

ゲノム編集のちょっとした話

渡邊 崇人

最近、新たな遺伝子工学ツールとしてゲノム編集や人工制限酵素などといった言葉を耳にすることが増えてきた。本技術をこれから導入しようと考えている、もしくはすでに導入を始めている方々も多いのではないだろうか。メディアでも大きく取り上げられるようになってきたことで、一般の方々にも知られるところとなり、これからさまざまな議論が交わされることだろう。今回はゲノム編集の簡単な概略と、実際に使用していくにあたってのキモになる部分を紹介する。詳細はさまざまな総説が出版されているので、そちらを参照いただければと思う^{1,2)}。

まず、ゲノム編集の概略を述べたい。ゲノム編集ツールとしては三つあり、開発された順にZFN、TALEN、CRISPR/Cas9システムとなる。これらが異なる点は、ZFN、TALENはタンパク質によってゲノムDNAを認識し、CRISPR/Cas9システムはguide RNAという小分子RNAによってゲノムDNAを認識する点である。guide RNA作製の容易さから、現在はCRISPR/Cas9システムが多く研究者に支持されている。できることはどれも同じで、ゲノム中の標的配列を認識して切断することである。切断されたゲノムDNAは、即座に細胞内DNA修復経路により修復される。基本的には正確に修復されるが、ある一定の割合で数塩基程度の欠失や挿入が起こる。これが仮に遺伝子のcoding領域の場合、フレームシフトが起こり、結果として遺伝子ノックアウトとなる。ゲノム編集ツールとともに標的周辺と相同配列を持つドナーベクターや1本鎖DNAを細胞内へ導入しておく、相同組換えが起こり、これらの配列を標的領域へ正確に導入（ノックイン）することが可能となる。最近ではその他の方法も開発されつつあるが、まずはこの二つの方法がゲノム編集の基本であろう。

さて、ここでゲノム編集を行う際のキモになる部分について述べたいと思う。まず、実験を開始してすぐに重要なのはゲノム編集ツールを「効率よく」細胞内へ導入することである。そんなの当たり前だろうと思われるだろうが、案外この部分が問題になることが多い。特に、モデル生物以外の栽培品種や実用系統でゲノム編集を行う場合に問題となり、なかなか系統が得られないということが起こる。ということで、非モデル生物でゲノム編集を行う際には、まず効率的なタンパク質、核酸導入法を確立することが重要である。次に大事になるのが、ゲ

ノム編集された生物をどうやって選抜し、系統化するかという部分である。ノックアウトの場合はCel-1スクレアーゼを用いる方法をおすすめする。Cel-1スクレアーゼは元々、SNPsを検出する際に使用されていた酵素で、ミスマッチ部分の二本鎖DNAを切断するため、ゲノム編集により起こる欠失や挿入を検出することが可能である。菌や細胞であれば単一コロニー、動植物であれば次世代の個体の一部の組織でCel-1スクレアーゼ解析を行い、ゲノム編集の成否を判定し、系統化する。ノックインの場合は、マーカー遺伝子や抗生物質耐性遺伝子を組み込むことで簡単に系統化することができる。実際に実験を進めれば当然他にも問題が出てくるだろうが、上記二つの点に留意していれば大きく道を外れることはないだろう。

最後に簡単に使用例をいくつか紹介する。少し前の話になるが、PerezらによってHIVウイルスを対象として、エイズの根本治療になりうる技術が報告された³⁾。方法は、CD4細胞を取り出して培養し、HIVウイルスのレセプターであるCCR5という遺伝子に対してゲノム編集を行い配列を変えることで、HIVウイルスが侵入できないようにしてしまう。そして、できたCCR5改変CD4細胞を移植することで、HIVウイルスが感染しない免疫系となり、エイズを根本的に治療してしまえる。現在アメリカ合衆国において臨床試験が行われており、近い将来実際に治療に使える日が来るかもしれない。また、食料分野でも、ゲノム編集によりチロシナーゼ遺伝子をノックアウトすることで作製された、黒くならないマッシュルームがアメリカにおいて認可されたとの報道があった。日本でも京都大学の木下らにより、野生型よりも大型で筋肉量が多くなるマダイが作製されている。現在、日本中、世界中でゲノム編集技術による品種改良が進められており、今後数年で次々と発表されるであろう。以上の例はゲノム編集の応用例のほんの一部分であり、アイデア次第でまだまだ面白いことができるはずである。ぜひ皆さんもご一考してみてくださいはいかがだろうか？

- 1) 山本 卓ら：ゲノム編集入門，裳華房 (2016)。
- 2) 真下知士ら：実験医学増刊 All Aboutゲノム編集，羊土社 (2016)。
- 3) Perez, E. E. et al.: *Nat. Biotechnol.*, **808**, 7 (2008)。