

◆ 序	山本 卓
◆ 巻頭ガイド ゲノム編集実験の流れ	佐久間哲史, 山本 卓 10

## 第 I 部 ゲノム編集ツールに関する Q&A

### 第 1 章 TALENに関する Q & A

佐久間哲史

Q1	TALEN の設計法・作製法について教えてください。	14
Q2	TALEN の標的配列とスペーサー配列の長さの最適な範囲を教えてください。	17
Q3	TALEN の標的配列にミスマッチがあった場合の切断効率について教えてください。	20
Q4	TALEN のオフターゲット変異の調べ方について教えてください。	23
Q5	TALEN をウイルスベクターで導入することはできますか？	26
Q6	TALEN を大腸菌組換えタンパク質として精製することはできますか？	28

### 第 2 章 CRISPR/Cas9に関する Q & A

佐久間哲史

Q7	CRISPR/Cas9 の設計法・作製法について教えてください。	30
Q8	標的としたい領域に PAM 配列の 5'-NGG-3' がみつからない場合には どうすればよいですか？	33
Q9	sgRNA の標的配列の長さは 20 bp でなければいけないのですか？	36
Q10	sgRNA の標的配列にミスマッチがあった場合の切断効率について教えてください。	38
Q11	CRISPR/Cas9 のオフターゲット変異の調べ方について教えてください。	41
Q12	CRISPR/Cas9 の特異性を上げる方法があれば教えてください。	45

<b>Q13</b>	Cas9 ニッカーゼを用いた相同組換えは可能ですか？	48
<b>Q14</b>	Cas9 タンパク質が市販されていますが、それぞれで特徴がありますか？ また使用例があれば教えてください。	50
<b>Q15</b>	化学合成した sgRNA を使用することはできますか？	52
<b>Q16</b>	sgRNA を U6 プロモーター以外で発現させたいと思っています。 組織特異的プロモーターや誘導型プロモーターは使えますか？	54
<b>Q17</b>	CRISPR/Cas9 をウイルスベクターで導入することはできますか？	56
<b>Q18</b>	sgRNA ライブラリーを用いたノックアウトスクリーニングについて教えてください。	58

### 第3章 TALEN, CRISPR/Cas9 に共通の Q & A

佐久間哲史

<b>Q19</b>	多くのベクターがあり、どれを使えばよいかわかりません。 お勧めのベクターがあれば教えてください。	60
<b>Q20</b>	短い配列のノックインを行いたいと考えています。 ssODN の設計の仕方について教えてください。	64
<b>Q21</b>	レポーター遺伝子をノックインしたいと考えています。 ターゲティングベクターの設計の仕方について教えてください。	67
<b>Q22</b>	複数の遺伝子を同時に破壊したいと考えています。 どのような戦略が有効でしょうか？	70
<b>Q23</b>	染色体欠失を誘導したいと考えています。どのくらいの長さまで 欠失させられるでしょうか？	73
<b>Q24</b>	転座を誘導したいと考えていますが、可能でしょうか？	75

## 第II部 細胞種・生物種ごとの Q&A

### 第1章 哺乳類培養細胞でのゲノム編集

落合 博

<b>Q25</b>	哺乳類培養細胞では、どのようなゲノム編集が可能ですか？	78
<b>Q26</b>	哺乳類培養細胞でゲノム編集を行う際の注意事項について教えてください。	81
<b>Q27</b>	哺乳類培養細胞でゲノム編集を行う場合、どのベクターを用いればよいですか？	83
<b>Q28</b>	哺乳類培養細胞でゲノム編集を行う場合、どのような導入方法が適切ですか？	85
<b>Q29</b>	哺乳類培養細胞でゲノム編集を行う場合に必要となる材料や施設について 教えてください。	88

- Q30** 哺乳類培養細胞での変異体のスクリーニング方法について教えてください。 ..... 90
- Q31** 倍数性の高い細胞やプライマリー細胞でゲノム編集は可能でしょうか？ ..... 94

## 第2章 ヒト人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) でのゲノム編集

李 紅梅, 堀田秋津

- Q32** ヒト iPS 細胞でゲノム編集を行う際の注意事項を教えてください。 ..... 96
- Q33** ヒト iPS 細胞でゲノム編集を行う際, どの発現ベクターを使用すべきでしょうか? ..... 98
- Q34** ヒト iPS 細胞への遺伝子導入方法は何が適していますか? ..... 100
- Q35** ヒト iPS 細胞のサブクローニングの方法を教えてください。 ..... 102

## 第3章 マウスでのゲノム編集

藤原祥高, 伊川正人

- Q36** マウスでは, どのようなゲノム編集が可能ですか? ..... 106
- Q37** マウスでゲノム編集を行う場合, どのベクターを用いればよいですか? ..... 109
- Q38** マウスでゲノム編集を行う場合に必要となる材料や設備について教えてください。 ..... 112
- Q39** マウスでゲノム編集を行う場合, どのような導入方法が適切ですか? ..... 114
- Q40** マウスでの変異体のスクリーニング方法について教えてください。 ..... 116
- Q41** コンディショナルノックアウトマウスの作製は可能でしょうか? ..... 118
- Q42** マウスでゲノム編集を行う際のその他の注意事項について教えてください。 ..... 121

## 第4章 ラットでのゲノム編集

真下知士

- Q43** ラットでは, どのようなゲノム編集が可能ですか? ..... 124
- Q44** ラットでゲノム編集を行う場合, どのようなベクターを用いればよいですか? ..... 128
- Q45** ラットでゲノム編集を行う場合, 必要となる材料や設備について教えてください。 ..... 131
- Q46** ラットでゲノム編集を行う場合, どのような導入方法が適切ですか? ..... 134
- Q47** ラットでの変異体のスクリーニング方法について教えてください。 ..... 137
- Q48** ラットでゲノム編集を行う際の, その他の注意事項について教えてください。 ..... 140

## 第5章 両生類でのゲノム編集

鈴木賢一

- Q49** 両生類では, どのようなゲノム編集が可能ですか? ..... 143

- Q50** 両生類でゲノム編集を行う場合、どのベクターを用いればよいですか？ .....147
- Q51** 両生類でゲノム編集を行う場合に必要となる、材料や設備について教えてください。 .....150
- Q52** 両生類でゲノム編集を行う場合、どのような導入方法が適切ですか？ .....152
- Q53** 両生類での変異体スクリーニング方法について教えてください。 .....154
- Q54** 両生類でゲノム編集を行う際のその他の注意事項について教えてください。 .....157

## 第6章 小型魚類でのゲノム編集

川原敦雄, 木下政人

- Q55** 小型魚類では、どのようなゲノム編集が可能ですか？ .....158
- Q56** 小型魚類におけるゲノム編集の手順を教えてください。 .....161
- Q57** 小型魚類での変異体のスクリーニング方法について教えてください。 .....164
- Q58** 小型魚類でゲノム編集を行う際の注意事項を教えてください。 .....166
- Q59** 小型魚類では、効率のよいノックイン法はありますか？ .....169
- Q60** 小型魚類の分野で開発された最新のゲノム編集技術を教えてください。 .....172

## 第7章 海産無脊椎動物ホヤでのゲノム編集

笹倉靖徳

- Q61** ホヤでは、どのようなゲノム編集が可能ですか？ .....175
- Q62** ホヤでゲノム編集を行う場合、どのようなベクターを用いればよいですか？ .....178
- Q63** ホヤでゲノム編集を行う場合、必要となる材料や設備について教えてください。 .....182
- Q64** ホヤでゲノム編集を行う場合、どのような導入方法が適切ですか？ .....185
- Q65** 本章で紹介されたベクターはカタユウレイボヤ以外の海産動物にも利用できますか？ .....188

## 第8章 ショウジョウバエでのゲノム編集

林 茂生

- Q66** ショウジョウバエでのゲノム編集による遺伝子機能解析の概要を教えてください。 .....190
- Q67** ショウジョウバエではどのようなゲノム編集が可能ですか？ .....193
- Q68** ショウジョウバエでゲノム編集を行う場合、どのような準備をすればよいですか？ .....196
- Q69** ショウジョウバエでの変異体のスクリーニング方法について教えてください。 .....198
- Q70** ショウジョウバエでのゲノム編集についてその他の注意事項を教えてください。 .....200

## 第9章 カイコでのゲノム編集

大門高明

- Q71 カイコでは、どのようなゲノム編集が可能ですか? .....202
- Q72 カイコでゲノム編集を行う場合、どのベクターを用いればよいですか? .....205
- Q73 カイコでゲノム編集を行う場合に必要となる材料や設備について教えてください。 .....208
- Q74 カイコでゲノム編集を行う場合、どのような導入方法が適切ですか? .....211
- Q75 カイコでの変異体のスクリーニング方法について教えてください。 .....213
- Q76 カイコでゲノム編集を行う際のその他の注意事項について教えてください。 .....216

## 第10章 線虫でのゲノム編集

杉 拓磨

- Q77 線虫では、どのようなゲノム編集が可能ですか? .....218
- Q78 線虫でゲノム編集を行う場合、どのベクターを用いればよいですか?  
変異体のスクリーニング法についても教えてください。 .....220
- Q79 線虫でゲノム編集を行う場合、どのような導入方法が適切ですか?  
必要な設備と手順についても教えてください。 .....223
- Q80 線虫でゲノム編集を行う際のその他の注意事項について教えてください。 .....226

## 第11章 植物でのゲノム編集

安本周平, 關 光, 刑部祐里子, 刑部敬史, 村中俊哉

- Q81 植物では、どのようなゲノム編集が可能ですか? .....228
- Q82 植物でゲノム編集を行う場合、どのベクターを用いればよいですか? .....232
- Q83 植物でゲノム編集を行う場合に必要となる材料や設備について教えてください。 .....236
- Q84 植物でゲノム編集を行う場合、どのような導入方法が適切ですか? .....238
- Q85 植物での変異体のスクリーニング方法について教えてください。 .....241
- Q86 非モデル植物でゲノム編集を行う際のその他の注意事項について教えてください。 .....244

## 第12章 その他の生物でのゲノム編集

山本 卓

- Q87 報告のない生物・細胞種でゲノム編集を行う際に何に気がつけたらよいですか? .....245

## 第Ⅲ部 その他のQ&A

### 第1章 応用技術について

佐久間哲史

- Q88** ゲノム編集ツールを転写調節に応用できるようですが、  
どのようなことが可能ですか？ .....248
- Q89** ゲノム編集ツールをエピゲノム改変に応用できるようですが、  
どのようなことが可能ですか？ .....250
- Q90** ゲノム編集ツールをクロマチン免疫沈降（ChIP）に応用できるようですが、  
どのようなことが可能ですか？ .....253
- Q91** ゲノム編集ツールを染色体可視化に応用できるようですが、  
どのようなことが可能ですか？ .....255

### 第2章 情報収集について

佐久間哲史

- Q92** ゲノム編集に関する最新情報を入手できるウェブサイトを教えてください。 .....257
- Q93** ゲノム編集に関するトラブルシューティングを相談できる窓口はありますか？ .....259

### 第3章 ゲノム編集生物の取り扱いについて

田中伸和, 山本 卓

- Q94** ゲノム編集で作製した生物は、遺伝子組換え生物に該当するのでしょうか？ .....261

- ◆ 索引 ..... 264