

令和 4 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03974

研究課題名(和文)新規ゲノム編集技術による疾患モデルの開発研究

研究課題名(英文)New development of genome editing technologies and disease models

研究代表者

真下 知士(Mashimo, Tomoji)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：80397554

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,700,000円

研究成果の概要(和文)：ゲノム編集CRISPR-Cas9を利用することで、培養細胞やモデル動物において効率的に遺伝子改変できるが、オフターゲットなどの安全性、特許紛争などの課題がある。本研究では、最近我々が開発した国産のゲノム編集技術CRISPR-Cas3を用いて、ヒト培養細胞および動物受精卵での効率的なゲノム編集法を開発した。CRISPR-Cas3によるDNA一本鎖切断、二本鎖切断、およびゲノム編集メカニズムを解明し、オフターゲットを評価した。最後に、確立したCRISPR-Cas3を利用して、ヒト疾患モデル動物の作製、および遺伝子治療モデルを開発した。本研究はゲノム編集治療における革新的基盤技術の開発に繋がる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

米国主導で開発されたゲノム編集CRISPR-Cas9は、培養細胞やモデル動物において遺伝子改変できることから世界中の研究者に利用されているが、オフターゲット効果などの安全性や、国内ではゲノム編集治療における知的財産の問題が存在する。最近、我々は新規ゲノム編集CRISPR-Cas3システムを独自に開発し、哺乳動物で遺伝子改変できることを発見した(特許成立済)。本研究では、培養細胞および哺乳動物受精卵でのCRISPR-Cas3による効率的なゲノム編集技術を確立し、遺伝子治療モデルを開発した。本成果は、日本発の新規ヒト疾患モデル動物の開発、新たなゲノム編集治療における革新的基盤技術の開発に繋がる。

研究成果の概要(英文)：The genome editing technology CRISPR-Cas9 enables efficient gene modification in cultured cells and model animals. However, there are still issues such as off-target effects and patents. In this study, we established efficient genome editing methods in cultured human cells and animal zygotes using CRISPR-Cas3, which is a novel genome editing technology we recently developed in Japan. Moreover, we elucidated the mechanisms of single-strand DNA breaks and double-strand DNA breaks mediated by CRISPR-Cas3 and performed off-target evaluation. Finally, we used the established genome-editing CRISPR-Cas3 technology to generate animal models of human diseases and to develop gene therapy models. This research will lead to the development of innovative basic technologies for new genome editing therapies.

研究分野：実験動物学、ゲノム編集学

キーワード：ゲノム編集 診断薬 CRISPR-Cas3 オフターゲット 受精卵 疾患モデル DNA修復

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

米国主導で開発されたゲノム編集ツール CRISPR/Cas9 は、培養細胞やモデル動物において効率的に遺伝子改変できることから、世界中の研究者に爆発的に利用されるようになった。一方、CRISPR/Cas9 には、オフターゲット効果、モザイク、配列特異性などの技術的課題や、日本国内では作製した疾患モデル動物やゲノム編集治療における知的財産の問題が存在する。

我々は新規ゲノム編集ツール Class1 CRISPR/Cas3 システムを独自に開発し、哺乳動物の標的配列に変異を導入できることを発見した(特許出願)。本研究では、培養細胞および哺乳動物受精卵での CRISPR/Cas3 による効率的なゲノム編集技術を確立する。さらに、この新規ゲノム編集技術を利用して、HIV、血友病、および筋ジストロフィーの *ex vivo* 治療、*in vivo* 治療モデルを開発する。本申請課題は、日本発の新規ヒト疾患モデル動物の開発、および新たなゲノム編集治療における革新的基盤技術の開発につながると期待する。

2. 研究の目的

本研究では、新規ゲノム編集技術 CRISPR-Cas3 を用いることで、哺乳動物培養細胞および実験動物受精卵での効率的なゲノム編集法を確立することが目的である。さらに、このゲノム編集技術 CRISPR-Cas3 による DNA 切断、および DNA 修復メカニズムを解明することで、ゲノム編集の効率化およびオフターゲット変異の評価等を行う。最後に、確立した新規ゲノム編集技術 CRISPR-Cas3 を利用して、血友病および筋ジストロフィーの *ex vivo* 治療、*in vivo* 治療モデルを開発する。本研究により、新しいヒト疾患モデル動物の開発、および新たなゲノム編集治療における革新的基盤技術の開発を目指している。

3. 研究の方法

CRISPR-Cas3 による哺乳動物細胞および受精卵におけるゲノム編集法の確立、およびゲノム編集動物の作製、治療モデルの開発を目的として、以下の研究を実施した。

CRISPR-Cas3 タンパク質による DNA 切断

大腸菌から精製した Cascade (Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas11 および crRNA) および Cas3 タンパク質を利用して、引き続き試験管内での DNA 切断を実施する。さらに Cas3 改変体、変異体の検討およびタンパク質の精製を実施する。これら精製 Cascade、Cas3 タンパク質を利用して、ヒト細胞やマウス受精卵でのゲノム編集を検討する。

ヒト培養細胞、動物受精卵におけるゲノム編集

大腸菌から精製した Cascade (Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas11 および crRNA) および Cas3 タンパク質を利用して、マウス・ラット受精卵において、CRISPR-Cas3 によるゲノム編集を実現させる。インジェクション条件、濃度、タイミング等の検討を行い、オフターゲット変異解析やゲノム編集効率の向上を目指す。

CRISPR-Cas3 システムによるゲノム編集メカニズムの解明、オフターゲット評価

ChIP-seq、RNA-seq による DNA 修復因子の検索を行う。Cas3 タンパク質によるゲノム編集、高速原子力顕微鏡 AFM による DNA 二本鎖切断の可視化を行うことで、CRISPR-

Cas3によるDNA二本鎖切断およびDNA修復メカニズムを解明する。コンピューター解析、オフターゲット解析、CRISPR-Cas9と比較しながら全ゲノムシーケンスによるオフターゲット解析を実施する。

CRISPR/Cas3 システムによるゲノム編集モデル動物の作成

CRISPR-Cas3 によるヒト疾患モデル動物の開発を実施する。CRISPR-Cas3 発現マウスにおける *in vivo* ゲノム編集治療モデルの開発も検討する。

4. 研究成果

新規ゲノム編集 CRISPR-Cas3 による哺乳動物細胞および受精卵におけるゲノム編集法の確立、およびゲノム編集動物の作製、治療モデルの開発を目的として、以下の研究を実施した。

新規ゲノム編集システムタンパク質による DNA 切断

CRISPR-Cas3 システムを発現する大腸菌から、Cascade (Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas11 および crRNA) および Cas3 タンパク質を精製して、試験管内での DNA 切断を確認することに成功した。標的配列および PAM 配列特異的に二本鎖 DNA を切断することが確認された。

さらに、Cas3 の特異的な二本鎖 DNA 切断の際に、非特異的な一本鎖 DNA 切断が起こることを発見し、CONAN と名付けた (特許出願)。この新しい核酸検出技術を用いて、新型コロナウイルスなど新興感染症に対する迅速診断薬の開発を行っている。

ヒト培養細胞における *in vitro* ゲノム編集

ヒト HEK 細胞、ヒト iPS 細胞などヒト培養細胞において、CRISPR-Cas3 による標的的特異的な二本鎖 DNA 切断に成功した。Cas3 により標的配列から上流に数百～数千塩基の大規模な欠失変異が起こることを明らかにした。また *in silico*, *in vitro* でのオフターゲット解析において、Cas9 よりも Cas3 の方がオフターゲット変異が少ないより安全なゲノム編集ができる可能性が示唆された。さらに Cas3 により一塩基置換や薬剤耐性遺伝子のノックインにも成功した。

新規 CRISPR/Cas システムによるゲノム編集メカニズムの解明

CRISPR/Cas システムによる DNA 二本鎖切断および DNA 修復メカニズムを解明するために、精製タンパク質を用いて標的二本鎖 DNA 切断部位の確認等を行った。また ChIP-seq、RNA-seq による DNA 修復因子の検索を行った。さらにコンピューターによる crRNA デザイン、オフターゲット検索プログラムを開発した。CRISPR/Cas9 と比較しながら全ゲノムシーケンスによるオフターゲット解析を実施した。

さらに、Cas3 タンパク質による *in vitro* ゲノム編集を実施して、CRISPR-Cas3 システムによるゲノム編集メカニズムの一端を解明した。高速原子力顕微鏡 AFM による DNA 二本鎖切断の可視化に成功した。

CRISPR/Cas3 システムによるゲノム編集モデル動物の作成

CRISPR-Cas3 システムをマウス受精卵にマイクロインジェクションにより導入して、マウス Tyr 遺伝子ノックアウトに成功した。CRISPR-Cas3 をラット受精卵にもマイクロインジェクションにより導入して、ヒト疾患モデルとして免疫不全ラットの作製にも成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計34件（うち査読付論文 21件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Oka Yasuyoshi, Hamada Motoharu, Nakazawa Yuka, Mashimo Tomoji, Kojima Seiji, Ogi Tomoo	4. 巻 6
2. 論文標題 Digenic mutations in ALDH2 and ADH5 impair formaldehyde clearance and cause a multisystem disorder, AMeD syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 7197 ~ 7197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abd7197	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Fujihara Kazuyuki, Sato Takumi, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Yanagawa Yuchio	4. 巻 11
2. 論文標題 Genetic deletion of the 67 kDa isoform of glutamate decarboxylase alters conditioned fear behavior in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 340 ~ 353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fujihara Kazuyuki, Yamada Kazuo, Ichitani Yukio, Kakizaki Toshikazu, Jiang Weiru, Miyata Shigeo, Suto Takashi, Kato Daiki, Saito Shigeru, Watanabe Masahiko, Kajita Yuki, Ohshiro Tomokazu, Mushiake Hajime, Miyasaka Yoshiki, Mashimo Tomoji, Yasuda Hiroki, Yanagawa Yuchio	4. 巻 10
2. 論文標題 CRISPR/Cas9-engineered Gad1 elimination in rats leads to complex behavioral changes: implications for schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-020-01108-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hayase Yoneko, Amano Shigeru, Hashizume Koichi, Tominaga Mashimo Tomoji, Serikawa, Tadao, Sekine Akihiro, Nakagawa Eiji, Takeshita Eri, Yoshikawa Takeo, Waga Chikako, Inoue Ken, Goto Yu-ichi, Nabeshima Yoichi, Ihara Nobuo, Yamakawa Kazuhiro, Taya Shinichiro, Hoshino Mikio	4. 巻 8
2. 論文標題 Down syndrome cell adhesion molecule like-1 (DSCAML1) links the GABA system and seizure susceptibility	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica Communications	6. 最初と最後の頁 206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-020-01082-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Numakura Yuki, Uemura Risa, Tanaka Miyuu, Izawa Takeshi, Yamate Jyoji, Kuramoto Takashi, Kaneko Takehito, Mashimo Tomoji, Yamamoto Takashi, Serikawa Tadao, Kuwamura Mitsuru	4. 巻 70
2. 論文標題 PHF24 is expressed in the inhibitory interneurons in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 137 ~ 143
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.20-0105	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimi Kazuto, Yamauchi Yuko, Tanaka Takao, Shimada Toshio, Sato Moritoshi, Mashimo Tomoji	4. 巻 101
2. 論文標題 Photoactivatable Cre knock-in mice for spatiotemporal control of genetic engineering in vivo	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 125 ~ 135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-020-00482-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Teruhide, Uchida Eriko, Okada Takashi, Ozawa Keiya, Onodera Masafumi, Kume Akihiro, Shimada Takashi, Takahashi Satoru, Tani Kenzaburo, Nasu Yasutomo, Mashimo Tomoji, Mizuguchi Hiroyuki, Mitani Kohnosuke, Maki Kazushige	4. 巻 31
2. 論文標題 Aspects of Gene Therapy Products Using Current Genome-Editing Technology in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Gene Therapy	6. 最初と最後の頁 1043 ~ 1053
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/hum.2020.156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Odongoo Batbayar, Ohara Hiroki, Ngarashi Davis, Kaneko Takehito, Kunihiro Yayoi, Mashimo Tomoji, Nabika Toru	4. 巻 43
2. 論文標題 Pathophysiological significance of Stim1 mutation in sympathetic response to stress and cardiovascular phenotypes in SHRSP/Izm: In vivo evaluation by creation of a novel gene knock-in rat using CRISPR/Cas9	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Hypertension	6. 最初と最後の頁 34 ~ 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10641963.2020.1797085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshimi Kazuto, Oka Yuichiro, Miyasaka Yoshiki, Kotani Yuko, Yasumura Misato, Uno Yoshihiro, Hattori Kosuke, Tanigawa Arisa, Sato Makoto, Oya Manami, Nakamura Kazuhiro, Matsushita Natsuki, Kobayashi Kazuto, Mashimo Tomoji	4. 巻 140
2. 論文標題 Combi-CRISPR: combination of NHEJ and HDR provides efficient and precise plasmid-based knock-ins in mice and rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Genetics	6. 最初と最後の頁 277 ~ 287
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00439-020-02198-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashikawa Yoshiko, Hayashi Ryuhei, Tajima Masaru, Okubo Toru, Azuma Shohei, Kuwamura Mitsuru, Takai Naofumi, Osada Yasuyuki, Kunihiro Yayoi, Mashimo Tomoji, Nishida Kohji	4. 巻 10
2. 論文標題 Generation of knockout rabbits with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) using CRISPR/Cas9	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-66780-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takeishi Kazuki, Collin de l' Hortet Alexandra, Wang Yang, Mashimo Tomoji, Fox Ira J., Soto-Gutierrez Alejandro	4. 巻 31
2. 論文標題 Assembly and Function of a Bioengineered Human Liver for Transplantation Generated Solely from Induced Pluripotent Stem Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 107711 ~ 107711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107711	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Liang Yi-Qiang, Kakino Akemi, Matsuzaka Yasunari, Mashimo Tomoji, Isono Masato, Akamatsu Tomohisa, Shimizu Hana, Tajima Michiko, Kaneko Takehito, Li Lei, Takeuchi Fumihiko, Sawamura Tatsuya, Kato Norihiro	4. 巻 51
2. 論文標題 LOX-1 (Lectin-Like Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-1) Deletion Has Protective Effects on Stroke in the Genetic Background of Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Stroke	6. 最初と最後の頁 1835 ~ 1843
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/STROKEAHA.120.029421	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 真下 知士、吉見 一人	4. 巻 第10巻第4号 (通巻34号)
2. 論文標題 ゲノム編集医療 - 技術開発・治療応用戦略を中心に、特集コーディネーター	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 遺伝子医学	6. 最初と最後の頁 1~176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 真下 知士、吉見 一人	4. 巻 3(6)
2. 論文標題 新規ゲノム編集ツールCRISPR-Cas3	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Precision Medicine	6. 最初と最後の頁 512-515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 服部晃佑、吉見一人、松下夏樹、小林和人、真下知士	4. 巻 -
2. 論文標題 効率的なゲノム編集ラットの作製方法	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 マウス・ラットモデル作製・解析プロフェッショナル. あなたの研究をステップアップさせる最新・最適手技. 先端モデル動物支援プラットフォーム (AdAMS)	6. 最初と最後の頁 54~63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 藤井智明、吉見一人、真下知士	4. 巻 Vol.38, No.17
2. 論文標題 ゲノム編集技術CRISPR-Cas3とその遺伝子治療および診断への応用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学 (増刊) 新規の創薬モダリティ 細胞医療	6. 最初と最後の頁 49-54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山内祐子、真下知士	4. 巻 78巻
2. 論文標題 高血圧関連疾患モデル動物作製の現状と展望	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本臨牀増刊号「高血圧学(上)」	6. 最初と最後の頁 379-384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉見一人、真下知士	4. 巻 Vol. 273(9)
2. 論文標題 CRISPR-Cas3を用いた新しいゲノム編集	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ「ゲノム編集の未来」	6. 最初と最後の頁 751-755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 宮坂佳樹、真下知士	4. 巻 Vol. 273(9)
2. 論文標題 ゲノム編集技術を用いた遺伝子改変ラットの作製	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ「ゲノム編集の未来」	6. 最初と最後の頁 785-794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakazawa Yuka, Hara Yuichiro, Oka Yasuyoshi, Komine Okiru, et al.	4. 巻 180
2. 論文標題 Ubiquitination of DNA Damage-Stalled RNAPII Promotes Transcription-Coupled Repair	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 1228 ~ 1244.e24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2020.02.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Konishi Shizuka, Tanaka Natsuki, Mashimo Tomoji, Yamamoto Takashi, Sakuma Tetsushi, Kaneko Takehito, Tanaka Miyuu, Izawa Takeshi, Yamate Jyoji, Kuwamura Mitsuru	4. 巻 69
2. 論文標題 Pathological characteristics of Ccdc85c knockout rats: a rat model of genetic hydrocephalus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental Animals	6. 最初と最後の頁 26 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1538/expanim.19-0005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Tomoaki, Yokota Takafumi, Okuzaki Daisuke, Uno Yoshihiro, Mashimo Tomoji, Kubota Yoshiaki, Sudo Takao, Ishibashi Tomohiko, Shingai Yasuhiro, Doi Yukiko, Ozawa Takayuki, Nakai Ritsuko, Tanimura Akira, Ichii Michiko, Ezoe Sachiko, Shibayama Hirohiko, Oritani Kenji, Kanakura Yuzuru	4. 巻 13
2. 論文標題 Endothelial Cell-Selective Adhesion Molecule Contributes to the Development of Definitive Hematopoiesis in the Fetal Liver	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 992 ~ 1005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2019.11.002	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morisaka Hiroyuki, Yoshimi Kazuto, Okuzaki Yuya, Gee Peter, Kunihiro Yayoi, Sonpho Ekasit, Xu Huaigeng, Sasakawa Noriko, Naito Yuki, Nakada Shinichiro, Yamamoto Takashi, Sano Shigetoshi, Hotta Akitsu, Takeda Junji, Mashimo Tomoji	4. 巻 10
2. 論文標題 CRISPR-Cas3 induces broad and unidirectional genome editing in human cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13226-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Gurumurthy Channabasavaiah B., O'Brien Aidan R., Quadros Rolan M., et al.	4. 巻 20
2. 論文標題 Reproducibility of CRISPR-Cas9 methods for generation of conditional mouse alleles: a multi-center evaluation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genome Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13059-019-1776-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wang Jinxi, Dang Ruihua, Miyasaka Yoshiki, Hattori Kousuke, Torigoe Daisuke, Okamura Tadashi, Tag-El-Din-Hassan Hassan T., Morimatsu Masami, Mashimo Tomoji, Agui Takashi	4. 巻 14
2. 論文標題 Null mutation of the endothelin receptor type B gene causes embryonic death in the GK rat	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0217132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0217132	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 真下知士	4. 巻 54
2. 論文標題 疾患モデルラットの国内外トレンド	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験動物技術	6. 最初と最後の頁 91-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 吉見一人、真下知士	4. 巻 X
2. 論文標題 ラット受精卵でのゲノム編集	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学別冊 ゲノム編集実験スタンダード	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山内祐子、吉見一人、真下知士	4. 巻 78
2. 論文標題 免疫不全ラットの開発と利用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 LABIO21実験動物としてのラットの有用性	6. 最初と最後の頁 16-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 真下 知士	4. 巻 45
2. 論文標題 ゲノム編集技術によるモデル動物の作製	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 メディカル・サイエンス・ダイジェスト	6. 最初と最後の頁 17-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kinboshi Masato, Shimizu Saki, Mashimo Tomoji, Serikawa Tadao, Ito Hidefumi, Ikeda Akio, Takahashi Ryosuke, Ohno Yukihiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Down-Regulation of Astrocytic Kir4.1 Channels during the Audiogenic Epileptogenesis in Leucine-Rich Glioma-Inactivated 1 (Lgi1) Mutant Rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1013 ~ 1013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20051013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazuki Yasuhiro et al.	4. 巻 116
2. 論文標題 Humanized UGT2 and CYP3A transchromosomal rats for improved prediction of human drug metabolism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 3072 ~ 3081
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1808255116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mahal Zinat, Fujikawa Koichi, Matsuo Hiroyuki, Zahid Hasan M., Koike Masamichi, Misumi Masaki, Kaneko Takehito, Mashimo Tomoji, Ohara Hiroki, Nabika Toru	4. 巻 42
2. 論文標題 Effects of the Prdx2 depletion on blood pressure and life span in spontaneously hypertensive rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 610 ~ 617
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41440-019-0207-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Negishi Eriko, Fukuda Noboru, Otsuki Tomoyasu, Katakawa Mayumi, Komatsu Kazutoshi, Chen Lan, Tanaka Sho, Kobayashi Hiroki, Hatanaka Yoshinari, Ueno Takahiro, Endo Morito, Mashimo Tomoji, Nishiyama Akira, Abe Masanori	4. 巻 315
2. 論文標題 Involvement of complement 3 in the salt-sensitive hypertension by activation of renal renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Renal Physiology	6. 最初と最後の頁 F1747 ~ F1758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajprenal.00370.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyasaka Yoshiki, Uno Yoshihiro, Yoshimi Kazuto, Kunihiro Yayoi, Yoshimura Takuji, Tanaka Tomohiro, Ishikubo Harumi, Hiraoka Yuichi, Takemoto Norihiko, Tanaka Takao, Ooguchi Yoshihiro, Skehel Paul, Aida Tomomi, Takeda Junji, Mashimo Tomoji	4. 巻 19
2. 論文標題 CLICK: one-step generation of conditional knockout mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-018-4713-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計40件(うち招待講演 40件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 新規ゲノム編集技術を用いた次世代CAR-T細胞療法の開発
3. 学会等名 先端的バイオ創薬等基盤技術開発事業研究者交流会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集技術開発の現状と今後
3. 学会等名 ゲノム問題検討会議(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 遺伝子編集が拓く疾患モデル研究のフロンティア
3. 学会等名 第56回高血圧関連疾患モデル学会学術総会、理事長企画 / 未病栄養シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 CRISPR-Cas3がもたらす新たなゲノム編集基盤技術
3. 学会等名 基盤技術」千里ライフサイエンスセミナー「ゲノム編集がもたらす革新と更なる展望」(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoji Mashimo
2. 発表標題 CRISPR-Cas3: a new tool for genome editing and nucleic acid detection
3. 学会等名 The 15th International Symposium of the Institute Network for Biomedical Sciences (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoji Mashimo
2. 発表標題 Rapid and accurate detection of novel coronavirus SARS-CoV-2 using CRISPR-Cas3
3. 学会等名 A Paradigm shift in Infectious Diseases: A Virtual Conference hosted by Merck KGaA (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoji Mashimo
2. 発表標題 New CRISPR Technology for Genome Editing
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会Genome editing: CRISPR, Stem cells, and Beyond (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 CRISPR-Cas3 による新しいゲノム編集
3. 学会等名 第72回日本細胞生物学会大会S10次世代型ゲノム編集技術の開発とその応用 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 国産新規ゲノム編集技術 CRISPR-Cas3
3. 学会等名 細胞・遺伝子治療 遺伝子解析のその先へー (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集技術とその医療応用：基礎技術的視点から
3. 学会等名 第2回 Translational and Regulatory Sciences Symposium (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 知財化された国産の新規ゲノム編集技術 Cas3
3. 学会等名 iPS 細胞ビジネス協議会第34回情報交換会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 新規ゲノム編集ツール、遺伝子改変ラット、ヒト化動物の未来
3. 学会等名 第144回関西実験動物研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mashimo T
2. 発表標題 CRISPR/Cas3-mediated genome editing
3. 学会等名 The 3rd Frontiers in Genome Engineering Intl. Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集を使った超簡単ノックインマウスの作成
3. 学会等名 がん研究ツール最前線2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集による疾患モデルの作製
3. 学会等名 第53回日本実験動物技術者協会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集と重症免疫不全ラットの開発について
3. 学会等名 第90回信州実験動物研究会秋期勉強会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 新規ゲノム編集ツール：CRISPR-Cas3
3. 学会等名 関西スマートセルフフォーラム2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム・細胞編集
3. 学会等名 JST-CRDS「治療用デザイナー細胞（微生物）」チームワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集研究の進展と医工薬への応用
3. 学会等名 関西大学・大阪医科大学・大阪薬科大学医工薬連環科学教育研究機構研究セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 動物生命科学におけるゲノム編集技術の利用
3. 学会等名 TARAセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mashimo T
2. 発表標題 CRISPR/Cas9-mediated genome editing in zygotes
3. 学会等名 The 9th International Forum on Laboratory Animal Science &Technology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 トランスレーショナルリサーチにおけるゲノム編集への期待と限界
3. 学会等名 塩見雅志准教授退職記念祝賀会・シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mashimo T
2. 発表標題 CRISPR-mediated genome engineering and its application in animal models
3. 学会等名 22nd US-Japan Cellular and Gene Therapy Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 新規ゲノム編集技術CRISPR/Cas3の概要
3. 学会等名 武田薬品湘南研究所 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 先端モデル動物とゲノム編集
3. 学会等名 東京大学医科学研究所 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 マウス・ラットモデル作成の新展開
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会バイオテクノロジーセミナーアプライドステムセル (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下 知士森坂広行、吉見一人、竹田潤二
2. 発表標題 CRISPR-Casシステムを用いたヒト細胞におけるゲノム編集
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集の最新技術動向
3. 学会等名 第24回国立大学法人動物実験施設協議会高度技術研修会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集の最新技術概要
3. 学会等名 科学委員会ゲノム編集専門部会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集ラットの作製
3. 学会等名 一般財団法人動物繁殖研究所（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集とその活用
3. 学会等名 2018年度西宮市ライフサイエンスセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 An overview of recent genome editing technologies
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会、シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集の最新技術動向
3. 学会等名 2018年度第3回「ヒトゲノム研究倫理を考える会」（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集の最新技術概要
3. 学会等名 日本高血圧学会・高血圧関連疾患モデル学会合同シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 マウス・ラットにおける新規ゲノム編集技術の開発
3. 学会等名 JST-OPERA産学共創会議（第2回）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集の新展開
3. 学会等名 福島県立医科大学大学生体情報伝達研究所第68回Molecular Medicine Seminar（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集による遺伝子改変動物の作製技術
3. 学会等名 国立長寿医療研究センターNCGGセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集によるヒト化動物の作製
3. 学会等名 公益財団法人実験動物中央研究所CIEA（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 受精卵におけるゲノム編集の潮流
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会第3回大会ランチョンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 真下知士
2. 発表標題 ゲノム編集CRISPR/Cas9による新規モデル動物の開発
3. 学会等名 第20回教育研究推進センター講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 真下 知士、金田 安史	4. 発行年 2018年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 274
3. 書名 医療応用をめざすゲノム編集	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 Cas3タンパク質を製造する方法	発明者 真下知士、吉見一人、竹下浩平、山本雅貴、渋谷里美	権利者 東京大学、理化学研究所、C4U株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-31907	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 試料中の特定のDNAを検出する方法	発明者 真下知士、吉見一人、渋谷里美	権利者 大阪大学、C4U株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、2020-010216	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

東京大学医科学研究所実験動物研究施設先進動物ゲノム研究分野
<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/animal-genetics/index.html>
 東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究センター先進モデル動物作製コア
https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cemsb/public_html/index.html
 東京大学医科学研究所実験動物研究施設先進動物ゲノム研究分野
<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/animal-genetics/index.html>
 東京大学医科学研究所システム疾患モデル研究センター先進モデル動物作製コア
https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/cemsb/public_html/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉見 一人 (Yoshimi Kazuto) (50709813)	東京大学・医科学研究所・講師 (12601)	
研究分担者	鈴木 啓一郎 (Suzuki Keiichiro) (70433654)	大阪大学・基礎工学研究科・教授 (14401)	
研究分担者	中田 慎一郎 (Nakata Shinichiro) (70548528)	大阪大学・医学系研究科・特命教授 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関