



2021年7月19日

報道機関 各位

東北大学多元物質科学研究所

### 改変されたゲノム編集 Cas9、DNA 上を動く！ — 遺伝子治療への応用に期待 —

#### 【発表のポイント】

- ・ DNA 上で動くように DNA 結合タンパク質を改変する方法を提案
- ・ ゲノム編集タンパク質 Cas9 を改変し、DNA 上で動かすことに成功

#### 【概要】

ゲノム編集とは、特殊な DNA 結合タンパク質を用いて、遺伝情報を含む DNA を自在に書き換える技術です。将来的に遺伝子治療での使用が期待されていますが、既存のゲノム編集タンパク質 Cas9 には、編集時間がかかる、標的ではない DNA 配列を誤って編集するなどの問題があります。

東北大学多元物質科学研究所の鎌形清人准教授らの研究グループは、Cas9 が p53 などの DNA 結合タンパク質とは異なり、DNA 上を滑るように移動できないことに着目しました。もし、Cas9 が DNA 上を移動できれば、標的 DNA を素早く見つけ出すことができ、迅速な標的 DNA の編集が可能となります。また、標的以外の DNA に結合している時に、Cas9 はその DNA 配列を誤編集してしまいますが、DNA 上を素早く移動できれば、誤編集を抑えられます。以上のことを踏まえて、本研究では、Cas9 を DNA 上で動くように改変する方法を2つ考案しました。これらの方法を用いて Cas9 を改変したところ、Cas9 を DNA 上で移動できるようにすることに成功しました。今後、改変した Cas9 が遺伝子治療などのゲノム編集で使用されることが期待されます。

本研究成果は、2021年7月8日に英国科学誌 *Scientific Reports* (オンライン版) に掲載されました。また、本研究は、科学研究費助成事業の支援を受けて、実施されました。

## 【研究背景】

ゲノム編集とは、特殊な DNA 結合タンパク質を用いて、遺伝情報を含む DNA を自在に書き換える技術です。将来的に遺伝子治療での使用が期待されています。しかし、既存のゲノム編集タンパク質 Cas9 には、編集時間がかかる、標的ではない DNA 配列を誤って編集するなどの問題があります。遺伝子治療への応用を考えたとき、DNA の誤編集は致命的です。従って、速くて正確なゲノム編集タンパク質の開発が必要となっています。

## 【研究の成果】

研究グループは、これまで、単分子蛍光顕微鏡を用いて、DNA 結合タンパク質の DNA 上を滑るように移動する「スライディング」に着目した研究を行ってきました。そして、既存のゲノム編集タンパク質 Cas9 は、DNA 結合タンパク質ですが、スライディングしないことが知られていました。もし、Cas9 が DNA 上をスライディングできれば、標的 DNA を素早く見つけ出すことができ、迅速な標的 DNA の編集が可能となります。また、標的以外の DNA に結合している時に、Cas9 はその DNA 配列を誤編集してしまいますが、素早く DNA 上を移動することで、誤編集を抑えられます。

以上のことを踏まえて、本研究では、Cas9 を DNA 上で動くように改変する方法を 2 つ考案し、DNA 整列固定技術「DNA ガーデン」と単分子蛍光顕微鏡を用いて、検証しました。まず、DNA と強く結合している Cas9 のアミノ酸がスライディングを阻害していると考えて、これらのアミノ酸を別のアミノ酸に置換しました。その結果、改変 Cas9 のスライディングが、ガイド RNA 非存在下で最大 15 倍、ガイド RNA 存在下で最大 5 倍促進することが明らかとなりました。次に、DNA 結合タンパク質 Nhp6A からスライディング促進部位を Cas9 に移植したところ、改変 Cas9 のスライディングが、ガイド RNA 非存在下で最大 5 倍、ガイド RNA 存在下で最大 8 倍促進することが分かりました (図 A)。この移植部位が DNA と結合し、Cas9 と DNA との結合を緩めることで、Cas9 のスライディングが促進すると考えられます (図 B)。以上より、Cas9 を DNA 上でスライディングできるように改変することに成功しました。今後、改変した Cas9 が遺伝子治療などのゲノム編集で使用されることが期待されます。

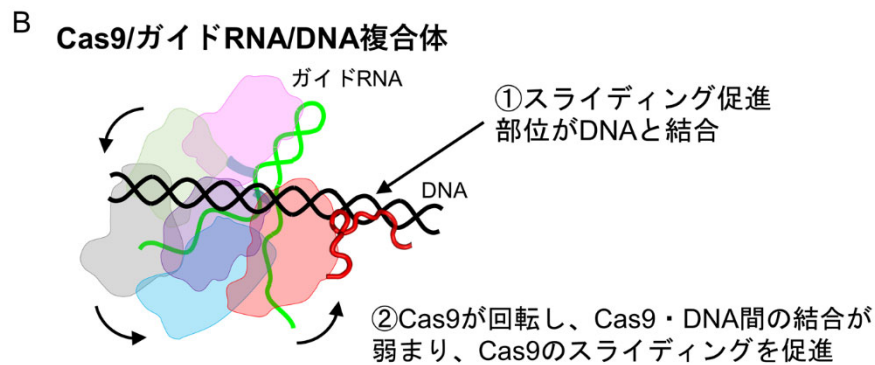
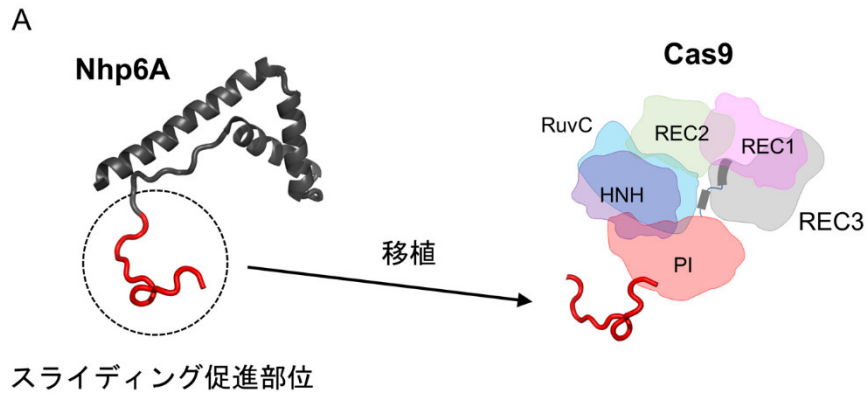


図. A) Cas9 に Nhp6A のスライディング促進部位 (赤) を移植。Cas9 は、REC1 (薄ピンク)、REC2 (薄緑)、REC3 (灰)、RuvC (薄青)、HNH (薄紫)、PI (薄赤) ドメインから構成される。B) 改変 Cas9 のスライディング促進メカニズム。スライディング促進部位が DNA と結合し、Cas9 を回転させ、Cas9 と DNA 間の結合が弱まり、Cas9 のスライディングが促進する。原著論文の図より転載しました。

## 【論文情報】

題目：Engineering of the genome editing protein Cas9 to slide along DNA

著者：Trishit Banerjee<sup>1,2</sup>, Hiroto Takahashi<sup>1</sup>, Dwiky Rendra Graha Subekti<sup>1,2</sup>, and Kiyoto Kamagata<sup>1,2,\*</sup>

所属：<sup>1</sup> 東北大学多元物質科学研究所, <sup>2</sup> 東北大学大学院理学研究科化学専攻

雑誌：Scientific Reports

URL：<https://www.nature.com/articles/s41598-021-93685-9>

DOI：10.1038/s41598-021-93685-9

### 【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学多元物質科学研究所

准教授 鎌形 清人 (かまがた きよと)

電話：022-217-5843

E-mail：kiyoto.kamagata.e8@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学多元物質科学研究所 広報情報室

電話：022-217-5198

E-mail：press.tagen@grp.tohoku.ac.jp