

ポスター発表

[P-29-20_38] Poster session

Fri. Mar 29, 2019 9:00 AM - 3:30 PM ポスター会場・展示 (大教室)

[P29-38]単為発生胚を用いた CRISPR/Cas9・エレクトロポレーション法によるブタゲノム編集条件の検討

○河原崎 達雄, 森山 うらら, 柿本 千夏, 山本 麻由, 松本 大和 (東海大農)

【目的】ゲノム編集技術は目的とする遺伝子を効率的にノックアウト、ノックインすることができる技術である。本研究では、ブタ単為発生胚を用いて CRISPR/Cas9・エレクトロポレーション法によるゲノム編集の条件について検討した。【材料と方法】細胞接着分子*CADM1*遺伝子の Exon1および Exon4に対応する crRNAを設計し、gRNA/Cas9nuclease複合体を調製した。ブタ卵巣から採取した未成熟卵母細胞を48時間成熟培養し、直流電気刺激により活性化を行い、3、6および9時間後に、gRNA/Cas9nuclease複合体をエレクトロポレーション法により導入した。ゲノム編集胚は活性化後6～7日間培養し、胚盤胞に発生した胚のシーケンスを解析しゲノム編集の有無を確認した。【結果】ゲノム編集効率は、Exon1 (82.4% ; 14/17) で、Exon4 (52.6% ; 10/19) に比べ高くなった($P<0.05$)。エレクトロポレーションの実施時間による差はなく、全体のゲノム編集率は66.7% (24/36)であった。以上の結果から、単為発生胚により crRNAの有効性が確認できること、活性化刺激3～9時間後にエレクトロポレーション法を実施することにより gRNA/Cas9nuclease複合体を導入してゲノム編集できることが明らかとなった。