

文献ID	生物種	種名	用いた技術	ターゲット遺伝子	誌名	タイトル	年	ページ	要旨	所属
1	動物	ブタ	ZFN	RELA	Sci. Rep.	Mammalian interspecies substitution of immune modulatory alleles by genome editing	2016	6, 21645.	農学のハプロタイプの正確で効率的な置換を記す。RELA遺伝子は免疫を調節する。ZFNによって胚のRELA座を編集してアフリカ豚コレラへの回復力に関連するイボインシンのRELAオルソログを持つブタが生まれて生まれた。一世代で種間で対立遺伝子を移入する効率のよい能力は今までになかった農業と基礎研究の機会を作る。	[Liico SG et al.] The Roslin Institute and R(D)SVS, Easter Bush Campus University of Edinburgh イギリス
2	動物	ブタ	ZFN	ミオスタチン	PLoS One	A 90-Day Feeding Study in Rats to Assess the Safety of Genetically Engineered Pork	2016	11(11), e0165843	私たちは最近ZFNを利用してミオスタチンの機能を喪失させたGEブタを作成した。このGEブタは野生型のブタと同じく正常に成長するが、赤身肉の収量が多く、脂肪の塊が少ない肉を生産する。このGEブタ肉の潜在的な垂慢性の毒性を評価するために、ラットにおいて90日間の摂取の研究を行なった。ラットを無作為に5つのグループに分けて、90日間基礎的な食事とそれに野生型ブタとGEブタから調製した低容量と高容量のブタ肉を加えた食事を与えた。動物の行動と臨床的な徴候を観察して、体重と食事の消費を1週間単位で記録した。45, 90日目に血液検査を行なった。成長速度、食事の消費、血液検査の数値はGEブタ肉と野生型ブタ肉を食べさせたラットのグループの間で有意差がなかった。高容量のGEブタ肉と基礎的な食事を食べさせたグループの間では肝機能のパラメーターと白血球数で差があったが、GEブタ肉を食べさせたグループの結果はすべて正常の範囲内だった。45, 90日目にすべてのグループから分離した臓器に障害はなかった。GEブタ肉をラットに食べさせたときに長期間の悪い効果はなかった。	[Xiao G] et al.] Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 中国
3	動物	ブタ	?	aminopeptidase N	Faming Zhuanli Shengqing	Pig with site-directed modification of porcine aminopeptidase N (pAPN) gene	2016	CN 105543257 A 20160504	本発明はブタのアミノペプチダーゼN (pAPN) 遺伝子の部位特異的な修飾を持ったブタに関する。pAPN遺伝子のクローニングとシーケンシング分析、pAPN編集ベクターの構築と活性の分析、ドナーベクターの構築、pAPN遺伝子に部位特異的な修飾を持つST細胞系列の構築、伝染性胃腸炎コロナウイルスの病原性の研究、pAPN遺伝子に部位特異的な修飾を持つトランスジェニック繊維芽細胞の構築、再構築された胚の獲得、pAPN遺伝子の部位特異的な修飾の同定によってこのブタは構築される。本発明はブタのウイルス性の下痢とK88の感染を遺伝的な観点から絶滅させて、ブタの育種における伝染病を制御するための費用を削減して、環境汚染を低減し、抗生物質の乱用を減らして健康的な育種の方法を提供する。また、ヒトのガンや他の関連した病気の病原性の研究と関連する治療のスクリーニングと前臨床的なテストの基礎を提供する。	[Chen J et al.] Anhui Agricultural Univ. 中国
4	動物	ブタ	TALEN	ミオスタチン	Mol. Reprod. Dev.	Efficient modification of the myostatin gene in porcine somatic cells and generation of knockout piglets	2016	83(1), 61-70.	ゲノム編集技術と体細胞核移植 (SCNT) を使ってミオスタチンをノックアウトしたブタを作った。Platinum TALENはブタの体細胞において遺伝子を修飾することにおいて効率が良かった。修飾した体細胞をSCNTに使用してミオスタチンをノックアウトしたブタを作った。これらの子ブタは筋肉が2倍になる表現型を示し、体重は増えており、最長筋の塊は野生型の170%になっており、筋肉繊維の数は倍になった。ブタにおけるミオスタチンの喪失は筋肉の塊を増やし、将来ブタ肉の生産を増加させるかもしれない。	[Rao S et al.] Research and Development Center NH Foods Ltd. Tsukuba 日本
5	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン	Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao	Generation of porcine MSTN knockout cell line using CRISPR/Cas9-mediated homologous recombination	2016	32(10), 1161-1167.	ミオスタチン (MSTN) は大型の家畜で肉の性質を改善するための重要な遺伝子の候補である。2種類のベクター-MSTN Cas9とドナーDNAはブタPK15細胞系へエレクトロポレーションによって導入された。G418耐性の選抜と蛍光顕微鏡の観察によってNeo-EGFP陽性の細胞を単離した。MSTNのエクソン3において部位特異的で相同的な組換えを検出するために、crossover PCR, long-distance PCR, ウェスタンブロット、サザンブロット、DNAシーケンシングを使った。CRISPR/Cas9発現ベクターの効率的な標的部位はMSTN遺伝子のエクソン3に見出され、複数のスクリーニングによってMSTN遺伝子に変異を持つ細胞系列を得た。本研究はMSTNの機能の研究のための実験材料を提供する。	[Qi S et al.] Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in Plateau Mountainous Region, Ministry of Education Guiyang 中国
6	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン	Sci. Rep.	Isozygous and selectable marker-free MSTN knockout cloned pigs generated by the combined use of CRISPR/Cas9 and Cre/LoxP	2016	6, 31729.	CRISPR/Cas9とCre/LoxPによって選択マーカー遺伝子 (SMG) を含まない、機能的にミオスタチン (MSTN) をノックアウトしたクローンブタの作成を報告する。CRISPR/Cas9による相同組換えを利用してブタの初代細胞でMSTNの1つの対立遺伝子をノックアウトした。次に、Cre/LoxPベクターを使って82.7%の効率でSMGを削除した。フローサイトメトリーによってSMGとEGFPを含まない細胞を単離して核移植のためのドナーの核として使った。685個の再構築された胚は3頭目の代理母に移されて、1頭が2匹の雄の生きた子ブタを産出した。これらのクローンブタでは1つの対立遺伝子でMSTNがノックアウトされてSMGを欠失していることが確認された。筋肉においてMSTNの発現はおおよそ50%減少し、筋原性の遺伝子の発現は増加していた。組織学的検査では筋原繊維の量は増加していたが、その大きさは変化がないことが明らかになった。本研究は優れた家畜の生産のための信頼できる方法であり、潜在的な生物学的リスクを最小にする戦略である。	[Bi Y et al.] Hubei Key Laboratory of Animal Embryo Engineering and Molecular Breeding, Hubei Institute of Animal Science and Veterinary Medicine Hubei Academy of AgroSciences Wuhan 中国
7	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	CD163	PCT Int. Appl.	Preparation method for anti-porcine reproductive and respiratory syndrome cloned pig	2016	WO 2016110214 A1 20160714	本発明は豚繁殖・呼吸障害症候群に抵抗性のあるクローンブタの作成方法を提供する。本方法は以下の段階から構成される。CRISPR/Cas9ターゲティングベクターとCD163遺伝子相同組換え修飾ベクターをブタの線維芽細胞へ入れて陽性のクローン細胞を得る。その細胞ではブタの内臓CD163遺伝子の第7エクソンがヒトのCD163-L1遺伝子の第10エクソンと置換されて、豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルスの侵入を媒介できない。ドナー細胞と受容細胞としてこの陽性細胞と卵母細胞を使い、体細胞核移植の技術を利用してクローン化した胚を得る。その胚を子宮へ移植してブタを妊娠させてクローンブタを得る。	[Li N et al.] China Agricultural University 中国
8	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	細胞表面のウイルスが侵入するとき利用するタンパク質	Sci. Am.	You Can Edit a Pig, but It Will Still Be a Pig	2016	314(3), 22	ブタの感染症を防ぐためにCRISPRを利用する	[Brouillette M]
9	動物	ブタを含む哺乳類	CRISPR/Cas9	MC3R	Faming Zhuanli Shengqing	A method for producing MC3R gene knock-out pig by CRISPR/CAS9 system	2016	CN 106191113 A 20161207	本発明はCRISPR/Cas9システムによってMC3R遺伝子をノックアウトしたブタを作る方法を開示する。本方法は、MC3R遺伝子をノックアウトした動物の細胞を得るために、gRNA1および/またはgRNA2をコードする遺伝子を動物の細胞へ導入することを含む。動物の細胞は哺乳類の細胞であり、たとえばブタの細胞である。MC3R遺伝子をノックアウトする効率は29.16%である。本発明は標的MC3R遺伝子の大きな断片を迅速に効率良くノックアウトして、外来遺伝子を残さない。本発明はMC3Rの機能を解明するための研究と動物の育種に使える。	[Li Q et al.] China Agricultural Univ. 中国
10	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	MC4R	Faming Zhuanli Shengqing	Method for preparation of pigs with MC4R gene knocked out	2016	CN 106191064 A 20161207	本発明はCRISPR/Cas9システムと体細胞核移植を使ってMC4R遺伝子を編集することでノックアウトしたブタを作ることに開示する。本方法では、MC4R遺伝子の大きな断片を欠失させてその欠失を持ったブタを作るためにブタのMC4R遺伝子のコード領域内で2ヶ所の部位に対するsgRNAを設計することで特徴付けられる。本発明はブタMC4R遺伝子を研究するための実行可能な研究である。	[Li Q et al.] China Agricultural Univ. 中国
11	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン	Faming Zhuanli Shengqing	Swine myostatin gene editing site, and application thereof	2016	CN 106086031 A 20161109	本発明はブタのミオスタチン遺伝子の編集部位とその応用を開示する。その編集部位はミオスタチン遺伝子のコード領域内、第1エクソン中に存在する。その部位はCas9によって特異的に認識されて、ターゲティングベクターと相同組換えを行い変異した遺伝子または選択マーカー遺伝子を受容細胞のゲノムの決まった部位に取り込まれるようにする。統計的な結果ではターゲティングの効率は80.5%である。この方法によって高い肉係数を持った新しい品種のブタが開発できて、ミオスタチンの研究のための材料を提供できる。	[Bi Y et al.] Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Hubei Academy of Agricultural Sciences 中国

12	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン遺伝子のプロモーター	Faming Zhuanli Shenqing	sgRNA set for specific identification of swine MSTN gene promoter and its encoding DNA set and application in gene editing of MEF3M factor binding site of MSTN gene promoter	2016	CN 10595062 5 A 20160921	本発明はブタのゲノム中のミオスタチン(MSTN) 遺伝子のプロモーターのMEF3M因子結合部位を遺伝子編集するためのsgRNAの組み合わせとその応用を提供する。sgRNAは特異性が高く、MEF3M因子の結合部位をノックアウトするために使える。本発明によりブタの筋細胞の発達を促進して筋肉量を増やせる。	[Li K et al.] Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences 中国
13	動物	ブタ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン	Sci. Adv.	Somatic cell reprogramming-free generation of genetically modified pigs.	2016	2(9):e1600	医療に応用するためのGMブタは主に体細胞核移植を使って作られる。しかし、この方法は複雑な細かい技術が必要とし、ドナーの体細胞の核の不完全なエピジェネティックのリプログラミングのために出産前におよび出産後に死ぬリスクをしばしば大きくする。その結果、GMブタの生産は広く行なわれなかった。体外受精させた受精卵へエレクトロポレーションによってCas9とsgRNAを導入させることを含むブタにおけるCRISPR/Cas9による遺伝子編集のための簡単な方法を提供する。Cas9のエレクトロポレーションによる遺伝子編集は高い効率で標的遺伝子の破壊を起こし、ミオスタチンに変異のあるブタの作成によって確認した。この方法はGMブタの生産を促進する潜在的な能力がある。	[Tanihara F et al.] Laboratory of Animal Reproduction, Faculty of Bioscience and Bioindustry, Tokushima Univ. Tokushima 日本
14	動物	ウシ	CRISPR/Cas9	PRNP	Theriogenology	Efficient edition of the bovine PRNP prion gene in somatic cells and IVF embryos using the CRISPR/Cas9 system	2016	86(8), 1886-1896.e1.	CRISPRをウシに適用した報告は少ない。本研究ではウシPRNP遺伝子をCRISPR/Cas9システムでノックアウトとノックインした。ウシ胎児の線維芽細胞と体外受精の胚を使った。PRNP遺伝子エクソン3を標的にするために5つのsgRNAを設計してCas9と一緒に細胞へ導入した。相同組換えの効率はEGFP遺伝子の両側に1kbpのPRNP遺伝子を連結させたレポーターベクターを使って評価した。体細胞についてはCas9とsgRNAをコードするプラスミドを2つの条件下でトランスフェクトした。体外受精の受精卵にはプラスミドまたはmRNAを使って顕微授精を行なった。体細胞と胚において標的部位に挿入、欠失と大きな欠失が起きた。胚では相同組換えも検出された。CRISPR/Cas9システムはウシのゲノムで部位特異的に編集ができて、重要な人獣共通伝染病に耐性な大きな動物の開発につながるだろう。	[Bevacqua RJ et al.] Animal Biotechnology Laboratory Buenos Aires アルゼンチン
15	動物	ウシ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン遺伝子のプロモーター	Reprod. Fertil. Dev.	EFFICIENT GENERATION OF MYOSTATIN PROMOTER MUTATIONS IN BOVINE EMBRYOS USING THE CRISPR/Cas9 SYSTEM	2016	29(1), 212	ミオスタチンを不活性化させると、肉を増やせるが、難産や生殖能力の低下などの悪影響もある。ミオスタチンの発現を低下させて、これらの悪影響を出さないために、ミオスタチンのプロモーターの異なる因子の欠失をCRISPR/Cas9システムを使って作った。ミオスタチンのプロモーター中の-1577、-689、-555、-116の位置を標的とする4つのsgRNAを設計した。ウシの胎児線維芽細胞で試した後に、ウシの受精卵でミオスタチンのプロモーターを修飾した。Cas9 mRNAとそのタンパク質を導入したときに94.12%と64.17%で編集が起きた。得られるプロモーターはヘテロになることが多かった。ウシの胚でCRISPR/Cas9システムを利用するにはさらなる改良が必要である。	[Pinzon CA et al.] Department of Veterinary Physiology and Pharmacology, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 米国
16	動物	ニワトリ	CRISPR/Cas9	オボアルブミン、オボムコイド	Sci. Rep.	Targeted mutagenesis in chicken using CRISPR/Cas9 system	2016	6, 23980.	受精卵にアクセスすることが難しいために、ニワトリではCRISPR/Cas9システムは利用されていなかった。私たちはニワトリにおいてCRISPR/Cas9システムによる遺伝子ターゲティングを報告する。Cas9, sgRNA, 薬剤耐性マーカーをコードする遺伝子を含むプラスミドをトランスフェクションすることによって、ニワトリの培養した始原生殖細胞(PGCs)において2つの卵白の遺伝子であるオボアルブミンとオボムコイドを効率良く変異させた。CRISPRによってオボムコイド遺伝子に変異を持つPGCsをニワトリの胚へ移植して、3匹の生殖細胞系列のキメラな雄鶏(G0)を確立した。すべての雄鶏はドナーに由来する変異型のオボムコイド遺伝子を持った精子を作った。2匹については高い効率でその変異型の遺伝子を次世代(G1)に伝達してヘテロな遺伝子型のニワトリが得られた。G1変異型のニワトリを交配してオボムコイド遺伝子がホモな変異型の子孫(G2)を作った。これらの結果からCRISPR/Cas9システムはニワトリで利用できることが証明された。	[Oishi I et al.] Biomedical Research Institute National Institute of Advanced Industrial Science and Technology Osaka 日本
17	動物	ニワトリ	CRISPR/Cas9	peroxisome proliferator-activated receptor-γ, ATP synthase epsilon subunit, オボアルブミン	G3 (Bethesda, Md.)	Efficient Genome Editing in Chicken DF-1 Cells Using the CRISPR/Cas9 System	2016	6(4), 917-23.	CRISPR/Cas9のニワトリにおける利用は情報が少ない。私たちはニワトリのDF-1細胞において peroxisome proliferator-activated receptor-γ、ATP synthase epsilon subunit、オボアルブミン遺伝子に変異を導入するためにCRISPR/Cas9システムを使った。T7E1アッセイの結果では3つの遺伝子座における変異の率は、0.75%、0.5%、3%だった。変異の効率を高めるために、代理のレポーターシステムと一緒にGM細胞を効率良く濃縮するために私たちはPuro(R)遺伝子を使った。T7E1アッセイでは変異の効率は上昇して、60.7%、61.3%、47.3%となった。後のシーケンシングによる分析では変異の効率は上昇して、94.7%、95%、95%だった。T7E1アッセイによって3ヶ所の潜在的なオフターゲット部位を調べたところ、オフターゲット変異は検出されなかった。このように、CRISPR/Cas9システムはニワトリのゲノム編集に利用できる。	[Bai Y et al.] College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 中国
18	動物	ヤギ	TALEN	β-ラクトグロブリン、ヒトα-ラクトアルブミン	PLoS One	Targeting human α-lactalbumin gene insertion into the goat β-lactoglobulin locus by TALEN-mediated homologous recombination	2016	11(6), e0156636/1-e0156636/14.	人間に対する栄養としてのヤギのミルクの価値は、β-ラクトグロブリン(BLG)のようなミルクのタンパク質によって引き起こされる食物アレルギーの問題に関連している。本研究では、ヤギのBLG遺伝子座へヒトα-ラクトアルブミン(hLA)遺伝子を導入するためにヤギの線維芽細胞においてTALENを利用した相同組換えを行なった。1つ、2つの対立遺伝子に外来遺伝子が導入されたコロニーが選抜の後に単離される率は10.1%、1.1%だった。1つ、2つの対立遺伝子に外来遺伝子が導入されたヤギの乳房上皮細胞においてBLG mRNAの濃度は徐々に低下して、hLAの発現が確認された。遺伝子ターゲティングされた線維芽細胞は効率良く体細胞核移植に使えた。ミルク中にBLGが少なく、hLAを豊富に含むhLAをノックインしたヤギが作れた。私たちの研究は動物のミルクの最適化の基礎となり、農業と生態臨床医学の発展を促進する。	[Zhu H et al.] College of Veterinary Medicine Northwest A&F University Yangling, Shaanxi 中国
19	動物	ヤギ	TALEN	β-ラクトグロブリン、ヒトラクトフェリン	Faming Zhuanli Shenqing	Goat blg gene targeted-deletion modification system for constructing blg-/hlft fetal fibroblast	2016	CN 10573403 2 A 20160706	本発明はヤギのBLG遺伝子をターゲティングによって欠失させる方法とその応用に関連する。本発明ではTALENを使ってBLGの標的配列を切断する。ヤギのBLG遺伝子をターゲティングによって欠失させて、ヒトのラクトフェリン(hLF) 遺伝子をノックインして、BLG-/hLF+トランスジェニック胎児線維芽細胞を得る。この細胞をドナーとして体細胞核移植を行なってBLG-/hLF+トランスジェニックヤギを作る。本発明はターゲティングによって欠失させたトランスジェニック哺乳類を作るための優れた技術である。	[Cheng Y et al.] Yangzhou University 中国
20	動物	ヤギ	TALEN	β-ラクトグロブリン	Transgenic Res.	The growth and reproduction performance of TALEN-mediated β-lactoglobulin-knockout bucks	2016	25(5), 721-729.	本研究の目的は、設計されたヌクレアーゼを利用して遺伝子ターゲティングされた雄のヤギの生殖能力に遺伝子ターゲティングとリクロニングが影響しているかを調べることである。TALENによってβ-ラクトグロブリン(BLG) 遺伝子の1つの対立遺伝子をノックアウトした(BLG ^{-/-}) ヤギと、BLG ^{+/-} の雄ヤギの線維芽細胞において遺伝子ターゲティングとリクロニングによって作られた2つの対立遺伝子がノックアウトされた(BLG ^{-/-}) 雄のヤギを使って健康状態と生殖能力を調べた。BLG ^{+/-} の雄ヤギの出生のときの体重と出産後の成長は野生型のヤギと同等だった。BLG ^{+/-} またはBLG ^{-/-} の雄ヤギから得た新鮮なまたは凍結融解した精子の質のための指標は対照の物との間で有意差がなかった。体外受精によって得られた受精卵の中で胚盤胞まで育つ割合はBLG ^{+/-} 、BLG ^{-/-} 、野生型の間で同じだった。BLG ^{+/-} 、BLG ^{-/-} 、野生型の雄ヤギから得た凍結融解した精子を使ったときの人工授精の受胎率は42.3%、38.0%、42.6%だった。ターゲティングしたBLGの修飾の生殖細胞系伝達はメンデルの法則と一致した。解析した成長と生殖の性質はBLG遺伝子をターゲティングしたことで影響を受けておらず、BLG ^{+/-} およびBLG ^{-/-} の雄ヤギの育種の可能性を示唆する。	[Ge H et al.] College of Veterinary Medicine Northwest A&F University Shaanxi 中国

21	動物	ヤギ	TALEN	ミオスタチン	BMC Dev. Biol.	Efficient TALEN-mediated myostatin gene editing in goats	2016	16(1), 26.	TALENによるミオスタチン(MSTN)の編集がヤギにおいて可能であるかを調べた。ヤギのMSTNを認識する一対のTALEN(MTAL-2)を作った。ヤギの線維芽細胞をMTAL-2でトランスフェクトして272個のモノクローナル細胞がMSTNの1つまたは2つの対立遺伝子において変異を持つことが確認された。異なる遺伝子型を持つ10種類の細胞をドナー細胞として体細胞核移植を行なって、3頭の子ヤギ(K179/MSTN(-/-), K52-2/MSTN(+/-), K52-1/MSTN(+/+))が得られた。MTAL-2はヤギのゲノムの中のMSTNを効率良く破壊できた。得られた体細胞からは発生に異常のないMSTNに変異を持つヤギが作られた。TALENを使ってヤギにおいて正確なゲノム編集ができた。	[Yu B et al.] College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 中国
22	動物	ヤギ	TALEN	β-ラクトグロブリン、ヒトラクトフェリン	Sheng wu gong cheng xue bao = Chinese journal of biotechnology	BLG gene knockout and hLF gene knock-in at BLG locus in goat by TALENs	2016	32(3), 329-38.	ヤギの胎児の線維芽細胞においてβ-ラクトグロブリン(BLG)遺伝子をノックアウトして、BLG遺伝子座へヒトのラクトフェリン(hLF)遺伝子のコード領域を挿入するためにTALENを利用して組換えを行なった。それをドナー細胞として体細胞核移植を行なった。ヤギBLGのエクソン3を認識するTALENをコードするプラスミドTALEN-3-L/Rと、hLF遺伝子をノックインするための陰性選択遺伝子HSV-TKを含むベクターBLC14-TKを設計した。BLC14-TKとTALEN-3-L/Rと一緒にヤギの胎児線維芽細胞へトランスフェクトして薬剤によって細胞を選抜した。TALEN-3-L/Rによる変異導入効率は25-30%だった。6個のBLG ⁻ /hLF ⁺ の細胞系列に由来する335個の再構築された胚を16匹の代理ヤギに移植した。9匹のヤギが妊娠して50日生きたBLG ⁻ /hLF ⁺ の胎児が得られた。この研究はアレルギーが少なくhLFを豊富に含むヤギのミルクを得る研究の基礎となる。	[Song S et al.] 中国
23	動物	ヤギ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン	Sci. Rep.	Generation and evaluation of Myostatin knock-out rabbits and goats using CRISPR/Cas9 system.	2016	6:29855.	ミオスタチン(MSTN)を正確に破壊することで安全に肉の生産性を改善できるかを証明されていない。この問いに答えるために、私たちはCRISPR/Cas9システムを応用してMstnをノックアウトしたウサギとヤギを作って表現型の変化を解析した。4頭のヤギの中で1頭はMstn遺伝子座に編集が起きた。このヤギの早い段階での成長速度は対照を上回った。しかし、Mstnノックアウトは重大な健康上の問題を引き起こし、他の生物種でも同様な効果があるかもしれない。この安全性の問題はさらに研究する必要がある。	[Guo R et al.] Jiangsu Livestock Embryo Engineering Laboratory, Nanjing Agricultural University, Nanjing 中国
24	動物	ヒツジ	ZFN	ミオスタチン	Asian-Australas. J. Anim. Sci.	Knockout of Myostatin by Zinc-finger Nuclease in Sheep Fibroblasts and Embryos	2016	29(10), 1500-7.	ヒツジのミオスタチン(MSTN)遺伝子を標的とするZFNを培養線維芽細胞へ導入した。2つのコロニーは1つの対立遺伝子に変異があって、1つのコロニーは2つの対立遺伝子に欠失があった。さらに、MSTN-ZFN mRNAをヒツジの胚へマイクロインジェクションによって導入した。37個の単為生殖の胚の中で13個がZFNによってターゲティングされて効率は35%だった。本研究はマイクロインジェクションと体細胞核移植によってMSTN遺伝子を編集したヒツジを作るための基礎となる。	[Zhang X et al.] Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 中国
25	動物	ヒツジ	TALEN	ミオスタチン	Asian-Australas. J. Anim. Sci.	Targeted editing of myostatin gene in sheep by transcription activator-like effector nucleases	2016	29(3), 413-418.	本研究の目的は、一本鎖DNAオリゴヌクレオチド(ssODN)とTALENを使ってヒツジのミオスタチン(MSTN)遺伝子が編集できるかを調べることである。私たちはヒツジMSTN遺伝子のコード領域の中で高度に保存された配列を標的とする一対のTALENを設計した。ヒツジの初代線維芽細胞へTALENとssODNと一緒にトランスフェクトしてMSTN遺伝子の正確な遺伝子編集を誘導した。MSTN遺伝子を編集された細胞は核ドナーとして使われてクローン胚が作られた。TALENとssODNを組み合わせて使うと家畜で正確な遺伝子の修飾ができる。	[Zhao X et al.] College of Animal Science and Technology, College of Life Sciences Shihezi University Shihezi 中国
26	動物	ヒツジ	TALEN	ミオスタチン	Sci. Rep.	Generation of biallelic knock-out sheep via gene-editing and somatic cell nuclear transfer	2016	6, 33675.	私たちはヒツジのミオスタチン(MSTN)に特異的なTALENプラスミドを作ってSTHヒツジの胎児の線維芽細胞へトランスフェクトした。2つの対立遺伝子がノックアウトされた細胞を体細胞核移植のためのドナー細胞として選んだ。クローン胚を37頭の代理ブタに移植して、28頭(75.7%)が妊娠して、15頭が出生した。23頭の子ヒツジが生まれて12頭は生きていた。子ヒツジの遺伝子変異はドナー細胞の物と一致した。オフターゲット変異は検出されなかった。MSTNノックアウトはMSTN関連遺伝子のmRNAの発現に影響していた。MSTNノックアウトによって体重が顕著に増加し、筋肉繊維の肥大が起きた。これらのMSTNに変異を持つヒツジは正常に発生と成長した。	[Li H et al.] State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan Yunnan Agricultural University Kunming 中国
27	動物	ヒツジ	CRISPR/Cas9	MSTN, ASIP, BCO2	Faming Zhuanli Shengqing	Multiplex gene editing via CRISPR/Cas9 exhibits desirable muscle hypertrophy without detectable off-target effects in sheep	2016	CN 105950656 A 20160921	1細胞の胚へCas9 mRNAと3つの遺伝子(MSTN, ASIP, BCO2)を標的とするgRNAをマイクロインジェクションすることによってヒツジにおいて正確な遺伝子ターゲティングを行なった。sgRNA: Cas9によるターゲティングの効果をクローニングとシーケンシングによって注入した胚、体細胞組織、生殖腺において調べた。子ヒツジにおけるこれら3つの遺伝子のターゲティングの効率は27-33%で、3つの遺伝子が同時にターゲティングされた効率は5.6%だった。受精卵へのマイクロインジェクションは遺伝子修飾されたヒツジを作るための効率的な方法であることが証明された。MSTN遺伝子の破壊では筋原線維が大きくなって筋肉の肥大が起きた。これは遺伝子修飾が遺伝子と形態学の両方のレベルで起きたことを支持する最初の詳細な証拠である。CRISPR/Cas9システムを利用して、商業的に重要な性質に関連する複数の遺伝子を同時にターゲティングすることによって家畜の改良ができることを本研究は示唆する。	[Zhao J et al.] Qingdao Agricultural University 中国 Shihezi University Shihezi 中国
28	動物	ヒツジ	CRISPR/Cas9	ミオスタチン	Faming Zhuanli Shengqing	Detection method of MSTN gene targeted knockout and the effects on muscle differentiation in sheep thereof	2016	CN 105821116 A 20160803	ヒツジのMSTN遺伝子をターゲティングによってノックアウトして筋肉の分化への影響を調べる方法は以下の段階から構成される。標的遺伝子のクローニング、gRNAの設計と合成、CRISPR/Cas9遺伝子ノックアウトベクターの構築、CRISPR/Cas9遺伝子ノックアウトベクターの外因性の活性の検出、CRISPR/Cas9遺伝子ノックアウトベクターの内因性の活性の検出、CRISPR/Cas9遺伝子ノックアウトベクターのノックアウト効果の検出。本発明は実験の期間が短く、操作が簡単で、再現性が高く、ノックアウトの効率が低いという利点がある。	[Li B et al.] Yangzhou University 中国