

Title	ヒト多能性幹細胞におけるオフターゲット効果の少ない効率的なゲノム編集技術の開発
Sub Title	Development of genome editing technology with low off-target risk and high efficiency in human pluripotent stem cells
Author	曾根, 岳史(Sone, Takefumi)
Publisher	
Publication year	2018
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2017. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>ゲノム編集技術の登場によりゲノム上の遺伝子のノックアウトは比較的容易に達成できるようになったが、ノックインは未だ困難である。本研究では、薬剤選抜を利用した標的組換えベクターの簡便構築方法を考案、TALEN発現ベクターおよびCRISPR発現ベクターと共導入することで、様々な疾患患者由来のiPS細胞で原因遺伝子の修復や、正常なiPS細胞に変異導入に成功した。特にCRISPRについては、複数箇所をオフターゲット切断のリスク低く切断可能なall-in-oneベクターの簡便構築法を考案し、これと2種の薬剤選抜可能な標的組換えベクターを共導入することで、確実にホモノックイン株を樹立可能な系を完成させた。</p> <p>Genome editing technology has made it familiar for us to knock-out a gene, but it is still difficult to knock-in a certain DNA sequence precisely into a genomic locus. In this study, a simple and effective method was developed to construct a gene knock-in vector with a drug-resistant gene cassette. Using the vector in combination with TALEN or CRISPR expression vectors, responsible genes of iPSC lines derived from various disease patients were successfully corrected or those of control iPSC lines were modified to have mutation. Especially for CRISPR expression vector, an all-in-one construct was developed to express two sets of sgRNAs for two dual-nickase Cas9 pairs to cut two genomic loci at the same time for lower the risk of off-target effect. Combination of this vector with two knock-in vectors with two different drug-resistant gene cassette, a reliable homo knock-in system was also developed and confirmed for its feasibility.</p>
Notes	研究種目：基盤研究(C)(一般) 研究期間：2015～2017 課題番号：15K06924 研究分野：分子生物学
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_15K06924seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_15K06924seika</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K06924

研究課題名(和文) ヒト多能性幹細胞におけるオフターゲット効果の少ない効率的なゲノム編集技術の開発

研究課題名(英文) Development of genome editing technology with low off-target risk and high efficiency in human pluripotent stem cells

研究代表者

曽根 岳史 (SONE, Takefumi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・訪問研究員

研究者番号：00379091

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ゲノム編集技術の登場によりゲノム上の遺伝子のノックアウトは比較的容易に達成できるようになったが、ノックインは未だ困難である。本研究では、薬剤選抜を利用した標的組換えベクターの簡便構築方法を考案、TALEN発現ベクターおよびCRISPR発現ベクターと共導入することで、様々な疾患患者由来のiPS細胞で原因遺伝子の修復や、正常なiPS細胞に変異導入に成功した。特にCRISPRについては、複数個所をオフターゲット切断のリスク低く切断可能なall-in-oneベクターの簡便構築法を考案し、これと2種の薬剤選抜可能な標的組換えベクターを共導入することで、確実にホモノックイン株を樹立可能な系を完成させた。

研究成果の概要(英文)：Genome editing technology has made it familiar for us to knock-out a gene, but it is still difficult to knock-in a certain DNA sequence precisely into a genomic locus. In this study, a simple and effective method was developed to construct a gene knock-in vector with a drug-resistant gene cassette. Using the vector in combination with TALEN or CRISPR expression vectors, responsible genes of iPSC lines derived from various disease patients were successfully corrected or those of control iPSC lines were modified to have mutation. Especially for CRISPR expression vector, an all-in-one construct was developed to express two sets of sgRNAs for two dual-nickase Cas9 pairs to cut two genomic loci at the same time for lower the risk of off-target effect. Combination of this vector with two knock-in vectors with two different drug-resistant gene cassette, a reliable homo knock-in system was also developed and confirmed for its feasibility.

研究分野：分子生物学

キーワード：ゲノム編集 iPS細胞 CRISPR ノックイン TALEN 遺伝子治療 相同組換え 疾患研究

## 1. 研究開始当初の背景

ゲノム上の任意の塩基配列を特異的に切断可能な人工制限酵素があれば、任意の遺伝子を破壊(ノックアウト)したり、標的特異的な相同組換え効率を飛躍的に向上させて遺伝子挿入(ノックイン)したりすることが可能となる。1996年に発表された Zinc Finger nuclease (ZFN) はその先駆けであったが、構築が難しく高価であったため、あまり広まらなかった。2010年に登場した Transcription Activator-Like Effector Nuclease (TALEN) は、より簡明で汎用性の高い技術として登場し、ゲノム編集という概念を一般化させた。さらに2012年に報告された Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR) は、DNA切断酵素(Cas9)を標的に相補的な配列を持つRNA分子(ガイドRNA)で標的に結合させて切断するという原理から、構築が容易であることと切断効率の高さにより瞬く間に広がり、正にゲノム編集革命が起こったといえる。

研究代表者は、その革命を受けて2013年より疾患患者由来ヒトiPS細胞のゲノム編集に着手したが、単純な遺伝子ノックアウトとは異なり、疾患の原因となる遺伝子変異を修復するためには、標的遺伝子部位を切断する人工制限酵素遺伝子と相同組換えの鑄型となる供与核酸を共導入し、ノックインを起こさせる必要があった。ヒトiPS細胞は通常のトランスフェクション法では遺伝子導入効率が低く、ノックイン株を得ることはそう簡単ではない。また、これらの人工制限酵素によるゲノム編集技術には、潜在的な問題として標的部位以外の配列(オフターゲット)を切断することによる予想外の変異を導入してしまう可能性が問題視されていた。特にCRISPRはその頻度が高いことが指摘されており、改善すべき課題として残っていた。研究代表者は、これらの経験を通して当時のヒトiPS細胞のゲノム編集技術には、まだ多くの検討事項があることに気づき、それらの改良を通して安全性が高く効率のよいヒトiPS細胞のゲノム編集方法の確立を目指した。

## 2. 研究の目的

研究代表者は、具体的に様々な疾患に関わる遺伝子のゲノム編集を実行し、その遂行に必要な様々な技術の改良を行いつつ、研究期間内に次のようなアプローチを実行して、多角的に目標達成を目指した。

- (1) 複数の人工制限酵素遺伝子や供与核酸を高効率でヒトiPS細胞に共導入可能なウイルスベクターを検討する。
- (2) CRISPRによる標的三重鎖切断法の弱点であるオフターゲット切断の問題を軽減するために、1本鎖切断変異体や切断能のない変異体を利用した新技術を検討する。
- (3) 相同組換え効率の低い細胞でのノック

イン効率を上げるため MMEJ 修復を利用する新技術を検討する。

(4) ランダム挿入株を除くため、ヒト細胞では適用しにくい DTA 遺伝子に変わる新たな陰性選抜マーカーとして細胞増殖阻害 shRNA や Caspase9 誘導発現系を検討する。

(5) これらを統合してヒト多能性幹細胞における安全で高効率な標的遺伝子組換え技術を確立し、できるだけ多くの疾患関連遺伝子のゲノム編集株を樹立する。

## 3. 研究の方法

(1) 複数の人工制限酵素遺伝子や供与核酸を高効率でヒトiPS細胞に共導入可能なウイルスベクターを検討する。

人工制限酵素遺伝子のうち塩基配列認識に重要な繰り返し構造をもつ TALEN は、RNAウイルスでは不安定で活性を失うと報告があるためアデノウイルス(AdV)ベクターでの導入を試みる。一方 CRISPR 系のもは、既にレンチウイルスベクターでの導入の報告が多数あるが、ゲノムに挿入されると切断活性を持ち続けるため、挿入欠失型レンチウイルス(IDLV)ベクターおよび AdV ベクターによる導入を試みた。

一方、供与核酸としては、ヒトiPS細胞で、取得効率の低いノックイン株を濃縮するために、相同腕の間に薬剤選抜遺伝子を挿入した古典的なノックインベクターを採用した。ただし、薬剤選抜カセット除去のためには、piggybacトランスポゾンの ITR 配列を用いて TTAA という4塩基が元々ある、もしくは同義置換でその配列を作れる部位であれば、痕跡なく除去が可能な footprint-free カセット除去系を採用した。標的部位がイントロンや UTR など、痕跡が残っても問題ない部位の場合は古典的な loxP 配列も採用した。また、これらのカセット除去に必要なトランスポゾン転移酵素や Cre 組換え酵素遺伝子についても、ウイルスベクター化による効率化を図った。

(2) CRISPRによる標的三重鎖切断法の弱点であるオフターゲット切断の問題を軽減するために、1本鎖切断変異体や切断能のない変異体を利用した新技術を検討する。

CRISPR のオフターゲット切断問題を改善する手段として切断活性部位に変異を入れた Cas9 誘導体を用いて、標的配列を完全には切断しない double nickase 型 Cas9 法と dCas9-FokI 法の二つが提唱されており、これらの方法が TALEN と比較しても十分にオフターゲット切断が少ないかをしっかりと検証することが求められている。両方法とも標的配列との相同性検索から予測されるオフターゲット部位についての解析は多いものの予測されない部位を含めた全ゲノムに渡る検証は十分とはいえない。事前検討を行ったところ、double nickase 型 Cas9 法と比較して明らかに dCas9-FokI 法ではゲノム編集効

率が下がることが判明したため、本研究ではTALENとdouble nickase型Cas9法に絞り、それによって得られたゲノム編集細胞株のオフターゲット変異を全ゲノム解析により調べることにした。

(3) 相同組換え効率の低い細胞でのノックイン効率を上げるため微小相同性末端結合修復を利用する新技術を検討する。

double nickase型Cas9法では置換元のゲノム部位の両側と置換先の供与核酸の両側の計4ヶ所に標的配列を設けておくことにより両者に互いに相補的な突出末端を生じさせ、突出末端同士の間接性を介してMMEJ修復を起こさせることができると考えた。

(4) ランダム挿入株を除くため、ヒト細胞では適用しにくいDTA遺伝子に変わる新たな陰性選抜マーカーとして細胞増殖阻害shRNAやCaspase9誘導発現系を検討する。

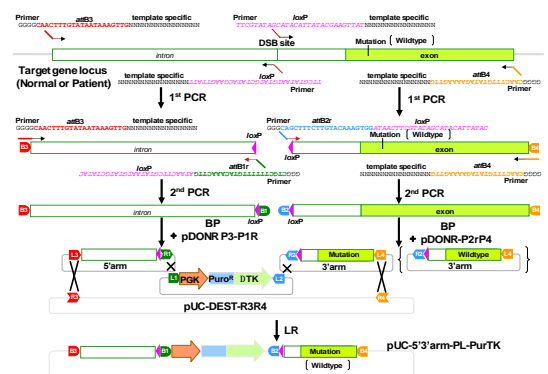
マウスで相同組換えを行う際には、ジフテリア毒素A断片(DTA)遺伝子を供与核酸の相同腕の外側に配置することでランダム挿入による偽陽性を防ぐが、ヒトではDTAはパラクライン的に効き陽性コロニーが殆ど得られなくなってしまうことから、DTAに代わる陰性選抜マーカーを検討することを目的に挙げている。しかし、その候補として挙げているiCaspase9の有効性がそれほど確実ではないことや、現実問題として人工制限酵素を用いたノックインにおいては、陰性選抜マーカーなしでもそれほどランダム挿入が起こっていないらしいことが分かってきたため、この研究項目については割愛した。

#### 4. 研究成果

(1) H27年度前半は、TALENやCRISPRなどの人工制限酵素と同時に細胞に導入する薬剤選抜型ノックインベクターについて、Multisite Gateway技術を応用した汎用性のある簡便な構築技術を完成させた(図1A)。34bpのloxP配列によってカセットを除去する場合にはprimerにloxP配列を直接付加して挿入した左右の相同腕断片と、薬剤耐性遺伝子発現カセット断片を組み合わせる骨格ベクターに一度に連結して挿入する(図1A)。一方、piggybacトランスポゾンのITR配列を利用したfootprint-freeカセット除去を行う場合、予めpiggybacITRを挿入した左右の相同腕クローニング用ベクターに相同腕断片をIn-fusionクローニングし、図1Aと共通の薬剤耐性遺伝子発現カセット断片と組み合わせる骨格ベクターに一度に連結して挿入する(図1B)。薬剤耐性遺伝子発現カセットには、ノックイン時の陽性選択遺伝子としてpuromycin耐性(Pur<sup>R</sup>)遺伝子または、neomycin耐性(Neo<sup>R</sup>)遺伝子、hygromycin耐性(Hyg<sup>R</sup>)遺伝子、Blasticidin耐性(Bsd<sup>R</sup>)遺伝子のいずれかが載っており、またカセット除去時の陰性選択遺伝子としてチミジンキナーゼ(TK)遺伝子も載っているため、異なる薬

剤耐性のノックインベクターを作ることによって複数アレルへの同時KIなどにも対応が可能である。また、骨格ベクターを選ぶことでAAVベクターやAdVベクターにも搭載することが可能なため次のウイルスベクターによる遺伝子導入に実験にも同じ相同腕断片をそのまま利用可能である。

#### A. loxP 配列型



#### B. piggybac ITR 配列型

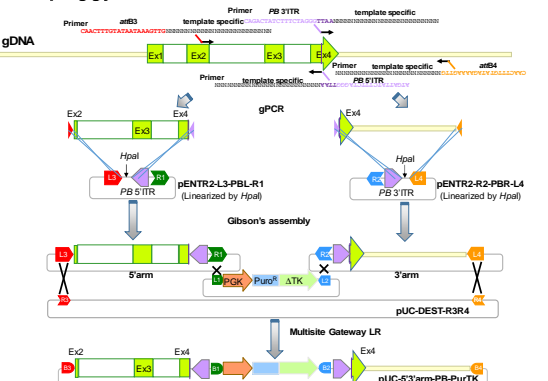
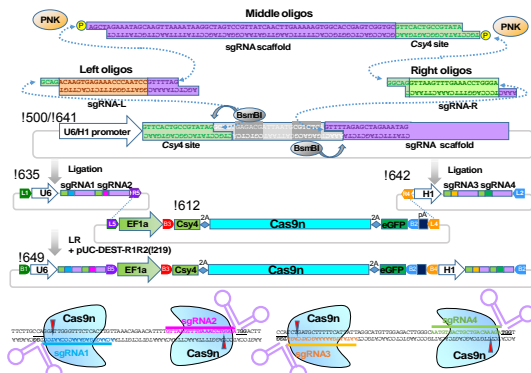


図1. Multisite Gateway 技術を応用した汎用性のある簡便なノックインベクター構築法

(2) H27年度後半には、TALENと上記ノックインベクターを組み合わせるヒトiPS細胞のゲノム編集条件の検討を行った。標的組換えベクターと標的遺伝子を切断するTALEN発現プラスミドベクターをリポフェクション、または電気穿孔法によって導入し、薬剤で選抜することで、Dravet症候群、家族性ALS、Pendred症候群、家族性Parkinson病の患者由来のiPS細胞等でその疾患の原因となっている遺伝子(SCN1A, FUS, SLC26A4, LRRK2)を修復したり、正常なiPS細胞に患者由来の変異を導入したりすることに成功し、その成果を複数の国内および国際学会で発表した。特にFUS, SLC24A6, SCN1Aについては、それぞれStem Cell Reports誌(雑誌論文)、Cell Reports誌(雑誌論文)、Stem Cell Research誌(雑誌論文)で論文発表した。リポフェクション法より電気穿孔法のほうが細胞の生存率が低い但最终的に得られるノックイン株は多かった。一方でTALENをAdVベクターに搭載して感染させ、薬剤選抜型ノックインベクターをリポフェクションで導入したが、ノックイン株が得られなかった。

(3) 平成 28 年度は、CRISPR 発現ベクターの改良にとり組み、複数の sgRNA 発現カセットとともに野生型または nickase 型 Cas9 遺伝子発現カセットを、IDLV ベクター骨格等の任意のベクター骨格に簡便に乗せ換えて all-in-one 型 CRISPR 発現ベクターを構築可能な系を開発した(図 2AB)。

### A. all-in-one 型



### B. 2 分節 tet 誘導発現型

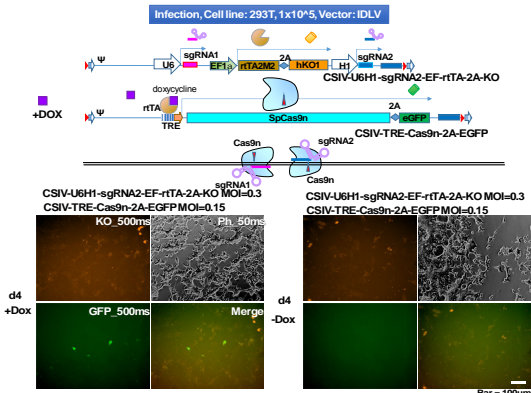


図2 本研究で構築した CRISPR 発現 IDLV ベクター

これらのウイルスベクターを使用して実際にゲノム編集に使用可能かどうか試みたが、IDLV ベクターについては LV の容量の限界と IDLV にすることによる力価の低下から all-in-one 型では力価測定可能なウイルスが得られず、サイズを減らすために 2 分節化し、tet ドライバーと sgRNA、tet 誘導プロモーター付加 Cas9 に付けた 2 分節 tet 誘導発現型 IDLV についても、hiPS 細胞 (201B7) における感染力価は非常に低く(図 2B)、IDLV 化したノックインベクターと同時感染して、薬剤選抜をかけても目的のノックイン株を得ることはできず、IDLV 化による効率向上は断念した。

一方、AdV ベクターについては、慈恵医大の鐘ヶ江の協力を得て、力価は十分に高いものが得られたものの(図 3)、何故かヒト iPS 細胞でもコントロールの 293T 細胞でも T7E1 アッセイによる標的切断は確認できず、AdV 化したノックインベクターと同時感染して、薬剤選抜をかけてもやはりノックイン株を得

ることはできなかったため、TALEN に続き CRISPR 発現ベクターの AdV 化による効率向上も断念した。ただし、薬剤カセット除去に使用する Cre 組換え酵素および piggybac トランスポゾン転移酵素の発現ベクターについては AdV ベクター化したものが有効に働くことが判明した。

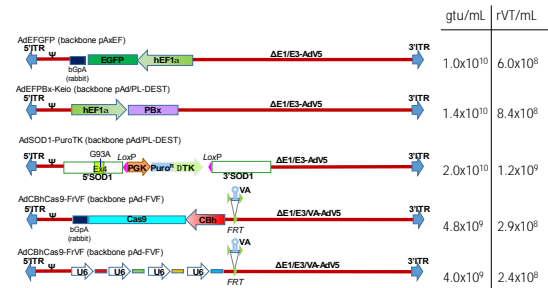


図 3 作製したゲノム編集関連 AdV ベクターと物理力価

しかし、これらのウイルスベクター系構築の副産物として、通常のプラスミドベクター上に最大で 4 つまでの sgRNA と nickase 型 Cas9 を同時に発現させる all-in-one ベクターの構築に成功し、これと薬剤選抜可能なノックインベクターを併用することでノックイン株取得効率はかなり向上し、TALEN の場合には電気穿孔法での導入でないと十分な数のノックイン株は得られなかったのに対して、CRISPR 系では、リポフェクション法での遺伝子導入で十分であることが判明した。その結果、H28 年には、家族性パーキンソン病、細胞増殖と腫瘍化、アンジェルマン症候群の原因遺伝子(それぞれ PARK2、TPT1、UBE3A)のノックアウト株の樹立に成功し、多系統萎縮症のリスク因子や、神経フェリチン症、家族性 ALS の原因遺伝子(それぞれ、COQ2、FTL、SOD1)の変異修復・導入株の樹立にも成功するという成果をえることができた。また、当初の計画では供与核酸側も切断し、MMEJ を介してノックインすることも想定していたが、double nickase 型 Cas9 法で供与核酸側にも切断されるようになってしまうと、意図した通りの相同組換えだけでなく挿入や欠失も起こってしまうことが判明した。そのため、供与核酸側に sgRNA の標的とならないような同義置換を持たせて切断を防ぎ、MMEJ 修復によるノックイン効率の向上を狙わないほうが結果として目的の配列をもつノックイン株の取得効率は高まった。このうち特に PARK2-KO 株については、ホモ KO 株を得て(図 4)、その表現型を家族性パーキンソン病患者由来の hiPS 細胞株と比較してパーキンソン病の病態発症の原因に関わる遺伝子発現変化を見出すことに成功して、Molecular Brain 誌(雑誌論文)に成果を発表した。

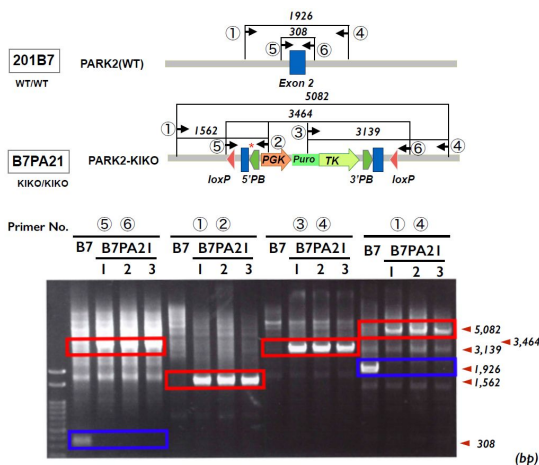


図 4 PARK2 遺伝子ホモ破壊株の gPCR 解析

(4)H29 年は、新たに統合失調症のリスク遺伝子(DISC1)にリスク要因となる 2 種の点変異を導入した株を樹立した。この DISC1 の変異導入はゲノム上で約 50 kb 離れた 2 つのエクソンにまたがるコドンを一変換するもので、通常のゲノム編集で実施される ssODN による点変異導入では実施が困難だが、2 つのエクソンを予め融合した供と核酸を載せたノックインベクターによって成功した。また、オフターゲット変異の解析として以下の 2 つの株について次世代シーケンス解析を行った。平成 27 年度に TALE 発現ベクターと薬剤選抜ノックインベクターの共導入により樹立した SCN1A 遺伝子のゲノム編集株については全ゲノム解析、同じく LRRK2 遺伝子ゲノム編集株についてはエクソーム解析により直接表現型に関わる部位のみについて解析した。それらの結果、表現型解析に影響を与えるエクソン部位ではオフターゲット変異はみつからず、これらの TALEN によるゲノム編集によるオフターゲット変異の低さが実証された。今後は、CRISPR によってゲノム編集をおこなった、COQ2 変異修復株、PARK2 ホモ KO 株についてオフターゲット変異の有無を確認することで CRISPR によるゲノム編集のオフターゲット変異のリスクを評価する必要がある。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

Yukari Suda, Naoko Kuzumaki, Takefumi Sone, Michiko Narita, Kenichi Tanaka, Yusuke Hamada, Chizuru Iwasawa, Masahiro Shibasaki, Aya Maekawa, Miri Matsuo, Wado Akamatsu, Nobutaka Hattori, Hideyuki Okano, Minoru Narita: Down-regulation of ghrelin receptors on dopaminergic neurons in the substantia nigra contributes to Parkinson's disease-like motor dysfunction. *Molecular Brain*, 査読有,

11(1) [6] (2018) DOI: 10.1186/s13041-018-0349-8

Yasuyoshi Tanaka, Takefumi Sone, Norimichi Higurashi, Tetsushi Sakuma, Sadafumi Suzuki, Mitsuru Ishikawa, Takashi Yamamoto, Jun Mitsui, Hitomi Tsuji, Hideyuki Okano, Shinichi Hirose: Generation of D1-1 TALEN isogenic control cell line from Dravet syndrome patient iPSCs using TALEN-mediated editing of the SCN1A gene. *Stem Cell Research*, 査読有, 28 100-104 (2018) DOI: 10.1016/j.scr.2018.01.036

Sadafumi Suzuki, Wado Akamatsu, Fumihiko Kisa, Takefumi Sone, Kei-ichi Ishikawa, Naoko Kuzumaki, Hiroyuki Katayama, Atsushi Miyawaki, Nobutaka Hattori, Hideyuki Okano: Efficient induction of dopaminergic neuron differentiation from induced pluripotent stem cells reveals impaired mitophagy in PARK2 neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 査読有, 483(1) 88-93 (2017) DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.12.188

Takefumi Sone, Satoshi Okamoto, Wado Akamatsu, Hideki Ukai, Hiroki R. Ueda, Kaoru Ogawa, Tatsuo Matsunaga, Hideyuki Okano: Cochlear cell modeling using disease-specific iPSCs unveils a degenerative phenotype and suggests treatments for congenital progressive hearing loss. *Cell Reports*, 査読有, 18(1) 68-81 (2017) DOI: 10.1016/j.celrep.2016.12.020

Naoki Ichianagi, Koki Fujimori, Masato Yano, Chikako Ishihara-Fujisaki, Takefumi Sone, Tetsuya Akiyama, Yohei Okada, Wado Akamatsu, Takuya Matsumoto, Mitsuru Ishikawa, Yoshinori Nishimoto, Yasuharu Ishihara, Tetsushi Sakuma, Takashi Yamamoto, Hitomi Tsuji, Naoki Suzuki, Hitoshi Warita, Masashi Aoki, Hideyuki Okano: Establishment of in vitro FUS-associated familial amyotrophic lateral sclerosis model using human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports*, 査読有, 6(4) 496-510 (2016) DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.02.011

[学会発表](計 4 件)

曾根 岳史\*, 吉松 祥, 塩澤 誠司, 大内 遼太郎, 石川 充, 木下 実結, 藤森 康希, 川嶋 志保子, 大多 茂樹, 鐘ヶ江 裕美, 三好 浩之, 岡野 栄之 (2017) Multisite Gateway クローニング技術に

立脚した汎用ヒト iPS 細胞ゲノム編集ツールボックス. 日本ゲノム編集学会第2回大会, ポスター

**曽根 岳史\***, 一柳 直希, 藤森 康希, 岡野 栄之 (2016) ゲノム編集による筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態モデル細胞の創成と遺伝子治療. 日本ゲノム編集学会第1回大会, ポスター

**曽根 岳史\***, 朴 聖俊, 田中 泰圭, 太田悦朗, 日暮 憲道, 中井 謙太, 廣瀬 伸一, 岡野 栄之 (2015) ゲノム編集した患者由来疾患 iPS 細胞の全ゲノム解析によって明らかになったこと (What was revealed by whole genome sequence analysis of genome edited patient-derived disease iPSCs). BMB2015(第38回日本分子生物学会年会, 第88回日本生化学会大会 合同大会), ワークショップ

**Takefumi Sone\***, Yasuyoshi Tanaka, Etsuro Ohta, Makoto Hosoya, Naoki Ichianagi, Tetsuya Akiyama, Norimichi Higurashi, Shinichi Hirose, Hideyuki Okano (2015) P-35. TALEN-mediated genome editing of patient-derived iPSCs for disease model studies. TGE2015: Conference on Transposition and Genome Engineering 2015, Poster

[図書](計 1件)

**曽根 岳史**, 一柳 直希, 藤森 康希, 岡野 栄之: 第3章 創薬・育種・水畜産への応用とベンチャー動向 2. iPS 細胞技術とゲノム編集技術を駆使した筋萎縮性側索硬化症病態モデルの創成と治療への展望. 真下 知士, 山本 卓/編: 「All About ゲノム編集」実験医学(増刊) **34**(20): p.146-157(3398-3409) (2016)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

曽根 岳史 (SONE, Takefumi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・訪問研究員

研究者番号: 00379091