

□文献紹介□

CRISPR/Cas9 を利用した HITI 法による *in vivo* ゲノム編集

近年新たなゲノム編集技術である CRISPR/Cas システムが注目されている。この技術を用い、哺乳類細胞において特定の遺伝子の破壊する(ノックアウト)は高確率に成功するようになってきた。しかしながら、特定の遺伝子を導入する(ノックイン)技術に関しては、成功率が低かった。特にゲノムの可塑性が低い非分裂細胞においては難しいことが知られている。そこで著者らは非分裂細胞でも行われているゲノム修復メカニズムである非相同性末端結合と CRISPR/Cas システムを組み合わせることで、遺伝子導入を行う HITI(homology-independent targeted integration)法を開発した。まず分裂能を持つ培養細胞に対しての HITI の性能を評価したところ、従来の方法に比べ高効率に遺伝子導入を行えることがわかった。また、分裂能の乏しい神経細胞にも HITI は適応可能であることを確認した。子宮内電気穿孔法やアデノ随伴ウイルス(adeno-associated virus: AAV)ベクターなど従来行われてきた遺伝子導入法と組み合わせることで、マウスの脳に遺伝子導入することも確認された。そこ

で、網膜色素変性症(retinitis pigmentosa: RP)モデルラットを用い、HITI の遺伝子治療への応用性を検討した。RP は夜盲や視野狭窄、視力低下などを起こす難治性の遺伝性疾患である。原因遺伝子の1つである *Mertk* 遺伝子を欠損した RP モデルラットに対して、AAV ベクターを網膜注射、HITI を利用し、欠損した遺伝子の修復を試みたところ、PCR で遺伝子の修復が確認され、網膜切片の免疫染色では *Mertk* 蛋白の発現がみられた。また、網膜外顆粒層の菲薄化や網膜電図波形など、臨床的にも用いられる検査所見の改善を認めた。これらの結果から、CRISPR/Cas による遺伝子治療の可能性が示された。

Suzuki K, et al: *In vivo* genome editing via CRISPR/Cas9 mediated homology-independent targeted integration. *Nature* **540**: 144-149, 2016

(慶應義塾大学 古市 祐樹)