

# 「切らないゲノム編集<sup>®</sup>」塩基編集の開発と応用

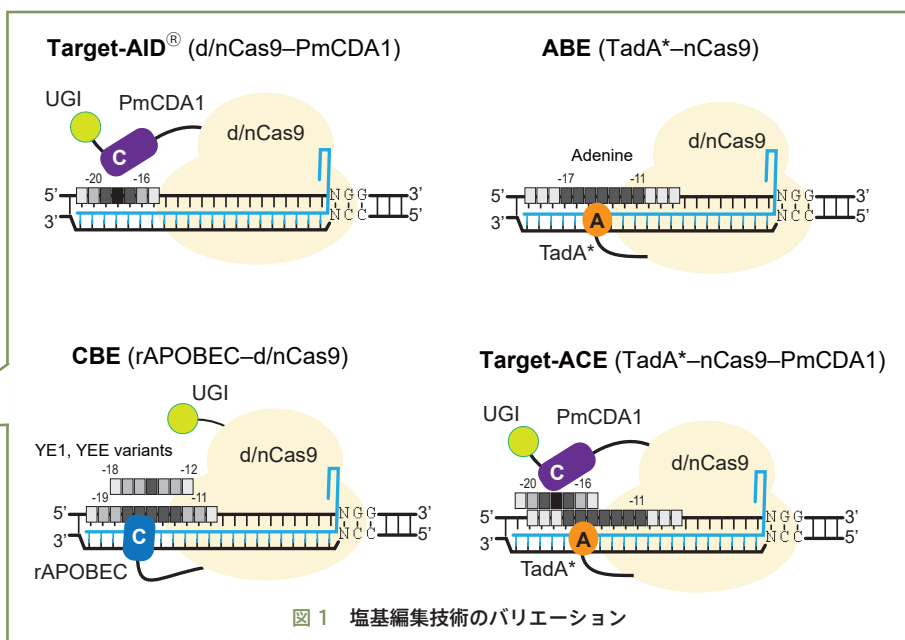
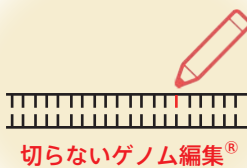
西田 敬二 教授

Keiji Nishida

神戸大学 先端バイオ工学研究センター 副センター長  
神戸大学大学院 科学技術イノベーション研究科 教授  
(株)バイオパレット 取締役

## 塩基編集の確立

一般的な CRISPR-Cas などのゲノム編集技術は、そのヌクレアーゼ活性により標的の DNA を切断し、宿主細胞の修復過程においてランダムな欠失挿入あるいは相同組換えを誘発することで配列改変を期待するものである。これまで遺伝子操作が限定的であった高等動植物においても効率よく機能するため、生命科学における革命的なツールとして幅広い用途での利用が広がっている。一方で、大規模な欠損が起こるなど予期せぬ改変結果となったり、DNA 切断による細胞毒性があったりなど、技術的な課題が見えてきている。このような「切る」ゲノム編集の課題を解決できるのがいわゆる「切らない」ゲノム編集<sup>®</sup>である塩基編集技術 (Base editing) である。Cas ヌクレアーゼを失活させたものに脱アミノ化酵素を付加し、標的配列に特異的な塩基変換を誘発するというコンセプトで、神戸大学グループの Target-AID<sup>®1</sup>、および Harvard 大学の Base editor (BE)<sup>2</sup> がそれぞれ異なる由来のシチジン脱アミノ化酵素を用いて実現し、2016 年に発表している (図 1)。



DNA 塩基の脱アミノ化は自然にも頻繁に起こる現象であり、例えば C の脱アミノ化は U を生じる (図 2)。通常 DNA 上の U は、塩基除去修復機構 (Base excision repair : BER) により取り除かれて正しく修復されるため変異とならないが、修復が追い付かない場合は U が残ったまま DNA 複製が進行し、T として認識されるため、C から T への変異が生じる。

実際に用いられる脱アミノ化酵素は、Target-AID<sup>®</sup> ではヒト AID オルソログであるヤツメウナギ由来の PmCDA1、BE ではラット由来の DNA/RNA 脱アミノ化酵素 APOBEC である。いずれも C:G から T:A の変換を行うが、それぞれに特性があり変異の導入される部位や幅が異なる。

また、2017 年に Harvard 大学のグループが、A の変換も可能にする Adenine Base Editor (ABE) を開発した<sup>3</sup>。A の脱アミノ化により生じるヒポキサンチン (イノシンの塩基部分) が、生体内ポリメラーゼによって G と誤認されることにより、A : T から G : C の変換が行われる (図 2)。DNA 上の A を変換する酵素は自然界においては知られていなかったため、tRNA 編集に関わる大腸菌由来の RNA アデニン脱アミノ化酵素 TadA を分子進化学によって DNA 型に変換することにより実現されている。Target-ACE<sup>4</sup> は、両タイプの酵素を同時に用いて C と A の変換を一度に行うため、より幅広いパターンの変異を生み出すことができる。

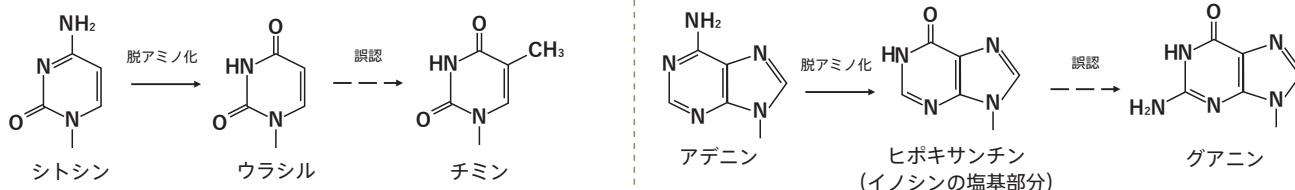


図 2 シトシンおよびアデニンの脱アミノ化

## 塩基編集の応用と事業展開

動物や植物、幅広い微生物において塩基編集の適用および実用化が進んでおり、従来の CRISPR などでは困難であった細胞においても有効に機能する例もある。変換できるパターンに制約があるものの、切断を介さずに一塩基変異を導入できることから、特に遺伝子疾患など難病の遺伝子治療法開発の期待が高く、多くの研究が進められている。Harvard 大学などの知財が導出されている BEAM therapeutics 社では、複数の疾患治療のパイプライン開発が進んでいる。

神戸大学の知財をもとに 2017 年に創設された(株)バイオパレットは、BEAM therapeutics 社とクロスライセンス契約を締結し、相互の知財アクセスを可能としている。(株)バイオパレットは特にマイクロバイオームを介した疾患治療の可能性に注目し、Living medicine という新たなモダリティの実現を目指している。



神戸ポートアイランド CLIK 内 (株)バイオパレットのラボ

微生物のゲノム改変において、切るゲノム編集は特に致死性が高く、多点同時編集などは塩基編集でなければ困難である<sup>5</sup> (図 3)。(株)バイオダイナミクス研究所と(株)バイオパレットは、大腸菌の主要なトランスポゾン遺伝子 4 種類の計 25 コピーのコード領域に終始コドンを導入して不活性化を行ったコンピテントセル「DynaCompetent Cells LowInSeq」(次ページ参照)を共同開発した。これはクローニングの際、特に大きな DNA 断片や細胞への負荷が大きい遺伝子などを保持させようとした時に、通常の大腸菌株で見られるようなトランスポゾンが挿入される現象を大幅に低減するものである。日本では、おそらく初めてカルタヘナ法規制に該当しないゲノム編集プロダクトとして販売されたケースであり、社会導出のプロセスとしても意義深いといえる。

今後は、より幅広い分野での実用化に向けた研究開発とともに、社会受容性の醸成も重要になる。そのためには、塩基編集技術として編集自由度の拡大やオフターゲットなどのリスク低減など、さらなる改良を進めることも期待される。



図 3 塩基編集では DNA 切断による染色体分断が起こり難い

## 参考文献

1. Nishida, K., et al., *Science*, **353**, aaf8729 (2016). [PMID: 27492474]
2. Komor, A. C., et al., *Nature*, **533**, 420~424 (2016). [PMID: 27096365]
3. Gaudelli, N. M., et al., *Nature*, **551**, 464~471 (2017). [PMID: 29160308]
4. Sakata, R. C., et al., *Nature Biotechnol.*, **38**, 865~869 (2020). [PMID: 32483365]
5. Banno, S., et al., *Nature Microbiol.*, **3**, 423~429 (2018). [PMID: 29403014]



こんな経験ありませんか？

大腸菌からプラスミド抽出したけど、自分が欲しい塩基配列になってないなあ…  
もう一度やり直そうかなあ…ちょっと待って下さい！それ… **動き回る遺伝子** のせいかもしれません

そんなときには…

IS による変異が入りにくいコンピテントセル

DynaCompetent Cells LowInSeq

詳細は次ページへ！

BioDynamics  
Laboratory Inc.(株)バイオパレットの特許技術「切らないゲノム編集」®  
Target-AID® を用いて共同開発された製品です