

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21253

研究課題名(和文)"SuperAnti-CRISPR分子の創製

研究課題名(英文)Development of "Super"Anti-CRISPR molecules

研究代表者

野村 渉(Nomura, Wataru)

広島大学・医系科学研究科(薬)・教授

研究者番号：80463909

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：CRISPR-Cas9システムはゲノム編集技術ツールとして有用であるが、その活性を制御するアンチクリスパー分子も利用した技術の産業化も求められている。本研究では広く活性を持つアンチクリスパーを見出すことを目的として、種々のアンチクリスパー分子の活性評価を行った。SpCas9に対するアンチクリスパーとしてAcrIIA4/IIA5/IIA6の3種類に関して細胞周期依存型ゲノム編集法における有用性を解析した。また、SpCas9と比較して分子量が小さいSaCas9に対するアンチクリスパーとしてAcrIIA1～IIA6、IIA11の発現解析を行い、in vivoゲノム編集に適用する際の重要な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Anti-CRISPRにはCas9の活性阻害作用だけでなく、積極的にCas9の機能を制御するという活用方法も見出されてきており、世界に先駆けて取り組むべき研究である。それは、ゲノム編集技術に対する評価は高く、期待する声も多いが、一方でその高い利便性によってバイオテロ他、危険な利用を危惧する見方もあり規制が求められているためである。本研究でAnti-CRISPR活性の評価方法を確立したことは、広い阻害スペクトルを持つ"Super" Anti-CRISPRの創製、またそのワクチンとしての将来的な活用などにつながる第一歩となる成果である。

研究成果の概要(英文)：Although the CRISPR-Cas9 system is a useful tool for genome editing technology, there is also a need for the industrialization of technology that also utilizes anti-CRISPR molecules that can control Cas9 activity. In this study, we evaluated the activity of various anti-CRISPR molecules in order to identify widely active anti-CRISPR molecules, and analyzed the usefulness of three anti-CRISPR molecules, AcrIIA4/IIA5/IIA6, in cell cycle-dependent genome editing against SpCas9. We also analyzed the expression of AcrIIA1-IIA6 and IIA11 as anti-CRISPR against SaCas9, which has a smaller molecular weight than SpCas9, and obtained important insights into their application for in vivo genome editing.

研究分野：生物化学

キーワード：ゲノム編集 CRISPR-Cas アンチクリスパー オフターゲット作用 タンパク質間相互作用

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究代表者は化合物を介したタンパク質ドメインの会合制御を利用してゲノム編集あるいは転写活性にスイッチ機能を付与する技術の開発に取り組んできた。化合物によって DNA 切断や転写活性化のタイミングを制御することでオフターゲット作用の低減やシグナルカスケードの人為的制御に役立つ基盤技術になると考えている。しかし、外部刺激が必要なシステムは in vivo での利用などにおいては理想的ではない。

そこで、細胞周期に関係するタンパク質 (Cdt1) を利用し、CRISPR-Cas9 に存在するカウンター分子である anti-CRISPR による Cas9 の活性制御を組み合わせることで制御する系を着想した。SpCas9 の活性を阻害する anti-CRISPR である AcrIIA4 と Cdt1 の融合タンパク質を構築し、哺乳動物細胞で共発現させたところ、オフターゲット作用の抑制において顕著な効果が得られることを見出した。このように、anti-CRISPR 機能はヌクレアーゼ活性だけではなく、DNA 結合機能を有する dCas9 などの活性制御にも利用できると期待できる。しかし、各 CRISPR-Cas ファミリーに存在する anti-CRISPR 分子を利用するだけでは、効率的な利用や、産業化においてボトルネックとなる可能性も懸念された。また、CRISPR-Cas の利便性の高さからバイオテロや潜在的な遺伝子改変などへの将来的な懸念があるが、その対策においても、広く種類を限らずに阻害する anti-CRISPR 分子の存在は必須となると考えられる。そこで本研究では、広いスペクトルと強力な阻害活性を有する” Super” Anti-CRISPR 分子の創製に挑戦することにした。これは、世界に先駆けた新たな取り組みになる。

ゲノム編集におけるオフターゲット作用の低減に関する研究では国外のグループによる開発競争が激化しており、特に安全面が重要となる医療分野、育種・品種改良分野での応用においては非常に重要な要素技術になる。国際的な研究開発競争において anti-CRISPR については Cas9 の活性阻害作用だけではなく、積極的に Cas9 の機能を制御できるといった活用方法に着目した研究例は報告されておらず独自性の高い研究課題である。また、anti-CRISPR 分子の利用については注目がまだ集まっておらず、特許戦略においても世界に先駆けて” Super” Anti-CRISPR 分子の創製に取り組む意義は高いと考えられた。

### 2. 研究の目的

ゲノム編集技術では CRISPR-Cas9 などのヌクレアーゼによる標的遺伝子切断によって生じる変異を利用して遺伝子ノックアウトを行う。CRISPR-Cas9 では single guide (sg) RNA の配列が標的遺伝子を規定し、Cas9 エンドヌクレアーゼと複合体を形成して標的遺伝子の切断を行う。これに伴って起こるゲノム上に存在する標的配列に類似した箇所での「意図しない」切断 (オフターゲット作用) が問題視されている。特に医療などでの応用を考えた場合、オフターゲット作用による変異が引き起こす影響を精査する必要があり、そのコストは莫大になると予測される。また、非常に高い利便性のため、バイオテロなどへの悪用も懸念されており、国際的に協調した厳密な規制やブレーキ機構 (分子) の開発が求められている。

研究代表者のグループでは CRISPR-Cas9 の活性を阻害する anti-CRISPR タンパク質の存在に着目し、Cdt1 との融合タンパク質の構築を試みた。細胞周期の特定の時期だけに発現する制御タンパク質である Cdt1 は DNA 複製の開始因子であり、G1 期に発現量が最大になり S/G2 期には分解される。この性質を利用して細胞周期に応じた anti-CRISPR による Cas9 ヌクレアーゼ活性の制御によってオフターゲット作用が抑制されることを見出した。このように anti-CRISPR 分子の利用はゲノム編集技術の広い適用範囲のように利用が拡大していくことが期待される。現状では各 CRISPR-Cas ファミリーに個別に対応した anti-CRISPR 分子を利用する方法しかないが、例えば、どの CRISPR-Cas システムを利用していか不明な場合は対応が遅れる可能性が否定できない。また、すべての CRISPR-Cas ファミリーに対して共通に働く anti-CRISPR 分子があることで産業利用の加速化が期待できる。そこで本課題では広いスペクトルと高い阻害活性を有する Anti-CRISPR を” Super” Anti-CRISPR 分子として新たに創製することを目的とする。

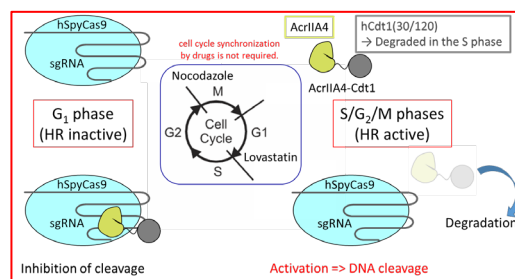


図 1. 細胞周期依存型ゲノム編集の概要

### 3. 研究の方法

3-1. SpCas9 に対する AcrIIA4~IIA6 の阻害効果の比較評価と細胞周期依存型ゲノム編集への応用

AcrIIA1~IIA6 のうち AcrIIA4 が高い SpCas9 阻害活性を示すことが報告されているが、AcrIIA5/IIA6 の阻害活性はこれまで詳細に検討されていなかった。これまでに、これらを細胞周期依存型ゲノム編集法 (図 1) に利用した場合の相同組み換え (homologous recombination;

HR) 効率への影響も検討されていない。そこで AcrIIA4/IIA5/IIA6 について G1 期に発現し、S/G2 期にはユビキチン-プロテアソーム系による分解を受ける Cdt1 との融合タンパク質を構築し、細胞周期依存型ゲノム編集法における HR 効率向上と、阻害活性の関連性について比較検討を行うことにした。まず、エピソーマルベクターとして細胞に導入後、安定的に保持され、タンパク質発現が持続する発現ベクター pEBmulti-Hyg を利用し、発現プロモーター下流に SpCas9 遺伝子、AcrIIA4-Cdt1-T2A-SpCas9、AcrIIA5-Cdt1-T2A-SpCas9、AcrIIA6-Cdt1-T2A-SpCas9 の各遺伝子を導入した。AcrIIA4~IIA6 と Cdt1 の融合した遺伝子と SpCas9 の遺伝子との間を自己切断型ペプチド配列 (T2A) でつなぐことで、転写、翻訳時は同じ mRNA、ポリペプチド鎖として生成するが、その後に AcrIIA4~IIA6+Cdt1 と SpCas9 が分かれて細胞内に等量に存在する仕組みとなっている。この発現ベクターを 293A 細胞に導入後、ハイグロマイシンによる薬剤選択を行い、ベクターを保持している細胞集団を取得した。この安定発現株を利用して、時間経過による AcrIIA4~IIA6+Cdt1 と SpCas9 の発現量変化に関する検討を行うことにした。また、anti-CRISPR と Cdt1 との融合体にするることによる発現量変化への影響を確認するためのコントロールとして、AcrIIA4-T2A-SpCas9 遺伝子を搭載した pEB ベクターも構築して同様の手法で安定発現株を樹立した。細胞周期を同期するためにノコダゾールで 18 時間処理後に細胞を洗浄し、さらに 6 時間、15 時間培養した細胞を回収してウェスタンブロッティング法で検出を行った。また、ゲノム編集効率の評価については、樹立した安定発現株を用いて EMX1 と VEGFA 遺伝子に対する single guide RNA (sgRNA) とドナー遺伝子である single strand oligonucleotide (ssODN) を導入し、遺伝子編集効率とオフターゲット作用の比較を行なった。欠失または挿入反応 (Indel) 効率および HDR 効率の評価は、sgRNA の導入後 48 時間の細胞から抽出したゲノム DNA より gRNA 標的領域を PCR で増幅し、PCR 産物のサンガーシーケンスにより得られた配列情報を用いて、TIDE および TIDER (<https://tide.nki.nl/>) を使用して NHEJ による Indel 導入率、および HDR 効率を算出した。

### 3-2. In vivo での評価に向けた SpCas9 の AAV ベクターでの発現、ゲノム編集効率の評価

前項でも述べたようにエピソーマルベクターである pEBmulti-Hyg を用いた SpCas9 と Anti-CRISPR-Cdt1 の導入方法では in vivo での利用は難しい。そこで in vivo での利用が可能であるアデノ随伴ウイルス (Adeno-associated virus; AAV) による SpCas9 遺伝子のデリバリー方法を検討した。AAV はヘルパーウイルスの存在下で増殖する非エンベロープウイルスである。非病原性で、物理化学的に極めて安定であるため、安全で取扱いも容易であり、分裂/非分裂細胞を問わず遺伝子導入が可能であるという特徴を持つ。また、免疫原性が低く、動物個体への遺伝子導入にも適しているとされる。AAV を利用した遺伝子治療法のいくつかが既に上市されており、他にも臨床試験が進められている。様々な血清型 (セロタイプ) の AAV が存在する中でゲノム編集で特に利用が多く、骨格筋、神経細胞、血管平滑筋細胞、および肝細胞といった広範囲の細胞や組織への指向性を示す AAV2 を利用した。AAV ベクターとして AAVpro® CRISPR/Cas9 Helper Free System (AAV2) (タカラバイオ社) を利用し、標的配列である EMX1 および VEGFA 遺伝子の sgRNA 配列を導入した。pAAV-Guide-it-Up と標的配列 (EMX1, VEGFA) を含む pAAV-Guide-it-Down を pRC2-mi342 Vector、pHelper Vector とともに AAVpro293T へ導入した (図 2)。72 時間後に AAVpro® Purification Kit (AAV2) を用いて AAV を抽出、精製した。AAV の力価は AAVpro® Titration Kit (for Real Time PCR) Ver.2 (タカラバイオ社) を用いて RT-qPCR で測定した。ヒト胎児腎細胞由来細胞株 293A およびヒト骨肉腫由来細胞株 U2OS に対して AAV を感染させ、2 週間培養した後にゲノム抽出を行った。標的配列を含む領域を PCR 増幅し、得られたフラグメントのシーケンス解析を行った。シーケンスデータを基に TIDE, TIDER (<https://tide.nki.nl/>) を利用してゲノム編集で生じた Indel 解析や HDR 解析を行った。

### 3-3. SaCas9 での利用を想定した各種 Anti-CRISPR の発現系の構築

Anti-CRISPR+Cdt1 を利用した細胞周期依存型ゲノム編集法を in vivo で応用する場合、SpCas9 の遺伝子サイズが大きいため、3-2 で検討したような分割した遺伝子を 2 つの AAV ベクターに搭載する必要がある。この方法では細胞への感染効率、発現効率に影響が出る可能性が高いため、よりサイズが小さい SaCas9 を利用する必要がある。SaCas9 に対する anti-CRISPR の情報は少なかったため、AcrIIA4 だけでなく、AcrIIA1~AcrIIA6 の阻害効果を確認する必要がある。そこで、AcrIIA1~AcrIIA6 の遺伝子と Cdt1 遺伝子を融合した発現ベクターを構築した。また、新たに有力な anti-CRISPR として AcrIIA11 が見出されたため、その発現ベクターも追加した。構築した発現ベクターは 293A 細胞に導入して 48 時間培養後にタンパク質抽出を行い、抽出液を利用してウェスタンブロッティングで各 anti-CRISPR の発現量を確認した。

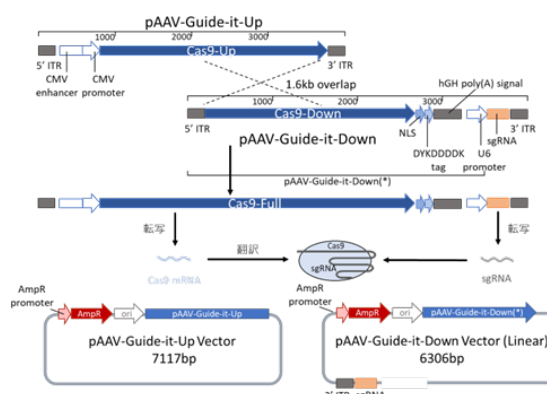


図 2. AAVpro CRISPR-Cas9 システムによる SpCas9 によるゲノム編集



#### 4. 研究成果

##### 4-1. SpCas9 に対する AcrIIA4~IIA6 の阻害効果の比較評価と細胞周期依存型ゲノム編集への応用

細胞周期依存的な発現量変化に関する解析では、AcrIIA4-T2A-Cas9 では発現量が 6 時間と 15 時間の培養でほとんど違いが見られなかった。これに対して、Cdt1 との融合タンパク質の場合、AcrIIA4 と AcrIIA5 では G1 期を過ぎると発現量が低下することが明らかになった。AcrIIA6 については Cdt1 との融合体になっているにも関わらず G1 期を過ぎても発現量の低下が僅かであった (図 3)。この理由については現時点では明らかではなく、AcrIIA6 の細胞内安定性などを含めたより詳細な解析が必要となる。

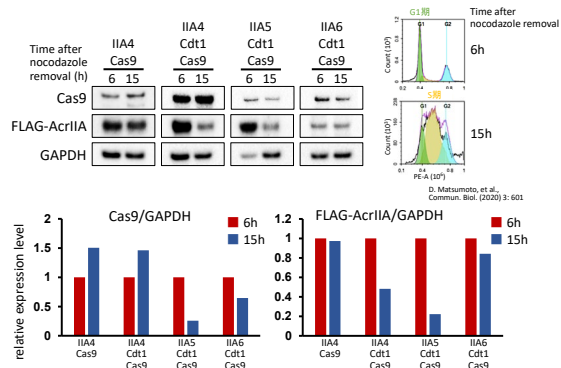


図 3. 細胞周期に依存したタンパク質発現量の変動

EMX1 遺伝子に対する sgRNA とドナー配列を導入した場合、NHEJ による indel 効率を比較した結果、標的配列における NHEJ では AcrIIA4-Cdt1 において 10% 程度の上昇が見られ、オフターゲット候補配列 (Off-target1 および 2) における NHEJ では AcrIIA5-Cdt1 を用いた場合に特に Off-target2 でのオフターゲット作用で大きな低下が見られた。標的配列での NHEJ に対する HDR の割合を比較したところ、AcrIIA4-Cdt1 を用いた場合に若干の向上が見られた (図 4)。VEGFA 遺伝子についても同様の解析を行った結果、標的配列における NHEJ 効率については AcrIIA4~IIA6 の間で差が見られなかったが、オフターゲット作用については AcrIIA5-Cdt1 を用いた場合に Off-target1 および Off-target2 の両方で低下が確認された。HDR/NHEJ 割合の向上についてはどの Acr を用いた場合も優位な効率上昇は確認されなかった (図 5)。細胞周期依存的なゲノム編集法における AcrIIA4/IIA5/IIA6 の効果に関する比較検討を行ったが、今回の結果では AcrIIA5-Cdt1 の高いオフターゲット作用抑制効果が確認された。HDR 効率については EMX1 遺伝子において AcrIIA4 を用いた場合に効率向上が認められたが、ドナー遺伝子の導入条件などより詳細な検討が必要であると考えられる。AcrIIA4/IIA5/IIA6 はそれぞれ相同性の低い配列を有しており、それによる立体構造の差による阻害部位の違いなどが NHEJ 抑制、オフターゲット作用抑制に異なる効果をもたらしている可能性が高く、今後の検討が必要である。

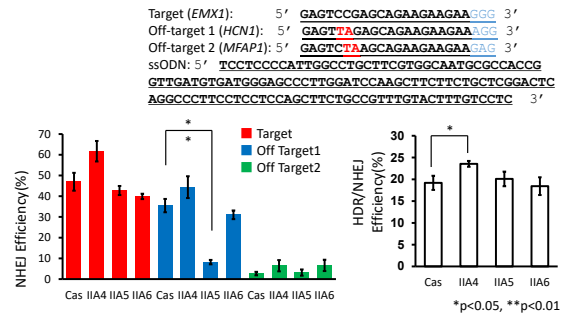


図 4. EMX1 遺伝子におけるゲノム編集解析

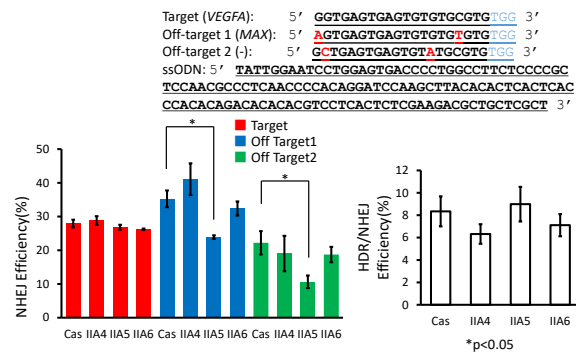


図 5. VEGFA 遺伝子におけるゲノム編集解析

##### 4-2. In vivo での評価に向けた SpCas9 の AAV ベクターでの発現、ゲノム編集効率の評価

293A 細胞におけるゲノム編集で、AAV デリバリーを利用するにあたって、十分な Cas9 発現を得るために必要な AAV 量の検討を行った。AAV-Guide-it-Up: AAV-Guide-it-Down=1:1 の比率で  $2 \times 10^5$  cells に対してそれぞれ  $1.8 \times 10^5$  copies を 10 倍希釈、 $1.8 \times 10^4$  copies を 100 倍希釈として感染させた。10 倍希釈、100 倍希釈での AAV 感染どちらの場合でも Cas9 の発現が確認できた。また、TIDE によって AAV 感染細胞でのゲノムの Indel 効率を確認したところ、それぞれ 24%、20.8% となった (図 6)。従って、 $2 \times 10^5$  cells に対して  $1.8 \times 10^4$  copies 以上の AAV 量であれば

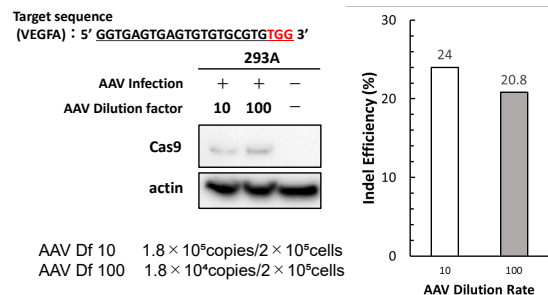


図 6. AAV デリバリーによる SpCas9 発現とゲノム編集解析

図 6. AAV デリバリーによる SpCas9 発現とゲノム編集解析

293A 細胞においてゲノム編集に必要な Cas9 発現量が得られることを明らかにできた。293A 細胞と U2OS 細胞を用いて AAV 感染による CRISPR-Cas9 システムのデリバリーを試みた。標的配列として VEGFA に加えて EMX1 を追加した。2×10<sup>5</sup> copies の AAV を感染させた結果、いずれの場合も Cas9 の発現が確認された (Fig. 5)。293A 細胞における Indel 効率は EMX1 で 70.5%, VEGFA で 33.8%, U2OS 細胞における Indel 効率は EMX1 で 55.4%, VEGFA で 30.7% となった (図 7)。

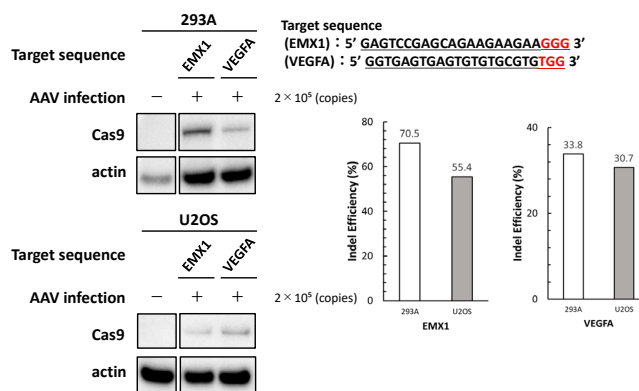


図 7. 293A、U2OS 細胞でのゲノム編集解析

以上のことから、U2OS 細胞においても AAV 感染による CRISPR-Cas9 システムのデリバリーは可能であることが示された。AAV デリバリーを利用した場合の AcrIIA4-Cdt1 の最適な発現量を検討するため、今回の実験では AcrIIA4-Cdt1 と ssODN をリポフェクションによって表のように 293A 細胞に導入した後に AAV 感染によって Cas9 を発現させる手法を試みた。リポフェクション後 2 日後に AAV 感染を行い、Cas9 発現を確認したが、十分な発現が得られていないことが明らかになった。Cas9 単独で AAV 感染をさせた場合と同じ量のウイルス量を利用したが、感染前にリポフェクション処理を細胞に加えていることから、この手法では更に AAV 量を増やす必要があることが示唆された。しかし、NHEJ によるゲノム編集が見られているので、Cas9 自体の発現はしていると考えられる。また、TIDER によって AAV 感染細胞でのゲノムの HDR 効率を確認したが、十分な HDR 効率の向上は見られなかった。しかし VEGFA を標的とした結果では多少の HDR が見られたので、条件を検討し直すことでこの手法は有用である可能性があると考えている。

以上のように CRISPR-Cas9 システムは Anti-CRISPR-Cdt1 と組み合わせて細胞周期依存的に機能させることで、より正確な遺伝子編集 (HR/HDR 効率の向上, オフターゲット作用の抑制) を行うことができる。本研究では、その技術を *in vivo* でのゲノム編集に適用するために、AAV による CRISPR-Cas9 システムのデリバリーについて検討を行った。その結果、293A 細胞、U2OS 細胞において Cas9 の発現と遺伝子編集が確認された。今後、AcrIIA4-Cdt1 の発現条件の検討や ssODN の導入条件などを検討することで AAV による細胞周期依存的ゲノム編集の実現につながると考えられる。

#### 4-3. SaCas9 での利用を想定した各種 Anti-CRISPR の発現系の構築

構築した pFucciAcrIIA1 (IIA2 ~ IIA6、IIA11)+Cdt1 の発現ベクターを利用したウェスタンブロッティングを行った結果、図に示すように各 anti-CRISPR の発現を確認することができた。特に AcrIIA5 の発現量が他と比較して多いことも明らかになった。AcrIIA5 と AcrIIA11 の発現量確認を行ったところ、AcrIIA11 についても AcrIIA5 に近い発現量が確認できた。各 anti-CRISPR+Cdt1 の発現量の違いについては SaCas9 に対する阻害効果を検討する際に考慮に入れるべき事項であることが示された。

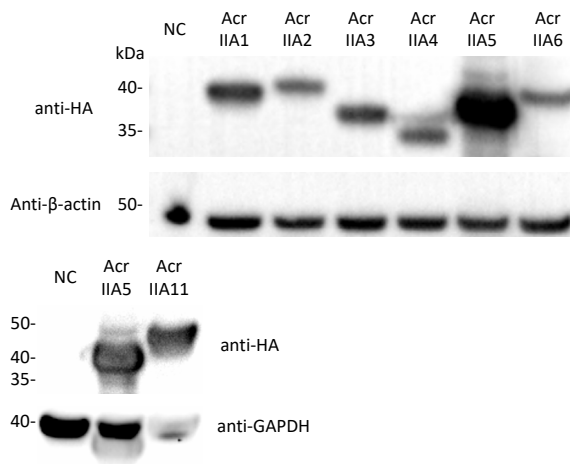


図 8. 各 Anti-CRISPR+Cdt1 の細胞内発現量の解析

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Jan Vincent V. Arafiles, Hisaaki Hirose, Yusuke Hirai, Masashi Kuriyama, Maxwell M. Sakyamah, Wataru Nomura, Kazuhiro Sonomura, Miki Imanishi, Akira Otaka, Hirokazu Tamamura, Shiroh Futaki	4. 巻 60
2. 論文標題 Discovery of a Macropinocytosis Inducing Peptide Potentiated by Medium Mediated Intramolecular Disulfide Formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie, International Edition	6. 最初と最後の頁 2-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/anie.202016754	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 Takuya Kobayakawa, Hikaru Takano, Takahiro Ishii, Kohei Tsuji, Nami Ohashi, Wataru Nomura, Toshiaki Furuta, Hirokazu Tamamura	4. 巻 18
2. 論文標題 Synthesis of Hydrophilic Caged DAG-lactone for Chemical Biology Applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 4217-4223
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D00B00807A	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 Daisuke Matsumoto, Hirokazu Tamamura, Wataru Nomura	4. 巻 3
2. 論文標題 A Cell Cycle-dependent CRISPR-Cas9 Activation System Based on an Anti-CRISPR Protein Shows Improved Genome Editing Accuracy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 601
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-01340-2	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 Kohei Tsuji, Takahiro Ishii, Takuya Kobayakawa, Nami Ohashi, Wataru Nomura, Hirokazu Tamamura	4. 巻 19
2. 論文標題 Fluorescence Resonance Energy Transfer-based Screening for Protein Kinase C Ligands Using 6-methoxynaphthalene-labeled 1,2-diacylglycerol-lactones	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 8264-8271
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D10B00814E	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 Daisuke Matsumoto, Wataru Nomura	4. 巻 32
2. 論文標題 Molecular Switch Engineering for Precise Genome Editing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 639-648
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.1c00088	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 -

[学会発表] 計7件(うち招待講演 5件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Wataru Nomura, Takumi Kamimura, Takuya Kobayakawa, Hirokazu Tamamura
2. 発表標題 Endogenous Protein Expression Imaging by Fluorogenic ZIP Tag-probe System
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村 渉
2. 発表標題 ノーベル賞解説講演・"ゲノム編集" その概念と技術革命
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村 渉
2. 発表標題 テイルーモードタンパク質による精密、安全なゲノム編集・機能制御技術
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野村 渉
2. 発表標題 アミノ酸のつながったモノとゲノムを眺めて
3. 学会等名 第53回若手ペプチド勉強会 特別講演（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野村 渉
2. 発表標題 機能性ドメインのゲノム編集への応用
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Wataru Nomura
2. 発表標題 CRISPR-Cas/TALEN-based tools for precision genome editing and gene regulation
3. 学会等名 Pacifichem（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岸 果苗、濁川 清美、長谷川 有希、松本 大亮、野村 渉
2. 発表標題 CRISPRaを用いた自律制御型ゲノム編集におけるAnti-CRISPR作用の解析
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

広島大学大学院医系科学研究科 創薬標的分子科学研究室 webページ  
<https://nomulab.hiroshima-u.ac.jp/publications>

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
研究協力者	荒木 通啓  (Araki Michihiro)		
研究協力者	松本 大亮  (Matsumoto Daisuke)		
研究協力者	濁川 清美  (Nigorikawa Kiyomi)		

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
---------	---------