

遺伝子編集による疾患モデル細胞の作製



CATEGORY

健康社会

個人研究

研究者紹介



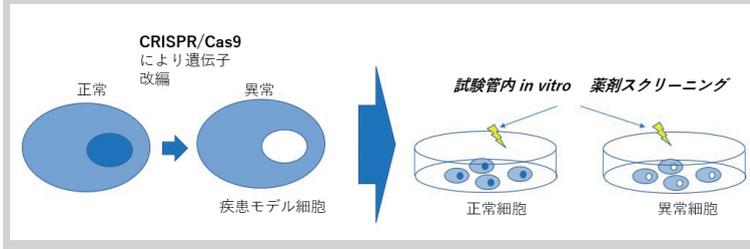
医療保健学部 臨床検査学科

教授 川又紀彦

KEYWORDS CRISPR/Cas9、造血器悪性疾患、ヒト細胞株

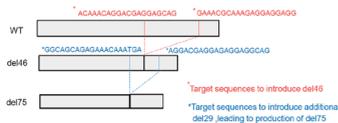
白血病などの血液悪性腫瘍は遺伝子異常によって発症する。遺伝子編集技術 (CRISPR/Cas9) を用いて、悪性腫瘍で見られる遺伝子異常を人工的に細胞に埋め込んだ細胞を試験管内で作成する。遺伝子編集される前の細胞と、遺伝子異常を導入された細胞を同一の薬剤で処理し、遺伝子異常に特異的に効果を示す薬剤を同定する。

01 研究テーマの特徴、アピールポイント



CRISPR/Cas9 技術は、迅速に、簡単に遺伝子編集をすることを可能にした。この技術を用いば、悪性腫瘍 (白血病や癌など) の原因になっている遺伝子異常を簡単に細胞内に埋め込める。これにより悪性腫瘍細胞と同じ性質を持った細胞を簡単に作るができる。この方法を用いて、様々な白血病や癌で見られる遺伝子異常を導入し、疾患モデル細胞を作成する。これを用いて、遺伝子異常を持つ癌細胞にのみ特異的に効果を示す薬剤を探す。この方法は正常細胞に影響の少ない (副作用の少ない) 治療薬の発見につながる。今までの成果 (文献2より) : ヒトの血液疾患で見られる CALR 異常蛋白を発現する細胞を作成するために、細胞株の CALR 遺伝子のアミノ酸コード領域を遺伝子編集した。

CALR 遺伝子



正常な CALR 遺伝子 (WT) から DNA46塩基対 (del 46) と DNA76塩基対 (del 76) を抜き取るための CRISPR/Cas9 を設計して細胞株に導入した。赤字 DNA 塩基配列と青字 DNA 塩基配列は切断を狙った部位。

DNA 配列が部分的に抜き取られたために正常のアミノ酸配列 (WT) と比較した時に、一部が欠損したアミノ酸配列になったもの (del45 と del75) や、一部が欠損した後にフレーム・シフトを起こし、異常アミノ酸 (赤字アミノ酸) 配列に変化したものなど (del52 と del46) が作成できた。

CALR 蛋白

```
WT AAEKQMKDKQDESRPKKEEEDKRNKREEREEKEDKEDKEDDEEDKEDDEEDIPGQAKDEL
del52 AAEKQMKDKQDESR ..... TRNRIKTRKURRURRTRKURKRNKUSPAPRTTSCREACLOGVTEA
del45 AAEKQMKDKQDEE ..... EEAEKEDKEDKEDKEDKEDKEDKEDDEEDIPGQAKDEL
del46 AAEKQMKDKQDEE ..... RRQTRTRKURRURRURRTRKURKRNKUSPAPRTTSCREACLOGVTEA
del75 AAEKQ ..... AEDKEDKEDKEDKEDKEDKEDKEDDEEDIPGQAKDEL
```

これらはヒトの血液疾患で見られるものと同等のものであった。

想定される活用例、相談可能な分野

- 癌の特性を持った細胞株を作成し、その癌に有効な薬剤の検証が試験管内で行える。
- 正常細胞を傷つけない副作用の少ない治療薬の選択に役立つ。
- 治療薬に対する抵抗性が出現するメカニズムを迅速に検討できる。
- 新規治療薬の評価が迅速に行える。
- 新規治療薬の発見を可能にする。
- *In vitro* 薬剤スクリーニングへの協力。

主な学会発表 論文・著書・社会活動

- [1] Aoyama S et al. Int J Mol Med. 2022 Apr;49(4):42.
- [2] Yasuda S et al. Int J Hematol. 2021 Oct;114(4):424-440.
- [3] Yasuda S et al. Leuk Res. 2021 Sep;108:106627.
- [4] Izumi Y et al. Front Immunol. 2021 Feb 22;12:618081.

<http://www.cloud.teu.ac.jp/public/HEF/kawamatan/index.html>

