

治療用細胞の外来遺伝子を正確に 制御するための人工転写因子

香川大学 医学部 神経機能形態学
講師 鈴木 辰吾

平成30年10月30日

背景

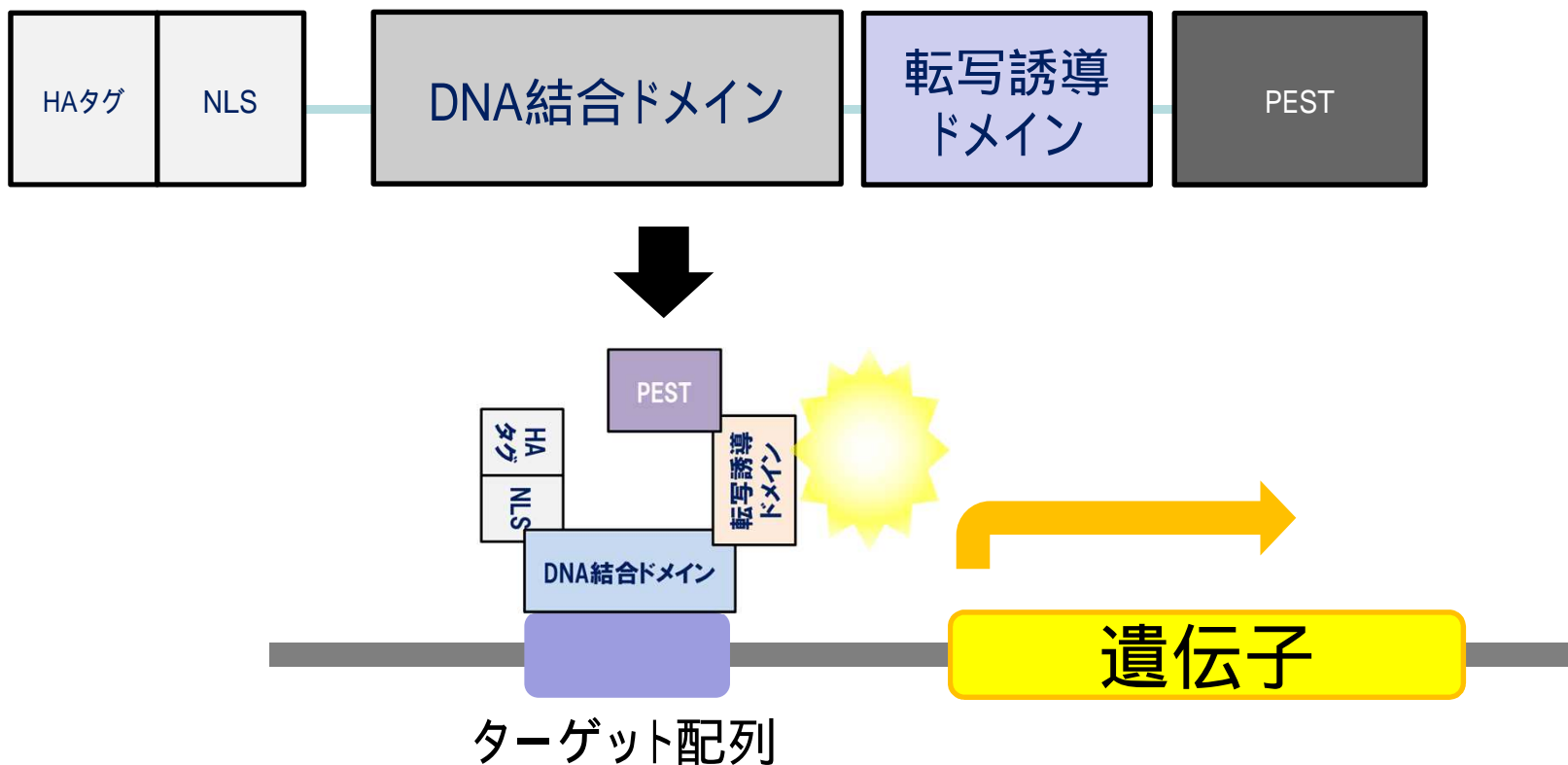
- ・近年、細胞を遺伝的に改良して治療に用いる療法が開発されてきた(CAR-T療法など)。
- ・基礎研究の場では、細胞をより高度に改変して治療に用いようとする流れがあり、再生医療にも転用される可能性がある。
- ・細胞を改良時に、導入した特定の遺伝子を正確に機能させる「人工転写因子」が必要。

人工転写因子

・DNA結合ドメイン

・転写誘導・転写抑制ドメイン

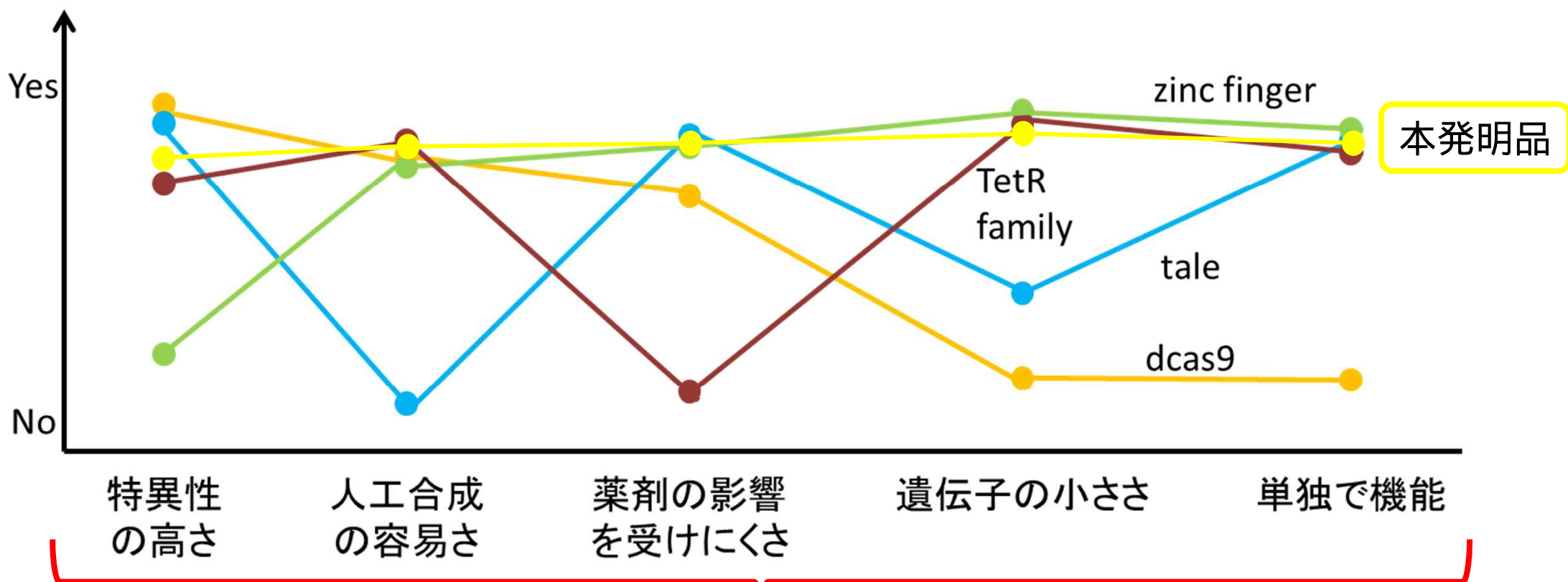
他に核移行シグナル・タグ配列など



良質なDNA結合ドメインが必要

従来技術とその問題点

基礎研究の場で使用されているDNA結合ドメイン



治療用細胞で使用する上で求められる機能

従来技術とその問題点

基礎研究の場で使用されているDNA結合ドメイン

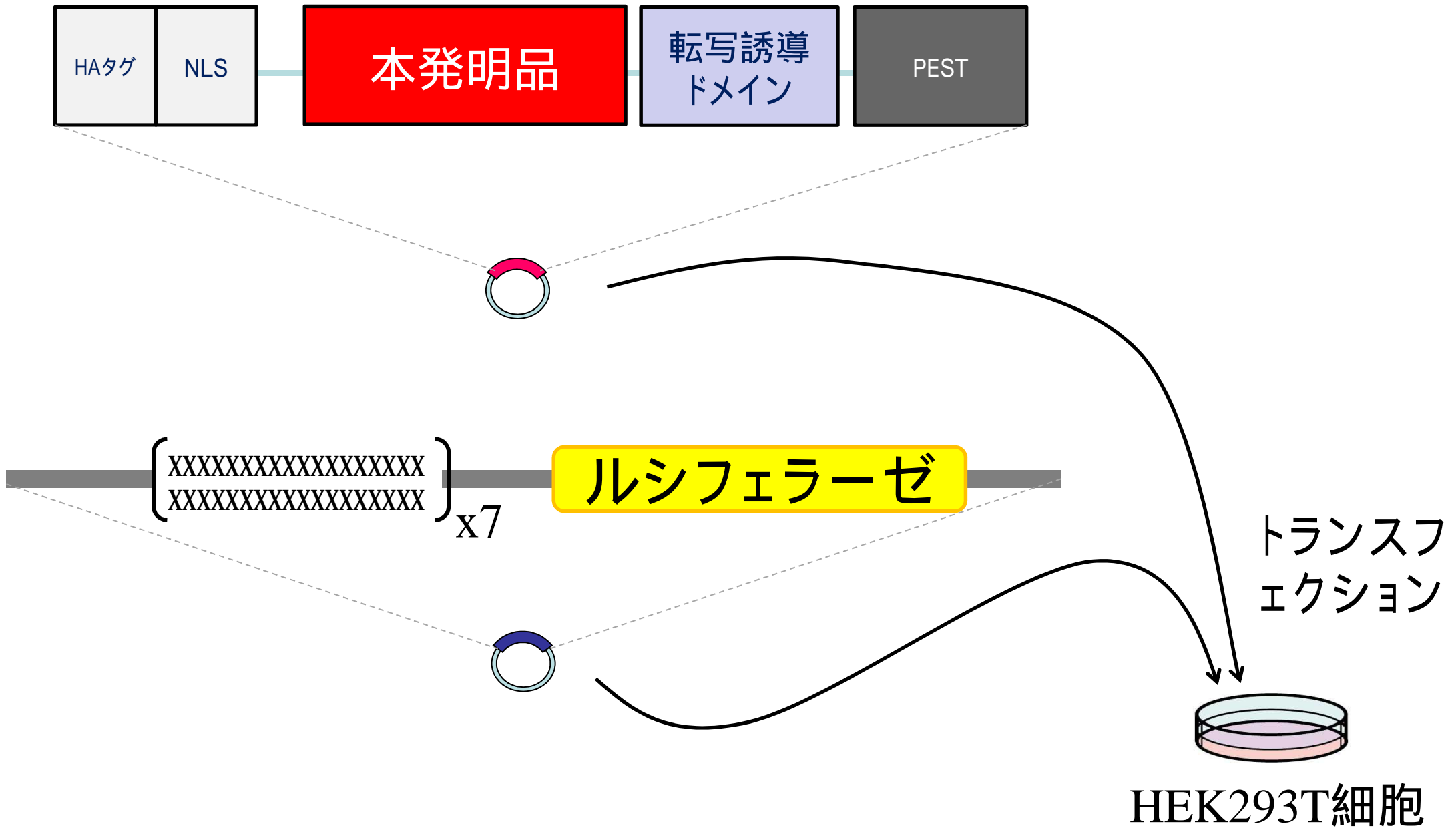
dCas9 :	分子量が大きい。gRNAも必要。
TALE :	分子量が大きい。繰り返し配列が多い。
GAL4 :	DNA配列への認識特異性が低い。
Zincfinger protein :	DNA配列への認識特異性が低い。
Tet repressor (TetR) :	薬剤による干渉を受ける可能性がある。

等の問題があり、疾患の治療を目的とする細胞への導入には適さない。

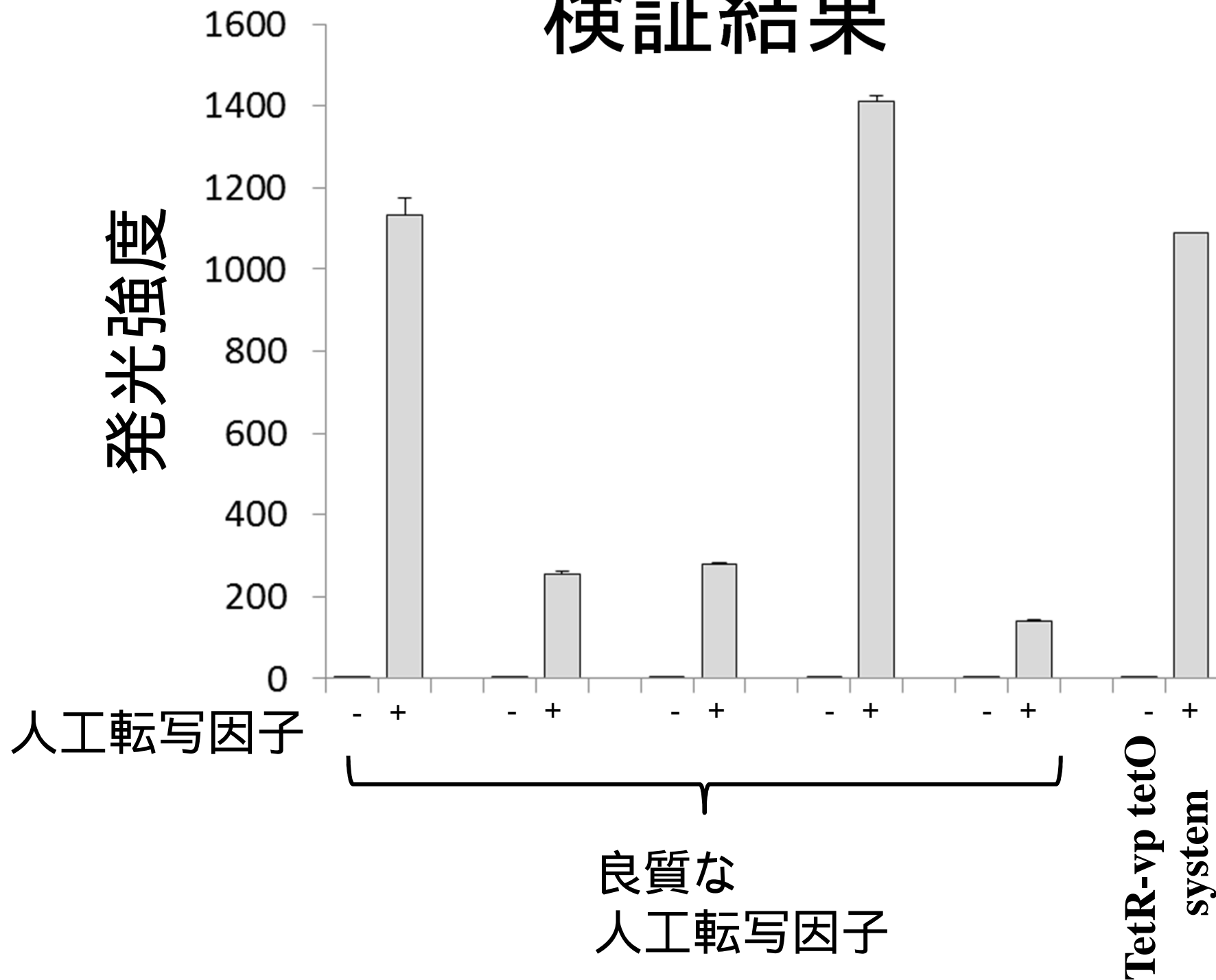
新技術の特徴・従来技術との比較

- これらの欠点を持たないIDNA結合ドメインを開発することに成功し、人工転写因子に用いることができることを確認した。
- 特に配列特異性が非常に高く、ヒトゲノムには結合しないと考えられることから、オフターゲット効果が起こる可能性が低い。
- 単量体として使用できるため、結合力が高く、高品質で扱いやすいIDNA結合ドメイン(しかもゲノムに干渉しない)としても使用できる

実験方法

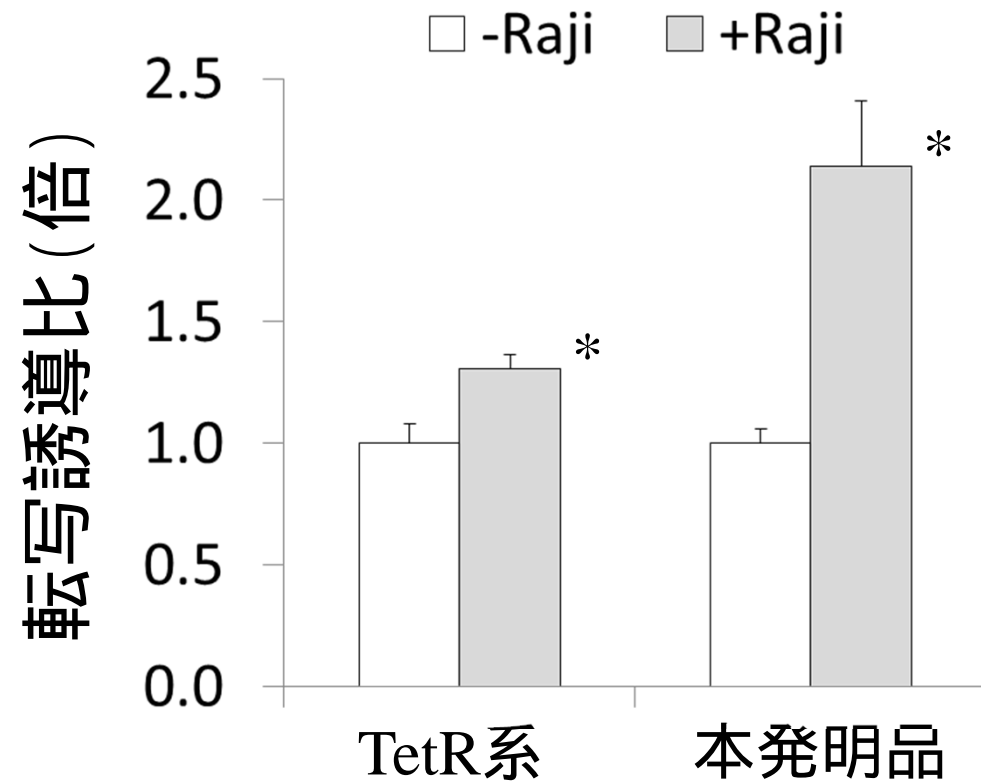


検証結果



適用事例

癌細胞 (Raji細胞) を認識して、特定の遺伝子をONにする方法。
(CAR-T細胞のモデル系)



TetR系に対して本発明品はレポーター遺伝子の転写誘導比率が高い

想定される用途

- 治療用の細胞 (CAR-T細胞など) における人工遺伝子回路の作成
- 再生工学分野において、iPS/ES細胞に人工遺伝子回路を導入する場合
- 高品質DNA結合ドメインとしての遺伝子試薬
- 特定の配列を持つDNA(PCR産物も可)を精製・除去するための試薬
- ノックインしたDNAを可視化するための試薬

実用化に向けた課題

- 実用化に向けて、本人工転写因子を組み込んだ治療用細胞を作成し、動物モデル・臨床試験で作動することを確認する必要がある。
- 現在、複数の人工転写因子を開発済み。しかし、DNA配列の最適化や蛋白質の核移行シグナル等の最適化が未解決である。
- 試薬としての用途開発が遅れている

企業への期待

- 実際に本人工転写因子を組み込んだ治療用細胞 (CAR-T細胞等) の作成と使用
- 製薬企業・バイオベンチャー・バイオ試薬メーカーへのライセンスング・共同研究を希望。
- 次世代シーケンサ用サンプル調整キット、Cas9によるノックインを調べるためのバイオ試薬を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

お問い合わせ先

香川大学産学連携・知的財産センター /
テクノネットワーク四国（四国TLO）
知的財産コーディネーター 山下 春奈

T E L 087-864-2552

F A X 087-864-2537

e-mail h-yamashita@s-tlo.co.jp