

ゲノム編集マウス ワーゲンヨソブ

共催:理研バイオリソースセンター



招待講演

Platinum TALENおよびマルチガイドCRISPRシステムを用いたゲノム編集

広島大学 佐久間 哲史

染色体工学技術によるヒト化モデル動物作製法の開発と応用

鳥取大学 香月 康宏

特別講演

電気穿孔法によるハイスループットなマウスゲノム編集

千葉大学 橋本 晶和

理研各センターの取り組みと現状

脳科学総合研究センター 荒井 高

統合生命医科学研究センター 磯野 協一

生命システム研究センター 岡田 康志

ライフサイエンス技術基盤研究センター 清成 寛

バイオリソースセンター 綾部 信哉

バイオリソースセンター 吉木 淳

世話人

小倉淳郎 (ogura@rtc.riken.jp)

眞貝洋一 (yshinkai@riken.jp)

磯野協一 (koyoichi.isono@riken.jp)

平成27年3月17日 13:00~18:00 (懇談会 18:00~20:30・会費1000円)

理化学研究所バイオリソースセンター・森協和郎ホール

事前申し込み不要

ゲノム編集マウスワークショップ プログラム (第125回 BRC セミナー合同)

日時・場所

平成 27 年 3 月 17 日(火)

13:30~18:10(懇談会18:15~20:30)

理化学研究所バイオリソースセンター 森脇和郎ホール

プログラム

13:30

センター長あいさつ

13:35 - 14:20

「Platinum TALEN およびマルチガイド CRISPR システムを用いたゲノム編集」
広島大学 佐久間 哲史先生 (BRC セミナー)

14:20 - 15:00 (理研内各センターからの報告-1)

「BSI 支援業務におけるゲノム編集マウス作製利用状況」
荒井 高 (脳科学総合研究センター)15分 + 5分

「CRISPR ゲノム編集マウス作製の現状と対策@横浜」
磯野 協一(統合生命医科学研究センター)15分 + 5分

15:00 - 15:15 休憩

15:15 - 16:30 (理研内各センターからの報告-2)

「合理的分子設計によるゲノム編集酵素 TALEN の改良」
岡田 康志(生命システム研究センター)15分 + 5分

「CRISPR/Cas9 システムを用いたマウス受精卵及び ES 細胞におけるゲノム編集」
清成 寛(ライフサイエンス技術基盤研究センター)15分 + 5分

「CRISPR/Cas9 による IMPC マウス生産の効率化」
綾部 信哉(バイオリソースセンター)15分 + 5分

「ゲノム編集マウス系統の寄託の現状と品質検査」
吉木 淳(バイオリソースセンター)10分 + 5分

16:30 - 16:45 休憩

16:45 - 17:05

「電気穿孔法によるハイスループットなマウスゲノム編集」
千葉大学 橋本 昌和先生 (特別講演)

17:05 - 17:50

「染色体工学技術によるヒト化モデル動物作製法の開発と応用」
鳥取大学 香月 康宏先生 (BRC セミナー)

17:50 - 18:10

総合討論 (終了後に集合写真撮影)

18:15 - 20:30

懇談会(森脇和郎ホール前)

世話人: 眞貝洋一(ILs)、磯野協一(IMS)、小倉淳郎(BRC)
ポスターイラスト: 藤村雄一(IMS)

※理研内センターからの報告は、時間厳守をお願いいたします。鈴1(発表終了2分前)、鈴2(発表終了)

Platinum TALEN およびマルチガイド CRISPR システムを用いたゲノム編集

広島大学大学院 理学研究科 数理分子生命理学専攻
佐久間 哲史

TALEN や CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集法は、原理上二本鎖 DNA をゲノムとして有する全ての生物に適用できる遺伝子改変法である。最近では、単純な遺伝子破壊(ノックアウト)だけでなくレポーター遺伝子のノックインや一塩基置換の導入、複数遺伝子の同時改変、染色体の広域欠失、転座の誘導など、より複雑かつ精緻なゲノム改変の例も多数報告されている。本講演では、ゲノム編集の基礎と現状を概説すると共に、当研究室で開発した高活性型 TALEN (Platinum TALEN)¹⁾やマルチガイド CRISPR/Cas9 システム²⁾を用いたゲノム編集の実施例を紹介する。また、マイクロホモロジー媒介末端結合 (MMEJ) を利用した新規ノックイン法 (PITCh 法)³⁾によって、培養細胞ならびに動物個体での簡便かつ効率的な遺伝子ノックインが可能となったので、併せて報告する。

1) Sakuma et al., Sci. Rep., 3:3379 (2013)

2) Sakuma et al., Sci. Rep., 4:5400 (2014)

3) Nakade et al., Nat. Commun., 5:5560 (2014)

特別講演

電気穿孔法によるハイスループトなマウスゲノム編集

千葉大学大学院 医学研究院

橋本 昌和

CRISPR/Cas9 系によるゲノム編集技術は様々な生物種において利用され、遺伝学的解析の進歩に非常に大きく貢献しているが、マウスなどの哺乳動物における同技術に際し、Cas9 mRNA と gRNA あるいはそれらの発現ベクターをマイクロインジェクション法によって受精卵に導入されてきた。マイクロインジェクションは古典的な手法でこれまで多くの研究に寄与してきたが、熟練した手技と、準備や処理に多くの時間を要するのが懸念材料であった。

一方でもうひとつのメジャーでなおかつ簡便な遺伝子導入法である電気穿孔法(エレクトロポレーション法)はこれまでさまざまな細胞種や組織などに用いられてきたが、哺乳類受精卵に用いられたケースはごくわずかであった。

本発表では電気穿孔法によって Cas9 mRNA と gRNA を一度に数十個の受精卵に導入することを可能にし、かつ高い生存率でマイクロインジェクションにひけをとらない効率でゲノム編集を実現したことを紹介する。

ハイスループトな本手法の台頭によって、哺乳動物においては誰でも簡単に短時間でゲノム編集が可能になることから、たとえば興味ある発生過程に関与する遺伝子の F0 世代でのスクリーニングなども可能になると考えられる。

染色体工学技術によるヒト化モデル動物作製法の開発と応用

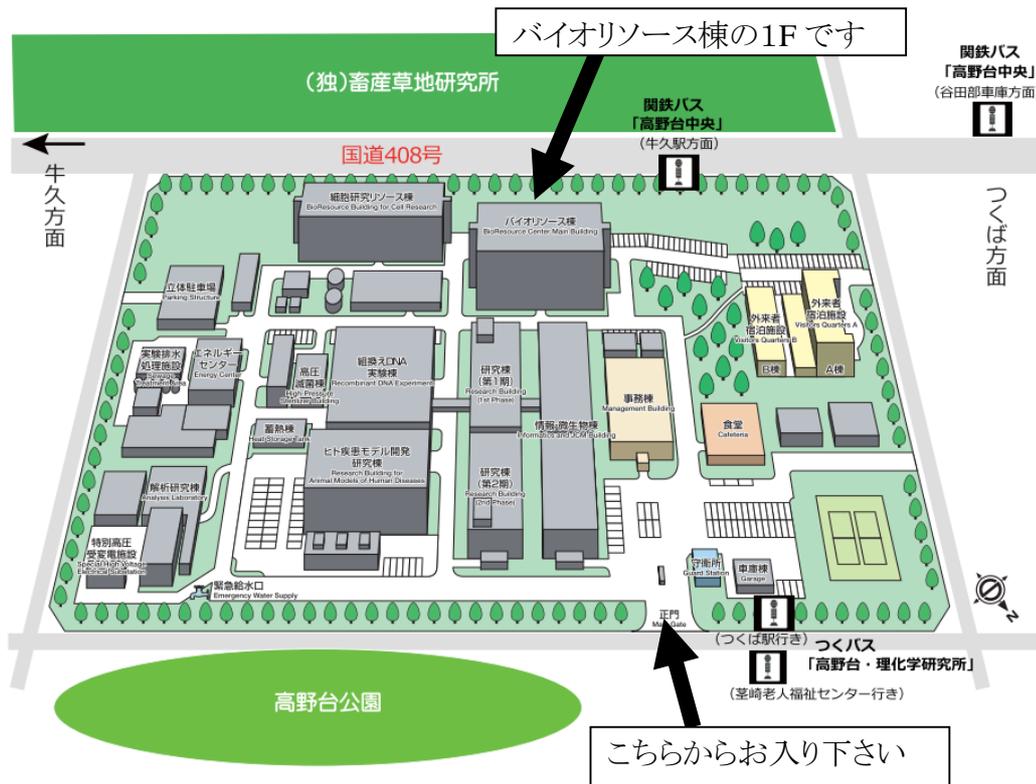
鳥取大学大学院医学系研究科/染色体工学研究センター

香月 康宏

トランスジェニック技術は遺伝子を破壊または導入し、その表現型を解析することにより、導入した遺伝子がどのような機能を持つかを知る上で非常に重要な技術となっている。しかし、クローン化 DNA 断片を使用するこれまでのトランスジェニック技術では、導入可能な DNA は通常数百 kb が限界であり、1Mb を超える大きさを持つ遺伝子や遺伝子クラスターの導入は不可能であった。これらの問題を解決するために、巨大なヒト遺伝子、複数のヒト遺伝子を比較的安定な形で導入可能であるヒト人工染色体 (human artificial chromosome : HAC) およびマウス人工染色体 (mouse artificial chromosome : MAC) の開発を染色体工学技術を用いて行ってきた。これまでに、ヒト化薬物代謝モデル動物作製や染色体異常症候群モデル作製を目的として、ヒト遺伝子クラスター領域を上記 HAC/MAC ベクター上に搭載し、マウスあるいはラットに導入することで、ヒト遺伝子群を発現するマウスあるいはラットの作製に成功した。一方、完全なヒト化モデルマウスやラットを作製するためには上述のヒト遺伝子に対応する内在遺伝子を破壊する必要がある。これまではマウス ES 細胞において Cre-loxP システム等を用いてクラスターごと破壊することで、完全なヒト化マウスの作製を行ってきたが、最近ではゲノム編集技術を利用することで容易にマウスやラットの内在遺伝子を破壊することが可能となった。本講演では、これまでの染色体工学技術によるヒト化モデル動物作製技術を紹介し、最近のゲノム編集技術との融合によるヒト化モデル動物・疾患モデル細胞の作製の現状について、紹介する。

(メモ)

理化学研究所筑波事業所・バイオリソースセンター アクセス案内



【つくバス】所要時間約 25 分

つくばセンター → 高野台・理化学研究所:10:55, 11:25, 12:25, 12:55, 13:25, 13:55, 14:25.....

高野台・理化学研究所→つくばセンター:18:16, 18:46, 19:16, 19:46, 20:11, 20:36, 21:06, 21:36(最終)