

## NEWS RELEASE

広島大学広報室  
〒739-8511 東広島市鏡山1-3-2  
TEL: 082-424-4518 FAX: 082-424-6040  
E-mail: koho@office.hiroshima-u.ac.jp

【本件リリース先】  
文部科学記者会、科学記者会、  
都庁記者クラブ  
広島大学関係報道機関  
山口県教育庁記者クラブ、  
宇都市記者クラブ、  
山口県政記者クラブ

令和7年12月22日



## 遺伝子編集の精度を高める新しい仕組みを開発 ～安全で確実性の高い遺伝子治療や精密さが求められる基礎研究に貢献～

### 論文掲載

#### 【本研究成果のポイント】

- ヒト細胞内で、遺伝子編集を行う際、オフターゲット作用（不要な場所のDNA切断）が起こらずに、目的の遺伝子修復（HDR）が成功した細胞だけを選別する独自スクリーニングシステムを開発しました。
- 本システムを用いて、標的DNAを改変する新規のゲノム編集技術Cas9変異体「HSS Cas9」を獲得しました。HSS Cas9は野生型Cas9よりも特定の標的配列において高いHDR効率を示します。
- HSS Cas9とHDRが活発になる細胞周期制御技術（AcrlIA4-Cdt1）を組み合わせることで、不要な変異（インデル）の発生を大幅に抑制し、遺伝子編集の「正確性（HDR/インデル比）」を最大約30倍以上に向上させることに成功しました。
- 遺伝子編集の精度向上によって、安全で確実性の高い遺伝子治療法の開発や、精密な遺伝子改変が求められる基礎研究分野での活用が期待されます。

#### 【概要】

広島大学大学院医系科学研究科の松本大亮助教（現 東京都医学総合研究所主任研究員）、野村涉教授、山口大学大学研究推進機構中高温微生物研究センターの佐藤悠助教、東京都医学総合研究所 宮岡佑一郎再生医療プロジェクトリーダーらのグループはヒト細胞においてHDRが成功するとジフテリア毒素への耐性を獲得する仕組みと緑色蛍光の消光によりオフターゲット作用を検出する仕組みを利用した、独自のスクリーニングシステムを構築しました。このシステムを用いてCas9変異体ライブラリを探索した結果、2つの新規アミノ酸変異（I795V/K918E）を持つ「HSS Cas9」を同定しました。HSS Cas9は、野生型Cas9と比較して、特定の遺伝子標的（EMX1, VEGFAなど）において高いHDR効率を示しました。さらに、HSS Cas9と細胞周期依存的にCas9を活性化させる技術（AcrlIA4-Cdt1）を組み合わせることで、インデルの発生を強く抑制し、遺伝子編集の正確性（HDR/インデル比）を飛躍的に向上させることに成功しました。本成果は、より安全で高精度な遺伝子治療技術の開発に貢献するものです。

本研究成果は、「Journal of Biomedical Science」（IF=12.1）に令和7年12月3日付でオンライン掲載されました。

＜発表論文＞

論文タイトル

Screening Strategy to Identify Cas9 Variants with Higher HDR Activity Based

# on Diphtheria Toxin

## 著者

松本 大亮<sup>1,2,3,\*</sup>、久保田 小茉利<sup>1</sup>、佐藤 悠<sup>4</sup>、加藤-乾 朋子<sup>3</sup>、濁川 清美<sup>1,2</sup>、  
宮岡佑一郎<sup>3</sup>、野村 渉<sup>1,2,\*</sup>

1. 広島大学薬学部
2. 広島大学大学院医系科学研究科
3. 東京都医学総合研究所
4. 山口大学大学研究推進機構中高温微生物研究センター

\* 責任著者

## 掲載雑誌

Journal of Biomedical Science (IF=12.1)

## DOI 番号

DOI: 10.1186/s12929-025-01197-9

## 【研究助成】

この研究成果は、科研費、JSPS 地域中核・特色ある研究大学強化促進事業（J-PEAKS）JPJS004 20230011、HIRAKU-Global、武田科学振興財団、内藤記念科学振興財団、上原記念生命科学財団、持田記念医学薬学振興財団、鈴木謙三記念医科学応用研究財団の支援を受けて研究を行い、得られたものです。

## 【背景】

ゲノム編集技術は、遺伝性疾患やがんの治療法として期待されています。ゲノム編集技術では、標的とする遺伝子を切断することが必要となります。これまでにジンクフィンガーヌクレアーゼ (ZFN) や TALEN (例: Platinum TALEN) などが開発されており、現在では目的に沿った使い分けが可能な状況となっています。そのなかでも CRISPR-Cas9 は標的配列を自在に特異的に標的化できるという点から、主要なゲノム編集ツールとして汎用されています。これらのツールはいずれも標的とする遺伝子配列を切断する機能を持っています。しかし、DNA を切断した後、あらかじめ用意した正しい遺伝子配列 (テンプレート DNA) を使って正確に修復する「HDR (相同組換え修復)」の効率が低いことが大きな課題でした。ゲノム編集では、多くの場合に標的配列がエラーを伴いやすい「NHEJ (非相同末端結合)」によって修復されてしまい、意図しない変異 (インデル) が生じてしまうためです。精度の高いゲノム編集によってより安全性の高い遺伝子治療が可能となります、この実現には、HDR 効率を向上させることが不可欠です。しかし、これまでに決定的な解決策は示されていません。

## 【研究成果の内容】

研究グループはまず、ヒト細胞内で HDR による修復に成功した細胞だけが生き残り、緑色蛍光タンパク質の消光によってゲノム編集操作における副作用であるオフターゲット作用を検出する、スクリーニングシステムを開発しました (図 1)。このシステムを用いて、Cas9 の DNA 切断に関わるドメインにランダムな変異を導入したライブラリを探索した結果、これまでに報告のなかった 2 つのアミノ酸変異 (I795V/K918E)を持つ変異体「HSS Cas9(HDR-Screening-Selected Cas9)」を発見しました (図 2)。この HSS Cas9 は、野生型の Cas9 と比較して、特定の遺伝子標的において高い HDR 効率を示しました。

さらに、研究グループは HSS Cas9 と、HDR が活発になる細胞周期 (S/G2 期) でのみ Cas9 を活性化させる既存の技術 (AcrIIA4-Cdt1) を組み合わせました。その結果、望まない変異 (インデル) の発生を劇的に抑制しつつ、高い HDR 効率を維持

することに成功。編集の「正確性（HDR/インデル比）」を、標的遺伝子によっては野生型 Cas9 と比べて最大約 30 倍以上に向上させることを実証しました（図 3）。

### 【今後の展開】

Cas9 によるヒト細胞のゲノム編集が報告されてから 10 年以上が過ぎ、基本特許の有効期間も折り返しの 10 年間を迎えていました。今回開発されたスクリーニングシステムは、ランダムな Cas9 変異体の中からヒト細胞内での高精度な修復を起こしやすい変異体を選抜することができます。今後、このスクリーニングシステムに改良を加えながら、より大規模なスクリーニングを実施することで、新たなバージョンの HSS Cas9 の獲得に展開していきます。これによって、より安全で確実性の高い遺伝子治療法の開発や、精密な遺伝子改変が求められる基礎研究分野での活用が期待されます。

### 【参考資料】

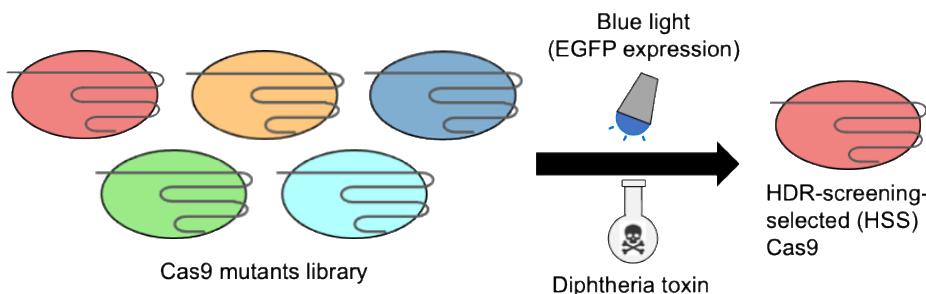


図 1. スクリーニングシステムの概略図

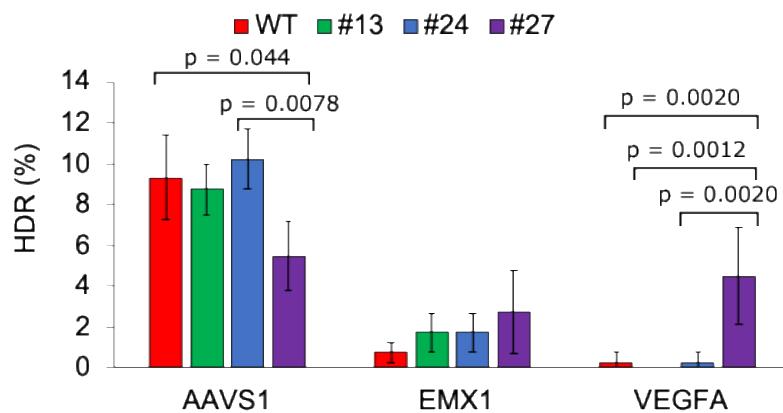


図 2. 獲得した変異体の活性確認（#27 が HSS Cas9）

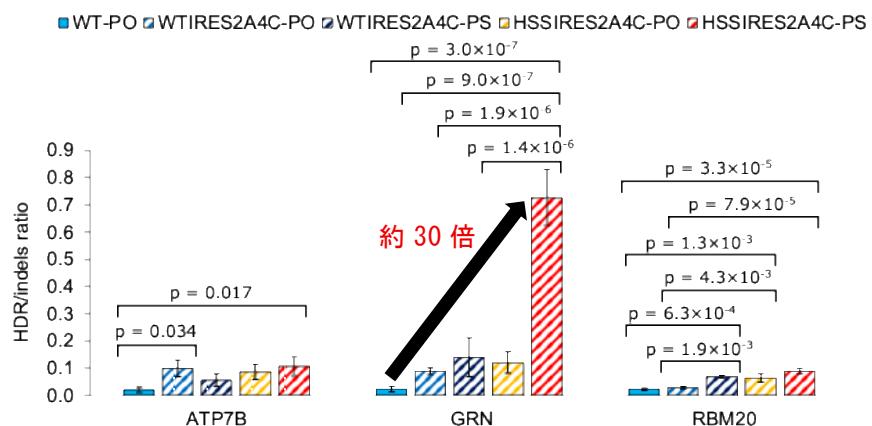


図 3. HSS Cas9 の細胞周期依存的な活性化（WT: 野生型 Cas9, HSS: HSS Cas9, A4C: AcrlIA4-Cdt1, PO: ホスフォジエステル結合の一一本鎖オリゴの鋸型, PS: ホスフォロチオエート結合（末端 3 塩基）の一一本鎖オリゴの鋸型）

【お問い合わせ先】

<研究に関するご質問>

東京都医学総合研究所 主任研究員 松本 大亮  
Tel : 03-5316-3129  
E-mail : matsumoto-ds@igakuken.or.jp

広島大学大学院医系科学研究科 教授 野村 渉  
Tel : 082-257-5308  
E-mail : wnomura@hiroshima-u.ac.jp

山口大学大学研究推進機構  
中高温微生物研究センター 助教 佐藤 悠  
Tel : 083-933-5841  
E-mail : yusato@yamaguchi-u.ac.jp

<報道に関するご質問>

広島大学 広報室  
Tel : 082-424-4518 FAX 082-424-6040  
E-mail : koho@office.hiroshima-u.ac.jp

公益財団法人 東京都医学総合研究所  
事務局研究推進課 乙竹・伊藤  
Tel : 03-5316-3109

山口大学総務企画部総務課広報室  
Tel : 083-933-5007  
E-mail : sh011@yamaguchi-u.ac.jp

発行枚数：A4版 4枚（本票含む）