

Bio Japan, NEDOブース
2021.10.14

新しい塩基編集技術の開発と応用

**New Tools
Lead to
a New World**

Research & Development sec.
CTO Yusuke YAGI

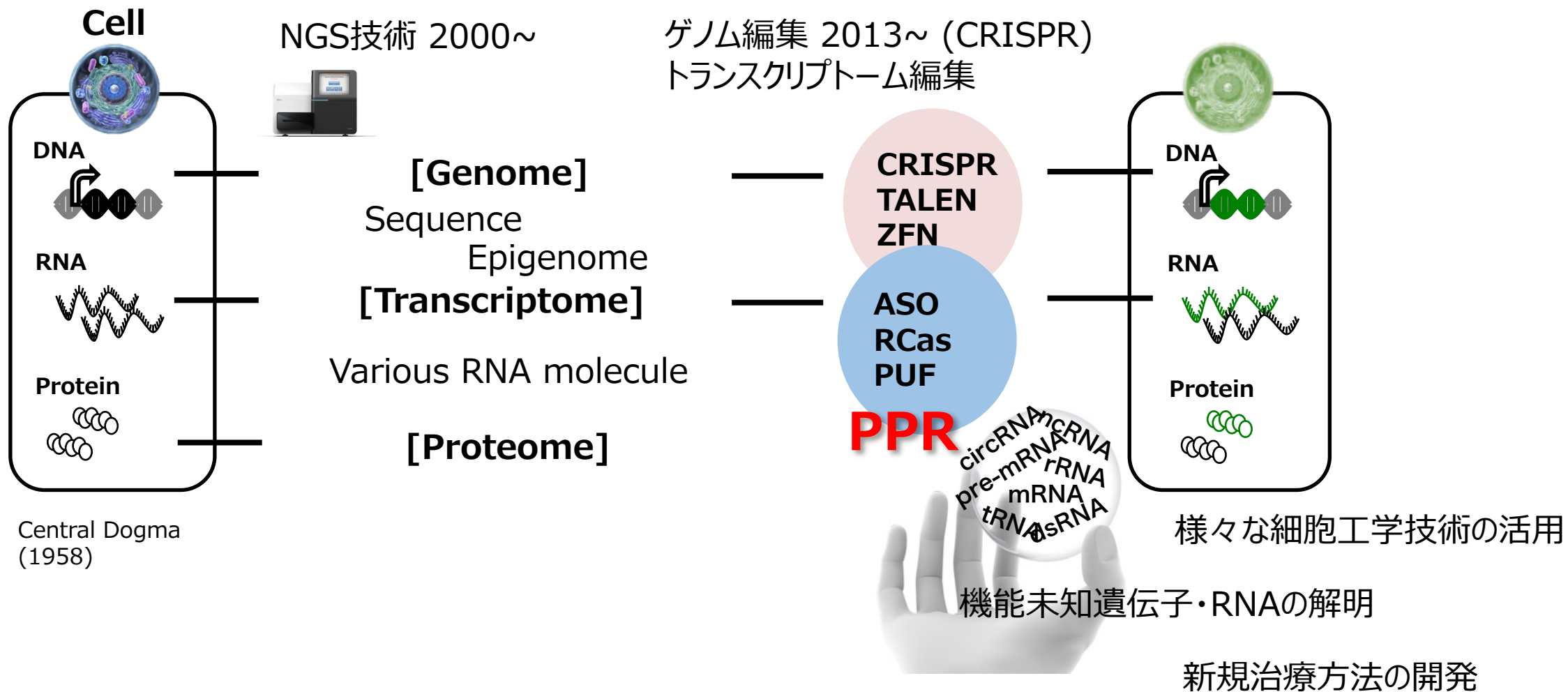
- PPR技術*を医療、工業、農業に展開するために、2015年に設立
- PPR技術とは、PPRタンパク質を利用したRNAまたはDNAを標的とする分子の設計、および利用、に関する当社独自の技術
- 代表取締役社長、CEO：小野高
- 科学顧問：山本卓（広島大学・教授；日本ゲノム編集学会・会長）
- 拠点：福岡（本社・研究拠点）、東京

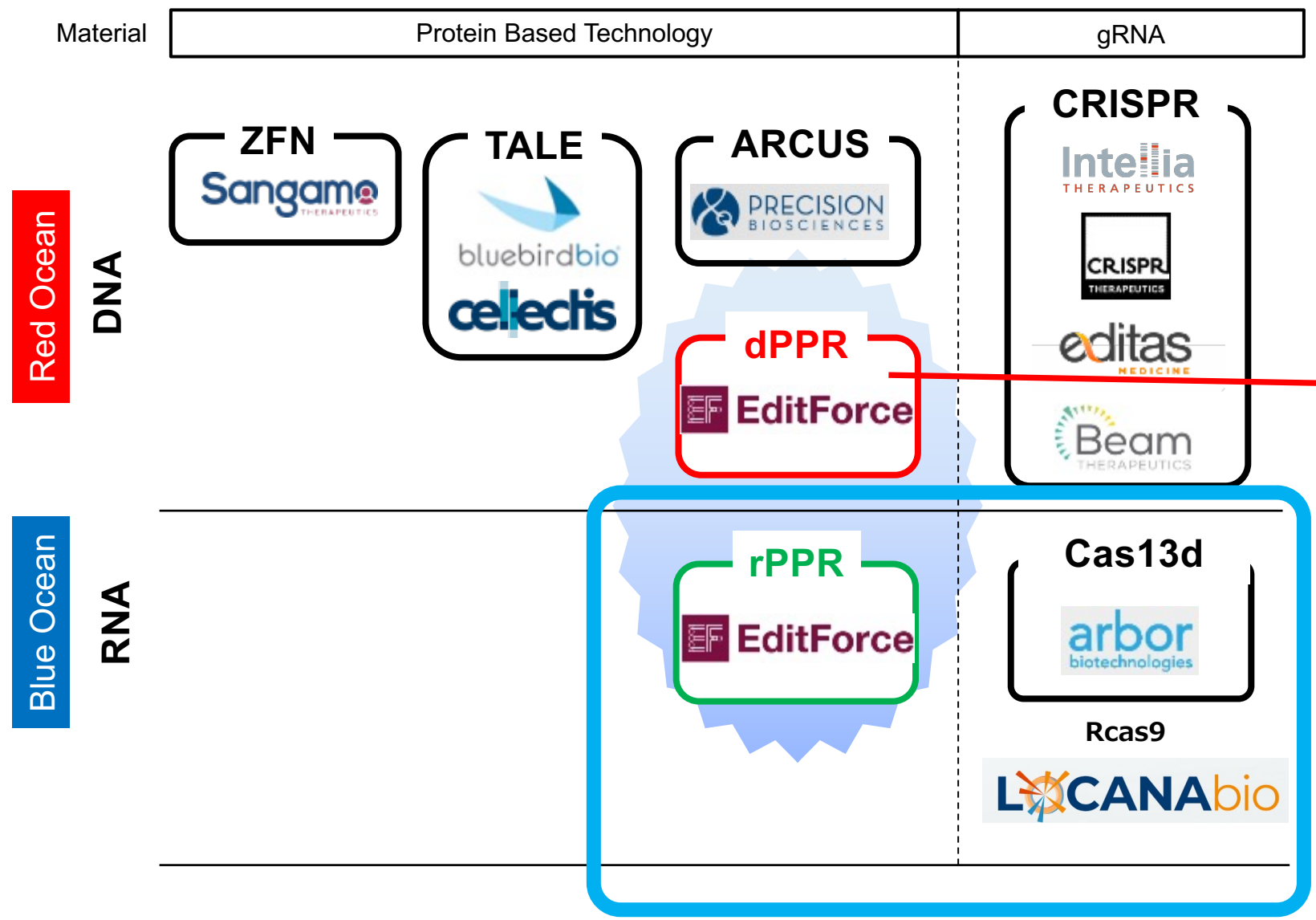
*PPR技術の基盤は九州大学中村崇裕教授の研究グループによって発明



研究拠点
九州大学 ウエスト5号館

塩基情報の “Read” から “Rewrite” の時代へ

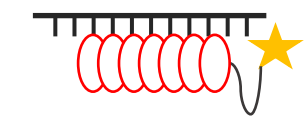
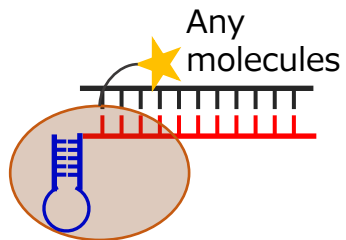
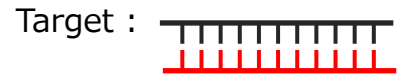




NEDO「遺伝子組み換え植物等の生物を用いた高機能品生産技術の開発」
(2016~2021)



RNA操作（編集）ができる技術



Like ZF/TALE

[Component(s)]

[Targeting methods]

[Application]

Oligonucleotide
ASO

guide-RNA & Endogenous protein
siRNA RESTORE, LEAPER

guide-RNA & Exogenous protein
RNA targeting CRISPR system

Exogenous protein
PUF **PPR**

Nucleic acid
programmable

A : U
G : C

Protein
programmable

TN : A ND : U
NS : C TD : G

Exon skipping

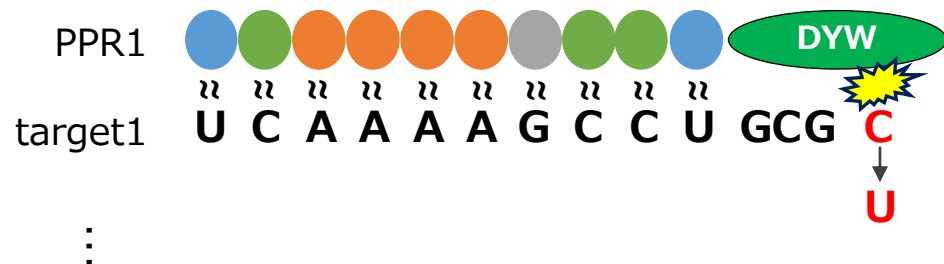
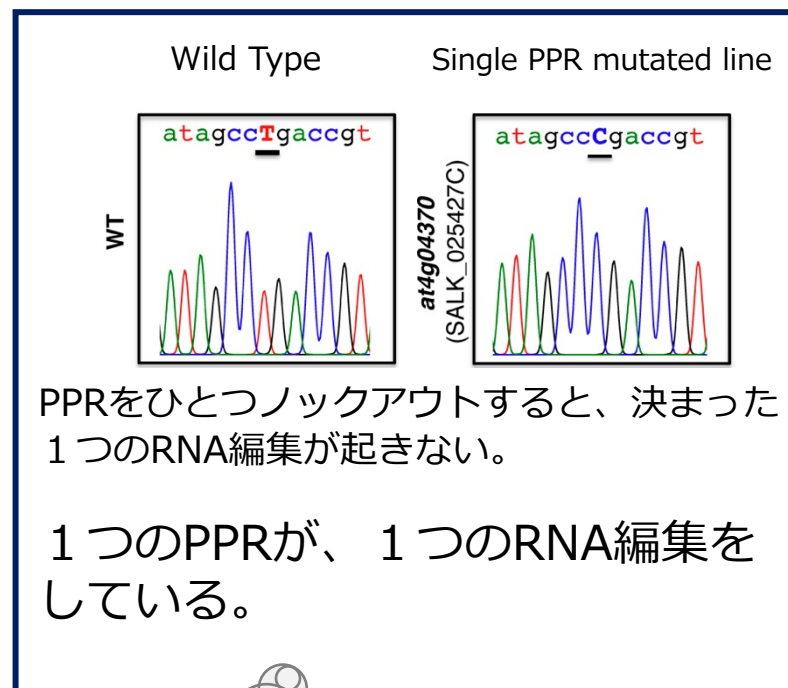
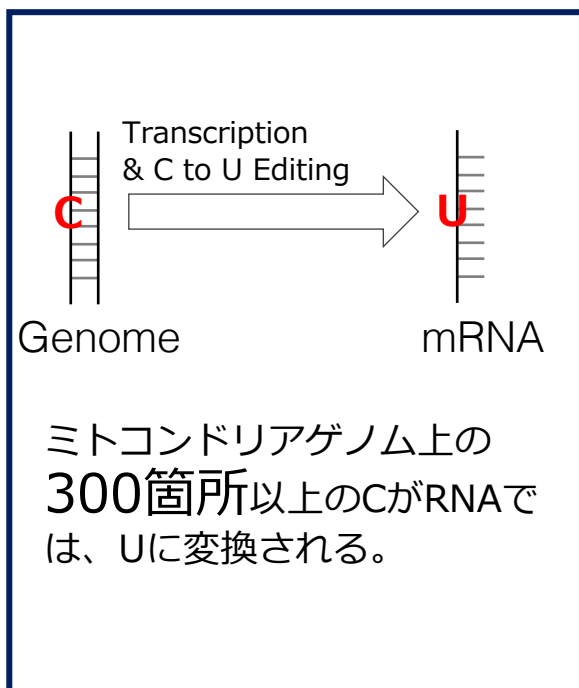
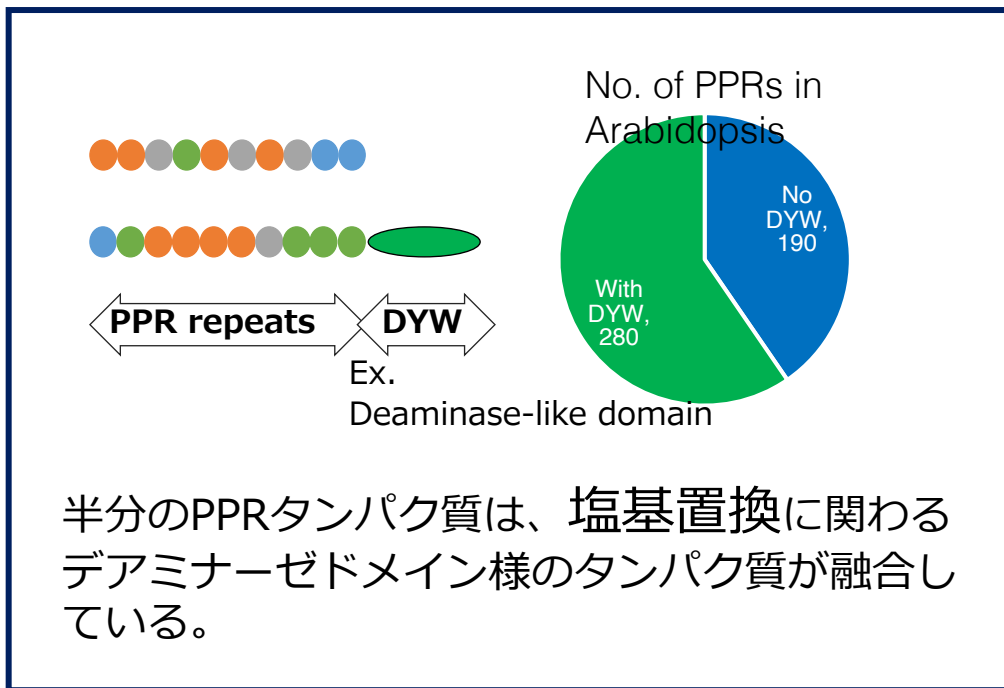
Knock-down
Base editing

Knock-down
Base editing
Exon skipping
Detection

Knock-down
Base editing
Exon skipping
Detection

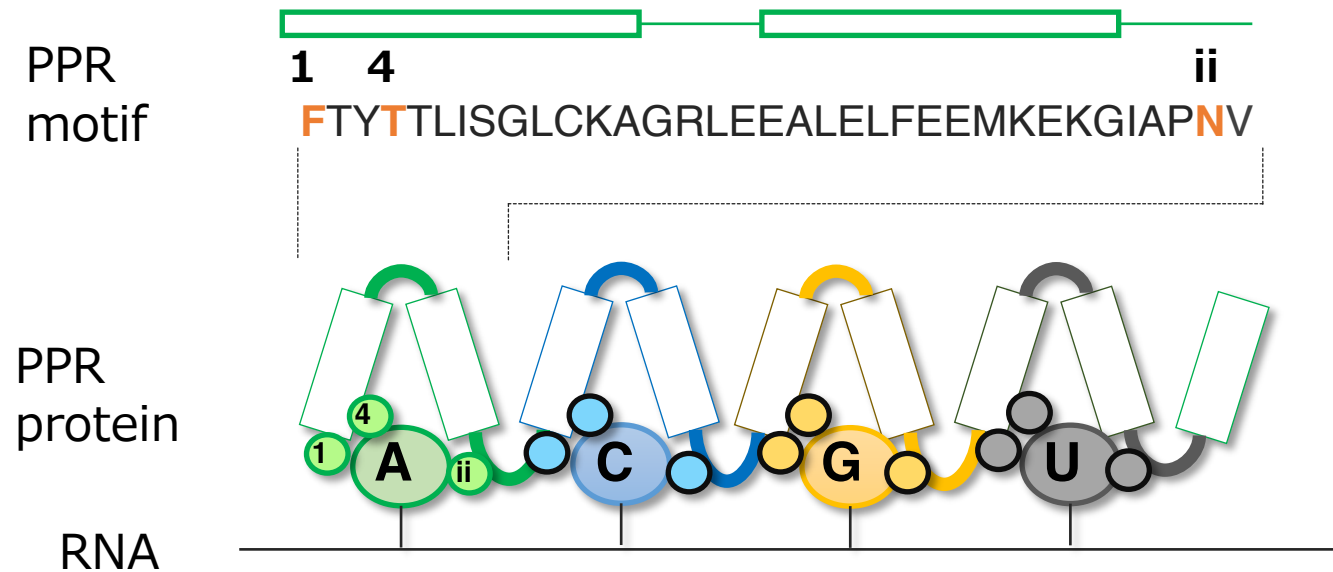
PPRタンパク質：配列特異的にRNAと結合する植物タンパク質

PentatricoPeptide Repeat protein: 特定の35アミノ酸を1ユニットとして複数繰り返しているタンパク質



PPRとRNA編集イベントのリンクを見つければ、配列特異性のメカニズムが分かるかもしれない

配列特異的に結合できる仕組みを説明



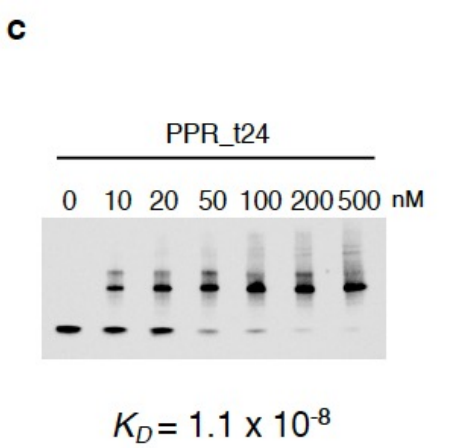
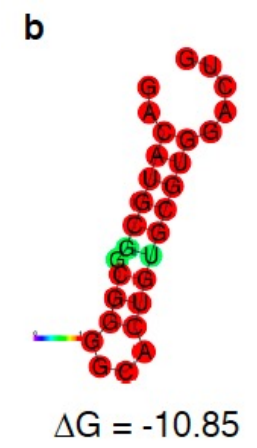
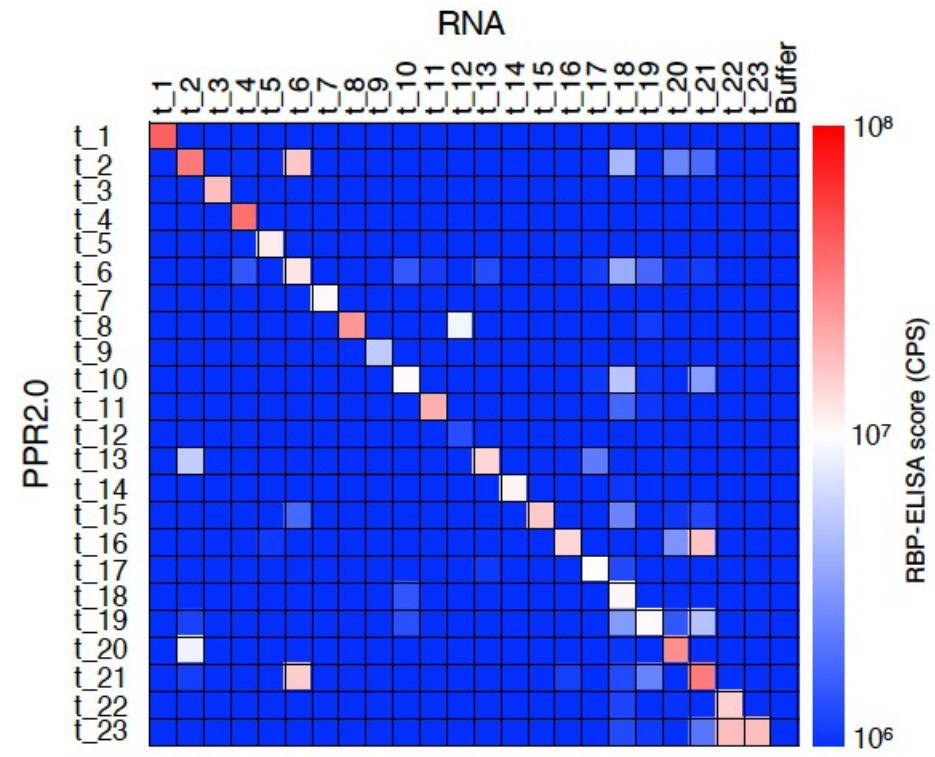
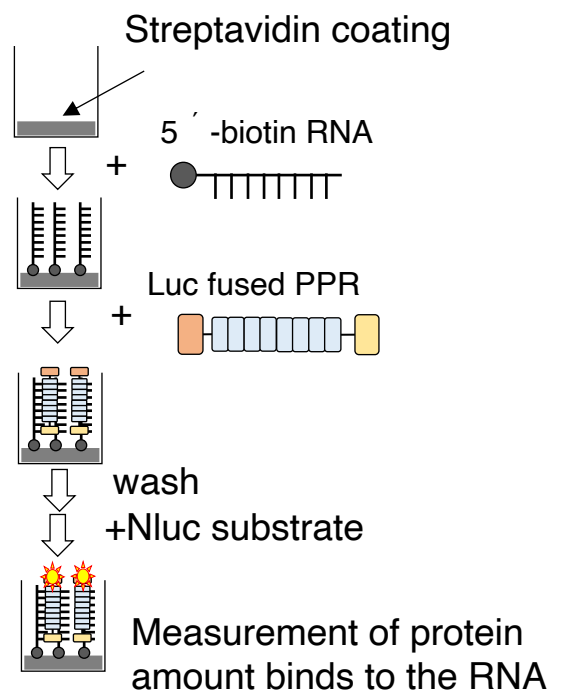
Combination of three A.A.
for each base

Position at 1, 4, ii	Recognized base
F T N	A
V N S	C
V T D	G
V N D	U

Yagi et al., PLoS One (2013)
RNAに結合する人工蛋白質の設計及びその利用
[特許6164488；九州大学]

- 1つのモチーフは、1つの塩基と結合している
- どの塩基と結合するかは、モチーフ内の3箇所のアミノ酸の組み合わせで決まっている。
- 任意のPPRモチーフを連結することで、好きな標的配列に結合する人工RNA結合タンパク質が作成できる

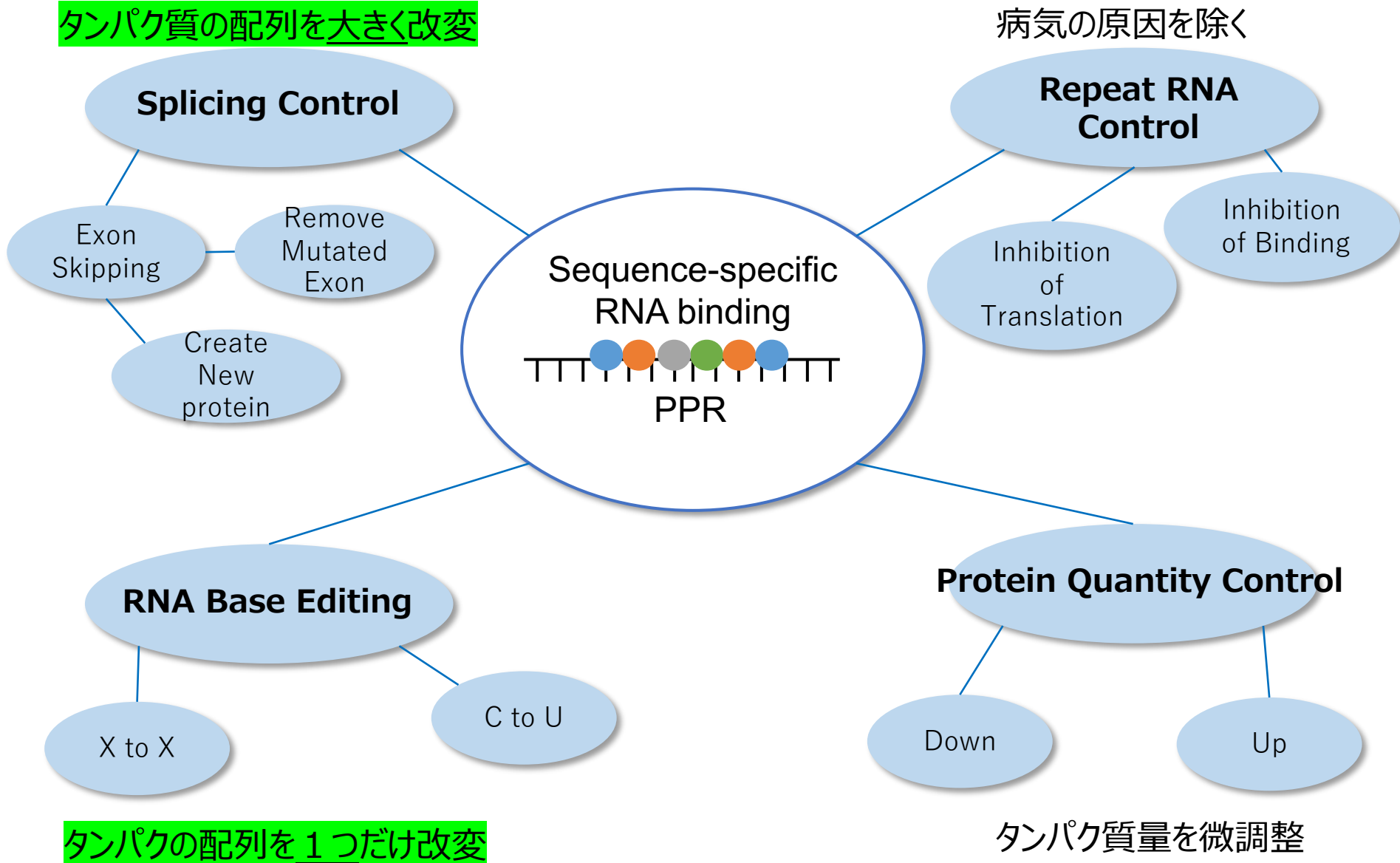
配列特異性がデザイン可能な人工RNA結合タンパク質の作成に成功



23種類の標的配列を用意し、それらに対するPPRタンパク質を設計
 全ての結合を測定し、ほとんどのPPRで標的に対して強い結合を示した

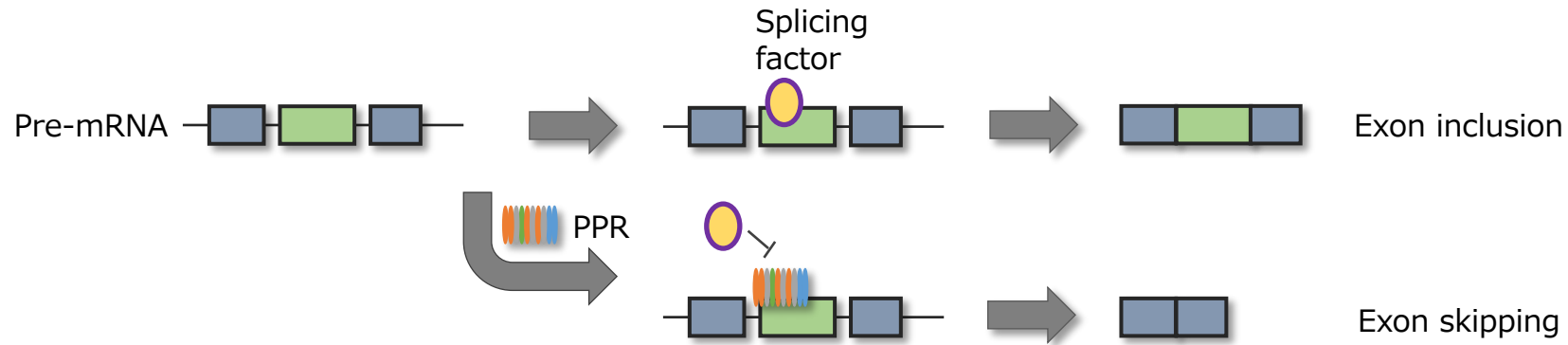
2次構造をとるようなRNAやAT-richのRNAに対しても結合することができるため、
 配列選択自由度が高い

PPRタンパク質を応用した新しい“Rewrite”技術

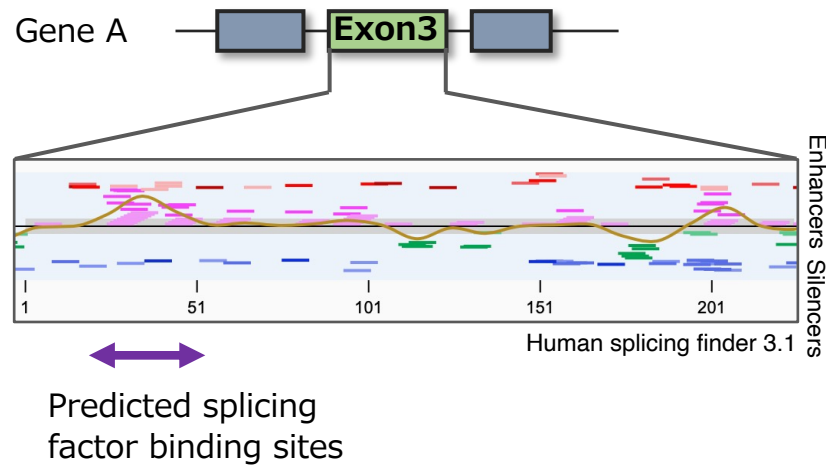


ヒト細胞内で狙ったエクソンをスキップ

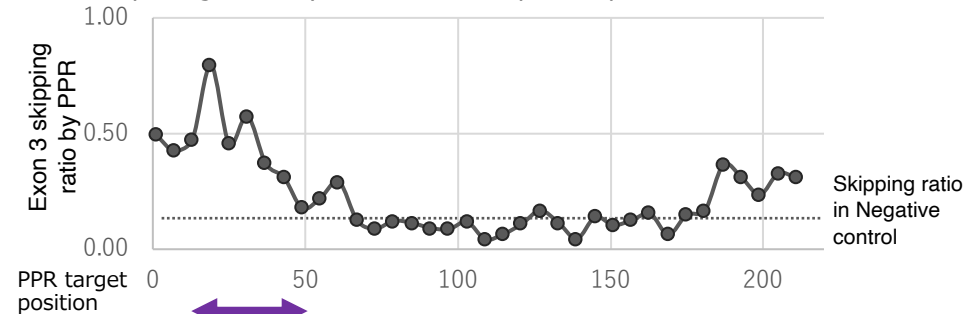
[Mechanism for target exon skipping by PPR]



[Experimentally validation for exon skipping by PPR]



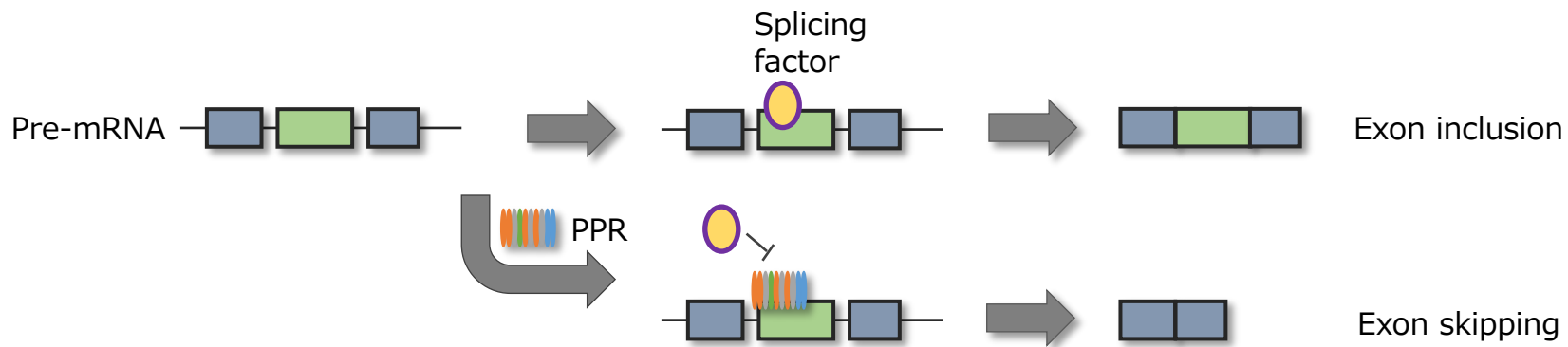
(Method) Create PPRs for this target exon every 6 bases
 Transfection PPR expression plasmids into HEK293T
 Total RNA extraction, Reverse transcription, RT-PCR
 Check splicing ratio by RT-PCR with specific primer sets.



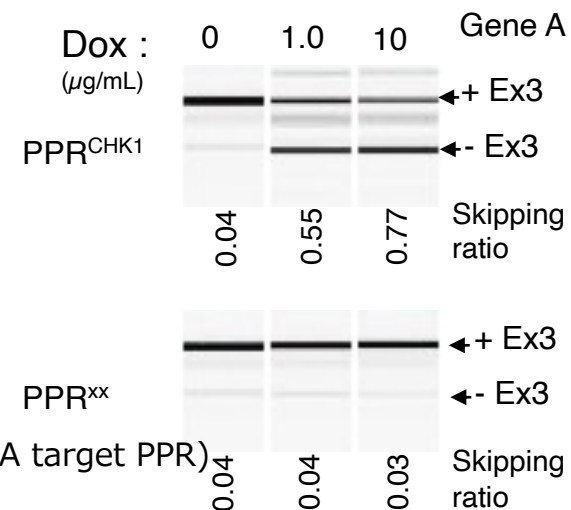
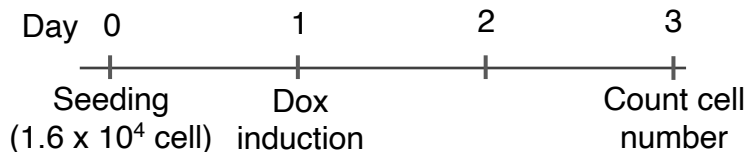
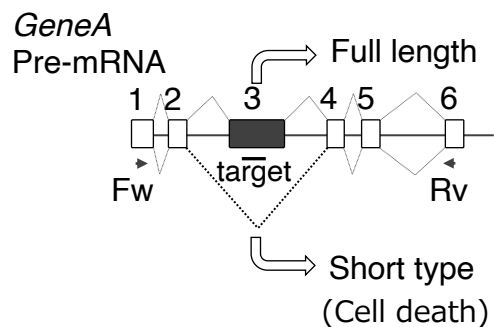
Positions where exon skipping by PPR was observed experimentally.

Dox誘導システムを介したエクソンスキッピング誘導

[Mechanism for target exon skipping by PPR]

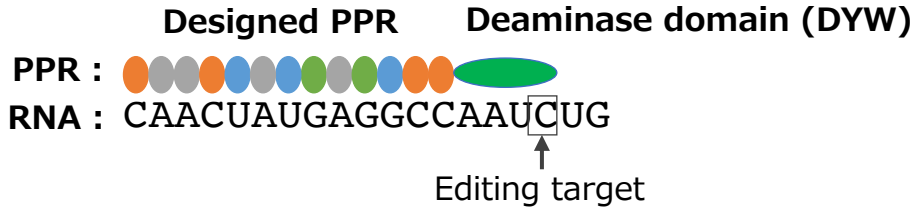


[Inducible exon skipping by Dox addition]

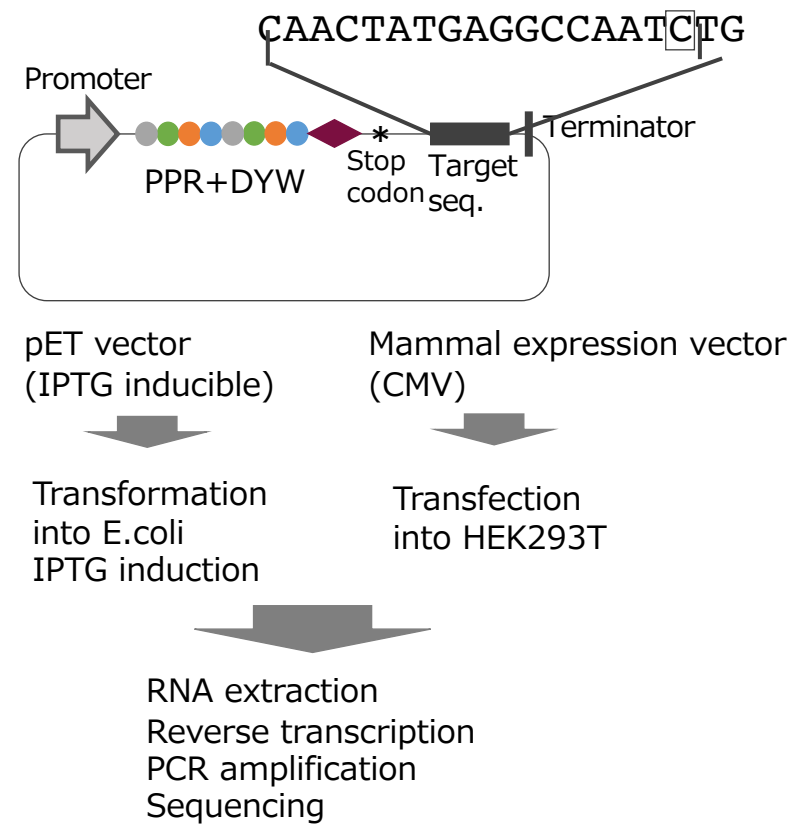


任意のタイミングでスプライシング制御ができる。

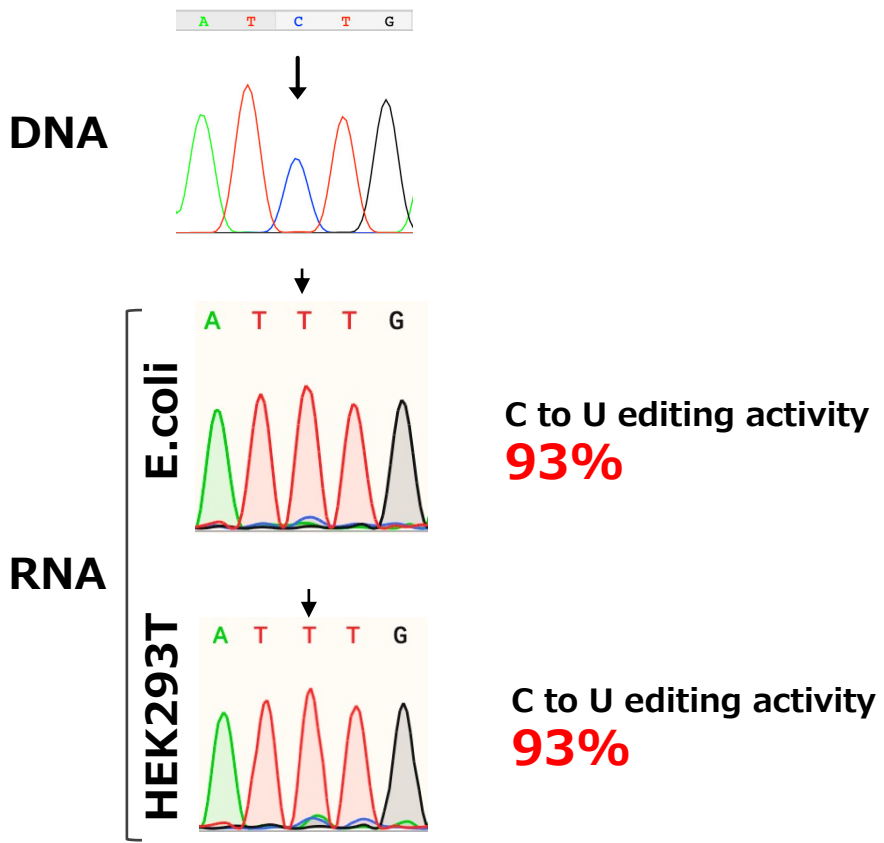
大腸菌・ヒト細胞内で狙ったRNA塩基を書き換え



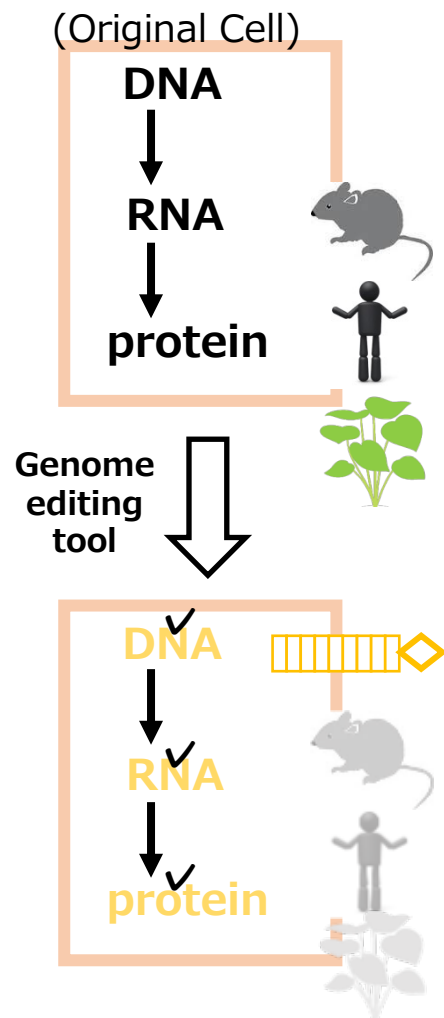
[Method]



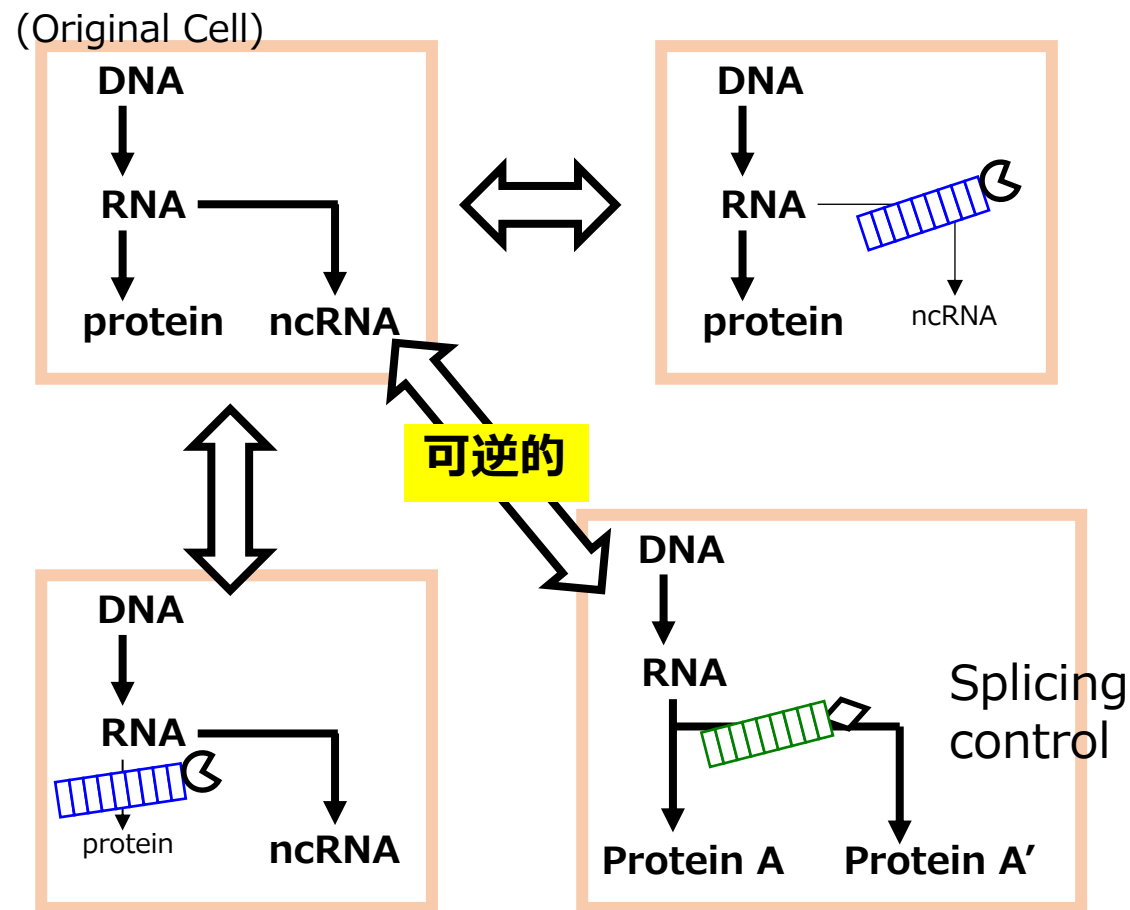
[Measurement of C to U editing efficiency]



ゲノム編集



RNA操作ツール（トランスクリプトーム編集）



量的制御、可逆的な制御ができる
= 精密な細胞改変が可能



EditForce

[About us](#)

[Technology](#)

[Business](#)

[News](#)

[Join](#)

[Contact](#)

[JP](#)

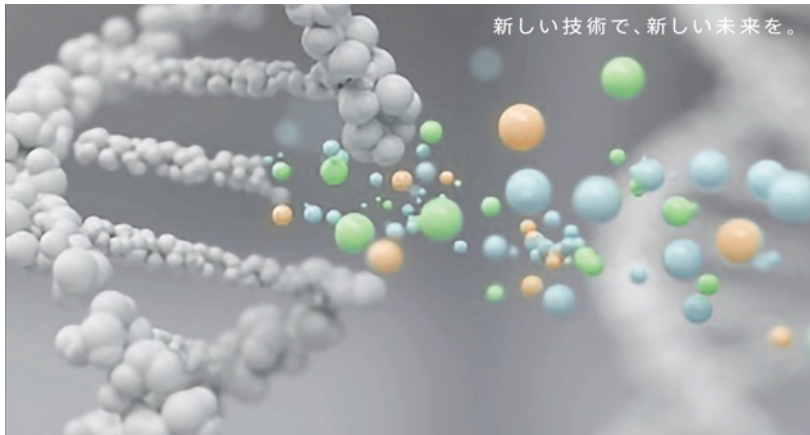
[EN](#)

新しい技術で、新しい未来を。

*New Tools Lead to a
New World*

This document is protected by copyright. No part of this document may be reproduced, adapted, transmitted or stored in any form by any process (electronic or otherwise) without the specific written consent of EditForce Inc. All rights reserved.

本文書はエディットフォース株式会社の著作物であり、本文書の利用は貴社内での検討目的のみに限ります。本文書の紙媒体電子媒体如何に関わらず、エディットフォース社の許可なく、本文書の複写、改変、抜粋等の行為を禁じます。



Website >> www.editforce.jp
Contact >> editforce-info@editforce.jp