

立体構造に基づく CRISPR:Cas9 ゲノム編集ツールの開発と医療への応用

濡木 理 *Osamu Nureki*

所属：東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻

○略歴

- | | |
|---------|--------------------------------|
| 1993 年 | 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 (理学) |
| 1992 年 | 日本学術振興会特別研究員 DC2 |
| 1993 年 | 日本学術振興会特別研究員 PD |
| 1994 年 | 理化学研究所基礎科学特別研究員 |
| 1995 年 | 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 助手 |
| 2002 年 | 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 助教授 |
| 2003 年 | 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 | 東京大学医科学研究所基礎医科学部門染色体制御分野 教授 |
| 2010 年～ | 東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻 教授 |
| 現在に至る | |

○講演概要

最近、細菌の獲得免疫機構に働く CRISPR が、ガイド RNA (crRNA, tracrRNA) を用いて真核細胞や個体のゲノムを自由に編集できることで注目されている。我々は、CRISPR の 1 つである *Streptococcus pyogenes* 由来 Cas9 とガイド RNA, ターゲット DNA の複合体の結晶構造を 2.5Å 分解能で決定することで、Cas9 がいかにガイド RNA を特異的に認識し、ターゲット DNA を受け入れ、これを切断するかといった分子機構を、世界に先駆けて解明した (*Cell*, 2014)。さらに、より分子量が小さく真核細胞への導入効率が高い *Staphylococcus aureus* 由来 Cas9 について、ガイド RNA と 2 本鎖ターゲット DNA の 4 者複合体の結晶構造を 2.6Å 分解能で決定することに成功し、新規の PAM 配列認識機構を明らかにするとともに、Cas9 が直交性をもってガイド RNA を認識する機構を解明することに成功した (*Cell*, 2015)。さらに、*F. novicida* 由来 Cas9 についても 4 者複合体の結晶構造を 1.8Å 分解能で決定することに成功し、立体構造に基づき、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 (*Cell*, 2016)。これらの構造に基づいて、Cas9 の活性を改善した変異体を作成し、いかなるゲノムも正確に切断できるゲノム編集ツールを創出することが可能になった。また最近、crRNA のみを用いてターゲット DNA を認識し、突出末端を作りつつ DNA を切断するなどの点で Cas9 とは作用機序が大きく異なる、新規 CRISPR, Cpf1 が発見された。Cas9 が共通して、グアニン (G) から始まる PAM を認識するのに対し、Cpf1 はトリチミン (TTT) からなる PAM を認識している。我々は、Cpf1 と crRNA, DNA の複合体の 2.8Å 分解能での構造解析に成功し、その新規の作用機序の基盤となる分子機構および PAM 認識機構を明らかにした (*Cell*, 2016)。今後本改良型ゲノム編集ツールを用いて遺伝子治療への応用を試みて行く。

<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).
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).
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).

4. "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, Y. Fedorova, T. Nakane, K. S. Makarova, E. V. Koonin, R. Ishitani, F. Zhang and O. Nureki

Cell **165**, 949-962 (2016).

○講演メモ