

(2) ゲノム編集技術の特徴と限界

① ゲノム編集の概要

ゲノム編集とは、任意のゲノム DNA 配列を特異的に切断する人工制限酵素を使用することで、ゲノム上の特定の場所に変異を誘導する技術の総称である。人工制限酵素は2つの機能的要素で構成されている。一つは特異的に特定のゲノム DNA を認識する機能であり、もう一つは DNA 鎖を切断する機能である。これら2つの機能により、膨大な長さがあるゲノム DNA の中の特定の配列を切断し、変異を導入することが可能となっている。

② 現在ゲノム編集に使用されている3つの人工制限酵素

現在ゲノム編集に使用されている主な人工制限酵素として、Zinc Finger Nuclease (ZFN)、Transcription activator-like effector Nuclease (TALEN)、および Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat/Cas (CRISPR/Cas)が知られている。ZFN は、人工的に合成したフィンガードメインと一本鎖 DNA 切断酵素である FokI を使用している。1つのフィンガードメインが DNA 鎖内の 3 塩基を認識することを利用し、フィンガードメインを繋ぎ合わせるによりゲノムの特定の配列に FokI を作用させ、片側の DNA を切断することができる。二重鎖切断を誘導するためには一対のタンパク質が必要である。TALEN とは植物の病原菌で発見された DNA タンパク質で、34 アミノ酸が 1 塩基を認識するように働くものである。1 塩基を認識する 34 アミノ酸を繋ぎ合わせるにより、ゲノムの特定の配列を認識させることができ、FokI を作用させることによりゲノムの特定配列の一本鎖 DNA を切断させることができる。ZFN と同様に、二重鎖切断を誘導するためには、一対のタンパク質が必要である。CRISPR は、現九州大学教授の石野良純先生が 1987 年に発見した細菌のゲノム配列であるが、その後の研究により、細菌が有する獲得性免疫システムの構成要素であることが明らかにされた。CRISPR/Cas は、任意の DNA 配列を認識する RNA (CRISPR RNA と tracr RNA の複合体、または Guide RNA) と二重鎖 DNA を切断する CRISPR associated (Cas)タンパク質より構成されている。この仕組みを改良することにより、任意のゲノム配列に効率良く変異を導入することが可能となった。CRISPR/Cas によるゲノム編集は、他の2つの方法と比較して技術的に簡便であることから、基礎研究から臨床応用まで爆発的に普及した。

③ ゲノム編集の特徴

ゲノム編集では、人工制限酵素を細胞に導入することで、特定のゲノム DNA に変異を導入することができる。人工制限酵素により二重鎖切断されたゲノム DNA は、細胞が有するゲノム DNA 複製機構である、非相同末端再結合 (NHEJ) か相同組換え修復 (HDR) により修復される。非相同末端再結合 (NHEJ) によるゲノム修復では、ある程度の頻度で塩基の欠損や挿入が起こり、遺伝子機能が不活化さ

れる。頻度は低いものの、相同組換え修復（HDR）でゲノム DNA の修復が行われた場合は、挿入したい任意の配列と相同領域を有する DNA を細胞に同時に供給することにより、特定のゲノム DNA に任意の配列を導入することができる。また、切断活性が無い人工制限酵素を利用することにより、特定のゲノム DNA を標識、特定のゲノム DNA からの遺伝子発現の増強や抑制が可能である。

④ ゲノム編集の限界および問題点

ゲノム編集技術は、長足の進歩を遂げており、より標的配列特異的で、変異導入効率の良いものが開発されているが、現段階では以下のような限界および問題点が存在する。まずゲノム編集では、任意のゲノム DNA 部位を特異的に変異させることができるが、目的としないゲノム DNA 部位に変異が入る（オフターゲット変異）可能性が残されている。オフターゲット変異により、新たな遺伝子異常が導入される可能性があることは、ゲノム編集技術使用上で最も配慮すべき点である。また、ゲノム編集の仕組みが導入されても、全ての細胞で目的の変異が導入されない場合（モザイク）がある。変異が一部の細胞に導入されれば効果が期待される場合は問題が無いが、全ての細胞に導入されなければならない場合は、注意が必要である。さらに、ゲノム編集ではこれまでの遺伝子改変技術と異なり DNA を使用せずに、タンパク質単独もしくはタンパク質と RNA だけでゲノム DNA を改変することができる。これまでの遺伝子治療等臨床指針では DNA を使用することを前提としていたので、ゲノム編集の少なくとも一部は、現在の遺伝子治療等臨床指針の適応範囲外となることが想定される。ゲノム編集を考慮した遺伝子治療等臨床指針の見直しが必要であると考えられる。

前述のように、ゲノム編集はゲノム DNA を改変する方法として開発されたが、その応用として、ゲノム DNA の切断活性が無い人工制限酵素を使った使用法が開発されている。これらのゲノム編集の応用については、将来的に議論の対象となる可能性があるが、議論の対象を明確にするために、現状ではゲノム DNA に変異を導入する場合のみを取り上げる。