

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：13601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15233

研究課題名(和文)「母性Cas9」による多遺伝子編集マウス開発と多因子性疾患の解明

研究課題名(英文) Maternal Cas9-based genome editing system as a useful tool for creating simultaneous multiple-gene modified mice

研究代表者

桜井 敬之 (SAKURAI, Takayuki)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：80317825

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：「母性Cas9ゲノム編集法」を考案し多因子性疾患モデルマウス作製を目指した。同方法のゲノム編集能は、従来法と遜色無く高率で、かつ同時多遺伝子変異マウス産出数は有意に多く、個体あたりの同時変異遺伝子数は増える事を見出した。多因子性高血圧ヒト候補遺伝子を5種選び、同時1～5遺伝子変異マウス群を作製した。その結果、対象群に比べ収縮期血圧が高い傾向あるいは低い傾向を示す個体群が観察でき、これらは5種内で特定の遺伝子変異を伴う傾向を認めた。我々は「母性Cas9ゲノム編集法」による同時多遺伝子改変F0マウス作製法を構築し、これが多因子性疾患モデルマウス作製に有用となる事を提示した。

研究成果の概要(英文)：We have developed a new strategy; maternal Cas9-based genome editing system. This system can confer simultaneous genome editing in multiple target loci when the guide (g)RNAs only were introduced into murine zygotes from transgenic mice overexpressing Cas9 systemically. First, we demonstrated that the system had high frequencies of insertion/deletion mutations and knock-in of a target sequence and was associated with low-level mosaicism. Furthermore, the birth rate increased significantly when compared with that obtained from zygotes in the presence of exogenous Cas9 protein (or mRNA) + gRNAs. The rate for simultaneous multi-gene-edited pups produced was markedly higher than that produced through zygote with exogenous Cas9 protein + 10 kinds of gRNAs. Then, using this system, we have produced simultaneously the model mice with 1-5 modified genes which are candidate for polygenic/multifactor diseases associated with hypertension, and observed in them with high or low blood pressure.

研究分野：発生工学

キーワード：ゲノム編集 発生工学 CRISPR/Cas9 遺伝子改変マウス 疾患モデル動物

1. 研究開始当初の背景

多因子性疾患は、現在、全ゲノムに分布する一塩基多型 (SNP) でのゲノムワイド関連研究 (GWAS) により、その疾患感受性遺伝子候補が報告され続けている (例えば、高血圧で約 50 種)。一方で、個々の高頻度多型変異の疾患リスクは高くなく、人種間差 (日本人に高い) も明らかとなってきた。このため、マウスなど生物材料での多遺伝・環境要因の解析法開発が切望されている。

それには多遺伝子座改変マウスを迅速かつ体系的に準備する必要があるが、従来法は殆どが 1 操作、1 遺伝子座の 1 カ所改変技術であり、この実行は不可能であった。我々は最近、ゲノム編集 CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) を組込んだ Cas9 全組織発現トランスジェニックマウス (sCAT) の樹立に成功した。この sCAT 受精卵は母性因子の形態で一過的に Cas9 を蓄積しており、我々はこの母性 Cas9 による「母性 Cas9 ゲノム編集法」を考案した。sCAT 受精卵は、外部からの Cas9 供給は不要となるため、その分、胚へ導入する gRNA 種類や量を増やすことができる。実際、同方法は高率な胚ゲノム編集能を保持しており、同時多遺伝子編集マウスの作製に有効であることを示唆する予備結果を得た。

2. 研究の目的

同時多遺伝子編集マウス個体作製の最適化のための「母性 Cas9 ゲノム編集法」の編集能の特性を明らかとすること。そして作製条件下で、日本人の本態性高血圧に關与する遺伝変異を持つ「多因子性高血圧疾患マウス」作製を試みる。それにより多因子性疾患モデル作製のアプローチ法としての「母性 Cas9 ゲノム編集法」の有用性を評価する。

2-1. 「母性 Cas9 ゲノム編集法」の編集能の特性を明らかとする。

2-2. 「母性 Cas9 ゲノム編集法」による同時多遺伝子編集マウス個体作製を実行する。

2-3. 「母性 Cas9 ゲノム編集法」による多因子性高血圧疾患マウスを作製する。

3. 研究の方法

3-1. マウスと受精卵

Cas9 全身常発現マウス系統 sCAT (systemic Cas9 expressed Tg mice) (Sakurai et al., 2016) を用いた。受精卵は、sCAT (Tg/+) x sCAT (+/+) あるいは sCAT (+/+) x sCAT (+/+) の体外受精で準備

した。前者由来は母性 Cas9 を含有する受精卵 (sCAT 受精卵) で、後者の受精卵は対照群に用いた。

3-2. Cas9 gRNA および相同 DNA 断片調整
Cas9 mRNA; 我々が既に構築した、mRNA 合成時に 5' Cap および A 鎖 95 塩基が自動付加する plasmid; NFCas9A95 (Sakurai et al., 2016) を template にして T3 ポリメラーゼで CapCas9A95 mRNA を合成した。Cas9 protein; Integrated DNA Technologies (IDT), Japan から購入した。gRNA; 標的遺伝子の crRNA 配列は BLAST あるいは CRISPRdirect (<https://crispr.dbcls.jp/>) で選定後、OligoDNA で合成し、先の tracrRNA 部位とつなぎ合わせて pBSK ベクターの T7 プロモーター配列下に組み込みこんだ plasmid (pgRNA-XX) を構築した。これを template にして T7RNA ポリメラーゼで標的 gRNA を合成した。ノックイン用 DNA 断片については、ssOLIGO として IDT, Japan で合成した。

3-3. CRISPR/Cas9 試薬の受精卵導入と胚盤胞、胎児およびマウス産出

母性 Cas9 を含有する受精卵には、1~9 種の gRNA 混合 (および DNA 断片) のみを、対照の受精卵には Cas9 mRNA (又、protein)、1~9 種の gRNA 混合 (および DNA 断片) を導入した。これら CRISPR/Cas9 試薬は、顕微注入法 (Narishige-OLYMPUS, Japan) で前核/細胞質/両方に導入した。およびエレクトロポレーション法 (BEX, Japan) も採用した。処理受精卵は、invitro 培養で胚盤胞まで培養して解析に供した (Sakurai et al., 2014)。また偽妊娠マウスに移植し、12.5-14.5 歳での採材胎児あるいは出産させて解析に供した。

3-4. 母性 Cas9 ゲノム編集能の評価

Cas9 で誘導されたゲノム変異の評価については、まず各 gRNA 標的に隣接するゲノム領域の特異的 PCR プライマーで採材された試料の gnomiDNA を template に PCR 増幅を実施し、産物を pMD20 (Takara Bio Inc., Shiga, Japan) ベクターにクローニングした。各サンプルについて 10 個の単離プラスミドのゲノム領域の塩基配列を決定した。また一部の PCR 産物の Indel 変異解析は、常法の T7 エンドヌクレアーゼ I (T7E1) アッセイ (Sakurai et al., 2014) を加えた。DNA 断片の Knock-in は、導入領域の PCR 解析および導入 DNA 配列内の制限酵素部位の有無で検定した。これらデータから母性 Cas9 ゲノム編集の Indel 変異誘発能、Knock-in 効率、モザイク発生率、同時多遺伝子編集マウス個体作製効率を評価した。

3-5. 多因子性疾患マウスの評価

日本人の本態性高血圧に關与の報告のある疾患感受性遺伝子候補に關してヒトおよびマウス間との相同性を検討した。そして相同性の高い5種に注目して、これらに變異を導入した多遺伝子同時編集マウスを、2-1~2で得た条件にて産出させた。同マウスの解析は基本10-12週齡を用いた。高血圧と遺伝的關連性を探るため、先ず各個体の各遺伝變異狀況を決定し血圧および心拍数との關連を主に追跡・検討した。その後、体重変化、尿成分、生化学的マーカー、主要臓器の病理組織の解析を目指した。

4. 研究成果

4-1. 母性 Cas9 ゲノム編集能は高率かつ低モザイク變異發生率であり、産出されるゲノム編集仔マウスは、従来法の2倍程度に多い。

母性 Cas9 ゲノム編集能のポテンシャルを調べるために、受精卵へ Cas9(mRNA あるいは protein)を共導入する従来法との比較を Endothelin1(Et1)遺伝子 Indel 變異率、Klf5 (Krüppel-like factor 5) 遺伝子への DNA 断片 Knock-in(KI)率で検討した。その結果、母性 Cas9 胚ゲノム編集能は、100 ng/μl の Cas9 mRNA、50 ng/μl の Cas9 protein を胚導入する場合に相当するほどの高率であることが判明し、KI 率はむしろ従来法より優れている傾向を觀察した。モザイク變異誘發率は Cas9mRNA を用いる従来法よりも著しく低かった。これらは母性 Cas9 が胚内で高活性態に存在し、かつ特定の胚時期に機能し急激に分解されるためと推察された。もっとも重要な知見は、マウスを産出させる場合、従来法に比べその産出数は有意に多い事が判明した。これは対照群で共導入する Cas9(mRNA あるいは protein)が精製時に混入するエンドトキシンや胚導入量等による負の作用と思われた。一度実験で効率よくゲノム編集マウスが獲得できるという優れた特性は、F0 マウスを実験に使用する場合、非常に有効である。

4-2. 母性 Cas9 ゲノム編集は、胚導入する gRNA 濃度依存的に誘發するゲノム變異率を再現よく変えることができる。

sCAT 受精卵に導入する Et1 遺伝子の gRNA 濃度変化に対するゲノム變異の關係を調べた。その結果、sCAT 受精卵は胚での Indel 變異の誘發狀況を、導入する gRNA 濃度で調整できる可能性を示唆した。例えば本研究では 25ng/ul 濃度 gRNA を導入の受精卵由来の

Indel 誘發率は Uniallelic 變異 60-70%を保持しつつも、Biallelic 變異率は0%であった。この依存性は各受精卵間で差無く母性 Cas9 を定量含み、外来の gRNA 濃度だけに寄るためと考えられた。同時多遺伝子編集マウス個体作製時の懸案は、Biallelic 變異が致死となる場合の対応であり、かつ多因子性疾患を想定する場合、多くは Uniallelic 變異が多いと思われる。この母性 Cas9 ゲノム編集の特性は、今後、遺伝子 KO による胎生・生後致死の個体の産出を考慮する際、あるいは、ヘテロ KO 個体の優先的な産出を望む際に有益な指標となる。

4-3. 母性 Cas9 ゲノム編集による同時多遺伝子改変マウスの作製は効果的である。

4-1 および 4-2 で検討された sCAT 受精卵操作条件で同時多遺伝子編集マウス個体作製を実施した。受精卵に導入する遺伝子を10種類選び、それぞれの gRNA を調整した。gRNA は Uniallelic 變異優先濃度(約 25ng/ul)で使用した。sCAT 受精卵には10種の gRNAs を、対照の受精卵には、10種の gRNAs と Cas9 protein(50ng/μl)を導入した。処理受精卵は偽妊娠マウスへ移植し、仔を産出した。

1 実験あたりの平均産出数は、予想通り 4-1 と同様に sCAT 受精卵由来が対照受精卵由来に比べ2倍ほど多かった。さらに10種の gRNA の各々が引き起こす Indel 變異は、sCAT 受精卵由来が対照受精卵由来より多いものが7種で同等が1種であった。加えて同時6遺伝子以上變異を持つ個体は、sCAT 受精卵由来が平均 35%で対照受精卵由来は平均 14%であることが明らかとなった。つまり、我々考案の母性 Cas9 ゲノム編集法は同時多遺伝子のゲノム編集マウス作製に有効であることが判った。

4-4. 母性 Cas9 ゲノム編集法で作出された、血圧に關する候補遺伝子群同時變異マウスから高血圧マウスが得られる。

4-3における母性 Cas9 ゲノム編集法による同時多遺伝子編集マウス個体作製の有効性を元に多因子性疾患モデルマウス作製に乗り出した。多因子性高血圧に注目し、變異報告のあるヒト候補遺伝子群について、その相同域のマウスゲノム配列を解析した。多くはヒトゲノム配列と高い相同性は認められなかった。高い相同性が認められた5種の遺伝子(成果投稿準備中につき名称示さず、A~E 遺伝子とする。なお A は我々が解析を続けている Adrenomedullin(AM)遺伝子である)に注目して、母性 Cas9 ゲノム編集法により同時5遺伝子改変の多因子性高血圧症候補 F0 マウス群(5 遺伝子の變異が各個

体で異なっており、多くが Uniallelic 変異) を作製した。

同マウスは 8-15 週齢にかけて血圧中心に各遺伝子変異との関係を探った。対照の個体は体重 30g、平均 HR:727、SBP87、MBP59 であったが、解析マウスの中から SBP が 105~145、MBP76~115 となる個体群が現れた。これら個体群の HR や体重は対照群のそれと差は認められなかった。興味深いことは、これらマウス群は、B 遺伝子および C 遺伝子を共に持つ個体が多い傾向が認められた。加えて対照の個体は体重 23g、平均 HR:649、SBP105、MBP72 であったが、解析マウスの中から SBP が 63~80、MBP39~57 となる個体群が現れた。これら個体群の HR や体重は対照群のそれと差は認められなかったが、こちらは、D 遺伝子変異を持つ個体が多い傾向が認められた。つまり、性差やこの数値を引き起こす原因については、現在、解析を続けているが、多因子性高血圧疾患候補マウスから実際に SPB、MBP が高い傾向あるいは低い傾向を示す個体群が観察でき、これらは特定の遺伝子変異を伴うことが認められた。

以上から、我々は「母性 Cas9 ゲノム編集法」による同時多遺伝子改変 F0 マウス作製に有効であり、多因子性疾患モデルマウス作製とその病態解析に有用となる事を提示できた。一方で、報告のある病態原因遺伝子候補のヒトゲノム配列の多くはマウスゲノム配列と高い相同性が認められないことも多いことが解り、それをゲノム編集マウス作製に反映させ解析に展開するかの課題が生じた。

謝辞

理化学研究所バイオリソースセンターマウス表現型解析開発チームの田村勝博士には、多因子性高血圧の原因遺伝子候補のヒトゲノム配列とマウスゲノム配列と相同性解析で多大なる協力を頂きました。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

(1) Sato M, Kosuke M, Koriyama M, Inada E, Saitoh I, Ohtsuka M, Nakamura S, Sakurai T, Watanabe S, Miyoshi K. Timing of CRISPR/Cas9-related mRNA microinjection after activation as an important factor affecting genome editing efficiency in porcine oocytes. *Theriogenology* 108:29-38. 2018 (査読有り)

(2) Zhai L, Sakurai T, Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Tanaka M, Xian X, Hirabayashi K, Dai K, Cui N, Tanimura K, Liu T, Wei Y, Tanaka M, Tomiyama H, Yamauchi A, Igarashi K, Shindo

T. Endogenous calcitonin gene-related peptide suppresses ischemic brain injuries and progression of cognitive decline. *J Hypertens.* 36(4):876-891.2018

(3) Sakurai T, Shindo T, Sato M, Noninheritable Maternal Factors Useful for Genetic Manipulation in Mammals. *Results Probl Cell Differ.* 63,495-510, 2017 (査読有り)

(4) Sato M, Miyoshi K, Nakamura S, Ohtsuka M, Sakurai T, Watanabe S, Kawaguchi H, Tanimoto A. Efficient Generation of Somatic Cell Nuclear Transfer-Competent Porcine Cells with Mutated Alleles at Multiple Target Loci by Using CRISPR/Cas9 Combined with Targeted Toxin-Based Selection System. *Int J Mol Sci.* 4,18(12), 2017 (査読有り)

(5) Xian X, Sakurai T, Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Tanaka M, Koyama T, Kawate H, Yang L, Liu T, Imai A, Zhai L, Hirabayashi K, Dai K, Tanimura K, Liu T, Cui N, Igarashi K, Yamauchi A, Shindo T. Vasoprotective activities of the adrenomedullin-RAMP2 system in endothelial cells. *Endocrinology.* 158, 1359-1372, 2017, (査読有り)

(6) Liu T, Kamiyoshi A, Sakurai T, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Yang L, Tanaka M, Xian X, Imai A, Zhai L, Hirabayashi K, Dai K, Tanimura K, Liu T, Cui N, Igarashi K, Yamauchi A, Shindo T. Endogenous calcitonin gene-related peptide regulates lipid metabolism and energy homeostasis in male mice. *Endocrinology.* 158, 1194-1206, 2017, (査読有り)

(7) Imai A, Toriyama Y, Iesato Y, Hirabayashi K, Sakurai T, Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Tanaka M, Liu T, Xian X, Zhai L, Dai K, Tanimura K, Liu T, Cui N, Yamauchi A, Murata T, Shindo T. Adrenomedullin Suppresses Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Vascular Hyperpermeability and Inflammation in Retinopathy. *Am J Pathol.* 187, 999-1015, 2017 (査読有り)

(8) Tanaka M, Koyama T, Sakurai T,

Kamiyoshi A, Ichikawa-Shindo Y, Kawate H, Liu T, Xian X, Imai A, Zhai L, Hirabayashi K, Owa S, Yamauchi A, Igarashi K, Taniguchi S, Shindo T. The endothelial adrenomedullin-RAMP2 system regulates vascular integrity and suppresses tumour metastasis. Cardiovasc. Res 111, 398-409, 2016, (査読有り)

〔学会発表〕(計 23 件)

- (1) 2017.2. 日本心臓血管動物質学会 沖縄、田中愛、小山晃英、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、劉甜、羨鮮、今井章、テキ留玉、平林一貴、載昆、谷村圭哉、劉騰、崔南奇、魏陽璇、山内啓弘、新藤隆行 アドレノメデュリン-RAMP2系は、EndMTと転位前土壌形成を抑制し、癌転移を抑制する
- (2) 2017.3 第81回 日本循環器学会 石川、羨鮮、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、田中愛、小山晃英、河手久香、劉甜、今井章、Liuyu Zhai、平林一貴、載昆、谷村圭哉、劉騰、崔南奇、Yangxuan Wei、五十嵐恭子、山内啓弘、新藤隆行 Vasoprotective Activities of the Adrenomedullin-RAMP2 System in Endothelial Cells
- (3) 2017.3 第81回 日本循環器学会 石川、劉甜、神吉昭子、桜井敬之、新藤優佳、河手久香、田中愛、羨鮮、今井章、Liuyu Zhai、平林一貴、載昆、谷村圭哉、劉騰、崔南奇、Yangxuan Wei、五十嵐恭子、山内啓弘、新藤隆行 Endogenous Calcitonin Gene-Related Peptide Regulates Lipid Metabolism and Energy Homeostasis in vivo
- (4) 2017.3 第81回 日本循環器学会 石川、今井章、鳥山佑一、家里康弘、平林一貴、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、田中愛、劉甜、羨鮮、テキ留玉、載昆、谷村圭哉、劉騰、崔南奇、Yangxuan Wei、山内啓弘、村田敏規、新藤隆行 Adrenomedullin Suppresses VEGF-induced Vascular Hyperpermeability and Inflammation in Retinopathy
- (5) 2017.3 第81回 日本循環器学会 石川、Liuyu Zhai、Takayuki Sakurai、Akiko Kamiyoshi、Yuka Ichikawa-Shindo、Hisaka Kawate、Megumu Tanaka、Tian Liu、Xian Xian、Akira Imai、Kazutaka Hirabayashi、Kun Dai、Nanqi Cui、Keiya Tanimura、Teng Liu、Yangxuan Wei、Takayuki Shindo Endogenous Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) Suppresses Nerve Injuries and Progression of Vascular Dementia
- (6) 2017.4 第90回日本内分泌学会、京都、今井章、平林一貴、家里康弘、鳥山佑一、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、田

中愛、劉甜、羨鮮、テキ留玉、載昆、谷村圭哉、劉騰、崔南奇、Yangxuan Wei、山内啓弘、村田敏規、新藤隆行 低酸素惹起性、および炎症惹起性血管新生病において、アドレノメデュリン-RAMP2系は相反する意義を有する

(7) 2017.6 第2回 日本ゲノム編集学会、大阪、桜井敬之、神吉昭子、河手久香、渡部聡、佐藤正宏、新藤隆行 母性 Cas9 による遺伝子改変マウス作製とそのゲノム編集能の特性

(8) 2017.10 第38回 日本肥満学会 大阪、神吉昭子、桜井敬之、新藤優佳、河手久香、田中愛、羨鮮、Liuyu Zhai、平林一貴、載昆、崔南奇、田中正明、谷村圭哉、劉騰、富山遙、Yangxuan Wei、山内啓弘、新藤隆行 アドレノメデュリン-RAMP2系は褐色脂肪細胞とベージュ脂肪細胞の分化を抑制する

(9) 2017.12CVMW2017 心血管代謝週間 大阪、今井章、平林一貴、田中正明、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、田中愛、テキ留玉、載昆、崔南奇、劉騰、谷村圭哉、魏陽璇、富山遙、松井周平、山内啓弘、村田敏規、新藤隆行 アドレノメデュリン-RAMP2系は、低酸素惹起性血管新生および炎症惹起性血管新生において、二面性を有する

(10) 2017.12CVMW2017 心血管代謝週間 大阪、載昆、田中愛、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、崔南奇、魏陽璇、富山遙、新藤隆行 臓器間転位におけるアドレノメデュリン-RAMP2系の病態生理学的意義

(11) 2017.12CVMW2017 心血管代謝週間 大阪、田中愛、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、載昆、崔南奇、魏陽璇、山内啓弘、新藤隆行 アドレノメデュリン-RAMP2系による血管内皮保護機構の解明

(12) 2017.12CVMW2017 心血管代謝週間 大阪、神吉昭子、桜井敬之、新藤優佳、河手久香、田中愛、テキ留玉、平林一貴、田中正明、劉騰、新藤隆行 アドレノメデュリン-RAMP2系による脂肪細胞の細胞骨格およびエネルギー代謝制御機構

(13) 2017.12CVMW2017 心血管代謝週間 大阪、崔南奇、大和慎治、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、載昆、魏陽璇、富山遙、新藤隆行 循環器ストレス応答におけるアドレノメデュリン-RAMP2系の意義

(14) 2017.12CVMW2017 心血管代謝週間 大阪、テキ留玉、桜井敬之、神吉昭子、河手久香、新藤優佳、載昆、崔南奇、魏陽璇、谷村圭哉、新藤隆行 カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)は、脳虚血および認知機能障害の進展を抑制する

(15)2016.4 第 89 回日本内分泌学会, 京都、神吉昭子、桜井敬之、新藤優佳、河手久香、田中愛、劉甜、羨鮮、今井章、Liuyu Zhai、平林一貴、大和慎治、載昆、崔南奇、劉騰、五十嵐恭子、山内啓弘、新藤隆行 アドレノメデュリン-RAMP2 システムは褐色脂肪細胞の細胞分化とエネルギー代謝を制御する

(16) 2016.4 第 89 回日本内分泌学会, 京都、劉甜、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、田中愛、羨鮮、今井章、テキ留玉、平林一貴、大和慎治、載昆、崔南奇、劉騰、五十嵐恭子、山内啓弘、新藤隆行 カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)は、白色脂肪組織の脂肪分解を抑制する

(17) 2016. 7 第 34 回内分泌代謝学サマーマセミナー 福岡、テキ留玉、五十嵐恭子、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、山内啓弘、田中愛、劉甜、羨鮮、今井章、平林一貴、載昆、崔南奇、劉騰、谷村圭哉、新藤隆行 急性および慢性脳虚血におけるカルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)の病態生理学的意義

(18) 2016.9 第 1 回日本ゲノム編集学会 広島、桜井敬之、神吉昭子、河手久香、森智恵、渡部聡、佐藤正宏、新藤隆行 A multiple-gene modified mouse production by using maternal Cas9 in the zygotes prepared from transgenic mice systemically expressing Cas9

(19) 2016.11 第 39 回日本分子生物学会、横浜、佐藤正宏、稲田 絵美、齋藤 一誠、三浦 浩美、大塚 正人、中村 伸吾、桜井敬之、渡部 聡 マウスすい臓内への piggyBac 系を介した直接生体内遺伝子導入は外来遺伝子の長期発現を可能とする

(20) 2016.11 第 39 回日本分子生物学会、横浜、渡部 聡、中村 伸吾、桜井敬之、大塚 正人、佐藤 正宏 piggyBac ベクターシステムと in vivo gene transfer を用いた新たな肝細胞株樹立の試み

(21) 2016.11 第 39 回日本分子生物学会、横浜 ランチョンセミナー(招待講演)、桜井敬之、Cas9 発現マウス樹立と、その母性 Cas9 活用による多遺伝子同時編集マウス作製の試み

(22) 2016.12 第 20 回日本心血管内分泌代謝学会、大阪、今井章、平林一貴、家里康弘、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、田中愛、

村田敏規、新藤隆行 低酸素および炎症惹起性眼内血管新生病において、アドレノメデュリン-RAMP2 系は相反する意義を有する

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称: 遺伝子改変非ヒト動物、受精卵及び標的遺伝子を選択的且つ部位特異的に改変するための方法

発明者: 桜井敬之、新藤隆行

権利者: 国立研究開発法人科学技術振興機構
種類: 特許

番号: PCT/JP2016/085391

出願年月日: 2016 年 11 月 29 日

国内外の別: 外国

〔その他〕

ホームページ等

信州大学大学院医学系研究科循環病態学教室
<http://www7a.biglobe.ne.jp/~shindo/>

信州大学大学院医学系博士課程 疾患予防医科学系専攻 循環病態学

<http://www.shinshu-u.ac.jp/graduate/medicine/doctoral/m-science/saisei.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

桜井敬之 (SAKURAI, Takayuki)
信州大学・学術研究院医学系・准教授
研究者番号: 80317825

(2)研究分担者

新藤隆行 (SHINDO, Takayuki)
信州大学・学術研究院医学系・教授
研究者番号: 90345215