



面向世界科技前沿, 面向国家重大需求, 面向国民经济主战场, 率先实现科学技术跨越发展,
率先建成国家创新人才高地, 率先建成国家高水平科技智库, 率先建设国际一流科研机构。

——中国科学院办院方针



官方微博



官方微信

首页 组织机构 科学研究 人才教育 学部与院士 资源条件 科学普及 党建与创新文化 信息公开 专题

搜索

首页 > 科研进展

上海生科院等建立“人造精子”介导高效产生点突变小鼠的新方法

文章来源: 上海生命科学研究院 发布时间: 2017-08-28 【字号: 小 中 大】

我要分享

近日, 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所李劲松研究组和第二军医大学附属长征医院袁文课题组的最新研究成果*Efficient generation of the mouse model with a defined point mutation Through haploid cell-mediated gene-editing*在线发表在*Journal of Genetics and Genomics*上。该研究结合CRISPR-Cas9基因编辑技术和半克隆技术, 实现了点突变小鼠的高效制备。

建立点突变小鼠模型, 尤其是致病基因点突变的小鼠模型, 对研究基因的功能和疾病的致病机制至关重要, 但通过传统的同源重组编辑胚胎干细胞的方法耗时耗力。近年来, 通过CRISPR-Cas9直接注射受精卵可获得携带点突变的小鼠, 但产生携带点突变小鼠的效率不高且存在个体基因型嵌合的现象。李劲松研究组的前期研究建立了小鼠孤雄单倍体胚胎干细胞 (AG-haESCs) 及其注入卵子获得健康小鼠的半克隆技术 (*Cell*, 2012), 进一步优化该技术获得了能稳定高效产生半克隆小鼠的单倍体干细胞 (DKO AG-haESCs, 又称为“人造精子”) (*Cell Stem Cell*, 2015), 为快速制备携带目的点突变小鼠模型提供了新方法。研究人员首先采用携带点突变的单链寡脱氧核苷酸 (ssODN, 长度为99碱基) 作为修复模板与CRISPR-Cas9共同转入单倍体细胞中, 发现随着目的突变位点与Cas9酶切割位点 (即DNA双链断开位点) 距离的增加, 同源重组获得携带突变位点细胞的效率急剧下降。当距离 ≥ 10 bp时, 采用ssODN为模板的效率低至无法检测, 无法获得携带这些位点的突变细胞。为此, 项目组构建了携带点突变的双链载体作为模板 (长度为258bp-2.1kb), 发现可以显著提高同源重组效率; 同时, 发现当载体长度在1-1.5kb时, 同源重组效率最高。研究人员进而建立了携带点突变的单倍体细胞系, 并通过卵子注射高效获得携带目的点突变的小鼠模型。研究人员提出在致病点突变的模拟过程中, 当突变位点与DNA双链断开位点距离 < 10 bp时, 可以选用ssODN为模板; 当突变位点与DNA双链断开位点距离 ≥ 10 bp时, 采用载体作为模板时会有较高的效率。

魏磊鑫和王修坤为论文的共同第一作者。研究获得生化与细胞所细胞平台和动物平台的支持和帮助, 并获得中科院、上海市、国家科技部及国家自然科学基金委的经费支持。

[论文链接](#)

(责任编辑: 侯晋)



© 1996 - 2018 中国科学院 版权所有 京ICP备05002857号 京公网安备110402500047号 联系我们
地址: 北京市三里河路52号 邮编: 100864

热点新闻

2018年诺贝尔生理学或医学奖、...

“时代楷模”天眼工匠南仁东事迹展暨...
中科院A类先导专项“泛第三极环境变化与...
中国科大建校60周年纪念大会举行
中科院召开党建工作推进会
中科院党组学习贯彻习近平总书记在全国...

视频推荐



【新闻联播】“率先行动”
计划 领跑科技体制改革



【朝闻天下】勋章的故事
·“两弹元勋”郭永怀: 心有
人我 以身许国 誓死无憾

专题推荐

