





Principal Investigator

林淑華 (Shu-Wha Lin) 教授 國立臺灣大學醫學院 醫學檢驗暨生物技術學系


Co-Principal Investigator

潘建源 (Pan, Chien-Yuan) 教授 國立臺灣大學生命科學院 動物學研究所
主任 國立臺灣大學校總區 實驗動物資源中心

陳惠文 (Huei-Wen Chen) 教授 國立臺灣大學醫學院 毒理學研究所
主任 國立臺灣大學醫學院 實驗動物中心


游益興 (I-Shing Yu) 助理研究員 國立臺灣大學醫學院 實驗動物中心

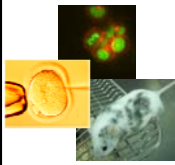
Transgenic Mouse Model Core 



說明會內容

1. 核心設施簡介及服務成果
2. 技術與服務內容
3. 申請作業/收費相關說明

Transgenic Mouse Model Core 



A4核心設施源起

- 校內計畫 (教育部邁頂)-- Gene KO Mouse Core Lab (2003/1/1~)
- 基因體醫學國家型科技計畫(NRPGM)-A4 TMMC 核心設施
2005/5/1~2011/4/30
- 生技類核心設施平台維運計畫(NCFPB)-A4 TMMC 核心設施
2011/5/1~2015/4/30
- 生技類核心設施平台維運計畫(NCFPB)-A4 TMMC 核心設施
2015/5/1~2019/4/30




<http://140.112.133.74>





“與世界接軌”



A4-TMMC-NCFPB-TAIWAN
CGM-NTU-TAIWAN





核心設施宗旨

提供技術協助使用者製造基因轉殖/剔除小鼠



1. 模擬人類疾病
For mimicking human diseases
2. 作為新藥開發及藥物確效驗證
For drug development and for evaluating drug efficacy
3. 研究基因的功能
For studying gene functions

Transgenic Mouse Model Core 

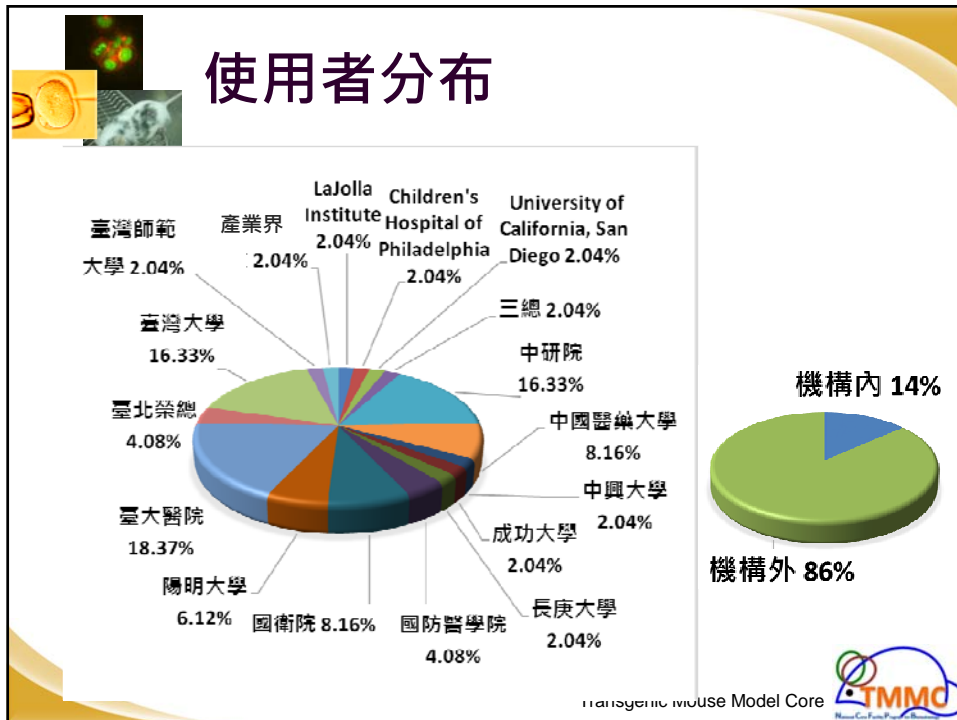
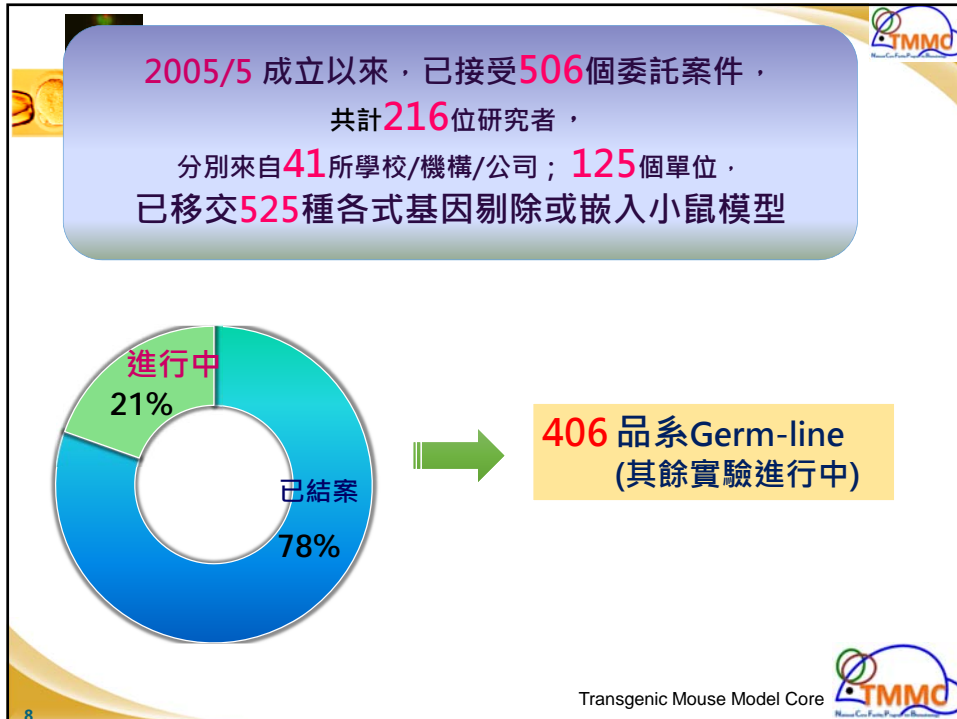


使用者委員會

- 臺灣大學
陳小梨 教授
- 臺灣大學
陳培哲 教授
- 陽明大學
蔡亭芬 教授
- 中央研究院
嚴仲陽 研究員

- 成功大學
郭保麟 教授
- 中國醫藥大學
黃志揚 教授
- 國家衛生研究院
紀雅惠 副研究員
- 慈濟大學
靖永皓 助理教授

Transgenic Mouse Model Core 






豐富的運送小鼠經驗

國外使用者小鼠出口列表

國家	單位	出口種類
美國費城	Children's Hospital of Philadelphia	小鼠胚胎
新加坡	Nanyang Technological University	小鼠
美國芝加哥	The University of Chicago	小鼠
美國費城	Children's Hospital of Philadelphia	小鼠精子
美國加州	La Jolla Institute for Allergy & Immunology	小鼠
美國加州	La Jolla Institute for Allergy & Immunology	小鼠
日本東京	The University of Tokyo	小鼠



Transgenic Mouse Model Core



A4-資源共享 (8種品系分讓予32位研究者)

(1) 條件式表現雙螢光小鼠 (基蛋所 陳佑宗老師共同開發)

國內研究者(10位)

- 馬偕醫院的張南驥教授
- 中研院分生所動物中心 蔡博士
- 中研院生醫所 嚴研究員
- 中研院生醫所 顏副研究員
- 陽明大學神研所連副教授、蔡教授
- 慈濟大學曾老師
- 長庚大學賴教授
- 國防大學鄭教授
- 長庚醫院楊醫師

國際學者(7)

- 美國 Harvard University
- 美國 MIT
- 美國 U. of Nebraska Med Center (Dr. Jyothi Arikath)
- 美國 UT Southwestern Med. Center (Dr. Q. Richard Lu)
- 英國 University College London (Dr. Ana Rolo)
- 義大利 Uni. degli Studi di Milano (Dr. Chiara Roncoroni)
- 小鼠種原庫The Jackson Laboratory主動要求收錄活體動物

(2) UCMA (1位)
➢ 葡萄牙 Dr. Leonord

(3) Mir146a (cKO) 研究者(2位)
➢ 台大俞教授, 國衛院

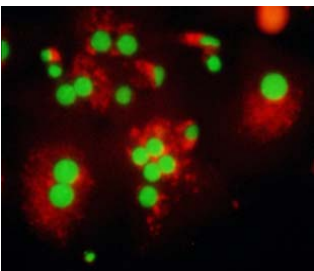
(4) Hepsin (2位)
➢ 英國, 長庚

(5) ZP3-Cre (1位) /Prm-Cre (3位)
➢ 成大、中研院


(6) FVIII KO (1位)
➢ 三總 陳醫師

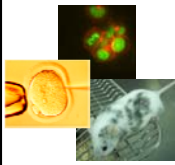
(7) Flpase (from Atsuko Oba, RIKEN)(1位)
➢ 台大

(8) Camk2a-iCre mice (中研院沈哲鯤教授分讓)(4位)
➢ 台大、長庚




LoxP-Stop-LoxP-mCherry(GPI)-EGFP(H2B)





Technology

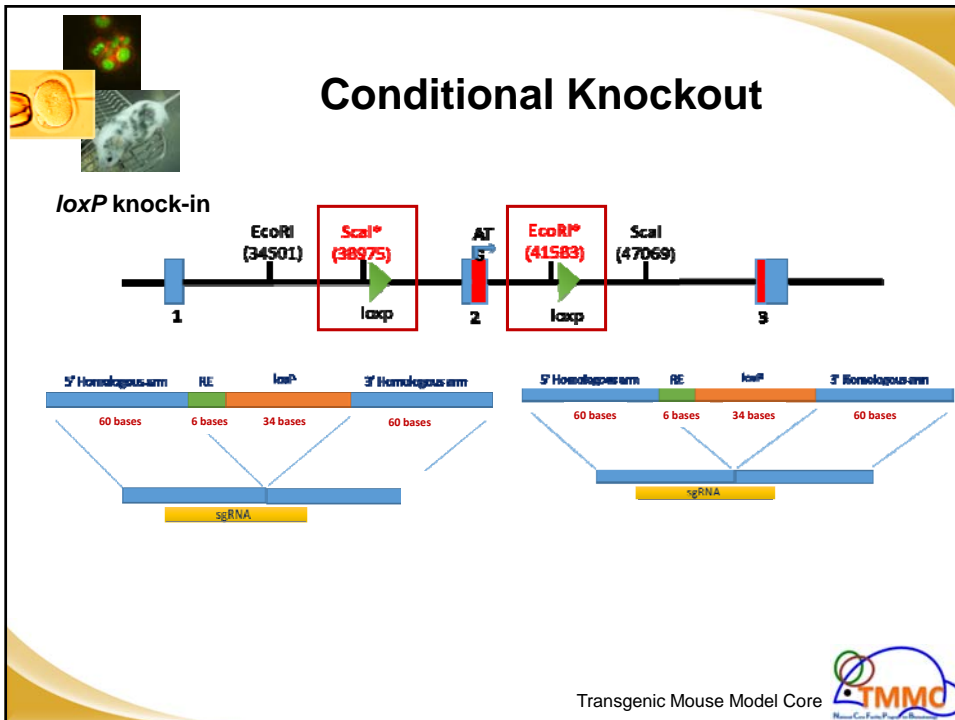
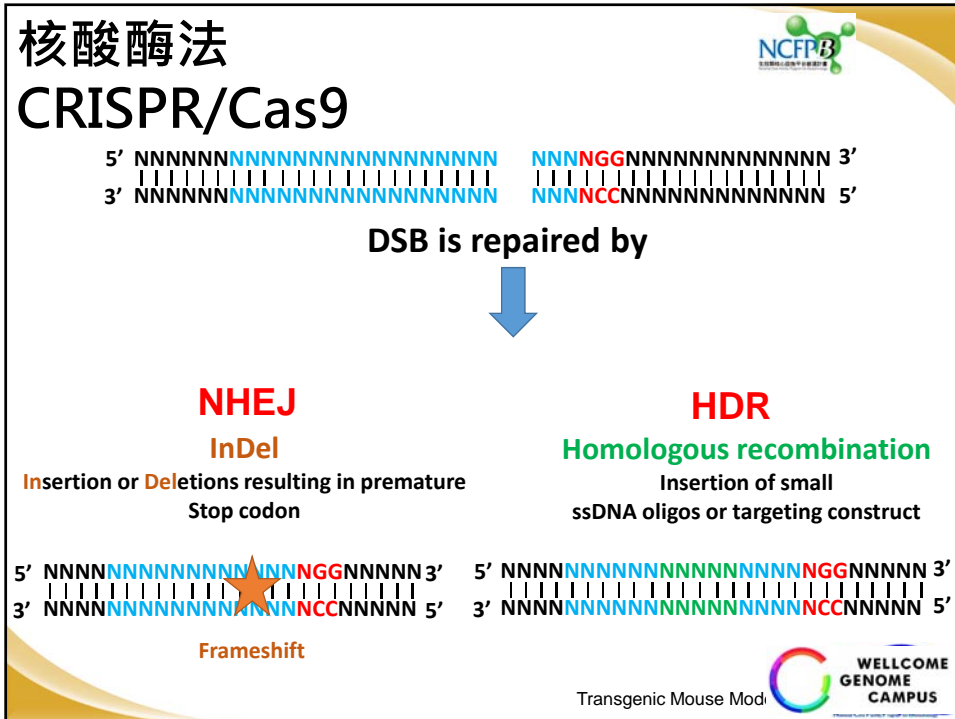
Transgenic Mouse Model Core 



基因剔除鼠

- 完全失去基因 (KO, null allele)
- 失去小鼠基因但表現人類基因(knock-in)
- 表現與人類突變基因同源的小鼠基因
(KI point mutation): humanized mice
- 組織特異性 (tissue-specific KO)
- 時間特異性 (conditional KO)

Transgenic Mouse Model Core 



Nuclease-based system (CRISPR/Cas9)

- 全身性基因剔除 (whole body and indel or large deletion Knockout)
- 基因突變點置入 (point mutation Knock-in)
- Cre/LoxP 條件式基因剔除 (Cre/LoxP conditional KO)
- 特定品系基因剔除/置入 (NSG免疫缺陷小鼠, 特殊品系小鼠etc.)
- 多基因剔除/置入 (multiple gene KO/KI)
- 特定基因轉殖鼠再突變 (New mutation into pre-existing Tg/KO mice)

Transgenic Mouse Model Core



CRISPR/Cas基因剔除效率

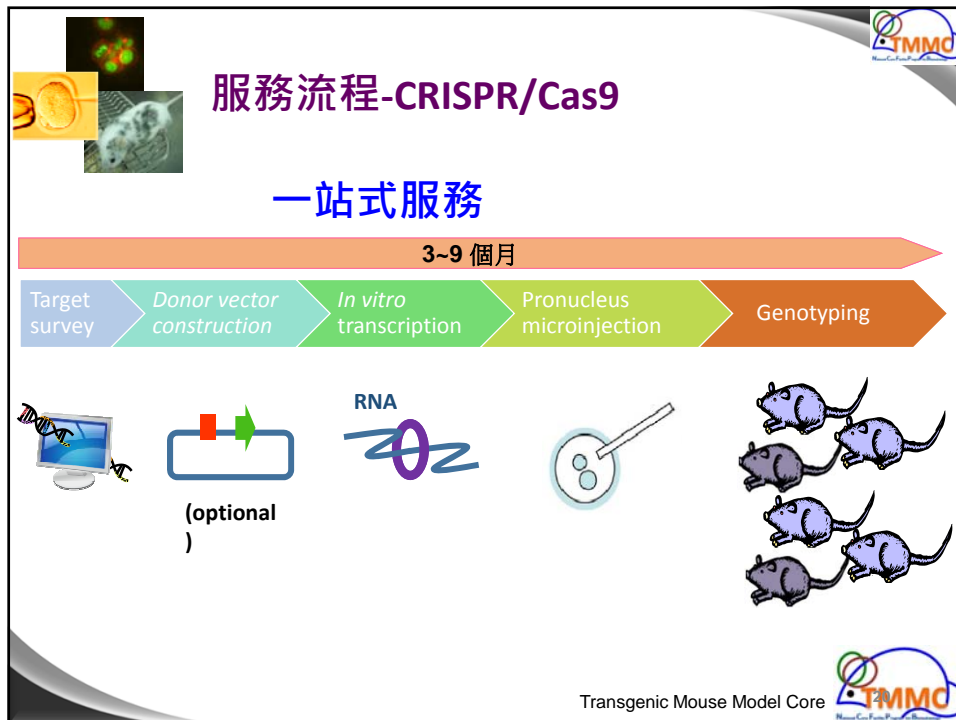
- (1) CRISPR/Cas9的基因剔除效率平均為57.7% (最高100%)
- (2) 突變點基因置入的效率平均為39% (最高可達100%)
- (3) LoxP置入的效率為7% (最高可達22%)


Service	Cases	Average	Range
Point mutation KI	31	37% ± 32%	4%~100%
cKO (5'+3' loxp KI)	11	10% ± 6%	4%~50%
KO (Indel)	7	58% ± 34%	7%~100%
KO (2 sgRNA)	13	40% ± 56%	8%~80%

提升 **targeting loxP**效率及利用CRISPR/Cas技術置入大片段基因所遭遇的問題與技術，世界各國的科學家目前仍然積極地在研發中。



Transgenic Mouse Model Core

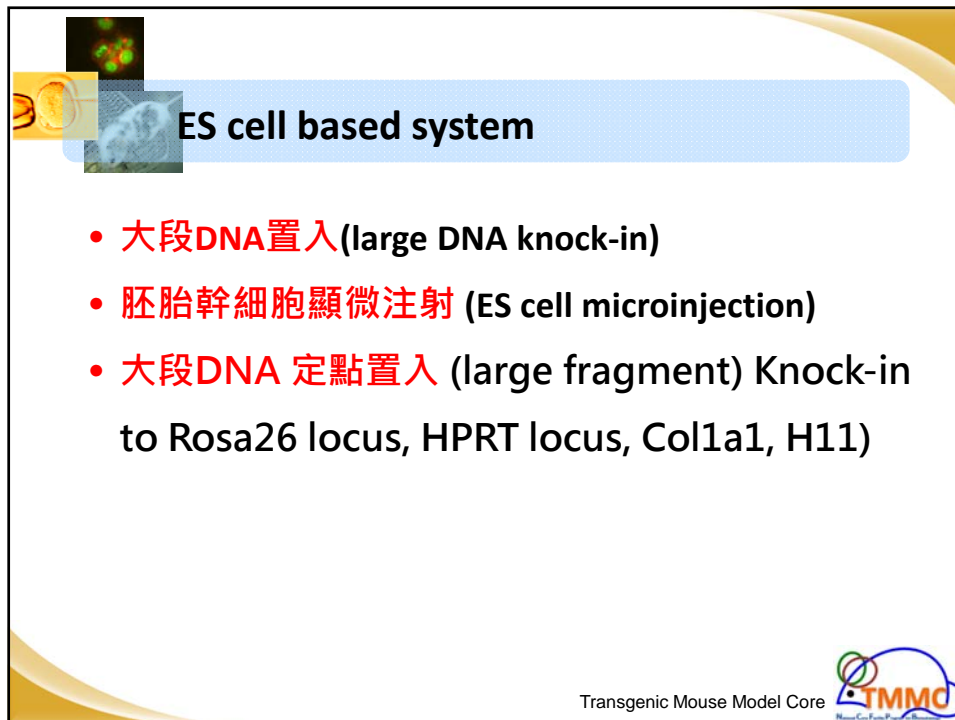







製造經費與時間評估

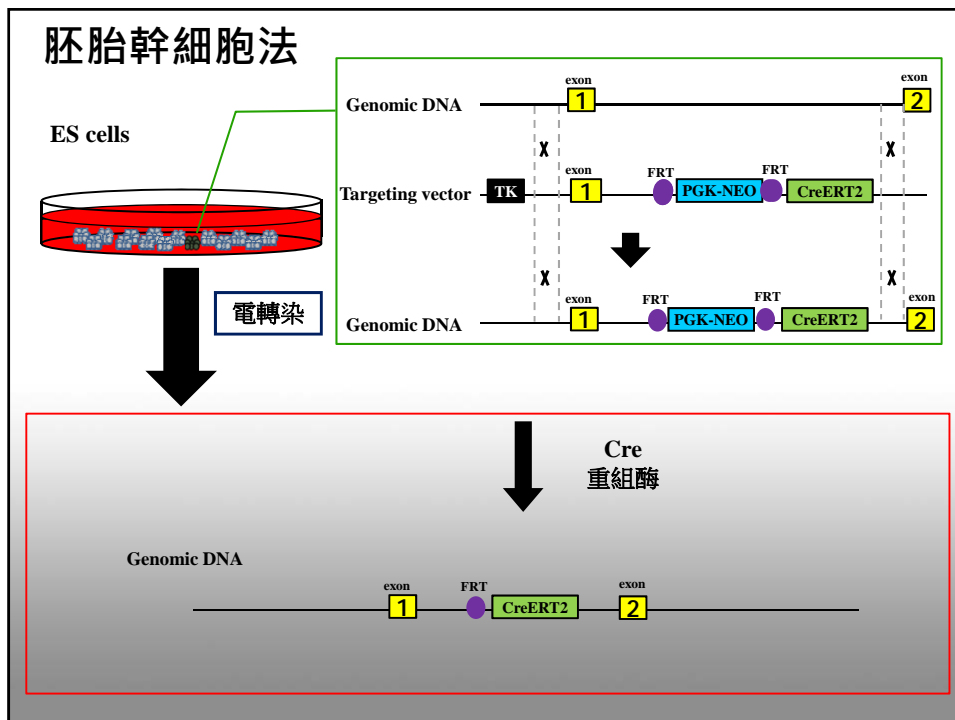
核酸酶法	胚胎幹細胞法
<p>Nuclease-based</p> <ul style="list-style-type: none"> • NT\$ 105,000~170,000 per case from RNA to founder (including genotyping) • Time: ~9 months 	<p>ES cell-based</p> <ul style="list-style-type: none"> • NT\$ 200,000~240,000 per case from DNA to chimera (to germlined mice) • Time: ~12 months
	

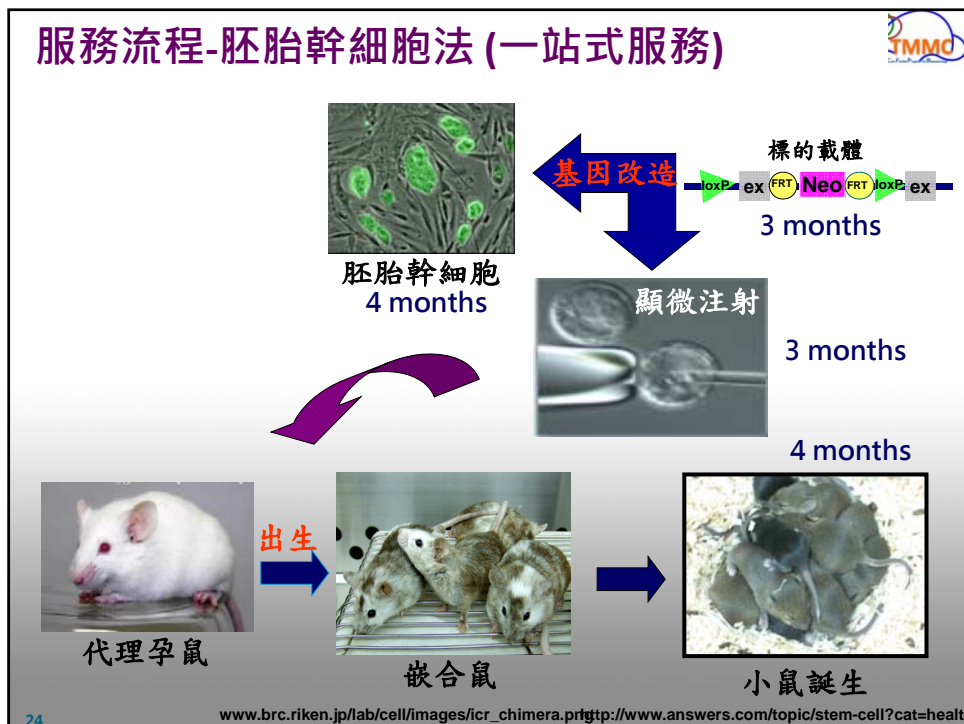


ES cell based system

- 大段DNA置入 (large DNA knock-in)
- 胚胎幹細胞顯微注射 (ES cell microinjection)
- 大段DNA 定點置入 (large fragment) Knock-in to Rosa26 locus, HPRT locus, Col1a1, H11)

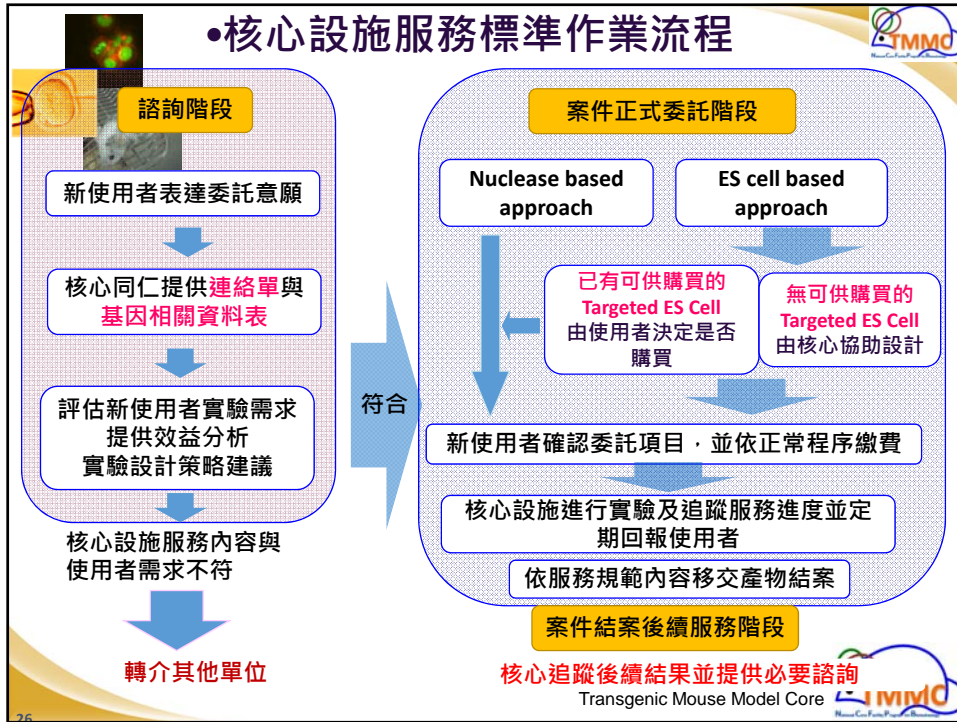
Transgenic Mouse Model Core 





• 服務項目&收費標準(Fees)

編號	服務項目	學術界收費	非學術界收費
胚胎幹細胞法 (ES cell based approach)			
A4-1	基因標的載體建構 (Targeting Construct Production)	35,000	70,000
A4-2	胚幹細胞基因標的 (ES Cell Gene Targeting)	60,000	150,000
A4-3	嵌合鼠產製 (Chimera Production)	40,000	80,000
A4-7	標的後之胚幹細胞篩選與確認 (Screening of Targeted ES Cell)	12,500	25,000
A4-10	Cre / Flpe 重組酶轉染胚幹細胞 (Cre / Flpe Recombinase Transfection)	30,000	50,000
A4-11	胚幹細胞DNA萃取 (DNA Extraction of Targeted ES Cell Service)	10,000	25,000
A4-13	嵌合鼠配種 (Chimera Breeding Service)	50,000	147,000
附屬服務項目			
A4-9	小鼠胚胎纖維母細胞製備 (Mouse embryonic Fibroblast (E13.5))	10,000	25,000
A4-12	南方墨點法篩選用探針測試 (Probe Testing for Southern Screening Service)	2,500	15,000
A4-14	細菌人工染色體萃取 (BAC DNA Extraction Service)	6,000	16,000
A4-15	標的載體萃取 (Extraction of Targeted Vector Service)	7,000	17,000
核酸酶法 (Nuclease based approach)			
A4-18	以核酸酶法產製基因修飾小鼠 (Production of gene modified mice by nuclease-based approach)	80,000	120,000
A4-18-1	小嚮導核醴核酸製備 (Production of small guide RNA)	25,000	55,000
A4-18-2	以階段性核酸酶法產製loxP/FRT基因置入小鼠 (loxP/FRT knock-in by stepwise nuclease-based approach)	90,000	135,000



結案報告書

Case Report

Project: Sxxxx C20/31 knockin mouse
Case No 404
PI: Dr. 呂XX

gRNA design

Targeting Strategy
Sxxxx-C20/31 design

Targeting strategy

Targeting Strategy
Sxxxx-C20/31 eODN design

PCR genotyping

Original PCR Data
PCR genotyping and RFLP digest of amplicons

Sequencing data

sequence primer: Sxxxx-VRI 5' TTTGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG 3'

Founders' data

II. Mouse available for Delivery(I)

Sex	gRNA	ES cell	ES cell genotype	ES cell	Founders
Male	1	35140511	35140511	35140511	Founders 1-2
Female	1	35140511	35140511	35140511	Founders 1-2
Male	2	35140512	35140512	35140512	Founders 3-4
Female	2	35140512	35140512	35140512	Founders 3-4

