

細胞特異的にヌクレアーゼを制御する方法

ライセンス契約を受けていただき 本発明の実用化を目指していただける企業様を求めます。

miRNAによって特異的に認識される核酸配列を、ヌクレアーゼをコードする核酸配列と連動して用いることにより、細胞特異的なmiRNAに応答してヌクレアーゼの活性を制御する方法を発見しました。

◆背景

CRISPR/Cas9 Systemは、ヌクレアーゼであるCas9蛋白質(Cas9)と標的配列に相補的な20塩基を組み込んだシングलगайдRNA(sgRNA)により、目的遺伝子を切断するものです。近年、このCRISPR/Cas9 Systemを細胞治療に用いようとする動向があります。しかし、CRISPR/Cas9 Systemを用いたCas9とsgRNAの細胞内導入には、プラスミドが用いられてきたため、それらがゲノムに挿入され変異が生じる危険性がありました。またプロモーターの特異性が低いために細胞特異的にゲノム編集することが難しいという問題がありました。

◆発明概要と利点

本発明によれば、miRNAによって特異的に認識される核酸配列とヌクレアーゼのコード領域に対応する核酸配列を機能的に連結させることで、ヌクレアーゼの活性を制御できるようになります。(図1)

連結というのは、ヌクレアーゼをコードするオープンリーディングフレーム(ただし、開始コドンを含む。)の5'UTR内、3'UTR内、及び/または当該オープンリーディングフレーム内に、少なくとも1つのmiRNAの標的配列を備えることを意味します。さらにトリガータンパク質をコードするmiRNA応答性mRNA(miRNAスイッチ)とヌクレアーゼをコードするトリガータンパク質応答性mRNAの2種類を組み合わせたヌクレアーゼ制御を開発しました。(図2)

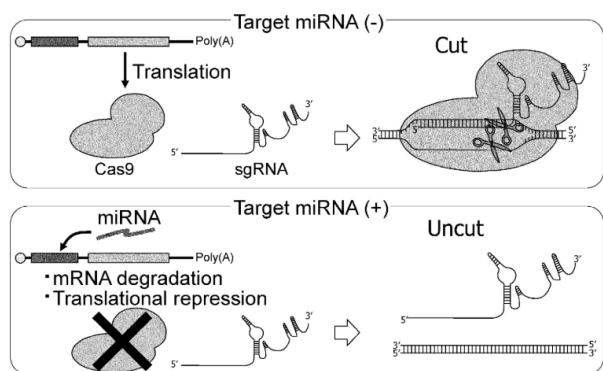


図1: Cas9タンパク質をコードするmiRNAスイッチを細胞に導入した場合の細胞内での作用を示す模式図

miRNAスイッチがoffであればCas9タンパク質が翻訳され標的DNAが切断される。一方でonであれば翻訳が抑制され標的DNAが切断されない。

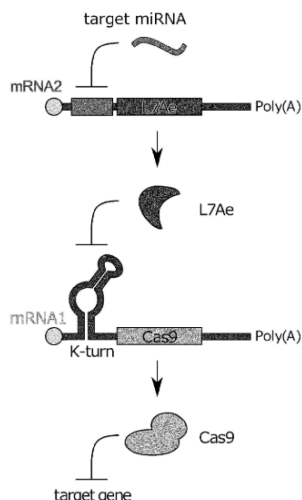


図2. Cas9タンパク質をコードするL7Ae応答性mRNA1と、L7AeをコードするmiRNA応答性mRNA2とを細胞に導入する場合の作用を示す模式図

標的配列を特異的に認識するtarget miRNAが存在すると、翻訳抑制されてL7Aeの発現量が低下する。これに伴い、mRNA1での翻訳が増加し、Cas9の発現量が増加する。このようなカスケード構造により、標的DNAの切断活性を高めることができる。

◆開発段階

miR-21-5p、miR-302-5pを用いたmiRNA応答性CRISPR/cas9システムが機能することを確認済み。

◆適応分野

CRISPR/Cas9システムの利便性を向上させ細胞治療への応用の基盤となる

◆特許権

「細胞特異的にヌクレアーゼを制御する方法」
特許第7362097号
出願人：国立大学法人京都大学

◆希望の連携形態

- ・ 実施許諾契約
- ・ オプション契約

◆お問い合わせ先

京都大学産学連携担当
株式会社TLO京都

〒606-8501
京都市左京区吉田本町
京都大学国際科学イノベーション棟3F
(075)753-9150
licensing_ku@tlo-kyoto.co.jp

IAC Institutional
Advancement and
Communications

TLO 京都