

総合トップ > 基礎・研究支援 > 徳島大などが電気パルスでCRISPRゲノム改変を高効率化、ベックスが7月に装置発売

## 徳島大などが電気パルスでCRISPRゲノム改変を高効率化、ベックスが7月に装置発売

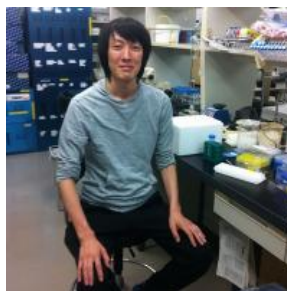
2015年7月8日 10:00 1pt

河田孝雄

Twitter

いいね! { 0 }

大阪大学生命機能研究科の橋本昌和助教（2015年6月に千葉大学医学研究院助教から異動）と徳島大学藤井節郎記念医科学センターの竹本龍也助教は、エレクトロポレーション法でCRISPR/Cas9システムをマウス受精卵に導入することにより、マウスのゲノム編集を高効率・高生存率で作製できる手法を確立した。Nature Publishing Groupが発行するオープンアクセス誌であるScientific Reports誌で2015年6月11日に成果を発表した。この手法に用いられた電気パルス遺伝子導入装置（エレクトロポレーター）「CUY21EDIT II」は、ベックス（東京・板橋、森泉俊幸社長）の製品。同社は今回の成果を踏まえ、ゲノム編集専用に特化して価格を汎用機に比べ3分の2に下げた装置「Genome Editor」を7月1日に発売した。



阪大の橋本助教  
画像のクリックで拡大表示



徳島大の竹本助教  
画像のクリックで拡大表示

CRISPR/Cas9システム（以降、CRISPRと略記）は簡便・手軽なゲノム編集を実現できるため、分子生物学の基本ツールとして急速に普及している。遺伝子改変マウスなどの作製においては、受精卵へのCRISPRの導入を、顕微鏡を用いて顕微注入するマイクロインジェクション法で行っており、技術者の熟練度により効率が異なることが知られている。

橋本助教らが開発したエレクトロポレーション法では、熟練した技術者を必要としないため、CRISPRゲノム編集による遺伝子改変マウスの作製がこれまで困難だった研究機関でも、実施しやすくなる。

受精卵を処理する所要時間も大幅に削減できる。100個の受精卵の処理時間は、今回のエレクトロポレーションではわずか5分。マイクロインジェクションでは2時間以上かかってしまうのに比べ、20分の1の短時間で済む。

ただし、Cas9のmRNAの必要量はマイクロインジェクションに比べ4倍から10倍ほど多い。

まずは、緑色蛍光蛋白質GFPや赤色蛍光蛋白質mCherryの遺伝子のmRNAを、ベックスの装置を用いたエレクトロポレーション法で受精卵の細胞質に導入し、蛍光蛋白質が発する蛍光を確認した。

次いで、フェノタイプを見やすい遺伝子としてFgf10遺伝子を選び、Fgf10遺伝子を標的としたgRNAとCas9蛋白質のmRNAを、エレクトロポレーションで受精卵の細胞質に導入したところ、Fgf10のホモ欠損（ノックアウト）で観察されるフェノタイプである四肢欠損が、39匹中34匹で見られた。またFgf10のヘテロ欠損で見られる四肢変異は39匹中4匹で見られた。ホモ欠損率は87%、ヘテロ欠損率は10%で、変異を導入できなかったのは39匹中1匹のわずか3%だった。

今回の論文には記載していないが、他の2種の遺伝子についても同様の高効率でKOできることを確認した。

さらには、エレクトロポレーションで細胞質に導入する核酸として、gRNAとCas9mRNAとともに、短い合成オリゴDNAであるssODNも加えることにより、ゲノムに点突然変異や短い外来遺伝子を挿入できることを見いだした。コンディショナルKOマウス

→ アカデミック版について

→ 購読お申し込み

お知らせ

ID統合作業に伴うサービス停止について

『日経バイオテク』最新号・6月29日号目次

【参加無料】日経バイオテク投資セミナー2015

書籍「世界最高のバイオテク企業」4/27発行

4月新刊と料金改定のお知らせ

書籍「日経バイオ年鑑2015」好評発売中

### 日経バイオテクONLINEアクセスランキング

|     | 昨日                                         | 週間 | 月間 |
|-----|--------------------------------------------|----|----|
| 1位  | 【連載】寛和久満夫の深読み科学技術政策(第75回)、「研究資金改革は成功するの... |    |    |
| 2位  | ロート製薬、4年後めどに脂肪由来幹細胞用いた再生医療製品の上市目指す         |    |    |
| 3位  | 東北メディカル・メガバンク、501人の日本人の健康人のオミックス解析データを公... |    |    |
| 4位  | 日経バイオテク6月29日号「編集長の目」、遺伝子治療分野で欧米製薬企業に活発な... |    |    |
| 5位  | 山崎製パンがヘルシーDo「ランチバック」を全道で発売、アミノアップのオリゴノ...  |    |    |
| 6位  | 徳島の蛋白質科学会に800人、蛋白質の品質管理や化学修飾で第一三共、アステラス... |    |    |
| 7位  | 【機能性食品 Vol.195】雪印が内臓脂肪を減らすガセリ菌SP株で機能性表示... |    |    |
| 8位  | 農水省系の国立研究開発法人、2016年春の合併で4組織に、水産研究・教育機構が... |    |    |
| 9位  | FIRM、再生医療産業化拠点実証タスクフォースに参画する10社を発表         |    |    |
| 10位 | 後発品使用促進目標を「数量ベース」にした功罪【日経バイオテクONLINE Vo... |    |    |

の作製に使われるloxP配列（34塩基）をゲノムに挿入できることは、配列解析により確認した。

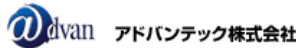
プラチナ製のチャンバーの電極間にCRISPRシステムのRNAの溶液を入れ、それにマウス受精卵を置いて電気パルスをかけることでRNAを導入できる。現在用いているチャンバーのサイズの場合、5μLといわずかな溶液に、受精卵を40個から50個入れて、一連の操作を行える。溶液に一定濃度で含ませるRNAの量は、液量が少ないほど少量で済む。今回の場合は、1回当たりに必要なRNAの合成費用は500円ほど。

現在のところ、このエレクトロポレーションに必要なCas9のmRNAの必要量は、500ngから2μg程度。マイクロインジェクションに比べると4倍から10倍ほど多くの量が必要だ。橋本助教らは続いて、溶液量をさらに半分にした2.5μLに対応したチャンバーでの導入も試みている。チャンバーはプラチナを用いるため価格は8万円ほど。何度も利用できるので、コスト要因としては小さいようだ。

ベックスが7月1日に発売したGenome Editor（型式GEB15）の希望小売価格は124万円。論文で使用した装置CUY21EDIT IIの180万円に比べ、7割弱に設定した。さらにキャンペーン時には、参考価格99万円を用意している。

関連記事

- 東京大学、ゲノム編集のためのガイドRNA設計ソフトウェアCRISPRdirectを公開（2014-11-26）
- 来週火曜日から神戸で分子生物学会年会、「Mr.CRISPR」と呼ばれる日本人研究者【日経バイオテクONLINE Vol.1972】（2013-11-29）
- 京都大学、新規発癌遺伝子アポベック3による新たな発癌機構（2012-11-15）
- 【機能性食品 Vol.152】STAP検証実験とCre-loxP、CRISPR/Cas、ゲノム編集、NBT（新育種技術）（2014-8-29）
- 【機能性食品 Vol.189】「ドローン」と「ゲノム編集CRISPR」は似ているかも、機能性表示食品はゾロゾロトクホ（2015-5-22）
- 2013年の農業/環境分野の高関読記事はCRISPR、最初の論文はクラミドモナス【GreenInnovation Vol.254】（2014-1-30）
- 【機能性食品 Vol.130】STAP細胞、デジタル（ゲノム）とアナログ（エピゲノム）の間で、機能性食材研究（2014-2-21）
- Wmの憂鬱、がん細胞のゲノム不安定性を生ずるたんぱく質発見【Proteomicsメール Vol.101】（2013-7-18）
- 日本オリジナル「adiponectin」とボディマッピング、ゲノム編集でCRISPR大躍進【日経バイオテクONLINE Vol.1956】（2013-11-1）
- 産業技術総合研究所、コナカイガラムシの代謝経路を構築する複雑な共生システムを発見—ゲノム、細胞、個体などの基本概念にインパクト—（2013-6-24）



専門研修

| 分野別ランキング（週間） |                                            |          |          |
|--------------|--------------------------------------------|----------|----------|
| 医薬・医療        | 基礎・研究支援                                    | 食品・農業・環境 | 投資・行政・社会 |
| 1位           | ロート製薬、4年後めどに脂肪由来幹細胞用いた再生医療製品の上市を目指す        |          |          |
| 2位           | 慶應大発のサリバテック、癌患者に共通する唾液中の代謝物を用いた早期発見技術を開... |          |          |
| 3位           | 日経バイオテク6月29日号「編集長の目」、遺伝子治療分野で欧米製薬企業に活発な... |          |          |
| 4位           | 理研升島氏、一細胞代謝解析に世界中の製薬企業が注目、「今後の研究の方向性はfr... |          |          |
| 5位           | 東大片岡教授ら、ナノマシンで日帰りの癌治療実現へ、中性子捕捉療法で初のセラノス... |          |          |
| 6位           | 味の素とSRL、「アミノインデックスがんリスクスクリーニング」の7種目は膵臓癌... |          |          |
| 7位           | 理研高橋氏ら、2例目の移植は断念、自家iPS細胞由来再生医療故の難しさも       |          |          |
| 8位           | 国立衛研の井上氏、吉田氏、「核酸医薬の安全性評価は核酸医薬特有の点があるが、ど... |          |          |
| 9位           | 日本核酸医薬学会が4月に発足、実用化までの道筋を最初の段階からつかまえられる学... |          |          |
| 10位          | 資生堂、国内で毛髪再生技術の臨床研究を実施へ                     |          |          |

テーマサイト

- 日経バイオテクONLINE
- 日経バイオテクONLINE 機能性食品版
- 日経バイオテクONLINE 環境・農業版
- 日経バイオテクONLINE Webマスターの憂鬱 Premium
- 日経バイオ年鑑2015
- 日経バイオ年鑑2014