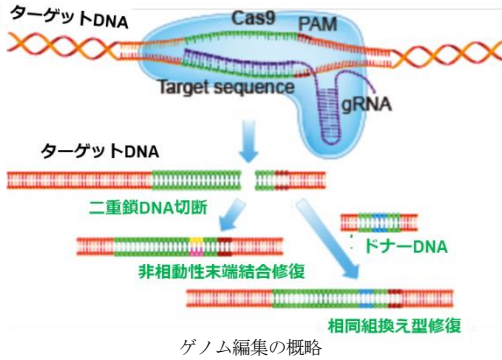


今さら聞けないゲノム編集

CRISPR/Cas システムの出現により、誰でも簡便かつ短時間に、細胞から個体レベルまで、ゲノム編集によって遺伝組み換え体を作ることが可能になっている。今やあちらこちらで見かける CRISPR/Cas システムという用語、どんな技術なのか手短かに理解したい人のために解説したい。



ゲノム編集の概略
(ジーンスク립トジャパン社 HP を参考に作成)

CRISPR/Cas システムは、細菌や古細菌がもつ獲得免疫機構と考えられている。

CRISPR/Cas とは、Clustered regulatory interspaced short palindromic repeat and CRISPR-associated proteins を省略したもので、直訳すると「規則的な間隔で、短い回文構造を持つ繰り返し塩基配列およびその関連蛋白質群¹⁾」を意味し、細菌ゲノムのある特定の領域における塩基配列の特徴を表している。

細菌は、ファージウィルス(以下、ファージ)の感染にさらされているが、それに対する防御システムも有している。それは、混雑する空港で多くの渡航者の中から、不法入国者を見つけ出すかのような巧妙なものである。まず、ファージに細胞内へと侵入されると、細菌はその DNA を小さく断片化して、自らの CRISPR

領域と呼ばれる繰り返し構造の中に一つずつ挿入し、保存(記憶)する。CRISPR 領域からは取り込まれた複数の DNA 断片とともに pre-crRNA が転写された後、さらにファージ由来 DNA 断片単位毎に切り出され、別の RNA とともにガイド RNA(gRNA)を形成する。さらに、gRNA は RNA 依存型 DNA 分解酵素である Cas9 と RNA-蛋白複合体を形成する。そして、再び同じファージの感染を受けた時には、gRNA が「記憶」していたのと同じ塩基配列(ターゲット配列)を持つ DNA を探し出し、そこに Cas9 を導くことで、外来 DNA(ターゲット DNA)を分解、排除する。これが、CRISPR/Cas システムが細菌の獲得免疫機構と言われる所以である。ゲノム編集では、ターゲット配列に任意の塩基配列を持つ gRNA を人工合成し、Cas9 とともに細胞に導入する。これにより、理論上はゲノムの任意の場所に切れ目を入れることができる。切れ目は、導入細胞の修復機構により再結合するが、その際、切断部位において欠失を起こしたり、任意の配列を持った DNA を挿入することが可能で、これがゲノム編集の核心部分となる(図参照)。

CRISPR/Cas9 を使ったゲノム編集は、複数の DNA 部位の編集を行うことができ、比較的特異性も高いとされるが、課題となっているのがオフターゲット効果と呼ばれる安全性の問題。狙った部位以外のところで変異を誘発すると細胞や生体に好ましくない効果を生じる可能性があるが、DNA のこういった場所でのどのくらいの頻度で起こるのか、まだ十分には確立されていない。このため、オフターゲット効果の評価技術やオフターゲット効果を生じないようなゲノム編集技術の開発が重要な課題となっている。

CRISPR/Cas9 によるゲノム編集の成功が発表されて以来、世界中の研究者がその改良や新たな応用方法の開発にしのぎを削っている。Cas9 の DNA 分解酵素ドメインを不活化した変異 Cas9 蛋白を用いて、任意の遺伝子の発現を活性化したり反対に抑制したりする遺伝子制御や、変異 Cas9 蛋白と融合蛋白質を作成して蛍光イメージングやクロマチン修飾を行ったりする応用例も生まれている。また、先のオフターゲット効果のリスクを減らすような変異 Cas9 も開発されている。

CRISPR/Cas9 を中心とした研究やベンチャー設立は米国が先導しており、日本がその技術を利用する際には、高額な導入費用がかかるようだ。今後、我が国では、国産ゲノム編集ツールと周辺技術の開発、およびその知財の確保など戦略的な対応が必要だろう。

1) CRISPR の繰り返し構造は数回から 20 回程度、Cas 蛋白質は、これまでに 45 種が知られているが、細菌ごとにその種類と数は異なる。

[OUVC 投資部第 3 グループ調査役 上平昌弘(医学博士)]