

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06137

研究課題名(和文) マルチクラスCRISPRによる多重・大規模かつ高精細なゲノム編集技術の開発

研究課題名(英文) Development of multiplex, large-scale, and high-resolution genome editing technology using multi-class CRISPR system

研究代表者

佐久間 哲史 (Sakuma, Tetsushi)

広島大学・統合生命科学研究科(理)・教授

研究者番号：90711143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、クラス1 CRISPRシステムにおけるエフェクター集積のプラットフォームの整備からその有用性の実証、CRISPR-Cas3システムを用いた遺伝子ノックインの最適化を行った。またクラス2 CRISPRシステムにおいても、Cas12aを用いた遺伝子ノックインや、ゲノム編集の効率化技術であるLoADシステムの拡張による従来法以上の遺伝子ノックイン効率の向上、転写調節/DNA切断の同時制御(CRISPRa; activation, interference, and cleavage)などを実証し、クラス1/クラス2 CRISPRシステムの機能性の拡張に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した拡張的技術は、クラス1・クラス2の両システムの長所を最大限に引き出すと共に短所を打ち消し、これまで困難であった遺伝子改変等を可能とする。たとえばクラス1におけるエフェクター集積のプラットフォームは、従来のクラス2ベースの技術よりも特異性を高めつつ同等又はそれ以上の転写活性化効果を得ることができ、LoADシステムを拡張した遺伝子ノックイン効率化技術は、高効率なクラス2ベースの遺伝子ノックインを更に強化することができる。これらの技術は、ゲノム編集は元より転写の調節、エピゲノム編集、およびこれらの同時制御などの様々な形で、より高度なシステムゲノム科学研究に活用されるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we conducted the development of the effector accumulation platform and the demonstration of its usefulness in Class 1 CRISPR system, and the optimization of gene knock-in using CRISPR-Cas3 system. In addition, in Class 2 CRISPR system, we demonstrated gene knock-in using Cas12a, the enhancement of gene knock-in efficiency compared to the conventional method by expanding the LoAD system that was established as a technology for the efficiency improvement of genome editing, and simultaneous control of transcriptional regulation and DNA cleavage (CRISPRa; activation, interference, and cleavage). Based on these achievements, we succeeded in the expansion of the functionality of Class 1 and Class 2 CRISPR systems.

研究分野：システムゲノム科学

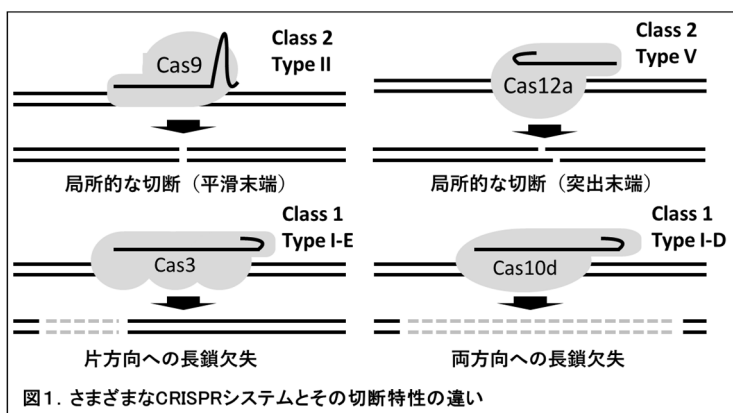
キーワード：ゲノム編集 CRISPR-Cas 遺伝子ノックイン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、ゲノム編集ツールの選択肢が拡大し、特に CRISPR-Cas システムにおいては、従来の Cas9 を筆頭にさまざまなツールが開発され、各ツールを利用したゲノム編集の実施例が蓄積されてきた。

自然界に存在する CRISPR-Cas システムは、2 つのクラス (1・2) および 6 つのタイプ (I ~ IV) に分類され、さらに多数のサブタイプ (I-A, I-B, I-C など) によって細分化されている。これらの CRISPR-Cas システムのうち、最初にゲノム編集に利用されたのは、クラス 2 タイプ II に分類される Cas9 (2013 年 ~; Cong *et al.*, *Science*, 339: 819-823, 2013 & Mali *et al.*, *Science*, 339: 823-826,



2013) であったが、その後、クラス 2 タイプ V の Cas12a (2015 年 ~; Zetsche *et al.*, *Cell*, 163: 759-771, 2015)、クラス 1 タイプ I-E の Cas3 (2019 年 ~; Dolan *et al.*, *Mol Cell*, 74: 936-950.e5, 2019 & Morisaka *et al.*, *Nat Commun*, 10: 5302, 2019)、クラス 1 タイプ I-D の Cas10d (2020 年 ~; Osakabe *et al.*, *bioRxiv*, 991976, 2020) など、それぞれに特異な特性を有する多様なシステムが利用可能になった。ゲノム編集ツールとして利用する上では、標的配列の長さの違いや PAM とよばれる認識モチーフの違い、タンパク質サイズの違いなども影響するが、これらのシステム間での最大の差異は切断特性の違いである。図 1 に示すように、Cas9 はピンポイントでの切断により平滑末端を生じ、Cas12a はピンポイント切断により突出末端を生じる。Cas3 は片方向の長鎖欠失を誘導し、Cas10d は両方向への長鎖欠失を誘導する。これらの特性から、Cas9 や Cas12a は局所的な遺伝子改変に向けており、Cas3 や Cas10d は大規模欠失を伴う改変に向けているとされてきた。

### 2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では、異なるクラス・タイプの CRISPR システムを組み合わせた新手法“マルチクラス CRISPR”によって、これまで実現困難であった多重・大規模かつ高精細なゲノム編集を可能にするシステムを確立することを目的とした。

### 3. 研究の方法

クラス 1 システムとして CRISPR-Cas3 を、クラス 2 システムとして CRISPR-Cas9 および CRISPR-Cas12a を利用しつつ、エフェクター集積システムや遺伝子ロックイン法である PITCH 法、ゲノム編集効率化手法である LoAD 法などを駆使することで、各種 CRISPR システムの機能性を拡張し、当初計画に基づくゲノム編集のみならず、転写の活性化・抑制やこれらの同時制御システムの確立を実施した。

### 4. 研究成果

#### (1) 2021 年度成果

クラス 1 システムにおいては、ゲノム編集を効率化・制御させるための因子集積のシステム開発を実施した。各種 RNA アプタマーを付与した crRNA の scaffold を揃えつつ、それに結合するタンパク質を融合させた任意の因子を標的ゲノム領域に集積させるプラットフォームを構築し、機能性を実証した。更に、クラス 2 システムを用いて実証されてきた、タンパク質タグの利用によるより高度な集積についてもクラス 1 システムで動作し得ることを確認した。

クラス 2 システムにおいては、MMEJ を利用した独自の遺伝子ロックイン技術である PITCH 法を、異なるタイプのシステムにも拡張するため、Cas12a を用いた PITCH 法の技術基盤の確立を進めた。Cas12a では、突出末端で切断されることや PAM の位置が異なることなどから、Cas9 と同一の設計でロックインを実施することはできず、ロックイン設計の最適化が必要であったが、適切な設計を見出すことに成功し、PCR レベルおよび配列レベルで正確なロックインが実行できたことが確認された。更に、Cas9 を用いた PITCH 法によるロックインについても、効率化技術として 2018 年に確立した LoAD 法の効果を更に上回るロックイン効率上昇システムの開発に成

功した。

### (2) 2022 年度成果

クラス 1 システムにおいては、CRISPR-Cas3 を用いた遺伝子ノックインの最適化を実施した。まず、ドナーベクターの構造として、ホモロジー配列の両外側に CRISPR-Cas3 の標的配列を配し、挿入する遺伝子カセットがプラスミドベクターから切り出されるように設計することで、ノックインの効率が高まることを示した。また、Cas3 と Cascade が単一のベクターから発現するように改良を加えた all-in-one ベクターの機能性を実証した。更に、様々なホモロジーアーム長でのノックインの検証を実施することで、効率的なノックインに必要なホモロジー配列長を同定することに成功した。興味深いことに、必要なホモロジー配列長には、ゲノム上の標的配列の PAM 側と逆側で差異が存在した。

クラス 2 システムにおいては、過去に当グループが開発したゲノム編集の効率化技術である LoAD システムを拡張し、従来使用していた MS2 以外の RNA アプタマーおよび MS2 コートタンパク質以外の RNA 結合タンパク質のラインナップを整備した。これらを取り入れた拡張型 LoAD システムの効果を検証したところ、使用する RNA アプタマーや RNA 結合タンパク質によって編集結果に違いが生じることが明らかとなった。更に、先行研究においてゲノム編集パターンを変化させることが知られている T5exo-Cas9 と拡張型 LoAD 法を組み合わせた検証を実施した結果、編集パターンの更なる変化が生じること示された。

### (3) 2023 年度成果

クラス 1 システムにおいては、遺伝子ノックインの効率化に寄与すると考えられる転写活性化技術を整備し、高効率な転写活性化を実現可能なクラス 2 システム (dCas9) をベースとした技術に匹敵あるいはそれを凌ぐプラットフォームを確立した。この過程で、レポーターアッセイに加えヒト細胞における内在遺伝子の活性化レベルの定量を行い、複数の遺伝子座において dCas9 に転写活性化因子を高度に集積させる TREE システム (Kunii et al., 2018) と同等またはそれ以上の転写活性化を実現した。

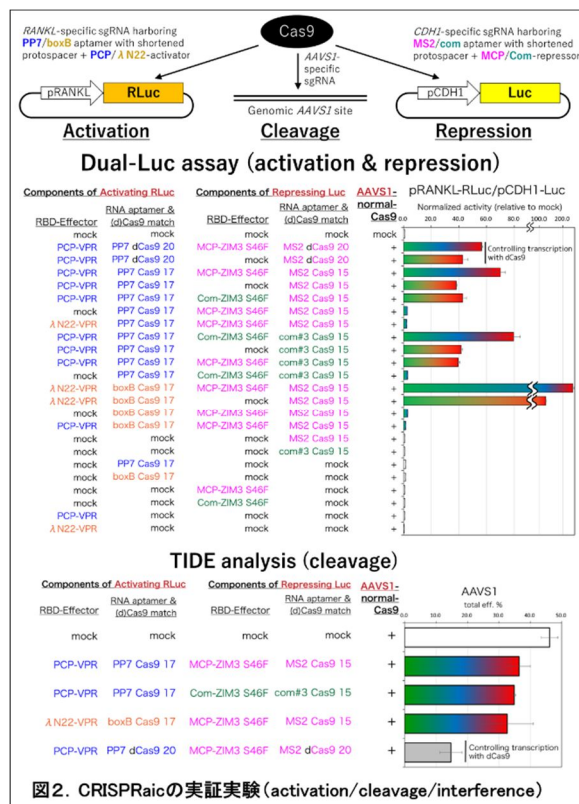
クラス 2 システムにおいては、転写活性化と抑制、および DNA 切断を標的依存的に同時制御できる CRISPRa/c (activation, interference, and cleavage) システムを整備した。CRISPR-Cas9 において、ガイド RNA の Spacer 領域を短縮することで DNA 結合の活性を保持したまま切断活性を失活させられる特徴を利用し、タンパク質として切断活性を保持する Cas9 を利用しつつ標的配列に応じて転写のコントロールと DNA 切断を巧みに使い分けられることを示した (図 2)。

本成果は、DNA 修復経路の操作を組み合わせた精密かつ高効率な遺伝子ノックインに役立てられると期待される。

### (4) 研究期間全体を通じた成果

本研究課題では、クラス 1 CRISPR システムにおけるエフェクター集積のプラットフォームの整備からその有用性の実証、CRISPR-Cas3 システムを用いた遺伝子ノックインの最適化を行った。またクラス 2 CRISPR システムにおいても、Cas12a を用いた遺伝子ノックインや、LoAD システムの拡張による従来法以上の遺伝子ノックイン効率の向上、転写調節/DNA 切断の同時制御などを実証し、クラス 1/クラス 2 CRISPR システムの機能性の拡張に成功した。

本研究で開発した諸般の拡張的技術は、クラス 1・クラス 2 の両 CRISPR システムの長所を最大限に引き出すと共に短所を打ち消し、これまで困難であった遺伝子改変等を可能とするものである。たとえば、クラス 1 CRISPR におけるエフェクター集積のプラットフォームは、従来のクラス 2 ベースの技術よりも標的の特異性を高めつつ同等又はそれ以上の転写活性化効果を得る



ことができ、LoAD システムを拡張した遺伝子ノックイン効率化技術は、高効率なクラス 2 ベースの遺伝子ノックインを更に強化することができる。これらの技術は、ゲノム編集は元より、転写の活性化・抑制、エピゲノム編集、およびこれらの同時制御などの様々な形で、より高度なシステムゲノム科学研究に活用されていくことが期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Newman Daniel, Young Lorna E., Waring Thomas, Brown Louise, Wolanska Katarzyna I., MacDonald Ewan, Charles-Orszag Arthur, Goult Benjamin T., Caswell Patrick T., Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi, Machesky Laura M., Morgan Mark R., Zech Tobias	4. 巻 42
2. 論文標題 3D matrix adhesion feedback controls nuclear force coupling to drive invasive cell migration	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 113554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.113554	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 該当する
1. 著者名 Kurita Tomokazu, Iwai Masako, Ohta Hiroyuki, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi	4. 巻 6
2. 論文標題 Genome editing for biodiesel production in oleaginous microalga, Nannochloropsis species	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Gene and Genome Editing	6. 最初と最後の頁 100027
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ggedit.2023.100027	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 Toishigawa Kayo, Eda Hiro Taro, Magoori Kenta, Sato Hiroyuki, Fukunaga Saori, Budirahardja Yemima Suryani, Ureshino Hiroshi, Suzuki Ryuji, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi, Ichinohe Tatsuo	4. 巻 142
2. 論文標題 Platinum Talen-Mediated Knock-in of Single-Stranded DNA Templates Facilitates Manufacturing of Clinical-Scale Non-Virally Gene-Edited T Cells from Peripheral Blood	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 6794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2023-178451	査読の有無 無
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 Ninagawa Satoshi, Matsuo Masaki, Ying Deng, Aso Shinya, Matsushita Kazutoshi, Fueki Akane, Saito Shunsuke, Imami Koshi, Kizuka Yasuhiko, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi, Yagi Hirokazu, Kato Koichi, Mori Kazutoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 UGGT1/2-mediated reglucoylation of N-glycan competes with ER-associated degradation of unstable and misfolded glycoproteins	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Elife Reviewed Preprint	6. 最初と最後の頁 RP93117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.93117.1	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 Nakatani Kazuma, Kogashi Hiroyuki, Miyamoto Takanori, Setoguchi Taiki, Sakuma Tetsushi, Kugou Kazuto, Hasegawa Yoshinori, Yamamoto Takashi, Hippo Yoshitaka, Suenaga Yusuke	4. 巻 14
2. 論文標題 Inhibition of OCT4 binding at the MYCN locus induces neuroblastoma cell death accompanied by downregulation of transcripts with high-open reading frame dominance	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 1237378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2024.1237378	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 Matsuzaki Shu, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi	4. 巻 -
2. 論文標題 REMOVER-PITCh: microhomology-assisted long-range gene replacement with highly multiplexed CRISPR-Cas9	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11626-024-00850-1	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 Shimode Sayumi, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi, Miyazawa Takayuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Establishment of CRFK cells for vaccine production by inactivating endogenous retrovirus with TALEN technology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6641
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-10497-1	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 Kunii Atsushi, Yamamoto Takashi, Sakuma Tetsushi	4. 巻 2577
2. 論文標題 Design, Construction, and Validation of Targeted Gene Activation with TREE System in Human Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 211 ~ 226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2724-2_15	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 McGrail Maura、Sakuma Tetsushi、Bleris Leonidas	4. 巻 12
2. 論文標題 Genome editing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20497
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-24850-x	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 Tanihara Fuminori、Hirata Maki、Namula Zhao、Do Lanh Thi Kim、Yoshimura Naoaki、Lin Qingyi、Takebayashi Koki、Sakuma Tetsushi、Yamamoto Takashi、Otoi Takeshige	4. 巻 11
2. 論文標題 Pigs with an INS point mutation derived from zygotes electroporated with CRISPR/Cas9 and ssODN	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 884340
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2023.884340	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 該当する

1. 著者名 Sakuma Tetsushi、Yamamoto Takashi	4. 巻 2637
2. 論文標題 Updated Overview of TALEN Construction Systems	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 27 ~ 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-3016-7_2	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 Ohga Hirofumi、Shibata Koki、Sakanoue Ryo、Ogawa Takuma、Kitano Hajime、Kai Satoshi、Ohta Kohei、Nagano Naoki、Nagasako Tomoya、Uchida Seiichi、Sakuma Tetsushi、Yamamoto Takashi、Kim Sangwan、Tashiro Kosuke、Kuhara Satoru、Gen Koichiro、Fujiwara Atushi、Kazeto Yukinori、Kobayashi Takanori、Matsuyama Michiya	4. 巻 13
2. 論文標題 Development of a chub mackerel with less-aggressive fry stage by genome editing of arginine vasotocin receptor V1a2	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-30259-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 Takashina Tomoki, Matsunaga Akihiro, Shimizu Yukiko, Sakuma Tetsushi, Okamura Tadashi, Matsuoka Kunie, Yamamoto Takashi, Ishizaka Yukihito	4. 巻 7
2. 論文標題 Robust protein-based engineering of hepatocyte-like cells from human mesenchymal stem cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hepatology Communications	6. 最初と最後の頁 e0051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/HC9.0000000000000051	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 Ezaki Ryo, Sakuma Tetsushi, Kodama Daisuke, Sasahara Ryou, Shiraogawa Taichi, Ichikawa Kennosuke, Matsuzaki Mei, Handa Akihiro, Yamamoto Takashi, Horiuchi Hiroyuki	4. 巻 175
2. 論文標題 Transcription activator-like effector nuclease-mediated deletion safely eliminates the major egg allergen ovomucoid in chickens	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Food and Chemical Toxicology	6. 最初と最後の頁 113703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fct.2023.113703	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 Tahara Mayu, Higurashi Norimichi, Hata Junichi, Nishikawa Masako, Ito Ken, Hirose Shinichi, Kaneko Takehito, Mashimo Tomoji, Sakuma Tetsushi, Yamamoto Takashi, Okano Hirotaka James	4. 巻 14
2. 論文標題 Developmental changes in brain activity of heterozygous Scn1a knockout rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Neurology	6. 最初と最後の頁 1125089
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fneur.2023.1125089	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 Dipak Pandey, Takahiro Matsubara, Taiju Saito, Yukinori Kazeto, Koichiro Gen, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto, Miyuki Mekuchi, Rie Goto	4. 巻 9
2. 論文標題 TALEN-Mediated Gene Editing of slc24a5 (Solute Carrier Family 24, Member 5) in Kawakawa, Euthynnus affinis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Marine Science and Engineering	6. 最初と最後の頁 1378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jmse9121378	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 Yuichi Tsuboi, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto, Hiroyuki Horiuchi, Fumikazu Takahashi, Kazuaki Igarashi, Hiroshi Hagihara, Yasushi Takimura	4. 巻 369
2. 論文標題 Gene manipulation in the Mucorales fungus <i>Rhizopus oryzae</i> using TALENs with exonuclease overexpression	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Letters	6. 最初と最後の頁 fnac010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsle/fnac010	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 Tomokazu Kurita, Masako Iwai, Keishi Moroi, Kumiko Okazaki, Seiji Nomura, Fumihiko Saito, Shinichiro Maeda, Akihide Takami, Atsushi Sakamoto, Hiroyuki Ohta, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Genome editing with removable TALEN vectors harboring a yeast centromere and autonomous replication sequence in oleaginous microalga	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-06495-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 -

1. 著者名 Narumi Uno, Shuta Takata, Shinya Komoto, Hitomaru Miyamoto, Yuji Nakayama, Mitsuhiro Osaki, Ryota Mayuzumi, Natsumi Miyazaki, Chiaki Hando, Satoshi Abe, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto, Teruhiko Suzuki, Yoshihiro Nakajima, Mitsuo Oshimura, Kazuma Tomizuka, Yasuhiro Kazuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Panel of human cell lines with human/mouse artificial chromosomes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 3009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-06814-3	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 Sakuma Tetsushi	4. 巻 3-4
2. 論文標題 From nuclease-based gene knock-in to prime editing - promising technologies of precision gene engineering	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gene and Genome Editing	6. 最初と最後の頁 100017
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ggedit.2022.100017	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32件（うち招待講演 11件 / うち国際学会 15件）

1. 発表者名 佐久間 哲史
2. 発表標題 多様化するゲノム編集の“今”
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第8回大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西川 想大、佐藤 瑞貴、佐久間 哲史
2. 発表標題 拡張型LoADシステムを用いたゲノム編集結果の制御技術の開発
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第8回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宇吹 俊一郎、國井 厚志、佐久間 哲史
2. 発表標題 転写の活性化、抑制およびDNA切断を同時制御するCRISPRa/cシステムの開発
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第8回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩田 千空、中出 翔太、中前 和恭、Lu Timothy K.、佐久間 哲史
2. 発表標題 DNAポリメラーゼを用いたCas9およびCas12aにより誘発される変異パターンの制御技術の開発
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第8回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大古 真矢、國井 厚志、吉見 一人、真下 知士、佐久間 哲史
2. 発表標題 CRISPR-Cascadeを用いた高機能転写活性化システムの開発
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第8回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永友 大暉、吉見 一人、真下 知士、佐久間 哲史
2. 発表標題 CRISPR-Cas3を用いた遺伝子ノックインの最適化
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第8回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma, Nahoko Nishibori, Hina Kubota, Tadahiko Yoshima
2. 発表標題 TALE-based nuclear base editing by the cooperation of novel single-molecule nickase and deaminase
3. 学会等名 Frontiers in Genome Engineering 2023 (FGE2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shunichiro Usui, Atsushi Kunii, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Simultaneous, orthogonal, and high-efficiency control of the activation and repression of transcription and DNA cleavage by CRISPRa/c system
3. 学会等名 Frontiers in Genome Engineering 2023 (FGE2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Two-pronged approach to genome editing and transcriptional control using CRISPR-Cas9/Cas12a and CRISPR-Cascade/Cas3
3. 学会等名 16th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2023) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sota Nishikawa, Mizuki Sato, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Efficient genome engineering with controllable editing outcomes through expansion of the LoAD system
3. 学会等名 16th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma, Nahoko Nishibori, Hina Kubota, Tadahiko Yoshima
2. 発表標題 CRISPR-free Nuclear Base Editing by the Cooperation of Novel Single-molecule Nickase and Deaminase Fused with TAL Effectors
3. 学会等名 JAACT2023 Nogoya (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Daiki Nagatomo, Kazuto Yoshimi, Tomoji Mashimo, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Development and optimization of CRISPR-Cas3-mediated gene knock-in technology
3. 学会等名 JAACT2023 Nogoya (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Shunichiro Usui, Atsushi Kunii, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 CRISPRa/c: simultaneous, orthogonal, and high-efficiency control of the activation and repression of transcription and DNA cleavage
3. 学会等名 JAACT2023 Nogoya (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Sota Nishikawa, Mizuki Sato, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Expansion of the LoAD system for efficient genome engineering by strongly biasing the editing outcomes
3. 学会等名 JAACT2023 Nogoya (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Maya Oko, Atsushi Kunii, Kazuto Yoshimi, Tomoji Mashimo, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Development of a high-performance transcriptional activation system using Class 1 CRISPR system
3. 学会等名 JAACT2023 Nogoya (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐久間 哲史
2. 発表標題 多様化するゲノム編集の基盤技術開発
3. 学会等名 神戸大学 学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐久間 哲史、西堀 奈穂子、久保田 日菜、吉間 忠彦
2. 発表標題 新規単分子ニッカーゼとデアミナーゼの協働によるCas9非依存型核ゲノム塩基編集技術の開発
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宇吹 俊一郎、國井 厚志、佐久間 哲史
2. 発表標題 CRISPRaic：転写の活性化、抑制およびDNA切断を同時制御可能なシステムの開発と応用
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西川 想大、佐藤 瑞貴、佐久間 哲史
2. 発表標題 LoADシステムの拡張がゲノム編集結果に高度なバイアスをかける
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永友 大暉、吉見 一人、真下 知士、佐久間 哲史
2. 発表標題 長鎖欠失ツールCRISPR-Cas3を用いた遺伝子ノックイン技術の開発
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 塩田 千空、中出 翔太、中前 和恭、Lu Timothy K.、佐久間 哲史
2. 発表標題 DNAポリメラーゼはCas9およびCas12aにより誘発される変異パターンの制御を可能にする
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma, Nahoko Nishibori, Hina Kubota, Tadahiko Yoshima
2. 発表標題 Nuclear base editing in human cells by the cooperation of novel single-molecule nickase and deaminase fused with TAL effectors
3. 学会等名 KEYSTONE SYMPOSIA - PRECISION GENOME ENGINEERING (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Maya Oko, Atsushi Kunii, Kazuto Yoshimi, Tomoji Mashimo, Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 High-performance transcriptional activation using Class 1 Type I-E CRISPR system
3. 学会等名 KEYSTONE SYMPOSIA - PRECISION GENOME ENGINEERING (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 佐久間 哲史
2. 発表標題 ゲノム編集技術の現状と2050年展望
3. 学会等名 日本生物工学会 創立100周年記念シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 佐久間 哲史
2. 発表標題 最先鋭ゲノム編集の現在地
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第7回大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐久間 哲史, 西堀 奈穂子, 吉間 忠彦, 山本 卓
2. 発表標題 Cas9とTALEの協働によるC TおよびA Gの特異的で高効率な塩基編集
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第7回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma, Nahoko Nishibori, Tadahiko Yoshima, Takashi Yamamoto
2. 発表標題 Highly specific and efficient C-to-T and A-to-G base editing by Cas9 and TALE cooperation
3. 学会等名 FASEB Science Research Conference - The Genome Engineering Conference: Cutting-edge Research and Applications (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma, Nahoko Nishibori, Tadahiko Yoshima, Takashi Yamamoto
2. 発表標題 Highly specific and efficient C-to-T and A-to-G base editing with TALE-deaminases assisted by Type I or Type II CRISPR systems
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting - Genome engineering: CRISPR frontiers (国際学会)
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 From nuclease-based genome editing to DNA double-strand break-free precision gene engineering
3. 学会等名 15th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2022) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐久間 哲史
2. 発表標題 培養細胞を用いたゲノム編集研究の最前線
3. 学会等名 日本ゲノム編集学会 第6回大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tetsushi Sakuma
2. 発表標題 Recent advances in genome editing and beyond
3. 学会等名 14th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐久間 哲史
2. 発表標題 ゲノム編集の最新動向と今後の展望
3. 学会等名 第6回川島カンファレンス (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 佐久間 哲史、赤瀬 まりな	4. 発行年 2023年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 131
3. 書名 実験医学2023年12月号	

1. 著者名 西川 想大, 佐久間 哲史	4. 発行年 2023年
2. 出版社 東京医学社	5. 総ページ数 168
3. 書名 腎と透析	

1. 著者名 山本 卓, 佐久間 哲史	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 137
3. 書名 実験医学 2021年5月号 Vol.39 No.8 CRISPR最新ツールボックス	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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