

平成 30 年 5 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04319

研究課題名(和文) 次世代型CRISPRシステムの構築によるヒト遺伝子機能解明のための基盤技術開発

研究課題名(英文) Establishment of next-generation CRISPR system for human functional genomics

研究代表者

程 久美子 (Ui-Tei, Kumiko)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授

研究者番号：50213327

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、CRISPR法の改良による次世代型ヒト遺伝子機能解明のための基盤技術の開発を目的とした研究である。CRISPRシステムとは、原核生物の免疫防御システムを利用した新しいゲノム編集法であり、あらゆる生物種に応用可能な画期的技術として注目されている。CRISPR法では、標的部位を塩基配列で識別するガイドRNAがCas9たんぱく質と複合体を形成し、ガイドRNAが対合したゲノム領域をCas9が切断する。そのため、本研究ではゲノム切断活性を伴わないdCas9を用い、実験的手法とバイオインフォマティクスを用いた手法を組み合わせることで、ゲノム編集効率が高く実用的な手法を確立することに成功した。

研究成果の概要(英文)：This study aims to develop genome editing technology of next generation for human functional genomics by improving CRISPR method. The CRISPR system is a new genome editing technology based on a prokaryotic acquired immune system, and has attracted attention as a breakthrough technology applicable to all kinds of organisms. In the CRISPR system, a guide RNA that distinguishes a target genomic site with a complementary base sequence forms a complex with a Cas9 protein, and Cas9 cleaves a genomic region where the guide RNA forms base-pairing. Therefore, in this study, using dCas9 which has no genome cleavage activity, we succeeded in establishing a practical CRISPR technique with high genome editing efficiency by combining experimental method and bioinformatics method.

研究分野：ゲノム生物学

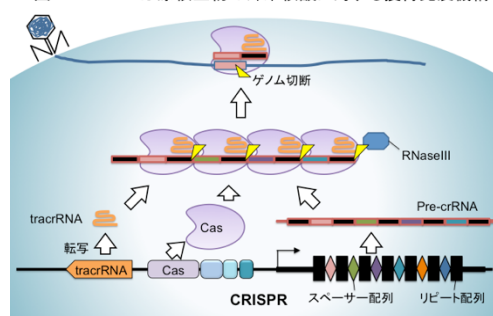
キーワード：CRISPR dCas9 base-pairing thermodynamics

1. 研究開始当初の背景

CRISPR システムとは、微生物の Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) という名称の遺伝子領域由来の CRISPR RNA (crRNA) と CRISPR-associated (Cas)タンパク質を用いた新しいゲノム編集システムである(図 1)。CRISPR システムは、微生物の獲得免疫機構であることが 2007 年に初めて報告された(Wiedenheft, B. *et al. Nature* 482, 331, 2012; Jinek, M. *et al. Science* 337, 816, 2012; Barrangou, R. *et al. Cell* 315, 1709, 2007)。2013 年には、多様な生物種において酵母と同様の遺伝学的解析を可能とするゲノム編集法として利用できることが報告され、ヒトを初めとした、これまでゲノム編集・改変が難しいとされていた生物で利用することにより、任意の遺伝子をゲノムレベルで簡便に改変することを可能とした画期的な手法として、急速に普及した(Mali, P. *et al. Science*, 339, 823, 2013; Cong, L. *et al. Science*, 339, 819, 2013; Jinek, M. *et al. eLife* 2, e00471, 2013)。

CRISPR システムでは、標的となる DNA 配列を塩基配列の相補性を利用して識別するガイドとなる crRNA (CRISPR RNA)と、DNA に二本鎖切断を引き起こす Cas9 タンパク質、さらに crRNA と Cas9 タンパク質をつなぐ tracrRNA (trans-activating CRISPR RNA)が必要である。しかし、crRNA と tracrRNA は、両者を連結した sgRNA (single guide RNA)として用いることが可能であることが示され(Jinek, M. *et al. Science* 337, 816, 2012)、Cas9 と sgRNA の2つの因子があればゲノム編集が可能となっている(図2A)。細胞内で sgRNA と Cas9 が複合体を形成すると、Cas9 の立体構造が変化して二本鎖のゲノム DNA に結合し、ゲノム DNA 上を走査して標的配列を探索すると考えられている。標的配列とは、sgRNA のスペーサー配列と呼ばれる 5' 末端の20塩基と相補的な配列である。標的領域の認識には sgRNA のスペーサーだけでなく Cas9 の PI (PAM (Protospacer Adjacent Motif) interacting)ドメインも寄与しており、標的配列となるスペーサーと相補的な20塩基に続く数塩基の PAM 配列を必要とする。ゲノム編集技術で最もよく利用されている化膿レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) 由来の Cas9 は、PAM 配列として“NGG“の3塩基を認識する。Cas9 はまずこのモチーフ配列を識別し、ついでスペーサー配列が標的配列を認識する。Cas9 が標的部位に結

図1: CRISPRは原核生物の外来核酸に対する獲得免疫機構



合すると、2つのヌクレアーゼ活性中心が二本鎖 DNA のそれぞれの DNA 鎖を切断する(DNA 二本鎖切断)。二本鎖切断が生じた部位は、細胞内の DNA 修復機構によって修復され、非同末端結合による塩基挿入・欠失(insertion/deletion, indel)による非同末端結合(non homologous end joining)がおこる。一方で、相同組換え可能な DNA 断片が存在する場合には、相同組換え修復により標的遺伝子に相同組換え修復(homology directed repair)を利用して変異を導入することができる。

このように、CRIPR/Cas9 システムは、標的認識に sgRNA のスペーサーと相補的な20塩基とそれに隣接する PAM 配列を必要とすることから、特異性の高いシステムであると考えられてきたが、sgRNA のスペーサーと完全に相補的ではないミスマッチを含む配列に対しても、sgRNA が結合し、Cas9 によって二本鎖切断が生じる場合があることが報告された(Lin, Y. *et al. Nucleic Acids Res* 42, 7473, 2013; Fu, Y. *et al. Nat. Biotechnol.* 31, 822, 2013)。その結果、意図しない領域に変異が導入されることがあり、オフターゲット変異と呼ばれる。しかし、標的配列の認識においてミスマッチが許容される部位には偏りがあるとされており、20塩基の標的配列のうち、PAM 配列側から8塩基もしくは12塩基以内の領域はほぼ完全に sgRNA と相補的である必要があるとされ、特に特異性が高いこの領域はシード領域(seed region)と呼ばれる。その一方で非シード領域のミスマッチは許容されやすい。そのため、オフターゲット変異を避けるにはシード領域の配列の特異性が高いことが特に重要であると考えられている(Mali, P. *et al. Science*, 339, 823, 2013; Cong, L. *et al. Science*, 339, 819, 2013; Jinek, M. *et al. eLife* 2, e00471, 2013、他)。CRIPR/Cas9 システムでは一旦ゲノム DNA に変異が導入されてしまうと、そのゲノム領域を元どおりに修復することは難しい。そのため、off-target 変異が誘発されない CRISPR/Cas9 システムの構築は重要な課題となっている。

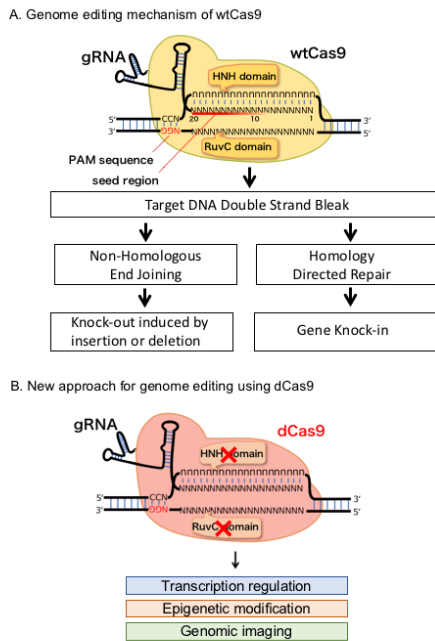


図2 CRISPR/Cas9システムの概略
 (A) ゲノム編集で用いられるDNA切断型Cas9 (wtCas9) が標的を切断するためには、sgRNAと相互作用して標的と結合する必要がある。Cas9自体はPAM配列を認識する。スパーサー配列のうちPAM配列側の8~12塩基はシード領域として標的の認識に特に重要であるとされる。wtCas9によって標的DNAの二本鎖切断が生じると、細胞内のDNA修復機構を利用して、非同組換え末端結合(Non-Homologous End Joining)あるいは非同組換え修復(Homology Directed Repair)によって変異や修復が起こる。
 (B) 非切断型Cas9 (dCas9) は、sgRNAと相互作用して標的に結合することはできるが、ヌクレアーゼ活性が失活しているため、DNA切断を生じない。これを利用して、様々な応用手法が提案されている。

特定のゲノム領域に変異を導入する従来の手法としては、Zinc finger nuclease (ZFN) や Transcription activator-like effector nuclease (TALEN) などの、タンパク質による塩基配列認識を利用した人工ヌクレアーゼによる手法が知られている。しかしながら、これらはタンパク質工学の技術と試行錯誤が必要であり、多額の経費もかかるのに比べ、CRISPR システムは、RNA-DNA 間の塩基対形成による標的認識を利用しているため、ガイド RNA の設計が簡単である。

このように塩基配列の相補性を利用して遺伝子機能を抑制する手法としては RNA interference (RNAi)が良く知られている。RNAi とは、小さな2本鎖の RNA である small interfering RNA (siRNA)が相補的な塩基配列を持つ mRNA の発現を抑制する機構で、簡便な遺伝子機能抑制法として広く利用されている。我々は、これまでの研究で、哺乳類細胞における有用な RNAi 法の構築を行ってきた (Takahashi *et al. Nucleic Acids Res.* 42, 5256, 2014; Ui-Tei *et al. Nucleic Acids Res.* 36, 2137, 2008; 36, 7100, 2008; 32, 936, 2004; Doi *et al. Curr. Biol.* 13, 41, 2003; Naito *et al. Nucleic Acids Res.* 34, W448, 2006; 33, W589, 2005; 32, W124, 2004; *Retrovirology* 6, 80, 2007; *BMC Bioinformatics* 10, 392, 2009、他)。その結果、我々は RNAi 機構の分子メカニズムに基づく効率的な siRNA の塩基配列設計法の構

築に成功している。さらに、標的以外の遺伝子に対する副作用的影響であるオフターゲット効果の分子機構を解明し、それを最小限とする手法を構築して、目的とする1遺伝子特異的 RNAi 法の構築にも成功している。RNAi 法と CRISPR システムは、共にガイドとなる分子が約 20 塩基の RNA であるという共通点があるため、良く似た標的認識を行うことが想定できる。しかしながら、CRISPR システムの標的はゲノム DNA であるが、RNAi 法では標的は mRNA であり、その発現を 100%抑制して遺伝子機能をシャットダウンすることは難しく、mRNA が少しでも残っていれば、その遺伝子機能も残留することになる。また、RNAi 法は mRNA を抑制するので、その継続時間も限られるのに対して、CRISPR システムでは狙ったゲノム DNA 部位を永久的に完全に改変することができる。これらの点は、必要に応じて使いわけることが可能である。

さらに重要なポイントとしては、我々は、これまで RNAi の作用マシナリーの解明に取り組んできたが、RNA サイレンシング関連因子や核内 RNA 群の機能解析などは、RNAi によるノックダウンによって行うことは難しい。すなわち、RNA サイレンシング関連因子の解析は、ニワトリが先か、卵が先か、という因果性のジレンマに陥るし、RNAi は細胞質で起こる現象とされているので核内 RNA 群の機能解析は難しい。それらを克服するためには、RNAi 以外のもう1つの遺伝子機能解析法の構築が必要で、このような観点からも CRISPR システムの開発は生命科学研究において重要な意味を持つ。

しかしながら、CRISPR システムによるゲノム編集法は、開発されて間もない手法であり、その特異性や効率には改善すべき点も多く残されている。まず1つは、ゲノム編集効率はガイド RNA 配列によって大きく異なり、ガイド RNA によってはほとんどゲノム編集が起こらないものもあることである。さらに、もっとも大きな問題点となるのは、目的のゲノム配列領域以外にも影響を与えてしまう「オフターゲット効果」である。CRISPR システムは目的のゲノム領域を永久的に改変してしまう方法であるため、オフターゲット効果はかなり重篤なダメージになる場合がある。特に、ヒトで利用するためには倫理的な問題にも注意を払う必要がある。そこで、本研究では、このような問題点を改良し第二世代の特異性の高い実用的な CRISPR システムの構築を目指す。

2. 研究の目的

本研究は、CRISPR システムの改良によるオフターゲット効果のないヒト遺伝子機能解明のための基盤技術の開発を目的とする。

Cas9 には2つの DNA 切断ドメインが存在するが、それらの切断活性中心を同時に失活させることで、DNA 切断活性をもたない変異体 (dCas9) が開発されている (Qi, L. *et al. Cell.* 152, 1173, 2013) (図2B)。dCas9 は、DNA を切断する能力は失っているものの、ガイド RNA を介して標的に結合する能力は残っている。そのため、dCas9 を標的遺伝子領域に結合させることで、mRNA の転写を阻害し、遺伝子発現を抑制することが可能となることが報告されている (CRISPR interference; CRISPRi) (Qi, L. *et al. Cell.* 152, 1173, 2013)。それだけでなく、dCas9 に様々な機能ドメインを融合させることで、ゲノム DNA の任意の領域にさまざまな機能をもたらすことができるツールとして、注目されている。例えば、KRAB (Krüppel associated box) ドメインを融合させることで、KRAB ドメインと相互作用する転写抑制因子を誘導し、より強く遺伝子発現を抑制した例が報告されている。また、転写アクティベーターである VP64 ドメインを融合させることで、遺伝子発現の活性化が起こる (CRISPR activation; CRISPRa) (Gilbert, LA. *et al. Cell* 154, 442, 2013; *Cell* 159, 647, 2014)。加えて、DNA やヒストンのメチル化やアセチル化などの修飾酵素を融合した例では、エピジェネティックな標的遺伝子の発現制御が可能であり、エピゲノム編集法として利用する手法が提案されている (Isaac, B. *et al. Nat. Biotechnol.* 33, 510, 2015; James, I. *Biol. bio.* 019067, 2016; Vojta, A. *et al. Nucleic Acids Res.* 44, 5615, 2016)。しかし、dCas9 を用いた応用手法の多くは、効率が低かったり、効果が限定的であったりと、解決すべき問題点が多い。そこで、今回はこれらの dCas9 を基盤とした応用手法の問題点を解決すべく、dCas9 によるゲノム編集の効率を向上させる手法を開発した。特に、dCas9 システムは切断を伴わないシステムであるため、標的ゲノム DNA に対するガイド RNA の結合の安定性が重要であると考え、塩基配列に依存した塩基対合の熱力学的安定性に焦点を当て、CRISPR/dCas9 によるゲノム編集が効率よく誘導できる標的配列選択の条件を検討した。

3. 研究の方法

ゲノム編集効率を評価する方法として、今回はヒト培養細胞におけるルシフェラーゼレポーターアッセイを用いた。ルシフェラーゼ遺伝子のコー

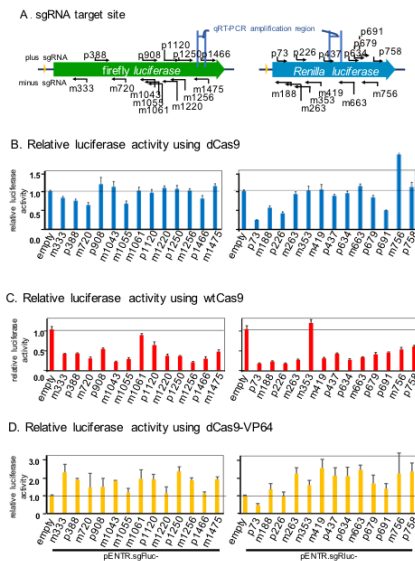


図3. ルシフェラーゼレポーターアッセイの結果
(A) 設計したsgRNAの結合位置を示している。sgRNAの結合するストランドによって、plus sgRNA・minus sgRNAと命名した。青く示した領域は、図16で示すqRT-PCRの際に増幅される範囲である。
(B-D) レポーターアッセイによって得られた相対ルシフェラーゼ活性の結果。(B) dCas9での結果。トランスフェクションから48時間後に回収した。(C) wtCas9での結果。トランスフェクションから24時間後に回収した。(D) dCas9-VP64での結果。トランスフェクションから48時間後に回収した。

ド領域を標的とするガイド RNA を 26 種類設計した。Cas9 または dCas9 発現ベクターとガイド RNA 発現ベクターを、標的と非標的の2種類のルシフェラーゼ発現ベクターとともに HEK293 細胞にトランスフェクションし、48 時間後に細胞を回収して相対ルシフェラーゼ活性を測定した。塩基対合の熱力学的安定性は、nearest-neighbor 法による融解温度 (T_m) の計算値を用いた。また、DNA-DNA および RNA-DNA の塩基対合のパラメータを用いた T_m 値をそれぞれ $T_{m_{DNA-DNA}}$ 、 $T_{m_{RNA-DNA}}$ とした。

4. 研究成果

dCas9 を用いた場合、ルシフェラーゼレポーター遺伝子に対するガイド RNA は、それぞれ異なる抑制効率を示すことが明らかになった (図3)。まずガイド RNA が標的遺伝子のどちらの DNA 鎖に結合するかによって活性が異なるかを比較したところ、プラス鎖に結合するガイド RNA はマイナス鎖に結合するガイド RNA に比べて高い抑制効果を示し、プラス鎖による抑制効果は $T_{m_{DNA-DNA}}$ および $T_{m_{RNA-DNA}}$ の両者と高い相関を示したが、 $T_{m_{RNA-DNA}}$ のほうがより強い相関を示した。

ガイド RNA が遺伝子の抑制を行うためには、標的ゲノム DNA の二本鎖が解離し、ガイド RNA と DNA のヘテロ二本鎖が形成される必要がある。したがって、DNA 二本鎖の安定性が低く、RNA-DNA 二本鎖の安定性が高いと、ゲノム編集が効率よく起こる可能性が想定される。そこで、 $T_{m_{RNA-DNA}}-T_{m_{DNA-DNA}}$ とレポーター遺伝子抑制効率との

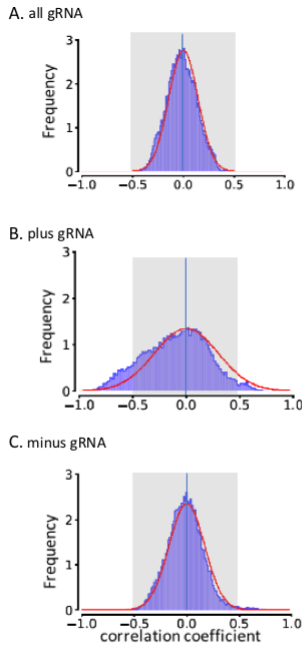


図4. CRISPRscoreと相対ルシフェラーゼ活性との相関の分布 (A)All gRNA, (B)plus gRNA, (C)minus gRNAを用いて、すべての領域のTm値と相対ルシフェラーゼ活性から求めた相関係数の値の分布を表したヒストグラム。灰色の領域は相関係数Rが-0.5から0.5までの範囲を表す。赤線はヒストグラムと等しい分散を持つ正規分布曲線を示す。

相関をもとめた(図4)。その結果、マイナス鎖のみ、あるいはプラス鎖とマイナス鎖の両者を合わせたすべてのガイド RNA は、レポーター活性と顕著な相関は見られなかった。しかし、プラス鎖に対するガイド RNA のみを用いて解析すると、ガイド RNA 配列の 5' 側から数えて 2-20 番目の 19 塩基の $Tm_{RNA-DNA}$ から、11-20 番目の 10 塩基の $Tm_{DNA-DNA}$ を引いた時に、dCas9 による遺伝子抑制効率と高い相関を示すことがわかった(図5)。このモデルによって得られるスコアを CRISPRscore と呼ぶことにした。dCas9 における CRISPRscore より、5' 側から 11-20 塩基というシ

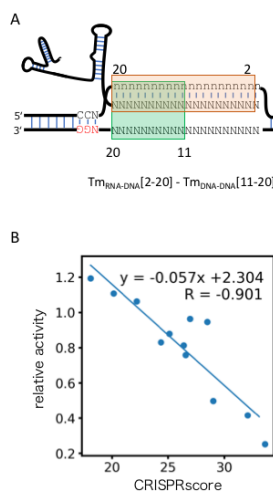


図5. dCas9におけるCRISPRscore (A) 強い相関を持つ上位30パターン典型的なCRISPRscoreは、2-20の位置の $Tm_{RNA-DNA}$ と、11-20の位置の $Tm_{DNA-DNA}$ を用いた値であった。オレンジはRNAとDNAの2-20塩基の対合を、緑はDNAとDNAの11-20塩基の対合を示す。 (B) $CRISPRscore(dCas9) = Tm_{RNA-DNA}[2-20] - Tm_{DNA-DNA}[11-20]$ と、相対ルシフェラーゼ活性との相関。

ード領域とほぼ一致する領域のゲノム DNA の二重らせんが一本鎖に解離しやすく、ガイド RNA は全長にわたってゲノム DNA と強く結合することで顕著な標的遺伝子抑制効果が見られると推測できた。さらに、CRISPRscore において、 $Tm_{DNA-DNA}$ と $Tm_{RNA-DNA}$ の寄与のちがいを検討したところ、 $Tm_{RNA-DNA}$ に比べて $Tm_{DNA-DNA}$ は 0.8 倍の寄与をしていることが明らかになり、dCas9 の活性は $CRISPRscore(dCas9) = Tm_{RNA-DNA} - 0.8 \times Tm_{DNA-DNA}$ で表すことが可能となった。この CRISPRscore に基づいて新規に sgRNA を設計し、dCas9 の抑制活性が推測可能であるかどうかを検証したところ、4種の sgRNA のうち3種が予測通りの活性を示した。抑制活性を有しない1種については、非シード領域である 1-10 塩基の GC 含量が 80% と非常に高い配列であり、高い GC 含量は抑制活性を阻害していることが示唆された。以上のことから、効率的な sgRNA は CRISPRscore に基づいて選択できるが、非シード領域に高い GC 含量がないという条件も考慮する必要があると考えられた。

野生型の Cas9 および転写アクティベータを融合した dCas-VP64 でも同様の解析を行なった結果、dCas9 の結果と完全には一致しないものの、CRISPRscore で表すことができることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Tamura S, Okada M, Kato S, Shinoda Y, Shioda N, Fukunaga K, Ui-Tei K, Ueda M. (2018) Ouabagenin is a naturally occurring LXR ligand without causing hepatic steatosis as a side effect. *Sci. Rep.* 8, 2305. (査読有) doi: 10.1038/s41598-018-20663-z
- ② Takahashi T, Nakano Y, Ui-Tei K. (2018) RNA interference for Nucleic Acid Drug. (review) "Gene expression and Regulation in Mammalian Cells-Transcription from general aspects." *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology, InTechOpen*, pp.149-162. (査読有) doi: 10.5772/intechopen.71965
- ③ Galipon J, Ishii R, Ishiguro S, Suzuki Y, Kondo S, Okada-Hatakeyama M, Tomita M, Ui-Tei K. (in press) High-quality overlapping paired-end reads for the detection of A-to-I editing on small RNA. "miRNA biogenesis" *Methods Mol. Biol.* (査読無)
- ④ Iribe H, Miyamoto K, Takahashi T, Kobayashi Y, Leo J, Aida M, Ui-Tei K. (2017) Chemical modification of the siRNA seed region suppresses off-target effects by steric hindrance to base-pairing with targets. *ACS Omega*, 2, 2055-2064, 2017. (査読有) doi: 10.1021/acsomega.7b00291
- ⑤ Suzawa M, Noguchi K, Nishi K, Kozuka-Hata H, Oyama M, Ui-Tei K. (2017) Comprehensive identification of nuclear and cytoplasmic TNRC6A-associating proteins. *J. Mol. Biol.* 429, 3319-3333. (査読有) doi: 10.1016/j.jmb.2017.04.017
- ⑥ Wang Q, Ui-Tei K. (2017) Computational prediction of CRISPR/Cas9 target sites reveals

- potential off-target risks in human and mouse. "Genome Editing in Animals: Methods and Protocols" (Ed.Hatada I) *Methods Mol. Biol.* 4, 1630, 43-53. (査読無)
doi: 10.1007/978-1-4939-7128-2_4
- ⑦ Galipon J, Ishii R, Suzuki Y, Tomita M, Ui-Tei K. (2017) Differential binding of three major human ADAR isoforms to coding and long non-coding transcripts. *Genes (Basel)*, 8, E68. (査読有) doi:10.3390/genes8020068
- ⑧ Ui-Tei K., Maruyama S, Nakano Y. (2017) Enhancement of single guide RNA transcription for efficient CRISPR/Cas-based genomic engineering. *Genome*, 1-9. (査読有)
doi: 10.1139/gen-2016-0127
- ⑨ Kato M, Huang Y-Y, Matsuo M, Takashina Y, Sasaki K, Horai Y, Juni A, Kamijo S, Saigo K, Ui-Tei K., Tei H. (2016) RNAi-mediated knockdown of mouse melanocortin-4 receptor in vitro and in vivo, using an siRNA expression construct based on the mir-187 precursor. *Exp. Anim.* 66, 41-50. (査読有) doi: 10.1538/expanim.16-0065.
- ⑩ Ui-Tei K. (2016) Is the efficiency of RNA silencing evolutionarily regulated? *Int. J. Mol. Sci.* 17, 719. (査読有) doi: 10.3390/ijms17050719.
- ⑪ Kamola PJ, Nakano Y, Takahashi T, Wilson PA, Ui-Tei K. (2015) The siRNA non-seed region and its target sequences are auxiliary determinants of off-target effects. *PLoS Comput. Biol.* 11, e1004656. (査読有) doi: 10.1371/journal.pcbi.1004656.
- ⑫ Nishi K, Takahashi T, Suzawa M, Miyakawa T, Nagasawa T, Ming Y, Tanokura M, Ui-Tei K. (2015) Control of the localization and function of a miRNA silencing component TNRC6A by Argonaute protein. *Nucleic Acids Res.* 43, 9856-9873. (査読有) doi: 10.1093/nar/gkv1026.
- ⑬ Ishikawa T, Takizawa T, Iwaki J, Mishima T, Ui-Tei K., Takeshita T, Matsubara S, Takizawa T. (2015) Fc gamma receptor IIb participates in maternal IgG trafficking of human placental endothelial cells. *Int. J. Mol. Med.* 35, 1273-1789. (査読有) doi: 10.3892/ijmm.2015.2141.
- ⑭ Naito Y, Hino K, Bono H, Ui-Tei K. (2015) CRISPRdirect: software for designing CRISPR/Cas guide RNA with reduced off-target sites. *Bioinformatics* 31, 1120-1123. (査読有)
doi: 10.1093/bioinformatics/btu743.
- [学会発表] (計 57 件)
1. Tomoko Takahashi, Yuko Nakano, Koji Onomoto, Chiaki Komori, Mitsutoshi Yoneyama, Kumiko Ui-Tei LGP2 upregulates apoptosis-related genes functions by acting as an RNA silencing modulator during viral infection. 第 46 回日本免疫学会学術集会 (2017.12.12)
2. 丸山翔平、市川大輔、王青波、李雨恬、程久美子 CRISPR/Cas9 システムにおける Cas9 と dCas9 の作用機序に影響を与える要因の解析 第 40 回日本分子生物学会年会/ConBio2017 (2017.12.6)
3. 程久美子 環境温度によって RNA による遺伝子調節作用が変化する機構 第 4 回北陸エビジェネティクス研究会(2017.11.13)
4. 程久美子 修飾塩基を利用した塩基配列の制限がない siRNA による遺伝子ノックダウン 日本化学会関東支部群馬地区講演会 (2017.7.10)
5. 程久美子 化学修飾による立体障害を利用したヒト全遺伝子に対する 1 遺伝子特異的ノックダウン 第 384 回情報計算化学生物学会 CBI(The Chem-Bio Informatics Society) 講演会 (2017.5.25)
6. 丸山翔平、王青波、李雨恬、程久美子. CRISPR システムにおける Cas9 と dCas9 の遺伝子抑制作用の比較. 第 39 回日本分子生物学会年会 (2016.12.1)
7. Kumiko Ui-Tei, Piotr J. Kamola, Naoki Hibio, Tomoko Takahashi, Yuko Nakano. Thermodynamic regulation of the efficiency of RNA silencing and its evolutionary perspective.. Cell Symposia Functional RNAs (2016.11.7-8) China
8. Kumiko Ui-Tei. Suppression of siRNA off-target effect by chemical modifications which regulate thermodynamics in nucleotide base-pairing. 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015) (2015.12.17) USA
9. 王 青波、内藤 雄樹、程久美子. ゲノムサイズの異なる生物種における、標的遺伝子特異的な CRISPR/Cas9 ガイド RNA の網羅的同定. BMB2015 (2015.12.4)
10. Qingbo Wang, Yuki Naito, Kumiko Ui-Tei. Computational identification of CRISPR/Cas9 target sites revealed potential off-target risks in human and mouse genomes. Conference on Transposition and Genome Engineering 2015 (2015.11.18) Japan
11. Qingbo Wang, Yuki Naito, Kumiko Ui-Tei. Genome-wide identification of CRISPR/Cas9 target sites with reduced off-target effects in organisms with different genome sizes. CSHL Meeting on GENOME ENGINEERING: THE CRISPR/CAS REVOLUTION (2015.9.24-27) NY, USA (他 46 件)
- [図書] (計 6 件)
- ① 高橋朋子、程久美子 (2017) 「RNA 干渉法の核酸医薬への利用(1)」日本核酸医薬学会誌、21, 14-21.
- ② 中野悠子、高橋朋子、程久美子 (2017) 「第 1 章 核酸医薬品における開発の現状と安全性評価、第 4 節 siRNA の利点と技術開発・安全性評価」次世代を担う、核酸医薬、免疫療法、遺伝子治療、細胞医薬品の課題と各疾患治療への横断的展開、印刷中、技術情報協会.
- ③ ガリボン・ジョゼフィーヌ、石黒宗、富田勝、程久美子 (2016) 「RNA-Seq による A-to-I RNA 編集の検出」NGS アプリケーション RNA-Seq 実験ハンドブック、113-117, 羊土社.
- ④ 高橋朋子、程久美子 (2016) 「核酸医薬と small RNA」DOJIN BIOSCIENCE シリーズ「ノンコーディング RNA」、146-153, 化学同人.
- ⑤ 程久美子、高橋朋子 (2015) 「ノンコーディング RNA の生体機能と医薬応用の現状」核酸医薬の創製と応用展開、13-20, シーエムシー出版.
- ⑥ 程久美子 (2015) 「ヒト RNAi の発見とその応用的意味」実験医学増刊 ノンコーディング RNA テキストブック、32-33, 羊土社.
- [その他]
ホームページ : <http://ui-tei.rnai.jp/>
6. 研究組織
(1) 研究代表者
程久美子 (UI-TEI, Kumiko)
東京大学・大学院理学系研究科・准教授
研究者番号 : 50213327