

要 旨

近年 CRISPR-Cas を用いたゲノム編集による遺伝子治療が脚光を浴びているが、CRISPR-Cas には、1. 分子量が大きくウイルスベクターに載せることが困難で細胞導入効率が低い、2. CRISPR-Cas は標的配列の下流にある 2~7 塩基からなる PAM 配列を (バクテリアが自己と非自己を識別するために) 厳密に認識しており、Cas をゲノム編集に用いる適用制限となっている、3. 非特異的切断による off target の問題など、現時点では医療応用に用いることは事実上不可能である。我々は、5 生物の Cas9 と 4 生物種の Cas12 に関して、ガイド RNA、ターゲット DNA との複合体の構造解析に成功している。さらに、立体構造に基づき、小型で単純化した PAM 配列を認識する変異体の創出にも成功した。今後改良型 CRISPR-Cas を用いて、さらなる遺伝子治療への応用を試みて行く。

参考文献

1. “Crystal Structure of Cas9 in Complex with Guide RNA and Target DNA” H. Nishimasu, F. A. Ran, P. D. Hsu, S. Konermann, S. I. Shehata, N. Dohmae, R. Ishitani, F. Zhang F and O. Nureki. *Cell* **156**, 935-949 (2014). doi: 10.1016/j.cell.2014.02.001.
2. “Crystal structure of *Staphylococcus aureus* Cas9” H. Nishimasu, L. Cong, W. X. Yan, F. A. Ran, B. Zetsche, Y. Li, A. Kurabayashi, R. Ishitani, F. Zhang and O. Nureki *Cell* **162**, 1113-1126 (2015). doi: 10.1016/j.cell.2015.08.007.
3. “Structure and Engineering of Francisella novicida Cas9” H. Hirano, J. S. Gootenberg, T. Horii, O. O. Abudayyeh, M. Kimura, P. D. Hsu, T. Nakane, R. Ishitani, I. Hatada, F. Zhang, H. Nishimasu and O. Nureki. *Cell* **164**, 950-961 (2016) doi: 10.1016/j.cell.
4. “Structural basis for the altered Pam specificities of engineered CRISPR-Cas9” S. Hirano, H. Nishimasu, R. Ishitani and O. Nureki. *Mol. Cell* **61**, 886-894 (2016) doi 10.1016/j.molcel.2016.02.018.
5. “Crystal structure of Cpf1 in complex with guide RNA and target DNA” T. Yamano, H. Nishimasu, B. Zetsche, H. Hirano, I. M. Slaymaker, Y Li, I. Fedorova, T. Nakane, K. S. Makarova, E. V. Koonin, R. Ishitani, F. Zhang and O. Nureki. *Cell* **165**, 949-962 (2016) doi: 10.1016/j.cell.2016.04.003.
6. “Crystal Structure of the Minimal Cas9 from *Campylobacter jejuni* Reveals the Molecular Diversity in the CRISPR-Cas9 Systems” M. Yamada, Y. Watanabe, J. S. Gootenberg, H. Hirano, F. A. Ran, T. Nakane, R. Ishitani, F. Zhang, H. Nishimasu and O. Nureki. *Mol. Cell.* **65**, 1109-1121 (2017).
7. “Real-space and real-time dynamics of CRISPR-Cas9 visualized by high-speed atomic force microscopy” M. Shibata, H. Nishimasu, N. Kodera, S. Hirano, T. Ando, T. Uchihashi and O. Nureki *Nat. Commun.* **8**, 1430 (2017).
8. “Engineered CRISPR-Cas9 nuclease with expanded targeting space” H. Nishimasu, X. Shi, S. Ishiguro, L. Gao, S. Hirano, S. Okazaki, T. Noda, O. O. Abudayyeh, J. S. Gootenberg, H. Mori, S. Oura, B. Holmes, M. Tanaka, M. Seki, H. Hirano, H. Aburatani, R. Ishitani, M. Ikawa, N. Yachie, F. Zhang and O. Nureki *Science* **361**, 1259-1262 (2018).