

1 (1) 論文タイトル (タイトル・サブタイトル・キャッチコピーは必須です)

2 タイトル：マイクロニードルアレイを用いた植物のゲノム編集

3 サブタイトル：植物細胞内における効率的な Cas9 の放出

4 タイトル（英）：Genome editing of plants using microneedle arrays

5 サブタイトル（英）：Efficient release of Cas9 in plant cells

6 キャッチコピー：In planta ゲノム編集を実現するマイクロニードル技術

7

8 (2) 著者名

9 (和) 山岸彩奈^{1,2}、吉川千晶^{3,4}、山崎智彦^{3,4}、中村 史^{1,2}

10 (英) Ayana Yamagishi^{1,2}, Chiaki Yoshikawa^{3,4}, Tomohiko Yamazaki^{3,4}, Chikashi

11 Nakamura^{1,2}

12

13 (3) 著者ご所属

14 ¹産業技術総合研究所、²東京農工大学、³物質・材料研究機構、⁴北海道大学

15

16 (4) 要旨

17 (和：100 字程度)

18 Cas9 タンパク質/gRNA 複合体をマイクロニードルアレイの表面に担持し、

19 これを植物組織に挿入することによりゲノム編集を行う。本手法は、茎頂分裂

20 組織を標的として、迅速な標的遺伝子変異体の獲得を目指す。そのため、効率

21 的なニードルの挿入と Cas9 の放出が鍵となる。

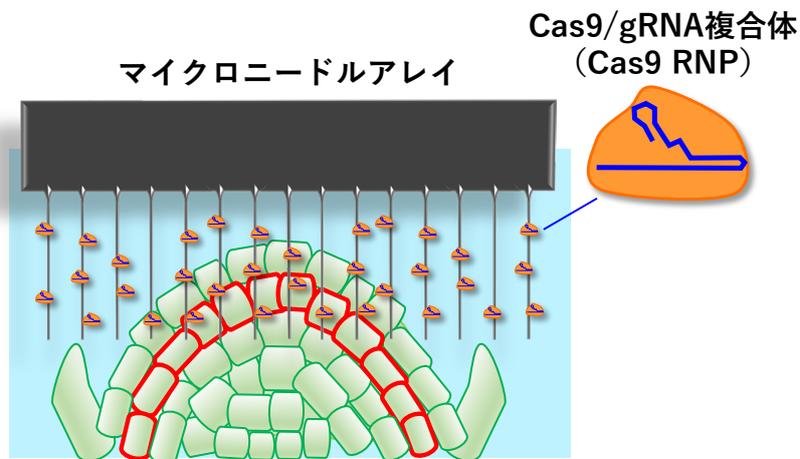
22

23 (英： 30 語程度)

24 We develop a new genome editing technology for plant by direct delivery of Cas9
25 protein/gRNA complex with a microneedle array. This method aims to rapidly obtain
26 target gene deficient mutants by targeting the shoot apical meristem. Therefore, efficient
27 needle insertion and Cas9 release are key.

28

29 (graphical abstract) ※図表を貼りつけてください (別ファイルでも構いません)。



30 ※graphical abstract とは、ご自分の論文の内容をアピールする図です。新たに作られたポン

31 チ絵、内容に関する写真、論文中の図の一部等をご利用ください。論文中の図を使用す

32 る場合は、一目で概要がわかるように、内容をシンプルにし、文字も大きくしてください。

33 ※以上の図・文章は、本誌・学会ホームページでの紹介に利用しますので必ずご記入くだ

34 さい。

35

36 キーワード作成のお願い

37 ご執筆いただいた論文に関するキーワードの作成（1~5 個）をお願いいたします。キーワ

38 ードは、1 個以上 5 個以下

39 1. マイクロニードルアレイ

40 2. ゲノム編集

41 3. Cas9

42 4. 茎頂分裂組織

43 5. 三元共重合体ポリマー

44

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

45 **【本文】**（「解説」の方は300字以内の序文をお書きください）

46 **はじめに**

47 ゲノム編集が植物育種において非常に強力なツールであることは、既に広く
48 認識されている。本稿ではシリコン製の針状材料、マイクロニードルアレイを
49 用いて、タンパク質ベースのゲノム編集技術を植物に適用する方法について紹
50 介する。具体的には、実用植物であるダイズの茎頂分裂組織を標的とした in
51 planta ゲノム編集の試みと、植物組織内で効率よく Cas9 タンパク質が放出され
52 る新しい表面修飾ポリマーについて解説する。

53

54 **ゲノム編集について**

55 ゲノム編集技術は、染色体上の特定の遺伝子配列を精密に改変する技術であ
56 るが、CRISPR/Cas システムの発明により、標的配列認識における設計が極めて
57 容易になったことで、急速に進展を遂げた。技術の詳細に関しては他の記事に
58 譲ることにするが、その主なメカニズムは標的遺伝子の切断と切断後の非相同
59 末端結合による自己修復過程で生じる挿入・欠失変異（indel 変異）である。こ
60 の indel 変異は、紫外線照射等で自然発生する遺伝子変異と区別が困難である
61 ため、ゲノム編集によって生成された生物を遺伝子組換え生物（GMO）として
62 扱わないという考え方があり、日本をはじめ、アルゼンチン、オーストラリア、
63 ブラジル、カナダ、チリ、米国等の国では、外来遺伝子が導入されない場合は、
64 ゲノム編集生物を GMO と見なさない⁽¹⁾。我が国では、カルタヘナ法に基づく

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

65 GMO の野外放出に関する規制もあるため、特に植物の分野ではゲノム編集に
66 よる非 GMO 育種技術の重要性が増している。一方、従来のアグロバクテリウ
67 ム法をはじめとするベクターDNA の導入に依存するゲノム編集では、戻し交配
68 による外来 DNA の除去が必須であるため、育種に時間を要する。そのため、
69 Cas9 タンパク質の直接導入によるゲノム編集に期待が集まる。イネやタバコ、
70 コムギのゲノム編集において、プロトプラストへの Cas9 タンパク質/gRNA 複
71 合体 (Cas9 ribonucleoprotein, RNP) の直接導入が試みられており、有効である
72 ことが示されている⁽²⁻⁴⁾。しかしながら、プロトプラストからの植物全体の再生
73 は、多くの作物種では現時点では実現不可能である⁽⁵⁾。そこで注目されるのが、
74 茎頂分裂組織等の生殖系列細胞を含む組織を標的とした in planta ゲノム編集で
75 ある⁽⁶⁻⁹⁾。図 1 に示すように花粉や卵細胞などの生殖系列に分化すると期待され
76 る細胞は茎頂分裂組織の表層から 2 番目の L2 層に存在すると考えられている。
77 L2 層に Cas9 RNP を送達することにより、当代 (T0) で生殖細胞の標的遺伝子
78 に変異を導入する。変異導入効率が高ければ T0 で変異体種子を獲得出来る可
79 能性もある。タンパク質ベ
80 ースのゲノム編集である
81 ため、外来 DNA の残存を
82 調査する必要が無い。高効
83 率に Cas9 RNP を植物組織
84 に送達する方法として、

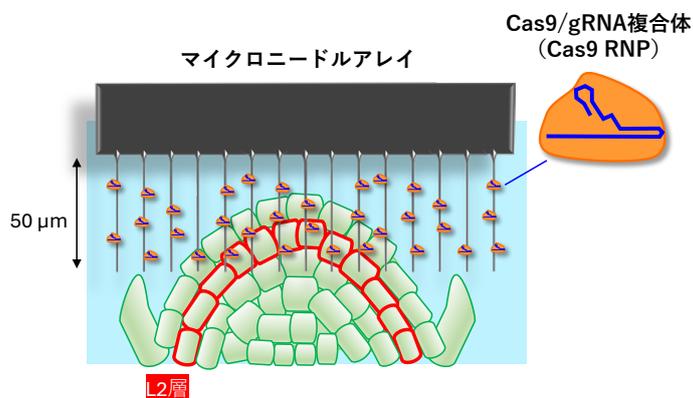


図 1 茎頂分裂組織を標的としたマイクロニードルアレイによる Cas9 RNP 導入の概念図

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

85 我々はヒト細胞、動物細胞で実績のある針状材料、ナノニードルアレイを応用
86 することとした。

87

88 植物組織へ挿入可能なマイクロニードル材料

89 中村らは、直径 200 nm、長さ 10 μm 以上の高アスペクト比の針状材料、ナノ
90 ニードルを、ヒト細胞をはじめとする培養細胞に挿入し、生きた細胞の内部を
91 解析する技術、あるいは物質を導入する操作技術を開発してきた⁽¹⁰⁾。ナノニ
92 ドルは高効率に細胞へ挿入できる上に、挿入による細胞へのダメージは極めて
93 小さい。また、ナノニードルが 5 mm 角のチップ上に、30 μm 間隔で格子状に 1
94 万本配列したナノニードルアレイをシリコンの微細加工技術で作製する技術を
95 開発しており、このナノニードルアレイを用いることで、ヒト iPS 由来の神経
96 幹細胞の分離に成功している⁽¹¹⁾。また、ナノニードルアレイを用いたマウス乳
97 がん細胞株への Cas9 RNP の導入を行い、16%の高い効率でダブルノックアウ
98 ト変異体の作出に成功している⁽¹²⁾。このナノニードル技術を植物組織への Cas9
99 RNP 導入に応用した。まず原子間力顕微鏡を用いてシロイヌナズナ葉組織およ
100 びダイズ茎頂分裂組織の弾性率を測定したところ、2~5 MPa であり動物細胞と
101 比較しておよそ 1000 倍固いことが明らかとなった。また、茎頂分裂組織の L2
102 層への到達のため、ニードル形状の大幅な見直しを行った。ダイズ茎頂分裂組
103 織は直径 1 mm 程度であり、2 次元に配置されたニードルアレイでは位置合わ
104 せが困難であるため、1 次元に 30 μm 間隔で配置されたくし形のマイクロニー

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

105 ドルアレイを

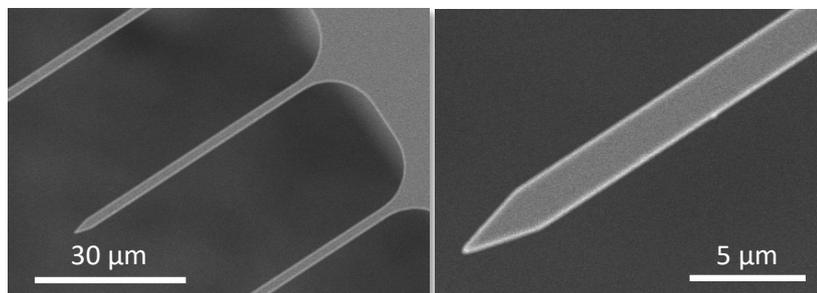
a

106 設計した (図

107 2a)。植物組織

108 試料への挿入

109 動作は、実体顕



110 微鏡を組み合

b

111 わせたピエゾ

112 モーター駆動

113 の自作の動作

114 装置を用いた。

115 厚さ 2 μm、幅 1

116 μm で長さ 40,

117 50, 75, 100 μm

118 のマイクロニ

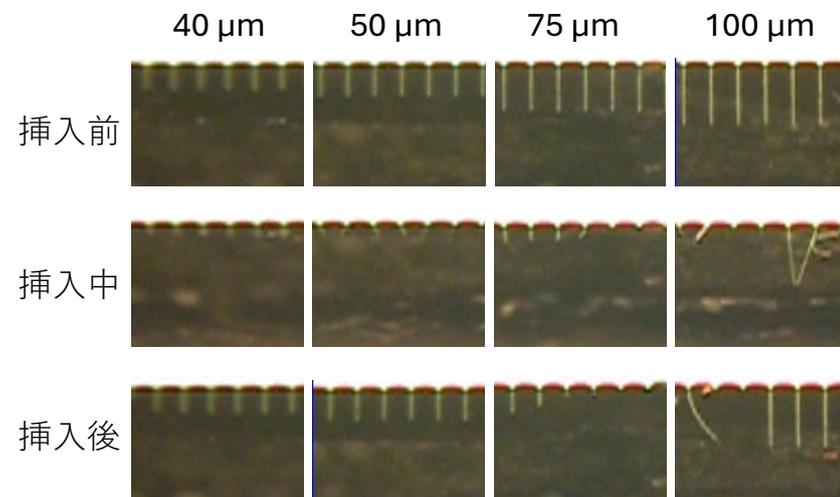


図 2 (a)マイクロニードルアレイの SEM 像、(b) シロイヌナズナ葉組織に対するマイクロニードルアレイの挿入試験

119 ードルアレイを作製し、シロイヌナズナ葉組織を用いて、挿入試験を行ったと

120 ころ、図 2b に示すように長さ 40 μm のみが挿入可能であった。それ以外のマ

121 イクロニードルは全て座屈し、長さ 75, 100 μm は 1 回の挿入で破損することが

122 分かった。茎頂分裂組織 L2 層への到達のために長さは出来るだけ確保したい。

123 座屈荷重は、針長さの 2 乗に反比例し、針幅の 3 乗に比例するため、厚さ 2 μm

124 に固定し、幅 2 μm のマイクロニードルの試験を行った。その結果、長さ 60 μm

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

125 のマイクロニードルはシロイヌナズナ葉組織、ダイズ茎頂分裂組織の双方に確
126 実に挿入可能であることが分かった。以降の試験では厚さ 2 μm 、幅 2 μm 、長
127 さ 60 μm のマイクロニードルアレイを試験に用いた⁽⁹⁾。また、挿入効率を考慮
128 しニードルの先端形状は先端角 30° のくさび形にしており、構造強化のためニ
129 ードルの根本には半径 10 μm の R 構造を付与している (図 2a)。Cas9 タンパ
130 ク質の植物組織への送達深度を確認するために、Cas9-GFP をシロイヌナズナ葉
131 組織に導入し、共焦点顕微鏡観察を行った。マイクロニードルの挿入箇所に針
132 状形状の GFP 蛍光が確認され、励起レーザー光の到達限界の葉組織表層から約
133 12 μm の深さまで確認された⁽⁹⁾。

134

135 **ダイズ茎頂分裂組織に対する Cas9 RNP の導入**

136 ダイズは鶴の子大豆を用いた。ダイズ種子は滅菌後一晩吸水処理し、実体顕
137 微鏡観察下で子葉を除去、胚軸を取り出した上で、幼葉を取り除き茎頂分裂組
138 織を露出させた。ダイズの内在性遺伝子の標的として色素合成関連酵素である
139 15-cis-phytoene desaturase (PDS11) を選択し、gRNA を設計した。洗浄したマイ
140 クロニードルアレイを動作装置に取り付け、試料台上にダイズ茎頂分裂組織試
141 料を固定し、チルトステージを用いて水平調製を行った。実体顕微鏡観察下で
142 マイクロニードルアレイをダイズ茎頂分裂組織試料に接近させ、濃度 10 μM の
143 Cas9 RNP 溶液を滴下し、マイクロニードルアレイを 10 $\mu\text{m/s}$ で挿入した後、1
144 分間停留することで、RNP の放出を促進した (図 3)。ここで Cas9 RNP の効

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

145 率的な放出のためにピエゾ
146 素子を用いてマイクロニ
147 ドルの軸方向に 1000 Hz の微
148 小振動を加える手法を検討
149 しているが、顕著な効果は得
150 られなかった。マイクロニ
151 ドルを抜去した後に、ダイズ
152 を寒天培地上で培養し、挿入

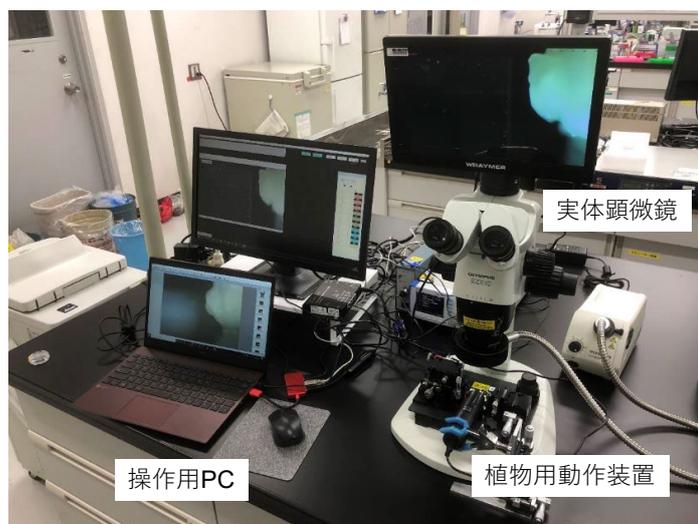


図3 マイクロニードルアレイ動作装置の構成

153 箇所を分離し、ゲノム DNA の抽出と PCR を行い、得られた PCR 産物のディ
154 プシーケンス解析を行うことで、ゲノム編集による遺伝子変異を検出した。

155 シークエンス解析で得られたリード数約 3×10^4 のうち、PDS11 遺伝子の Cas9
156 切断部位近傍で確認された変異は、11 bp 欠失が 7 リード、1 bp の欠失が 3 リ
157 ードであった。1 bp の欠失は、Cas9 RNP を使用しないコントロールでも検出さ
158 れるため、PCR やシークエンス解析におけるエラーの可能性が考えられるが、
159 11 bp 欠失は Cas9 RNP 導入試料でのみ検出されたため、PDS11 遺伝子の切断と
160 その後の非相同末端接合によるものと推察される。総リード数に対して、欠失
161 を含むリード数が少ないのは、茎頂分裂組織から分離した組織にマイクロニ
162 ドルが挿入されていない細胞が多く含まれるためであると考えられる。リード
163 数から変異導入率を算出すると 0.03%となるが、マイクロニードルが挿入され
164 た細胞数に対して、切り出した組織に含まれるダイズ細胞の全数を見積もると

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

165 およそ 200 倍であった⁽¹³⁾。よって、マイクロニードルが挿入された細胞のみ変
166 異導入率を換算すると約 6%となる。パーティクルボンバードメント法により
167 コムギの茎頂分裂組織に対して Cas9 RNP を導入した例では、6.9%の変異導入
168 率が示されているが⁽⁸⁾、本手法でも同等の効率で実用植物であるダイズの遺伝
169 子への変異導入が可能であると考えている。

170

171 三元共重合体ポリマーを介した Cas9 RNP の固定化

172 Cas9 の pI は 10.0 であり、負電荷を帯びた酸化シリコン表面への物理吸着が
173 顕著である⁽¹²⁾。そのため上述のダイズ茎頂分裂組織への変異導入試験では、マ
174 イクロニードルへの Cas9 RNP の固定化は特に行わず、シリコン表面への物理
175 吸着による固定化を行った。そこで、シリコン材料に対する汎用的な表面修飾
176 材料を新たに開発し、マイクロニードル表面に Cas9 RNP を特異的に固定化し、
177 植物組織内に送達する手法を検討した⁽¹⁴⁾。従来、酸化シリコン表面の修飾はシ
178 ランカップリング剤等を使用した化学修飾により官能基を導入する方法を用い
179 てきたが、反応性が低く表面の均一性に乏しいことが問題であった。3,4-ジヒド
180 ロキシフェニルアラニン (DOPA) はイガいの粘着タンパク質 Mefp の構成アミ
181 ノ酸であり、海洋環境において硬い岩石表面に強力に付着することを可能にし
182 ている⁽¹⁵⁾。このイガイタンパク質のカテコールと岩石の接着を模倣し、ドーパ
183 ミンの自己重合を利用した表面被覆材料の開発が行われている⁽¹⁶⁾。ドーパミン
184 が酸化シリコン表面に付着する主なメカニズムは、カテコール水酸基の二座水

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

185 素結合であると考えられる。以上よりシリコン表面への結合にドーパミン誘導
186 体を採用し、ドーパミンメタクリルアミド/2-ヒドロキシプロピルアクリルア
187 ミド/N-スクシンイミジルメタクリレート (DMA/HPA/NHS) の三元共重合体
188 ポリマーを新たに設計し、ラジカル重合により合成した。図4にその構造式を
189 示す。DMA はシリコン表面に共重合体を固定するための官能基として、NHS
190 はアミンカップリングを介して His タグタンパク質を固定化する官能基として、
191 タンパク質の非特異吸着を抑制する HPA は、His タグタンパク質の放出効率を
192 向上させる官能基として導入した⁽¹⁷⁾。ここでは、モル比 10/85/5 の
193 DMA/HPA/NHS ポリマーとモル比 10/90 の DMA/HPA ポリマーを調製した。こ

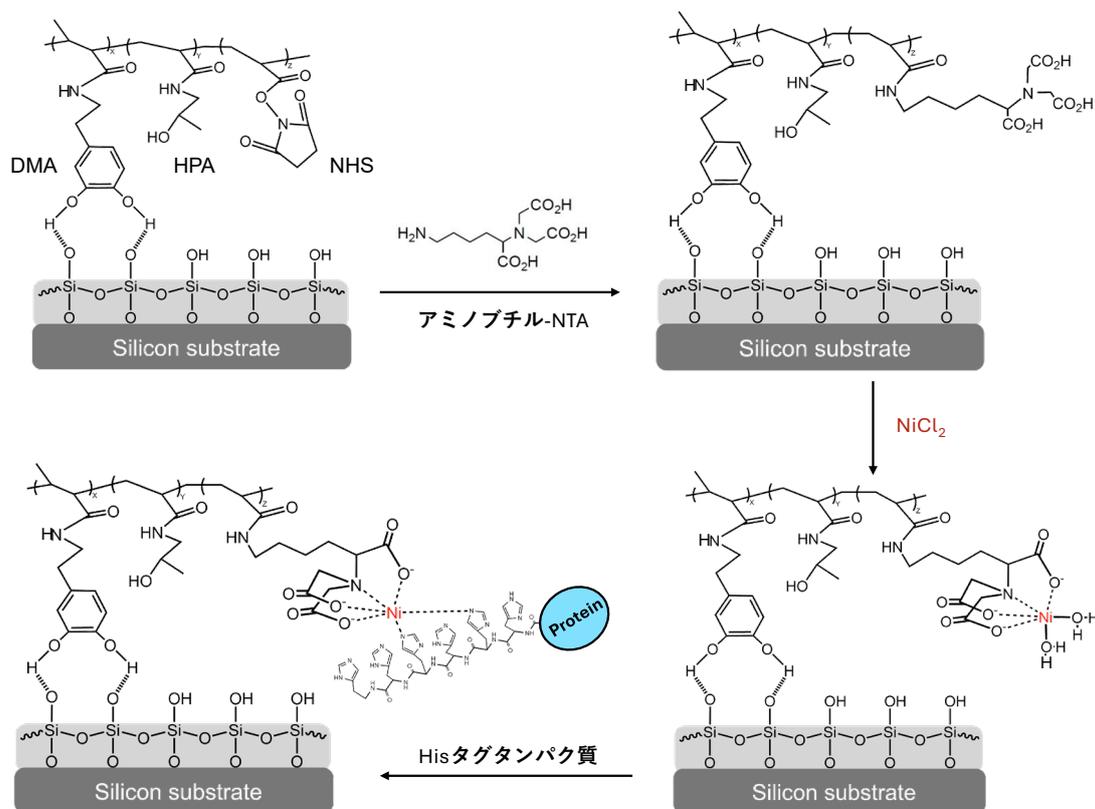


図4 シリコン表面における DMA/HPA/NHS 三元共重合体ポリマーを介した His タグタンパク質の修飾工程

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

194 れらのポリマーは10%エタノールを含む10 mM ホウ酸緩衝液(pH9.0)に0.5wt%
195 で溶解し、このポリマー溶液にマイクロニードルアレイを浸漬し10~20°Cで一
196 晩インキュベートすることで表面修飾を行った。上記の反応で脱離が懸念され
197 るため NHS の再導入を行った上で、アミノブチル NTA と反応させ、Ni-NTA
198 化した後に His タグタンパク質を固定化した。ポリマー修飾とタンパク質固定
199 化について His-GFP を用いて検討した。マイクロニードルアレイに対するポリ
200 マー修飾の温度は14~18°Cの範囲で最適であり、26°Cと比較して18°Cでは5倍
201 以上の His-GFP 固定化量を示した。イガイの接着強度は、高温海水で処理した
202 場合減少することが示されており⁽¹⁵⁾、マイクロニードルアレイのポリマー修飾
203 は18°Cで行うこととした。また、DMA/HPA/NHS ポリマーと DMA/HPA ポリマ
204 ーで His-GFP 固定化量を比較した結果、10倍以上の差があり、HPA で非特定
205 的な吸着が抑えられ、Ni-NTA を介した特異的な固定化が可能であることが示
206 された。さらに、固定化タンパク質の放出について、シラン化ポリエチレング

207 リコール(シラン-PEG)、アミ
208 ノプロピルトリエトキシシラ
209 ン(APTES)を介してNi-NTA
210 修飾した場合と比較検討した
211 結果、APTES 修飾、次いでシ
212 ラン-PEG 修飾の場合が、
213 DMA/HPA/NHS ポリマーより

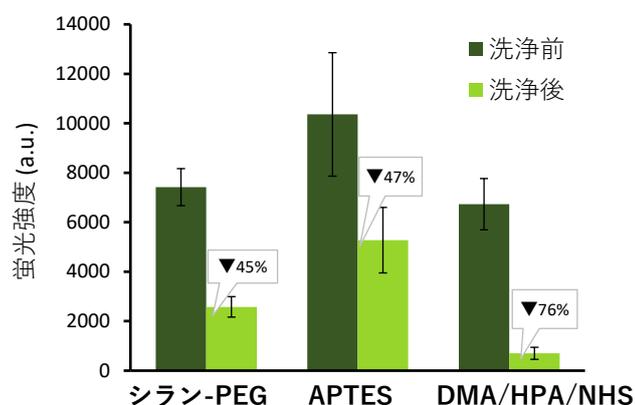


図5 植物細胞質模擬緩衝液を用いた洗浄による His-GFP の放出

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

214 も高い His-GFP 固定化量を示した (図 5)。一方で植物細胞質模擬緩衝液 (100
215 mM KCl、30 mM NaCl、500 mM マンニトール、1.2 M スクロース、25 mM MES、
216 25 mM HEPES、0.4 mM MgCl₂、pH 8.0) を用いた 90 秒間の洗浄処理による His-
217 GFP の放出量は DMA/HPA/NHS ポリマーの 76%が最も高く、非特異的な吸着
218 が抑制されていることがこの結果からも示された。

219

220 シロイヌナズナレポーター植物への Cas9 RNP の導入

221 本試験ではシロイヌナズナのレポーター植物の葉組織を用いて Cas9 RNP の
222 導入を行った。このシロイヌナズナは図 6a に示す DNA 配列を有するプラスミ
223 ドが導入された安定発現株である。レポーターである GUS 遺伝子が PDS3 遺伝
224 子の部分配列によって分断されており、PDS3 配列内の 2 ヶ所に gRNA が設計
225 されている。Cas9 RNP による切断が起こると、分断された GUS 遺伝子内の重
226 複配列が相同組換えを起こすことにより配列が復元し、GUS 遺伝子が発現する
227 設計である。gRNA を 2 種使用する以外はダイズ茎頂分裂組織の場合と同じ操
228 作により Cas9 RNP 溶液をマイクロニードルアレイに接触させ、シロイヌナズ
229 ナ葉組織に挿入動作を行った。葉組織試料は、B5 培地プレート上で 48 時間イ
230 ンキュベートした後に、GUS 発現を確認するため、X-Gluc 染色を行い、明視野
231 顕微鏡観察により染色の確認を行った。その結果、図 6b, c に示すように PDS3
232 遺伝子の切断と相同組換えによる GUS 遺伝子の復元を示す青い斑点が確認さ
233 れた。ダイズ茎頂分裂組織での試験と同様に Cas9 RNP を物理吸着した場合は

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」「」をご使用ください。

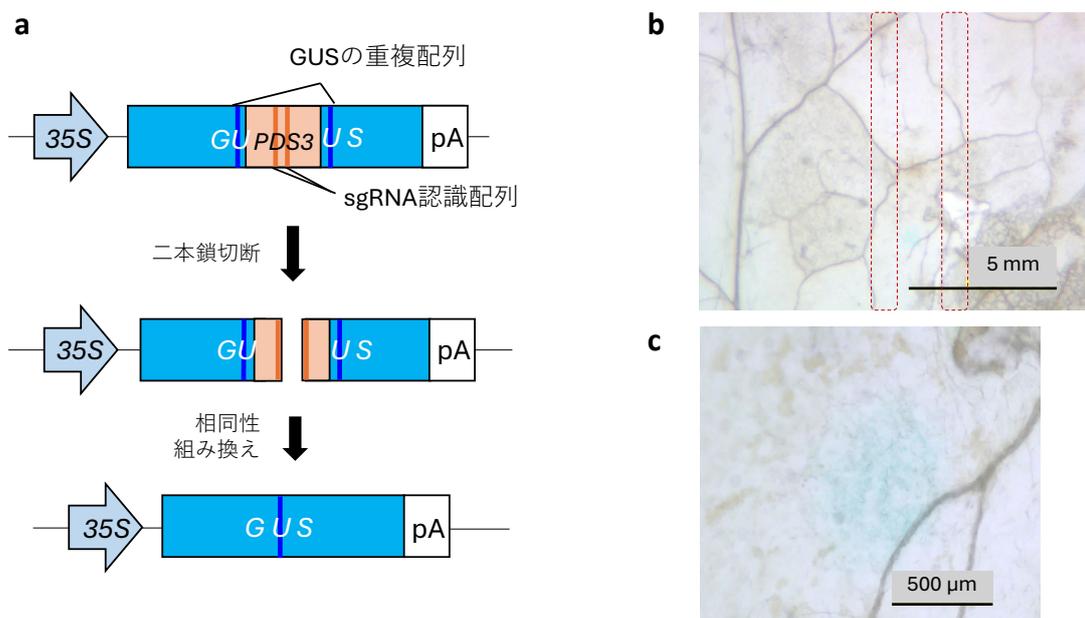


図6 シロイヌナズナレポーター植物を用いた Cas9 RNP 導入試験、(a) レポーター遺伝子の構造、(b) ポリマー修飾マイクロニードルアレイを用いて Cas9 RNP を導入したシロイヌナズナ葉組織の X-Gluc 染色像。赤い点線はニードル挿入箇所を示す。(c) GUS 発現を示す X-Gluc 染色斑点の拡大図。

234 17の葉組織試料のうち、4つが青色斑点を示し、ゲノム編集効率は24%であつ
235 たのに対し、DMA/HPA/NHS ポリマー修飾マイクロニードルアレイでは53%で
236 あり、2倍以上の効率が示された。上述のように植物細胞質模擬緩衝液を用い
237 た放出試験でも、固定化タンパク質の効率的な放出が確認されている。植物細
238 胞質中の Mg^{2+} は、Ni イオンと競合し、固定化されたタンパク質の遊離につな
239 がることと推察される。以上のことから、DMA/HPA/NHS ポリマーを用いることで
240 Cas9 RNP を、植物組織内で高効率に放出できることが示された。

241

242 おわりに

243 本稿では、マイクロニードルアレイを用いてゲノム編集タンパク質を植物組

図表の挿入位置を本文中に示してください。
文献は、出現順に上付きで両括弧囲みの番号⁽¹⁾で引用して下さい。
句読点は「.」「,」をご使用ください。

244 織内に直接送達することにより変異導入が可能であることを示し、実用植物で
245 あるダイズの *in planta* ゲノム編集が可能であることを明らかにした。ダイズ茎
246 頂分裂組織を用いた試験では、Cas9 RNP 導入後、植物体の生育が可能であるこ
247 とは確認しているものの、変異導入細胞が少ないためか PDS11 遺伝子の欠損に
248 よるアルビノ様表現型の確認には至っていない。開発した DMA/HPA/NHS ポリ
249 マーを用いることでより効率的な変異体取得が可能になると期待される。本稿
250 で紹介したニードル技術の最も大きな特長は、挿入箇所を顕微鏡観察下で精密
251 に位置制御できる点にある。イネ等の茎頂分裂組織が極めて小さい植物種おい
252 ては、特に本技術が威力を発揮するものと考えている。

文献欄は番号順に並べて下さい。

著者名が 10 名を超える文献は、10 名を記載し、以降を “*et al.*” および「ほか」と記載してください。

- 1 【文献】
- 2 1) S. Biswas, D. Zhang, J. Shi: *Plant Cell Rep.*, **40**, 979 (2021).
- 3 2) J. W. Woo, J. Kim, S. I. Kwon, C. Corvalan, S. W. Cho, H. Kim, S. G. Kim, S. T.
- 4 Kim, S. Choe, J. S. Kim: *Nat Biotechnol*, **33**, 1162 (2015).
- 5 3) Z. Liang *et al.*: *Nat. Commun.*, **8**, 14261 (2017).
- 6 4) Q. Lin *et al.*: *Nat Biotechnol*, **38**, 582 (2020).
- 7 5) T. Eeckhaut, P. S. Lakshmanan, D. Deryckere, E. Van Bockstaele, J. Van
- 8 Huylenbroeck: *Planta*, **238**, 991 (2013).
- 9 6) H. Hamada, Y. Liu, Y. Nagira, R. Miki, N. Taoka, R. Imai: *Sci Rep*, **8**, 14422 (2018).
- 10 7) Z. Liang, K. Chen, Y. Zhang, J. Liu, K. Yin, J. L. Qiu, C. Gao: *Nat Protoc*, **13**, 413
- 11 (2018).
- 12 8) Y. Liu *et al.*: *Front. Plant Sci.*, **12**, 648841 (2021).
- 13 9) A. Viswan *et al.*: *Front. Plant Sci.*, **13**, (2022).
- 14 10) S. Mieda, Y. Amemiya, T. Kihara, T. Okada, T. Sato, K. Fukazawa, K. Ishihara, N.
- 15 Nakamura, J. Miyake, C. Nakamura: *Biosensors & Bioelectronics*, **31**, 323 (2012).
- 16 11) R. Kawamura *et al.*: *Nano Lett.*, **17**, 7117 (2017).
- 17 12) A. Yamagishi, D. Matsumoto, Y. Kato, Y. Honda, M. Morikawa, F. Iwata, T.
- 18 Kobayashi, C. Nakamura: *Appl. Sci.*, **9**, (2019).
- 19 13) P. Laufs, O. Grandjean, C. Jonak, K. Kieu, J. Traas: *Plant Cell*, **10**, 1375 (1998).
- 20 14) A. Viswan, C. Yoshikawa, A. Yamagishi, Y. Furuhata, Y. Kato, T. Yamazaki, C.

文献欄は番号順に並べて下さい。

著者名が 10 名を超える文献は、10 名を記載し、以降を “*et al.*” および「ほか」と記載してください。

- 1 Nakamura: *Biochem Biophys Res Commun*, **686**, 149179 (2023).
- 2 15) V. V. Papov, T. V. Diamond, K. Biemann, J. H. Waite: *Journal of Biological*
3 *Chemistry*, **270**, 20183 (1995).
- 4 16) H. Lee, S. M. Dellatore, W. M. Miller, P. B. Messersmith: *Science*, **318**, 426 (2007).
- 5 17) C. Yoshikawa, T. Nakaji-Hirabayashi, N. Nishijima, P. Nonsuwan, R. J. Toh, W.
6 Kowalczyk, H. Thissen: *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, **120**, 111630 (2021).

7

8

9 「解説」「セミナー室」「化学の窓」「生物コーナー」記事の【コラム】(1000 字以内)

10 ※高校生、大学 1~2 年生向けにテーマに関連するコラムをご執筆ください。字数以外の制
11 限は特にございませぬのでご自由にお書きください。図表は 1 点まで (250 字相当)。

12

13 コラム

14 ゲノム編集は、人工ヌクレアーゼを用いて染色体上の特定部位を認識・切断し、変異を導
15 入する技術である。例えば、ダイズの染色体 DNA は約 1.1 Gbp であり、その 1 か所を認識
16 するためには、理論的に $4^n > 1,100,000,000$ を満たす n 塩基の認識が必要である。この計算
17 に基づくとダイズのゲノムでは少なくとも 15 塩基以上、一般的には 20 塩基程度の配列認
18 識が必要とされる。しかし、染色体上の特定部位を正確に切断できても、ほとんどの場合、
19 非相同末端結合 (NHEJ) により元の配列に修復されてしまい、低い確率で生じる挿入・欠
20 失の導入に頼るのが現実である。近年、プライムエディターのように、より高精度な変異

文献欄は番号順に並べて下さい。

著者名が 10 名を超える文献は、10 名を記載し、以降を “*et al.*” および「ほか」と記載してください。

- 1 導入が可能となっているが、これらの技術は外来の核酸配列を使用するため、得られる変
- 2 異体は遺伝子組換え生物として扱われる可能性が高い。人工ヌクレアーゼの導入量を上げ
- 3 れば、オフターゲット変異の可能性が高まる。オフターゲット変異を抑えつつ、目的の変
- 4 異導入効率を高める。この一見して並び立たない事象をいかに折り合わせるか、ゲノム編
- 5 集における課題は残されている。

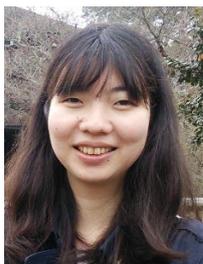
文献欄は番号順に並べて下さい。

著者名が10名を超える文献は、10名を記載し、以降を“*et al.*”および「ほか」と記載してください。

本誌「執筆者紹介」欄に、先生のプロフィールを紹介させていただきたく存じます。

お手数ではございますが、下記プロフィール見本をご参照のうえ、プロフィールをお作りいただき、**原稿と共にご提出ください**。また、**顔写真**も掲載しておりますので、あわせてご提出をお願い申し上げます。

*なお御共著の先生がいる場合はその先生のプロフィールも頂戴したくお願い申し上げます。



<氏名>山岸 彩奈 (Ayana YAMAGISHI)

<略歴>2011年東京農工大学工学部生命工学科卒業/2013年東京農工大学大学院工学府生命工学専攻博士前期課程修了/2015年同専攻博士後期課程修了/2015年東京農工大学大学院工学府生命工学専攻産学官連携研究員/2016年産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門産総研特別研究員/2018年同研究員/2023年細胞分子工学研究部門主任研究員、現在に至る。

<研究テーマと抱負>機械的機能を持つ新規がんマーカーを標的とした診断・治療技術の開発

<趣味>旅行



<氏名>吉川 千晶 (Chiaki YOSHIKAWA)

<略歴>2000年京都大学工学部工業化学科卒業/2002年京都大学大学院工学研究科高分子専攻修士課程卒業/2006年同専攻博士課程修了/2006年京都大学化学研究所ポストドク研究員/2007年NIMS入所/2024年同チームリーダー、現在に至る。

<研究テーマと抱負>機能性高分子材料の開発

<趣味>ゴルフ、登山

文献欄は番号順に並べて下さい。

著者名が 10 名を超える文献は、10 名を記載し、以降を “*et al.*” および「ほか」と記載してください。



<氏名>山崎 智彦 (Tomohiko YAMAZAKI)

<略歴>1995 年東京農工大学工学部物質生物工学科卒業／2000 年同大学大学院工学研究科博士後期課程修了了，博士（工学）／2000 年日本学術振興会 特別研究員（PD）／2003 年新エネルギー・産業技術総合開発機構 養成技術者（NEDO フェロー）／2005 年東京農工大学大学院技術経営研究科技術リスクマネジメント専攻 准教授／2007 年物質・材料研究機構（NIMS）主幹研究員、現在に至る。

<研究テーマと抱負>蛋白質・核酸を材料としたナノメディシンの開発

<趣味>テニス、旅行

<所属研究室ホームページ> <https://www.nims.go.jp/group/frontierbiomaterials/>



<氏名>中村 史 (Chikashi NAKAMURA)

<略歴>1990 年東京農工大学工学部卒業／1995 年同大学大学院工学研究科博士後期課程修了，博士（工学）／1995 年工業技術院産業技術融合領域研究所研究官／2001 年東京農工大学連携大学院客員准教授（併任，2009 年より客員教授）／2008 年産業技術総合研究所セルエンジニアリング研究部門研究グループ長／2010 年バイオメディカル研究部門研究グループ長／2024 年細胞分子工学研究部門総括研究主幹，現在に至る。

<研究テーマと抱負>ナノニードルを用いた細胞工学：細胞機能を機械的なメカニズムの視点で解明する。

<趣味>サッカー，ラーメン屋巡り

<所属研究室ホームページ> <https://unit.aist.go.jp/cmb5/chikashi-nakamura/>