

CRISPR/Cas システム

The CRISPR/Cas system

中川 一路

Ichiro Nakagawa

京都大学大学院医学研究科微生物感染症学分野教授

SUMMARY

CRISPR/Cas システムは、細菌および古細菌に広く保存され、外来性遺伝子の一部を自身の染色体に取り込み記憶することで、同一の外来性遺伝子が再度侵入した場合にこれらを分解・排除する獲得免疫機構として機能するだけでなく、細菌の毒性や病原性に関与していることや、さまざまな環境下での細菌の生存や進化においても重要な役割を担っていることが明らかになりつつある。それと同時に、Cas9を用いたゲノム編集法は、これまで用いられてきた遺伝子破

壊や置換法に比べ、その簡便さと適応範囲の広さから急速に応用範囲が広がっている。実験手技として広く知られている CRISPR/Cas9 システムであるが、実際のところ、細菌種での機能についてもすべての機能は明らかになっていない。本稿では、CRISPR/Cas システムの本来の機能についての現在の最新の知見と、さらに応用範囲が広がる Cas9 を用いた遺伝子編集法についての現在の知見について概説する。

The CRISPR/Cas system is found in almost all archaeal and approximately 40% of sequenced bacterial genomes and is composed of a short repeat sequence (21-47 bp) separated by a unique variable sequence called a spacer. The CRISPR/Cas system can be divided into two stages of acquired immunity: the acquisition stage with the uptake of the foreign element as a spacer into the leader-proximal end of CRISPR, and the immunity stage where interference with the target DNA by targeting nucleic acid in a sequence-specific manner is observed. It has become clear that the CRISPR/Cas system is involved in the toxicity and pathogenicity of bacteria, and that the system plays an important role in the survival and evolution of bacteria in various environments. Recently, the genome editing method using the CRISPR/Cas9 system has rapidly expanded to gene disruption and substitution due to its simplicity and wide range of application. Although this system is widely known as an excellent technique, all of the functions have not been elucidated even in bacterial species. In this article, current knowledge about the original function of the CRISPR/Cas system and current knowledge on genetic editing using this system will be presented.

KEY WORDS

◆ CRISPR/Cas
システム
CRISPR/Cas system◆ Cas9
Cas9◆ ゲノム編集
genome editing

はじめに

細菌や古細菌は、地球上で最も長い期間生息してきた生物であると考えられている。多くの生物種が長い年月を費やし、変異の蓄積によって少しずつ進化していくのに対し、細菌や古細菌は、短時間に進化する能力もあり、速やかに環境に適応することも可能である。抗生物質耐性菌の出現はその最たる例であり、人類が最初の抗生物質であるペニシリンを実用化してから70年あまりのうちに、これまで生み出された多くの抗生物質に対して耐性菌が出現し、大きな社会問題となっている。耐性菌の出現は、遺伝子の変化だけではなく、抗生物質耐性遺伝子が外来性遺伝子として細菌内に取り込まれることによって起きる。しかし、細菌はいつでも受動的に外来性遺伝子を取り込むわけではない。

特に、遺伝子情報を宿主である細菌に送り込み、細胞内で増殖することで宿主を死滅させることで知られるウイルスのバクテリオファージ(以下、ファージ)に対しては、これまでにさまざまな排除機構が報告されている。たとえば、遺伝子工学で頻用されている制限酵素は、特定の塩基配列のみを切断する性質を利用しているが、実際には、宿主由来のDNAを修飾酵素によって保護しながら、外来性の修飾されていない核酸を切断する制限修飾系(restriction-modification system)が本来の機能である。CRISPR/Cas システムはこのファージに対する強力な排除システムの1つとして発見された¹⁾。このシステムでは、侵入した外来性遺伝子を分解するだけでなく、これらの一部を断片として細菌染色体内に取り込むことができる。前述した制限修飾系では、取り込まれた断片と同じ配列情報をもつファージやプラスミドなどの外来性遺伝子が再度侵入した場合には、そ