

第 51 回

摂大農学セミナー



主催：摂南大学農学部先端アグリ研究所

連絡先：摂南大学農学部事務室

SETSUNAN.Obu@joshu.ac.jp

072-896-6000

摂南大学農学部の研究成果を広く知ってもらい、産官学の連携を推進するために**摂大農学セミナー**を開催します。無料・一般公開のセミナーとして、毎月開催しております。本セミナーは摂南大学農学部を会場にした公開セミナー、またはオンラインによるライブ配信で開催いたします。開催方法は、セミナーごとにお知らせします。多くの方のご参加をお待ちしております。

【開催日時】 2024年1月18日（木）15:00～16:30

【開催方法】 無料・一般公開

【視聴方法】 対面/**Zoom**によるハイブリッド配信

【発信会場】 8号館 8303 教室

【プログラム】

15:00 ～

CRISPR：発見、機能解明、そしてゲノム編集技術へ

九州大学名誉教授 石野 良純 氏

（立命館大学客員教授、長浜バイオ大学教授、東京工業大学特定教授）

オンラインセミナー参加方法

- ・オンラインのライブ配信（Zoom）で開催します。
- ・次のHP よりお申し込みください。
<https://forms.office.com/r/KLKRupjwUq>
- ・メールでの参加申し込みも受け付けます。
- ・お申し込み後、視聴方法についてメールでご連絡いたします。
- ・詳しくは摂南大学農学部 HP(<https://www.setsunan.ac.jp/agri/>)をご覧ください。



CRISPR : 発見、機能解明、そしてゲノム編集技術へ

九州大学名誉教授 石野良純

【講演要旨】

ゲノム上の特定部位を狙って人工的に二本鎖 DNA 切断を起こすことができれば、生きた細胞が自らそれを修復する際に、切断された遺伝子に高効率で変異が入ることを利用して、遺伝子改変を行うことができる。CRISPR-Cas9 はそのための技術開発に利用された原核生物の獲得免疫系であり、これによって実用的なゲノム編集が提供された。演者は、1980 年代に遺伝子組換え技術を利用しながら、大腸菌のリン酸代謝酵素の研究を行っていた中で、CRISPR を発見して 1987 に論文発表をした(1)。それは、アルカリホスファターゼの構造変換を行う酵素遺伝子を解析する過程で、29 塩基を一単位とする保存された配列が等間隔をおいて何度も繰り返す奇妙な DNA 塩基配列であった。繰り返し単位の中には当時の DNA 配列解析技術では正確に解読するのが困難なパリンドローム構造を取りうる二回対称配列が含まれていた。1980 年代にはこのような特徴を持つ塩基配列は前例も無く、生物学的意味がまったく予想もできなかった。1990 年代半ばからゲノム解析時代に入り、次々に生物のゲノム配列情報が解読されるようになると、同じような特徴を持つ繰り返し配列が他のバクテリアやアーキアからも見つかり、この配列は 2002 年にクリスパー (CRISPR ; Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat) と名付けられた(2)。また、CRISPR の近傍には保存された遺伝子群があることが指摘され、*cas* (CRISPR-associated) 遺伝子と名付けられた(2)。

CRISPR 領域の配列と相同な配列がデータベース上で検索し続けられた結果、繰り返し配列間のスペーサー領域にウイルスやプラスミドなど外来遺伝子と相同な配列が含まれているものが見つかり、その機能解明のヒントが得られた(3)。CRISPR が細胞に侵入してきた外来遺伝子から身を守る生体防御機能と関係しているのではないかと想像され、CRISPR は原核生物型の RNAi システムであることが提唱された(4)。まもなく、乳酸菌とそれに感染するファージを使って、CRISPR にファージ DNA 断片が挿入されると、その宿主菌はファージからの感染を免れるということが実験的に証明された(5)。

化膿性レンサ球菌の CRISPR-Cas9 で、その作用機構の解明を目指していた研究者が、スペーサー領域から転写されてできるクリスパーRNA (crRNA) が DNA を切断するヌクレアーゼ活性を有する Cas9 と複合体を形成し、crRNA と同じ DNA 配列の部位へ Cas9 を誘導して、そこで二本鎖 DNA を切断する分子機構を解明した(6)。その結果、CRISPR のスペーサー部分に任意の標的 DNA 配列を挿入することによって、その標的配列を特異的に切断できる CRISPR-Cas9 の機能を利用すれば有用なゲノム編集技術に繋がると提唱された(6)。これが 2020 年のノーベル化学賞の授賞対象となった。提唱から数ヶ月後には、CRISPR-Cas9 を利用したヒト細胞でのゲノム編集の成功例が報告された(7,8)。

CRISPR-Cas9 は、標的配列を特異的に切断するゲノム編集ばかりではなく、特定のタンパク質をゲノム上の標的配列に誘導できる機能を種々工夫することによって、多くの有用な分子生物学ツールが開発されている。またバクテリア、アーキアに広く存在する CRISPR-Cas 系は顕著に多様性に富んでおり、性質の異なるものが次々発見されており、新たな CRISPR-Cas は新たな応用技術を生み出している。CRISPR の分子生物学は、基礎と応用の両面から多くのポテンシャルを含む研究領域であるといえる(9, 10)。

【文献】

1. Ishino Y, et al., Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol*, 169, 5429-5433 (1987).
2. Jansen R, et al., Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Mol Microbiol*, 43, 1565-1575 (2002).
3. Mojica FJM. et al., Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J Mol Evol*, 60, 174-182 (2005).
4. Makarova KS, et al., A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action. *Biol Direct*, 1, 7 (2006).
5. Barrangou R, et al., CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 315, 1709-1712 (2007).
6. Jinek M, et al., A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*, 337, 816-821 (2012).
7. Cong L, et al., Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 339, 819-823 (2013).
8. Mali P, et al., RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 339, 823-826 (2013).
9. Ishino Y, et al., History of CRISPR-Cas from encounter with a mysterious repeated sequence to genome editing technology. *J Bacteriol*, 200. 10.1128/jb.00580-17 (2018).
10. 石野良純 CRISPR/Cas 9 を利用したゲノム編集の原理とアレルギー疾患への応用 *アレルギー*, 72, 343-352 (2023).