

医学研究をはじめ生物学の研究では、マウスやラットなどのモデル動物の存在が欠かせない。特に医療分野では、人の様々な病気を再現した疾患モデル動物が、病態の解明や創薬などに役立っている。

次世代シーケンサーによる遺伝子解析技術が進んだ現在では、次々と疾患に関与する遺伝子変異が発見されている。しかし、ヒトの疾患に関与する遺伝子変異を再現した遺伝子改変マウスを作製することは、時間と労力がかかり、疾患研究のボトルネックになっている。また、任意の遺伝子配列を特定の遺伝子部位に組み込んだノックインマウスとなるとさらに作製は難しい。従来の遺伝子組み換え技術でノックインマウスを作製できる確率は1%程度だ。

Research Worker Number.15

モデル動物の作製を高効率化 医学研究の発展に大いに貢献

難治疾患研究所 分子神経科学分野 田中光一 教授



そのような中、遺伝子改変マウスの作製効率を大幅に向上させる技術として世界的に注目を集めているのが「ゲノム編集」と呼ばれる技術である。

最新のゲノム編集技術 ノックインを可能にする

2012年にダウドナとシャルパンティエらが開発したゲノム編集技術「CRISPR/Cas（クリスパー／キャス）システム」は、「ノーベル賞受賞間違いなし」と言われるほど、生命科学分野の研究に大きな影響を与えた。従来のES細胞（胚性幹細胞）を用いた技術と比べて、遺伝子改変マウスの作製にかかる時間、労力、コストを大幅に減少できる技術だからだ。

CRISPR/Casシステムで必要となるのは、DNAの改変したい

場所の目印となる核酸（ガイドRNA）と、その場所のDNAを切断するハサミ（Cas9）という2つの部品だけ。これらをマウスの受精卵に注入するという簡便な方法だ。このときに任意のDNAと一緒に入れておけばノックインマウスができる。遺伝子改変マウスの作製にかかる期間は、受精卵が着床して仔マウス誕生に至る1カ月程度と、それまでの数年から大幅に短縮される。

それでもノックインマウスの作製効率は10%程度と低いため、世界中で引き続き開発競争が繰り広げられている。そのような状況で、いち早くCRISPR/Casシステムを改良して高効率化させることに成功したのが難治疾患研究所分子神経科学分野の田中光一教授らのグループ。改良型CRISPR/Cas

システムを使えば、ノックインマウスの作製効率が一気に50%まで上昇する。

自然の状態に近づけて 効率・正確性・利便性が向上

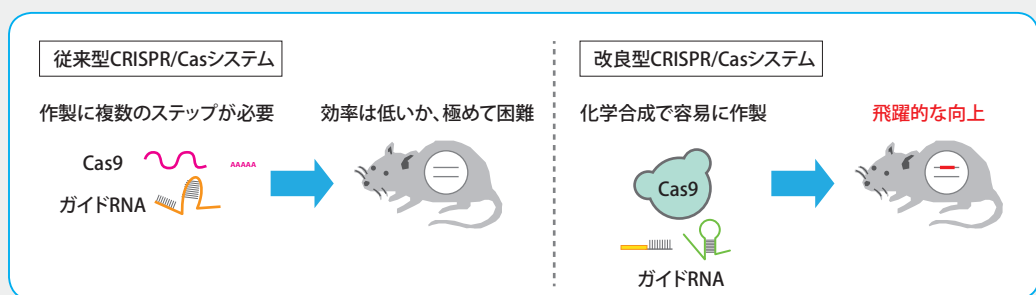
田中教授は、うつ病、統合失調症、ALS（筋萎縮性側索硬化症）など、精神神経疾患を研究対象としており、モデル動物作製の効率化は大きな課題だった。田中教授は研究の経緯を次のように語る。

「この研究のきっかけは、神経変性疾患の1つである緑内障に対して、特異的な遺伝子変異を再現するモデルマウスを作ることでした。そのための研究が、結果としてゲノム編集の効率を大幅に改善することになり、今や世界中の研究者に利用されています」

2015年4月に発表されたこの論文へのアクセス数は1万5000件以上に上るといいます。

改良のポイントは、大きく分けて2つある。1つ目は、従来の方法では1本の鎖状につなげられていたガイドRNAを、自然界の状態と同じ2つに分割したこと。従来法では1本鎖の方が注入しやすそうに見えたが、2種類のRNA

(図1) 改良型CRISPR/Casシステムによる遺伝子改変マウスの作製方法



従来型CRISPR/Casシステムでは、ノックインマウスの成功率は10%程度だったが、改良型CRISPR/Casシステムで50%という高効率化が実現した。

に分けて1つひとつが短くなったことで、RNAの化学合成が可能になり、ノックインの効率も各段に良くなった。

2つ目は、DNAを切断するCas9のメッセンジャーRNAではなく、Cas9たんぱく質を注入したことだ。従来はCas9のメッセンジャーRNAを注入し、受精卵の中でたんぱく質が合成されるようにしていたが、この場合、切るべきでない場所を切ってしまうエラーが度々起こっていた。それよりは受精卵の中ですぐに分解されるたんぱく質の状態で注入した方が作用時間を短縮でき、エラーが減ると考えたのだ（図1）。

「この方法は、化学合成したRNAとCas9たんぱく質を混ぜて受精卵に注入するだけなので、我々は『ワンクリック・ゲノム編集』と呼んでいます。発想としてはどれも自然の状態に近づけただけ。しかし、それにより効率、簡便性、正確性が大幅に向上したのです」

ヒト化マウス作製や 遺伝子治療実現にも光

CRISPR/Casシステムのゲノム編集技術を使えば、あらゆる生物

の遺伝子改変が容易になる。そのため、バイオエタノールの原料となる植物や藻類の品種改良などにも応用が可能で、エネルギー分野や環境分野からも注目されている。田中教授は、今後の方向性について次のように語る。

「この研究成果の応用は様々な分野に適用できるでしょう。私としては、精神疾患の病態解明や創薬につなげたい。アルツハイマー病の原因となるたんぱく質の全長をヒト化したモデルマウスはまだ存在しません。我々が開発した改良型CRISPR/Casシステムを使って、様々なヒト遺伝子を持つヒト化モデルマウスを作ってみよう。ヒトとマウスでは薬物代謝酵素が異なりますが、薬物代謝酵素をヒト化したマウスがあれば、薬物の血中動態などをより正確に判断できるでしょう」

田中教授は、最終的には、破壊された遺伝子を正常な遺伝子に置き換える遺伝子治療まで視野に入れている。この一連の研究成果は、医療や生命科学の研究に貢献するのはもちろん、自然科学分野の研究全般を大きく前進させる可能性を秘めている。

たなか・こういち
1984年新潟大学医学部卒業。1990年同大学院医学研究科神経化学博士課程修了（医学博士）。理化学研究所思考ネットワーク研究チーム、国立精神・神経センターを経て、1998年より現職。研究分野は神経科学一般。精神疾患、神経変性疾患などを主な研究対象として、脳高次機能の分子・細胞レベルでの解明を目指す。所属学会は、日本神経科学会、日本生理学会、日本神経化学会、北米神経科学会。