



本件の報道解禁につきましては、令和2年10月23日(金)午後6時以降にお願いいたします。

令和2年10月23日

【本件リリース先】

文部科学記者会、科学記者会、
広島大学関係報道機関

国立大学法人広島大学
国立大学法人東京医科歯科大学

クリスパーキャスによる正確で安全なゲノム編集を
細胞周期の利用によって実現

【本研究成果のポイント】

- ゲノム編集(※1)によって改変したい遺伝子以外の場所で変異が導入されるオフターゲット作用(※2)が抑制される(安全性が向上)
- 相同組換え(※3)が優位に起こることで正確なゲノム編集配列が生成する割合が大幅に向上される(正確性が向上)
- 細胞の活動(細胞周期(※4))に任せるだけで自律的に上記2つのメリットを同時に発揮する仕組みが構築された

【概要】

広島大学大学院医系科学研究科 松本 大亮助教、野村 渉教授、東京医科歯科大学生体材料工学研究所 玉村 啓和教授の研究グループは、細胞周期を利用した正確で安全なCRISPR-Cas9(※5)によるゲノム編集を実現する技術を開発しました。

細胞周期に依存して発現量が増減するタンパク質をゲノム編集に利用することで、自律的に遺伝子の切断が制御され、CRISPR-Cas9酵素単独でゲノム編集を行う場合と比較して正確な配列編集の効率向上と、類似配列での誤った編集の低減が同時に行える技術になります(図1)。

CRISPR-Cas9活性が自律的に制御できるため、細胞への毒性やin vivoでの動物実験などへの適用の難しさが懸念される化合物や光刺激を利用したタンパク質機能の制御方法と比較してより幅広い応用が期待できます。

本研究成果は、ロンドン時間の2020年10月23日午前10時(日本時間:2020年10月23日午後6時)「Communications Biology」オンライン版に掲載されます。

<発表論文>

論文タイトル

A cell cycle-dependent CRISPR-Cas9 activation system based on an anti-CRISPR protein shows improved genome editing accuracy

著者

松本 大亮^{1,2,3}、玉村 啓和¹、野村 渉³

1. 東京医科歯科大学生体材料工学研究所

2. スクリプス研究所

3. 広島大学大学院医系科学研究科 創薬標的分子科学研究室

掲載雑誌

Communications Biology

この研究成果は科研費、NEDO “スマートセルプロジェクト” などの支援を受けて研究を行い、得られたものです。

【背景】

ゲノム編集技術は遺伝子を修復する技術として世界中で研究開発が進められています。細胞内で発現されるタンパク質の量を増減させたい場合、特にタンパク質の発現を抑制する場合（遺伝子ノックアウト（※6））は CRISPR-Cas9 を利用して遺伝子のリーディングフレーム（※7）をずらす変異を与えることで目的を果たせます。しかし、タンパク質に特定の変異を導入したい場合や均一な変異を導入したい場合は細胞外部から変異配列を指定する DNA を同時に導入して、相同組換えが行われる必要があります。しかし、この相同組換えの効率が低いことがゲノム編集技術における今後の課題の一つとなっています。また、標的とする遺伝子配列に類似する配列はゲノム上に多数存在するため、そのような類似配列でも誤った編集が行われる、いわゆるオフターゲット作用による他のタンパク質への影響や遺伝子機能への影響も懸念されており、これをいかに低減させるか、もゲノム編集の安全性を向上させるためには大きな課題の一つです。

【研究成果の内容】

今回の研究では CRISPR-Cas9 に対して阻害作用をもつ Anti-CRISPR（※8）と呼ばれる分子と、細胞周期にตอบสนองして発現量が変化する Cdt1（※9）という分子をつなげることで、細胞周期によって CRISPR-Cas9 の活性が調節される仕組みを構築しました。

これによって、相同組換えが起こりやすい S、G2 期で CRISPR-Cas9 が活性化されて、相同組換えが起こることにより、正確に変異が導入された細胞が得られる割合が最高で 5 倍程度向上することが確認されました。

また、同時に得られる効果として、標的とする配列と類似する配列で起こる変異（オフターゲット作用）が最大で 90% 程度低減されることを見出しました（図2）。

これまでにこのように 2 つの効果と同時に得られる技術は報告された例はなく、新規性の高い研究成果になります。

【今後の展開】

CRISPR-Cas にはいくつもの種類が存在し、それらが多様なゲノム編集技術として実用化に向けた研究が進められています。CRISPR-Cas それぞれに Anti-CRISPR 分子が存在するため、今回開発した技術はそれらすべての組み合わせに適用できることが予測されます。それらを実験的に実証し、今後利用されるゲノム編集についてすべて適用されるような幅の広い技術として確立していきます。

【参考資料】

図 1. 今回構築した細胞周期によって CRISPR-Cas の活性を制御する仕組み

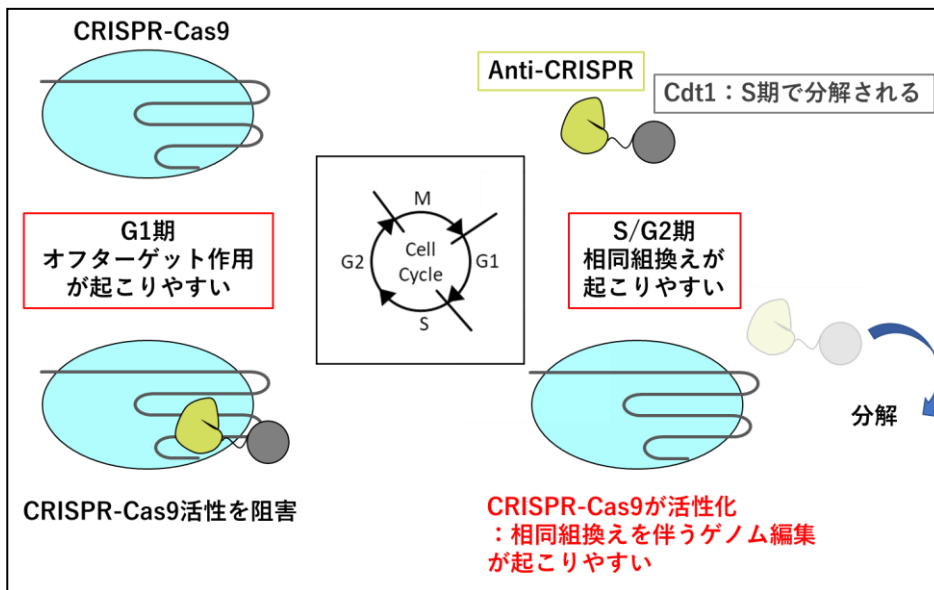
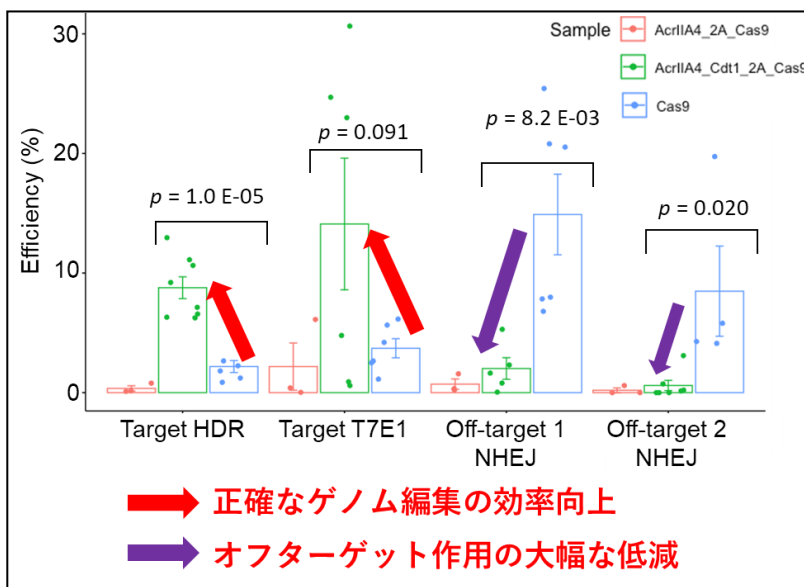


図 2. 相同組換え効率の向上と同時にオフターゲット作用が抑制されていることを示す実験結果



専門用語

(※1) ゲノム編集

細胞核内にある染色体ゲノム上に存在する遺伝子配列のうち、標的とする配列に対してヌクレアーゼ（DNA 切断酵素）を作用させることで切断された遺伝子が改変されることを指す。CRISPR-Cas などがゲノム編集を行うためのツールとなる。

(※2) オフターゲット作用

ターゲット（標的）とは異なる部位に作用することを指す。遺伝子を対象とする場合は、標的とする遺伝子と似た配列に作用する現象のことを指す。

(※3) 相同組換え

ゲノム DNA 上での二本鎖切断の修復で起こる経路の1つであり、非相同組換え経路が切断を接続するだけなのに対して、修復対象の配列に相同な DNA（一部だけ変換したい配列になっている）を鋳型としておくことで外来配列が染色体に組み込まれる。

(※4) 細胞周期

細胞が二つの娘細胞を生み出す過程で起こる一連の現象。ゲノム DNA の複製と分配、

それに引き続く細胞質分裂がある。細胞周期には 4 つの決まった順番の期が存在する。これらを G1 期, S 期, G2 期, M 期と呼ぶ。

(※5) CRISPR-Cas9

クリスパーキャスと呼ぶ。元々は原核生物における獲得免疫の一つであり、外来遺伝子を切断する機能を持つ。これを応用することで真核生物の遺伝子を切断し、ゲノム編集を行うシステムができた。

(※6) 遺伝子ノックアウト

ある生物に機能欠損型遺伝子を導入する、という遺伝子工学の手法。タンパク質をコードする遺伝子の場合はその発現が完全に抑制される。

(※7) リーディングフレーム

DNA または RNA 配列をアミノ酸に翻訳する場合の読み取り枠のことを指す。3 塩基でアミノ酸配列 1 個を指定する。読み枠がずれることで読み取りが終了する配列になる。

(※8) Anti-CRISPR

ファージがもつタンパク質で、宿主が持つ CRISPR-Cas を阻害して宿主細胞内で生存するために使われる。

(※9) Cdt1

細胞周期において、染色体の複製が正確に 1 回だけ行われることを保証するライセンス制御因子の 1 つ。一度複製された染色体が再複製されないように制御する。その発現は G1 期に高く、S 期ではユビキチン依存的分解により低くなる。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

大学院医系科学研究科 教授 野村 渉

Tel : 082-257-5308 FAX : 082-257-5309

E-mail : wnomura@hiroshima-u.ac.jp

<報道(広報)に関すること>

広島大学 財務・総務室広報部 広報グループ

〒739-8511 東広島市鏡山1-3-2

Tel : 082-424-3701 Fax : 082-424-6040

E-mail : koho@office.hiroshima-u.ac.jp

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島1-5-45

TEL : 03-5803-5833 FAX : 03-5803-0272

E-mail : kouhou.adm@tmd.ac.jp

発信枚数 : A4版 4枚(本票含む)