

実験医学別冊

完全版

# ゲノム編集 実験スタンダード

CRISPR-Cas9の設計・作製と各生物種でのプロトコルを徹底解説

## 目次

◆ 序 ..... 山本 卓 ..... 3

## I 基礎編

- 1 ゲノム編集の原理と応用 ..... 山本 卓 ..... 10
- 2 新旧ゲノム編集ツール（ZFN・TALEN・CRISPR）の  
長所と短所 ..... 落合 博 ..... 17
- 3 遺伝子改変の戦略①：ノックアウト ..... 佐久間哲史，中前和恭，山本 卓 ..... 26
- 4 遺伝子改変の戦略②：プラスミドドナーを用いたノックイン  
..... 佐久間哲史，山本 卓 ..... 34
- 5 遺伝子改変の戦略③：一本鎖ドナーを用いたノックイン  
..... 中出翔太，相田知海 ..... 41
- 6 ゲノム編集と応用技術を取り巻く法規制  
カルタヘナ法，遺伝子ドライブ ..... 田中伸和 ..... 50

## II 実践編

### A ツール作製とアプリケーション

- 1 CRISPRdirectによるガイドRNA配列の設計…………… 内藤雄樹 …… 65
- 2 CRISPR-Cas9の作製法と  
プラスミドドナーの設計法・作製法…………… 佐久間哲史 …… 74
- 3 オフターゲット作用の検出・評価…………… 鈴木啓一郎 …… 86
- 4 CRISPRライブラリーを用いた  
遺伝子スクリーニング法…………… 遊佐宏介 …… 99
- 5 Target-AIDの設計と作製…………… 中井明日也, Ang Li, 西田敬二 …… 112
- 6 エピゲノム編集：特定領域の  
DNA脱メチル化操作を例として…………… 森田純代, 堀居拓郎, 畑田出穂 …… 119
- 7 特定内在遺伝子の転写-核内局在の同時イメージング…………… 落合 博 …… 128
- 8 CRISPR-Cas9を応用した遺伝子の光操作技術…………… 佐藤守俊 …… 139

### B 各生物種への適用

- 9 糸状菌でのゲノム編集…………… 荒添貴之 …… 157
- 10 培養細胞でのゲノム編集  
…………… 宮本達雄, 藤田和将, 阿久津シルビア夏子, 松浦伸也 …… 173
- 11 iPS細胞における欠失挿入導入ゲノム編集実験  
…………… 北 悠人, 渡邊 啓, 徐 淮耕, 鍵田明宏, 堀田秋津 …… 184
- 12 ヒトiPS細胞のAAVS1遺伝子座への遺伝子組込み  
…………… Suji Lee, 香川晴信, 松本智子, Fabian Ocegüera-Yanez, Knut Woltjen …… 205

- 13 小型魚類でのゲノム編集……………川原敦雄, 星島一幸 … 221
- 14 Crispant : 両生類における遺伝子機能解析  
……………鈴木賢一, 鈴木美有紀, 林 利憲 … 235
- 15 gRNA/Cas9 複合体を用いたマウスでのゲノム編集  
……………野田大地, 大浦聖矢, 伊川正人 … 251
- 16 ラット受精卵でのゲノム編集……………吉見一人, 真下知士 … 267
- 17 植物でのゲノム編集 …… 刑部祐里子, 原 千尋, 橋本諒典, 宮地朋子, 刑部敬史 … 282

### III 応用編

- 1 Cas9/Cas12aの立体構造と機能改変……………西増弘志, 濡木 理 … 301
- 2 CRISPRを利用した配列特異的なDNAの単離… 藤田敏次, 藤井穂高 … 309
- 3 ゲノム編集技術を用いた次世代微生物育種……………寺本 潤, 西田敬二 … 317
- 4 移植用臓器作製への応用……………渡邊將人, 長嶋比呂志 … 325
- 5 モデル霊長類でのゲノム編集……………佐々木えりか, 佐藤賢哉, 汲田和歌子 … 332
- 6 遺伝子治療とゲノム編集……………三谷幸之介 … 340
- 7 農作物でのゲノム編集……………安本周平, 村中俊哉 … 347
- 8 養殖魚でのゲノム編集……………岸本謙太, 木下政人 … 355
- 9 家禽でのゲノム編集……………江崎 僚, 松崎芽衣, 堀内浩幸 … 364

## column

---

- CRISPR-Cas12/13 を応用した核酸検出技術 ..... 西増弘志 ..... 61
- ニックを用いた小規模ゲノム編集法 ..... 中田慎一郎 ..... 63
- 非分裂細胞での効率的遺伝子ノックイン法 ..... 鈴木啓一郎 ..... 151
- RNA 編集ツールとしての PPR 技術の開発  
..... 西 光悦, 八木祐介, 中村崇裕 ..... 154
- microRNA を利用した細胞種特異的なゲノム編集法  
..... 齊藤博英, 弘澤 萌 ..... 296
- 人工染色体とゲノム編集によるヒト化薬物動態モデルラットの作製  
..... 香月康宏, 押村光雄 ..... 299
- タンパク質集積技術による高度ゲノム編集・転写調節  
..... 佐久間哲史, 國井厚志, 山本 卓 ..... 372
- 改変した Cas9 や sgRNA による高効率相同組換え ..... 宮岡佑一郎 ..... 374
- ◆ 索引 ..... 377
- ◆ 執筆者一覧 ..... 383