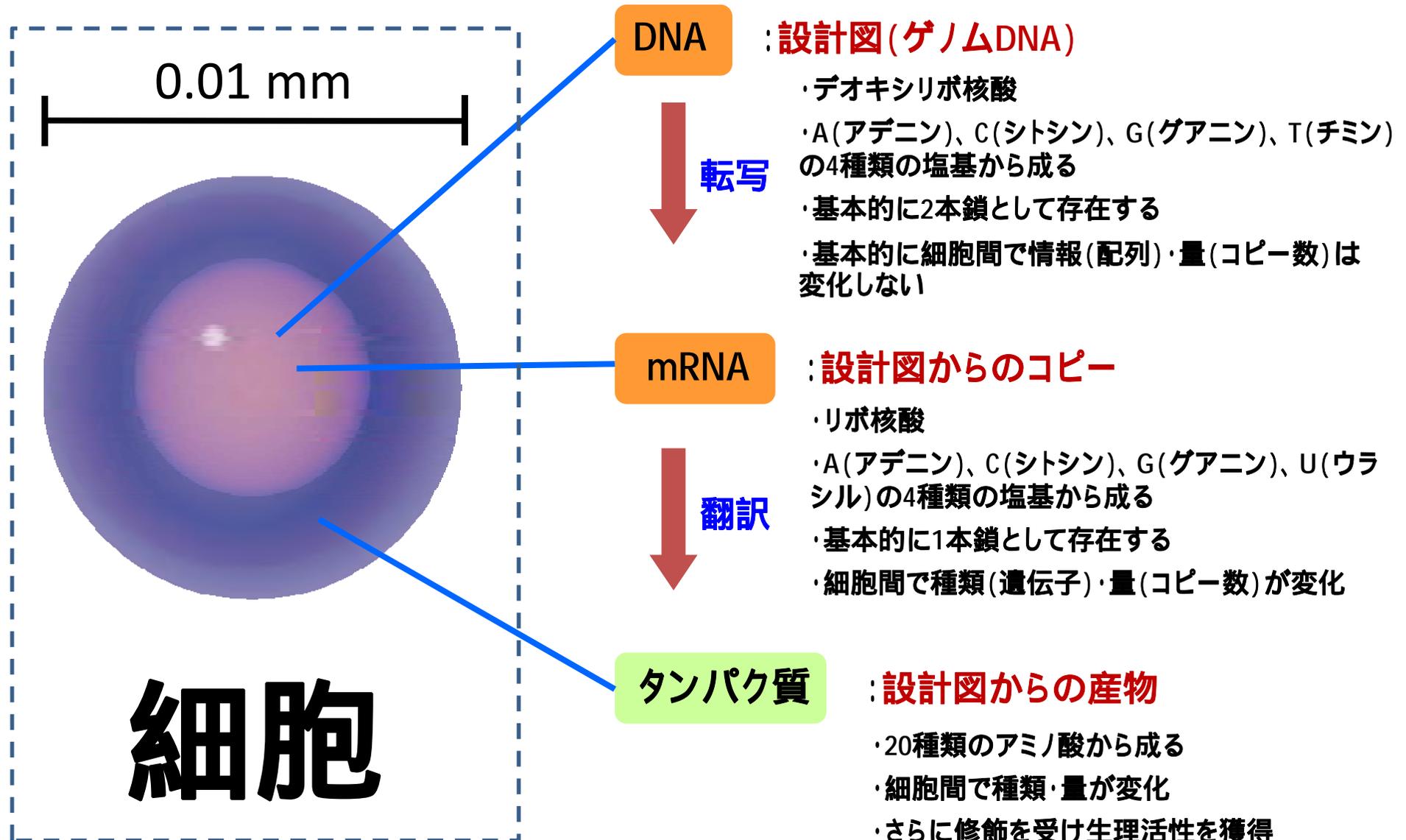


第109回 生命倫理専門調査会及び第8回「ヒト胚の取扱いに関する  
基本的考え方」見直し等に係るタスク・フォース

## ヒトES/iPS細胞を用いた疾患研究について

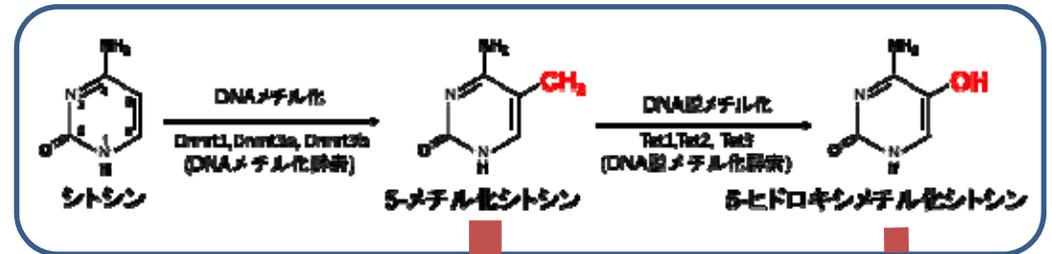
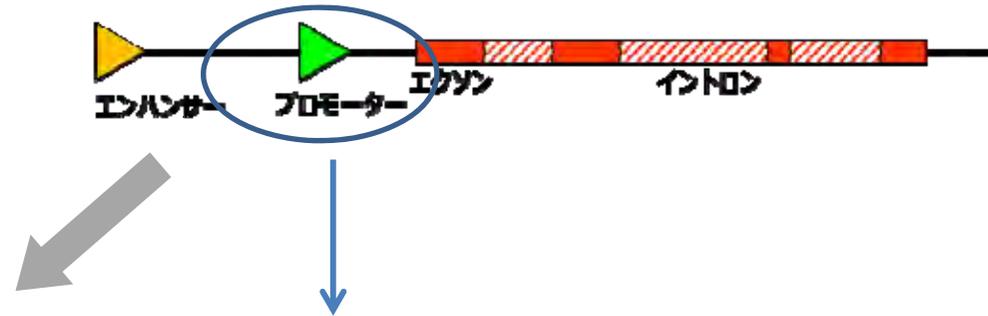
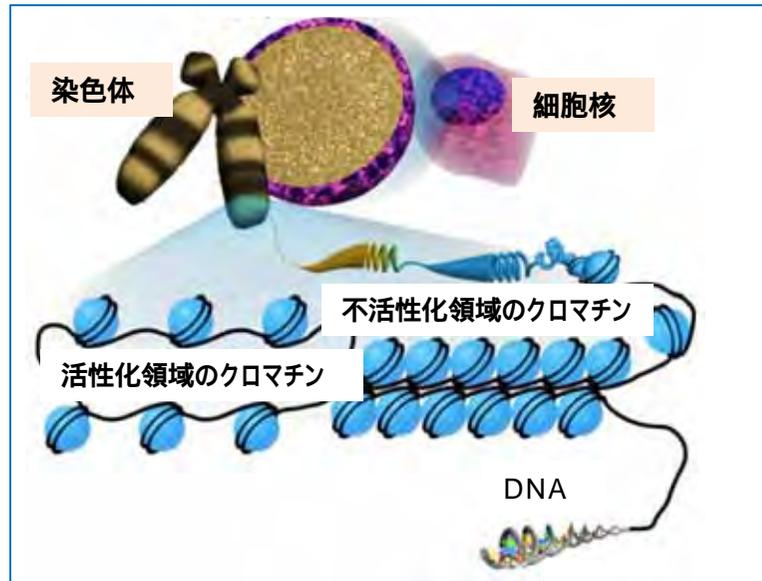
国立成育医療研究センター研究所  
生殖医療研究部 阿久津 英憲

# DNA , RNA , タンパク質の相関 ( 遺伝子発現 )



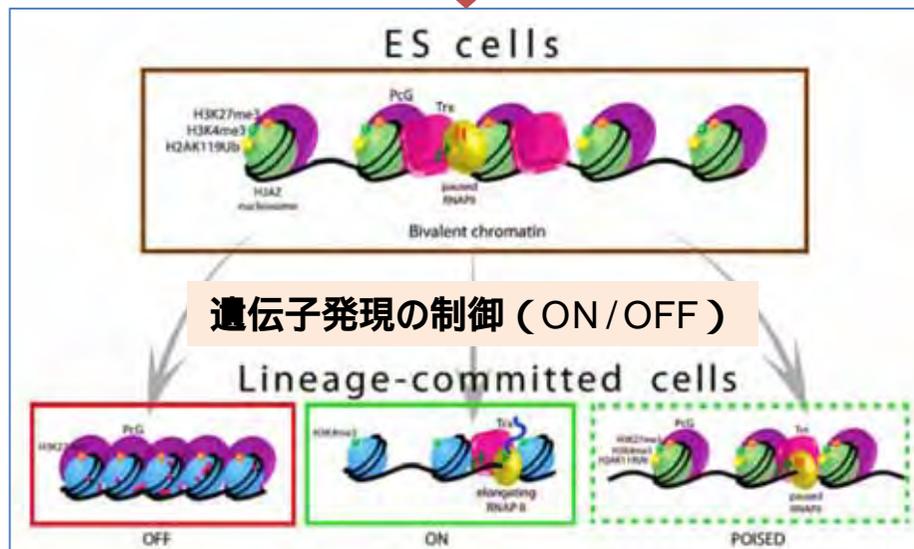


# 遺伝子発現の制御

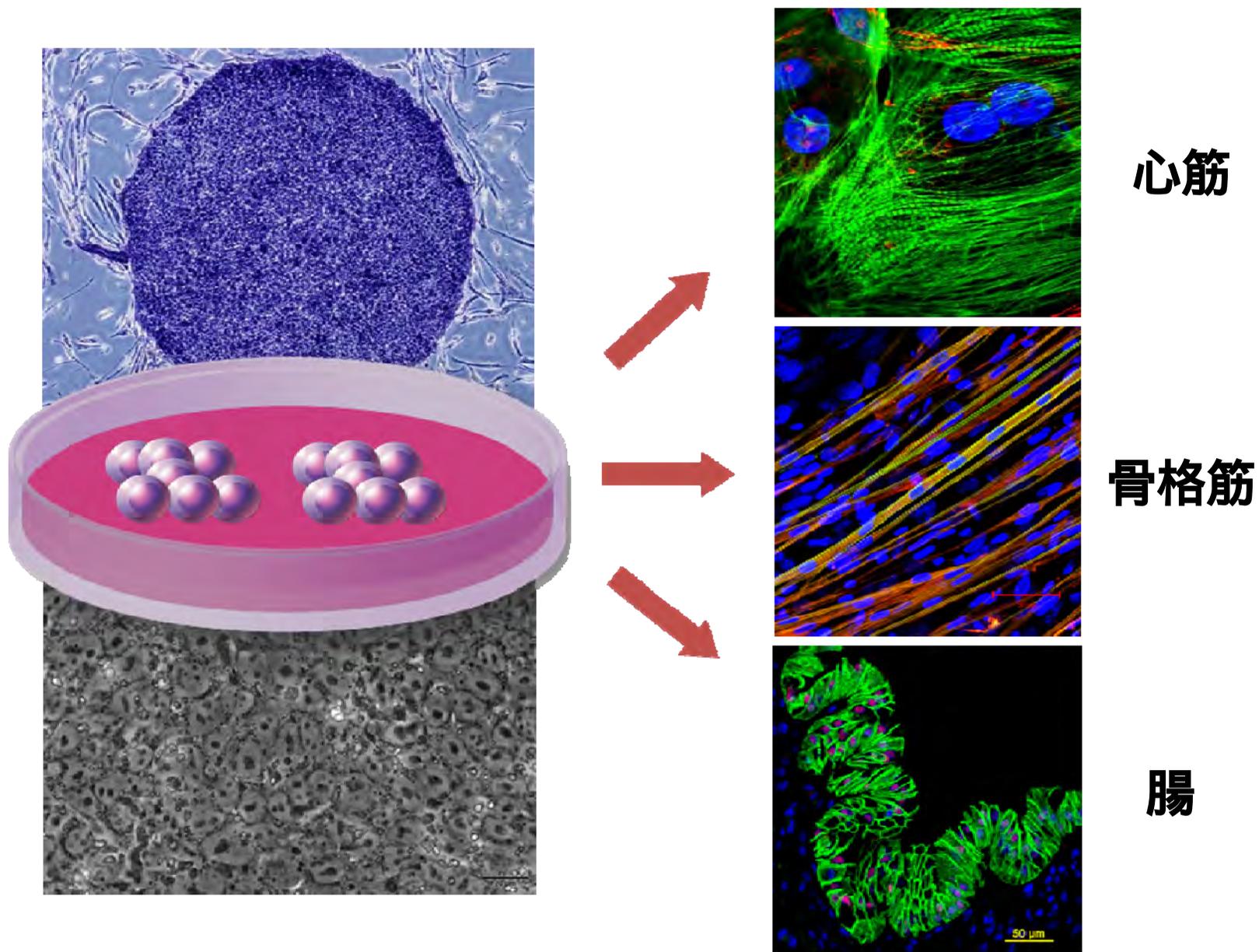


遺伝子発現  
OFF

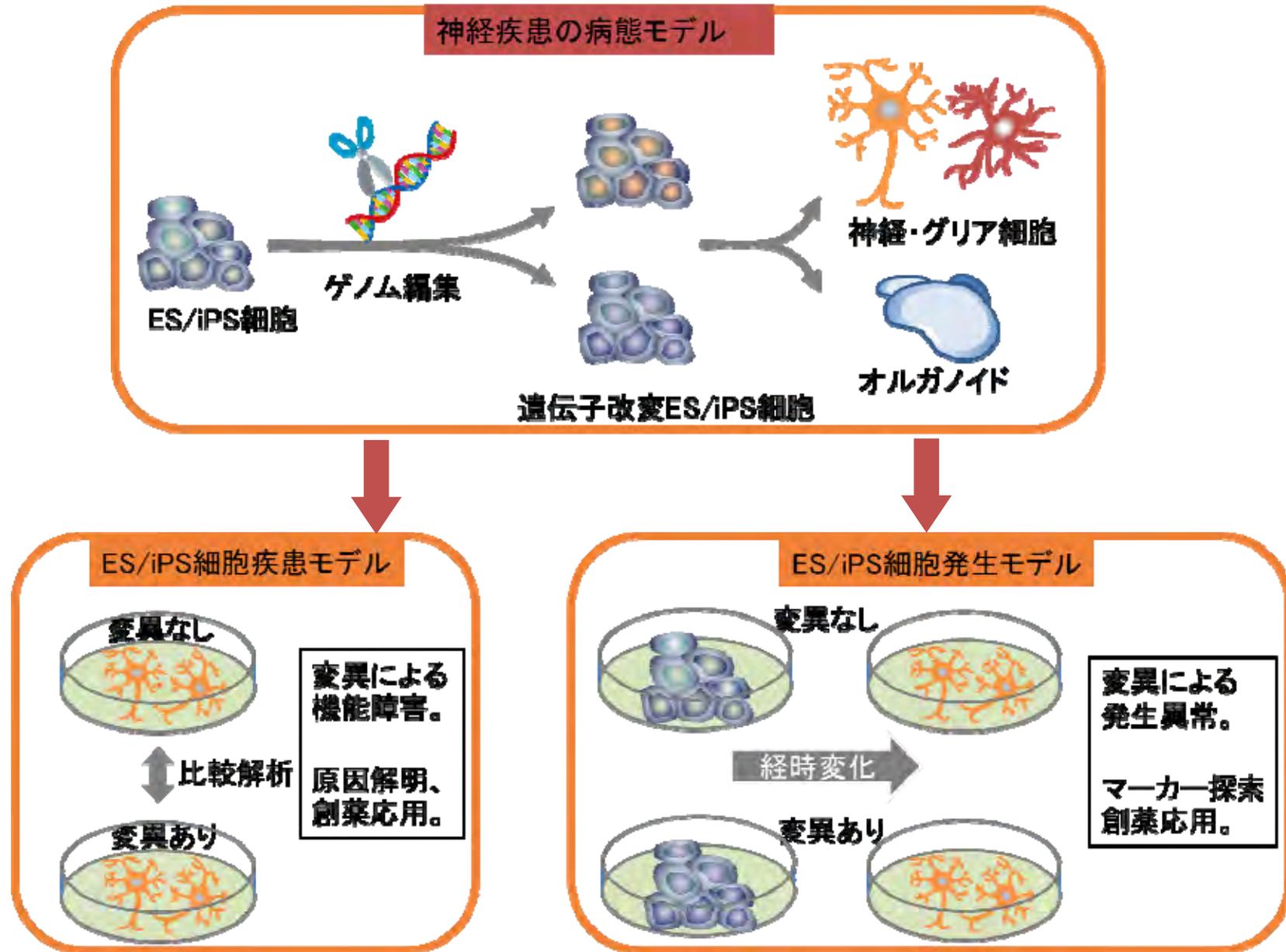
遺伝子発現  
ON



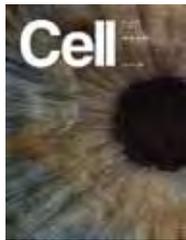
# ヒトES/iPS細胞による疾患研究の基盤



# ヒトES/iPS細胞による疾患研究の基盤



# 難治疾患研究の応用例1\_\_脆弱X症候群

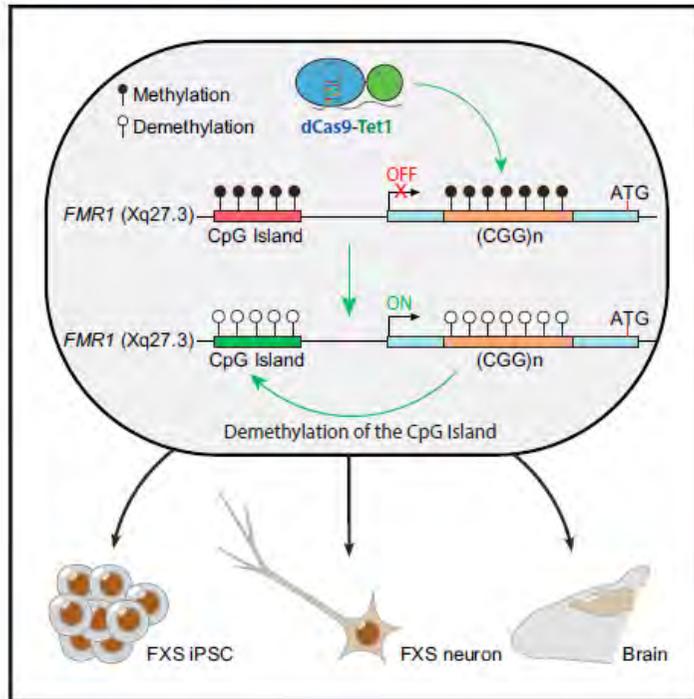


## Rescue of Fragile X Syndrome Neurons by DNA Methylation Editing of the *FMR1* Gene

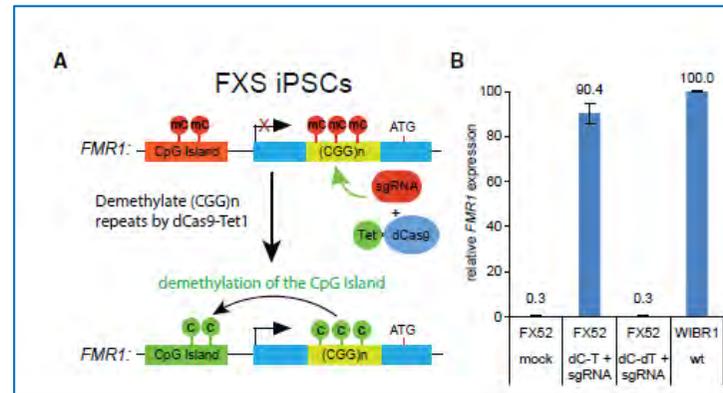
K. Shaim Liki,<sup>1</sup> Hao Wu,<sup>1,2</sup> Marine Kozsich,<sup>1</sup> Xuebing Wu,<sup>1</sup> John Graef,<sup>1</sup> Julien Muffat,<sup>1</sup> Denis Hrisz,<sup>1</sup> Charles H. Li,<sup>1,3,4</sup> Bingbing Yuan,<sup>1</sup> Chuanyun Xu,<sup>1</sup> Yun Li,<sup>1</sup> Dan Vershkov,<sup>1</sup> Angela Cacace,<sup>1</sup> Richard A. Young,<sup>1,5</sup> and Rudolf Jaenisch<sup>1,6,7</sup>

<sup>1</sup>Wellchild Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA 02142, USA  
<sup>2</sup>Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA 02142, USA  
<sup>3</sup>Fulmin Therapeutics, One Kendall Square, Binney Street to 7102, Cambridge, MA 02139, USA  
<sup>4</sup>The Hebrew University of Jerusalem, Edmund J. Safra Campus, Givat Ram, Jerusalem 91904, Israel  
<sup>5</sup>Present address: Department of Biology, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA  
<sup>6</sup>Lead Contact  
<sup>7</sup>Correspondence: jaenisch@mit.edu  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.012>

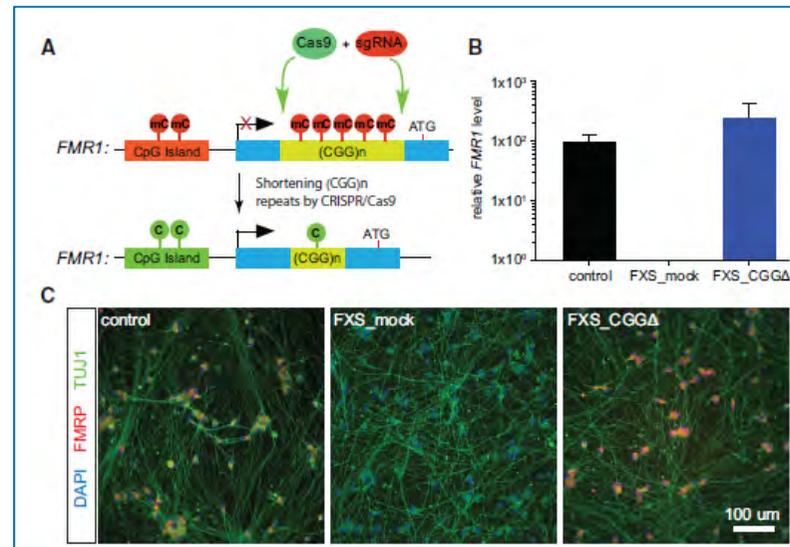
### Graphical Abstract



ゲノムに変異を加えないゲノム編集技術の応用 (CRISPR-dCas9-Tet1) により疾患責任遺伝子の発現制御領域DNA脱メチル化により遺伝子発現を回復することに成功。



FMR1のリピート配列のDNA脱メチル化により遺伝子発現回復。



FMR1のリピート配列を減少させることも遺伝子発現回復することを示した。

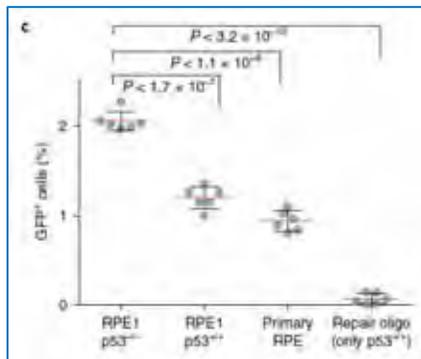
# CRISPR-Cas9のゲノムへの影響

nature  
medicine

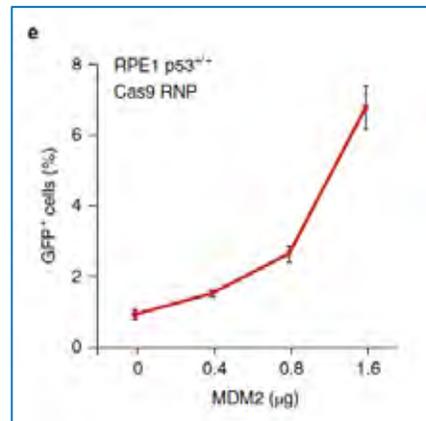
## CRISPR-Cas9 genome editing induces a p53-mediated DNA damage response

Emma Haapaniemi<sup>1,2,4</sup>, Sandeep Botla<sup>1,4</sup>, Jenna Persson<sup>1</sup>, Bernhard Schmierer<sup>1,5\*</sup> and Jussi Taipale<sup>1,2,3,5\*</sup>

- ・不死化した網膜色素上皮細胞（RPE）での実験。
- ・CRISPR/Cas9による二本鎖切断（DSB）でp53が細胞周期を停止させる。
- ・細胞周期がG1に停止することで相同組み換え（HDR）でなく非相同組み換え（NHEJ）が優位になる。
- ・p53の機能抑制でCRISPR/Cas9によるHDRの割合が高くなる。



p53を欠損させたRPEでHDRの頻度が上がる。

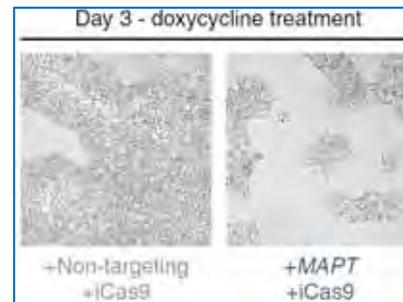


HDRによりGFP陽性になる系での実験。P53の阻害（MDM2）によりHDRの頻度が上がる。

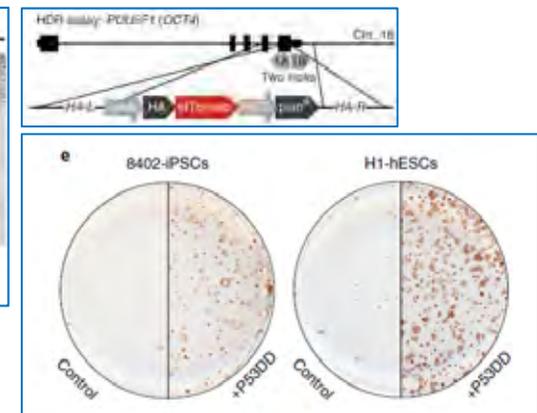
## p53 inhibits CRISPR-Cas9 engineering in human pluripotent stem cells

Robert J. Ihry<sup>1</sup>, Kathleen A. Worringer<sup>1</sup>, Max R. Salick<sup>1</sup>, Elizabeth Frias<sup>2</sup>, Daniel Ho<sup>1</sup>, Kraig Theriault<sup>1</sup>, Sravya Kommineni<sup>1</sup>, Julie Chen<sup>1</sup>, Marie Sondey<sup>4</sup>, Chaoyang Ye<sup>3</sup>, Ranjit Randhawa<sup>1</sup>, Tripti Kulkarni<sup>1</sup>, Zinger Yang<sup>1,2</sup>, Gregory McAllister<sup>2</sup>, Carsten Russ<sup>2</sup>, John Reece-Hoyes<sup>2</sup>, William Forrester<sup>2</sup>, Gregory R. Hoffman<sup>2</sup>, Ricardo Dolmetsch<sup>3</sup> and Ajamete Kaykas<sup>1\*</sup>

- ・hESCとhiPSCでの実験。
- ・CRISPR/Cas9による二本鎖切断（DSB）で細胞死。
- ・細胞周期がG1に停止することで相同組み換え（HDR）でなく非相同組み換え（NHEJ）が優位になる。
- ・p53の機能抑制でCRISPR/Cas9によるHDRの割合が高くなる。



CRISPR/Cas9による二本鎖切断（DSB）で細胞死が増える。



p53の機能抑制でCRISPR/Cas9によるHDRの割合が高くなる。



「御清聴ありがとうございました。」