

# 27G-pm20S

CRISPR/Cpf1 搭載アデノウイルスベクターによるゲノム編集効率の評価

○塚本 智仁<sup>1</sup>, 酒井 英子<sup>1</sup>, 高山 和雄<sup>1,2,3</sup>, 櫻井 文教<sup>1</sup>, 水口 裕之<sup>1,2,4</sup> ( <sup>1</sup>阪大院薬, <sup>2</sup>医薬健康研, <sup>3</sup>JST さきがけ, <sup>4</sup>阪大 MEI セ)

CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集技術は、その簡便性のため遺伝子研究に欠かせないツールとなっており、遺伝子改変を利用した様々な分野への応用が盛んに行われている。しかしながら、遺伝子治療や再生医療の観点からは、標的組織への送達方法と編集効率が課題となる。一方、新たなゲノム編集ツールとして Cas9 に代わるヌクレアーゼが他の古細菌などから次々と発見され、中でも Cpf1 は、Cas9 とは異なり非相同組換 (NHEJ) を介した非分裂細胞への高いノックイン効率が得られる可能性があることから、ヒト疾患遺伝子修復への利用が期待される。本研究では、Cpf1 およびガイド RNA を発現するアデノウイルスベクターを用いて実際にヒト培養肝細胞のゲノム編集が行えるかについて、ヒト AAVS1 領域をモデルとした検討を行った。

まず、AAVS1 領域に対する Cpf1 特異的ガイド RNA を pEGxxFP アッセイにより選定した。次に、ガイド RNA または Cpf1 発現アデノウイルスベクターを作成し、ヒト肺がん細胞株 H1299 に作用させた後 T7E1 アッセイを行った結果、AAVS1 標的領域に約 50% の編集が認められた。そこで、ヒト肝細胞キメラマウス由来細胞 (PXB cells) に対して本ベクターを作用させたところ、T7E1 アッセイによりゲノムの編集が検出できた。従って、Cpf1 発現アデノウイルスベクターを利用することにより、ヒト培養肝細胞のゲノム編集が可能である事が示された。