



令和5年10月30日

国立大学法人 岩手大学

## **ゲノム編集動物の作製成功率を予測・向上できるシステムの開発に成功**

**Cas9 タンパクの受精卵内での存在場所がゲノム編集動物作製の成功率を向上させるカギであることを突き止めた**

### 概要

岩手大学工学部 金子武人准教授らの研究グループは、CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集動物を作製する際に用いる Cas9 タンパクを可視化させることで受精卵内での存在場所を特定し、その存在場所が作製成功率の向上に大きく関係していることを突き止めました。

本研究結果により、受精卵の段階でゲノム編集動物作製の成功率の予想が可能となり、核内に Cas9 タンパクが十分に存在する受精卵のみを選抜できるため、さらに成功率を向上させることができます。また、産まれてきた動物がゲノム編集されていない場合は研究に利用されないことから、成功率の高い受精卵の選抜は、無駄な動物の生産を回避できるだけでなく出産数の少ない動物の効率的な生産にも活用できるため、動物福祉の観点から 3Rs にも貢献するものです。

本研究成果は、令和5年10月27日（英国時間）にエルゼビア社が発刊する国際学術雑誌『Biochemical and Biophysical Research Communications (BBRC)』に掲載されました。

### 背景

ゲノム編集技術は、動物にも応用されており、現在ゲノム編集動物はヒトの疾患に関連した遺伝子の機能解明や予防・治療法の開発に用いられています。これまでいくつかのゲノム編集技術が開発されてきましたが、現在は扱いやすい CRISPR/Cas9 システムを用いたゲノム編集技術が主流で、この方法を用いてゲノム編集動物も作製されています。通常、ゲノム編集動物の作製では、受精卵の段階で CRISPR/Cas9 システムの核酸を導入し、目的遺伝子を改変しま



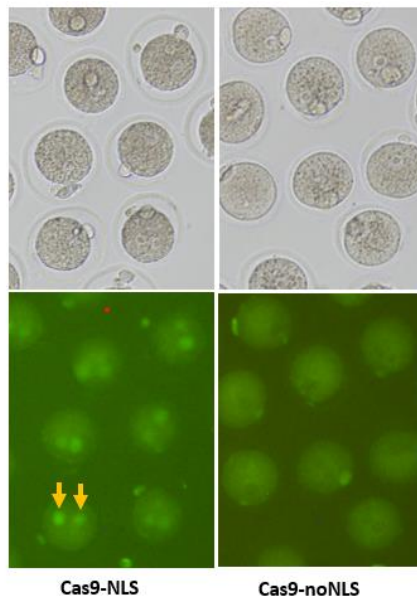
す。改変された受精卵を雌の子宮に着床させ産子が作製されます。これまで多くの系統が、この方法で作製されてきましたが、何が成功率の向上に關与しているのかは検討されていませんでした。

本研究グループは、エレクトロポレーション法により受精卵に簡易に核酸を導入し高率にゲノム編集動物を作製できる技術（テイク法、特許取得済）（<http://web.cc.iwate-u.ac.jp/~takehito/take.html>）の開発に成功しました。しかしながら、導入した核酸が受精卵内でどのように存在し機能しているのかはこれまで不明でした。そこで本研究グループは、蛍光標識した Cas9 タンパクをマウス受精卵に導入することで存在場所を突き止め、成功率にどのように影響するのかを調べました。

### 研究内容・成果

まず、本研究グループは CRISPR/Cas9 システムの核酸の Cas9 タンパクを可視化するために、蛍光標識として GFP タンパクを付加した Cas9 タンパクを用意しました。さらに、この核酸に核移行シグナル（NLS）を付加した Cas9-GFP タンパクを用意しました。本実験では、チロシナーゼ遺伝子を目的遺伝子として標的にしました。この核酸をマウスの受精卵にテイク法を用いて導入しました。核酸を導入した受精卵を蛍光顕微鏡で観察し、導入核酸の存在場所および蛍光強度を測定しました。さらに受精卵は雌の子宮に移植することで産子に発生させました。

その結果、NLS を付加した Cas9 タンパクは受精卵内で細胞質から核内に多く移動していることが観察され、強い蛍光強度を示しました。一方、NLS を付加しない Cas9 タンパクは、核内への移動は観察されませんでした。NLS を付加した Cas9 タンパクを導入した受精卵から得られた産子は、NLS を付加しない Cas9 タンパクを導入した受精卵から得られた産子よりも有意に高い遺伝子改変率を示しました。このことから、Cas9 タンパクの核内への移動が成功率の向上に大きく關与していることを突き止めました。

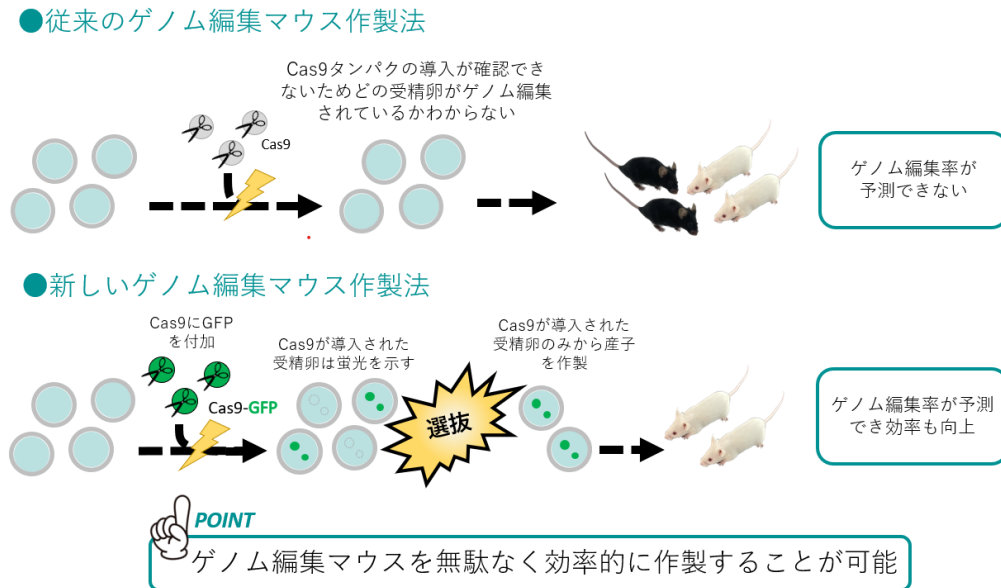


核内にCas9タンパクが蓄積した  
受精卵（左、矢印部分が核）  
と蓄積していない受精卵（右）



## 今後の展開

本研究結果により、受精卵の段階でゲノム編集動物作製の成功率の予想が可能となり、核内に Cas9 タンパクが十分に存在する受精卵のみを選抜できるため、さらに成功率を向上させることができます。また、産まれてきた動物がゲノム編集されていない場合は研究に利用されないことから、成功率の高い受精卵の選抜は、無駄な動物の生産を回避できるだけでなく、出産数の少ない動物の効率的な生産にも活用できるため、動物福祉の観点から 3Rs にも貢献するものです。



## 研究概要

### 掲載論文

題 目 : Importance of nuclear localization signal-fused Cas9 in the production of genome-edited mice via embryo electroporation

著 者 :

新沼 さくら 岩手大学大学院総合科学研究科理工学専攻

和家 由依 岩手大学大学院総合科学研究科理工学専攻 (当時)

中川 優貴 岩手大学理工学部 特任研究員

金子 武人 岩手大学理工学部・大学院理工学研究科 准教授

誌 名 : Biochemical and Biophysical Research Communications (BBRC) (エルゼビア社)

公表日 : 令和5年10月27日 (英国時間)

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X23012342>

doi: 10.1016/j.bbrc.2023.149140



岩手大学  
IWATE UNIVERSITY

**【用語解説】**

- ・マウス ハツカネズミ属のネズミ。実験動物の一種
- ・CRISPR/Cas9 システム ゲノム編集技術の一つ
- ・Cas9 タンパク 目的遺伝子を切断する酵素
- ・核移行シグナル タンパクを核へ移行するアミノ酸配列
- ・ゲノム編集動物 ゲノム編集技術により遺伝子が改変された動物
- ・動物福祉の 3Rs
  - Replacement (代替) : 動物種を選択、試験管内実験への代替
  - Reduction (削減) : 使用動物数の削減、最少の動物数の使用
  - Refinement (改善) : 苦痛の軽減、安楽死措置、飼育環境の改善

本研究は、以下の研究事業の成果の一部として得られました。

- ・日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS)
- ・文部科学省 科学研究費補助金

**関連 HP**

動物生殖・発生学 (金子) 研究室

<http://web.cc.iwate-u.ac.jp/~takehito/>

**【本件に関するお問い合わせ】**

岩手大学 理工学部化学・生命理工学科 生命コース  
准教授 金子 武人 (かねこ たけひと)

電 話 : 019-621-6328

メール : takehito@iwate-u.ac.jp

