

## tTA 依存性光制御 Cre マウスの開発

高尾 知佳, 宝田 剛志

### 1. 光遺伝学

近年, 新たな技術である「光遺伝学」を利用した研究が盛んとなっている。光遺伝学 (optogenetics) とは, 光を表す (opto) と遺伝学 (genetics) から作られた造語である。この技術は, 光で活性化されるイオンチャネルやイオンポンプを, ある特定の細胞に発現させることで, 光刺激によりその機能 (膜電位) を人為的に操作するものである。光合成を行うクラミドモナス (*Chlamydomonas*) から光照射により変形する膜タンパク質が発見されたことが光遺伝学の始まりとなり<sup>1)</sup>, 現在は, 3種類の光活性化タンパク質 [チャンネルロドプシン2 (Channelrhodopsin 2), ハロロドプシン (Halorhodopsin)<sup>2)</sup>, アーチロドプシン (Archaeorhodopsin)<sup>3)</sup>] が, 光遺伝学研究にて頻用されている。光活性化タンパク質に400~600nmの光照射をすることで, タンパク質の変形が起こり, 細胞内外へのイオンの流入/流出 (チャンネルロドプシン2は細胞内へのNa<sup>+</sup>イオンの流入と細胞外へのH<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>イオンの流出, ハロロドプシンは細胞内へCl<sup>-</sup>イオンの流入, アーチロドプシンは細胞外へH<sup>+</sup>イオンを流出) による細胞膜の脱分極/過分極が起きる。DeisserothとBoydenらの研究グループは, チャンネルロドプシンを神経細胞に発現させることで, 神経活動を人為的に操作できることを最初に報告した<sup>4,5)</sup>。チャンネルロドプシンを発現させた神経細胞に光照射すると, チャンネルロドプシンを介した陽イオンの細胞内流入, それに続く脱分極が起こり, 結果として神経細胞の活動電位が生じる。2000年代に開発されたこの新しい技術は瞬く間に神経科学分野に広がり, 現在では特定の脳内神経回路の機能を調べる上

で必須の研究ツールとなっている。近年ではサルでの応用例も報告され<sup>6,7)</sup>, 霊長類での光操作を可能にしたことから, 近い将来, ヒトへの応用も期待されている。

### 2. 新たな技術 Magnet システム

東京大学の佐藤守俊らは, アカパンカビ (*Neurospora crassa*) が持つ青色光受容体 (Vivid) に着目し, 同受容体にアミノ酸変異を導入することで, “Magnet システム” と名づけた光活性化タンパク質を開発した<sup>8)</sup>。Magnet システムとは, 独自に開発した pMag/nMag と呼ぶ光スイッチタンパク質からなるシステムであり, pMag/nMag は青色光 (470±20nm) に応答して互いに結合する性質を持っており, 照射をやめることでその結合能力が失われ解離する (図1)。たとえば, タンパク質のN末端断片(X)とC末端断片(Y)に, 光スイッチタンパク質 (pMag, nMag) それぞれを遺伝子工学的に連結することで, 光照射の有無により, 標的タンパク質の結合や解離を自由自在に操ることができる。同システムの利点は, (1)細胞や動物挙動を生きたままの状態でも操作・解析できること, (2)標的細胞に対してミリ秒単位の操作・解析が可能であること, (3)それらが可逆的・非侵襲的に制御可能なこと, があげられる。佐藤らは, このMagnet システムを用いてさまざまな光操作技術を報告しており, その一つが, 光駆動型のゲノム編集ツール Photoactivatable-Cas9 (PA-Cas9)<sup>9)</sup> の開発である。Cas9の切断活性を光で制御するために, Cas9タ



図1 Magnet システム

青色LED光 (470±20nm) を照射することで光スイッチタンパク質である nMag と pMag が連結し, Magnet システムに結合しているタンパク質 N 末端断片 (X), C 末端断片 (Y) が結合し活性化する。光照射をやめることで pMag/nMag の連結が解除され, 結合していたタンパク質 X, Y も再び解離する。

岡山大学学術研究院医歯薬学域 (医学系) 組織機能修復学分野 (〒700-8558 岡山県岡山市北区鹿田町2-5-1)

Development of tTA-dependent photoactivatable Cre recombinase knock-in mouse

Tomoka Takao and Takeshi Takarada (Department of Regenerative Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, 2-5-1 Shikata-cho, Kita-ku, Okayama 700-8558, Japan)

本論文の図版はモノクロ (冊子版) およびカラー (電子版) で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2021.930414

© 2021 公益社団法人日本生化学会

ンパク質をN末端断面とC末端断面に分割し、それぞれに光スイッチタンパク質 (pMag, nMag) を連結させた。このことで光照射のOn/OffによりCas9活性を制御することが可能となり、光照射によるゲノム編集制御を可能とした。PA-Cas9を用いることで、狙った任意の場所、狙ったタイミングでのみゲノム編集を実行することができるので、従来のCRISPR/Cas9システム技術で懸念されていたオフターゲット効果を低減できる可能性もある。筆者は近年、PA-Cas9を用いて、妊孕能を制御するLif遺伝子を光照射によりゲノム編集することで、光照射依存的にマウスの妊孕能を制御することに成功した<sup>10)</sup>。これまで細胞レベルでの光制御は報告されていたが、*in vivo*で、さらにマウス子宮機能を制御したのは初めてである。このことから、光応答性システムが*in vivo*でも有用であることを証明した。また、ゲノムにコードされた遺伝子の発現を光で操作するSplit-CRISPR-Cas9-based photoactivatable transcription system (CPTS) 2.0技術を佐藤らは開発し<sup>11)</sup>、光刺激によりiPS細胞から神経細胞への分化誘導も成功している。さらに、MagnetシステムをDNA組換え酵素であるCreリコンビナーゼと組み合わせたシステムも開発され<sup>12)</sup>、これは次節以降にて詳しく説明する。

### 3. 有用なDNA組換えシステムCre-loxP

現在、世界中で幅広く利用されているCreリコンビナーゼ (Cre)-loxPシステムは、バクテリオファージP1が有するDNA組換えシステムで、34塩基からなるloxP配列に対してDNA組換え酵素Creが作用することで、二つのloxP配列間に挟まれた標的遺伝子の塩基配列をゲノムDNA上から部位特異的に除去することができる。同システムは、今ではマウス遺伝学を利用した生体内遺伝子機能の解析に必須の研究ツールである。組織特異的プロモーターの下流でCreを発現するマウスと、欠損させたい遺伝子のエキソンの両端にloxP配列をノックインさせたマウス (floxedマウス) を交配することで、Cre発現依存的に任意の組織/細胞にて遺伝子を欠損させることができる (コンディショナルノックアウト)。筆者らも同システムを利用することでRunt-related transcription factor 2 (Runx2, 骨格形成に必須の転写因子、全身性欠損マウスでは生後まもなく死亡) のfloxedマウスを世界に先駆けて作製し、細胞種特異的な各種Creマウスラインを使用した解析を進めてきた<sup>13-17)</sup>。「全身性欠損」から「細胞種特異的欠損」の例のように、生体内遺伝子操作精度の向上は、新しい概念の提唱につながり、学術体系そのものを大きく転換させることができる。一方で、Cre活性を「時間特異的」に制御するには、Cre搭載ウイルス (アデノ随伴ウイルスなど) を、任意部位に直接投与することで可能だが、直接投与による侵襲性の問題があ

り、免疫システムや、発がん過程を観察する上では、より非侵襲的な方法が望まれている。また、Creリコンビナーゼにエストロゲン受容体の変異体を融合させ、Tamoxifen (TAM) 依存的にCre活性を制御するシステム (CreERT2システム) が開発され世界中の研究者に愛用されている。しかし、TAMは女性ホルモンのエストロゲンに対する抗エストロゲン薬であり、それ自身の薬理効果を見逃すことができないといった問題点も存在する。一方で、これまでCreシステムを用いた非侵襲的かつ時間/空間特異的な*in vivo* DNA組換えシステムについては報告されていなかった。

### 4. Photoactivatable-Creシステム

2016年佐藤守俊らは、Cre-loxPシステムとMagnetシステムを組み合わせることで、“青色光”を用いて遺伝子組換えを人為的にコントロールするPhotoactivatable-Cre (PA-Cre) システムを開発した<sup>12)</sup>。このシステムでは、断片化した不活化CreリコンビナーゼのN末端側断片 (CreN) とC末端側断片 (CreC) に光スイッチタンパク質 (pMag/nMag) をそれぞれ連結し、Creを二量体化させている。青色LED光照射時のみ、pMag/nMagどうしの結合が促されることで断片化した不活性化型Creどうしが空間的に近接し、DNA組換え活性を持つ活性化型Creが誘導される<sup>8)</sup>。光照射依存的なCreシステムとして、CRY2-CIB1スプリットCre光誘導型DNA組換えシステムも開発されたが、PA-Creシステムでは、光照射に反応したDNA組換え効率が大幅に改善されている。また、Creの触媒部位に光応答性 $\alpha$ -ニトロベンジルケージ基 (caged biomolecule) を結合させることで、Creの活性を光により制御する取り組みもなされている<sup>18)</sup>。このシステムでは紫外線 (UVA) を用いるため、DNA損傷による細胞毒性が生じる欠点があるが、PA-CreではUVを用いないためこの欠点が改善されている。これらの背景から、PA-Creシステムを搭載した遺伝子改変マウスを開発することができれば、生体外からの光照射で、非侵襲的に時空間特異的・組織/細胞特異的に遺伝子制御できる。生体内でもCreの活性を光によって調節可能となれば、標的の生体組織や細胞に対し、任意のタイミングで生きたままDNA組換えを誘導することが可能となり、*in vivo*での遺伝子解析技術の幅をより大きく広げることができる。筆者らは、PA-Creシステムに将来性を感じ、同システムを搭載した遺伝子改変マウスを開発することにした。

テクニカルノート

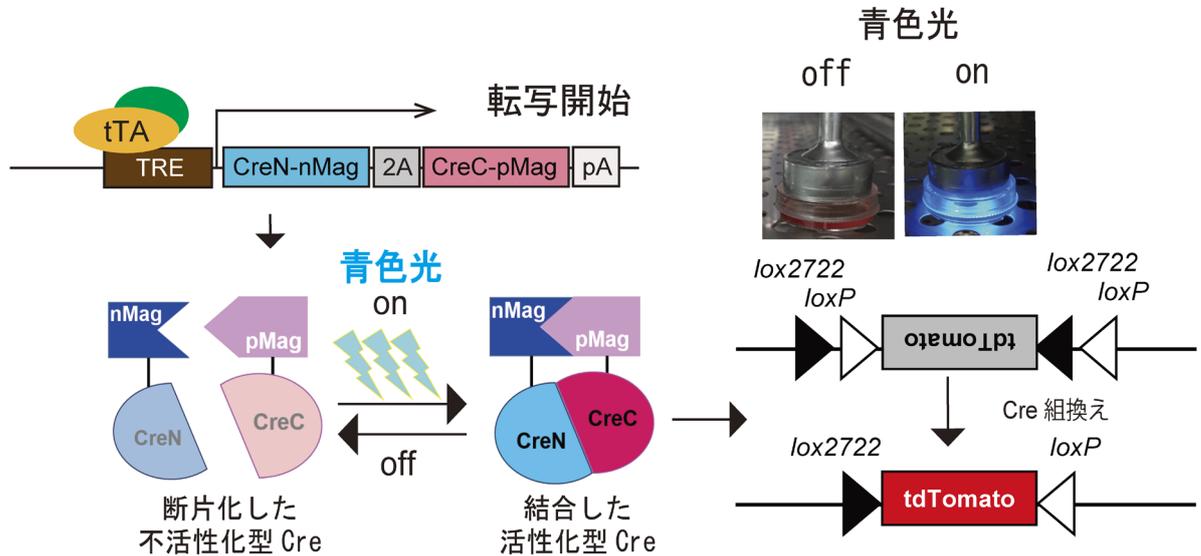
5. テトラサイクリン誘導発現系PA-Cre (TRE-PA-Cre) マウスの開発

PA-Creシステムを搭載したマウスを開発するにあたって筆者らは、時空間特異性を持つPA-Creシステムに細胞種特異性を加えるために、テトラサイクリン (Tetracycline) 誘導発現系 (Tet-On/Off) システムに着目した。Tet-On/Off誘導発現系システムとは、抗生物質テトラサイクリン誘導体である Doxycycline (DOX) の投与により、可逆的に目的遺伝子の発現調節を可能とするシステムであ

る。DOX存在下で目的遺伝子を発現するものをTet-Onシステム、逆にDOX非存在下で目的遺伝子が発現するものをTet-Offシステムと呼ぶ。このシステムでは、大腸菌テトラサイクリン耐性オペロンで働くTet Repressor (TetR) とTet Operator配列 (TetO配列) を利用しており、TetRはテトラサイクリン非存在下でTetO配列に結合するが、テトラサイクリン存在下では、TetO配列に結合できないという性質を持つ。

筆者らはまず、PA-Cre遺伝子 [nMag融合CreN末端遺伝子 (CreN-nMag) と、pMag融合CreC末端遺伝子 (CreC-

(A)



(B)

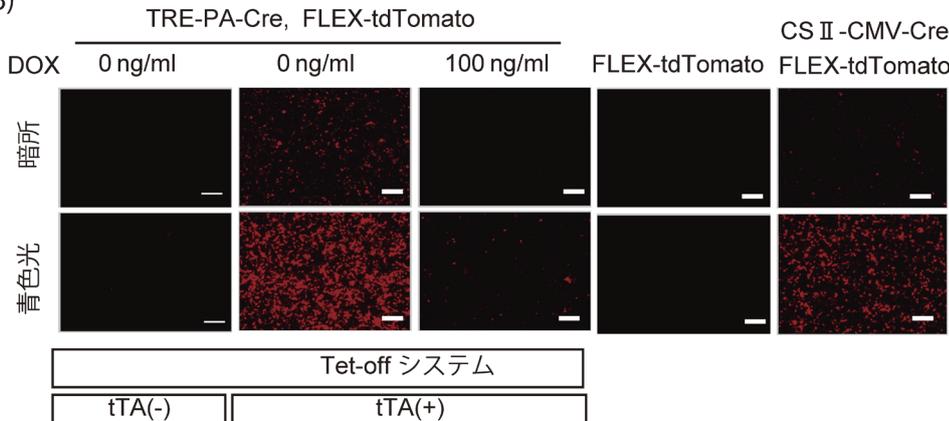


図2 TRE-PA-Creシステム

(A) TRE-PA-Creシステムの概要。(B) HEK293T細胞にTRE-PA-Creベクター、FLEX-tdTomatoベクター、Tetracycline Transactivator (tTA) を遺伝子導入し、DOX添加/青色LED照射の有無の影響についてtdTomatoの発現を指標に検討した。ネガティブコントロールとして、FLEX-tdTomatoベクター導入のみ、ポジティブコントロールとして、Cre発現ベクター (CSII-CMV-Cre) とFLEX-tdTomatoを導入した。Bar: 20 μm (Takao et al., BBRC, 2020<sup>23</sup>) より一部改変)。

pMag) が、細胞内自己切断型ペプチド配列 (P2A) で連結されている] の上流に Tetracycline response element (TRE, 複数の TetO 配列が直列につながっている配列) を有するベクター (TRE-PA-Creベクター; 図2) を構築し, *in vitro* での機能検証実験を行った. HEK293T細胞に TRE-PA-Creベクター, CAG-FLEX-tdTomatoベクター (Cre依存型 tdTomato発現ベクター), Tetracycline Transactivator (tTA)

を遺伝子導入し, DOX添加/青色LED照射の有無のCre活性への影響を調べるため, 蛍光顕微鏡下にて tdTomatoの発現を観察した. その結果, tTAを導入し, DOXを添加していない青色光照射群では, tdTomato発現が認められたのに対し, tTAを導入せずDOXを添加していない青色光照射群や, tTAを導入しDOX添加した青色光照射群ではその tdTomato発現が消失していた (図2). つまり, TRE-

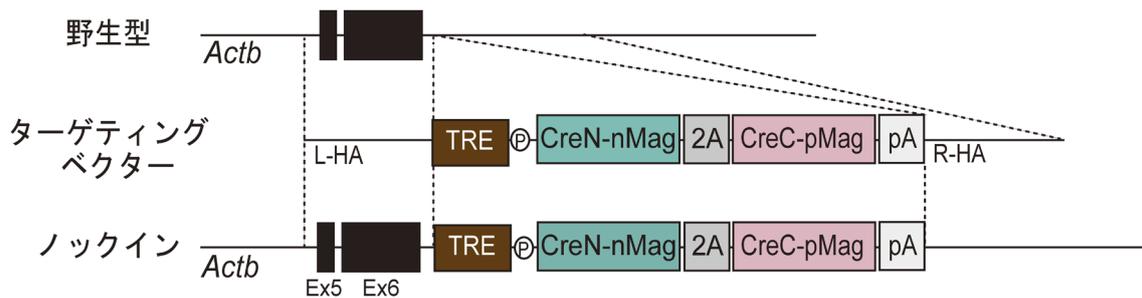


図3 TRE-PA-Creノックインマウスの作製

TRE-PA-Creマウスを作製するための targeting strategy (Takao et al., BBRC, 2020<sup>23</sup>) より一部改変).

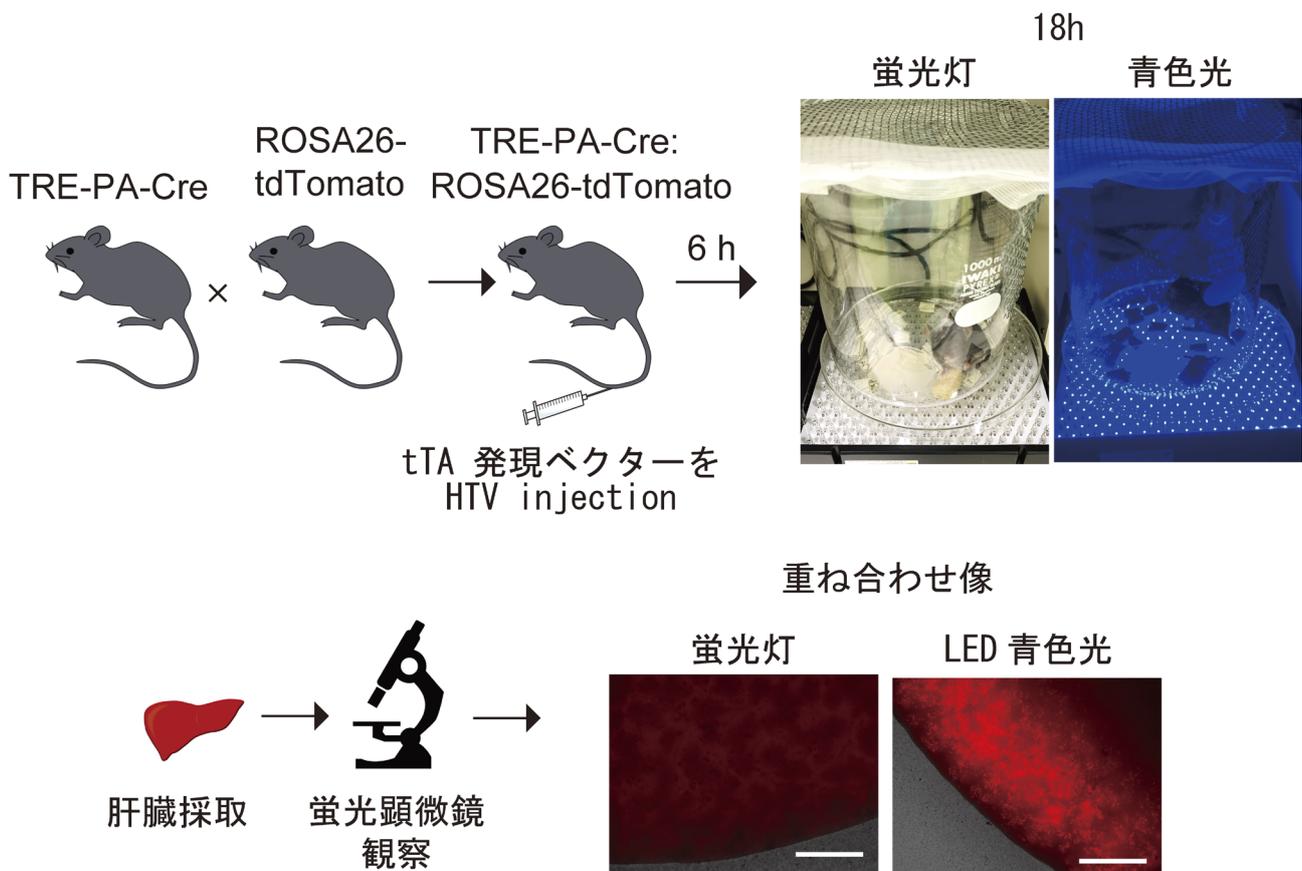


図4 TRE-PA-Creノックインマウスを用いた解析

TRE-PA-CreマウスとCreレポーターラインである ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (Rosa26-tdTomato) を交配させ, TRE-PA-Cre:ROSA26-tdTomatoマウスを作製した. 同マウスに tTA発現ベクターをHTV注入法により肝臓に導入し, 導入6時間後にLED青色光 ( $470 \pm 20$  nm, 134 W) にて18時間曝露した. その後, 肝臓を採取して tdTomato発現を蛍光顕微鏡にて観察した. Bar: 1 mm (Takao et al., BBRC, 2020<sup>23</sup>) より一部改変).

## テクニカルノート

PA-Cre システムを利用すれば、tTA 依存的・DOX 依存的・光照射依存的に Cre 活性を制御することが可能である。

続いて筆者らは、TRE-PA-Cre システムのマウスへのノックインサイトの選定を行った。TetO 配列をランダムに染色体に挿入するとうまくいかず、*Actb* のようなハウスキープ遺伝子の近傍と部位を決めて挿入（ノックイン）するとうまくいくことが知られている<sup>19,20</sup>。事実、多くの細胞種で *Actb* 遺伝子 polyA 部位の下流部位は、tTA による遺伝子誘導効率を向上させていることが報告されている<sup>21</sup>。これは、染色体の転写が起きない Silent 部位に挿入されてしまえば、tTA が存在しても TetO から転写を誘導ができる可能性が低いと考えられるためである。これらの情報をもとに、*Actb* 遺伝子座にノックイン可能な TRE-PA-Cre ターゲティングベクター (*Actb*-TRE-PA-Cre) を作製した (図3)。

TRE-PA-Cre マウスの作製には、*Actb*-TRE-PA-Cre ターゲティングベクターと化学合成した *Actb* crRNA, tracrRNA, Cas9 タンパク質を受精卵に注入し、迅速な CRISPR/Cas9 ノックイン技術による挿入を行った<sup>22</sup>。ゲノム編集を行った受精卵を卵管内に移植し、その後の生まれてきたマウスを PCR 解析したところ、TRE-PA-Cre 配列が *Actb* 3'UTR 遺伝子座へ正しく挿入されたマウスを得ることができた (TRE-PA-Cre マウス, 図3)。

次に、得られた TRE-PA-Cre マウスが、tTA 発現依存的に PA-Cre を発現し、青色光に反応して生体内で活性化型 Cre として機能するかについて評価することにした。まず、TRE-PA-Cre マウスと、Cre 依存的に tdTomato を発現させることのできる ROSA26-loxP-stop-loxP-tdTomato (Rosa26-tdTomato) マウスを交配して、TRE-PA-Cre:ROSA26-tdTomato マウスを作製した (図4)。続いて、迅速に肝臓へ導入可能な方法である *hydrodynamic tail vein* (HTV) 法を利用することで、tTA 発現ベクターを TRE-PA-Cre:ROSA26-tdTomato マウスの肝臓に導入した。tTA 発現ベクター導入6時間後から、蛍光灯または青色 LED 光下で18時間マウスを飼育し、その後肝臓を摘出し、蛍光顕微鏡下で tdTomato の発現の観察を行った。その結果、蛍光灯下でのマウス肝臓では tdTomato の発現は観察されなかったが、青色 LED 光下でのマウスの肝臓では tdTomato が強く発現していることが確認できた (図4)。このことから、我々が作製した TRE-PA-Cre マウスは、tTA 依存的・光照射依存的に生体内で DNA 組換えを誘導できることが証明された<sup>23</sup>。

### 6. おわりに

我々が作製した TRE-PA-Cre マウスと、細胞種特異的 tTA 発現マウスを交配することで、生体内での Cre 依存的

DNA 組換え反応に、細胞種特異性・時空間特異性を付与することができる。また、同マウスに DOX を投与することで PA-Cre 発現を Off にできるため、光照射に依存しない DNA 組換え反応 (PA-Cre のリーク) を抑えることも可能である。光操作により生体内で時空間特異的に細胞を標識する際には、KikGR (kikume-green-red, 405 nm 光照射により蛍光特性が変化) ノックインマウス<sup>24</sup> が利用されている。しかし、KikGR の蛍光特性変化は永続的ではなく可逆的であるため、標識後の細胞動態を長期的に追跡すること難しいと考えられる。この点において、筆者らが開発したマウスを利用すれば、特定のマーカーを持つ細胞を空間特異的に永続的にラベリングすることができる。ある特定時期に存在した細胞の臓器間移動後の細胞系譜の追跡も可能となり、免疫学分野だけではなく、発生生物学から幹細胞生物学分野に貢献できる。がん研究分野では、Cre 依存的な Cas9 発現マウスを利用することで、光照射により任意の組織/細胞で非侵襲的に特定の遺伝子変異を起こすことが可能となる。生体内でのきわめて早期の遺伝子変異細胞動態の生体内での観察が可能となる。開発した TRE-PA-Cre マウスは、このようにさまざまな研究分野に応用可能であり、生命科学分野での新しい概念を提唱することに期待したい。TRE-PA-Cre マウスは、理研バイオリソースセンター (RIKEN BRC, <https://mus.brc.riken.jp/ja/>) にて提供されている (RBRC11090)。これから光遺伝学や光応答性技術に取り組む研究者に、同マウスがお役に立てば幸いである。

### 謝辞

本研究を遂行する上において、PA-Cre システムについてご教授いただきました東京大学大学院総合文化研究科・佐藤守俊教授、CRISPR/Cas9 のノックイン技術により TRE-PA-Cre マウスの作製に協力していただきました東京医科歯科大学難治疾患研究所・田中光一教授、平岡優一助教に厚く御礼申し上げます。また岡山大学学術研究院医歯薬学域・組織機能修復学分野の皆様に深く感謝いたします。

### 文 献

- 1) Hegemann, P. (2008) Algal sensory photoreceptors. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **59**, 167-189.
- 2) Zhang, F., Wang, L.P., Brauner, M., Liewald, J.F., Kay, K., Watzke, N., Wood, P.G., Bamberg, E., Nagel, G., Gottschalk, A., et al. (2007) Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature*, **446**, 633-639.
- 3) Chow, B.Y., Han, X., Dobry, A.S., Qian, X., Chuong, A.S., Li, M., Henninger, M.A., Belfort, G.M., Lin, Y., Monahan, P.E., et al. (2010) High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. *Nature*, **463**, 98-102.
- 4) Boyden, E.S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., & Deisseroth, K. (2005) Millisecond-timescale, high-threshold optical neural stimulation. *Nature*, **435**, 82-87.

- K. (2005) Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat. Neurosci.*, **8**, 1263–1268.
- 5) Deisseroth, K., Feng, G., Majewska, A.K., Miesenbock, G., Ting, A., & Schnitzer, M.J. (2006) Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *J. Neurosci.*, **26**, 10380–10386.
  - 6) Gerits, A., Farivar, R., Rosen, B.R., Wald, L.L., Boyden, E.S., & Vanduffel, W. (2012) Optogenetically induced behavioral and functional network changes in primates. *Curr. Biol.*, **22**, 1722–1726.
  - 7) Inoue, K.I., Takada, M., & Matsumoto, M. (2015) Neuronal and behavioural modulations by pathway-selective optogenetic stimulation of the primate oculomotor system. *Nat. Commun.*, **6**, 8378.
  - 8) Kawano, F., Suzuki, H., Furuya, A., & Sato, M. (2015) Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins. *Nat. Commun.*, **6**, 6256.
  - 9) Nihongaki, Y., Kawano, F., Nakajima, T., & Sato, M. (2015) Photoactivatable CRISPR-Cas9 for optogenetic genome editing. *Nat. Biotechnol.*, **33**, 755–760.
  - 10) Takao, T., Sato, M., & Maruyama, T. (2020) Optogenetic regulation of embryo implantation in mice using photoactivatable CRISPR-Cas9. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 28579–28581.
  - 11) Nihongaki, Y., Furuhashi, Y., Otabe, T., Hasegawa, S., Yoshimoto, K., & Sato, M. (2017) CRISPR-Cas9-based photoactivatable transcription systems to induce neuronal differentiation. *Nat. Methods*, **14**, 963–966.
  - 12) Kawano, F., Okazaki, R., Yazawa, M., & Sato, M. (2016) A photoactivatable Cre-loxP recombination system for optogenetic genome engineering. *Nat. Chem. Biol.*, **12**, 1059–1064.
  - 13) Liao, L., Zhang, S., Gu, J., Takarada, T., Yoneda, Y., Huang, J., Zhao, L., Oh, C.D., Li, J., Wang, B., et al. (2017) Deletion of Runx2 in articular chondrocytes decelerates the progression of DMM-induced osteoarthritis in adult mice. *Sci. Rep.*, **7**, 2371.
  - 14) Takarada, T., Hinoi, E., Nakazato, R., Ochi, H., Xu, C., Tsuchikane, A., Takeda, S., Karsenty, G., Abe, T., Kiyonari, H., et al. (2013) An analysis of skeletal development in osteoblast-specific and chondrocyte-specific runt-related transcription factor-2 (Runx2) knockout mice. *J. Bone Miner. Res.*, **28**, 2064–2069.
  - 15) Takarada, T., Nakazato, R., Tsuchikane, A., Fujikawa, K., Iezaki, T., Yoneda, Y., & Hinoi, E. (2016) Genetic analysis of Runx2 function during intramembranous ossification. *Development*, **143**, 211–218.
  - 16) Wei, J., Shimazu, J., Makinistoglu, M.P., Maurizi, A., Kajimura, D., Zong, H., Takarada, T., Iezaki, T., Pessin, J.E., Hinoi, E., et al. (2015) Glucose uptake and Runx2 synergize to orchestrate osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*, **161**, 1576–1591.
  - 17) Yamada, D., Kawabe, K., Tosa, I., Tsukamoto, S., Nakazato, R., Kou, M., Fujikawa, K., Nakamura, S., Ono, M., Oohashi, T., et al. (2019) Inhibition of the glutamine transporter SNAT1 confers neuroprotection in mice by modulating the mTOR-autophagy system. *Commun. Biol.*, **2**, 346.
  - 18) Edwards, W.F., Young, D.D., & Deiters, A. (2009) Light-activated Cre recombinase as a tool for the spatial and temporal control of gene function in mammalian cells. *ACS Chem. Biol.*, **4**, 441–445.
  - 19) Chuhma, N., Tanaka, K.F., Hen, R., & Rayport, S. (2011) Functional connectome of the striatal medium spiny neuron. *J. Neurosci.*, **31**, 1183–1192.
  - 20) Kellendonk, C., Simpson, E.H., Polan, H.J., Malleret, G., Vronskaya, S., Winiger, V., Moore, H., & Kandel, E.R. (2006) Transient and selective overexpression of dopamine D2 receptors in the striatum causes persistent abnormalities in prefrontal cortex functioning. *Neuron*, **49**, 603–615.
  - 21) Tanaka, K.F., Matsui, K., Sasaki, T., Sano, H., Sugio, S., Fan, K., Hen, R., Nakai, J., Yanagawa, Y., Hasuwa, H., et al. (2012) Expanding the repertoire of optogenetically targeted cells with an enhanced gene expression system. *Cell Rep.*, **2**, 397–406.
  - 22) Aida, T., Chiyo, K., Usami, T., Ishikubo, H., Imahashi, R., Wada, Y., Tanaka, K.F., Sakuma, T., Yamamoto, T., & Tanaka, K. (2015) Cloning-free CRISPR/Cas system facilitates functional cassette knock-in in mice. *Genome Biol.*, **16**, 87.
  - 23) Takao, T., Hiraoka, Y., Kawabe, K., Yamada, D., Ming, L., Tanaka, K., Sato, M., & Takarada, T. (2020) Establishment of a tTA-dependent photoactivatable Cre recombinase knock-in mouse model for optogenetic genome engineering. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **526**, 213–217.
  - 24) Tomura, M., Hata, A., Matsuoka, S., Shand, F.H., Nakanishi, Y., Ikebuchi, R., Ueha, S., Tsutsui, H., Inaba, K., Matsushima, K., et al. (2014) Tracking and quantification of dendritic cell migration and antigen trafficking between the skin and lymph nodes. *Sci. Rep.*, **4**, 6030.

## テクニカルノート

## 著者寸描

## ●高尾 知佳 (たかお ともか)



岡山大学学術研究院医歯薬学域（医学系）組織機能修復学分野助教。医学博士。

■略歴 岡山県出身。2011年九州大学大学院で医学博士を取得。同大学で特任助教、京都大学大学院AKプロジェクトで特定研究員、慶應義塾大学産科学教室で特任助教を経て、19年より現職。

■研究テーマと抱負 光応答性技術を用いた基礎研究と、iPS細胞・ES細胞から誘導したヒト間葉系組織（運動器）の機能修復に関わる研究に取り組み、基礎から応用への橋渡しを目指している。

■ウェブサイト <https://www.okayama-u.ac.jp/user/syuufuku/>

■趣味 気ままな神社巡り、ラーメン屋巡り、ARMS。

## ●宝田 剛志 (たからだ たけし)



岡山大学学術研究院医歯薬学域（医学系）組織機能修復学分野教授。博士（薬学）。

■略歴 富山県出身。2008年金沢大学で博士（薬学）を取得。04年より同大学の教務職員、07年より同大学の助教、16年より岡山大学で独立准教授、18年より研究教授、20年より現職。

■研究テーマ 間葉系の理解と、その医療応用。

■抱負 人材育成と基礎研究を通じて「新しい医療を作る」ことを目指します。どうせやるのであれば、大志を抱きつつも楽しく日々過ごせるよう精進していきます。

■ウェブサイト <https://www.okayama-u.ac.jp/user/syuufuku/>

■趣味 お酒、モンスターハンター。