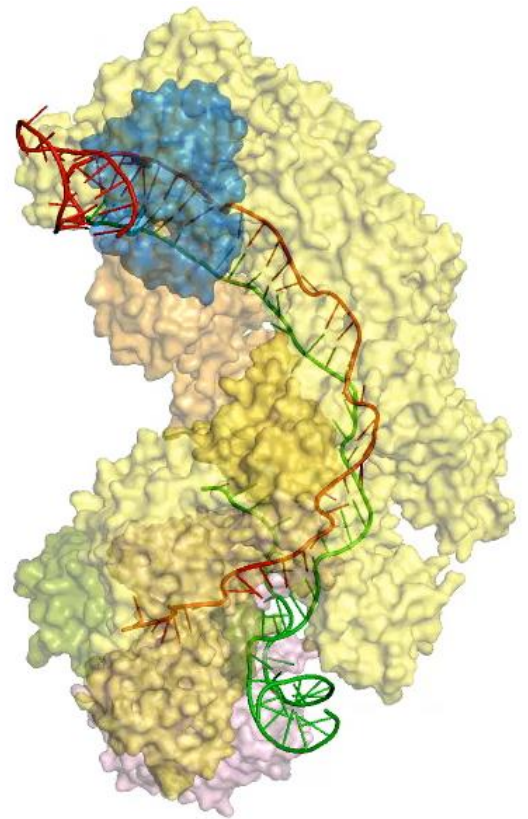
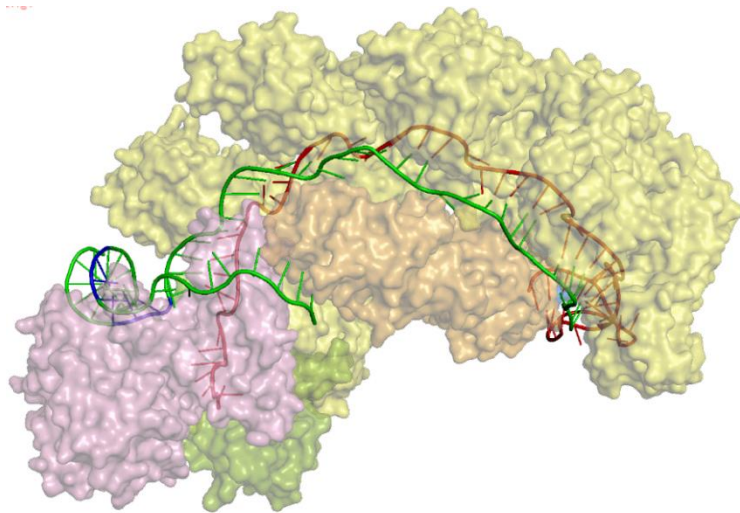


ゲノム編集がもたらす 革新と更なる展望



コーディネーター

広島大学大学院統合生命科学研究科

広島大学ゲノム編集イノベーションセンター

教授/センター長 山本 卓

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 幹細胞遺伝学分野

教授 遊佐 宏介

日 時: 2020年11月10日(水) 10:30~16:00

開 催: WEB 開催

主 催: 公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

** 表紙の写真 *****

Type I-E CRISPR に属する大腸菌由来 Cascade の結晶構造。crRNA (赤線) が標的 DNA 配列 (緑線) を認識して結合している。

青線 : PAM 配列、黄緑 : Cas5、青 : Cas6、黄 : Cas7、ピンク : Cas8、オレンジ : Cas11

(真下 知士先生ご提供)

プログラム

10:35～10:50

はじめに 広島大学大学院統合生命科学研究科/広島大学ゲノム編集イノベーションセンター
教授/センター長 山本 卓…………… 1

~~~~~ 座長：遊佐 宏介 ~~~~~

10:50～11:30

**演題 1.** 「ゲノム編集の基本原理と基盤技術開発」

広島大学大学院統合生命科学研究科/広島大学ゲノム編集イノベーションセンター  
教授/センター長 山本 卓…………… 3

11:30～12:10

**演題 2.** 「CRISPR-Cas3 がもたらす新たなゲノム編集基盤技術」

東京大学 医科学研究所 実験動物研究施設先進動物ゲノム研究分野  
教授/施設長 真下 知士…………… 7

12:10～13:00

……昼 食 休 憩……

13:00～13:40

**演題 3.** 「CRISPR-Cas タンパク質の分子機構と立体構造に基づく理論的な新規ゲノム編集ツールの開発」

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 生物化学科 教授 濡木 理…………… 9

~~~~~ 座長：山本 卓 ~~~~~

13:40～14:20

演題 4. 「一塩基編集技術の開発と応用展開」

神戸大学先端バイオ工学研究センター/神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科
副センター長/教授 西田 敬二…………… 13

14:20～14:30

……休 憩……

14:30～15:10

演題 5. 「CRISPR-KO スクリーニングの開発と創薬研究への応用」

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所幹細胞遺伝学分野 教授 遊佐 宏介…………… 15

15:10～15:50

演題 6. 「世界を先導するゲノム編集作物の社会実装」

筑波大学 ・生命環境系つくば機能植物イノベーション研究センター
教授/センター長 江面 浩…………… 19

15:50～16:00

おわりに 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所幹細胞遺伝学分野 教授 遊佐 宏介 …… 25

※記載の時間は質疑応答を含みます。ご注意ください。

はじめに

広島大学大学院統合生命科学研究科

広島大学ゲノム編集イノベーションセンター

教授/センター長 山本 卓

ゲノム編集は、人工の DNA 切断酵素を用いて、ゲノム中の狙った配列を任意に書き換える新しいバイオテクノロジーである。ゲノム編集の基本的概念が考え出されたのは 1990 年代にまで遡る。長い技術開発の期間を経て 2005 年ごろに Zinc Finger Nuclease (ZFN) が確立し、ゲノム編集時代の幕開けを迎えた。その後、2009 年 Transcription activator-like effector nuclease (TALEN)、2012 年 CRISPR-Cas9 へとツールそのものも変貌を遂げ、発展を遂げている。特に CRISPR はその編集効率や汎用性の高さから、様々な生物種へ応用され、ゲノム編集が今日の生物学研究には欠かせない実験手法となった。また、ここ数年で CRISPR を用いたゲノム編集の産業への応用も急速に進んでいる。現在、すでに複数の臨床試験が行われ、またゲノム編集によって作出された農作物の社会実装も進められている。一方、CRISPR-Cas9 の発見に端を発し、細菌が持つ CRISPR のさらなる理解が進められており、新たなゲノム編集技術の開発へとつながっている。今回のセミナーでは、目覚ましいスピードで発展を遂げるゲノム編集において活躍する研究者が集まり、現状そして今後の展望に関して討議する。

[Memo]

演題1. 「ゲノム編集の基本原則と基盤技術開発」

広島大学大学院統合生命科学研究科

広島大学ゲノム編集イノベーションセンター

教授/センター長 山本 卓

略 歴 :

1989年 広島大学理学部生物学科卒業

1992年 広島大学大学院理学研究科動物学専攻博士課程後期中退

1992年 熊本大学理学部助手

2002年 広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻講師

2003年 広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻助教授

2004年 広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻教授

2019年 広島大学ゲノム編集イノベーションセンター長

2019年 広島大学大学院統合生命科学研究科教授

学 位 : 博士 (理学) 広島大学 1996年

所 属 学 会 : 日本ゲノム編集学会 (会長)、日本分子生物学会 (理事)、日本
発生生物学会

専 門 分 野 : ゲノム生物学、発生生物学

公職・その他 : 「ゲノム編集とはなにか」 (山本卓著、講談社ブルーバックス)

「ゲノム編集の基本原則と応用」 (山本卓著、裳華房)

「ゲノム編集入門」 (山本卓編著、裳華房)

要 旨

近年、目的の遺伝子を自在に改変する技術として、人工 DNA 切断酵素を基盤としたゲノム編集 (Genome Editing) が注目されている(山本, 2020)。ゲノム編集は、DNA の 2 本鎖切断(DSB)の修復過程を利用して遺伝子を改変する技術で、これまで改変が難しかった微生物や動物、植物においても遺伝子への変異導入 (ノックアウト) や外来遺伝子の挿入 (ノックイン) が可能である。人工 DNA 切断酵素としては、ZFN や TALEN に加えて、2012 年に CRISPR-Cas9 システムが発表され、その簡便かつ効率の高さに多くの研究者が驚かされた。CRISPR-Cas9 は細菌の獲得免疫システムを利用した方法で、短鎖の RNA(ガイド RNA)が標的配列に結合し、ガイド RNA と複合体を作る Cas9 ヌクレアーゼが DNA を切断する。ZFN や TALEN に比べて CRISPR-Cas9 の設計と作製は非常に簡単で、同時に複数の遺伝子改変も可能である。実際、この 8 年の間で CRISPR-Cas9 は誰もが使えるゲノム編集ツールとなり、ライフサイエンス研究の進め方を大きく変えている。

我々のグループでは、およそ 10 年前から第一世代の人工 DNA 切断酵素である ZFN の作製に取り組み、ZFN を用いた動物胚での遺伝子発現の可視化法の開発を行ってきた (Ochiai *et al.*, 2012)。2012 年から、高活性型の TALEN (Platinum TALEN) を開発し、微生物や様々な動植物、培養細胞での遺伝子破壊や遺伝子ノックインを報告してきた。最近では、CRISPR-Cas9 システムとマイクロホモロジー媒介末端結合(MMEJ)経路を利用した新規の遺伝子ノックイン法(PITCh 法)の開発 (Sakuma *et al.*, 2016)および MMEJ 経路のエフェクターを集積する LoAD システム(Nakade *et al.*, 2018)によって培養細胞において複数の遺伝子座に同時に遺伝子を挿入すること、エフェクター集積による効率的な転写活性化システムとして TREE を開発してきた(Kunii *et al.*, 2018)。さらに、MMEJ ノックインの傾向を明らかにするための NGS 解析パイプラインとして“MMEJ-assisted chromosomal integration analysis tools (MaChIAto)”を開発した。MaChIAto は、既存の変異解析汎用ツール CRISPResso と連携してより包括的な変異解析および数百種にわたる特徴解析を可能とした。

本講演では、ゲノム編集の基本原則と技術開発の動向について紹介し、ゲノム編集技術の様々な分野での基礎研究と応用研究 (バイオ燃料開発や品種改良、創薬や遺伝子治療) での可能性について議論する。

参考文献

1. 山本 卓. ゲノム編集とはなにか, 講談社ブルーバックス(2020).
2. Ochiai, H. *et al.* Zinc-finger nuclease-mediated targeted insertion of reporter genes for quantitative imaging of gene expression in sea urchin embryos. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 10915-10920 (2012).
3. Sakuma, T. *et al.* Microhomology-assisted gene knock-in using TALENs and CRISPR-Cas9 with PITCh systems. *Nat. Protoc.* **11**, 118-133(2016).
4. Kunii A. *et al.* Three-component repurposed technology for enhanced expression: highly accumulable transcriptional activators via branched tag arrays. *CRISPR J.* 1(5):337-347

- (2018).
5. Nakade, S. *et al.* Biased genome editing using the local accumulation of DSB repair molecules system. *Nat. Commun.* **9**, 3270 (2018).

[Memo]

演題2. 「CRISPR-Cas3 がもたらす新たなゲノム編集基盤技術」

東京大学 医科学研究所 実験動物研究施設先進動物ゲノム研究分野
教授/施設長 真下 知士

略 歴 :

1994年3月 京都大学農学部畜産学卒業
1995年4月 京都大学大学院人間・環境学研究科 修士/博士課程
2000年4月 フランス・パスツール研究所免疫学講座 ポスドク研究員
2003年11月 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 COE 助教授
2007年5月 京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設 特任准教授
2015年4月 大阪大学大学院医学系研究科附属動物実験施設 准教授
2019年6月 東京大学医科学研究所附属実験動物研究施設 施設長 教授
同 研究所附属奄美病害動物研究施設 施設長

学 位 : 博士 (人間環境学) 京都大学 2000年

所 属 学 会 : 一般社団法人日本ゲノム編集学会 : 副会長、
公益社団法人日本実験動物学会 : 常務理事
高血圧関連疾患モデル学会 : 評議員、
SHR 等疾患モデル共同研究会 : 理事

専 門 分 野 : ゲノム編集学、実験動物学、遺伝学、バイオリソース

受 賞 歴 :

財団法人成人血管病研究振興財団 岡本研究奨励賞
社団法人日本実験動物学会賞奨励賞

公職・その他 : 自治医科大学客員教授

要 旨

ゲノム編集はバイオサイエンスや医薬開発研究の‘革命’的技術である。ゲノム編集ツールの開発、エピゲノム編集、遺伝子転写調節、細胞スクリーニングなどに、次々と研究開発利用がなされている。大学、研究機関や製薬企業、ベンチャーによる、ゲノム編集を使った遺伝子治療、細胞治療、創薬の開発競争が激しくなっている。一方で、ゲノム編集に関する規制やガバナンス、リスクマネジメントなども重要な検討課題である。本シンポジウムでは、我々が最近開発した日本発の新規ゲノム編集ツール CRISPR-Cas3 について紹介する。また、CRISPR-Cas3 を使った新型コロナウイルスの迅速診断法 CONAN についても紹介したい。CRISPR-Cas3 は、生命科学分野の基盤技術になり得る成果として、農水産業における品種改良、遺伝子治療、再生医療での新規治療法開発など、幅広い産業分野における活用が期待されている。

参考文献

1. Rapid and accurate detection of novel coronavirus SARS-CoV-2 using CRISPR-Cas3. Yoshimi K, Takeshita K, Yamayoshi S, Shibumura S, Yamauchi Y, Yamamoto M, Yotsuyanagi H, Kawaoka Y, Mashimo T. *medRxiv* 2020.06.02.20119875; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.02.20119875>
2. CRISPR-Cas3 induces broad and unidirectional genome editing in human cells. Morisaka H, Yoshimi K, Okuzaki Y, Gee P, Kunihiro Y, Sonpho E, Xu H, Sasakawa N, Naito Y, Nakada S, Yamamoto T, Sano S, Hotta A, Takeda J, Mashimo T. *Nat Commun.* 2019 Dec 6;10(1):5302.
3. Combi-CRISPR: combination of NHEJ and HDR provides efficient and precise plasmid-based knock-ins in mice and rats. Yoshimi K, Oka Y, Miyasaka Y, Kotani Y, Yasumura M, Uno Y, Hattori K, Tanigawa A, Sato M, Oya M, Nakamura K, Matsushita N, Kobayashi K, Mashimo T. *Hum Genet.* 2020 Jul 2.
4. ssODN-mediated knock-in with CRISPR-Cas for large genomic regions in zygotes. Yoshimi K, Kunihiro Y, Kaneko T, Nagahora H, Voigt B, Mashimo T. *Nat Commun.* 2016 Jan 20;7:10431.

演題2. 「CRISPR-Cas タンパク質の分子機構と立体構造に基づく理論的な新規ゲノム編集ツールの開発」

東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 生物化学科
教授 濡木 理

略 歴 :

- 1984年3月 私立武蔵高校卒業
- 1984年4月 東京大学教養学部理科II類入学
- 1988年3月 東京大学理学部生物化学科卒業
- 1990年3月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻修士課程修了
- 1990年～1991年 フランス ルイ・パスツール大学 HFSP 研究員
- 1992年4月 日本学術振興会特別研究員 DC2
- 1993年3月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻博士課程修了
- 1993年4月 日本学術振興会特別研究員 PD (蛋白質工学研究所)
- 1994年4月 理化学研究所基礎科学特別研究員
- 1995年3月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 助手
- 2002年4月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 助教授
- 2003年5月 東京工業大学大学院生命理工学研究科生命情報専攻 教授
- 2008年4月 東京大学医科学研究所基礎医科学部門 教授
- 2010年4月 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 教授
- 2014年4月 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻 教授

学 位 : 博士 (理学) 東京大学 1993 年

所 属 学 会 : ゲノム編集学会、蛋白質科学会、分子生物学会、日本結晶学会

専 門 分 野 : 構造生命科学 (X線結晶構造解析、クライオ電子顕微鏡解析)、
膜チャネル、トランスポーター、GPCR、非翻訳 RNA、ゲノム編集

受賞歴：

- 1999年 日本結晶学会進歩賞 受賞
「アミノアシル tRNA 合成酵素の X 線結晶構造解析」
- 2005年 手島工業教育資金団手島記念研究賞 受賞
「鋳型非異存的 RNA 重合反応の構造基盤」
- 2007年 手島工業教育資金団手島記念研究賞 受賞
「Snapshot of tRNA sulphuration via an adenylated intermediate」
- 2007年 文部科学大臣表彰科学技術賞（研究部門） 受賞
「高精度な化学反応を触媒する酵素の反応機構の研究」
- 2008年 日本学術振興会賞 受賞
「遺伝暗号翻訳の動的機構の構造基盤」
- 2009年 21年度持田記念学術賞 受賞
「遺伝暗号翻訳と生体恒常性に働く多機能タンパク質の分子機構の解明」
- 2010年 第18回木原記念財団学術賞 受賞
「遺伝暗号翻訳とタンパク質合成のメカニズムの構造基盤」
- 2011年 第27回井上学術賞 受賞
「遺伝暗号翻訳とタンパク質合成のメカニズムの解明」
- 2011年 平成23年度日本結晶学会学術賞 受賞
「遺伝暗号の翻訳とタンパク質合成機構の構造基盤の解明」
- 2014年 2013年度上原賞 受賞
「細胞膜輸送の分子機構の解明」
- 2014年 2014年度武田医学賞 受賞
「細胞膜を介した物質輸送の分子機構の研究」
- 2018年 文部科学大臣表彰科学技術賞（研究部門） 受賞
「ゲノム編集ツール CRISPR-Cas の研究」
- 2018年 春の紫綬褒章
「構造生物学」

公職・その他： (株) モダリス 創業者・社外取締役
キュライオ 創業者・社外取締役

要 旨

近年 CRISPR-Cas を用いたゲノム編集による遺伝子治療が脚光を浴びているが、CRISPR-Cas には、1. 分子量が大きくウイルスベクターに載せることが困難で細胞導入効率が低い、2. CRISPR-Cas は標的配列の下流にある 2~7 塩基からなる PAM 配列を（バクテリアが自己と非自己を識別するために）厳密に認識しており、Cas をゲノム編集に用いる適用制限となっている、3. 非特異的切断による Off target の問題など、現時点では医療応用に用いることは事実上不可能である。我々は、5 生物の Cas9 と 4 生物種の Cas12 に関して、ガイド RNA、ターゲット DNA との複合体の構造解析に成功している。さらに、立体構造に基づき、小型で単純化した PAM 配列を認識する変異体の創出にも成功した。今後改良型 CRISPR-Cas を用いて、さらなる遺伝子治療への応用を試みて行く。

参考文献

1. “Crystal Structure of Cas9 in Complex with Guide RNA and Target DNA” H. Nishimasu, F. A. Ran, P. D. Hsu, S. Konermann, S. I. Shehata, N. Dohmae, R. Ishitani, F. Zhang F and O. Nureki. *Cell* **156**, 935-949 (2014). doi: 10.1016/j.cell.2014.02.001.
2. “Crystal structure of *Staphylococcus aureus* Cas9” H. Nishimasu, L. Cong, W. X. Yan, F. A. Ran, B. Zetsche, Y. Li, A. Kurabayashi, R. Ishitani, F. Zhang and O. Nureki *Cell* **162**, 1113-1126 (2015). doi: 10.1016/j.cell.2015.08.007.
3. “Structure and Engineering of *Francisella novicida* Cas9” H. Hirano, J. S. Gootenberg, T. Horii, O. O. Abudayyeh, M. Kimura, P. D. Hsu, T. Nakane, R. Ishitani, I. Hatada, F. Zhang, H. Nishimasu and O. Nureki. *Cell* **164**, 950-961 (2016) doi: 10.1016/j.cell.
4. “Structural basis for the altered Pam specificities of engineered CRISPR-Cas9” S. Hirano, H. Nishimasu, R. Ishitani and O. Nureki. *Mol. Cell* **61**, 886-894 (2016) doi 10.1016/j.molcel.2016.02.018.
5. “Crystal structure of Cpf1 in complex with guide RNA and target DNA” T. Yamano, H. Nishimasu, B. Zetsche, H. Hirano, I. M. Slaymaker, Y Li, I. Fedorova, T. Nakane, K. S. Makarova, E. V. Koonin, R. Ishitani, F. Zhang and O. Nureki. *Cell* **165**, 949-962 (2016) doi: 10.1016/j.cell.2016.04.003.
6. “Crystal Structure of the Minimal Cas9 from *Campylobacter jejuni* Reveals the Molecular Diversity in the CRISPR-Cas9 Systems” M. Yamada, Y. Watanabe, J. S. Gootenberg, H. Hirano, F. A. Ran, T. Nakane, R. Ishitani, F. Zhang, H. Nishimasu and O. Nureki. *Mol. Cell.* **65**, 1109-1121 (2017).
7. “Real-space and real-time dynamics of CRISPR-Cas9 visualized by high-speed atomic force microscopy” M. Shibata, H. Nishimasu, N. Kodera, S. Hirano, T. Ando, T. Uchihashi and O. Nureki *Nat. Commun.* **8**, 1430 (2017).
8. “Engineered CRISPR-Cas9 nuclease with expanded targeting space” H. Nishimasu, X. Shi, S. Ishiguro, L. Gao, S. Hirano, S. Okazaki, T. Noda, O. O. Abudayyeh, J. S. Gootenberg, H. Mori, S. Oura, B. Holmes, M. Tanaka, M. Seki, H. Hirano, H. Aburatani, R. Ishitani, M. Ikawa, N. Yachie, F. Zhang and O. Nureki *Science* **361**, 1259-1262 (2018).

[Memo]

演題4. 「一塩基編集技術の開発と応用展開」

神戸大学先端バイオ工学研究センター

神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科

副センター長/教授 西田 敬二

略歴：

- 2001年3月 東京大学.理学部生物科学科 卒業
- 2003年3月 東京大学大学院理学系研究科修士課程生物科学専攻 修了
- 2003年4月 日本学術振興会特別研究員(DC1)
- 2006年3月 東京大学大学院理学系研究科博士課程生物科学専攻 修了
- 2006年4月 立教大学理学部博士研究員 (黒岩常祥研究室)
- 2006年4月 日本学術振興会特別研究員(PD)
- 2008年4月 ハーバード大学医学部博士研究員 (Pamela Silver 研究室)
- 2009年4月 日本学術振興会海外特別研究員
- 2013年6月 神戸大学 自然科学系先端融合研究環 特命准教授
- 2016年4月 神戸大学大学院 科学技術イノベーション研究科 特命准教授
- 2016年11月 神戸大学大学院 科学技術イノベーション研究科 教授
- 2018年7月 神戸大学先端バイオ工学研究センター 主配置
科学技術イノベーション研究科 兼任

学 位： 博士（理学）東京大学 2006年

所 属 学 会： 日本分子生物学会、日本生物工学会

専 門 分 野： ゲノム編集、合成生物学

受 賞 歴：

- 2005年 日本植物形態学会奨励賞
- 2007年 日本植物学会若手奨励賞
- 2016年 International Botanical Congress Excellent Scholar Award
- 2017年 文部科学省 科学技術への顕著な貢献 2017
- 2018年 井植文化賞 科学技術部門

要 旨

一般的に ZFN, TALEN, CRISPR などのヌクレアーゼ型ゲノム編集技術は、標的配列特異的な DNA 切断を前提としており、DNA 二重鎖切断を引き起こした後に宿主細胞が修復する過程で配列の変換を期待するものである。強力に作用させることができる一方、技術的課題として、改変結果が不確定であること、また細胞種によって毒性の高さが問題となる場合があった。

このような課題を克服できる技術として、DNA 塩基の変換反応を利用する塩基編集 (Base editing) が開発された。これは CRISPR のヌクレアーゼ活性を失活させたうえで、脱アミノ化反応などを触媒する酵素部位を付与することにより、標的配列特異的な塩基変換反応を誘発するものである。これによって直接的に点変異を導入することが可能になり、これまで DNA 切断に関わる不確実性や毒性を回避すること、またドナー核酸を利用せずに精密な配列改変が可能となるため、遺伝子治療から植物育種までの幅広い応用分野での応用が急速に進められている。また変換できる塩基のパターンや、標的とできる領域の幅などについての制約を克服すべく、世界的に技術開発競争が加速している状況である。本講演では私たちが開発した塩基変換技術である Target-AID を中心として、その開発の過程や動作原理を解説しつつ、直近の技術進歩や派生技術、また様々な応用展開とその可能性について議論したい。

演題5. 「CRISPR-KO スクリーニングの開発と創薬 研究への応用」

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所幹細胞遺伝学分野
教授 遊佐 宏介

略 歴：

- 1995年4月 大阪大学工学部応用自然科学科応用生物学コース
- 1999年3月 大阪大学工学部応用自然科学科応用生物学コース 卒業
- 1999年4月 東京大学大学院農学生命科学研究科生産環境生物学専攻修士課程
- 2001年3月 東京大学大学院農学生命科学研究科生産環境生物学専攻修士課程
修了
- 2001年4月 大阪大学大学院医学系研究科社会医学専攻博士課程
- 2005年3月 大阪大学大学院医学系研究科社会医学専攻博士課程 修了
- 2005年4月 日本学術振興会特別研究員
- 2008年4月 日本学術振興会海外研究員
- 2007年10月 英国ウエルカム・サンガー研究所ポストドクター研究員
- 2012年10月 英国ウエルカム・サンガー研究所グループリーダー
- 2018年10月 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授

学 位： 博士（医学） 大阪大学 2005年

所 属 学 会： 日本ゲノム編集学会、日本癌学会、日本がん分子標的治療学会

専 門 分 野： 分子生物学、遺伝学

要 旨

細菌の獲得免疫機構である CRISPR-Cas システムのゲノム編集技術への応用は遺伝学的研究手法に大きな変革をもたらした。その高い DNA 切断効率と汎用性の広さにより非モデル動物を含む多くの生物においてゲノム改変に用いられている。我々の研究室では、哺乳類細胞における順遺伝学的手法を用いた網羅的遺伝子探索法の開発に特に注力してきた。そして、2014 年に CRISPR-Cas9 システムを応用した遺伝子探索法 CRISPR-KO スクリーニング法を開発した (1)。さらに改良版ライブラリーを作製することで、正の選択、負の選択の両方において効率的な遺伝子探索を可能とした (2, 3)。

我々は、この CRISPR-KO スクリーニング法を用いてがん細胞の増殖に必須な遺伝子の探索、新規創薬標的の同定を進めている。まず、急性骨髄性白血病 (AML) 5 細胞株をにおいて必須遺伝子プロファイルをとり、約 200 の創薬標的候補となりうる増殖必須遺伝子を見出した。この中には、近年同定されてきた遺伝子が複数含まれており、スクリーニング結果の有用性が示された。これまでに AML の増殖に関与が示されてなかった 3 因子 (KAT2A, SPRK1, KAT7) に関して分子機能解析を行い、これらの遺伝子産物に対する活性阻害剤で細胞増殖を抑制できることを見出した (2, 4, 5)。

続いて、多様ながん細胞の増殖必須遺伝子を明らかとするため、324 細胞株を用いた大規模 CRISPR-KO スクリーニングを実施した。結果、細胞株あたり平均約 1500 遺伝子、計 7500 遺伝子の増殖必須遺伝子を同定した。がん遺伝子変異との相関関係や増殖抑制の強さから各遺伝子を評価し、約 600 遺伝子の優先的創薬標的を見出した。この中から、マイクロサテライト不安定性の高い (MSI-H) がん細胞 (大腸ガン、卵巣癌、胃がん、子宮体がん) が、RecQ DNA ヘリケースの一つ Werner 症候群遺伝子に強く依存していることを見出した。ヘリケース活性が細胞増殖に必要であることを明らかとし、ヘリケース阻害剤が MSI-H のがんに対する新規治療薬となることが示唆された (6)。これらのデータ及び解析結果は web site を通じて配布しており、がん研究の進展に大きく貢献するものと期待される。

CRISPR-KO スクリーニングは様々な表現型に適用することが可能であり、関連遺伝子の探索、そして分子機構の解明がさらに進むと期待される。

参考文献

1. Nature Biotechnology (2014) 32:267-273
2. Cell Reports (2016) 17:1993-1205
3. Scientific Reports (2017) 7:7384

4. Nature Communications (2018) 9:5378
5. Leumekia (2020) in press
6. Nature (2019) 568:511-516

[Memo]

演題6. 「世界を先導するゲノム編集作物の

社会実装」

筑波大学 ・ 生命環境系

つくば機能植物イノベーション研究センター

教授/センター長 江面 浩

略 歴 :

- 1982年 筑波大学第二学群生物学類卒業
- 1986年 筑波大学大学院博士課程生物科学研究科中退
- 1986年 茨城県園芸試験場・技師
- 1992年 茨城県農業総合センター生物工学研究所・技師
- 1994年 イギリス・John Innes Centre 分子遺伝部客員研究員
- 1997年 茨城県農業総合センター生物工学研究所・主任研究員
- 2000年 筑波大学農林学系・遺伝子実験センター・助教授
- 2005年 筑波大学大学院生命環境科学研究科・遺伝子実験センター・教授
- 2008年 筑波大学遺伝子実験センター・センター長
- 2014年 筑波大学大学院生命環境科学研究科・研究科長
- 2017年 筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター・センター長

学位： 博士（農学）北海道大学 1993年

所属学会： 日本育種学会、日本植物バイオテクノロジー学会、日本植物生理学会、園芸学会、国際園芸学会、植物化学調節物質学会

専門分野： 植物分子育種学、園芸学、植物ゲノム科学、植物バイオテクノロジー

受賞歴 :

- 1998年度 第16回国際植物化学調節物質学会ポスター賞
- 1999年度 農業技術協会川島賞優秀論文賞
- 2000年度 日本植物細胞分子生物学会奨励賞
- 2004年度 日本植物細胞分子生物学会技術賞
- 2011年度 (財)日本発明協会全国発明賞 21世紀発明奨励賞
- 2014年度 日本植物細胞分子生物学会学術賞
- 2020年度 日本植物細胞分子生物学会技術賞

公職 :

日本学術会議連携会員、日本植物細胞分子生物学会会長、科学技術振興機構・研究開発戦略センター・特任フェロー、知財高等裁判所専門委員、農学アカデミー会員、日本学術振興会産学連携研究委員会第178委員会委員長

Plant Physiology and Biochemistry 誌 Review Editor, Frontiers in Plant Science 誌

Guest Editor, *Frontiers in Genome Editing* 誌 Associate Editor, *Plant Cell Reports* 誌
Associate Editor, *PLOS ONE* 誌 Associate Editor, *Plant Stress* 誌 Editorial Board,
Scientia Horticulture 誌 Editorial Board, *Breeding Science* 誌 Editor

要 旨

生物の遺伝子機能を精密かつ効率的に調節できるゲノム編集技術が登場し、ライフサイエンス分野での利用が加速している。今後、作物の品種改良技術としても利用拡大すると予想される。我が国では、ゲノム編集作物の商業利用のための法整備も完了し、世界に先駆けてその社会実装が始まろうとしている。本講演では、演者が取り組んでいるトマトを事例に、ゲノム編集技術を活用した品種改良と社会実装に向けた取り組みを紹介する。

我々の研究チームでは、食事を通じた健康維持を目指し、ゲノム編集技術を活用し、健康機能性成分として近年注目度がアップしている γ -アミノ酪酸

(GABA)を高蓄積するトマト(高GABAトマト)の開発に取り組んでいる。現在、大学発VCが社会実装の手続きを進めており、世界初の直接食べるゲノム編集作物として内外の注目を集めている。

我が国では、超少子高齢化が急速に進展し、様々な社会的課題が顕在化している。生活習慣病の増加はその一例である。そのため日頃の食を通じた健康維持が重要なテーマになっており、その対策の一つとして我々は高GABA作物開発に取り組んでいる。GABAは全ての作物に含まれており、健康機能性成分として注目されている。GABAは、血圧上昇抑制効果やストレス緩和効果が報告されている。高血圧症は生活習慣病の一つで、世界で10億人が患者であるとされ、食を通して十分量のGABAが摂取できれば、高血圧症の対策になると期待される。

トマトは作物の中でもGABAを多く含む品目であるが、現在の含有量では血圧上昇抑制効果を期待するには十分ではない。我々の研究成果によりトマト果実でGABAが蓄積する仕組みは良く理解されている。トマト果実では、GABA合成酵素(GAD)がGABA蓄積の鍵酵素になっていること、GABA合成酵素に突然変異を導入すると酵素活性が高まり、GABAが高蓄積することが証明されている。CRISPR/Cas9技術を使ってGADに変異を導入したところ、元の品種よりも4倍から5倍のGABAを果実に蓄積することができた。ミニトマトであれば、2-3粒食べれば健康機能性効果が期待できる量である(図1)。

何故ゲノム編集技術を使用したのか?従来の品種改良でも突然変異を利用は一般的である。従来法では化学薬剤や放射線などで突然変異を誘発する。これらの方法ではゲノム中にランダムに変異が導入されるので、大量に作成した突然変異体集団の中から目的の遺伝子に変異が入った個体を選抜する必要があり、そのために膨大な労力と時間が必要となる。一方、ゲノム編集技術では狙った遺伝子に変異を迅速に導入できるので、労力や時間の大幅な短縮が可能になる。

高 GABA トマトの社会実装には4つの課題がある。1つ目は、ゲノム編集作物の取り扱いルールの明確化である。我が国では2019年末にルールが明確化された。一般栽培するにはGM作物でないことを農林水産省、食品として利用するには厚生労働省に届出をすることで可能となった。表示についても開発者の任意表示となった。2つ目は、機能性を科学的エビデンスで強化する必要がある。GABAのヒトへの機能性については多くのエビデンスがあり、様々な機能性食品で利用されていることから、消費者の理解度は高いと期待される。3つ目は、ゲノム編集技術に関わる知財の取り扱いである。ゲノム編集の基盤技術は複数あるが、本開発で使用したCRISPR/Cas9については米国・Corteva社がone stop化し、ライセンス可能となっている。高GABAトマトの場合、その社会実装のために設立した大学発VCがこの特許をライセンスすることで解決済みとなっている。4つ目は、社会受容の向上が必要となる。まずは開発者が積極的に情報発信に関わることが重要である。その際、作物は突然変異を集積した植物であること、品種開発は突然変異を効果的に作物に集積する作業であること、ゲノム編集技術はそのような突然変異を日頃食べ慣れた作物に迅速に再現する技術であること、ゲノム編集作物は従来の品種改良で開発した作物と同等に安全・安心であることを伝える必要がある。今後、情報を発信を行いつつ事例を積み上げ、安全・安心を経験的に実感してもらうことが重要となる。

ゲノム編集技術は、作物の育種技術の一つであり、世界の食料事情に思いを巡らせると、持続的な食料生産基盤の構築に不可欠の技術であり、知恵を絞って使いこなして行きたい。今後、ゲノム編集技術が品種改良技術の一つとして定着することを期待する。

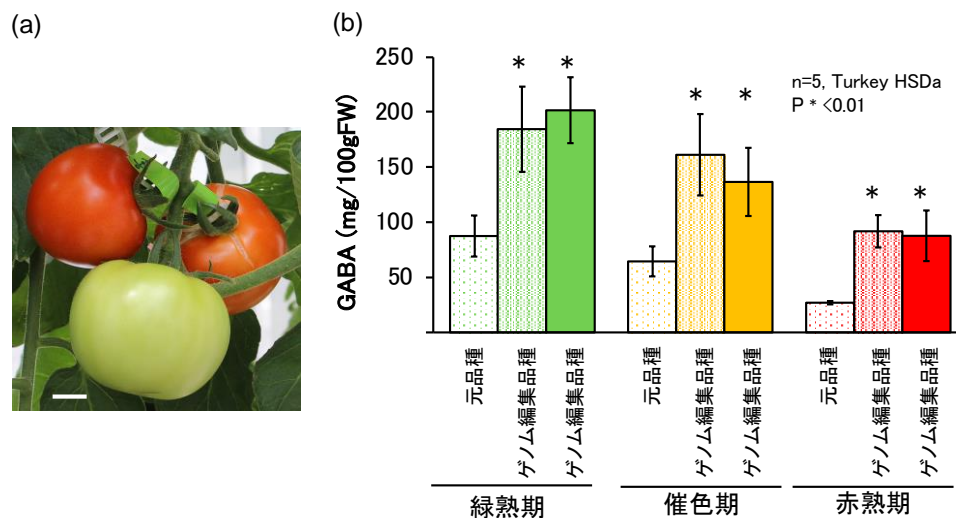


図1 (a)開発したゲノム編集トマト(実験品種)と(b)果実成熟過程におけるGABA含有量の変化、収穫時期(赤熟期)に元品種の4-5倍のGABAを含有

参考文献

1. Gramizio P, Takayama M, Ezura H (2020) Challenges and prospects of New Plant Breeding Techniques for GABA improvement in crops: tomato as an example. *Frontiers in Plant Science*. 04 September 2020, doi: 10.3389/fpls.2020.577980
2. Lee JE, Nonaka S, Takayama M, Ezura H (2018) Utilization of a genome-edited tomato (*Solanum lycopersicum*) with high gamma aminobutyric acid content in hybrid breeding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66(4):963-971.
3. Nonaka S, Arai C, Takayama M, Matsukura C, Ezura H (2017) Efficient increase of γ -aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Scientific Reports*. 7(1):7057.
4. Ueta R, Abe C, Watanabe T, Sugano S, Ishihara R, Ezura H, Osakabe Y, Osakabe K. (2017) Rapid breeding of parthenocarpic tomato plants using CRISPR/Cas9. *Scientific Reports*. 7(1):507.
5. Shimatani Z, Kashojiya S, Takayama M, Terada R, Arazoe T, Ishii H, Teramura H, Yamamoto T, Komatsu H, Miura K, Ezura H, Nishida K, Ariizumi T, Kondo A (2017) Targeted base editing in rice and tomato using a CRISPR-Cas9 cytidine deaminase fusion. *Nature Biotechnology*. 35(5):441-443.
6. Takayama M, Matsukura C, Ariizumi T, Ezura H. (2017) Activating glutamate decarboxylase activity by removing the autoinhibitory domain leads to hyper γ -aminobutyric acid (GABA) accumulation in tomato fruit. *Plant Cell Reports*. 36: 103-116.

[Memo]

おわりに

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所幹細胞遺伝学分野
教授 遊佐 宏介

[Memo]

- ◇ 著作権法に基づき、講演の映像・音声、ならびに講演要旨は、ブログ・SNS への掲載等へ、複製または転用するなど、二次利用することを禁じます。



公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

〒560-0082 大阪府豊中市新千里東1-4-2

千里ライフサイエンスセンタービル 20階

TEL(06)6873-2001 FAX(06)6873-2002

URL <http://www.senri-life.or.jp/>