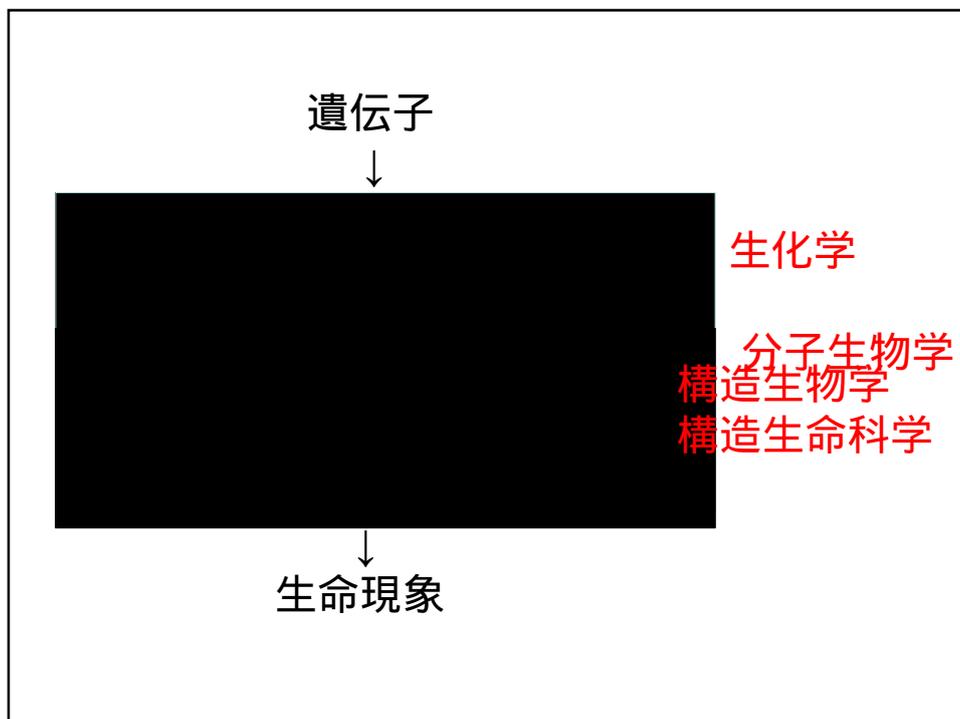


武田セミナー 2018年6月16日

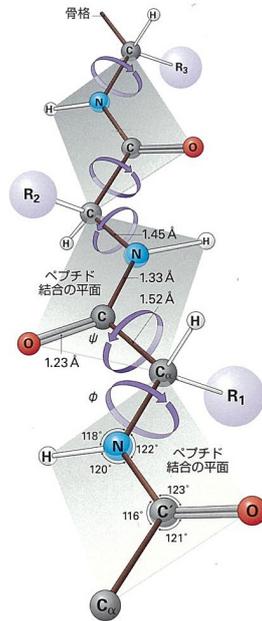
遺伝子組換えとゲノム編集

ゲノム編集とは

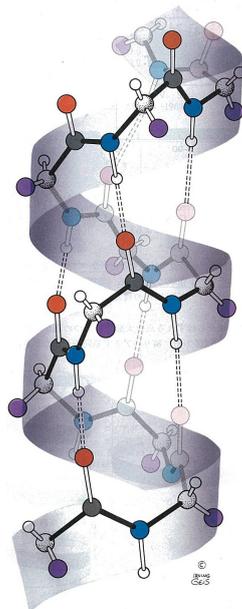
濡木 理
東京大学大学院理学系研究科



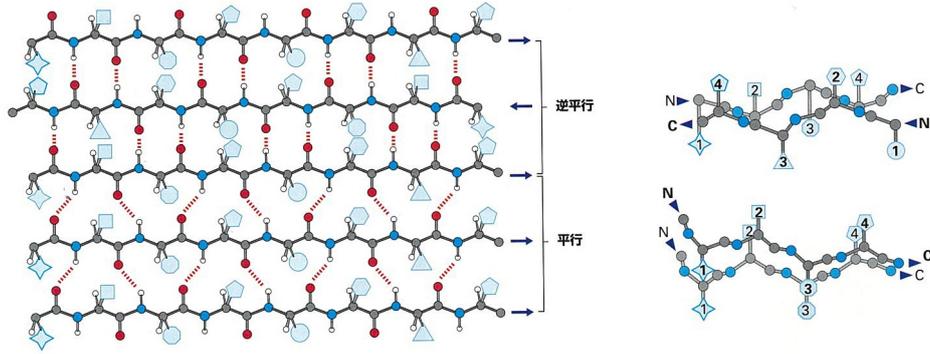
ペプチド結合



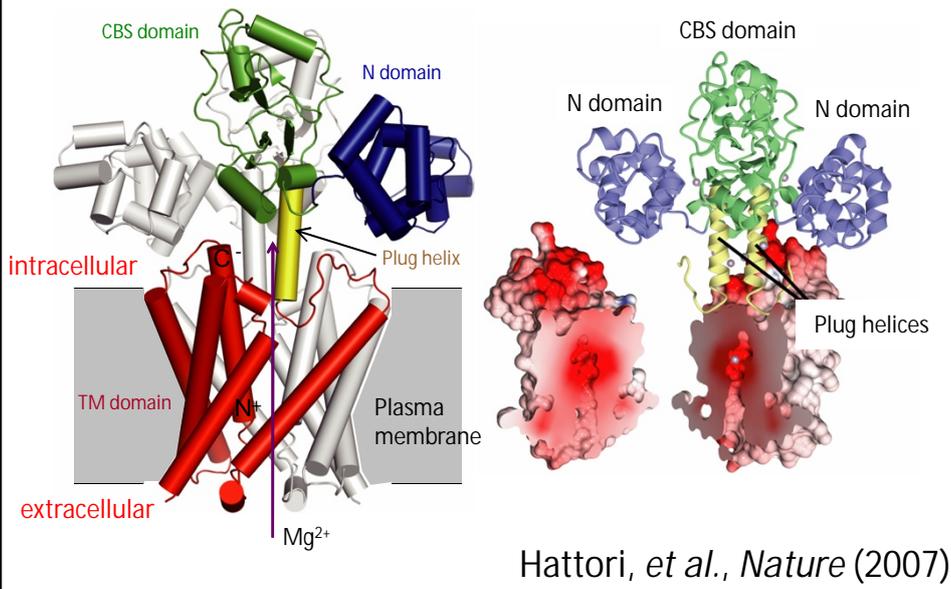
αヘリックス

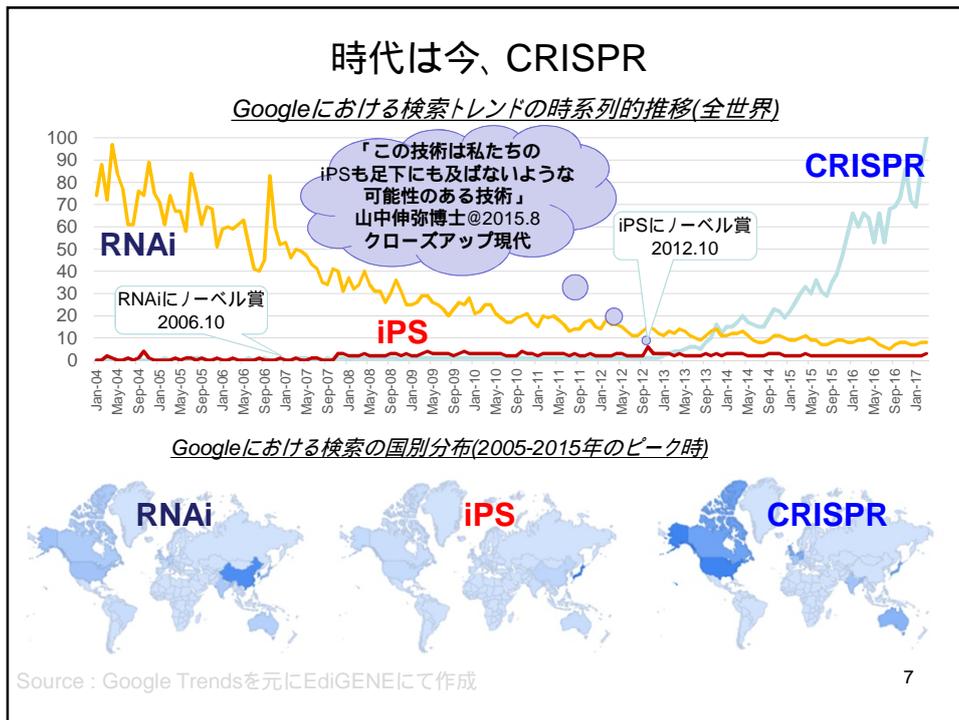


平行、逆平行βシート



Mg²⁺チャネル MgtE

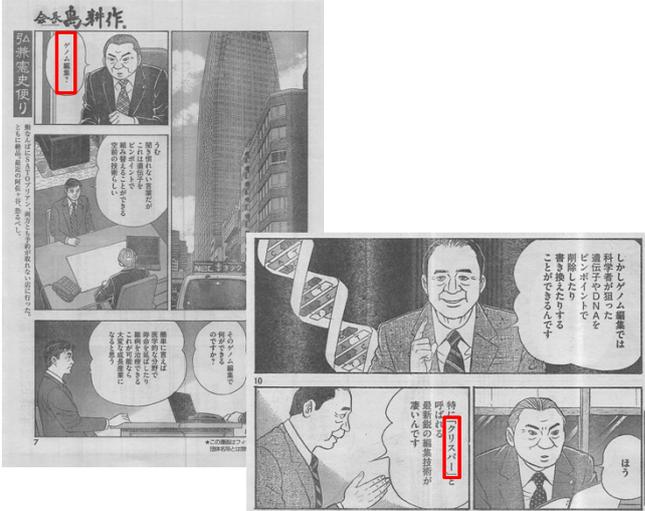




7

ついに島耕作にもゲノム編集登場





Source : モーニング 2017.2.16号

8

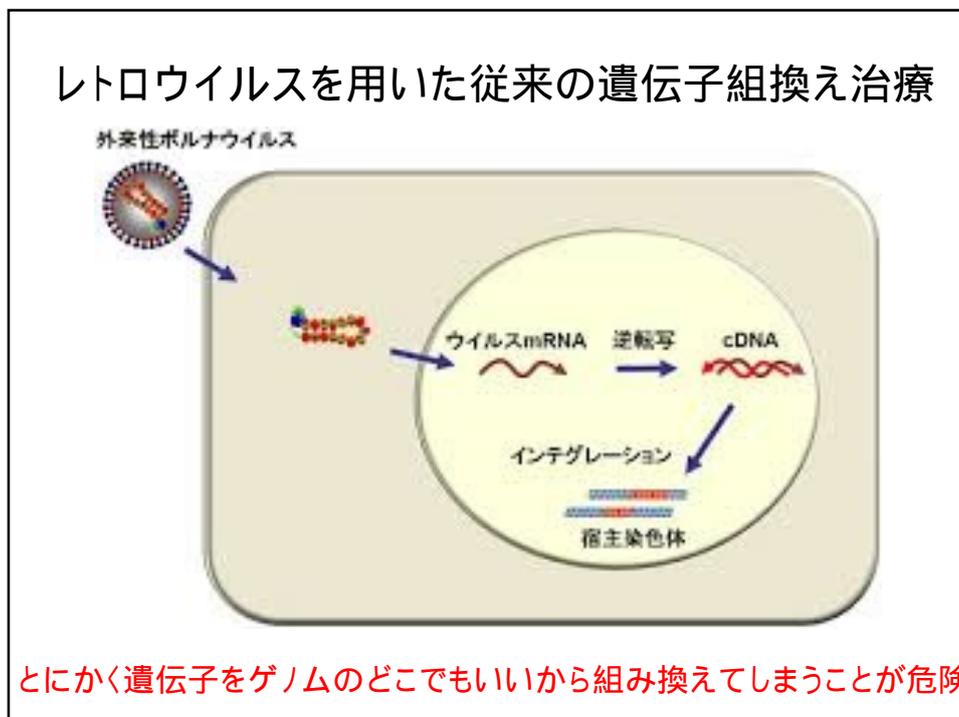
9:18 **がんも老化も克服できる!? 「ゲノム編集」とは?**

クリスパー:探索役

キャス9(たんぱく質):ハサミ

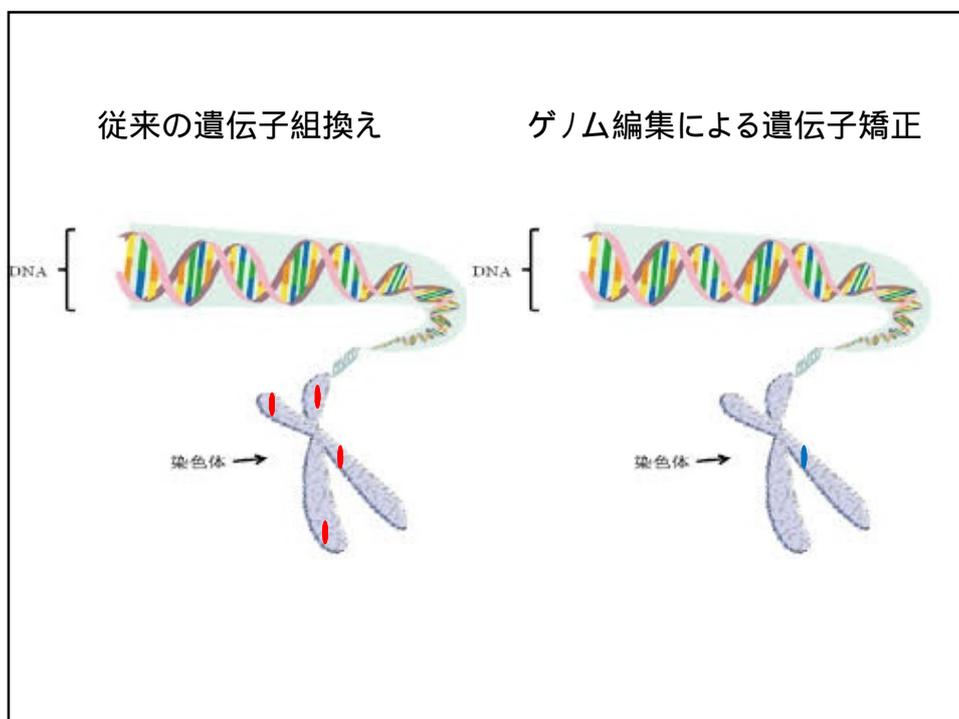
エラーを起こしたDNA

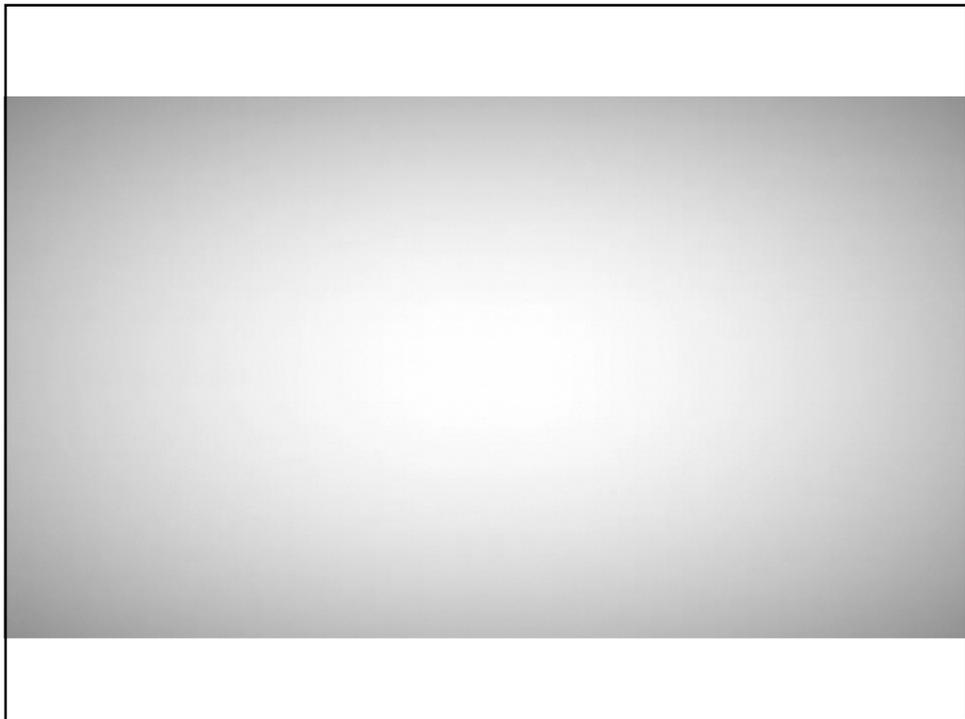
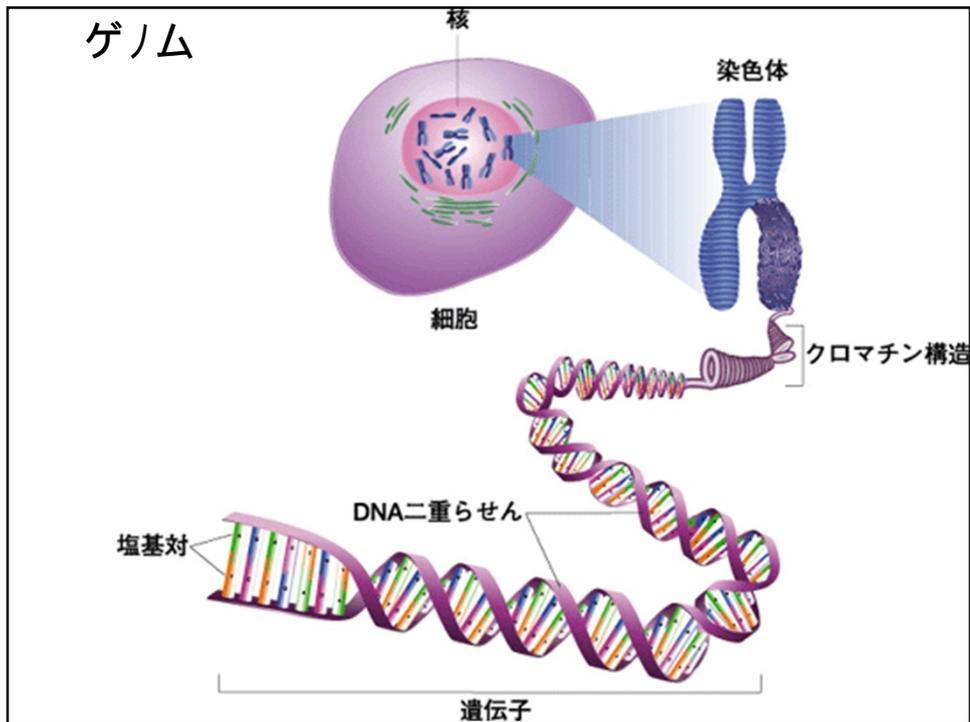
2017年10月12日放映 テレビ朝日「羽鳥慎一のモーニングショー」より
(Youtube 濡木で検索してください)



X-SCID: 造血幹細胞の 遺伝子組換え治療による発がん

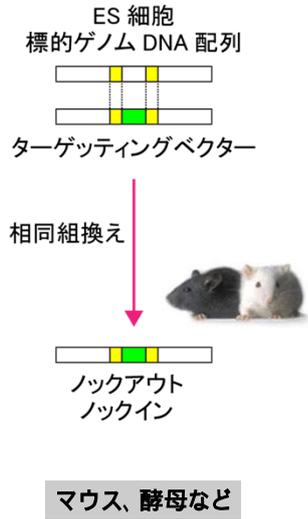
- 造血幹細胞の遺伝子治療によって骨髄移植並か、それ以上の効果が得られるが、治療を受けた92人中**11人に白血病が発症、1人が死亡**した。
- 原因は、治療に用いたレトロウイルスがゲノムのあちこちに入り込むことによる**突然変異発がん**が考えられている。



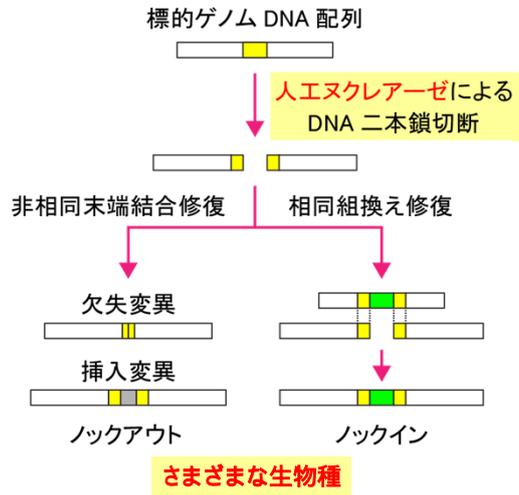


Genome editing

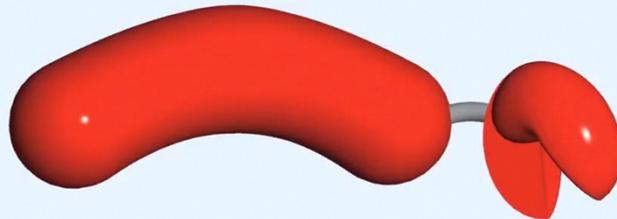
相同組換えを用いたゲノム編集



人工ヌクレアーゼを用いたゲノム編集

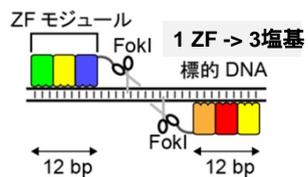


人工ヌクレアーゼ

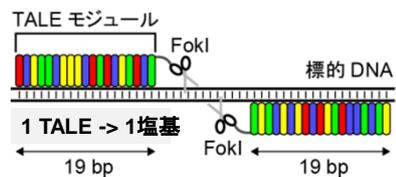


Engineered nuclease

ZFN (zinc finger nuclease)

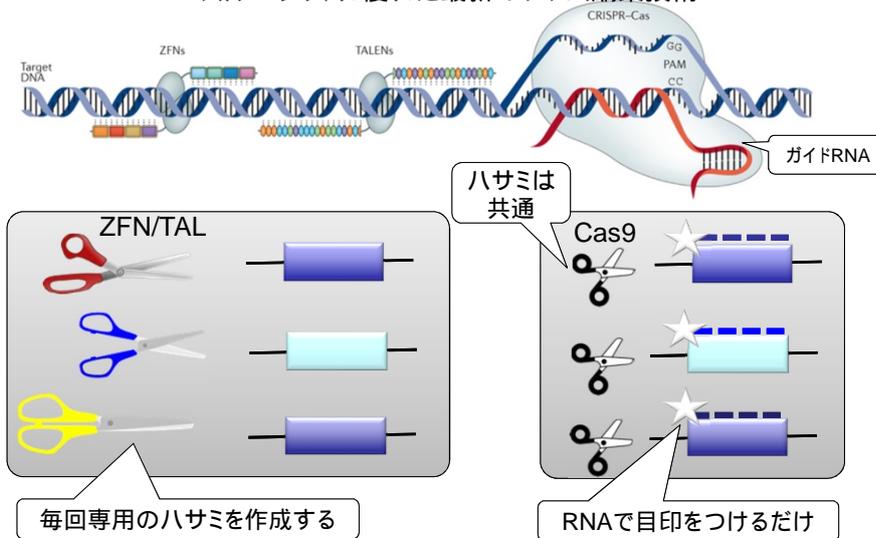


TALEN (TAL effector nuclease)



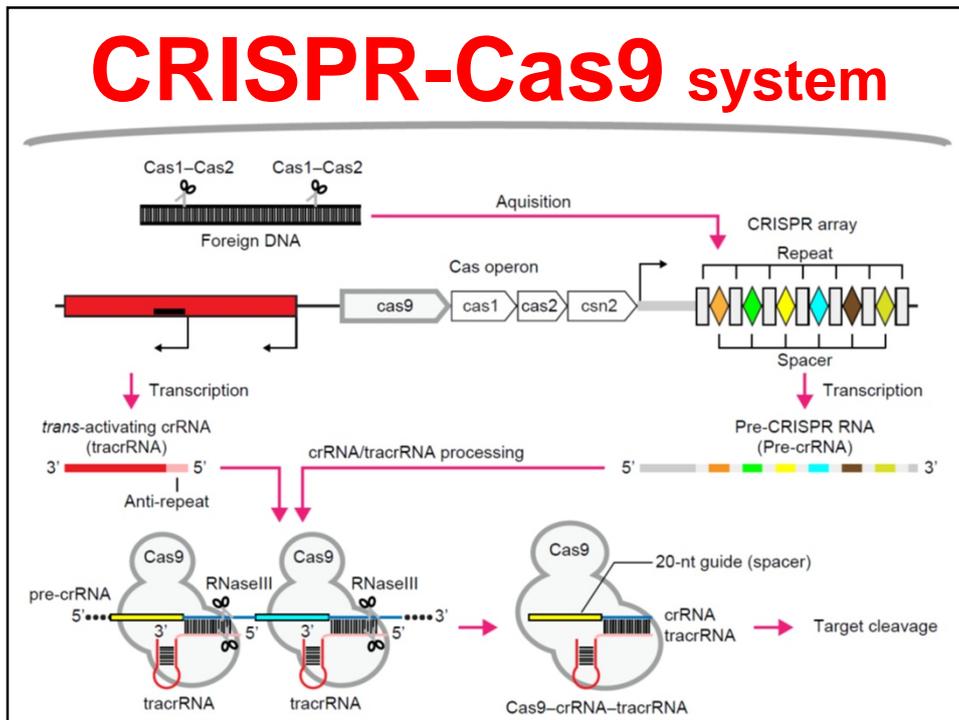
- タンパク質モジュールがDNAを認識
- アミノ酸置換 -> 標的配列の変更
- 標的配列の変更が非常に煩雑

ターゲット毎に切断酵素を設計しなければならない前世代の技術に対して、CRISPRはガイドRNAの設計だけでゲノムのカット&ペーストができるスピードとスループットに優れた最新のゲノム編集技術



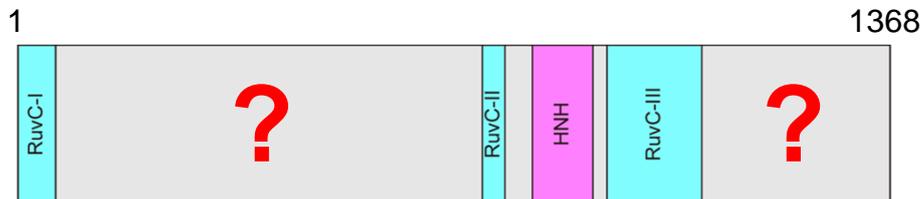
Nature Reviews Genetics 16, 501-516 (2015)

CRISPR-Cas9 system



Cas9 is a putative nuclease

Streptococcus pyogenes Cas9 (SpCas9)



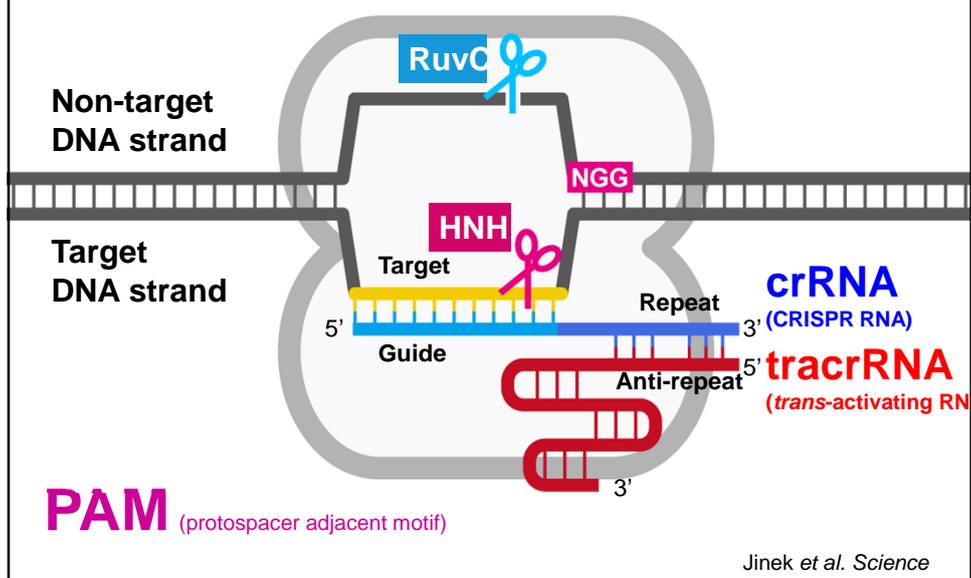
cas9 is an dual RNA-guided DNA nuclea

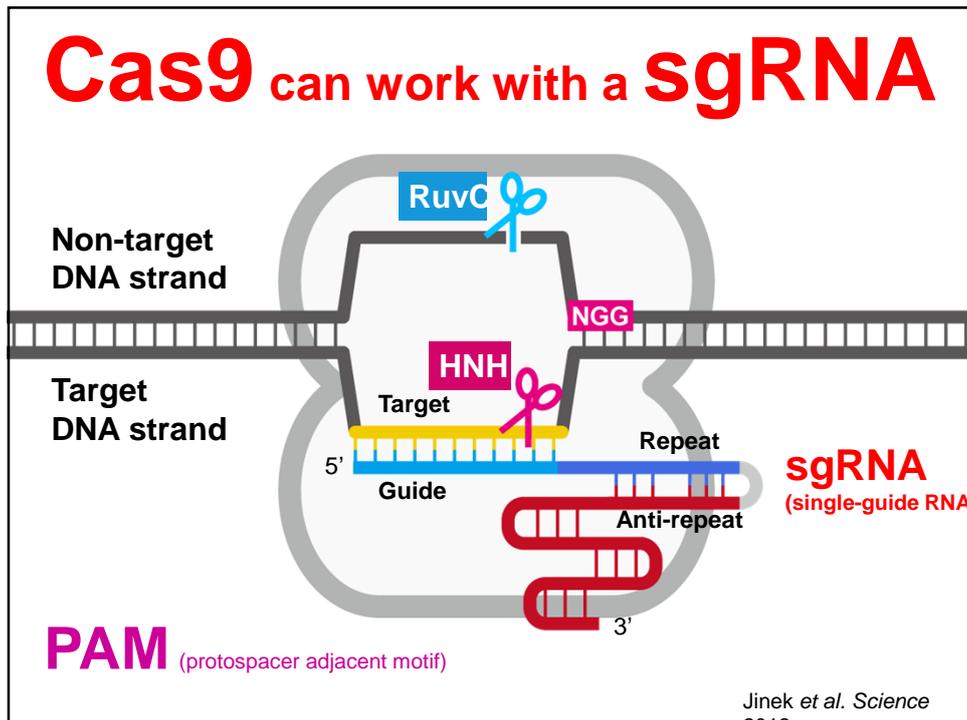
A Programmable Dual-RNA–Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity

Martin Jinek,^{1,2*} Krzysztof Chylinski,^{3,4*} Ines Fonfara,⁴ Michael Hauer,^{2,†}
Jennifer A. Doudna,^{1,2,5,6,†} Emmanuelle Charpentier^{4,†}

Jinek *et al.* *Science*
2012

cas9 is an dual RNA-guided DNA nuclea





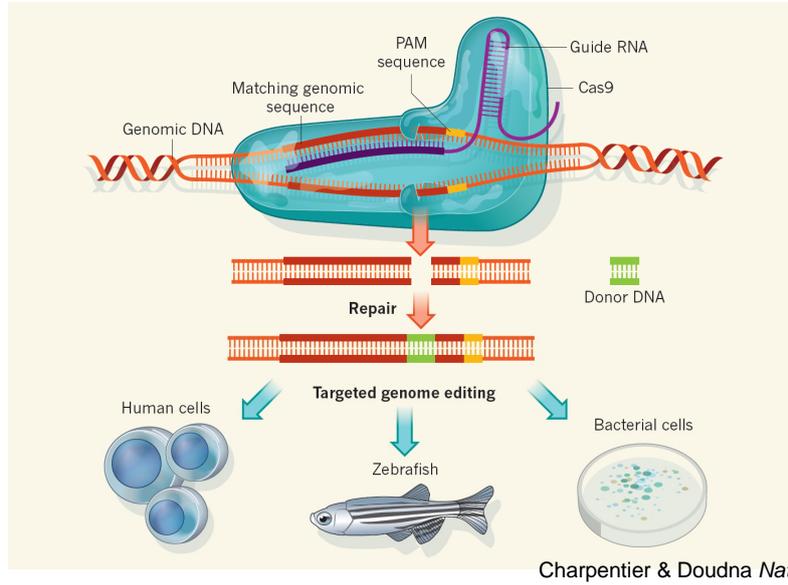
Genome editing by Cas9

Multiplex Genome Engineering Using CRISPR/Cas Systems

Le Cong,^{1,2*} F. Ann Ran,^{1,4*} David Cox,^{1,3} Shuailiang Lin,^{1,5} Robert Barretto,⁶ Naomi Habib,¹ Patrick D. Hsu,^{1,4} Xuebing Wu,⁷ Wenyan Jiang,⁸ Luciano A. Marraffini,⁸ Feng Zhang^{1†}

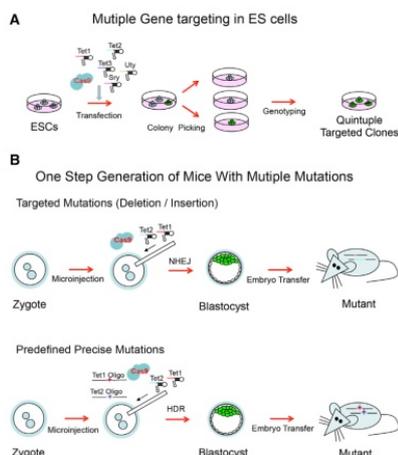
Cong et al. Science
2013

Genome editing by Cas9



One-Step Generation of Mice Carrying Mutations in Multiple Genes by CRISPR/Cas-Mediated Genome Engineering

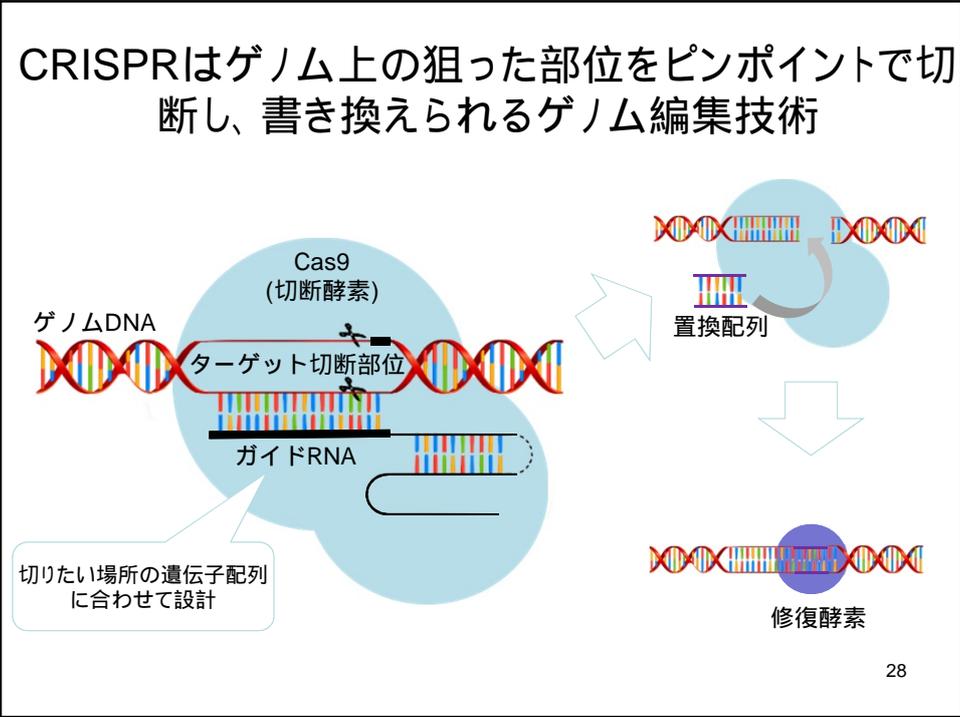
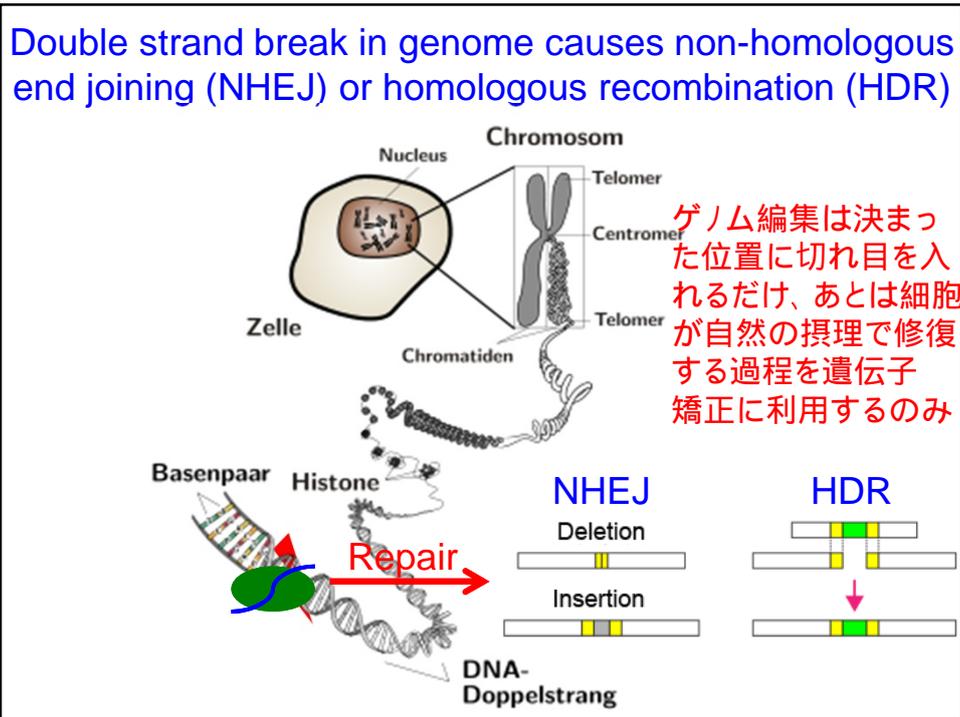
Haoyi Wang,^{1,6} Hui Yang,^{1,6} Chikdu S. Shivalila,^{1,2,6} Meelad M. Dawlaty,¹ Albert W. Cheng,^{1,3} Feng Zhang,^{4,5} and Rudolf Jaenisch^{1,3,7}



- Introduction of Cas9 and 5 sgRNAs into mouse ES cells enabled **simultaneous knock-out of 5 genes**.

- Two gene knocked-out mouse was generated by Cas9.

Wang *et al. Cell* 2013



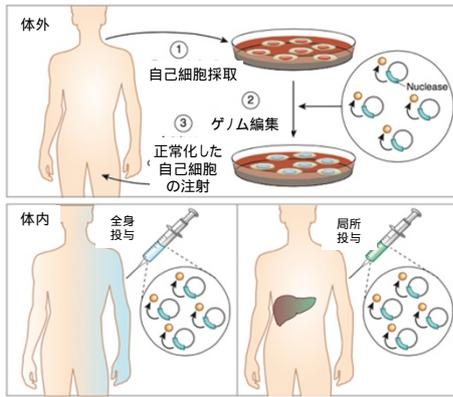
CRISPR(ゲノム編集)は遺伝子治療法開発に ブレークスルーをもたらす強力な技術

- 体外に細胞を取り出して編集する方法と体内で編集する方法がある



- 短時間かつ効率のよい設計と導入が可能になる
- 痕跡のないクリーンな方法によって遺伝子を修復できる
- 自己の細胞を編集するので探すのが大変な移植ドナーが不要

体外および体内でのゲノム編集医療



29

Question

How does Cas9–sgRNA recognize and cleave DNA targets?