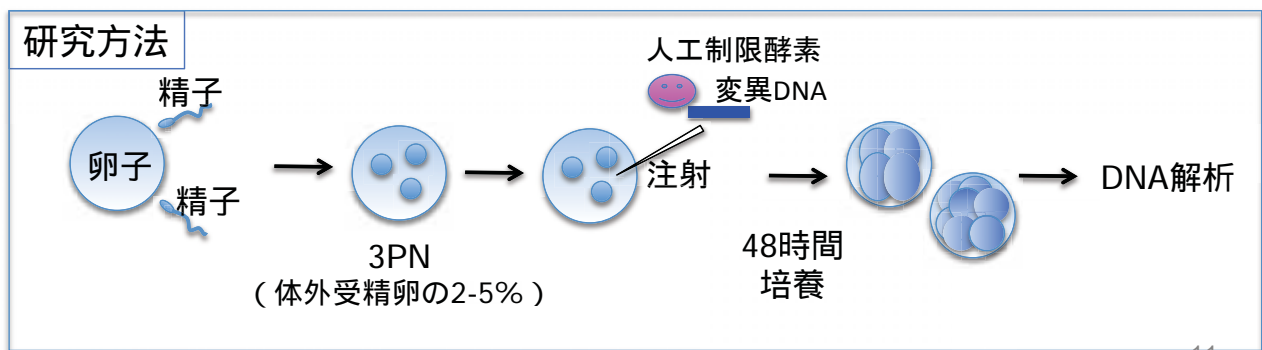


今回の論文：対象疾患と方法

サラセミア

- グロビン遺伝子の変異による血液の遺伝性疾患
- ヘモグロビンを構成するグロビン蛋白の異常によって正常な赤血球が作られず貧血になる
- 地中海沿岸に多い。日本人のサラセミアは700～1000人に1人の頻度
- この疾患の治療のモデル実験を行った（正常遺伝子に変異を導入）

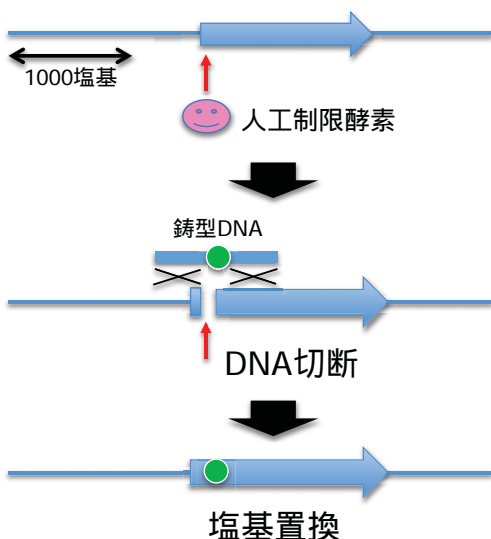


今回の論文：ゲノム編集法と結果

11番染色体



ベータグロビン遺伝子



遺伝子修復の効率

DNA導入	生存	DNA回収	DNA切断	正確な置換
86	71	54	28	4
	83%		52%	14%

望ましくない結果

DNA導入	生存	遺伝子導入	DNA回収	DNA切断	正確な修復	HBDで修復
86	71	59	54	28	4	7
	83%			52%	14%	25%

1. 類似のDNA配列を切断

HBB	GTAACGGCAGACTTCTCCTC	28/28
OT1	TTAAAGGAAGACTTCTCCTC	0/23
OT2	GTAATGGCATAATTCTCCTC	0/23
OT3	GTGACGGCACACTTCTTCTC	0/20
OT4	GAAAAGGCAGACTTCTCCCC	6/20
OT5	GGAGGGGCAGGCTTCTCCTC	10/23
OT6	GAAATGGCCAAGCTTCTCCTC	0/21
OT7	GAGAGGGCAGCCTTCTCCTC	0/20
HBD	TTGACAGCAGTCTTCTCCTC	0/23

グロビン上の標的配列

コンピューターが予想した類似配列
(全ゲノムは調べていない)

グロビン上の標的配列

2. 類似の遺伝子を鋳型にして修復



13

医療応用（遺伝子修復治療）に特化した問題

1. 安全性（特異性）

- 類似配列の切断や類似配列を鋳型にした組換え
 - ✓ 簡便で高感度な off-target 検出技術が必要
 - ✓ どれくらい塩基配列を調べれば安全といえるか？
(off-targetが1%の頻度だとすると x150カバー？)
 - ✓ 変異がゲノム編集によるか？元々存在したのか？培養の過程で生じたか？シーケンシングエラーか？
 - ✓ どれだけのoff-targetのリスクであればベネフィットが上か
- 鋳型DNAの非特異的な染色体組込みを防ぐのは困難

2. 効率化（処理した細胞あたりの効率、染色体組込みあたりの効率）

- 遺伝子破壊に比べると修復は低効率
- 色々な修復細胞（ヘテロ、ホモ、ノックアウト）が混ざった状態
- 遺伝子が修復された細胞のみを選別する事は不可能
 - ✓ 不正確な修復細胞は癌化などを起こす可能性を含む

14