

文献ID	生物種	種名	用いた技術	ターゲット遺伝子	誌名	タイトル	年	ページ	要旨	所属
175	植物	タバコ	CRISPR/Cas9	2つのXylIT遺伝子と4つのFucT遺伝子(全部で12個の対立遺伝子)	Front. Plant Sci.	Inactivation of the β (1,2)-xylosyltransferase and the α (1,3)-fucosyltransferase genes in Nicotiana tabacum BY-2 Cells by a Multiplex CRISPR/Cas9 Strategy Results in Glycoproteins without Plant-Specific Glycans	2017	8, 403.	植物や植物細胞は、抗体やワクチンなどの医薬用の糖タンパク質を生産するために使える。しかし、これらのタンパク質は植物に典型的な残基を含むN-グリカンを持ち、それがタンパク質の免疫原性、アレルゲン性または活性に大きく影響する。b(1, 2)-キシロルトランスフェラーゼ(XylIT)と α (1, 3)-フコシルトランスフェラーゼの2つの酵素が植物に特異的なグルカンの付加に重要である。私たちの目的は、CRISPR/Cas9を使ってタバコBY-2懸濁細胞において2つのXylIT遺伝子と4つのFucT遺伝子(全部で12個の対立遺伝子)をノックアウトすることである。保存された領域を標的とするためにXylIT遺伝子中の3つ配列とFucT遺伝子中の6つの配列に対するsgRNAを設計した。sgRNA、Cas9と選択マーカー(bar)をコードする遺伝子でタバコBY-2細胞を形質転換した後で、トランスジェニック系列が得られて、細胞外と細胞内タンパク質をウエスタンブロッティングによって分析した。3つの系統はb(1, 2)-キシロースと α (1, 3)-フコースが大きく減少しており、2つの系統にはそれらは存在しなかった。これらの糖がないことは細胞外タンパク質のマススペクトル分析によって確認した。標的領域を分析すると、小さなindelと標的部位の間の欠失が見出された。ノックアウトされた系統は特定の形態を示さず、野生型と同じように成長した。ノックアウトされた系統の1つについてヒトIgG2抗体をコードする遺伝子で形質転換した。マススペクトルで確認されたIgGの糖鎖付加の分析結果は糖鎖中にb(1, 2)-キシロースと α (1, 3)-フコースは存在せず、主要な糖の形態はGnGnだった。これらの結果は、タバコBY-2細胞で発現させた医薬用のタンパク質の糖鎖付加のヒト化に向けた重要な段階であることを意味する。	[Mercx S et al.] Univ. catholique de Louvain Louvain-la-Neuve, 他 ベルギー
176	植物	丹参	CRISPR/Cas9	ジテルペンシンターゼ(SmCPS1)	Sci. Rep.	Targeted mutagenesis in the medicinal plant <i>Salvia miltiorrhiza</i>	2017	7, 43320.	本研究では、強い薬理学的活性をもつ伝統的な中国の薬用植物である丹参においてタンニンノンの生合成に含まれるジテルペンシンターゼ(SmCPS1)遺伝子をCRISPR/Cas9を使って正確にノックアウトした。アグロバクテリウムリノゲネスに媒介される形質転換で得られた26個の独立したトランスジェニック毛状根の系統から3個のホモ接合性の変異体と8個のキメラの変異体を得られた。ホモ接合性の変異体はタンニンノンが完全に存在しないが、他のフェノール酸化代謝産物には影響がないことが代謝物の分析から明らかになった。キメラの変異体ではタンニンノンは減っていたが検出できて、SmCPS1のRNAiについての以前の報告と同じだった。この研究を基にして、中国の薬用植物における二次代謝物の解明、品質向上、収量の増加につながるだろう。	[Li B et al.] Huazhong Univ. of Science and Technology Wuhan 他 中国
177	植物	オオムギ	CRISPR/Cas9	HPT	Faming Zhuanli Shenqing	Method to knock out key gene HPT in barley VE synthesis pathway with crispr-cas9 system	2017	CN 106906240 A 20170630	CRISPR/Cas9システムによる高度な遺伝子編集とアグロバクテリウムツメファエンシスによる形質転換を利用して、オオムギにおいてビタミンEの合成経路中の鍵遺伝子であるHPTにターゲットによる遺伝子編集を行った。この遺伝子が機能しない変異体を得て、オオムギにおいて生物学的な活性を持つ化合物を研究するための基礎を作った。	[Bian H et al] Zhejiang Univ. 中国
178	植物	タバコ	CRISPR/Cas9	β -(1, 2)キシロシルトランスフェラーゼ、 α -(1, 3)フコシルトランスフェラーゼ	Plant Biotechnology J.	Establishment of a tobacco BY2 cell line devoid of plant-specific xylose and fucose as a platform for the production of biotherapeutic proteins.	2017	15(9):1120-1129.	私達はタバコBY2細胞懸濁液においてCRISPR/Cas9によるゲノム編集を使って β -(1, 2)キシロシルトランスフェラーゼと α -(1, 3)フコシルトランスフェラーゼをノックアウトした。全部で14個の遺伝子座をノックアウトした。ノックアウトした系統は安定で生存能力があつて、典型的なBY2の成長速度を示した。これらの系統の内在性のタンパク質についてのグリカンの分析は β -(1, 2)キシロースおよび/または α -(1, 3)フコースを欠いたN-結合型グリカンを示した。ノックアウトした系統は組換えDNaseIIによってさらに形質転換することができた。組換えタンパク質の発現レベルと活性は野生型のBY2細胞で生産されたタンパク質の値と同じだった。組換えDNaseIIはキシロースおよび/またはフコース残基を含まないことが示された。	[Hanania U et al] Protalix Biotherapeutics, Carmiel イスラエル