な遺伝子改変としては、遺伝子ノックアウト、不活化、変異(例えば遺伝子産物の発現または活性を妨げる挿入、欠失、点変異またはフレームシフト変異)または阻害性の核酸(例えば、抑制RNA、例えばセンスまたはアンチセンスRNA、RNA干渉を媒介する分子、例えばsiRNA、shRNA、miRNA等)、阻害性ポリペプチド(例えば、抗体、ポリペプチド結合パートナー、ドミナントネガティブポリペプチド、酵素等)または、該妊孕性遺伝子の活性、または該妊孕性遺伝子の発現産物のレベルまたは機能活性を阻害する、他の任意の分子の使用が挙げられるが、これらに限定されない。

【0056】

「ドミナントネガティブ」は、野生型遺伝子産物と同じ細胞内で共発現させたときに、該細胞がヘテロ接合型(野生型とドミナントネガティブ)であっても、正常の野生型遺伝子産物の機能に有害な影響を与えるか、遮断するかまたは抑制する、遺伝子産物を指す。ドミナントネガティブ変異体の発現は、一般的に、野生型の遺伝子産物の正常な機能を低下させる。

【0057】

本明細書において「初期胚」は、卵母細胞(すなわち受精卵母細胞)の受精時に開始する全ての胚発生期を含み、2細胞期、4細胞期、8細胞期および桑実胚(16~32細胞期胚)まで及ぶ。本明細書中で定義するように、初期胚は、発生期の胚胚期を含まない。「胚胚」は、割腔と称される空洞を囲む細胞の中空の球体の発達に特徴付けられる、胚発生期

10

20

30

40

50

を指す。胞胚の全体的な組織は、生物体により異なることは、当業者には認識できることである。例えば、「胚盤胞」は、外部栄養膜細胞および内部細胞塊からなる中空の細胞球体により特徴付けられる、卵割期の哺乳類胚を指す。

【 0 0 5 8 】

「胚性幹細胞」およびES細胞という語は、本明細書において互換可能に用いられ、胚および成体中で多くの種類の分化細胞、例えば生殖細胞を生じさせることができる細胞を指す。ES細胞は、未分化性（全能性）を維持しながら増殖することができることを特徴とする、初期胚由来の培養細胞を含む。一般的に、胚性幹細胞は、動物の初期胚の胚盤胞中に存在する未分化な幹細胞である、内部細胞塊の細胞を、未分化な状態を維持しながら増殖を続けるように培養することにより樹立される細胞株の細胞である。

10

【 0 0 5 9 】

本明細書において、EG細胞とも称する、「胚性生殖細胞」という語は、始原生殖細胞由来の培養細胞であって、上述の胚性幹細胞と殆ど同等の能力を有することを特徴とする細胞を指す。該胚性生殖細胞は、受精後数日～数週間の胚（例えばマウスの場合、約8.5日齢胚）より得た始原生殖細胞を、該細胞が未分化な状態を維持しながら増殖を続けるように培養することにより樹立される細胞株の細胞である。

【 0 0 6 0 】

本明細書において、「コードする」および「コードしている」等の語は、核酸の、他の核酸またはポリペプチドの提供能を指す。例えば、核酸配列が、転写および/または翻訳されて、ポリペプチドを産生する場合、またはプロセッシングにより、転写および/または翻訳されてポリペプチドを産生し得る形態になり得る場合、核酸配列はポリペプチドを「コード」していると言われる。該核酸配列は、コード配列または、コード配列および非コード配列の両方を含んでいてよい。したがって、「コードする」および「コードしている」等の語は、DNA分子の転写により生じるRNA産物、RNA分子の翻訳により生じる蛋白質、DNA分子の転写によるRNA産物の形成およびそれに続く該RNA産物の翻訳により生じる蛋白質または、DNA分子の転写によるRNA産物の産生、該RNA産物のプロセッシングによる加工RNA産物（例えばmRNA）の産生およびそれに続く、該加工RNA産物の翻訳により生じる蛋白質を含む。

20

【 0 0 6 1 】

本明細書において、「絶滅危惧哺乳類」は、数が少ないか、または環境もしくは捕食のパラメーターの変化により脅かされているために、絶滅する危険性のある哺乳類集団群に属し、例えばゾウ、大型ネコおよび非ヒト霊長類、例えば、灰色オオカミ、シマウサギワラビー、ジャガー、アジアゾウ、サイガ（saiga antelope）およびキタシロサイ（*Ceratotherium simum cottoni*）が挙げられる。

30

【 0 0 6 2 】

核酸または蛋白質に関する文脈における「内在性」という語は、ホスト生物体またはホスト細胞において通常見られる核酸配列もしくはセグメント、またはアミノ酸配列もしくはセグメントを指す。

【 0 0 6 3 】

本明細書において、「内在性配偶子」および「内在性生殖細胞」という語は、ホスト胚「を起源とするか、またはその中で作製された」配偶子および生殖細胞を指し、ドナー多能性細胞由来の、ホスト胚中の配偶子および生殖細胞を除く。

40

【 0 0 6 4 】

遺伝子配列に関する「発現」という語は、該遺伝子の転写および、適当であれば、生じたmRNA転写物の蛋白質への翻訳を指す。すなわち、文脈から明らかであるように、コード配列の発現は、該コード配列の転写および翻訳によるものである。反対に、非コード配列の発現は、該非コード配列の転写により生じるものである。

【 0 0 6 5 】

本明細書において、「妊孕性遺伝子」は、子孫作製または妊娠能に関連する遺伝子を指す。したがって、妊孕性遺伝子の破壊は、非ヒト動物の妊娠能または子孫作製能を、低下

50

させる、損なうか、または抑制し、それにより不妊を引き起こし得るものである。結果として生じる不妊は、雄に見られるものであってもまたは雌に見られるものであってもよい。不妊の非限定的な例としては、無精子症；精子形成の欠陥に関連のある遺伝性障害（例えばクラインフェルター症候群および性器発育不全）；精子減少症、精索静脈瘤および、精子機能障害に関連する他の精子障害、例えば非限定的には、精子数減少、精子運動能および精子形成；および排卵機能障害（例えば多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）または慢性無排卵症）が挙げられる。本明細書において、（例えば破壊分子により）破壊可能な妊孕性遺伝子を「破壊可能な妊孕性遺伝子」と称する。

【0066】

「と隣接している（flanked by）」および「隣接する（flanking）」等の語は、本発明のターゲティングコンストラクトにおいて、2つ以上のヌクレオチド配列の関係に用いる場合、これらのヌクレオチド配列のうちの1つが、他のヌクレオチド配列に直接隣接（adjacent）していることを必要とするものではない。例えば、3つの参照ヌクレオチド配列（A、BおよびC）は、参照配列Bが、これらの部位に直接隣接していなくても、組換え標的部位配列に隣接しているか、または組換え標的配列が、該参照配列に隣接することができる。したがって、「隣接している（flanked by）」という語は、組換え部位の「間にある」ということと同等であり、「隣接する（flanking）」という語は、組換え部位が参照配列の上流または下流にあることと同等である。

【0067】

「機能性遺伝子」は、限定できる機能を果たす遺伝子産物を産生する遺伝子を指す。特定の態様において、該機能性遺伝子は内在性遺伝子である。

【0068】

「配偶子」という語は、単数形と複数形で互換可能に用いられ、二次生殖細胞、例えば卵母細胞、卵子、精子（spermatozoa）および精子（sperm）が挙げられる。

【0069】

本明細書において、「遺伝子」という語は、mRNA、アンチセンスRNA、siRNA、shRNAおよびmiRNA等を産生するのに用いることができる核酸分子を指す。遺伝子は、機能性蛋白質の産生に用いることができてもできなくてもよい。遺伝子は、コード領域および非コード領域（例えばイントロン、調節エレメント、プロモーター、エンハンサー、終結配列および5'および3'非翻訳領域）の両方を含んでいてよい。

【0070】

「遺伝子改変」という語は、新しい核酸（すなわち、細胞にとって外因性である核酸）の導入後の細胞において誘導される、持続性または一過性の遺伝子変化を指す。遺伝子変化（「改変」）は、新規の核酸を宿主細胞のゲノムに組み込むこと、または、新規の核酸を染色体外エレメントとして、一過的または安定的に維持することにより行い得る。細胞が真核細胞である場合、永続的な遺伝子変化は、該核酸を該細胞のゲノムに導入することにより行うことができる。該遺伝子改変は、ノックインおよびノックアウト遺伝子変化をその範囲内に含む。

【0071】

「生殖細胞（単数および複数）」および「生殖系列」という語は、互換可能に用いられ、配偶子を生じさせる細胞を指す。これらの語は、始原生殖細胞、アルカリホスファターゼ陽性細胞、一次卵母細胞、卵原細胞、精原幹細胞、精原細胞および一次精母細胞を含む。

【0072】

「異種性」という語は、特定の生物体、組織または細胞を起源としない物体（例えば核酸分子、ポリペプチド、細胞、組織等）を指す。例えば、「異種多能性細胞」を含む「異種性細胞」は、通常または天然には生物体または生物体の組織中に見られない細胞を指す。

【0073】

「異種性ポリヌクレオチド」、「外来性（foreign）ポリヌクレオチド」および「外因性（

10

20

30

40

50

exogenous)ポリヌクレオチド」等の語は、本明細書中で、互換可能に、人工的に宿主生物体のゲノムに導入された、または導入される予定であり、該宿主の子孫に伝達される、遺伝物質を指すのに用いられる。

異種性ポリヌクレオチドは、導入されるポリヌクレオチドが、天然起源のポリヌクレオチドと比較して何らかの改変（例えば点変異、選択マーカー遺伝子の存在、loxP部位の存在等）を含む限り、導入されている、または導入しようとする生物体で見られる遺伝子配列を含んでいてよい。異種性ポリヌクレオチドは、RNAに転写されることができ、かつ、場合によって、適当な条件下において、翻訳され、および/または発現することのできる核酸配列を含んでいてよい。いくつかの態様において、異種性ポリヌクレオチドは、転写または翻訳に干渉する分子（例えばアンチセンス分子）か、またはRNA干渉を媒介する分子（例えばsiRNAまたはshRNA）に転写される。いくつかの態様において、該異種性ポリヌクレオチドは、ペプチドまたはポリペプチドのコード配列を含む。いくつかの態様において、該異種性ポリヌクレオチドは、遺伝子改変をゲノムに導入するためのターゲティングカセットを含む。

【0074】

「異種性ポリペプチド」、「外来性(foreign)ポリペプチド」および「外因性(exogenous)ポリペプチド」という語は、互換可能に、上述の「異種性ポリヌクレオチド」、「外来性(foreign)ポリヌクレオチド」および「外因性(exogenous)ポリヌクレオチド」によりコードされる任意のペプチドまたはポリペプチドを指すのに用いられる。

【0075】

「宿主細胞」という語は、コンストラクトまたは本発明のコンストラクトを導入する細胞を指す。本発明の宿主細胞としては、細菌、酵母、動物（脊椎動物を含む）、昆虫および植物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。宿主細胞は、単細胞であっても、または、液体培養または単層等として組織培養中で増殖してもよい。宿主細胞はまた、組織から直接的または間接的に得られたものであっても、動物を含む生物体中に存在するものであってもよい。特定の態様において、宿主細胞は動物宿主細胞、特に脊椎動物宿主細胞、例えば哺乳類宿主細胞である。

【0076】

本明細書において、「免疫相互作用性」という語は、分子間の任意の相互作用、反応または他の形態の会合を指し、ここで、特に、該分子のうちの1つが、免疫系の構成要素であるか、またはそれを模倣している。

【0077】

「ノックイン」という語は、一般的に、相同組換えにより、ゲノムに挿入された、異種性または外来性のポリヌクレオチドを指す。該ノックインポリヌクレオチドは、内在性、野生型の遺伝子または遺伝子の一部に置き換わる、遺伝子または遺伝子の一部の変異体形態であってよい。該変異は、異種性配列の挿入、欠失、点変異、フレームシフト変異および、正常な遺伝子発現を阻害、妨害または変化させる任意の他の変異を含む。したがって、本明細書において、「ノックイン」動物は、異種性または外来性のポリヌクレオチドが、動物のゲノムに挿入された、または、動物のゲノムの特定の遺伝子またはその一部が外来性の遺伝子またはDNA配列に置換された、遺伝子改変動物を指す。「条件的ノックイン」は、相同組換えによりゲノムに挿入された、指定の発生段階または特定の環境条件下で、活性（例えば転写または翻訳の調節、コード配列および/または非コード配列を含むヌクレオチド配列の産生等）を誘発する、異種性または外来性のポリヌクレオチドを、その範囲内に含む。「条件的ノックインベクター」は、相同組換えを介してゲノム中に挿入し得る、指定の発生段階または特定の環境条件下において活性（例えば転写または翻訳の調節、コード配列および/または非コード配列を含むヌクレオチド配列の産生等）を誘発する、異種性または外来性の遺伝子またはその一部を含むベクターである。

【0078】

「ノックアウト」は、遺伝子の発現産物のレベルまたは機能活性を低下させるか、抑制するか、または他の方法で阻害する、遺伝子の不活化または破壊を指す。「ノックアウト

10

20

30

40

50

」動物は、遺伝子が破壊された、遺伝子改変動物を指す。「条件的ノックアウト」は、特定の条件下で破壊される遺伝子、例えば、組織特異的または時間特異的なパターンで破壊される遺伝子を指す。「条件的ノックアウトベクター」は、特定の条件下で破壊され得る遺伝子を含むベクターである。

【0079】

「マーカー遺伝子」は、該マーカー遺伝子を発現する細胞に、特徴的な表現型を与えることにより、該形質転換細胞を、該マーカーを持たない細胞から区別することを可能にする遺伝子を指す。選択マーカー遺伝子は、選択薬剤（例えば、除草剤、抗生物質、放射線照射、熱または他の非形質転換に損傷を与える処理）に対する抵抗性に基づいて「選択」することができる形質を与える。スクリーニング可能なマーカー遺伝子（またはレポーター遺伝子）は、観察または試験、すなわち、「スクリーニング」（例えば -グルクロニダーゼ、ルシフェラーゼ、緑色蛍光蛋白質または、非形質転換細胞に存在しない他の活性）により、特定することができる形質を与えるものである。

【0080】

「マイクロRNA」または「miRNA」という語は、多種多様な真核生物、例えば植物で見られる、低分子の非コードRNA分子を指す。miRNA前駆体は、短い「ヘアピン」RNAを形成する、特徴的な二次構造を共通して持つ。「miRNA」という語は、プロセシングされた配列ならびに、相当する長い一次転写物（pri-miRNA）およびプロセシングされた前駆体（pre-miRNA）を含む。遺伝的および生化学的な研究により、miRNAは、RNase IIIファミリーのヌクレアーゼであるDicerによるプロセシングを受けて、その成熟形態になり、RNA介在性干渉（RNAi）および関連する経路を解して、標的遺伝子の発現調節に機能することが示されている（Hannon, 2002, Nature 418, 244-251; Pasquinelli, et al., 2002, Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 18, 495-513）。miRNAは、細胞中の遺伝子発現の操作が可能のように、合成性のサイレンシング誘発因子である「低分子ヘアピン型RNA」（shRNA）として設計してよい（Paddison et al., 2002, Cancer Cell 2, 17-23）。shRNAによるサイレンシングには、RNAi機構が関連しており、該サイレンシングは、RNAiの特徴である、低分子干渉RNA（siRNA）の産生と相関する。

【0081】

本明細書において、「天然起源」の核酸分子は、天然に生じるヌクレオチド配列を有するRNAまたはDNA分子を指す。例えば天然起源の核酸分子は、天然に生じる蛋白質をコードしてよい。

【0082】

「非コード配列」という語は、遺伝子のポリペプチド産物をコードするのに寄与しない、任意の核酸配列を指す。

【0083】

「非ヒト動物」という語は、ヒトを除いた動物を指し、任意の脊椎動物、例えば哺乳類、鳥、は虫類、両生類および魚類を含むことを意図する。適当な哺乳類としては、齧歯類、非ヒト霊長類、ウマ科、例えばウマ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ類、例えばウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、動物園の動物ならびに、絶滅危惧または外来性動物が挙げられる。いくつかの態様において、非ヒト動物は、例えばラットおよびマウスなどの齧歯類から選択される。

特定の態様において、非ヒト動物はマウスである。

【0084】

「ヌクレオーム」という語は、核酸相補体全体を指し、ゲノム、染色体外核酸分子および全てのRNA分子、例えばmRNA、ヘテロ核RNA（hnRNA）、核低分子RNA（snRNA）、核小体低分子RNA（snoRNA）、細胞質低分子RNA（scRNA）、リボソームRNA（rRNA）、翻訳調節RNA（tcRNA）、転移RNA（tRNA）、eRNA、メッセンジャーRNA干渉性相補的RNA（micRNA）または干渉RNA（iRNA）、葉緑体または色素体RNA（cpRNA）およびミトコンドリアRNA（mt

R N A)を含む。

【 0 0 8 5 】

本明細書において、「作動可能に結合した」、「作動可能に連結した」、「作動可能な連結で」および「作動可能な結合で」等の語は、ポリヌクレオチドエレメントの、機能的な関係での連結を指すのに用いられる。核酸が他の核酸配列と、機能的な関係におかれているとき、該核酸は「作動可能に連結」している。例えば、リコンビナーゼ認識部位が、ターゲティングカセットおよび宿主細胞ゲノム中の標的部位の間の組換えを促進できる程度に近接しているとき、該リコンビナーゼ認識部位は、標的カセットに作動可能に結合している。いくつかの態様において、該リコンビナーゼ認識部位は、ターゲティングカセットから、10 kb以内、9 kb以内、8 kb以内、7 kb以内、6 kb以内、5 kb以内、4 kb以内、3 kb以内、2 kb以内、1 kb以内、900 bp以内、800 bp以内、700 bp以内、600 bp以内、500 bp以内、400 bp以内、300 bp以内、200 bp以内、100 bp以内、90 bp以内、80 bp以内、70 bp以内、60 bp以内、50 bp以内、40 bp以内、30 bp以内、20 bp以内または10 bp以内に位置する。他の態様において、「作動可能な結合」等は、転写可能な配列を、該配列の転写を調節し、場合によって翻訳を調節してよい、プロモーターの調節制御下におくことを指す。異種性のプロモーター/転写可能な配列の組み合わせの構成において、一般的に、該遺伝子配列またはプロモーターを、該遺伝子の転写開始部位から、該遺伝子配列またはプロモーターと、それが調節する遺伝子の天然の条件下の距離、すなわち該遺伝子配列またはプロモーターが由来する遺伝子と同じ距離におくことが望ましい。当該分野で知られているように、機能喪失がなければ、この距離にいくらかの変更を行ってよい。同様に、その制御下に置かれる、異種性の核酸配列または遺伝子についての他の調節エレメントの望ましい位置は、天然の条件下における該エレメントの位置、すなわち、該エレメントが由来する遺伝子により規定される。これらの用語は、また、その範囲内に、発現調節エレメントが、第一の条件下において、転写可能な配列の転写の阻害に用いられ、第二の条件下において、転写可能な配列の転写を可能にするか、または増大させるのに用いられる、プロモーターと転写可能な配列の間の作動可能な連結または、結合を含む。

【 0 0 8 6 】

本明細書において、「修飾後遺伝子サイレンシング」(P T G S)は、転写後に阻害機構が生じる、遺伝子サイレンシングの形態を指す。これは、特異的なR N A 標的の定常状態のレベルの低下または翻訳の阻害のいずれかを引き起こし得る(Tuschl et al., 2001, ChemBiochem 2: 239-245)。文献中において、R N A 干渉 (R N A i)および翻訳後コサプレッションという語は、しばしば、翻訳後遺伝子サイレンシングを指すのに用いられる。

【 0 0 8 7 】

「多能性」という語は、細胞が、成体(例えば非ヒト動物)に存在する、多数の種類の分化細胞に分化できる能力を指す。多能性細胞は、全能性細胞と比較すると、その分化能が制限されている。多能性細胞としては、生殖細胞に分化することのできる幹細胞、例えばE S細胞、エピブラスト幹細胞(E p i S Cまたはエピ幹細胞)、胚性生殖(E G)細胞および人工多能性幹(i P S)細胞が挙げられるが、これらに限定されない。「多能性細胞」という語は遺伝子改変多能性細胞を含む。

【 0 0 8 8 】

本明細書において「ポリヌクレオチド」または「核酸」という語は、m R N A、R N A、c R N A、c D N A、i R N A、s i R N A、s h R N A、m i R N AまたはD N Aを指す。該用語は、典型的には、長さが30ヌクレオチドを超える、オリゴヌクレオチドを指す。

【 0 0 8 9 】

「ポリペプチド」、「ペプチド」および「蛋白質」という語は、本明細書中において、互換可能に用いられ、アミノ酸残基のポリマーおよび、その変異体および合成類似体を指すのに用いられる。したがって、これらの語は、1つ以上のアミノ酸残基が合成性の非天然起源のアミノ酸であるアミノ酸ポリマー、例えば天然アミノ酸ならびに天然起源のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸ポリマーに対応する化学的な類似体にも適用される。

【0090】

「子孫」および「遺伝子導入非ヒト動物の子孫」等の語は、最初に形質転換した非ヒト動物の、以降の全ての世代の、任意の、および全ての子孫を指す。

【0091】

「プロモーター」という語は、転写の開始およびレベルを少なくとも部分的に調節するDNA領域を指す。本明細書において、「プロモーター」は、最も広い意味で解釈され、古典的なゲノム遺伝子の転写調節配列、例えばTATAボックスおよびCCAATボックス配列ならびに、発生および/または環境の刺激に応答して、または組織特異的もしくは細胞腫特異的な方法により、遺伝子発現を変化させる付加的な調節エレメント（すなわち、活性化配列、エンハンサーおよびサイレンサー）を含む。プロモーターは、通常、発現を調節する転写可能な配列（例えば、コード配列または機能性RNAをコードする配列）の上流または5'に位置するが、必ずしもそうでなくてもよい。さらに、プロモーターを含む調節エレメントは、通常、遺伝子の転写開始部位から2 kb以内に位置する。本発明のプロモーターは、細胞内の発現をさらに増大させ、および/または、それが作動可能に結合している構造遺伝子の発現の時期または誘導能を変化させるために、開始部位からさらに遠位に位置する、さらなる特異的な調節エレメントを含んでいてよい。「プロモーター」という語はまた、その範囲内に、誘導性の、抑制可能かつ構成的なプロモーターおよび最小プロモーターを含む。最小プロモーターは、典型的には、それが作動可能に連結している、選択したDNA配列の転写を開始させることができる、最小発現調節エレメントを指す。いくつかの例において、最小プロモーターは、付加的な調節エレメント（例えばエンハンサーまたは他のシス作用性調節エレメント）の非存在下では、基底レベルよりも上で転写を開始させることができない。最小プロモーターは、しばしば、TATAボックスまたはTATA様ボックスからなる。多数の最小プロモーターが、文献で知られている。例えば、最小プロモーターは、公知の広範の配列、例えば、特に、fos、CMV、SV40およびIL-2由来のプロモーター領域から選択してよい。具体的な例として、最小CMVプロモーターまたは最小IL2プロモーター（開始部位から-72~+45; Siebenlist, 1986)の使用が示される。

【0092】

本明細書において、「希少または絶滅危惧種」としては、任意の組織によって、脅威にさらされている、または絶滅が危惧されていると記載された任意の動物または、その個体数または生息地が脅かされている任意の動物、または監禁して繁殖させることが望ましい任意の動物が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、絶滅危惧種の一覧は、合衆国魚類野生生物局、絶滅危惧種プログラムで見ることができるか、または絶滅危惧種保護法(ESA)に記載されている。

【0093】

「リコンビナーゼ認識部位」(RRS)は、リコンビナーゼが結合するか、または他の方法で相互作用する核酸部位または配列を指す。該結合または相互作用は直接的なものであっても間接的なものであってもよい。

【0094】

「調節可能なプロモーター」という語は、構成的にではなく、時期および/または空間に調節された方法で、遺伝子を発現させるプロモーターを指し、組織特異的なプロモーターおよび誘導性のプロモーターの両方を含む。天然および合成の配列ならびに、合成および天然の配列の組み合わせであり得る配列も含まれる。異なる組織または細胞種において、または異なる発生段階、または異なる環境状況に応答して、異なるプロモーターが、1つの遺伝子を発現させてよい。宿主細胞で有用な種々の新規のプロモーターが常に発現されている。殆どの場合、調節配列の厳密な境界は完全には規定されていないため、異なる長さの核酸断片が、同一のプロモーター活性を有することもある。

【0095】

本明細書において、「RNA干渉」および「RNAi」という語は、標的分子（例えば

10

20

30

40

50

標的遺伝子、蛋白質またはRNA)が、発現の下方制御を介して下方制御される、配列特異的な過程を指す。特定の機構にしばられるものではないが、当業者が現在理解しているように、RNAiは、RNA分子、例えば細胞内のmRNA分子の、酵素的な、RNA誘導サイレンシング複合体(RISC)により触媒される分解を伴う。RNAiは、天然では、近接して相同配列を有する他のRNA配列に該分解機構を向かわせる、より長いdsRNAから切断されたdsRNAにより引き起こされて、外来性のRNA(例えばウイルスRNA)の除去のために起こる。技術として実施されているように、RNAiは、外因性の合成されたdsRNAまたは細胞内で転写された(例えば短ヘアピン構造を形成する配列として合成された)dsRNAのいずれかを用いて、標的遺伝子の発現を低下させるか、またはサイレンシングするために、ヒトの介入により開始させることができる。

10

【0096】

本明細書において、「低分子干渉RNA」および「短干渉RNA」(「siRNA」という語は、通常二本鎖の、長さ約10~50ヌクレオチド、好ましくは約15~25ヌクレオチド(「ヌクレオチド」という語は、ヌクレオチド類似体を含む)のRNA分子である、短いRNA分子を指す。殆どの場合、該siRNAは、17、18、19、20、21、22、23、24または25ヌクレオチドの長さである。該siRNAは、端に突出を有してよい(例えば、1、2または3ヌクレオチド(またはヌクレオチド類似体)の3'-突出)。該siRNAは、RNA干渉を媒介し得る。

【0097】

本発明に関して、「shRNA」という語は、ステムループ構造を有するRNA分子を指す。該ステムループ構造は、2つの相互に相補的な配列を含み、ここで、それぞれの配向および相補性の程度により、該2配列間の塩基対形成が可能になる。相互に相補的な配列は、ループ領域により連結しており、該ループは、ループ領域内で、ヌクレオチド間(またはヌクレオチド類似体間)で塩基対形成がないことにより生じる。

20

【0098】

本明細書において、「配列同一性」という語は、比較ウインドウ(window of comparison)上において、配列がヌクレオチド単位またはアミノ酸単位で同一である程度を指す。したがって、「配列同一性のパーセンテージ」は、該比較ウインドウで、2つの最適なように整列した配列を比較し、両方の配列において同一の核酸塩基(例えばA、T、C、G、I)または同一のアミノ酸残基(例えばAla、Pro、Ser、Thr、Gly、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、Lys、Arg、His、Asp、Glu、Asn、Gln、CysおよびMet)が見られる位置の数を決定して、適合する位置の数を得、適合する位置の数を、該比較ウインドウ中の全ての位置の数(すなわちウインドウサイズ)で割り、結果に100を掛けて配列同一性のパーセンテージを得ることにより算出する。本発明の目的のために、「配列同一性」は、DNASIS コンピュータープログラム(ウインドウズ用バージョン2.5; Hitachi Software engineering Co., Ltd., South San Francisco, California, USAより入手可能)によって、該ソフトウェアに付属の参照マニュアルで用いている標準のデフォルトを用いて算出した「適合パーセンテージ」を意味すると理解される。

30

【0099】

「類似性」という語は、同一であるか、または表1に定義する、保存的な置換を構成するアミノ酸のパーセンテージ数を指す。

40

【表 1 - 1】

表 1

本来の残基	例示的な置換
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

10

20

【表 1 - 2】

本来の残基	例示的な置換
Met	Leu, Ile,
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

30

【0100】

類似性は、配列比較プログラム、例えば G A P (Deveraux et al. 1984, Nucleic Acid s Research 12, 387-395)を用いて決定することができる。この方法により、本明細書に記載の配列とは、長さが類似しているか、または実質的に異なる配列を、該配列比較にギャップを挿入することにより比較することができ、該ギャップは、例えば、G A Pが用いる比較アルゴリズムにより決定し得る。

40

【0101】

2つ以上のポリヌクレオチドまたはポリペプチド間の配列関係を表すのに用いる用語として、「参照配列」、「参照ウインドウ」、「配列同一性」、「配列同一性のパーセンテージ」および「実質的な同一性」が挙げられる。「参照配列」は、ヌクレオチドおよびアミノ酸残基を含む、少なくとも12単量体ユニット、頻繁には15～18単量体ユニットであり、しばしば少なくとも単量体ユニットの長さである。2本のポリヌクレオチドは、

50

それぞれ、(1) 2本のポリヌクレオチド間で類似している配列（すなわち、完全なポリヌクレオチド配列のごく一部）および(2) 2本のポリヌクレオチド間で異なる配列を含むため、2つ（またはそれ以上）のポリヌクレオチド間の配列比較は、典型的には、2つのポリヌクレオチドの配列を「比較ウインドウ」上で比較し、配列が類似している局所的な領域を特定して比較することにより行う。

「比較ウインドウ」は、少なくとも6個、通常約50個～約100個、より一般的には、約100個～約150個の、2つの配列を最適に整列させた後に、配列を、同じ数の近接した位置の参照配列と比較する、近接した位置の概念的なセグメントを指す。該比較ウインドウは、2つの配列の最適な比較のために、（付加または欠失を含まない）参照配列と比較して、約20%以下の、付加または欠失（すなわちギャップ）を含んでいてよい。比較ウインドウの整列のための最適な配列比較は、アルゴリズムをコンピューターにより実行すること(Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0 (Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, USA) 中のGAP、BESTFIT、FASTAおよびTEASTA)または、調査および、選択する種々の方法のうちの任意の方法により作製した最適な（すなわち、比較ウインドウで最も高い相同性のパーセンテージを生じる）整列により行い得る。例えば、Altschul et al., 1997, Nucl. Acids Res. 25:3389に記載されているBLASTファミリーのプログラムを参照してもよい。配列比較の詳細な議論については、Ausubel et al., "Current Protocols in Molecular Biology" John Wiley & Sons Inc, 1994-1998, Chapter 15, Unit 19.3に見ることができる。

【0102】

「部位特異的相同組換え」という語は、ヌクレオチドの組成が実質的に類似している核酸配列間の、鎖交換クロスオーバー現象を指す。これらのクロスオーバー現象は、本発明のターゲティングコンストラクトに含まれる配列と内在性のゲノム核酸配列の間で起こり得る。さらに、2つ以上の部位特異的な相同組換えが起こる可能性もあり、これにより、内在性のゲノム配列に存在する特定の配列が、ターゲティングコンストラクトに含まれる核酸配列に置き換わる現象が起こる。

【0103】

遺伝子の破壊または、リコンビナーゼ認識部位の認識について用いる「特異的」という語は、他の遺伝子の実質的な破壊または他のリコンビナーゼ認識部位の実質的な認識を伴わない、該遺伝子の破壊または該リコンビナーゼ認識部位の認識を指す。例えば、妊孕性遺伝子を特異的に破壊する剤は、該妊孕性遺伝子について、他の妊孕性遺伝子または妊孕性に関連のない遺伝子の破壊と比較して約2倍、5倍、10倍、20倍、50倍を超える、または約100倍、500倍、1000倍を超える特異性を示すものである。他の例において、特定のリコンビナーゼの認識部位を特異的に認識する剤は、該認識部位について、他のリコンビナーゼの認識部位に対する特異性と比較して、約2倍、5倍、10倍、20倍、50倍を超えるか、または、約100倍、500倍、1000倍を超える特異性を示すものである。

【0104】

本明細書において、「ストリンジェンシー」は、ハイブリダイズおよび洗浄の手法における、温度およびイオン強度についての条件および、特定の有機溶媒の有無を指す。ストリンジェンシーが高い程、固定された標的ヌクレオチド配列と、洗浄後に、標的にハイブリダイズしたまま維持されている、標識したプローブポリヌクレオチド配列の間の相補性は高度になる。

【0105】

「ストリンジェントな条件」は、相補的な塩基の頻度が高いヌクレオチド配列のみがハイブリダイズする、温度およびイオンの条件を指す。必要とされるストリンジェンシーは、ヌクレオチド配列依存的であり、ハイブリダイズおよびそれに続く洗浄の間に存在する種々の要素および、これらの工程について考慮される時間に依存する。一般的に、ハイブリダイズの割合を最大化するためには、ストリンジェントでないハイブリダイズの条件；熱融解点(T_m)より約20～25 低い温度が選択される。 T_m は、特定の標的配列の5

0 % が、規定のイオン強度および pH において、溶液中で、完全に相補的なプローブにハイブリダイズする温度である。一般的に、ハイブリダイズした配列の少なくとも約 85 % のヌクレオチド相補性を必要とするためには、ストリンジェンシーの高い洗浄条件を、 T_m よりも約 5 ~ 15 低いように選択する。ハイブリダイズした配列の、少なくとも約 70 % のヌクレオチド相補性を必要とするためには、中程度にストリンジェントな条件を、 T_m より約 15 ~ 30 低いように選択する。寛容性の高い (ストリンジェンシーの低い) 洗浄条件は、 T_m を 50 下回る程度の低い温度であってよく、このとき、ハイブリダイズした配列間のミスマッチのレベルが高くなり得る。ハイブリダイズおよび洗浄の段階における、他の物理的および化学的なパラメーターを、標的およびプローブ配列間の配列同一性の特定のレベルからの、検出可能なハイブリダイズシグナルの結果に影響を与えるように、変更してよいことは、当業者が認識することである。

10

【0106】

「ターゲティングカセット」および「ターゲティングコンストラクト」等の語は、生物体または宿主細胞のゲノム中の特定の核酸配列の、相同組み換えによる破壊または挿入を促進する、核酸コンストラクトを指す。一般的に、該ターゲティングカセットは：(1) 少なくとも1つの、宿主細胞の内在性遺伝子座に存在する配列と実質的に同一であるか、または、実質的に相補的である配列を有する、相同領域またはホモロジーマームおよび(2) ターゲティングコンストラクトの相同領域および内在性の遺伝子座の配列間の相同組み換えによって、宿主細胞の内在性遺伝子座に組み込まれる標的化領域を含む。標的化領域は、内在性の遺伝子配列に実質的に相同である配列を含んでいてよく、かつ/または、態様によっては、非相同配列、例えば選択マーカー (例えば、neo、tk、gpt) または異種性ポリヌクレオチドを含んでいてよい。「ターゲティングカセット」および「ターゲティングコンストラクト」等の語は、必ずしも、標的化領域が、宿主ゲノムに組み込まれる遺伝子を含むことを示すものではなく、標的化領域が、完全な構造遺伝子配列を含むことを必ずしも示すものでもない。当該分野において、「ターゲティングカセット」および「ターゲティング配列」等の語は、本明細書で用いる「導入遺伝子」の同義語である。

20

【0107】

「全能性」という語は、細胞が、成体 (例えば非ヒト動物) の全ての種類の細胞に分化できる能力を指す。

30

【0108】

「転写可能な核酸配列」または「転写された核酸配列」という語は、転写を促進する、転写されない調節配列を除外している。本発明の局面によれば、該転写可能な配列は、全体または部分的に、当該分野で公知の任意の供給源、例えば植物、菌類、動物、細菌のゲノムまたはエピソーム、真核、核またはプラスミドのDNA、cDNA、ウイルスDNAまたは化学合成されたDNA由来であってよい。転写可能な配列は、コード領域または非翻訳領域のいずれかに、該発現産物の生物活性または化学構造、発現の頻度または発現調節の方法に影響を与え得る、1つ以上の改変を含んでいてよい。該改変としては、例えば、1つ以上のヌクレオチドの挿入、欠失および置換が挙げられるが、これらに限定されない。転写可能な配列は、連続したコード配列を含んでいても、または、適当なスプライスジャンクションを境界とする1つ以上のイントロンを含んでいてもよい。該転写可能な配列は、融合蛋白質をコードしていてもよい。他の態様において、該転写可能な配列は、非コード領域のみを含む。

40

【0109】

「形質移入」は、核酸分子 (例えばプラスミドまたはDNA断片) が、真核細胞に挿入される過程を指す。典型的には、細胞の2 ~ 50 % が、該プラスミドを取り込み、該プラスミドDNAまたはDNA断片を、該細胞の染色体に取り込むことなく、約3日間該蛋白質産物を発現させる (= 一過性形質移入)。これらの細胞の少数の集団が、最終的に該プラスミドを染色体中に取り込み、該蛋白質産物を永続的に発現する (= 安定な形質移入)。

50

【 0 1 1 0 】

本明細書において、「導入遺伝子」という語は、ホスト生物体のゲノムに導入されているか、または人工的に導入される予定であり、該ホストの子孫に伝達される遺伝物質を表すのに用いられる。該導入遺伝子は、典型的には、通常、活性(例えば、転写または翻訳の調節、コード配列および/または非コード配列を含む、ヌクレオチド配列の産生等)を与えるかまたは誘発するが、必ずしもそうである必要はない、非コード配列および/またはコード配列を含む、ポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、該導入遺伝子は、RNAに転写されることができ、場合によっては、適当な条件下で翻訳される、および/または発現することができてよい、ポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、該導入遺伝子は、転写または翻訳に干渉するか(例えば、アンチセンス分子)、またはRNA干渉を媒介する(例えば、siRNAまたはshRNA)分子に転写される。いくつかの態様において、該導入遺伝子は、ポリペプチドのコード配列を含む。いくつかの態様において、該導入遺伝子は、遺伝子改変をゲノムに導入するためのターゲティングカセットを含む。種々の方法のうちの任意のものを、導入遺伝子を非ヒト動物に導入し、遺伝子導入動物を作製するのに使用してよい。該技術は、当該分野でよく知られており、前核マイクロインジェクション、ウイルス感染および胚性幹細胞およびiPS細胞の形質転換が挙げられるが、これらに限定されない。使用し得る遺伝子導入動物の作製方法としては、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), 15022-15026に記載されている方法が挙げられるが、これらに限定されない。

【 0 1 1 1 】

本明細書において、ホスト細胞、ホスト部分、ホスト組織またはホストについての「遺伝子導入した」または「形質転換した」という語は、ホスト細胞、ホスト部分、ホスト組織またはホスト動物のヌクレオーム、特にゲノムに、典型的には導入遺伝子により導入された遺伝子改変を含む、ホスト細胞、ホスト部分、ホスト組織またはホスト動物を指す。

【 0 1 1 2 】

「ベクター」は、その中に核酸配列を挿入またはクローニングし得る、例えば、プラスミド、バクテリオファージまたは植物ウイルス由来の核酸分子、適当にはDNA分子を指す。ベクターは、典型的には1つ以上の特有の制限部位を含み、標的細胞または組織、または、その前駆細胞または組織を含む、規定のホスト細胞における自己複製が可能であるか、または、クローニングした配列を複製することが可能なように、該規定のホスト細胞のゲノムに組み込むことが可能であってよい。したがって、該ベクターは、自己複製ベクター、すなわち、染色体外の実体として存在し、複製が染色体の複製とは独立しているベクター、例えば、閉環している環状プラスミド、染色体外エレメント、微小染色体または、人工染色体であってよい。該ベクターは、自己複製を確実なものにするための任意の手段を含んでいてよい。あるいは、該ベクターは、ホスト細胞に導入されるときに、ゲノム中に組み込まれて、組み込まれた染色体とともに複製されるものであってもよい。ベクター系は、単一のベクターまたはプラスミドを含んでいても、ホスト細胞のゲノムに導入される全DNAを共に含む2つ以上のベクターまたはプラスミド、またはトランスポゾンを含んでいてよい。ベクターの選択は、典型的には、該ベクターを導入するホスト細胞への該ベクターの適合性に依存する。該ベクターは、また、適当な形質転換体の特定に使用し得る抗生物質耐性遺伝子のようなマーカーを含んでいてよい。該耐性遺伝子の例は、当業者にはよく知られている。

【 0 1 1 3 】

本明細書において、「5'非コード領域」という語は、最も広い文脈において、発現可能な遺伝子の上流領域由来のヌクレオチド配列であって、該遺伝子のポリペプチド産物を含むアミノ酸残基をコードする配列以外の全てのヌクレオチド配列を含むのに用い、ここで、該5'非コード領域は、該遺伝子を少なくとも部分的に、発現させるか、または発現を活性化させるか、または、他の方法で発現を促進する。

【0114】

本明細書において、「5'非翻訳領域」または「5'UTR」という語は、プロモーター領域の3'および下流のコード領域の5'に位置する配列を指す。したがって、該配列は、転写はされるが、翻訳開始コドンの上流（すなわち5'）にあるため、通常、ポリペプチド産物の一部として翻訳されることはない。

【0115】

「3'非翻訳領域」または「3'UTR」という語は、コード配列の下流（すなわち3'）にあるヌクレオチド配列を指す。それは、コード配列の停止コドンの後の最初のヌクレオチドから、相当する転写されたmRNAのポリ(A)テイルの直前までに及ぶ。該3'UTRは、翻訳効率、mRNA安定性、mRNAターゲティングおよび/またはポリアデニル化を調節する配列を含んでいてよい。

【0116】

「野生型」という語は、天然起源の供給源から単離されたときの該遺伝子または遺伝子産物の特性を有する遺伝子または遺伝子産物を指す。野生型遺伝子は、集団で最も頻繁に観察される遺伝子であり、そのため、任意に、該遺伝子の「正常」または「野生型」の形態と指定される。対照的に、「改変された」、「バリエント」または「変異体」という語は、野生型遺伝子または遺伝子産物と比較して、配列および/または機能的な特徴の改変（すなわち、変化した特徴）を示す、遺伝子または遺伝子産物を指す。天然起源の変異体を単離し得ること：これらは、野生型の遺伝子または遺伝子産物と比較して変化した特徴を有することにより特定されることは、留意すべきである。

【0117】

本明細書において、遺伝子名に下線を引くこと、または斜体表記することは、該遺伝子そのものを示すものであり、対照的に、その蛋白質産物は、下線も斜体表記もないことにより示される。例えば、「GILZ（斜体）」は、GILZ（斜体）遺伝子を意味し、「GILZ」は、該「GILZ（斜体）」遺伝子の蛋白質産物を示す。

【0118】

本明細書中に記載する各態様は、特にことわらない限り、それぞれの、および全ての態様に適宜変更を加えて適用される。

【0119】

2. 略語

本明細書を通じて、次の略語を用いる：

d p c = 性交後の日数

E S 細胞 = 胚性幹細胞

エピ幹細胞 = エピブラスト幹細胞

E G 細胞 = 胚性生殖細胞

i P S 細胞 = 人工多能性幹細胞

d = 日

h = 時間

d = 秒

【0120】

3. ドナー多能性細胞の生殖系列伝達を増大させるための、破壊された妊孕性遺伝子を有する非ヒト胚の使用

本発明は、遺伝子改変を有するものを含む、ドナー多能性細胞の生殖系列の伝達を増大させるための組成物および方法を提供する。非ヒト宿主胚を起源とする生殖細胞は、妊孕性に寄与する少なくとも1つの遺伝子（すなわち妊孕性遺伝子）が破壊されるように改変

10

20

30

40

50

される。該改変非ヒト宿主胚を、次いで、機能性妊孕性遺伝子（すなわち、破壊されていない妊孕性遺伝子）を有する、導入されるドナー多能性細胞の「宿主」に使用する。得られた非ヒト宿主胚を、代理親（surrogate）または里親（foster）に移植し、懐胎させることにより、2種類：通常非ヒト宿主胚由来である、破壊された妊孕性遺伝子を有する内在性の生殖細胞または配偶子を有するものおよび、通常ドナー多能性細胞由来である、機能性の妊孕性遺伝子を有する生殖細胞または配偶子を含むものの、キメラの出生仔（offspring）を含む同腹仔が通常得られる。機能性の妊孕性遺伝子を含む、同族非ヒト動物と繁殖させたとき、破壊された妊孕性遺伝子を有する内在性の生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物は、妊孕性が損なわれているかまたは阻害されている。対照的に、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物は、妊孕性が正常であるかまたは損なわれていないため、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含む、最初に出生する仔（first litter offspring）の作製が増進される。

10

【0121】

3.1 妊孕性遺伝子

非ヒト宿主胚ならびに、本発明による非ヒト動物および子孫を得るために、任意の適当な妊孕性遺伝子または妊孕性遺伝子の組み合わせを破壊してよい。妊孕性遺伝子の非限定的な例を表2に、妊孕性遺伝子破壊を引き起こし、不妊（例えば雄性不妊）を引き起こす、例示的な変異（上付き文字）およびアレルの組成とともに記載する。また、表2には、これらの妊孕性遺伝子の破壊により不妊（例えば雄性不妊）が引き起こされる、例示的な遺伝的バックグラウンドも示す。

20

【表 2 - 1】

表 2：妊孕性遺伝子および不妊を引き起こす例示的な変異

妊孕性遺伝子	アレル組成 (遺伝的バックグラウンド)
Abcg5	$\frac{Abcg5^{trac}}{Abcg5^{trac}}$ (A/J-Abcg5 ^{trac})
Acox1	$\frac{Acox1^{tm1Jkr}}{Acox1^{tm1Jkr}}$ (129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する)
Acr Smcp Tnp2	$\frac{Acr^{tm1Wen}/Acr^{tm1Wen}}{Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}}$ $\frac{Tnp2^{tm1Wen}}{Tnp2^{tm1Wen}}$ (129/Sv * C57BL/6J * CD-1が関与する)
Adad1	$\frac{Adad1^{tm1Reb}}{Adad1^{tm1Reb}}$ (129X1/SvJ-Tenr ^{tm1Reb})
Adad1	$\frac{Adad1^{tm1Reb}}{Adad1^{tm1Reb}}$ (129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Adam1a	$\frac{Adam1a^{tm1Tba}}{Adam1a^{tm1Tba}}$ (129S2/SvPas * ICRが関与する)
Adam3	$\frac{Adam3^{tm1Hgg}}{Adam3^{tm1Hgg}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1が関与する)
Adam3	$\frac{Adam3^{tm1Pmkf}}{Adam3^{tm1Pmkf}}$ (特定なし)
Adamts2	$\frac{Adamts2^{tm1Prc}}{Adamts2^{tm1Prc}}$ (129/Svが関与する)
Adcy10	$\frac{Adcy10^{tm1Lex}}{Adcy10^{tm1Lex}}$ (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Adra1b	$\frac{Adra1b^{tm1Cta}}{Adra1b^{tm1Cta}}$ (129 * C57BL/6Jが関与する)
Adrm1	$\frac{Adrm1^{Gt(OST128063)Lex}}{Adrm1^{Gt(OST128063)Lex}}$ (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Aes Runx2	$\frac{Aes^{tm1Grid}}{Runx2^{tm1Mjo}/Runx2^{+}}$ (129S1/Sv * C57BL/6Jが関与する)
Aff4	$\frac{Aff4^{tm1Nosa}}{Aff4^{tm1Nosa}}$ (129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する)
Agfg1	$\frac{Agfg1^{tm1Jvd}}{Agfg1^{tm1Jvd}}$ (129P2/OlaHsdが関与する)
Agps	$\frac{Agps^{bs2}}{Agps^{bs2}}$ (STOCK Agps ^{bs2} /J)

10

20

30

【表 2 - 2】

Agtpbp1	<u>Agtpbp1^{pcd-3J}/Agtpbp1^{pcd-3J}</u> (BALB/cByJが関与する)
Agtpbp1	<u>Agtpbp1^{pcd-5J}/Agtpbp1^{pcd-5J}</u> (DBA/2J)
Agtpbp1	<u>Agtpbp1^{pcd-8J}/Agtpbp1^{pcd-8J}</u> (BALB/cJ-Agtpbp1 ^{pcd-8J} /GrsrJ)
Agtpbp1	<u>Agtpbp1^{pcd-Btlr}/Agtpbp1^{pcd-Btlr}</u> (C57BL/6J-Agtpbp1 ^{pcd-Btlr})
Agtpbp1	<u>Agtpbp1^{pcd-Tg(Dhfr)1Jwg}/Agtpbp1^{pcd-Tg(Dhfr)1Jwg}</u> (C57BL/6J * CD-1 * DBA/2Jが関与する)
Agtpbp1	<u>Agtpbp1^{pcd}/Agtpbp1^{pcd}</u> (C57BR/cdJ * CBAが関与する)
Ak7	<u>Ak7^{Gt(OST434404)Lex}/Ak7^{Gt(OST434404)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Ak7	<u>Ak7^{Tg(tetO-Hmox1)67Sami}/Ak7^{Tg(tetO-Hmox1)67Sami}</u> (FVB/N-Ak7 ^{Tg(tetO-Hmox1)67Sami})
Akap4	<u>Akap4^{tm1Eddy}/Y</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Alpl Dnmt3a	<u>Alpl^{tm1(cre)Nagy}/Alpl⁺</u> <u>Dnmt3a^{tm3.1Enl}/Dnmt3a^{tm3.2Enl}</u> (129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJが関与する)
Alpl Ehmt2	<u>Alpl^{tm1(cre)Nagy}/Alpl⁺</u> <u>Ehmt2^{tm2Yshk}/Ehmt2^{tm2.1Yshk}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 * CBAが関与する)
Amh Amhr2	<u>Amh^{tm1Bhr}/Amh^{tm1Bhr}</u> <u>Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}</u> (特定なし)
Amhr2	<u>Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Amhr2	<u>Amhr2^{tm1Bhr}/Amhr2^{tm1Bhr}</u> (129S7/SvEvBrdが関与する)
Amhr2	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> (129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * C57BL/6が関与する)
Amhr2 Ar	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Ar^{tm1Chc}/Y</u> (129S/SvEv * C57BL/6が関与する)
Amhr2 Ctnnb1	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Ctnnb1^{tm1Mmt}/Ctnnb1⁺</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Amhr2 Nr5a1	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Nr5a1^{tm1Klp}/Nr5a1^{tm2Klp}</u> (129P2/OlaHsdが関与する)
Amhr2 Smad1 Smad5	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Smad1^{tm2Rob}/Smad1^{tm2.1Rob}</u> <u>Smad5^{tm1Huy}/Smad5^{tm1Huy}</u> (129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * C57BL/6が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 3】

Amhr2 Smad1 Smad5	<u>Amhr2^{tm3(cre)Bhr}/Amhr2⁺</u> <u>Smad1^{tm2Rob}/Smad1^{tm2Rob}</u> <u>Smad5^{tm1Huy}/Smad5^{tm1Zuk}</u> (129P2/OlaHsd * 129S/SvEv * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Apaf1	<u>Apaf1^{tm1Her}/Apaf1^{tm1Her}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Jが関与する)
Ar Plekha5	<u>Ar^{tm1Chc}/Y</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> (129S/SvEv * C57BL/6 * SJL が関与する)
Ar Plekha5	<u>Ar^{tm1Jdz}/Y</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> (129X1/SvJ * C57BL/6 * SJLが関与する)
Ar Rnase10	<u>Ar^{tm1Verh}/Y</u> <u>Rnase10^{tm1(cre)Hht}/Rnase10⁺</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Arhgdia Arhgdib	<u>Arhgdia^{tm1Ytk}/Arhgdia^{tm1Ytk}</u> (129S/SvEv * C57BL/6 * DBA が関与する)
Arhgdia Arhgdib	<u>Arhgdia^{tm1Ytk}/Arhgdia^{tm1Ytk}</u> <u>Arhgdib^{tm1Miy}/Arhgdib^{tm1Miy}</u> (129S/SvEvが関与する)
Arl	<u>Arl6^{tm2Vcs}/Arl6^{tm2Vcs}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Asz1	<u>Asz1^{tm1Zuk}/Asz1^{tm1Zuk}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Atf4	<u>Atf4^{tm1Tow}/Atf4^{tm1Tow}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * NIH Black Swissが関与する)
Atm	<u>Atm^{tm1Awb}/Atm^{tm1Awb}</u> (129S6/SvEvTac-Atm ^{tm1Awb} または (129S6/SvEvTac * NIH Black Swissが関与する))
Atm	<u>Atm^{tm1Bal}/Atm^{tm1Bal}</u> (129S4/SvJae が関与する)
Atm	<u>Atm^{tm1Fwa}/Atm^{tm1Fwa}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Atm	<u>Atm^{tm1Led}/Atm^{tm1Led}</u> (129S6/SvEvTac * Black Swiss が関与する)
Atp1a4	<u>Atp1a4^{tm1Itl}/Atp1a4^{tm1Itl}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Atp2b4	<u>Atp2b4^{tm1Ges}/Atp2b4^{tm1Ges}</u> (129X1/SvJ * Black Swiss が関与する)
Atp2b4	<u>Atp2b4^{tm1Ges}/Atp2b4^{tm1Ges}</u> (BKS.W.129X1-Atp2b4 ^{tm1Ges})
Atp2b4	<u>Atp2b4^{tm1Ksch}/Atp2b4^{tm1Ksch}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Atp7a	<u>Atp7a^{Mo-blo}/Y</u> (特定なし)

10

20

30

40

【表 2 - 4】

Atp7a	<u>Atp7a^{Mo-vbr}/Y</u> (特定なし)
Atxn7	<u>Atxn7^{tm1Hzo}/Atxn7⁺</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Axl Mertk Tyro3	<u>Axl^{tm1Gr1}/Axl^{tm1Gr1}</u> <u>Mertk^{tm1Gr1}/Mertk^{tm1Gr1}</u> <u>Tyro3^{tm1Gr1}/Tyro3^{tm1Gr1}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
B4galnt1	<u>B4galnt1^{tm1Rlp}/B4galnt1^{tm1Rlp}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
B4galnt1	<u>B4galnt1^{tm1Rlp}/B4galnt1^{tm1Rlp}</u> <u>St8sia1^{tm1Rlp}/St8sia1^{tm1Rlp}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Bax Bcl2l1	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax⁺</u> <u>Bcl2l1^{tm1Mam}/Bcl2l1^{tm1Mam}</u> (129S6/SvEvTac * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Bax	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> (129X1/SvJが関与する)
Bax	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> (B6.129X1-Bax ^{tm1Sjk} /J)
Bax Bcl2l1	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> <u>Bcl2l1^{tm1Mam}/Bcl2l1^{tm1Mam}</u> (129S6/SvEvTac * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Bax Bcl2l1	<u>Bax^{tm1Sjk}/Bax^{tm1Sjk}</u> <u>Bcl2l1^{tm1.1Ast}/Bcl2l1^{tm1.1Ast}</u> (B6.129-Bcl2l1 ^{tm1.1Ast} Bax ^{tm1Sjk})
Bbs1	<u>Bbs1^{tm1Vcs}/Bbs1^{tm1Vcs}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Bbs2	<u>Bbs2^{tm1Vcs}/Bbs2^{tm1Vcs}</u> ((129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する) または (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する))
Bbs4	<u>Bbs4^{tm1Vcs}/Bbs4^{tm1Vcs}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Bcl2l1	<u>Bcl2l1^{tm1Mam}/Bcl2l1^{tm1Mam}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Bcl2l2	<u>Bcl2l2^{Gt(ROSA)41Sor}/Bcl2l2^{Gt(ROSA)41Sor}</u> (129S5/SvEvBrdが関与する)
Bcl2l1 Bik	<u>Bcl2l1^{tm1.1Ast}/Bcl2l1^{tm1.1Ast}</u> <u>Bik^{tm1Ast}/Bik^{tm1Ast}</u> (B6.Cg-Bcl2l1 ^{tm1.1Ast} Bik ^{tm1Ast})
Bgn Dcn	<u>Bgn^{tm1Mfy}/Y</u> <u>Dcn^{tm1Ioz}/Dcn^{tm1Ioz}</u> (129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/Svが関与する)
Bmp5	<u>Bmp5^{se}/Bmp5^{se}</u> <u>Bmp6^{tm1Rob}/Bmp6^{tm1Rob}</u> (129S/SvEvが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 5】

Bmp7 Bmp8a	<u>Bmp7^{tm1Rob}/Bmp7⁺</u> <u>Bmp8a^{tm1Blh}/Bmp8a^{tm1Blh}</u> (129S/SvEv * 129S6/SvEvTac * Black Swiss * C57BL/6が関与する)
Bmp8b	<u>Bmp8b^{tm1Blh}/Bmp8b^{tm1Blh}</u> (129/Sv * Black Swissが関与する)
Boll	<u>Boll^{tm1Eyx}/Boll^{tm1Eyx}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Brca1	<u>Brca1^{tm2.1Thl}/Brca1^{tm2.1Thl}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Brca1	<u>Brca1^{tm2Arge}/Brca1^{tm2Arge}</u> (129-Brca1 ^{tm2Arge})
Brca1	<u>Brca1^{tm2Arge}/Brca1^{tm2Arge}</u> (129/Sv * C57BL/6J * MF1が関与する)
Brca1	<u>Brca1^{tm3.1Thl}/Brca1^{tm3.1Thl}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Brca2	<u>Brca2^{tm1Cam}/Brca2^{tm1Cam}</u> (129S/SvEv * MF1が関与する)
Brca2	<u>Brca2^{tm1Cbl}/Brca2^{tm1Cbl}</u> ((129S2/SvPas * C57BL/10が関与する)または (129S2/SvPas * C57BL/6 * DBA/2が関与する))
Brdt	<u>Brdt^{tm1Djw}/Brdt^{tm1Djw}</u> (129S/SvEv * C57BL/6Jが関与する)
Brwd1	<u>Brwd1^{repro5}/Brwd1^{repro5}</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
Bsg	<u>Bsg^{tm1Tmu}/Bsg^{tm1Tmu}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6Jが関与する)
Bsg	<u>Bsg^{tm1Tmu}/Bsg^{tm1Tmu}</u> (129/Sv * 129S2/SvPasが関与する)
Bub1b	<u>Bub1b^{tm1Jvd}/Bub1b^{tm1Jvd}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Cacnb4	<u>Cacnb4^{lh-4J}/Cacnb4^{lh-4J}</u> (C3Fe(SWV)-Cacnb4 ^{lh-4J} /GrsrJ)
Cacng2	<u>Cacng2^{stg}/Cacng2^{stg}</u> (B6C3Fe a/a-Cacng2 ^{stg})
Cadm1	<u>Cadm1^{tm1.2Brd}/Cadm1^{tm1.2Brd}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Cadm1	<u>Cadm1^{tm1Momo}/Cadm1^{tm1Momo}</u> (129S/SvEv * C57BL/6Jが関与する)
Cadm1	<u>Cadm1^{tm1Mrkm}/Cadm1^{tm1Mrkm}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Jが関与する)
Calr3	<u>Calr3^{tm1Osb}/Calr3^{tm1Osb}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Camk4	<u>Camk4^{tm1Arm}/Camk4^{tm1Arm}</u> (129 * C57BL/6Jが関与する)
Capza3	<u>Capza3^{repro32}/Capza3^{repro32}</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 6】

Catsper1	<u>Catsper1^{tm1Clph}/Catsper1^{tm1Clph}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6Jが関与する)
Catsper2	<u>Catsper2^{tm1Gar}/Catsper2^{tm1Gar}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Jが関与する)
Catsper3	<u>Catsper3^{tm1Clph}/Catsper3^{tm1Clph}</u> (129S4/SvJaeが関与する)
Catsper3	<u>Catsper3^{tm1Wyan}/Catsper3^{tm1Wyan}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Catsper4	<u>Catsper4^{tm1Clph}/Catsper4^{tm1Clph}</u> (129S4/SvJaeが関与する)
Catsper4	<u>Catsper4^{tm1Wyan}/Catsper4^{tm1Wyan}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Catsperd	<u>Catsperd^{tm1.1Clph}/Catsperd^{tm1.1Clph}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Cbx3	<u>Cbx3^{tm1Pbs}/Cbx3^{tm1Pbs}</u> (129が関与する)
Cby1	<u>Cby1^{tm1Ktkm}/Cby1^{tm1Ktkm}</u> (B6.129-Cby1 ^{tm1Ktkm})
Ccna1	<u>Ccna1^{tm1Coll}/Ccna1^{tm1Coll}</u> (129S/SvEv * MF1が関与する)
Ccna1	<u>Ccna1^{tm1Djw}/Ccna1^{tm1Djw}</u> (129S7/SvEvBrdが関与する)
Ccne2	<u>Ccne2^{tm1Pisc}/Ccne2^{tm1Pisc}</u> (129S2/SvPasが関与する)
Cdk2	<u>Cdk2^{tm1Kald}/Cdk2^{tm1Kald}</u> (129S1/Sv * C57BL/6が関与する)
Cdk4	<u>Cdk4^{tm1Kiyo}/Cdk4^{tm1Kiyo}</u> (129S1/Svが関与する)
Cdk4	<u>Cdk4^{tm1Kiyo}/Cdk4^{tm1Kiyo}</u> <u>Lin9^{tm1Orc}/Lin9^{tm1Orc}</u> (129S1/Svが関与する)
Cdk5rap2	<u>Cdk5rap2^{Gt(RRF465)Byg}/Cdk5rap2^{Gt(RRF465)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する)
Cdk16	<u>Cdk16^{tm1.2Stge}/Cdk16^{tm1.2Stge}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/cJ * C57BL/6 * SJLが関与する)
Cdkn2a	<u>Cdkn2a^{tm3(cre)Cjs}/Cdkn2a⁺</u> (129S1/Sv * C57BL/6が関与する)
Cdkn2c Cdkn2d	<u>Cdkn2c^{tm1Bbd}/Cdkn2c^{tm1Bbd}</u> <u>Cdkn2d^{tm1Maro}/Cdkn2d^{tm1Maro}</u> (129P2/OlaHsd * 129S1/Sv * C57BL/6が関与する)
Cdo1	<u>Cdo1^{tm1.1Mhst}/Cdo1^{tm1.1Mhst}</u> (C57BL/6が関与する)
Celf1	<u>Celf1^{tm1Cba}/Celf1^{tm1Cba}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Cep290	<u>Cep290^{tm1.1Jgg}/Cep290^{tm1.1Jgg}</u> (B6.129-Cep290 ^{tm1.1Jgg})

10

20

30

40

【表 2 - 7】

Cga	<u>Cga^{tm1Sac}/Cga^{tm1Sac}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6Jが関与する)
Cib1	<u>Cib1^{tm1Prse}/Cib1^{tm1Prse}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Cks2	<u>Cks2^{tm1Sir}/Cks2^{tm1Sir}</u> (特定なし)
Clcn1	<u>Clcn1^{adr}/Clcn1^{adr}</u> (A2G)
Clcn2	<u>Clcn2^{tm1Tjj}/Clcn2^{tm1Tjj}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Cldn11	<u>Cldn11^{tm1Ral}/Cldn11^{tm1Ral}</u> (特定なし)
Cldn11	<u>Cldn11^{tm1Sts}/Cldn11^{tm1Sts}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Clgn	<u>Clgn^{tm1Osb}/Clgn^{tm1Osb}</u> (129または(129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する))
Cnot	<u>Cnot7^{tm1Jpr}/Cnot7^{tm1Jpr}</u> (129/Sv * C57BL/6が関与する)
Cnot7	<u>Cnot7^{tm1Tno}/Cnot7^{tm1Tno}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6Jが関与する)
Cnpy4	<u>Cnpy4^{Tg(Tyr)2356C-2a1Ove}/Cnpy4^{Tg(Tyr)2356C-2a1Ove}</u> (FVB/N-Cnpy4 ^{Tg(Tyr)2356C-2a1Ove})
Cplx1	<u>Cplx1^{tm1Rmnd}/Cplx1^{tm1Rmnd}</u> (特定なし)
Crem	<u>Crem^{tm1Gsc}/Crem^{tm1Gsc}</u> (129/Sv * C57BL/6が関与する)
Crem	<u>Crem^{tm1Saco}/Crem^{tm1Saco}</u> (129/Sv * C57BL/6が関与する)
Crem	<u>Crem^{tm1Saco}/Crem^{tm1Saco}</u> (C57BL/6が関与する)
Crtc1	<u>Crtc1^{Gt(XK522)Byg}/Crtc1^{Gt(XK522)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Csnk2a2	<u>Csnk2a2^{tm1Dcs}/Csnk2a2^{tm1Dcs}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Cstf2t	<u>Cstf2t^{tm1Cma}/Cstf2t^{tm1Cma}</u> (129S/SvEv * C57BL/6が関与する)
Ctnnb1	<u>Ctnnb1^{tm2Kem}/Ctnnb1^{tm2Kem}</u> <u>Emx1^{tm1(cre)Yql}/Emx1⁺</u> (B6.129-Emx1 ^{tm1(cre)Yql} Ctnnb1 ^{tm2Kem})
Cul4a	<u>Cul4a^{tm1.2Pra}/Cul4a^{tm1.2Pra}</u> (特定なし)
Cxcl16	<u>Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}/Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Ccl16	<u>Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}/Cxcl16/Zmynd15^{tm1Ifc}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 8】

Cyp19a1	<u>Cyp19a1^{tm1Esi}/Cyp19a1^{tm1Esi}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Cyp19a1	<u>Cyp19a1^{tm1Sih}/Cyp19a1^{tm1Sih}</u> (129S/SvEv * C57BL/6が関与する)
D15Ert621e	<u>D15Ert621e^{Tg(Tyr)2261COve}/D15Ert621e^{Tg(Tyr)2261COve}</u> (FVB/N-D15Ert621e ^{Tg(Tyr)2261COve})
Dab1	<u>Dab1^{scm}/Dab1^{scm}</u> (C3HeB/FeJ * DC/Leが関与する)
Dazap1	<u>Dazap1^{tm1Pyen}/Dazap1^{tm1Pyen}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Dazl	<u>Dazl^{tm1Hjc}/Dazl^{tm1Hjc}</u> (129P2/OlaHsd * MF1が関与する)
Dbf	<u>Dbf/Dbf⁺</u> (101/H * C3H/HeHが関与する)
Ddx4	<u>Ddx4^{tm1Tnc}/Ddx4^{tm1Tnc}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6NJclを伴う)
Ddx25	<u>Ddx25^{tm1Mld}/Ddx25^{tm1Mld}</u> (129S4/SvJaeが関与する)
Defb41 Dicer1	<u>Defb41^{tm1(cre)Psp}/Defb41⁺</u> <u>Dicer1^{tm1Bdh}/Dicer1^{tm1Bdh}</u> (129/Sv * C57BL/6Nが関与する)
Derl2	<u>Derl2^{tm1.2Hpl}/Derl2^{tm1.2Hpl}</u> (BALB/cJが関与する)
Dgka	<u>Dgka^{TgTn(sb-cHS4,Tyr)2320A-2Ove}/Dgka^{TgTn(sb-cHS4,Tyr)2320A-2Ove}</u> (FVB/N-Dgka ^{TgTn(sb-cHS4,Tyr)2320A-2Ove})
Dhcr24	<u>Dhcr24^{tm1Lex}/Dhcr24^{tm1Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Dhh	<u>Dhh^{tm1Amc}/Dhh^{tm1Amc}</u> (129S1/Svが関与する)
Dhh	<u>Dhh^{tm1Amc}/Dhh^{tm1Amc}</u> (129S1/Sv * C57BL/6Jが関与する)
Dhh	<u>Dhh^{tm1Amc}/Dhh^{tm1Amc}</u> (129S1/Sv * C57BL/6J * Swiss Websterが関与する)
Dicer1 Plekha5	<u>Dicer1^{tm1Bdh}/Dicer1^{tm1Bdh}</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor}/0</u> (129 * C57BL/6 * SJLが関与する)
Dmc1	<u>Dmc1^{Mei11}/Dmc1⁺</u> (129S4/SvJae * C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
Dmc1	<u>Dmc1^{Mei11}/Dmc1⁺</u> (129S4/SvJae * C57BL/6Jが関与する)
Dmc1	<u>Dmc1^{Mei11}/Dmc1^{Mei11}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6Jが関与する)
Dmc1	<u>Dmc1^{tm1Jcs}/Dmc1^{tm1Jcs}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6Jが関与する)
Dmc1	<u>Dmc1^{tm1Tkm}/Dmc1^{tm1Tkm}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 9】

Dmd	<u>Dmd^{tm1.1Khan}/Y</u> (C57BL/6 * CBAが関与する)
Dmrt1	<u>Dmrt1^{tm1.1Zark}/Dmrt1^{tm1.1Zark}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Dmrtc2	<u>Dmrtc2^{tm1.2Zark}/Dmrtc2^{tm1.2Zark}</u> (129S1/Sv * C57BL/6が関与する)
Dms	<u>Dms/Dms⁺</u> (C57BL/6 * DBA/2が関与する)
Dnah1	<u>Dnah1^{tm1Ihgg}/Dnah1^{tm1Ihgg}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1が関与する)
Dnd1	<u>Dnd1^{Ter}/Dnd1^{Ter}</u> (129S1/Sv-Kit ^W Oca2 ^P Tyr ^{c-ch})
Dnd1	<u>Dnd1^{Ter}/Dnd1^{Ter}</u> <u>Sf1^{Gt(XD130)Byg}/Sf1⁺</u> (129P2/OlaHsd * 129S1/SvImJ * 129T1/Svが関与する)
Dnmt3l	<u>Dnmt3l^{tm1Bes}/Dnmt3l^{tm1Bes}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Dpcd/Poll	<u>Dpcd/Poll^{Gt(OST280355)Lex}/Dpcd/Poll^{Gt(OST280355)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Brd-Tyr ^{c-Brd} が関与する)
Dpcd/Poll	<u>Dpcd/Poll^{tm1Nmt}/Dpcd/Poll^{tm1Nmt}</u> (129P2/OlaHsdを伴う)
Dpy19l2	<u>Dpy19l2^{tm1Lex}/Dpy19l2^{tm1Lex}</u> (B6;129S5-Dpy19l2 ^{tm1Lex} /Mmucd)
Dspd	<u>Dspd/Dspd⁺</u> (C3H * C57BL/6が関与する)
Dync1h1	<u>Dync1h1^{Swl}/Dync1h1⁺</u> (101/H * C3H/HeHが関与する)
E2f1 E2f3	<u>E2f1^{tm1Meg}/E2f1^{tm1Meg}</u> <u>E2f3^{tm2.1Gle}/E2f3^{tm2.1Gle}</u> (129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac * FVB/N * NIH Black Swissが関与する)
Efnb2	<u>Efnb2^{tm1Henk}/Efnb2⁺</u> (129または(129 * C57BL/6が関与する)または(129 * CD-1が関与する))
Egr1	<u>Egr1^{tm1Pch}/Egr1^{tm1Pch}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6Jが関与する)
Egr4	<u>Egr4^{tm1Jmi}/Egr4^{tm1Jmi}</u> (C57BL/6が関与する)
Ehd1	<u>Ehd1^{tm1.2Haba}/Ehd1^{tm1.2Haba}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Ehd1	<u>Ehd1^{tm1.2Haba}/Ehd1^{tm1.2Haba}</u> (FVB.Cg-Ehd1 ^{tm1.2Haba})
Eif4h	<u>Eif4h^{Gt(Ex279)Byg}/Eif4h^{Gt(Ex279)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Elk1	<u>Elk1^{tm1Nor}/Y</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6Nが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 10】

Elov12	<u>Elov12^{tm1Jaco}/Elov12^{tm1Jaco}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Emx1 Numb Numbl	<u>Emx1^{tm1(cre)Krl}/Emx1⁺</u> <u>Numb^{tm1Ynj}/Numb^{tm1Ynj}</u> <u>Numbl^{tm1Wmz}/Numbl^{tm1Wmz}</u> (129S2/SvPas * 129X1/SvJ * CD-1が関与する)
En1	<u>En1^{tm4(en)Alj}/En1^{tm4(en)Alj}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Entpd5	<u>Entpd5^{tm1Rre}/Entpd5^{tm1Rre}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Epb4.1l2	<u>Epb4.1l2^{Gt(AL0682)Wtsi}/Epb4.1l2^{Gt(AL0682)Wtsi}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
esgd12d	<u>esgd12d/esgd12d</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6が関与する)
Espl1 Meox2	<u>Espl1^{tm2Pzg}/Espl1⁺</u> <u>Meox2^{tm1(cre)Sor}/Meox2⁺</u> (129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrdが関与する)
Esr1	<u>Esr1^{tm1.1Gust}/Esr1^{tm1.1Gust}</u> (B6.129X1-Esr1 ^{tm1.1Gust})
Esr1 Esr2	<u>Esr1^{tm1.1Mma}/Esr1^{tm1.1Mma}</u> <u>Esr2^{tm1Mma}/Esr2^{tm1Mma}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6 * SJLが関与する)
Esr1	<u>Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する)
Esr1	<u>Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}</u> (129P2/OlaHsdが関与する)
Esr1 Esr2	<u>Esr1^{tm1Ksk}/Esr1^{tm1Ksk}</u> <u>Esr2^{tm1Unc}/Esr2^{tm1Unc}</u> (129P2/OlaHsdが関与する)
Esr2	<u>Esr2^{tm1.2Pcn}/Esr2^{tm1.2Pcn}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6 * SJLが関与する)
Etl4 Etn2	<u>Etl4^{Gt(6LSN)6029Gos}/Etl4^{Gt(6LSN)6029Gos}</u> <u>Etn2^{Sd}/Etn2⁺</u> (129/Sv * 129S2/SvPas * C57BL/6 * NMRIが関与する)
Etv4	<u>Etv4^{tm1Hass}/Etv4^{tm1Hass}</u> (129S4/SvJae * BALB/cが関与する)
Etv5	<u>Etv5^{tm1Kmm}/Etv5^{tm1Kmm}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Evx2	<u>Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}/Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Evx2	<u>Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}/Evx2/Hoxd13^{tm1Ddu}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Evx2	<u>Evx2^{tm1Ddu}/Evx2^{tm1Ddu}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6Jが関与する)
Ewsr1	<u>Ewsr1^{tm1Sblee}/Ewsr1^{tm1Sblee}</u> (129S6/SvEvTac * Black Swissが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 1 1】

Exo1	<u>Exo1^{tm1Wed}/Exo1^{tm1Wed}</u> (129/Sv * C57BL/6J * SJLが関与する)
Eya4	<u>Eya4^{tm1Jse}/Eya4^{tm1Jse}</u> (129S6/SvEvTac * CBA/Jが関与する)
Fads2	<u>Fads2^{tm1Mtna}/Fads2^{tm1Mtna}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Jが関与する)
Fads2	<u>Fads2^{tm1Wst}/Fads2^{tm1Wst}</u> (129P2/OlaHsdが関与する)
Fancc	<u>Fancc^{tm1Mab}/Fancc^{tm1Mab}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
FancI	<u>FancI^{gcd}/FancI^{gcd}</u> (C57BL/6J * CBA/Jが関与する)
FancI	<u>FancI^{gcd}/FancI^{tm1Ceb}</u> (129/Sv * C57BL/6 * FVB/Nが関与する)
FancI	<u>FancI^{tm1Ceb}/FancI^{tm1Ceb}</u> (129S7/SvEvBrdが関与する) または (129S7/SvEvBrd * FVB/Nが関与する))
Fgfr3	<u>Fgfr3^{m1J}/Fgfr3^{m1J}</u> (CByJ.Cg-Fgfr3 ^{m1J} /GrsrJ)
Fgfr3	<u>Fgfr3^{tm5.1Cxd}/Fgfr3⁺</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Fkbp4	<u>Fkbp4^{tm1Dvds}/Fkbp4^{tm1Dvds}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Fkbp4	<u>Fkbp4^{tm1Dvds}/Fkbp4^{tm1Dvds}</u> ((CD-1が関与する) または (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する))
Fkbp6	<u>Fkbp6^{tm1Pngr}/Fkbp6^{tm1Pngr}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Fmn1	<u>Fmn1^{ld-3J}/Fmn1^{ld-3J}</u> (NOD.Cg Prkdc ^{scid} /J-Fmn1 ^{ld-3J} /GrsrJ)
Fndc3a	<u>Fndc3a^{Gt(RRP208)Byg}/Fndc3a^{sys}</u> (129P2/OlaHsd * C3H * C57BL/6 * FVB/Nが関与する)
Fndc3a	<u>Fndc3a^{sys}/Fndc3a^{sys}</u> (C3H * FVB/Nが関与する)
Fndc3a	<u>Fndc3a^{sys}/Fndc3a^{sys}</u> (B6.Cg-Fndc3a ^{sys})
Foxi1	<u>Foxi1^{tm1Sven}/Foxi1^{tm1Sven}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Foxp3	<u>Foxp3^{sf}/Y</u> (STOCK MRが関与する)
Foxp3	<u>Foxp3^{tm2Fiv}/Y</u> (C57BL/6が関与する)
Fus	<u>Fus^{tm1(DDIT3)Dron}/Fus^{tm1(DDIT3)Dron}</u> (129S6/SvEvTac * CD-1が関与する)
Fzd4	<u>Fzd4^{tm1Nat}/Fzd4^{tm1Nat}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 1 2】

Gal3st1	<u>Gal3st1^{tm1Kho}/Gal3st1^{tm1Kho}</u> (129P2/OlaHsd が関与する)
Galnt3	<u>Galnt3^{tm1Mjec}/Galnt3^{tm1Mjec}</u> (129S/SvEv * C57BL/6J が関与する)
Gamt	<u>Gamt^{tm1Isb}/Gamt^{tm1Isb}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ が関与する)
Gapdhs	<u>Gapdhs^{tm1Dao}/Gapdhs^{tm1Dao}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6N が関与する)
Gatm	<u>Gatm^{tm1.1Isb}/Gatm^{tm1.1Isb}</u> (B6.129-Gatm ^{tm1.1Isb})
Gdf7	<u>Gdf7^{tm1Kng}/Gdf7^{tm1Kng}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J が関与する)
Ggt1	<u>Ggt1^{tm1Zuk}/Ggt1^{tm1Zuk}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J が関与する)
Gja1 Plekha5	<u>Gja1^{tm1Kwi}/Gja1^{tm1Kwi}</u> <u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor/0}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL が関与する)
Gja1	<u>Gja1^{tm2(Gjb1)Kwi}/Gja1^{tm2(Gjb1)Kwi}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Gja1	<u>Gja1^{tm3(Gja5)Kwi}/Gja1^{tm3(Gja5)Kwi}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Gja1	<u>Gja1^{tm7(Gja2)Kwi}/Gja1^{tm7(Gja2)Kwi}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJL が関与する)
Gli2 Gli3	<u>Gli2^{tm3.1(Gli1)Alj}/Gli2⁺</u> <u>Gli3^{Xt-J}/Gli3⁺</u> (129S6/SvEvTac * C3H/HeJ が関与する)または (129S6/SvEvTac * Black Swiss * C3H/HeJ が関与する))
Gla1	<u>Gla1^{spd}/Gla1^{spd}</u> (B6C3Fe a/a-Gla1 ^{spd} /J)
Gnpat	<u>Gnpat^{tm1Just}/Gnpat^{tm1Just}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Gnrhr	<u>Gnrhr^{Gt(181A6)Cmhd}/Gnrhr^{Gt(181A6)Cmhd}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J が関与する)
Golga3	<u>Golga3^{Tg(06MGMT)T604Kccri}/Golga3^{Tg(06MGMT)T604Kccri}</u> (C3H * C57BL/6 が関与する)
Gopc	<u>Gopc^{tm1.1Tno}/Gopc^{tm1.1Tno}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6 が関与する)
Gpx4	<u>Gpx4^{tm3Marc}/Gpx4^{tm3Marc}</u> (129P2/OlaHsd が関与する)
Grid2	<u>Grid2^{ho-5J}/Grid2^{ho-5J}</u> (C57BLKS/J)
Grid2	<u>Grid2^{ho-Btlr}/Grid2^{ho-Btlr}</u> (C57BL/6J-Grid2 ^{ho-Btlr})
Grid2	<u>Grid2^{ho-cpr}/Grid2^{ho-cpr}</u> (C57BL/10J * DBA/2J が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 1 3】

Grid2	<u>Grid2^{ho}/Grid2^{ho}</u> (C57BLKS/J)
Grm1	<u>Grm1^{crv4}/Grm1^{crv4}</u> (BALB/cPas-Grm1 ^{crv4})
Gtsf1	<u>Gtsf1^{tm1Miya}/Gtsf1^{tm1Miya}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Gusb	<u>Gusb^{mps}/Gusb^{mps}</u> (C57BL/6Byが関与する)
Gusb	<u>Gusb^{mps}/Gusb^{mps}</u> (B6.C-H2-K ^{bm1} /ByBir-Gusb ^{mps} /J)
H1fnt	<u>H1fnt^{tm1Yoni}/H1fnt^{tm1Yoni}</u> (129S1/Sv * C57BL/6が関与する)
H3f3b	<u>H3f3b^{tm1.1Psk}/H3f3b^{tm1.1Psk}</u> (C57BL/6N * FVB/Nが関与する)
H3f3b	<u>H3f3b^{tm1.2Mnn}/H3f3b⁺</u> (129S1/Sv * 129S1/SvImJ * 129S4/SvJaeSorが関与する)
Hdlk	<u>Hdlk/Hdlk</u> (STOCK Hdlk/GrsrJ)
hem6	<u>hem6/hem6</u> (129P2/OlaHsd * 129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Herc2	<u>Herc2^J/Herc2^J</u> (BALB/cJ-Herc2 ^J)
Herc2	<u>Herc2^{jdf2-1R}/Herc2^{jdf2-1R}</u> (特定なし)
Herc2	<u>Herc2^{jdf2-2R}/Herc2^{jdf2-2R}</u> (特定なし)
Herc2	<u>Herc2^{jdf2-3R}/Herc2^{jdf2-3R}</u> (特定なし)
Herc2	<u>Herc2^{jdf2-8R}/Herc2^{jdf2-8R}</u> (特定なし)
Hfe2	<u>Hfe2^{tm1Arbr}/Hfe2^{tm1Arbr}</u> (129S4 * 129X1/SvJが関与する)
Hfm1	<u>Hfm1^{Gt(OST347241)Lex}/Hfm1^{Gt(OST347241)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6 * SJLが関与する)
Hip1	<u>Hip1^{tm2.1Tsr}/Hip1^{tm2.1Tsr}</u> (129X1/SvJが関与する)
Hist1h1 Smcp Tnp2	<u>Hist1h1a^{tm1Drab}/Hist1h1a^{tm1Drab}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2⁺</u> (129 * C57BL/6Jが関与する)
Hist1h1 Smcp Tnp2	<u>Hist1h1a^{tm1Drab}/Hist1h1a^{tm1Drab}</u> <u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> <u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}</u> (129 * C57BL/6Jが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 1 4】

Hist1h1 Smcp Tnp2	$\frac{\text{Hist1h1}^{\text{tm1Drab}}/\text{Hist1h1}^{\text{tm1Drab}}}{\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}/\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}}$ $\frac{\text{Tnp2}^{\text{tm1Wen}}/\text{Tnp2}^+}{(129 * \text{C57BL/6Jが関与する})}$
Hist1h1 Smcp Tnp2	$\frac{\text{Hist1h1}^{\text{tm1Drab}}/\text{Hist1h1}^{\text{tm1Drab}}}{\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}/\text{Smcp}^{\text{tm1Wen}}}$ $\frac{\text{Tnp2}^{\text{tm1Wen}}/\text{Tnp2}^{\text{tm1Wen}}}{(129 * \text{C57BL/6Jが関与する})}$
Hmga1	$\frac{\text{Hmga1}^{\text{tm1Cha}}/\text{Hmga1}^+}{(\text{キメラは129S1/Sv} * \text{C57BL/6Jが関与する})}$
Hmga2	$\frac{\text{Hmga2}^{\text{P9}}/\text{Hmga2}^{\text{P9}}}{(\text{A/St} * \text{C57BL} * \text{MacArthur's small stockが関与する})}$
Hmga2	$\frac{\text{Hmga2}^{\text{tm1Cha}}/\text{Hmga2}^{\text{tm1Cha}}}{(129S7/\text{SvEvBrdが関与する})}$
Hormad1	$\frac{\text{Hormad1}^{\text{tm1.2Atot}}/\text{Hormad1}^{\text{tm1.2Atot}}}{(129/\text{Sv} * \text{BALB/c} * \text{C57BL/6} * \text{SJLが関与する})}$
Hormad1	$\frac{\text{Hormad1}^{\text{tm1Atot}}/\text{Hormad1}^{\text{tm1Atot}}}{(129S1/\text{Sv} * 129X1/\text{SvJ} * \text{C57BL/6JolaHsdが関与する})}$
Hormad1	$\frac{\text{Hormad1}^{\text{tm1Rajk}}/\text{Hormad1}^{\text{tm1Rajk}}}{(129S7/\text{SvEvBrd} * \text{C57BL/6が関与する})}$
Hormad2	$\frac{\text{Hormad2}^{\text{tm1.2Atot}}/\text{Hormad2}^{\text{tm1.2Atot}}}{(129S1/\text{Sv} * 129X1/\text{SvJ} * \text{BALB/c} * \text{C57BL/6} * \text{SJLが関与する})}$
Hormad2	$\frac{\text{Hormad2}^{\text{tm1Atot}}/\text{Hormad2}^{\text{tm1Atot}}}{(129S1/\text{Sv} * 129X1/\text{SvJ} * \text{C57BL/6JolaHsdが関与する})}$
Hormad2	$\frac{\text{Hormad2}^{\text{tm1Kura}}/\text{Hormad2}^{\text{tm1Kura}}}{(\text{B6.Cg-Hormad2}^{\text{tm1Kura}} \text{または} (\text{C57BL/6J} * \text{C57BL/6NCrlj} * \text{CBA/JNCrljが関与する}))}$
Hoxa10	$\frac{\text{Hoxa10}^{\text{tm1Ipc}}/\text{Hoxa10}^{\text{tm1Ipc}}}{((129S2/\text{SvPasが関与する}) \text{または} (129S2/\text{SvPas} * \text{C57BL/6が関与する}))}$
Hoxa10	$\frac{\text{Hoxa10}^{\text{tm1Rilm}}/\text{Hoxa10}^{\text{tm1Rilm}}}{((129S4/\text{SvJaeが関与する}) \text{または} (129S4/\text{SvJae} * \text{C57BL/6が関与する}))}$
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	$\frac{\text{Hoxa11}^{\text{tm1Dmwe}}/\text{Hoxa11}^+}{\frac{\text{Hoxc11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxc11}^+}{\frac{\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxd11}^+}{(129S1/\text{Sv} * 129S7/\text{SvEvBrd} * 129X1/\text{SvJ} * \text{C57BL/6が関与する})}}}$
Hoxa11	$\frac{\text{Hoxa11}^{\text{tm1Dmwe}}/\text{Hoxa11}^{\text{tm1Dmwe}}}{(129S1/\text{Sv} * 129X1/\text{SvJ} * \text{C57BL/6が関与する})}$
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	$\frac{\text{Hoxa11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxa11}^+}{\frac{\text{Hoxc11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxc11}^+}{\frac{\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxd11}^+}{(129S7/\text{SvEvBrdが関与する})}}}$
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	$\frac{\text{Hoxa11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxa11}^+}{\frac{\text{Hoxc11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxc11}^+}{\frac{\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mrc}}/\text{Hoxd11}^{\text{tm1Mrc}}}{(129S7/\text{SvEvBrdが関与する})}}}$

10

20

30

40

【表 2 - 1 5】

Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11⁺</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11^{tm1Mrc}</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11⁺</u> (129S7/SvEvBrdが関与する)
Hoxa11 Hoxc11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11^{tm1Mrc}</u> <u>Hoxc11^{tm1Mrc}/Hoxc11⁺</u> <u>Hoxd11^{tm1Mrc}/Hoxd11⁺</u> (129S7/SvEvBrdが関与する)
Hoxa11 Hoxd11	<u>Hoxa11^{tm1Mrc}/Hoxa11^{tm1Mrc}</u> <u>Hoxd11^{tm2.1(Hoxd11)Mrc}/Hoxd11^{tm2.1(Hoxd11)Mrc}</u> (BALB/cJが関与する)
Hoxa11	<u>Hoxa11^{tm1Ssp}/Hoxa11^{tm1Ssp}</u> (129S2/SvPas * CF1が関与する)
Hoxa13	<u>Hoxa13^{Hd}/Hoxa13^{Hd}</u> (B6C3Fe-a/a Hoxa13 ^{Hd} Mcoln3 ^{Va-J} /J)
Hoxd4 Rarg	<u>Hoxd4^{tm1Bhr}/Hoxd4^{tm1Bhr}</u> <u>Rarg^{tm1Ipc}/Rarg^{tm1Ipc}</u> (129S2/SvPas * 129S7/SvEvBrd * CD-1が関与する)
Hoxd9 Hoxd10	<u>Hoxd9^{tm1Emca}/Hoxd9^{tm1Emca}</u> <u>Hoxd10^{tm1Emca}/Hoxd10^{tm1Emca}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Hoxd11	<u>Hoxd11^{tm1Ipc}/Hoxd11^{tm1Ipc}</u> ((129/Sv * 129S2/SvPasが関与する) または 129S2/SvPas * C57BL/6が関与する))
Hoxd13	<u>Hoxd13^{Dyc}/Hoxd13^{Dyc}</u> (BALB/c-Hoxd13 ^{Dyc})
Hoxd13	<u>Hoxd13^{spdh}/Hoxd13^{spdh}</u> (B6C3Fe a/a-Hoxd13 ^{spdh} /J)
Hoxd13	<u>Hoxd13^{tm1Ddu}/Hoxd13^{tm1Ddu}</u> ((129S2/SvPas * 129/Svが関与する)または 129S2/SvPas * C57BL/6が関与する))
Hsd17b4	<u>Hsd17b4^{tm1Baes}/Hsd17b4^{tm1Baes}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Hsf1 Hsf2	<u>Hsf1^{tm1Miv}/Hsf1^{tm1Miv}</u> <u>Hsf2^{tm1Miv}/Hsf2^{tm1Miv}</u> (129S2/SvPas * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{Gt(S17-2G1)Sor}/Hsp90aa1^{Gt(S17-2G1)Sor}</u> (129S4/SvJaeSorが関与する)
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{Gt(XE444)Byg}/Hsp90aa1^{Gt(XE444)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{Tg(Tyr)2396BOve}/Hsp90aa1^{Tg(Tyr)2396BOve}</u> (FVB/N-Hsp90aa1 ^{Tg(Tyr)2396BOve})
Hsp90aa1	<u>Hsp90aa1^{tm1.1Udon}/Hsp90aa1^{tm1.1Udon}</u> (C57BL/6 * FVBが関与する)
Hspa2	<u>Hspa2^{tm1Dix}/Hspa2^{tm1Dix}</u> (129S/SvEvまたはC57BL/6)
Hspa4	<u>Hspa4^{tm1Imad}/Hspa4^{tm1Imad}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 1 6】

Hstx1	<u>Hstx1^{PWD/Ph/Y}</u> (C57BL/6J * PWD/Phが関与する)
Htt 668Hay	<u>Htt^{tm1Hay}/Htt^{tm1Hay}</u> <u>Tg(YAC46)668Hay/0</u> (FVB/Nが関与する)
Htt 2511Hay	<u>Htt^{tm1Hay}/Htt^{tm1Hay}</u> <u>Tg(YAC72)2511Hay/0</u> (FVB/Nが関与する)
Hydin	<u>Hydin^{hy3}/Hydin^{hy3}</u> (CBAが関与する)
Imp2l	<u>Imp2l^{Tg(Tyr)979Ove}/Imp2l^{Tg(Tyr)979Ove}</u> (FVB/N-Imp2l ^{Tg(Tyr)979Ove})
Ing2	<u>Ing2^{tm1.1Ccha}/Ing2^{tm1.1Ccha}</u> (129/Sv * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Ing2 Trp53	<u>Ing2^{tm1.1Ccha}/Ing2^{tm1.1Ccha}</u> <u>Trp53^{tm1Brd}/Trp53^{tm1Brd}</u> (129/Sv * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Inha	<u>Inha^{tm1Bay}/Inha^{tm1Bay}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Inpp5b	<u>Inpp5b^{tm1Nbm}/Inpp5b^{tm1Nbm}</u> ((129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)または 129S6/SvEvTac * NIH Black Swissが関与する))
Inpp5b	<u>Inpp5b^{tm1Nbm}/Inpp5b^{tm1Nbm}</u> (129S6/SvEvTac)
Inpp5b	<u>Inpp5b^{tm2.1Nbm}/Inpp5b^{tm2.1Nbm}</u> (129S6/SvEvTac * FVB/Nが関与する)
Insl3	<u>Insl3^{tm1Imad}/Insl3^{tm1Imad}</u> (129/Sv * CD-1が関与する)
Insl3	<u>Insl3^{tm1Par}/Insl3^{tm1Par}</u> (129/Sv * CD-1が関与する)
Insl5	<u>Insl5^{tm1Imad}/Insl5^{tm1Imad}</u> (129(B6)-Insl5 ^{tm1Imad})
Insl6	<u>Insl6^{tm1Imad}/Insl6^{tm1Imad}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J * CD-1が関与する)
Ip6k1	<u>Ip6k1^{tm1.1Snyd}/Ip6k1^{tm1.1Snyd}</u> (129X1/SvJ * BALB/c * C57BL/6が関与する)
Izumo1	<u>Izumo1^{tm1Osb}/Izumo1^{tm1Osb}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Jam3	<u>Jam3^{tm1.2Chav}/Jam3^{tm1.2Chav}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Jam3	<u>Jam3^{tm1.2Chav}/Jam3^{tm1.2Chav}</u> (B6.129-Jam3 ^{tm1.2Chav})
Jam3	<u>Jam3^{tm1Rha}/Jam3^{tm1Rha}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Jam3 1Maal	<u>Jam3^{tm1Rha}/Jam3^{tm1Rha}</u> <u>Tg(Tek-Jam3)1Maal/?</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 * C57BL/6J * CBAが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 17】

Jund	<u>Jund^{tm1Mya}/Jund^{tm1Mya}</u> (129S2/SvPas または (129S2/SvPas * C57BL/6 が関与する))
Katnal1	<u>Katnal1^{1H}/Katnal1^{1H}</u> (C3H/HeH * C57BL/6J が関与する)
Katnb1	<u>Katnb1^{tailly}/Katnb1^{tailly}</u> (C57BL/6 * CBA が関与する)
Kcnj6	<u>Kcnj6^{wv}/Kcnj6⁺</u> (C57BL/6J が関与する)
Kcnj6	<u>Kcnj6^{wv}/Kcnj6^{wv}</u> (C57BL/6 * CBA/CaGnLe が関与する)
Kcnu1	<u>Kcnu1^{tm1.2Clin}/Kcnu1^{tm1.2Clin}</u> (B6.Cg-Kcnu1 ^{tm1.2Clin})
Kcnu1	<u>Kcnu1^{tm1Cmsa}/Kcnu1^{tm1Cmsa}</u> (特定なし)
Kdm3a	<u>Kdm3a^{Gt(YHA186)Byg}/Kdm3a^{Gt(YHA186)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Kdm3a	<u>Kdm3a^{tm1Jxu}/Kdm3a^{tm1Jxu}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6 が関与する)
Khdrbs1	<u>Khdrbs1^{tm1Rchd}/Khdrbs1^{tm1Rchd}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Kiss1	<u>Kiss1^{tm1Rla}/Kiss1^{tm1Rla}</u> (129S1/SvImJ が関与する)
Kiss1r	<u>Kiss1r^{tm1.1Lex}/Kiss1r^{tm1.1Lex}</u> (129S4/SvJae が関与する)
Kiss1r	<u>Kiss1r^{tm1Gstn}/Kiss1r^{tm1Gstn}</u> (129P2/OlaHsd が関与する)
Kiss1r	<u>Kiss1r^{tm1Rla}/Kiss1r^{tm1Rla}</u> (129S1/SvImJ が関与する)
Kit	<u>Kit^{Mhdasow3}/Kit^{Mhdasow3}</u> (C3HeB/FeJ-Kit ^{Mhdasow3})
Kit	<u>Kit^{Ssm}/Kit⁺</u> (C57BL/10 * 非近交系 が関与する)
Kit	<u>Kit^{tm1.1Bsm}/Kit^{tm1.1Bsm}</u> (129S1/Sv * BALB/c * C57BL/6J * FVB/N が関与する)
Kit	<u>Kit^{tm1Bpr}/Kit^{tm1Bpr}</u> ((129/Sv が関与する) または (129/Sv * C57BL/6 が関与する))
Kit	<u>Kit^{tm1Hntr}/Kit^{tm1Hntr}</u> ((129/Sv * C57BL/6 * DBA/2 が関与する) または 129S1 が関与する))
Kit	<u>Kit^{W-1Bao}/Kit⁺</u> (C57BL/6J-Kit ^{W-1Bao})
Kit	<u>Kit^{W-39J}/Kit^{W-44J}</u> (C3H/HeJ * C57BL/6J が関与する)
Kit	<u>Kit^{W-44J}/Kit^{W-44J}</u> (B6.C3-Kit ^{W-44J})

10

20

30

40

【表 2 - 1 8】

Kit	<u>Kit^{W-55J}/Kit^{W-55J}</u> (C57BL/6J)
Kit	<u>Kit^{W-ei}/Kit^{W-ei}</u> (C57BL-Kit ^{W-ei})
Kit	<u>Kit^{W-pw}/Kit⁺</u> (STOCK Prop1 ^{df} Myo5a ^d Bmp5 ^{se} が関与する)
Kit	<u>Kit^{W-pw}/Kit^{W-v}</u> (STOCK Prop1 ^{df} Myo5a ^d Bmp5 ^{se} が関与する)
Kit	<u>Kit^{Wads}/Kit^{Wads}</u> (C57BL/6J-Kit ^{Wads})
Kit	<u>Kit^{Sl-17H}/Kit^{Sl-17H}</u> (C3H/HeH-Kit ^{Sl-17H})
Kitl	<u>Kitl^{Sl-m}/Kitl^{Sl-m}</u> (C57BL/6)
Klhl10	<u>Klhl10^{tm1Zuk}/Klhl10⁺</u> (キメラには129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Kmt2e	<u>Kmt2e^{tm1.1Hjf}/Kmt2e^{tm1.1Hjf}</u> (B6.129P2-Kmt2e ^{tm1.1Hjf})
Kmt2e	<u>Kmt2e^{tm1Apa}/Kmt2e^{tm1Apa}</u> (129S6/SvEvTac-Kmt2e ^{tm1Apa})
L1cam	<u>L1cam^{tm1Sor}/Y</u> (129S7/SvEvBrd-L1cam ^{tm1Sor} または(129S7/SvEvBrd * C57BL/6J)F1)
Large	<u>Large^{enr-Tg(MpbReg)36Pop}/Large^{enr-Tg(MpbReg)36Pop}</u> (C57BL/6J * DBA/2Jが関与する)
Large	<u>Large^{myd-3J}/Large^{myd-3J}</u> (STOCK Large ^{myd-3J} /GrsrJ)
Lbr	<u>Lbr^{Gt(XE569)Byg}/Lbr^{Gt(XE569)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6Crが関与する)
Ldhc	<u>Ldhc^{tm1Erg}/Ldhc^{tm1Erg}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Nが関与する)
Lep	<u>Lep^{ob}/Lep^{ob}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Lep	<u>Lep^{ob}/Lep^{ob}</u> (Vが関与する)
Lep Npy2r	<u>Lep^{ob}/Lep^{ob}</u> <u>Npy2r^{tm1.1Hhz}/Npy2r^{tm1.1Hhz}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Lepr	<u>Lepr^{db-NCSU}/Lepr^{db-NCSU}</u> (CD-1が関与する)
Lepr	<u>Lepr^{db-Pas}/Lepr^{db-Pas}</u> (DW/Pas)
Lepr	<u>Lepr^{tm1Yli}/Lepr^{tm1Yli}</u> (B6.129-Lepr ^{tm1Yli})
Lepr	<u>Lepr^{tm2Yli}/Lepr^{tm2Yli}</u> (B6.129-Lepr ^{tm2Yli})

10

20

30

40

【表 2 - 19】

Lfng	<u>Lfng^{tm1Rjo}/Lfng^{tm1Rjo}</u> ((129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)または (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/Nが関与する))
Lfng	<u>Lfng^{tm1Rjo}/Lfng^{tm1Rjo}</u> <u>Tg(Lfng-LFNG)1Dihz/0</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * CBAが関与する)
Lfng 2Dihz	<u>Lfng^{tm1Rjo}/Lfng^{tm1Rjo}</u> <u>Tg(Lfng-LFNG)2Dihz/?</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * CBAが関与する)
Lgr4	<u>Lgr4^{Gt(pGT0TMpfs)1Wcs}/Lgr4^{Gt(pGT0TMpfs)1Wcs}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 * CD-1が関与する)
Lgr4	<u>Lgr4^{Gt(pU-21)1Kymm}/Lgr4^{Gt(pU-21)1Kymm}</u> (CBA.Cg-Lgr4 ^{Gt(pU-21)1Kymm})
Lhb	<u>Lhb^{tm1Kmr}/Lhb^{tm1Kmr}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Lhcgr	<u>Lhcgr^{tm1Cvr}/Lhcgr^{tm1Cvr}</u> (129X1/SvJ-Lhcgr ^{tm1Cvr} または(129X1/SvJ * C57BL/6が関与する))
Lhcgr	<u>Lhcgr^{tm1Hht}/Lhcgr^{tm1Hht}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Lhx9	<u>Lhx9^{tm1Lmgd}/Lhx9^{tm1Lmgd}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Lipe	<u>Lipe^{tm1Gam}/Lipe^{tm1Gam}</u> (129S4/SvJaeが関与する)
Lipe	<u>Lipe^{tm1Ishi}/Lipe^{tm1Ishi}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Lipe	<u>Lipe^{tm1Land}/Lipe^{tm1Land}</u> (129 * C57BL/6Jが関与する)
Lmtk2	<u>Lmtk2^{tm1Tya}/Lmtk2^{tm1Tya}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Lmx1a	<u>Lmx1a^{dr-6J}/Lmx1a^{dr-6J}</u> (C3H/HeJ)
Lnp	<u>Lnp^{UJ}/Lnp⁺</u> (101/H * C3H/HeJが関与する)
Lnp	<u>Lnp^{UJ}/Lnp⁺</u> (101/H * C3H/HeJ * C57BL/6Jが関与する)
Lpin1	<u>Lpin1^{fld-2J}/Lpin1^{fld-2J}</u> (C3H/HeJ-Lpin1 ^{fld-2J} /J)
Lpin1	<u>Lpin1^{fld}/Lpin1^{fld}</u> (BALB/cByJ-Lpin1 ^{fld})
Lrp8	<u>Lrp8^{tm1Her}/Lrp8^{tm1Her}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Lsr	<u>Lsr^{tm1Mdar}/Lsr^{tm1Mdar}</u> ((129P2/OlaHsdが関与する)または(129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)または(129P2/OlaHsd * MF1が関与する))
M1ap	<u>M1ap^{Gt(RRO290)Byg}/M1ap^{Gt(RRO290)Byg}</u> (129P2/OlaHsdが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 20】

Mab21l1	<u>Mab21l1^{tm1Nao}/Mab21l1^{tm1Nao}</u> (C57BL/6が関与する)
Mad2l2	<u>Mad2l2^{tm1Ymu}/Mad2l2^{tm1Ymu}</u> (129 * C57BL/6Jが関与する)
Mael	<u>Mael^{tm1Bort}/Mael^{tm1Bort}</u> (B6.129S4-Mael ^{tm1Bort})
Man2a2	<u>Man2a2^{tm1Mfu}/Man2a2^{tm1Mfu}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Map3k4	<u>Map3k4^{tm1Glj}/Map3k4^{tm1Glj}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Map7	<u>Map7^{Gt(ROSABetageo)1Sor}/Map7^{Gt(ROSABetageo)1Sor}</u> (129S4/SvJaeSor-Map7 ^{Gt(ROSABetageo)1Sor} または 129S4/SvJaeSor * C57BL/6Jが関与する))
Map7	<u>Map7^{mshi}/Map7^{mshi}</u> (BALB/cBy)
Mapk8ip2	<u>Mapk8ip2^{tm1Rjd}/Mapk8ip2^{tm1Rjd}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Mcm8	<u>Mcm8^{tm1.1Geno}/Mcm8^{tm1.1Geno}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6Jが関与する)
Mcph1	<u>Mcph1^{tm1.2Kali}/Mcph1^{tm1.2Kali}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Mdc1	<u>Mdc1^{Gt(OST441263)Lex}/Mdc1^{Gt(OST441263)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Mecp2	<u>Mecp2^{tm1.1Vnar}/Mecp2^{tm1.1Vnar}</u> (B6N.129-Mecp2 ^{tm1.1Vnar})
Mecp2	<u>Mecp2^{tm1Vnar}/Y</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6NCrIが関与する)
Mei1	<u>Mei1^{m1Jcs}/Mei1^{m1Jcs}</u> (129S1/Sv * C57BL/6Jが関与する)
Meig1	<u>Meig1^{tm1.2Zzha}/Meig1^{tm1.2Zzha}</u> (特定なし)
Meig1	<u>Meig1^{tm1Shpi}/Meig1^{tm1Shpi}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * BALB/cが関与する)
Mgat2	<u>Mgat2^{tm1.1Jxm}/Mgat2^{tm1.1Jxm}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICRが関与する)
Mhstq1	<u>Mhstq1^{M. macedonius}/Mhstq1^{M. macedonius}</u> (C57BL/6J * M. macedoniusが関与する)
Mhstq2	<u>Mhstq2^{M. macedonius}/Mhstq2^{M. macedonius}</u> (C57BL/6J * M. macedoniusが関与する)
Mir9-3	<u>Mir9-3^{tm1Sia}/Mir9-3^{tm1Sia}</u> (C57BL/6 * CBAが関与する)
Mitf	<u>Mitf^{fmi-Crc}/Mitf^{fmi-Crc}</u> (CBA/CaCrc)
Mitf	<u>Mitf^{fmi-enu5}/Mitf^{fmi-enu5}</u> (102 * C3H/EIが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 1】

Mitf	<u>Mitf^{fmi-Mhdabcc2}/Mitf^{fmi-Mhdabcc2}</u> (C3HeB/FeJ)
Mkks	<u>Mkks^{tm1Vcs}/Mkks^{tm1Vcs}</u> ((129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)または(129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する))
Mlh1	<u>Mlh1^{tm1Lisk}/Mlh1^{tm1Lisk}</u> (129S7/SvEvBrdが関与する)
Mlh1	<u>Mlh1^{tm1Rak}/Mlh1^{tm1Rak}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Mlh1	<u>Mlh1^{tm1Wed}/Mlh1^{tm1Wed}</u> (129/Sv * C57BL/6J * SJL が関与する)
Mlh3	<u>Mlh3^{tm1Lpkn}/Mlh3^{tm1Lpkn}</u> (129S/SvEvが関与する)
Mmel1	<u>Mmel1^{tm1Ldg}/Mmel1^{tm1Ldg}</u> (129S/SvEv * MF1が関与する)
Mns1	<u>Mns1^{tm1Jw}/Mns1^{tm1Jw}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6 が関与する)
Morc1	<u>Morc1^{Tg(Tyr)1Az}/Morc1^{Tg(Tyr)1Az}</u> (FVB/N)
Mov10l1	<u>Mov10l1^{tm1.2Eno}/Mov10l1^{tm1.2Eno}</u> (129S/SvEv * C57BL/6が関与する)
Mov10l1	<u>Mov10l1^{tm1.2Jw}/Mov10l1^{tm1.2Jw}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6 * FVB/Nが関与する)
Mpz	<u>Mpz^{ttrr}/Mpz^{ttrr}</u> (B6.Cg-Mpz ^{ttrr} /GrsrJ)
Msh4	<u>Msh4^{tm1Wed}/Msh4^{tm1Wed}</u> (129/Sv * C57BL/6 * SJL が関与する)
Msh4 Msh5	<u>Msh4^{tm1Wed}/Msh4^{tm1Wed}</u> <u>Msh5^{tm1Rak}/Msh5^{tm1Rak}</u> (129/Sv * C57BL/6 * SJL が関与する)
Msh5	<u>Msh5^{tm1Htr}/Msh5^{tm1Htr}</u> (129P2/OlaHsd * FVBが関与する)
Msh5	<u>Msh5^{tm1Rak}/Msh5^{tm1Rak}</u> (129/Sv * C57BL/6J * SJL が関与する)
Mybl1	<u>Mybl1^{repro9}/Mybl1^{repro9}</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
Mybl1	<u>Mybl1^{repro9}/Mybl1^{tm1Epr}</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
Mybl1	<u>Mybl1^{tm1Epr}/Mybl1^{tm1Epr}</u> (特定なし)
Myo7a	<u>Myo7a^{sh1-6J}/Myo7a^{sh1-6J}</u> (C57BLKS/Jが関与する)
Nanos2	<u>Nanos2^{tm1Ysa}/Nanos2^{tm1Ysa}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICRが関与する)
Nanos3	<u>Nanos3^{tm1Ysa}/Nanos3^{tm1Ysa}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * ICRが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 2】

Nek1	<u>Nek1^{kat-2J}/Nek1^{kat-2J}</u> (C57BL/6J-Nek1 ^{kat-2J} /J)
Nek1	<u>Nek1^{kat}/Nek1^{kat}</u> (C3HeB/FeJLe * RBF/Dnが関与する)
Neurl1a	<u>Neurl1a^{tm1Led}/Neurl1a^{tm1Led}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Nfia	<u>Nfia^{tm1Rmg}/Nfia^{tm1Rmg}</u> (129P2/OlaHsd * Black Swissが関与する)
Nhlh2	<u>Nhlh2^{tm1Irk}/Nhlh2^{tm1Irk}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Nos1	<u>Nos1^{tm2Plh}/Nos1^{tm2Plh}</u> (特定なし)
Notch3	<u>Notch3^{hpbk}/Notch3^{hpbk}</u> (C57BL/6J-Notch3 ^{hpbk} /GrslJ)
Npc1	<u>Npc1^{m1N}/Npc1^{m1N}</u> (BALB/cが関与する)
Npepps	<u>Npepps^{goku}/Npepps^{goku}</u> (129P2/OlaHsd * BALB/cが関与する)
Nphp1	<u>Nphp1^{tm1.1Hung}/Nphp1^{tm1.1Hung}</u> (B6.Cg-Nphp1 ^{tm1.1Hung})
Nphp4	<u>Nphp4^{nmf192}/Nphp4^{nmf192}</u> (C57BL/6Jが関与する)
Nr0b1	<u>Nr0b1^{tm1.1Lja}/Y</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Nr5a1	<u>Nr5a1^{tm1.1Hain}/Nr5a1^{tm1.1Hain}</u> (特定なし)
Nr5a1 3Sac	<u>Nr5a1^{tm2Klp}/Nr5a1^{tm2.1Klp}</u> <u>Tg(Cga-cre)3Sac/0</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6J * SJLが関与する)
Nsun2	<u>Nsun2^{Gt(D014D11)Wrst}/Nsun2^{Gt(D014D11)Wrst}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6J * CBAが関与する)
Nsun2	<u>Nsun2^{tm1a(EUCOMM)Wtsi}/Nsun2^{tm1a(EUCOMM)Wtsi}</u> (C57BL/6Nが関与する)
Nup210l	<u>Nup210l^{Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP)130910Eps}/Nup210l^{Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP)130910Eps}</u> (FVB/NTac-Nup210l ^{Tg(Gt(ROSA)26Sor-EGFP)130910Eps} /Mmmh)
Nxf2	<u>Nxf2^{tm1.2Jw}/Y</u> (129S1/Sv * 129S4/SvJae * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Nxf2	<u>Nxf2^{tm1.2Jw}/Y</u> (B6.Cg-Nxf2 ^{tm1.2Jw})
Nxph1	<u>Nxph1^{tm1Sud}/Nxph1^{tm1Sud}</u> (129S6/SvEvTac)
Oaz3	<u>Oaz3^{tm1Htan}/Oaz3^{tm1Htan}</u> (129S1/Sv * C57BL/6が関与する)
Oca2	<u>Oca2^{p-6H}/Oca2^{p-6H}</u> (101/H * C3H/HeHが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 3】

Oca2	<u>Oca2^{P-12DTR}/Oca2^{P-12DTR}</u> (101/RI * C3H/RIが関与する)
Oca2	<u>Oca2^{P-103G}/Oca2^{P-103G}</u> (101/RI * C3H/RIが関与する)
Oca2	<u>Oca2^{P-s}/Oca2^{P-s}</u> (特定なし)
Ocln	<u>Ocln^{tm1Sts}/Ocln^{tm1Sts}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Ocln	<u>Ocln^{tm2Sts}/Ocln^{tm2Sts}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Odf1	<u>Odf1^{tm1Shf}/Odf1^{tm1Shf}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Odf2	<u>Odf2^{Gt(XL169)Byg}/Odf2⁺</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Odf2	<u>Odf2^{tm1.2Sats}/Odf2⁺</u> (C57BL/6 * C57BL/6Jが関与する)
P2rx1	<u>P2rx1^{tm1Chn}/P2rx1^{tm1Chn}</u> (129P2/OlaHsd * MF1が関与する)
Pafah1b1	<u>Pafah1b1^{Gt(IRESBetageo)1Hha}/Pafah1b1^{Gt(IRESBetageo)1Hha}</u> (129/Sv * NMRIが関与する)
Pafah1b2	<u>Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}/Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Pafah1b2 Pafah1b3	<u>Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}/Pafah1b2^{Gt(Betageo)1Cla}</u> <u>Pafah1b3^{tm1Cla}/Pafah1b3^{tm1Cla}</u> (129S6/SvEvTacが関与する)
Pafah1b2 Pafah1b3	<u>Pafah1b2^{tm1Arai}/Pafah1b2^{tm1Arai}</u> <u>Pafah1b3^{tm1Arai}/Pafah1b3^{tm1Arai}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6Nが関与する)
Paip2	<u>Paip2^{tm1.2Nso}/Paip2^{tm1.2Nso}</u> (B6.129-Paip2 ^{tm1.2Nso})
Paip2 Paip2b	<u>Paip2^{tm1.2Nso}/Paip2^{tm1.2Nso}</u> <u>Paip2b^{tm1.2Nso}/Paip2b^{tm1.2Nso}</u> (B6.129-Paip2b ^{tm1.2Nso} Paip2 ^{tm1.2Nso})
Pank2	<u>Pank2^{tm1.1Suja}/Pank2^{tm1.1Suja}</u> (129S/SvEv * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Pank2	<u>Pank2^{tm1Jgt}/Pank2^{tm1Jgt}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Papolb	<u>Papolb^{tm1Tba}/Papolb^{tm1Tba}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Patz1	<u>Patz1^{tm1Pchi}/Patz1^{tm1Pchi}</u> (特定なし)
Pax8	<u>Pax8^{tm1Pgr}/Pax8^{tm1Pgr}</u> ((129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)または(129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する))

10

20

30

40

【表 2 - 2 4】

Pdgfra Plekha1	$\text{Pdgfra}^{\text{tm1Sor}}/\text{Pdgfra}^+$ $\text{Plekha1}^{\text{Gt(ROSA)82Sor}}/\text{Plekha1}^{\text{Gt(ROSA)82Sor}}$ ((129S4/SvJaeSor が関与する) または (129S4/SvJaeSor * C57BL/6 が関与する))
Pdgfra Sgpl1	$\text{Pdgfra}^{\text{tm1Sor}}/\text{Pdgfra}^+$ $\text{Sgpl1}^{\text{Gt(ROSA)78Sor}}/\text{Sgpl1}^{\text{Gt(ROSA)78Sor}}$ ((129S4/SvJaeSor が関与する) または (129S4/SvJaeSor * C57BL/6 が関与する))
Pdgfrb Plekha1	$\text{Pdgfrb}^{\text{tm1Sor}}/\text{Pdgfrb}^+$ $\text{Plekha1}^{\text{Gt(ROSA)82Sor}}/\text{Plekha1}^{\text{Gt(ROSA)82Sor}}$ ((129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd が関与する) または (129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6 が関与する))
Pdgfrb Sgpl1	$\text{Pdgfrb}^{\text{tm1Sor}}/\text{Pdgfrb}^+$ $\text{Sgpl1}^{\text{Gt(ROSA)78Sor}}/\text{Sgpl1}^{\text{Gt(ROSA)78Sor}}$ ((129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd が関与する) または (129S4/SvJaeSor * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6 が関与する))
Pdilt	$\text{Pdilt}^{\text{tm1Osb}}/\text{Pdilt}^{\text{tm1Osb}}$ (129S2/SvPas が関与する)
Pex5 Plekha5	$\text{Pex5}^{\text{tm1Pec}}/\text{Pex5}^{\text{tm1Pec}}$ $\text{Plekha5}^{\text{Tg(AMH-cre)1Flor/0}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ が関与する)
Pfdn5	$\text{Pfdn5}^{\text{nmf5a}}/\text{Pfdn5}^{\text{nmf5a}}$ (C57BL/6-Pfdn5 ^{nmf5a})
Pgk2	$\text{Pgk2}^{\text{tm1Dao}}/\text{Pgk2}^{\text{tm1Dao}}$ (129S6/SvEvTac * C57BL/6NCrl が関与する)
Pgm3	$\text{Pgm3}^{\text{Gt(W037B08)Wrst}}/\text{Pgm3}^{\text{mld1}}$ (129S1/Sv * C57BL/6 が関与する)
Pgm3	$\text{Pgm3}^{\text{mld1}}/\text{Pgm3}^{\text{mld1}}$ (C57BL/6-Pgm3 ^{mld1})
Pi4k2a	$\text{Pi4k2a}^{\text{Gt(AK0094)Wtsi}}/\text{Pi4k2a}^{\text{Gt(AK0094)Wtsi}}$ (129P2/OlaHsd * BALB/c が関与する)
Pick1	$\text{Pick1}^{\text{tm1RIh}}/\text{Pick1}^{\text{tm1RIh}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ が関与する)
Pifo	$\text{Pifo}^{\text{tm1.1Heli}}/\text{Pifo}^+$ (キメラには 129S6/SvEvTac * C57BL/6J が関与する)
Pip5k1a Pip5k1b	$\text{Pip5k1a}^{\text{tm1.1Tba}}/\text{Pip5k1a}^{\text{tm1.1Tba}}$ $\text{Pip5k1b}^{\text{tm1Tssk}}/\text{Pip5k1b}^{\text{tm1Tssk}}$ (129P2/OlaHsd が関与する)
Piwil1	$\text{Piwil1}^{\text{tm1.1Embrp}}/\text{Piwil1}^+$ (129S4/SvJaeSor * C57BL/6 が関与する)
Piwil1	$\text{Piwil1}^{\text{tm1.1Embrp}}/\text{Piwil1}^{\text{tm1.2Embrp}}$ (129S4/SvJaeSor * BALB/cJ * C57BL/6 が関与する)
Piwil1	$\text{Piwil1}^{\text{tm1.2Embrp}}/\text{Piwil1}^{\text{tm1.2Embrp}}$ (129S4/SvJaeSor * BALB/cJ * C57BL/6 が関与する)
Piwil1	$\text{Piwil1}^{\text{tm1Hfl}}/\text{Piwil1}^{\text{tm1Hfl}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J が関与する)
Piwil2	$\text{Piwil2}^{\text{tm1.1Doca}}/\text{Piwil2}^{\text{tm1.1Doca}}$ (129P2/OlaHsd * 129S4/SvJaeSor * C57BL/6J が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 5】

Piwil2	<u>Piwil2^{tm1Nkn}/Piwil2^{tm1Nkn}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Plcd4	<u>Plcd4^{tm1Kfu}/Plcd4^{tm1Kfu}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Pld6	<u>Pld6^{tm1.1Hsas}/Pld6^{tm1.1Hsas}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Pld6	<u>Pld6^{tm1.1Mafr}/Pld6^{tm1.1Mafr}</u> (C57BL/6が関与する)
Plekha1	<u>Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}/Plekha1^{Gt(ROSA)82Sor}</u> ((129S4/SvJaeSorが関与する)または(129S4/SvJaeSor * C57BL/6が関与する))
Plekha5	<u>Plekha5^{Tg(AMH-cre)1Flor/0}</u> <u>Wt1^{tm1Jae}/Wt1^{tm2Vih}</u> (129S4/SvJae * 129S7/SvEvBrd * C57BL/6 * SJLが関与する)
Plin2	<u>Plin2^{Gt(OST170322)Lex}/Plin2^{Gt(OST170322)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Pmis2	<u>Pmis2^{tm1Osb}/Pmis2^{tm1Osb}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Pms2	<u>Pms2^{tm1Lisk}/Pms2^{tm1Lisk}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Pms2	<u>Pms2^{tm1Lisk}/Pms2^{tm1Lisk}</u> (129S2/SvPasが関与する)
Pomgnt1	<u>Pomgnt1^{Gt(OST179231)Lex}/Pomgnt1^{Gt(OST179231)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Pomk	<u>Pomk^{Gt(OST243203)Lex}/Pomk^{Gt(OST243203)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Ppm1d	<u>Ppm1d^{tm1Lad}/Ppm1d^{tm1Lad}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Ppp1cc	<u>Ppp1cc^{tm1Var}/Ppp1cc^{tm1Var}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1が関与する)
Prdm9	<u>Prdm9^{repro7}/Prdm9^{repro7}</u> (B6;C3Fe-Prdm9 ^{repro7} /J)
Prdm9	<u>Prdm9^{tm1Ymat}/Prdm9^{tm1Ymat}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Prdm14	<u>Prdm14^{tm1Salt}/Prdm14^{tm1Salt}</u> (B6.129P2-Prdm14 ^{tm1Salt})
Prkaca	<u>Prkaca^{tm1Gsm}/Prkaca^{tm1Gsm}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Prkaca	<u>Prkaca^{tm2Gsm}/Prkaca^{tm2Gsm}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Prkdc	<u>Prkdc^{scid}/Prkdc^{scid}</u> <u>Tgfb1^{tm1Doe}/Tgfb1^{tm1Doe}</u> (129 * C3H * CF-1が関与する)
Prlr	<u>Prlr^{tm1Cnp}/Prlr^{tm1Cnp}</u> ((129/Sv * 129P2/OlaHsdが関与する)または (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する))

10

20

30

40

【表 2 - 2 6】

Prlr	$\frac{Prlr^{tm1Cnp}}{Prlr^{tm1Cnp}}$ (129P2/OlaHsd * 129S2/SvPasが関与する)
Prnd	$\frac{Prnd^{tm1Aag}}{Prnd^{tm1Aag}}$ (129P2/OlaHsdが関与する)
Prnd	$\frac{Prnd^{tm1Dwm}}{Prnd^{tm1Dwm}}$ (129P2/OlaHsd)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Aag}/Prnp/Prnd^{tm1Aag}}$ (特定なし)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Aag}/Prnp/Prnd^{tm1Aag}}$ (特定なし)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Dwm}/Prnp/Prnd^{tm1Dwm}}$ (129P2/OlaHsd)
Prnp	$\frac{Prnp}{Prnd^{tm1Dwm}/Prnp/Prnd^{tm1Dwm}}$ (129P2/OlaHsd)
Prop1	$\frac{Prop1^{df}}{Prop1^{df}}$ (STOCK Prop1 ^{df})
Ptch1	$\frac{Ptch1^{mes}}{Ptch1^{mes}}$ (B6C3Fe a/a-Ptch1 ^{mes})
Ptdss2	$\frac{Ptdss2^{Gt(KST314)Byg}}{Ptdss2^{Gt(KST314)Byg}}$ (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Pth2	$\frac{Pth2^{tm1Vlbg}}{Pth2^{tm1Vlbg}}$ (129 * C57BL/6が関与する)
Pvrl2	$\frac{Pvrl2^{tm1Smu}}{Pvrl2^{tm1Smu}}$ (129X1/SvJ * C57BL/6 * DBA/2 が関与する)
Pvrl2	$\frac{Pvrl2^{tm1Vrr}}{Pvrl2^{tm1Vrr}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Pvrl3	$\frac{Pvrl3^{tm1Ytk}}{Pvrl3^{tm1Ytk}}$ ((129X1/SvJ * C57BL * DBAが関与する)または (129X1/SvJ * BALB/cA * C57BL * DBAが関与する))
Rabl2	$\frac{Rabl2^{mot}}{Rabl2^{mot}}$ (C57BL/6 * CBAが関与する)
Rabl2	$\frac{Rabl2^{mot}}{Rabl2^{mot}}$ (C57BL/6(CBA)-Rabl2 ^{mot})
Rad21l	$\frac{Rad21l^{tm1Amp}}{Rad21l^{tm1Amp}}$ (129 * C57BL/6が関与する)
Rad23b	$\frac{Rad23b^{tm1Gvh}}{Rad23b^{tm1Gvh}}$ (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Rad51c	$\frac{Rad51c^{tm1Sks}}{Rad51c^{tm1.1Sks}}$ (129/Sv * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Ranbp1	$\frac{Ranbp1^{tm1Yyo}}{Ranbp1^{tm1Yyo}}$ (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Ranbp9	$\frac{Ranbp9^{Gt(RHA056)Byg}}{Ranbp9^{Gt(RHA056)Byg}}$ (B6.129P2-Ranbp9 ^{Gt(RHA056)Byg})
Rara	$\frac{Rara^{tm1Ipc}}{Rara^{tm1Ipc}}$ (129S2/SvPasが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 7】

Rara	$\text{Rara}^{\text{tm1Ipc}}/\text{Rara}^{\text{tm1Ipc}}$ (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Rara	$\text{Rara}^{\text{tm3.1Ipc}}/\text{Rara}^{\text{tm3.1Ipc}}$ (129/Sv * C57BL/6 * SJLが関与する)
Rarg	$\text{Rarg}^{\text{tm1Ipc}}/\text{Rarg}^{\text{tm1Ipc}}$ (129S2/SvPasが関与する)
Rarg	$\text{Rarg}^{\text{tm3.1Ipc}}/\text{Rarg}^{\text{tm3.1Ipc}}$ (C57BL/6 * SJLが関与する)
Rec8	$\text{Rec8}^{\text{tm1Mjm}}/\text{Rec8}^{\text{tm1Mjm}}$ ((129S1/Sv * 129X1/SvJ が関与する) または (129S1/Sv * C57BL/6が関与する))
Reln	$\text{Reln}^{\text{rl}}/\text{Reln}^{\text{rl}}$ (特定なし)
repro2	$\text{repro2}/\text{repro2}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro3	$\text{repro3}/\text{repro3}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro4	$\text{repro4}/\text{repro4}$ (B6;C3Fe-repro4/J)
repro10	$\text{repro10}/\text{repro10}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro12	$\text{repro12}/\text{repro12}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro13	$\text{repro13}/\text{repro13}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro14	$\text{repro14}/\text{repro14}$ (B6;C3Fe-repro14/J)
repro15	$\text{repro15}/\text{repro15}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro16	$\text{repro16}/\text{repro16}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro17	$\text{repro17}/\text{repro17}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro20	$\text{repro20}/\text{repro20}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro21	$\text{repro21}/\text{repro21}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro22	$\text{repro22}/\text{repro22}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro23	$\text{repro23}/\text{repro23}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro24	$\text{repro24}/\text{repro24}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro26	$\text{repro26}/\text{repro26}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 8】

repro27	<u>repro27/repro27</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro28	<u>repro28/repro28</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro29	<u>repro29/repro29</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro30	<u>repro30/repro30</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro31	<u>repro31/repro31</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro33	<u>repro33/repro33</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro36	<u>repro36/repro36</u> (B6;C3Fe-repro36/J)
repro46	<u>repro46/repro46</u> (B6;C3Fe-repro46/J)
repro47	<u>repro47/repro47</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro48	<u>repro48/repro48</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro49	<u>repro49/repro49</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro50	<u>repro50/repro50</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro51	<u>repro51/repro51</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro52	<u>repro52/repro52</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro53	<u>repro53/repro53</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro54	<u>repro54/repro54</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
repro57	<u>repro57/repro57</u> (B6;C3Fe-repro57/J)
Ret	<u>Ret^{tm2.1Cos}/Ret^{tm2.1Cos}</u> (129S1/Sv * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Rimbp3	<u>Rimbp3^{tm1Gxu}/Rimbp3^{tm1Gxu}</u> (129/Sv * ICRが関与する)
Rnf8	<u>Rnf8^{Gt(RRR260)Byg}/Rnf8^{Gt(RRR260)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Rnf17	<u>Rnf17^{tm1Jw}/Rnf17^{tm1Jw}</u> (129 * C57BL/6が関与する)
Rnf41	<u>Rnf41^{TgTn(sb-rtTA,Tyr)2435COve}/Rnf41^{TgTn(sb-rtTA,Tyr)2435COve}</u> (C57BL/6 * FVB/Nが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 2 9】

Rorb	Rorb ^{m1Btlr} /Rorb ^{m1Btlr} (C57BL/6J-Rorb ^{m1Btlr})
Ros1	Ros1 ^{tm1Cbm} /Ros1 ^{tm1Cbm} (129P2/OlaHsdが関与する)
Ros1	Ros1 ^{tm1Cbm} /Ros1 ^{tm1Cbm} (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Ros1	Ros1 ^{tm2Cbm} /Ros1 ^{tm2Cbm} (129P2/OlaHsdが関与する)
Rsph1	Rsph1 ^{tm1Htan} /Rsph1 ^{tm1Htan} (129S1/Sv * C57BL/6Jが関与する)
Runx1t1	Runx1t1 ^{tm1Fc} /Runx1t1 ^{tm1Fc} (129S/SvEv * C57BL/6 が関与する)
Rxfp2	Rxfp2 ^{tm1Aia} /crsp (129S7/SvEvBrd * C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Rxfp2	Rxfp2 ^{tm1Aia} /Rxfp2 ^{tm1Aia} (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Rxrb	Rxrb ^{tm1Ipc} /Rxrb ^{tm1Ipc} (129S2/SvPasが関与する)
Safb	Safb ^{tm1So} /Safb ^{tm1So} (129 * C57BL/6Jが関与する)
Sbf1	Sbf1 ^{tm1Mlc} /Sbf1 ^{tm1Mlc} (C57BL/6が関与する)
Scmh1	Scmh1 ^{tm1Hko} /Scmh1 ^{tm1Hko} (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Sept4	Sept4 ^{tm1Hs} /Sept4 ^{tm1Hs} (129/Sv * 129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する)
Sept4	Sept4 ^{tm1Ksh} /Sept4 ^{tm1Ksh} (129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Sept12	Sept12 ^{tm1.1Plk} /Sept12 ⁺ (キメラには129/Sv * C57BL/6が関与する)
Serpina5	Serpina5 ^{tm1Gei} /Serpina5 ^{tm1Gei} (129/Sv * Swissが関与する)
Serpine2	Serpine2 ^{tm1Dmn} /Serpine2 ^{tm1Dmn} (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Sgol2	Sgol2 ^{Gt(D025B05)Wrst} /Sgol2 ^{Gt(D025B05)Wrst} (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Sgpl1	Sgpl1 ^{Gt(ROSA)78Sor} /Sgpl1 ^{Gt(ROSA)78Sor} ((129S4/SvJaeSorが関与する)または(129S4/SvJaeSor * C57BL/6が関与する))
Sh3pxd2b	Sh3pxd2b ^{nee} /Sh3pxd2b ^{nee} (B10.Cg-H2 ^{h4} Sh3pxd2b ^{nee} /GrsrJ)
Siah1a	Siah1a ^{tm1Ddlb} /Siah1a ^{tm1Ddlb} (129S1/Sv * C57BL/6Jが関与する)
Sit1	Sirt1 ^{tm1Mcby} /Sirt1 ^{tm1Mcby} (129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 3 0】

Sit1	<u>Sirt1^{tm1Mcby}/Sirt1^{tm1Mcby}</u> (129/Sv-Sirt1 ^{tm1Mcby})
Sit1	<u>Sirt1^{tm1Mcby}/Sirt1^{tm1Mcby}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Sit1	<u>Sirt1^{tm2.1Mcby}/Sirt1^{tm2.1Mcby}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * CD-1が関与する)
Sit6	<u>Sirt6^{tm2.1Cxd}/Sirt6^{tm2.1Cxd}</u> (129S6/SvEvTac * NIH Black Swissが関与する)
Sit6	<u>Sirt6^{tm2.2Cxd}/Sirt6^{tm2.2Cxd}</u> (129S6/SvEvTac * FVB/N * NIH Black Swissが関与する)
Six5	<u>Six5^{tm1Rdd}/Six5^{tm1Rdd}</u> (129S4/SvJae-Six5 ^{tm1Rdd})
Slc4a2	<u>Slc4a2^{tm1Jmed}/Slc4a2^{tm1Jmed}</u> (129P2/OlaHsd * FVBが関与する)
Slc9a3	<u>Slc9a3^{tm1Ges}/Slc9a3^{tm1Ges}</u> (特定なし)
Slc9a8	<u>Slc9a8^{Gt(YHB273)Byg}/Slc9a8^{Gt(YHB273)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * Black Swissが関与する)
Slc9c1	<u>Slc9c1^{tm1Gar}/Slc9c1^{tm1Gar}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Jが関与する)
Scl12a2	<u>Slc12a2^{tm1Bhk}/Slc12a2^{tm1Bhk}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6J * DBA/2Jが関与する)
Slc12a2	<u>Slc12a2^{tm2Bhk}/Slc12a2^{tm2Bhk}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6J * DBA/2Jが関与する)
Slc19a2	<u>Slc19a2^{tm1Ejn}/Slc19a2^{tm1Ejn}</u> (129S4/SvJae * 129S6/SvEvTacが関与する)
Slc19a2	<u>Slc19a2^{tm1Gelb}/Slc19a2^{tm1Gelb}</u> (129X1/SvJが関与する)
Slc25a31	<u>Slc25a31^{tm1Nte}/Slc25a31^{tm1Nte}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Slc26a8	<u>Slc26a8^{tm1Ggac}/Slc26a8^{tm1Ggac}</u> (129S/SvEvBrdが関与する)
Smc1b	<u>Smc1b^{tm1Ham}/Smc1b^{tm1Ham}</u> (C57BL/6Jcl * DBA/2Jcl * ICRが関与する)
Smc1b	<u>Smc1b^{tm1Jess}/Smc1b^{tm2.2Jess}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6 * SJLが関与する)
Smcp	<u>Smcp^{tm1Wen}/Smcp^{tm1Wen}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Snai2	<u>Snai2^{tm2Grid}/Snai2^{tm2Grid}</u> (129S1/Svが関与する)
Sohlh2	<u>Sohlh2^{tm1Miya}/Sohlh2^{tm1Miya}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Sox3	<u>Sox3^{tm1Ptho}/Y</u> (キメラには129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 * DBA/2が関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 3 1】

Sp4	<u>Sp4^{tm1Ssp}/Sp4^{tm1Ssp}</u> (129P2/OlaHsd * CF-1 が関与する)
Sp4	<u>Sp4^{tm1Sus}/Sp4^{tm1Sus}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Spaca1	<u>Spaca1^{tm1.10sb}/Spaca1^{tm1.10sb}</u> (129S2/SvPas * C57BL * C57BL/6N * DBA が関与する)
Spag6	<u>Spag6^{tm1Jfs}/Spag6^{tm1Jfs}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6J が関与する)
Spag16	<u>Spag16^{tm1Jfs}/Spag16⁺</u> (キメラには129/Sv * C57BL/6J が関与する)
Spag16	<u>Spag16^{tm2Jfs}/Spag16^{tm2Jfs}</u> (129S6/SvEvTac が関与する)
Spata22	<u>Spata22^{repro42}/Spata22^{repro42}</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6J が関与する)
Spef2	<u>Spef2^{bgh}/Spef2^{bgh}</u> (C57BL/6J * C57BL/10J が関与する)
Spef2	<u>Spef2^{bgh}/Spef2^{bgh}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6J * C57BL/10J が関与する)
Spem1	<u>Spem1^{tm1Wyan}/Spem1^{tm1Wyan}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6J が関与する)
Spo11	<u>Spo11^{tm1Mjn}/Spo11^{tm1Mjn}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Spo11	<u>Spo11^{tm1Nki}/Spo11^{tm1Nki}</u> (129P2/OlaHsd が関与する)
Spo11	<u>Spo11^{tm1Rdco}/Spo11^{tm1Rdco}</u> (129S6/SvEvTac が関与する)
Sptbn4	<u>Sptbn4^{qv-10J}/Sptbn4^{qv-10J}</u> (BALB/cJ * C57BL/6J が関与する)
Sptbn4	<u>Sptbn4^{qv-11J}/Sptbn4^{qv-11J}</u> (C57BL/6J-Sptbn4 ^{qv-11J} /J)
Sptbn4	<u>Sptbn4^{qv-lnd}/Sptbn4^{qv-lnd}</u> (B6.B10-Sptbn4 ^{qv-lnd})
Stam	<u>Stam^{tm1Sug}/Stam^{tm1Sug}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6 が関与する)
Stk11	<u>Stk11^{tm1Keis}/Stk11^{tm1Keis}</u> (特定なし)
Stk36	<u>Stk36^{tm1Fjs}/Stk36^{tm1Fjs}</u> (129S1/Sv * C57BL/6 が関与する)
Stx2	<u>Stx2^{repro34}/Stx2^{repro34}</u> (C3HeB/FeJ * C57BL/6J が関与する)
Stx2	<u>Stx2^{tm1Dcru}/Stx2^{tm1Dcru}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6J が関与する)
Styx	<u>Styx^{tm1.1Jedi}/Styx^{tm1.1Jedi}</u> ((129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)または (C57BL/6 が関与する))

10

20

30

40

【表 2 - 3 2】

Styx	$\text{Styx}^{\text{tm1Jedi}}/\text{Styx}^{\text{tm1Jedi}}$ ((129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)または C57BL/6が関与する))
Sun1	$\text{Sun1}^{\text{tm1.1Ktj}}/\text{Sun1}^{\text{tm1.1Ktj}}$ (C57BL/6J * FVB/Nが関与する)
Sun1	$\text{Sun1}^{\text{tm1Mhan}}/\text{Sun1}^{\text{tm1Mhan}}$ (129S6/SvEvTacが関与する)
Swm2	$\text{swm2}/\text{swm2}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6Jが関与する)
Swm6	$\text{swm6}/\text{swm6}$ (C3HeB/FeJ * C57BL/6が関与する)
Syce1	$\text{Syce1}^{\text{tm1Hgu}}/\text{Syce1}^{\text{tm1Hgu}}$ (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Syce2	$\text{Syce2}^{\text{Gt(FHCRC-GT-S8-7E1)Sor}}/\text{Syce2}^{\text{Gt(FHCRC-GT-S8-7E1)Sor}}$ (C57BL/6が関与する)
Syce3	$\text{Syce3}^{\text{tm1Rben}}/\text{Syce3}^{\text{tm1Rben}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Sycp1	$\text{Sycp1}^{\text{tm1Aps}}/\text{Sycp1}^{\text{tm1Aps}}$ (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Sycp2	$\text{Sycp2}^{\text{tm1Jw}}/\text{Sycp2}^{\text{tm1Jw}}$ (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Sycp3	$\text{Sycp3}^{\text{tm1Hoog}}/\text{Sycp3}^{\text{tm1Hoog}}$ (129P2/OlaHsd * C57BL/6が関与する)
Taldo1	$\text{Taldo1}^{\text{tm1Perl}}/\text{Taldo1}^{\text{tm1Perl}}$ (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Tarbp2	$\text{Tarbp2}^{\text{tm1Reb}}/\text{Tarbp2}^{\text{tm1Reb}}$ (特定なし)
Tbpl1	$\text{Tbpl1}^{\text{tm1Rgr}}/\text{Tbpl1}^{\text{tm1Rgr}}$ (C57BL/6が関与する)
Tbpl1	$\text{Tbpl1}^{\text{tm1Saco}}/\text{Tbpl1}^{\text{tm1Saco}}$ (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Tcte3	$\text{Tcte3}^{\text{tm1June}}/\text{Tcte3}^{\text{tm1June}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6Jが関与する)
Tdrd1	$\text{Tdrd1}^{\text{tm1Chum}}/\text{Tdrd1}^{\text{tm1Chum}}$ (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する)
Tdrd5	$\text{Tdrd5}^{\text{tm1Sait}}/\text{Tdrd5}^{\text{tm1Sait}}$ (C57BL/6 * CBAが関与する)
Tdrd6	$\text{Tdrd6}^{\text{tm1Chum}}/\text{Tdrd6}^{\text{tm1Chum}}$ (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Tdrd6 Tdrd7	$\text{Tdrd6}^{\text{tm1Chum}}/\text{Tdrd6}^{\text{tm1Chum}}$ $\text{Tdrd7}^{\text{tm1.1Chum}}/\text{Tdrd7}^{\text{tm1.1Chum}}$ (129S4/SvJae * 129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Tdrd6	$\text{Tdrd6}^{\text{tm1Jess}}/\text{Tdrd6}^{\text{tm1Jess}}$ ((129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)または 129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6が関与する))

10

20

30

40

【表 2 - 3 3】

Tdrd7	<u>Tdrd7^{nmf166}/Tdrd7^{nmf166}</u> (C3H * C57BL/6Jが関与する)
Tdrd7	<u>Tdrd7^{tm1.1Chum}/Tdrd7^{tm1.1Chum}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6が関与する)
Tdrd9	<u>Tdrd9^{tm1.1Chum}/Tdrd9^{tm1.1Chum}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 * SJLが関与する)
Tekt2	<u>Tekt2^{Gt(OST12401)Lex}/Tekt2^{Gt(OST12401)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Tex11 2Mrt	<u>Tex11^{tm1Jw}/Y</u> <u>Tg(ACTB-cre)2Mrt/0</u> (129S4/SvJae * C57BL/6 * FVB/Nが関与する)
Tex12	<u>Tex12^{tm1Hoog}/Tex12^{tm1Hoog}</u> (129S2/SvPasが関与する)
Tex14	<u>Tex14^{tm1Zuk}/Tex14^{tm1Zuk}</u> (129S6/SvEvTac)
Tex14	<u>Tex14^{tm1Zuk}/Tex14^{tm1Zuk}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6Jが関与する)
Tex15	<u>Tex15^{tm1Jw}/Tex15^{tm1Jw}</u> (129S4/SvJae * C57BL/6が関与する)
Tex1011Anak	<u>Tex101^{tm1Osb}/Tex101^{tm1Osb}</u> (C57BL/6NCrが関与する)
Theg	<u>Theg^{Tg(PDE5A)1Ynk}/Theg^{Tg(PDE5A)1Ynk}</u> (C3Hが関与する)
Tial1	<u>Tial1^{tm1Mst}/Tial1^{tm1Mst}</u> (129S2/SvPas * C57BL/6が関与する)
Tim	<u>Tim^{T(4;17)3Lws}/Tim⁺</u> (C57BL/6J * DBA/2Jが関与する)
Tlr6	<u>Tlr6^{m4Btlr}/Tlr6^{m4Btlr}</u> (C57BL/6J-Tlr6 ^{m4Btlr})
Tmf1	<u>Tmf1^{tm1Unir}/Tmf1^{tm1Unir}</u> (129/Sv * ICRが関与する)
Tnp1	<u>Tnp1^{tm1Mlm}/Tnp1^{tm1Mlm}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Tnp2	<u>Tnp2^{tm1Wen}/Tnp2^{tm1Wen}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJが関与する)
Tpgs1	<u>Tpgs1^{Gt(ROSA22)Sor}/Tpgs1^{Gt(ROSA22)Sor}</u> (129S/SvEv * C57BL/6が関与する)
Tpst2	<u>Tpst2^{tm1Klm}/Tpst2^{tm1Klm}</u> (129S6/SvEvTac * 129S7/SvEvBrdが関与する)
Trp73	<u>Trp73^{tm1Mak}/Trp73^{tm1Mak}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6Jが関与する)
Tsc22d3	<u>Tsc22d3^{tm1.1Ric}/Y</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6が関与する)
Tshr	<u>Tshr^{hyt}/Tshr^{hyt}</u> (BALB/cByJ * RF/Jが関与する)

10

20

30

40

【表 2 - 3 4】

Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}/Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}</u> (B6.129S5-Tssk1/Tssk2 ^{tm1.1Agr})
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}/Tssk1/Tssk2^{tm1.1Agr}</u> (B6.129S5-Tssk1/Tssk2 ^{tm1.1Agr})
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1Joch}/Tssk1⁺</u> (キメラには 129X1/SvJ が関与する)
Tssk1/Tssk2	<u>Tssk1/Tssk2^{tm1Joch}/Tssk2⁺</u> (キメラには 129X1/SvJ が関与する)
Tssk6	<u>Tssk6^{tm1Grj}/Tssk6^{tm1Grj}</u> (129 * C57BL/6 が関与する)
Ttll1	<u>Ttll1^{Gt(OST372941)Lex}/Ttll1^{Gt(OST372941)Lex}</u> (129S5/SvEvBrd * C57BL/6 が関与する)
Tyr	<u>Tyr^{C-47H}/Tyr^{C-47H}</u> (101/H * C3H/HeH が関与する)
Tyrp1	<u>Tyrp1^{b-1FCHLc}/Tyrp1^{b-1FCHLc}</u> (101/RI * C3H/RI が関与する)
Ubb	<u>Ubb^{tm1Rrk}/Ubb^{tm1Rrk}</u> (129S1/Sv * 129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Ube2b	<u>Ube2b^{tm1Jhjh}/Ube2b^{tm1Jhjh}</u> ((129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する) または (129P2/OlaHsd * FVB/N が関与する))
Ube2b	<u>Ube2b^{tm1Jhjh}/Ube2b^{tm1Jhjh}</u> (129P2/OlaHsd * FVB/NJ が関与する)
Ubr2	<u>Ubr2^{tm1Ytkw}/Ubr2^{tm1Ytkw}</u> (129S1/Sv * C57BL/6 が関与する)
Unc5c	<u>Unc5c^{rcm}/Unc5c^{rcm}</u> (C57BL/6J-Unc5c ^{rcm})
Usp1	<u>Usp1^{tm1.1Ada}/Usp1^{tm1.1Ada}</u> (C57BL/6-Usp1 ^{tm1.1Ada})
Usp14	<u>Usp14^{ax-J}/Usp14^{ax-J}</u> (STOCK Mafb ^{kr} が関与する)
Utp14b	<u>Utp14b^{jsd}/Utp14b^{jsd}</u> (C3H/HeJ * C57BL/6J が関与する)
Vangl2	<u>Vangl2^{Lp}/Vangl2^{Lp}</u> (B6.A(Cg)-Vangl2 ^{Lp})
Vangl2	<u>Vangl2^{ska17}/Vangl2^{ska17}</u> (129S6/SvEvTac * C57BL/6J が関与する)
Vdac3	<u>Vdac3^{tm1Wjc}/Vdac3^{tm1Wjc}</u> (特定なし)
Vdr	<u>Vdr^{tm1Ska}/Vdr^{tm1Ska}</u> (C57BL/6 * CBA が関与する)
Vrk1	<u>Vrk1^{Gt(RRR178)Byg}/Vrk1^{Gt(RRR178)Byg}</u> (129P2/OlaHsd * C57BL/6 が関与する)
Vsx2	<u>Vsx2^{or-2J}/Vsx2^{or-2J}</u> (NOR2/LtDn-Vsx2 ^{or-2J} /J)

10

20

30

40

【表 2 - 3 5】

Wnt7a	<u>Wnt7a^{px-2J}/Wnt7a^{px-2J}</u> (B6;C3Fe-Wnt7a ^{px-2J} /GrsrJ)
Wnt7a	<u>Wnt7a^{px-J}/Wnt7a^{px-J}</u> (C57BL/6J-Wnt7a ^{px-J} /GrsrJ)
Wnt7a	<u>Wnt7a^{px}/Wnt7a^{px}</u> (STOCK Sox18 ^{Ra} が関与する)
Wnt7a	<u>Wnt7a^{tm1Amc}/Wnt7a^{tm1Amc}</u> (129S1/Svが関与する)
Wt1	<u>Wt1^{tm2Hst}/Wt1⁺</u> (キメラには 129P2/OlaHsd * C57BL/6JLac * CBA/CaLac が関与する)
Ybx2	<u>Ybx2^{tm1Nbh}/Ybx2^{tm1Nbh}</u> (129S7/SvEvBrdが関与する)
Ybx3	<u>Ybx3^{tm1Ley}/Ybx3^{tm1Ley}</u> (129X1/SvJ * C57BL/6 が関与する)
Zbtb16	<u>Zbtb16^{lu-Sfd}/Zbtb16^{lu-Sfd}</u> (C57BL/6 * Swissが関与する)
Zbtb16	<u>Zbtb16^{lu-Sfd}/Zbtb16^{lu-Sfd}</u> (C57BL/6が関与する)
Zbtb16	<u>Zbtb16^{lu}/Zbtb16^{lu}</u> (特定なし)
Zc3hc1	<u>Zc3hc1^{tm1.2Jduy}/Zc3hc1^{tm1.2Jduy}</u> (B6.129S6(Cg)-Zc3hc1 ^{tm1.2Jduy})
Zfp148	<u>Zfp148^{tm1Kli}/Zfp148⁺</u> (特定なし)
Zfp384	<u>Zfp384^{tm1Tnk}/Zfp384^{tm1Tnk}</u> (C57BL/6 * CBAが関与する)
Zglp1	<u>Zglp1^{tm1Eem}/Zglp1^{tm1Eem}</u> ((129X1/SvJ x 129S1/Sv)F1-Kitl ⁺)
Zpbp	<u>Zpbp^{tm1Zuk}/Zpbp^{tm1Zuk}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)
Zpbp2	<u>Zpbp^{tm1Zuk}/Zpbp^{tm1Zuk}</u> <u>Zpbp2^{tm1Zuk}/Zpbp2^{tm1Zuk}</u> (129S7/SvEvBrd * C57BL/6Jが関与する)

10

20

30

【0 1 2 8】

他の態様において、該妊孕性遺伝子は、精子形成遺伝子から選択され、その具体的な例としては、米国特許公開第 2 0 0 5 / 0 1 7 6 9 4 3 号明細書に記載されているものが挙げられ、当該文献の内容は、全体が、引用により本明細書に包含される。代表的な遺伝子としては、本明細書の配列番号 1 ~ 8 9 に示す核酸配列を有する転写物を含むものが挙げられる。これらの遺伝子の非限定的な例としては、A K A P 1 1 0、R b c c 7 2 8、T r i m 3 6、N o p p 1 4 0、A T R、H S p b、S p e r g e n - 1、アリアルスルファターゼ A、D r c t n n b l a、C D C 1 4 B、C R E S (cystatin-related epididymal spermatogenic) 蛋白質、妊娠誘発性増殖抑制因子 (pregnancy-induced growth inhibitor)、F A C L (fatty acid coenzyme A ligase、long chain)、F e m、F s c 1 (major 80,000 Mr fibrous sheath component)、G p d 1 (Glycerol phosphate dehydrogenase 1、mitochondrial)、L i m d 1 (Lim domains containing 1)、o a z - t、p c t p - 1、精巢特異的ホスホグリセリン酸キナーゼ、P l c d 4 (phospholipase C delta 4)、プロタミン 1、プロタミン 2、s c o t - t 1、s c o t - t 2、M c s (mitochondrial capsule selenoprotein)、S p e r i z i n、o p p o 1、S T 6 G a l N A c I I (Gal beta- 1、3 -GalNAc-specific GalNAc alpha-2,6-sialyltransferase)、

40

50

S u f u (suppressor of fused homolog)、t-アクチン1、t-アクチン2、t-c o m p l e x T c p - 1 0 a、テクチン-t、t e e k 1、T P - 2、t s e c - 1、t s s k 1、2 基質、セリン/スレオニンキナーゼ 2 2 B (精子形成に関連)、t s g a 2、G a p d - S、M C A (meichroacidin)、h a l a p - X、S s e c k s、g s g 1、h a s p i n、g s g 3、h i l s 1、s h i p p o 1 および T s a r g 7 (putative lysophosphatidic acid acyltransferase) (全て斜体) が挙げられる。

【 0 1 2 9 】

有利な態様において、該妊孕性遺伝子は、性染色体上に位置する遺伝子である。この種の具体的な例において、該妊孕性遺伝子は、X染色体に位置し(すなわち、X連鎖妊孕性遺伝子)、例えば G I L Z (斜体) (T S C 2 2 d 3) であるが、これに限定されない。

10

【 0 1 3 0 】

該妊孕性遺伝子は、任意の適当な技術を用いて破壊してよい。いくつかの態様において、破壊は、妊孕性遺伝子の一部が、ターゲティングカセットの隣接する2つの部分の間に有効に位置しているターゲティングコンストラクトを用いて行い、かかる2つのターゲティングカセットの一部は、ターゲティングカセットと標的部位の間の相同組み換えを可能にする程度に、細胞ゲノム中の標的部位の領域と相同である。例えば、標的部位は、該妊孕性遺伝子のエクソンの配列またはコード配列、または調節配列(例えばプロモーター)を含んでいてよく、特定の態様において、妊孕性遺伝子の少なくとも一部を破壊するか、または置きかえることにより、該妊孕性遺伝子を不活化し、非機能性にするために、破壊配列(例えばマーカー遺伝子)が、ターゲティングカセットの該隣接部分に隣接して位置している。この種の具体的な例において、該隣接部分の1つは、実質的に、該妊孕性遺伝子の5'非翻訳配列の一部と相同であり、もう一方は、実質的に、該内在性遺伝子の3'非翻訳配列の少なくとも一部と実質的に相同である。他の具体的な例において、ターゲティングカセットの隣接部分は、妊孕性に必要である、該妊孕性遺伝子にコードされるポリペプチドのドメインをコードする、介在コード配列と境界を接する妊孕性遺伝子の領域と実質的に相同である。これらの態様において、ターゲティングコンストラクトと標的部位間の部位特異的な相同組み換えが起こることにより、次いで、該妊孕性遺伝子の少なくとも一部の、マーカー遺伝子による置換および該妊孕性遺伝子の破壊が引き起こされる。

20

【 0 1 3 1 】

特定の態様において、妊孕性遺伝子は、該遺伝子内に位置するか、または該遺伝子に隣接して位置し、リコンビナーゼ認識部位に結合し、該認識部位間の部位特異的な組換えを触媒し、該遺伝子の破壊を引き起こすことにより、妊孕性遺伝子破壊分子として作用する部位特異的なリコンビナーゼ蛋白質により認識される、リコンビナーゼ認識部位(アクセプター配列としても知られる)とともに提供される。該リコンビナーゼは、該部位間の分子内または分子間の組換えを触媒し得る。例えば、分子内組換えの場合、2つの組換え部位が、該同一分子中に存在する同一の配向を有するとき、該部位間の部位特異的な組換えにより、該部位に隣接するDNA配列が切除され(切除反応)、一方、分子間組換えでは、異なる分子上の、2つの組換え認識部位間の部位特異的な組換えにより、共組換え(挿入反応)が生じる。これらの態様の具体的な例において、プロモーターに作動可能に連結している、部位特異的なリコンビナーゼのコード配列を含む導入遺伝子を、妊孕性遺伝子を条件的に破壊するのに用いる。部位特異的である、例示的なリコンビナーゼとしては、C r e、改変C r e、D r e、H p、F L P - 野生型(w t)、F L P - L、F L P e、F l p o または p h i C 3 1 が挙げられる。リコンビナーゼ認識部位の非限定的な例としては、l o x P、F R T、r a x および a t t P / B が挙げられる。組換えは、任意の当該分野で公知の方法、例えば、Doetschman et al. (1987, Nature 330:576-578)の方法; Thomas et al. (1986, Cell 44:419-428)の方法; C r e - l o x P 組換え系 (Sternberg and Hamilton, 1981, J. Mol. Biol. 150:467-486; Lakso et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:6232-6236); 出芽酵母 (Saccharomyces cerevisiae) の F L P リコンビナーゼ系 (O' Gorman et al., 1991, Science 251:1351-1355; Lyznik et al., 1996, Nucleic Acids Res. 24(19):3784-3789); C r e - l o x P テトラサイクリン調節スイッチ (Go

30

40

50

ssen and Bujard, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5547-51); およびリガンド調節組換え系 (Kellendonk et al., 1999, J. Mol. Biol. 285:175-82) により行ってよい。該リコンビナーゼは、例えば CreLoxP または FLP 系のように活性が高く、熱安定性が高いことが望ましい (Rodriguez et al., 2000, Nature Genetics 25:139-40)。特定の態様において、該妊孕性遺伝子の少なくとも一部 (適宜、その調節配列を含む) は、Cre リコンビナーゼに特異的に認識される loxP 標的部位か、または、FLP リコンビナーゼに特異的に認識される FRT 標的部位のいずれかと隣接する。loxP 標的部位配列の具体的な例は、

5' -ATAACTTCGTATAGCATACATTATACGAAG TTAT- 3' [配列番号 1] である。

FRT 標的部位配列の具体的な例は、

5' -GAAGTTCCTATTCCGAAGTTCCTATTCTCTAGTAAGTATAGGAAGTTC- 3' [配列番号 2] である。

【0132】

他の態様において、妊孕性遺伝子破壊分子は、RNA 干渉 (RNAi) または翻訳後遺伝子サイレンシング (PTGS) によって、該妊孕性遺伝子の発現を阻害する発現産物である。この種の具体的な例において、該発現産物は、妊孕性遺伝子のヌクレオチド配列に相当するターゲティング領域を含み、該妊孕性遺伝子の発現を減弱させるか、または他の方法で妨げる RNA 分子 (例えば siRNA、shRNA、miRNA、dsRNA 等) である。該妊孕性遺伝子の非限定的な例は、表 2 および本明細書中の他の箇所に記載する。

【0133】

具体例において、ターゲティング配列は、該妊孕性遺伝子のヌクレオチド配列と、少なくとも 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% の同一性を示す。他の具体例において、ターゲティング配列は、少なくともストリンジエンシーの低い条件下において、より適当には中程度にストリンジエントな条件下において、さらに適当には、ストリンジエンシーの高い条件下において、標的遺伝子のヌクレオチド配列とハイブリダイズする。本明細書において、ストリンジエンシーの低い条件は、42 でのハイブリダイズのための、少なくとも約 1% v/v ~ 少なくとも約 15% v/v ホルムアミドおよび少なくとも約 1 M ~ 少なくとも約 2 M の塩および、42 での洗浄のための少なくとも約 1 M ~ 少なくとも約 2 M の塩を含む。ストリンジエンシーの低い条件はまた、65 でのハイブリダイズのための、1% ウシ血清アルブミン (BSA)、1 mM EDTA、0.5 M NaHPO₄ (pH 7.2)、7% SDS および、室温での洗浄のための (i) 2x SSC、0.1% SDS; または (ii) 0.5% BSA、1 mM EDTA、40 mM NaHPO₄ (pH 7.2)、5% SDS を含んでいてよい。中程度にストリンジエントな条件は、42 でのハイブリダイズのための少なくとも約 16% v/v ~ 少なくとも約 30% v/v ホルムアミドおよび少なくとも約 0.5 M ~ 少なくとも約 0.9 M の塩、および、42 での洗浄のための少なくとも約 0.5 M ~ 少なくとも約 0.9 M の塩を含む。中程度にストリンジエントな条件はまた、65 でのハイブリダイズのための 1% ウシ血清アルブミン (BSA)、1 mM EDTA、0.5 M NaHPO₄ (pH 7.2)、7% SDS および、42 での洗浄のための (i) 2x SSC、0.1% SDS; または (ii) 0.5% BSA、1 mM EDTA、40 mM NaHPO₄ (pH 7.2)、5% SDS を含んでいてよい。高度にストリンジエントな条件は、42 でのハイブリダイズのための少なくとも約 31% v/v ~ 少なくとも約 50% v/v のホルムアミドおよび、少なくとも約 0.01 M ~ 少なくとも約 0.15 M の塩および、42 での洗浄のための、少なくとも約 0.01 M ~ 少なくとも約 0.15 M の塩を含む。高度にストリンジエントな条件はまた、65 でのハイブリダイズのための、1% BSA、1 mM EDTA、0.5 M NaHPO₄ (pH 7.2)、7% SDS および、65 を超えた温度での洗浄のための (i) 0.2x SSC、0.1% SDS; または (ii) 0.5% BSA、1 mM EDTA、40 mM NaHPO₄ (pH 7.2)、1% SDS を含んでいてよい。ターゲティング配列は、生理学的な条件下で、妊孕性遺伝子のヌクレオチド配列にハイブリダイズするのが望ま

10

20

30

40

50

しい。

【 0 1 3 4 】

他のストリンジェントな条件は、当該分野でよく知られている。ハイブリダイズの特異性を最適化するために、種々の要因を変更してよいことは、当業者には認識できることである。最後の洗浄のストリンジェンシーの最適化は、高度のハイブリダイズを確実にするのに有用であり得る。詳細な例については、Ausubel et al., 上記、第 2.10.1 頁 ~ 第 2.10.16 頁および Sambrook et al., 上記、セクション 1.101 ~ 1.104 を参照のこと。

【 0 1 3 5 】

ターゲティング領域は、該妊孕性遺伝子のセンス鎖またはアンチセンス鎖と配列同一性を示すのが適当である。特定の態様において、該 RNA 分子は、ポリアデニル化されておらず、これにより、例えば Waterhouse et al. 米国特許第 6,423,885 号明細書に記載されているように、該妊孕性遺伝子の効率的な発現低下を引き起こし得る。

【 0 1 3 6 】

ターゲティング領域の長さは、典型的には、約 10 ヌクレオチド(nt) ~ 該妊孕性遺伝子の長さ(ヌクレオチド数)に等しい長さの間で変動し得る。一般的に、該ターゲティング領域の長さは、少なくとも 10、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25 nt、通常少なくとも約 50 nt、より一般的には少なくとも約 100 nt、特に、少なくとも約 150 nt、さらには、少なくとも約 200 nt、よりさらには、少なくとも約 500 nt である。妊孕性遺伝子の全長以外には、ターゲティング領域の全長には上限がないと考えられる。しかしながら、現実的な理由(例えば、ターゲティングコンストラクトの安定性)により、該ターゲティング領域の長さは、5000 nt を超えないこと、具体的には 2500 nt を超えないことおよび、約 1000 nt に限定されることが予期される。

【 0 1 3 7 】

該 RNA 分子は、それぞれが、該標的遺伝子のヌクレオチド配列と配列同一性を有する、1 つ以上の他のターゲティング領域(例えば約 1 ~ 約 10 または約 1 ~ 約 4 または約 1 ~ 約 2 個の他のターゲティング領域)をさらに含んでいてよい。一般的に、該ターゲティング領域は、互いに、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 % の配列同一性で同一であるか、または共通である。

【 0 1 3 8 】

RNA 分子は、ターゲティング領域の逆向きの相補体をさらに含んでいてよい。これらの態様において、該 RNA 分子は、典型的には、ターゲティング配列と逆向きの相補体の間隔をあけるためのスペーサー配列をさらに含んでいてよい。該スペーサー配列は、少なくとも約 100 ~ 500 ヌクレオチドの長さ、あるいは、少なくとも約 50 ~ 100 ヌクレオチドの長さ、あるいは少なくとも約 10 ~ 50 ヌクレオチドの長さのヌクレオチド配列を含んでいてよい。典型的には、該スペーサー配列は、非コード配列であり、いくつかの場合において、イントロンである。該スペーサー配列が非イントロンスペーサー配列である態様において、該核酸配列の転写により、ターゲティング領域の、逆向きの相補体とのハイブリダイズにより、ステムが形成され、これらの「逆方向反復」をつなぐ非イントロンスペーサー配列によりループが形成される、ヘアピンまたはステムループ構造を形成する RNA 分子が産生される。あるいは、スペーサー配列がイントロンスペーサー配列である態様において、該イントロン/エクソン スプライスジャンクションの配列が、イントロン配列の両端に存在することにより、除去されなければループ構造を形成する部分の除去が促進され、生じた RNA は、一端もしくは両端の 3' 配列が突出してよい二重鎖 DNA(dsRNA)を形成する。本明細書中において、該 dsRNA 転写物を、「完全ヘアピン」と称する。該 RNA 分子は、二重鎖 RNA 配列の領域に隣接して生じる一本鎖 RNA の「バルジ」を含む、単一のヘアピンまたは多重ヘアピン(multiple hairpins)

を含んでいてよい。

【0139】

あるいは、上述の dsRNA 分子は、さらなる RNA 分子を産生することができる、ターゲティング領域の逆向きの相補体を含む、さらなるポリヌクレオチドを用いて都合良く得ることができる。この態様において、ターゲティング領域の逆向きの相補体は、第二のポリヌクレオチドから転写された該 RNA 分子のターゲティング領域にハイブリダイズする。

【0140】

他の例において、上述の dsRNA 分子を、二本鎖を含む第二のポリヌクレオチドを用いて製造し、ここで、該二本鎖のうちの一本は、標的遺伝子のヌクレオチド配列と共通する配列同一性を示し、もう一本は、該ヌクレオチド配列の相補体と共通する配列同一性を示す。この態様において、該二本鎖は、2つのプロモーターに隣接しており、そのうちの1つは該二本鎖のうちの一本の転写を調節しており、もう1つは、相補鎖の転写を調節する。両方の鎖の転写により、もう一方の領域に相補的である領域をそれぞれ含む、一对の RNA 分子が産生され、それにより、該妊孕性遺伝子の発現を阻害する dsRNA 分子が産生される。

【0141】

他の例において、妊孕性遺伝子の PTGS を、Glassman et al. により、米国特許出願公開第 2003/0036197 号明細書に記載されている戦略を用いて行う。この戦略において、適当な核酸配列およびその逆向きの相補体を、かかる適当な核酸配列およびその逆向きの相補体に近接している、任意の相同の、内在性の標的 RNA (すなわち、妊孕性遺伝子の転写物を含む) の発現を変化させるのに使用し得る。適当な核酸配列およびその逆向きの相補体は、ホスト中の任意の内在性 RNA と無関係であっても、または、該ホストのゲノム中の任意の核酸によりコードされていてもよいが、ただし、該核酸配列は、任意の標的 mRNA または標的 RNA に実質的に類似している任意の配列をコードすることはない。したがって、本発明のいくつかの態様において、該 RNA 分子はさらに、該ホスト細胞のいずれの内在性 RNA とも無関係であり、ターゲティング領域に近接している、2つの相補的な RNA 領域を含む。他の態様において、該 RNA 分子はさらに、ホストのゲノム中の任意の核酸配列によりコードされる2つの相補的な RNA 領域を含むが、ただし、該配列は、妊孕性遺伝子のヌクレオチド配列とは配列同一性を示さず、ここで、該領域は、ターゲティング領域に近接している。上述の態様において、相補的な RNA 領域の1つは、ターゲティング領域の上流に位置していてよく、もう一方は、ターゲティング領域の下流に位置していてよい。あるいは、該相補的領域は、両方が、ターゲティング領域の上流または下流に位置しているか、または、該ターゲティング領域の中に位置していてよい。

【0142】

いくつかの態様において、該 RNA 分子は、妊孕性遺伝子によりコードされる RNA の、翻訳に重要である特定の領域を標的とするアンチセンス分子である。アンチセンス分子を、事前に決定した遺伝子の発現レベルを低下させるために用いることは、当該分野で公知のことである。アンチセンス分子は、妊孕性遺伝子から転写される全長の RNA またはその断片もしくは一部に相当するように設計してよい。この遺伝子サイレンシング効果は、遺伝子導入により該妊孕性遺伝子コード配列のセンス RNA およびアンチセンス RNA の両方を、例えば上述するように、多量の dsRNA が産生されるように、過剰産生することにより増大させ得る (例えば、Waterhouse et al. (1998) Proc Natl Acad Sci USA 95:13959-13964 参照)。

【0143】

さらに他の態様において、該妊孕性遺伝子破壊分子は、該妊孕性遺伝子のポリペプチド産物と免疫相互作用を示す抗体である。この種の非限定的な例において、該ポリペプチド産物は、表2および本明細書の他の箇所に記載する妊孕性遺伝子にコードされるものである。本発明の実施のために用いる例示的な抗体としては、モノクローナル抗体、Fv、F

10

20

30

40

50

a b、F a b' および F (a b')₂ 免疫グロブリン断片ならびに合成抗体、例えば、単ドメイン抗体 (D A B)、合成安定化 F v 断片、例えば一本鎖 F v 断片 (s c F v)、ジスルフィド安定化 F v 断片 (d s F v)、単一可変領域ドメイン (d A b) 低分子抗体 (mini body)、組み合わせ抗体 (combibody) および多価の抗体、例えば、二重特異性抗体および多 scFv または操作したヒトの等価物が挙げられるが、これらに限定されない。種々の抗体ベースのコンストラクトおよび断片の作製および使用のための技術は、当該分野でよく知られている。抗体の作製および特性決定の方法もまた、当該分野でよく知られている。具体的な例において、抗体は、妊孕性遺伝子のポリペプチド産物の少なくとも一部に相当する、単離、精製したまたは組換えペプチドまたは蛋白質を用いて、通常の免疫化により (例えばポリクローナル血清およびハイブリドーマ)、または、通常、ファージディスプレイまたはリボソームディスプレイライブラリーからの選択後 (例えば、Cambridge Antibody Technology, BioInvent, Affitech and Biosite より入手可能) に大腸菌 (*Escherichia coli*) で発現させる、妊孕性遺伝子のポリペプチド産物の少なくとも一部に相当する組換え断片として作製し得る。該抗体の抗原結合領域 (例えば、相補性決定領域) についての知識は、例えば、上述の合成抗体の作製に有用であり得る。

【0144】

3.2 破壊された妊孕性遺伝子を有する非ヒト胚を作製する系

本発明によれば、破壊された妊孕性遺伝子を有する非ヒト宿主胚を作製するための系を用いる。例えば、破壊された妊孕性遺伝子を含む非ヒト胚は： 1) 破壊可能な妊孕性遺伝子を保有する第一の動物系統 (「条件的不妊系統」) を； 2) 破壊可能な妊孕性遺伝子を破壊する妊孕性遺伝子破壊分子をコードする破壊ヌクレオチド配列を含む、不妊活性化導入遺伝子を保有する第二の動物系統 (「不妊活性化系統」) と交雑させ、それにより、破壊された妊孕性遺伝子を有する生殖細胞を含む、遺伝子導入非ヒト宿主胚を作製することにより、作製し得る。いくつかの態様において、第一の動物系統の雌のメンバーを、第二の動物系統の雄のメンバーと交雑させる。本明細書において、第一および第二の動物系統のそれぞれは、非ヒト動物のつがいの繁殖パートナーである。

【0145】

いくつかの態様において、条件的不妊系統の妊孕性遺伝子は、プロモーターおよび、リコンビナーゼの存在下において、該妊孕性遺伝子の破壊を可能にするリコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結している、導入遺伝子の形態 (「条件的不妊導入遺伝子」) である。これらの態様において、該不妊活性化導入遺伝子は、プロモーターに作動可能に連結したリコンビナーゼのコード配列を含み、該リコンビナーゼ認識部位は、通常、妊孕性遺伝子の中またはこれに隣接して位置し、妊孕性遺伝子の破壊を媒介する。この種の非限定的な例において、該不妊活性化系統の不妊活性化導入遺伝子によりコードされるリコンビナーゼは、C r e であり、条件的不妊系統の条件的不妊導入遺伝子に含まれるリコンビナーゼ認識部位は l o x P 配列である。具体的な例において、条件的不妊導入遺伝子についてホモ接合型である、条件的不妊系統の雌を、不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である不妊活性化系統の雄と交雑させることにより、妊孕性遺伝子の異種性の破壊を有する、少なくともいくつかの生殖細胞を有する、非ヒト動物胚が得られる。有利な例において、条件的不妊系統の妊孕性遺伝子は、X 染色体上に位置し (すなわち、X 連鎖妊孕性遺伝子)、条件的不妊導入遺伝子についてホモ接合型である条件的不妊系統の雌を、不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である不妊活性化系統の雄と交雑させることにより、妊孕性遺伝子のホモ接合型の破壊を有する、少なくともいくつかの生殖細胞を有する、雄の胚を含む、非ヒト動物胚が得られる。

【0146】

他の態様において、破壊された妊孕性遺伝子を含む非ヒト宿主胚は： (1) (a) 第一の破壊可能な妊孕性遺伝子を含む、第一の条件的不妊導入遺伝子および (b) 第二の破壊可能な妊孕性遺伝子を破壊する遺伝子を含む、第一の不妊活性化導入遺伝子を保有する、第一の動物系統 (「第一の条件的不妊活性化系統」) を； (2) (a) 第二の破壊可能な妊孕性遺伝子を含む、第二の条件的不妊導入遺伝子および (b) 第一の破壊可能な妊孕性遺伝子を

破壊する遺伝子を含む、第二の不妊活性化導入遺伝子を保有する、第二の動物系統（「第二の条件的不妊活性化系統」）を交雑させることにより作製し、ここで、かかる第一の不妊活性化導入遺伝子は、第二の破壊可能な妊孕性遺伝子を破壊し、第二の不妊活性化導入遺伝子は、第一の破壊可能な妊孕性遺伝子を特異的に破壊することにより、破壊された妊孕性遺伝子を有する生殖細胞を含む、遺伝子導入非ヒト胚が作製される。不妊活性化導入遺伝子の存在下で、第一および第二の破壊可能な妊孕性遺伝子の破壊を媒介する、第一および第二の条件的不妊導入遺伝子のエレメントを除けば、該条件的不妊導入遺伝子の妊孕性遺伝子は、同じまたは相当する遺伝子であるのが適当である。これらの態様において、第一の条件的不妊導入遺伝子および第一の不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である、第一の条件的不妊活性化系統の繁殖パートナーを、第二の条件的不妊導入遺伝子および第二の不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である、第二の条件的不妊活性化系統の繁殖パートナーと交雑させることにより、妊孕性遺伝子のホモ接合型の破壊を有する、少なくともいくつかの生殖細胞を有する、非ヒト動物胚が得られる。いくつかの態様において、第一の動物系統の雌と、第二の動物系統の雄を交雑させる。他の態様において、第一の動物系統の雄と、第二の動物系統の雌を交雑させる。

10

【0147】

いくつかの態様において、第一の条件的不妊導入遺伝子は、プロモーターおよび、第一のリコンビナーゼの存在下において第一の破壊可能な妊孕性遺伝子の破壊を媒介する、第一のリコンビナーゼ認識部位に作動可能に結合した、第一の破壊可能な妊孕性遺伝子を含み、第一の不妊活性化導入遺伝子は、プロモーターに作動可能に連結した第二のリコンビナーゼのコード配列を含み、ここで、第二のリコンビナーゼは、第二のリコンビナーゼ認識部位を特異的に認識する。第二の条件的不妊導入遺伝子は、適当には、プロモーターおよび、第二のリコンビナーゼの存在下において、第二の破壊可能な妊孕性遺伝子の破壊を媒介する、第二のリコンビナーゼ認識部位に作動可能に結合した、第二の破壊可能な妊孕性遺伝子を含み、第二の不妊活性化導入遺伝子は、プロモーターに作動可能に連結した第一のリコンビナーゼのコード配列を含み、ここで、第一のリコンビナーゼは、第一のリコンビナーゼ認識部位を特異的に認識する。この種の具体的な例において、第一の不妊活性化導入遺伝子がコードする第二のリコンビナーゼはF L Pであり、第一の条件的不妊導入遺伝子に含まれるリコンビナーゼ認識部位はl o x P配列であり、第二の不妊活性化導入遺伝子がコードする第一のリコンビナーゼはC r eであり、第二の条件的不妊導入遺伝子に含まれるリコンビナーゼ認識部位はF r t配列である。他の具体的な例において、第一の不妊活性化導入遺伝子がコードする、第二のリコンビナーゼはC r eであり、第一の条件的不妊導入遺伝子に含まれるリコンビナーゼ認識部位はF r t配列であり、第二の不妊活性化導入遺伝子によりコードされる第一のリコンビナーゼはF L Pであり、第二の条件的不妊導入遺伝子に含まれるリコンビナーゼ認識部位は、l o x P配列である。

20

30

【0148】

いくつかの態様において、第一の不妊活性化導入遺伝子にコードされる第二のリコンビナーゼはF L Pであり、第一の条件的不妊導入遺伝子に含まれる標的部位はl o x P配列であり、第二の不妊活性化導入遺伝子にコードされる第一のリコンビナーゼはC r eであり、第二の条件的不妊導入遺伝子に含まれる標的部位は、F r t配列である。これらの態様において、第一の条件的不妊導入遺伝子および第一の不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である、第一の不妊活性化系統の雌を、第二の条件的不妊導入遺伝子および第二の不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である、第二の条件的不妊活性化系統の雄と交雑させることにより、ホモ接合型の妊孕性遺伝子の破壊を有する、少なくともいくつかの生殖細胞を有する非ヒト動物胚が得られる。

40

【0149】

さらに他の態様において、破壊された妊孕性遺伝子を含む非ヒト胚は： 1)破壊可能な妊孕性遺伝子を保有する第一の動物系統（「条件的不妊系統」）を； 2)破壊可能な妊孕性遺伝子を破壊する、妊孕性遺伝子破壊分子をコードする破壊ヌクレオチド配列を含む、不妊活性化導入遺伝子を保有する第二の動物系統（「不妊活性化系統」）と交雑させることに

50

より作製し得、ここで、該妊孕性遺伝子破壊因子は、阻害性核酸（例えば、抑制RNA、例えばセンスまたはアンチセンスRNA、RNA干渉を媒介する分子、例えばsiRNA、shRNA、miRNA等）、阻害性ポリペプチド（例えば、抗体、ポリペプチド結合パートナー、ドミナントネガティブポリペプチド、酵素等）または、妊孕性遺伝子の活性を阻害するか、または該妊孕性遺伝子の発現産物のレベルまたは機能活性を阻害する、他の任意の分子から選択される。これらの態様において、該不妊活性化導入遺伝子は、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に連結した、発現調節エレメントを含むのが適当であり、ここで、該エレメントは条件的に破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害し、該条件的不妊系統は、発現調節エレメントの活性を阻害することにより、破壊ヌクレオチド配列を発現させる、活性化導入遺伝子を保有する。

10

【0150】

したがって、条件的不妊系統の繁殖パートナーを、不妊活性化系統の繁殖パートナーと交雑させたとき、該活性化導入遺伝子が発現し、発現調節エレメントの阻害および破壊ヌクレオチド配列の発現の脱阻害が引き起こされ、妊孕性遺伝子破壊分子が産生されることにより、妊孕性遺伝子の破壊が引き起こされる、胚が形成する。これらの態様において、活性化導入遺伝子についてホモ接合型である、条件的不妊系統の繁殖パートナーを、不妊活性化導入遺伝子についてホモ接合型である、不妊活性化系統の繁殖パートナーを交雑させることにより、妊孕性遺伝子の破壊をホモ接合型で有する生殖細胞を少なくともいくつか有する、非ヒト動物胚が得られる。

【0151】

20

いくつかの態様において、該発現調節エレメントは、第一の条件下で破壊ヌクレオチド配列の転写を阻害し、第二の条件下における発現調節エレメントの破壊により、破壊ヌクレオチド配列の転写が可能になるか、または増大し得る。いくつかの態様において、発現調節エレメントは、破壊ヌクレオチド配列の発現を阻害し、リコンビナーゼ認識部位に作動可能に連結した、阻害ヌクレオチド配列（例えば転写終結配列）を含み、ここで、該リコンビナーゼ認識部位は、リコンビナーゼの存在下において、該阻害ヌクレオチド配列の破壊を媒介する。この種の具体的な例において、第二の繁殖パートナーは、プロモーターに作動可能に結合した、リコンビナーゼのコード配列を含む、活性化導入遺伝子を含む。第二の繁殖パートナーの妊孕性遺伝子は、野生型の遺伝子であるのが適当である。いくつかの態様において、第一の繁殖パートナーは雄であり、第二の繁殖パートナーは雌である。

30

【0152】

この種の具体的な例において、誘導性の転写調節系に破壊ヌクレオチド配列を作動可能に連結することにより、該破壊ヌクレオチド配列を条件的に発現させる。該活性化導入遺伝子の発現産物の存在下において、該活性化導入遺伝子から産生されたトランス活性化因子が、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に結合した調節エレメント中に操作して入れた配列と特異的に相互作用し、該ヌクレオチド配列の転写を誘導する。したがって、これらの態様において、該活性化導入遺伝子は、典型的に、転写誘導因子をコードする核酸配列を含み、発現調節エレメントは、破壊ヌクレオチド配列のプロモーターの作動可能に結合した、転写誘導因子の結合部位を含み、それにより、該転写誘導因子の産生が、破壊ヌクレオチド配列の発現および妊孕性遺伝子破壊分子のレベルまたは機能活性の増加または上昇を引き起こす。この種類の代表的な例において、該転写誘導因子は、(a)少なくとも1つの転写活性化ドメインおよび(b)少なくとも1つの、破壊ヌクレオチド配列に作動可能に結合しており、該破壊ヌクレオチド配列の転写を活性化するために、DNA結合ドメインが相互作用するプロモーターに結合するかまたは他の方法で相互作用するDNA結合ドメインを含む。作動時には、活性化導入遺伝子の転写により、次に、そのDNA結合ドメインを介して破壊ヌクレオチド配列のプロモーターと相互作用し、その転写活性化ドメインを介して転写機構と相互作用し、破壊ヌクレオチド配列の転写を活性化する転写誘導因子の産生が引き起こされ、これにより、妊孕性遺伝子破壊分子のレベルまたは機能活性の増大または上昇が引き起こされる。

40

【0153】

50

転写活性化ドメインの非限定的な例としては、H S V 1 - V P 1 6 の酸トランス活性化ドメイン (T A D) (例えば、アミノ酸第 4 0 6 番 ~ 第 4 8 8 番、Triezenberg et al., 1988, Genes & Development 2:718-729; Triezenberg, 1995, Current Opinions in Genetics and Development 5:190-196; またはアミノ酸第 4 1 3 番 ~ 第 4 9 0 番、Regier et al., 1993, Proc Natl Acad Sci U S A. 90(3):883-887; またはアミノ酸第 4 1 1 番 ~ 第 4 8 7 番; またはアミノ酸第 4 5 3 番 ~ 第 4 9 9 番; またはアミノ酸第 4 1 3 番 ~ 第 4 5 4 番; またはアミノ酸第 4 1 0 番 ~ 第 4 5 2 番、Walker et al., 1993, Mol Cell Biol. 13(9):5233-5244; アミノ酸第 4 1 1 番 ~ 第 4 5 5 番、Nettelbeck et al., 1998, Gene Ther. 5(12):1656-1664)、Oct- 2 の活性化ドメイン (例えばアミノ酸第 4 3 8 番 ~ 第 4 7 9 番、Tanaka et al., 1994, Mol Cell Biol. 14(9):6046-6055; またはアミノ酸第 3 番 ~ 第 1 5 4 番、Das et al., 1995, Nature. 374(6523):657-660)、S P 1 の活性化ドメイン (例えば、アミノ酸第 3 4 0 番 ~ 第 4 8 5 番、Courey and Tijan, 1988, Cell. 55(5):887-898)、N F Y の活性化ドメイン (例えばアミノ酸第 1 番 ~ 第 2 3 3 番、Li et al., 1992, J Biol Chem. 267(13):8984-8990; van Hujisduijnen et al., 1990, EMBO J. 9(10):3119-3127; Sinha et al., 1995, Proc Natl Acad Sci U S A. 92(5):1624-1628; Cous try et al. 1995, J Biol Chem. 270(1):468475)、I T F 2 の活性化ドメイン (例えば、アミノ酸第 2 番 ~ 第 4 5 2 番、Seipel et al., 1992, EMBO J. 11(13):4961-4968)、c - M y c の活性化ドメイン (例えば、アミノ酸第 1 番 ~ 第 2 6 2 番、Eilers et al. 1991, EMBO J. 10(1):133-141)、C T F の活性化ドメイン (例えばアミノ酸第 3 9 9 番 ~ 第 4 9 9 番、Mermod et al., 1989, Cell 58(4):741-753; Das and Herr, 1993, J Biol Chem 268(33):25026-25032) または P 6 5 の活性化ドメイン (例えば、アミノ酸第 2 8 6 番 ~ 第 5 5 0 番) が挙げられる。いくつかの態様において、D N A 結合ドメインは、G a l 4 蛋白質の D N A 結合ドメイン (例えば、アミノ酸第 1 番 ~ 第 1 4 7 番、Chasman and Kornberg, 1990, Mol Cell Biol. 10(6):2916-2923)、L e x A 蛋白質の D N A 結合ドメイン (例えば、アミノ酸第 1 番 ~ 第 8 1 番、Kim et al., 1992, Science 10;255(5041):203-206; またはアミノ酸第 2 番 ~ 第 2 0 2 番; または L e x 蛋白質全体、例えばアミノ酸第 1 番 ~ 第 2 0 2 番、Brent and Ptashne, 1985, Cell 43(3 Pt 2):729-736)、l a c リプレッサー (L a c I) 蛋白質の D N A 結合ドメイン (例えば、Brown et al., 1987, Cell 49(5):603-612; Fuerst et al., 1989, Proc Natl Acad Sci U S A. 86(8):25492553)、テトラサイクリンリプレッサー (T e t R) 蛋白質の D N A 結合ドメイン (例えば 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) または Z F H D 1 蛋白質の D N A 結合ドメイン (例えば、Pomerantz et al., 1995, Science 267(5194):93-96) から選択される。一般的に、D N A 結合ドメインの 3 ' 末端に核移行シグナル (N L S) を付加するのは有利なことである。

【 0 1 5 4 】

破壊ヌクレオチド配列に作動可能に結合したプロモーターは、転写誘導因子が相互作用する、シス作用性の配列を含むのが適当である。該シス作用性配列は、転写誘導因子および、特に、その D N A 結合ドメインの結合配列を含む。したがって、該結合配列は、発現系に用いる転写因子の D N A 結合ドメインの選択に依存し、(A) G a l 4 蛋白質の結合配列、例えば非限定的には：例えば Chasman and Kornberg (1990、上記) に記載されているヌクレオチド配列：5 ' -CGGACAACTGTTGACCG- 3 ' [配列番号 3]; またはヌクレオチド配列：5 ' -CGGAGGACTGTCTCCG- 3 ' [配列番号 4]; または、例えば Giniger et al. (1988, Proc Natl Acad Sci U S A. 85(2):382-386) に記載されているヌクレオチド配列：5 ' -CGGAGTACTGTCCTCCG- 3 ' [配列番号 5]; (B) G a l 4 蛋白質の結合配列、例えば非限定的には：ヌクレオチド配列：5 ' -TACTGTATGTACATACAGTA- 3 ' [配列番号 6]; または例えば、Brent and Ptashne (1984, Nature 312(5995):612-615) に記載されている L e x A オペレーター; (C) l a c オペレーター、例えば非限定的には、例えば Fuerst et al. (1989、上記) および Simons et al. (1984, Proc Natl Acad Sci U S A. 81(6):1624-1628) に記載されている、L a c I リプレッサー蛋白質が結合するヌクレオチド配列：5 ' -GA ATTGTGAGGCTCACAATTC- 3 ' [配列番号 7]; (D) テトラサイクリンオペレーター (t e t

O)、例えばテトラサイクリンリプレッサー(TetR)蛋白質が結合するヌクレオチド配列: 5'-TCGAGTTTACCACTCCCTATCAGTGATAGAGAAAAGTGAAAG-3' [配列番号8]; (E) ZFH D-1蛋白質の結合配列、例えば非限定的には: 例えばPomeranz et al. (1995、上記)に記載されたヌクレオチド配列: 5'-TAATGATGGGCG-3' [配列番号9]; (F) c-Myc蛋白質の結合配列、例えば、非限定的には: 5'-GGAAGCAGACCAGCTGGTCTGCTTCC-3' [配列番号10]を含むが、これらに限定されない。

【0155】

他の態様において、破壊ヌクレオチド配列の条件的な発現は、該配列の発現をオンにするのに用いられるリコンビナーゼ系により調節される。この種の非限定的な例において、該リコンビナーゼ系は、プロモーターと破壊ヌクレオチド配列の間に挿入された介在配列を含み、該配列は、該プロモーターから該破壊ヌクレオチド配列が転写されるのを抑制するか、または他の方法で妨げる。該介在配列は、下流の配列の転写を阻害するかまたは他の方法で抑制する、転写終結因子を含むのが適当である。該リコンビナーゼの存在下において介在配列を破壊し、それにより、破壊ヌクレオチド配列を該プロモーターと作動可能に連結させ、該配列の転写を可能にするために、介在配列は、該活性化導入遺伝子がコードする、部位特異的なリコンビナーゼが特異的に認識するリコンビナーゼ認識部位を含むのが望ましい。あるいは、該リコンビナーゼ系は、破壊ヌクレオチド配列の上流部分と下流部分および、切除可能な介在配列を含む、分割された、または分けられた導入遺伝子を含み、ここで、該介在配列は、上流部分と下流部分の間に挿入されている。該上流部分は、プロモーターに作動可能に結合しているが、介在配列が、下流部分の転写を阻害または他の方法で抑制し、それにより、機能性の妊孕性遺伝子破壊分子の発現が妨げられる。破壊ヌクレオチド配列の発現による部位特異的なリコンビナーゼの産生により、切除可能な介在配列が切除され、それにより、機能性の妊孕性遺伝子破壊分子の産生を可能にする全長の破壊ヌクレオチド配列が得られる。

【0156】

したがって、上述のいくつかの有利な態様において、交雑により、その生殖系列に妊孕性遺伝子の破壊を含む非ヒト胚、適当には妊孕性遺伝子の両方のアレルが破壊されている非ヒト胚、および妊孕性(例えば精子形成または精子機能)が阻害されている非ヒト胚が作製される。

【0157】

本発明はまた、本明細書中で広く記載した、非ヒト動物のつがいにも及ぶ。

【0158】

3.3 ドナー多能性細胞

ドナー多能性細胞は、一般的に、生殖細胞に分化することができ、例えばES細胞、エピ幹細胞、EG細胞およびiPS細胞が挙げられる。特定の態様において、該多能性細胞はES細胞である。ドナー多能性細胞を遺伝子改変してよく、この種の具体的な例において、ドナー多能性細胞は導入遺伝子を含む。該導入遺伝子を、多能性細胞のゲノムへの導入遺伝子の導入を促進するベクターを用いて、(例えばランダム組み込みまたは相同組み換えによって)多能性細胞に導入してよく、その具体的な方法は、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)およびTransgenic Animals, Generation and Use (1997, edited by L. M. Houdebine, Hardwood Academic Publishers)に記載されている。

【0159】

ドナー多能性細胞は、雄の多能性細胞(XY)または雌の多能性細胞(XX)、またはXO多能性細胞であってよい。特定の態様において、該ドナー多能性細胞は、雄の多能性細胞である。雄(XY)、雌(XX)およびXOの多能性細胞を、任意の適当な技術を用いて、着床前のホスト胚に導入してよい。

【0160】

1種の非ヒト哺乳類由来のドナー多能性細胞を、異なる種類の非ヒト哺乳類のホストに

導入して、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞を作製してよい。この種の具体的な例において、該ドナー多能性細胞は、非ヒト霊長類、ウマ科、例えばウマ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ類、例えばウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、動物園の動物ならびに絶滅危惧哺乳類または外来性の哺乳類由来である。いくつかの態様において、該ドナー多能性細胞はiPS細胞である。

【0161】

3.4 非ヒトホスト胚

多能性細胞の導入に使用し得る非ヒトホスト胚としては、任意の非ヒト動物種の胚、例えば非ヒト霊長類および齧歯類のような非ヒト哺乳類が挙げられる。本発明のいくつかの態様によれば、該非ヒトホスト胚は、齧歯類の胚であり、特にマウスまたはラットの胚である。一般的に、非ヒトホスト胚は、多能性細胞と同じ種由来である。しかし、いくつかの態様において、該非ヒトホスト胚は、該多能性細胞と異なる動物種（例えば異なる哺乳類種）由来である。多能性細胞を導入する非ヒトホスト胚は、一般的に、着床前の非ヒトホスト胚、例えば2細胞期、4細胞期、8細胞期、16細胞期、32細胞期、64細胞期の胚、桑実胚または胚盤胞である。いくつかの態様において、着床前の非ヒトホスト胚は、前桑実胚期（pre-morula stage）、桑実胚期、非小型化（uncompacted）桑実胚期、小型化桑実胚期および胚盤胞期の胚から選択される。いくつかの態様において、着床前の非ヒトホスト胚は、マウス胚について、発生年齢ステージ（embryological age stage）E1、E1.5、E2、E2.5、E3およびE3.5から選択される。適当には、該着床前非ホスト胚は、Theiler (1989) The House Mouse: Atlas of Mouse Development, (Theiler 10
による) Springer-Verlag, NYに記載されているタイラー（Theiler）ステージを基準に、タイラーステージ2（TS2）、TS3、TS4、TS5およびTS6から選択される発生段階のホスト胚から選択される。特定の態様において、着床前の非ヒトホスト胚は、タイラーステージ、TS3、TS4およびTS5から選択される。他の特定の態様において、着床前の非ヒトホスト胚は、桑実胚である。さらに他の特定の態様において、着床前の非ヒトホスト胚は、胚盤胞である。 20

【0162】

一般的に、1つ以上（例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16）のドナー多能性細胞を、適当には、2細胞期、4細胞期、8細胞期、16細胞期、32細胞期、64細胞期の胚、桑実胚または胚盤胞である、着床前の非ヒト（例えばマウスまたはラット）ホスト胚に導入する。いくつかの態様において、該ホスト着床前胚は、胚盤胞であり、導入するドナー多能性細胞の数は、6～12細胞である。この種の具体的な例において、該ホスト胚は、8細胞期の胚であり、ドナー多能性細胞の数は、2～10細胞である。 30

【0163】

3.5 多能性細胞のホスト胚への導入

ドナー多能性細胞の、着床前の非ヒトホスト胚への導入には、任意の適当な方法を用いてよい。例えば、単一のドナー多能性細胞の群を、精密に引き抜いたガラス針（内径20～25 μm）を用いて選択し、初期胚については、該胚の透明帯を通して導入し、胚盤胞については、マイクロマニピュレーターを備えた倒立顕微鏡を用いて、胚盤胞の空洞（割腔）に導入する。胚盤胞、または8細胞期の胚あたり約9～10個の幹細胞（ESまたはiPSまたはエピ幹細胞）、4細胞期胚については胚1個あたり6～9個の幹細胞および、2細胞期胚については胚1個あたり約6個の幹細胞を導入する。幹細胞注入は、レーザーまたは、圧力パルス穿孔による透明帯の開口により補助してよい（Kraus et al., 2010, Gene 40
sis 48:394-499参照）。あるいは、幹細胞を、桑実胚と凝集させるか、または、透明帯を持つか、または持たない初期胚（例えば2細胞、4細胞、8細胞、前桑実胚または桑実胚）に導入してもよい。

【0164】

3.6 胚の懐胎、キメラ動物および出生仔

胚発生に適当な条件下において、標準的な方法にしたがって、胚を懐胎させる。ドナー 50

多能性細胞を含む非ヒト胚を、当該分野で知られているように、偽妊娠状態の雌に移植する (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; 米国特許第7,576,259号明細書、米国特許第7,659,442号明細書、米国特許第7,294,754号明細書、Kraus et al. 2010, Genesis 48, 394-399)参照)。

端的に言えば、特定の齧歯類の態様において、6～8週齢の、繁殖性の雌の齧歯類動物を、精管切除した、または繁殖不能な雄の齧歯類動物と交配させ、人工的に導入した齧歯類胚を維持ための受容性のホルモン状態を引き起こす。かかる雌を、偽妊娠と称する。2.5 d p cに、15個までの、胚盤胞を含む該幹細胞を、子宮角に導入(移植)する。初期胚および桑実胚については、該胚は、試験管内で胚盤胞まで培養するか、または0.5 d p cまたは1.5 d p cの偽妊娠雌に、胚のステージによって、卵管に移植する。

【0165】

移植した非ヒト胚から発生したキメラ非ヒト動物は、移した後、胚から自然に誕生するまで発達させ(develop to term)、誕生は、移植時の胚齢および種に依存する。この過程により、2つの種類のキメラ非ヒト動物が得られる:通常非ヒト宿主胚由来の、破壊された妊孕性遺伝子を有する内在性生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物、および、通常ドナー多能性細胞由来の、機能性の妊孕性遺伝子を有する生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物。

【0166】

これらのキメラ非ヒト動物を、機能性の妊孕性遺伝子を含む、同族の非ヒト動物と繁殖させて仔を得るとき、破壊された妊孕性遺伝子を有する、内在性の生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物は、妊孕性が損なわれているか、または阻害されているため、子孫が得られないか、またはごく少数しか得られない。しかし、ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含むキメラ非ヒト動物は、妊孕性が正常な、または損なわれていないため、該ドナー多能性細胞由来の生殖細胞または配偶子を含む、最初の出生仔(first litter offspring)の作製が増進される。

【0167】

標準の解析手段を、精子または出生仔の同定試験に適用してよい。方法としては、配列決定、サザンブロット解析、SNP解析、PCR技術ならびに蛋白質マーカー、毛色マーカー、アイソザイム解析(例えば、GPI、グルコースリン酸イソメラーゼアイソザイム解析)および、該幹細胞中に存在する任意のレポーター遺伝子または導入遺伝子の、当該分野でよく確立されている標準的な方法を用いた検出が挙げられるが、これらに限定されない。

【0168】

最初の出生仔(first litter offspring)の配偶子を採取して、体外受精(IVF)または人工授精(AI)に用いてよい。また、最初の出生仔から単離した配偶子を、当該分野で公知の方法を用いて、凍結保存および貯蔵してもよい。あるいは、最初の出生仔の生殖細胞を採取し、試験管内または生体内で成熟させ、体外受精または人工授精に用いてよい。

【0169】

IVFの方法はよく確立されている。例えば、Nagy et al. (2002, Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual, 3rd edition, CSHL Press)を参照のこと。IVFは一般的に、雌個体と雄個体からそれぞれ、卵母細胞と精子を採取し、雌由来の卵母細胞を、雄由来の精子を用いて受精させ、得られた受精卵母細胞を、受精卵母細胞が胚に発生するのに適当な条件下で維持することを含む。胚は、様々な段階で回収してよい。IVFのために卵母細胞を採取する前に該雌個体を過排卵させてよい。受精は、IVF、卵細胞質内精子注入法または透明帯開孔法により行ってよい。例えば、Nagy et al. (2002, supra); Byers et al. (2006, Theriogenology 65:1716-26); Ostermeier et al. (2008, PLOS One 3(7):e2792)参照のこと。IVFは、単一の雌個体から得られる胚の数を増やすのに有用な手段であり得る。

【 0 1 7 0 】

細胞質内精子注入法 (I C S I) は、受精率の改善または、受精を達成するのに用い得る。 I C S I の手法は、卵母細胞を囲む卵丘細胞の除去および、通常ガラスピペットを通した、該卵母細胞への、精子または一倍体の精細胞の注入を伴う (Kimura et al., 1995, Biol Reprod. 53(4):855-62参照)。精細胞、精原幹細胞および雄性生殖細胞は、試験管内で分化させた後、 I C S I に使用することができる (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)。

【 0 1 7 1 】

I V F のために、雌個体から成熟した卵母細胞を採取する他の方法として、未成熟な卵母細胞を得て、試験管内で成熟させてもよく、これは、「体外成熟培養」として知られる技術である。他の態様において、濾胞、例えば原始濾胞または生殖細胞を、雌から単離し、試験管内で培養して、受精に有用な卵母細胞を得ることができる。哺乳類では、未成熟な卵母細胞のごく一部のみが成熟した卵母細胞へと発達し；残りは変性して死亡する。動物から未成熟な卵母細胞を単離し、それを試験管内で成熟させることにより、短い期間の間に、特定の雌から、 I V F に適当なより多くの卵母細胞を得ることができる。哺乳類卵母細胞は、試験管内で成熟することが知られている。マウス、ウシおよび他の哺乳類の場合、体外成熟させた卵母細胞を、試験管内で受精させて、胚を適当な母胎に移せば、正常で健康な仔が産まれる (Schroeder et al., 1984, Dev. Biol. 102:493; Sirard et al., 1988, Biol. Reprod. 39:546)。体外成熟技術は、当該分野でよく知られている。例えば、 Chiu et al. (2003, Human Reprod. 18: 408-416) and O ' Brien et al. (2003, Biol. Reprod. 68:1682-1686) を参照のこと。

【 0 1 7 2 】

人工授精は、手動で精子を注入または適用することにより、雌動物個体を受精させる方法である。該手法において、雄の動物は、授精時には必要ではなく；該動物より得た、貯蔵した精子を用いることができる (Wolfe, 1967, Lab Anim Care 17(4):426-32およびSat o et al., 2002, J Assist Reprod Genet. 19(11):523-30参照)。

【 0 1 7 3 】

最初の出生仔から、生きた子孫を作製するために、他の方法、例えば外科的な卵母細胞の回収、卵巣の移植、卵巣の分離、卵巣の一部の移植、卵母細胞、濾胞、精原幹細胞、の体外成熟、生殖細胞の試験管内分化および始原細胞の試験管内分化を用いてよい。

【 0 1 7 4 】

いくつかの態様において、雄の最初の出生仔の配偶子を採用する。他の態様において、雄の最初の出生仔の生殖細胞または精原多能性細胞を採用する。他の態様において、配偶子、生殖細胞または精原多能性細胞を凍結保存する。他の態様において、雌の最初の出生仔を用いて、繁殖により子孫を得る。さらに他の態様において、雌の最初の出生仔の配偶子を単離する。この種の具体的な例において、雌の最初の出生仔の卵巣を単離する。他の具体的な例において、雌の最初の出生仔の配偶子または卵巣を凍結保存する。

【 0 1 7 5 】

本発明が容易に理解され、実際に効果を奏するものとするために、次の非限定的な実施例によって、特定の好ましい態様を記載する。

【 実施例 】

【 0 1 7 6 】

実施例 1

条件的 G I L Z (T s c 2 2 d 3) ノックアウトマウスの作製

相同組換えによって、マウス T s c 2 2 d 3 (ENSMUSG00000031431) 遺伝子のエクソン 4 (ENSMUSE00000815383) に、 l o x P 部位を隣接させるためのターゲティングベクターを構築した。 l o x P 部位の、 C r e リコンビナーゼを介した組換えにより、エクソン 4 (例えば、Vegaアクセス番号 OTTMUST00000045354 の T s c 2 2 d 3 - 0 0 6 転写物) の欠失が

10

20

30

40

50

引き起こされる。エクソン4のCDSは、TSC22(斜体)(PF01166)ドメインの完全な配列をコードする。ターゲティングベクターの模式的な概要を図1に示す。

【0177】

ES細胞における選択用のネオマイシン選択カセット(neo)をエクソン4の下流に挿入した。FLPを介した組換えによる除去を可能にするために、該選択カセットを、FRT部位に隣接させた。LoxP部位をエクソン4の上流および該選択カセットの下流にそれぞれ挿入した。該ベクターの5'および3'のホモロジーアームは、それぞれ、約8.0 kbおよび6.0 kbであった。

【0178】

直線化したターゲティングベクターを、Bruce4 ES細胞に電気穿孔法により導入した。ネオマイシン耐性クローンを選択し、ターゲットクローンを正しく特定するために、サザンブロット解析によりスクリーニングした。これらのクローンをBALB/c胚盤胞に注入し、これを次いで、偽妊娠状態のCBB6F1の里親の雌に移した。得られたキメラをC57BL/6の雌と交雑させた。その仔を、毛色により選択し、サザンブロット解析によりさらに解析した。ターゲットマウスを、C57BL/6 FLP-e-リコンビナーゼ系統と交雑させることにより、該ネオマイシンカセットを除いた。

【0179】

実施例2

胚盤胞ドナーとして、雌のTsc22d3条件的ノックアウトマウスを用いた、ターゲティングしたマウスの作製

C57BL/6をバックグラウンドとする、21~25日齢のTsc22d3条件的ノックアウト雌マウスに、妊馬血清を注射する。2日後、該マウスにヒト絨毛性ゴナドトロピンを注射し、24時間、C57BL/6 Cre-リコンビナーゼ雄と交配させる。1回目の注射の6日後に、該Tsc22d3条件的ノックアウト雌から、胚盤胞を取り出す。これらの胚盤胞を、ターゲットBALB/c ES細胞の微量注入のレシピエントとして用い、微量注入した胚盤胞を、偽妊娠CBB6F里親の雌に移す。得られたキメラをBALB/c雌と交雑させる。胚盤胞細胞由来の精巣を持つ雄キメラは、不妊であると期待される。

【0180】

実施例3

胚盤胞ドナーとしての、条件的ノックアウトマウスの作製

妊孕性遺伝子ROSA26アレルバリエーションAの条件的ノックアウトは、破壊分子をコードするヌクレオチド配列(例えば、標的として妊孕性遺伝子の転写物を有するshRNA、妊孕性遺伝子にコードされる蛋白質に対する抗体等)を含む。LoxPが導入されたStopカセットは、破壊分子の発現を阻害する。ターゲットROSA26アレルAの作製用の例示的なターゲティングベクターを図2に示す。

【0181】

ROSA26アレルバリエーションBは、CreリコンビナーゼのCDSを含む。ターゲットROSA26アレルBを作製するためのターゲティングベクターの非限定的な例を図3に示す。

【0182】

繁殖パートナー1は、ROSA26アレルバリエーションAについてホモ接合型である。

【0183】

繁殖パートナー2は、ROSA26アレルバリエーションBについてホモ接合型である。

【0184】

繁殖パートナー1は、雄であっても雌であってもよい。繁殖パートナー2は、その反対である。

【0185】

繁殖パートナー1を、繁殖パートナー2と交雑させることにより得られる仔は、例えば図4に示すように、1本のROSA26アレルバリエーションAおよび1本のROSA26ア

10

20

30

40

50

【 0 1 8 6 】

材料および方法

20

【 0 1 8 7 】

ターゲットBALB/c ES細胞株の注入

30

【 0 1 8 8 】

【 0 1 8 9 】

40

【 0 1 9 0 】

(キメラの作製に用いた) T s c 2 2 d 3 K O / K O 胚盤胞のバックグラウンドが C 5 7

B L / 6 x B A L B / c F1であり、注入したE S細胞は、B r u c e 4 C 5 7 B L / 6をバックグラウンドとするため、毛色に基づく表現型の決定は不可能であった。その代わりに、8匹のマウスについて、サザンブロット解析により遺伝子型を決定し、そのうちの4匹(50%)は、w t / ターゲットおよび4匹(50%)はw t / w tマウスであると決定した。これは、キメラの仔が、ターゲットE S細胞からのみ得られる場合に期待されるw t / ターゲットマウスvs w t / w tマウスの比率と正確に相関している。

【0191】

対照として、同じB r u c e 4 C 5 7 B L / 6 E S細胞株を、w t B A L B / c x C 5 7 B L / 6 a l b i n o , a g o u t i胚盤胞に注入し、11匹のレシピエントに移した。この結果、全部で13匹のキメラが得られ、そのうちの8匹が雄であり、5匹が雌であった。該8匹の雄キメラにより、全部で324匹の仔が得られた。これらの動物個体のうちの149匹を、毛色について評価した。52匹(35%)のマウスは毛色が黒(E S細胞由来)であり、97匹(65%)は、毛色がアグーチ(胚盤胞由来)であった。

10

【0192】

したがって、遺伝子改変したE S細胞株のホストとしてT s c 2 2 d 3 K O / K O胚盤胞を使用することにより、子孫動物への該遺伝子改変の生殖系列伝達が改善する。この試験の後、異なる遺伝子改変を有する、他の8つのE S細胞株についても、同程度の生殖系列伝達の改善が達成された。

【0193】

本明細書に引用する全ての特許、特許出願および出版物の記載は、引用によりその全体が本明細書に包含される。

20

【0194】

本明細書中における、文献の引用は、いずれも、該文献が、本出願の「先行技術」として利用可能なものであることを認めるものと解されるべきではない。

【0195】

本明細書を通じて、本発明をいずれかの1つの態様または特徴の特定の集合に限定することなく、本発明の好ましい態様を記載することを目的としている。したがって、本明細書の記載から、例示されている特定の態様において、本発明の範囲から離れずに、種々の改変および変更を加えてよいことは、当業者には理解できることである。かかる改変および変更は全て、以下の特許請求の範囲に含まれることを意図するものである。

30

【 図 1 】

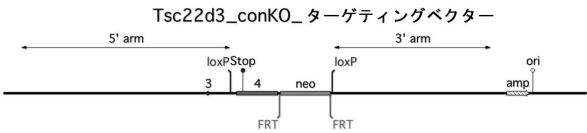


FIGURE 1

【 図 4 】

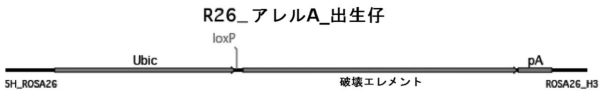


FIGURE 4

【 図 2 】



FIGURE 2

【 図 5 】



FIGURE 5

【 図 3 】

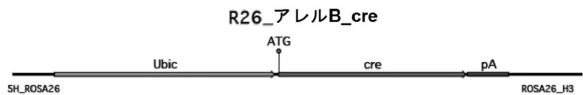


FIGURE 3

【 図 6 】

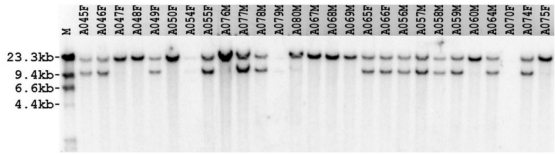


FIGURE 6

【配列表】

0006845013000001.app

フロントページの続き

前置審査

(74)代理人 100170520

弁理士 笹倉 真奈美

(72)発明者 フランク・ケントジェン

オーストラリア 6 0 2 0 ウェスタン・オーストラリア州 ノース・ビーチ、ウエスト・コースト・ドライブ

審査官 伊達 利奈

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 3 / 0 8 1 9 9 0 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 0 3 / 0 7 1 8 6 9 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 0 / 1 3 1 2 8 5 (W O , A 1)

Molecular Endocrinology, 2012, Vol.26, pp.1000-1013

Sexual Development, 2012, Vol.6, pp.169-177

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 0 1 K 6 7 / 0 2 7

C 1 2 N 1 5 / 0 0

P u b M e d