

第 127 回関西実験動物研究会 講演抄録-1

CRISPR/Cas9 による哺乳動物でのゲノム編集

真下 知士

大阪大学医学部附属動物実験施設

近年、ZFN、TALEN、CRISPR といったゲノム編集技術の登場により、簡単、短期間、低コストで遺伝子改変動物を作製できるようになった。これら人工ヌクレアーゼは、受精卵にインジェクションするだけで遺伝子改変動物を作製できるため、ES 細胞が利用できなかったマウス以外の実験動物でも遺伝子改変が可能となった。本研究会では、これまでに実験用ラットを中心に行ってきたゲノム編集技術の方法、さらにゲノム編集技術により開発した疾患モデルラットについて紹介する。

我々は、ラット遺伝子の片側アレルだけを改変したアレル特異的ゲノム編集や、一本鎖オリゴヌクレオチド(ssODN)を用いることで、1 塩基置換、数十塩基挿入、数 kb 欠失といった様々なノックインを行ってきた(Yoshimi K *et al.*, **Nat Commun** 2014)。短い DNA 断片のゲノム編集は、ssODN を利用するが、GFP などの長い DNA 配列はドナープラスミドを用いる。我々は、標的配列とプラスミド DNA を二つの gRNA(はさみ)で切断し、切断点を結合させるための二つの ssODN(のり)を利用することで、効率的にプラスミドをノックインする方法(2H2OP 法)を開発した。さらに 2H2OP 法を利用することで、BAC プラスミドの標的配列への導入や、ラット遺伝子をヒト遺伝子ホモログへ入れ換えたヒト遺伝子置換にも成功した。

CRISPR/Cas9 は、マウス、ラットだけでなく様々な生物種においてノックアウト、ノックインなどのゲノム編集を行うことができる。今後、遺伝子機能解析、病態解明、新規医薬品の開発等に広く利用されるだろう。