

“CRISPR 활용 유전체 교정 기술”

Cpf1 및 키메릭 DNA-RNA 가이드 포함

이름 | 이승환 소속 | 국가영장류센터

적용분야 유전자 치료제(유전체 교정 및 편집)

기술 개요



- CRISPR-Cpf1의 가이드 서열을 키메릭 DNA-RNA로 변경한 유전체 교정 기술
- DNA-RNA 가이드의 3' 말단을 phosphorothioate (PS)로 개질 → 세포 내 3' DNA exonuclease 영향을 획기적으로 감소
- crRNA의 3' 말단의 1~8개 서열을 DNA로 치환 → 높은 정확성 및 절단 활성 확보

기존 기술 대비 장점

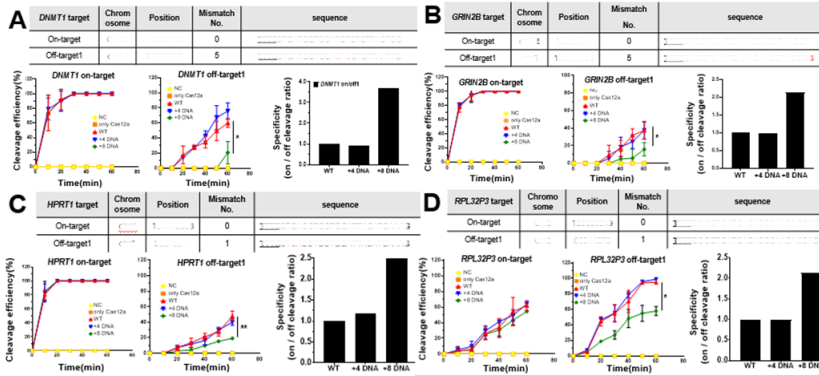


- I. crRNA 가이드를 DNA-RNA로 변경하여 기존 대비 표적 특이성 및 안전성 증가
- II. 오차는 줄이고 효율은 높이는 적정 DNA bp 수 확정
- III. 기존 CRISPR-Cpf1과 유사한 인델 효율 확보 → 유전자 치료의 안정도 높, 정확도 높

연구 결과



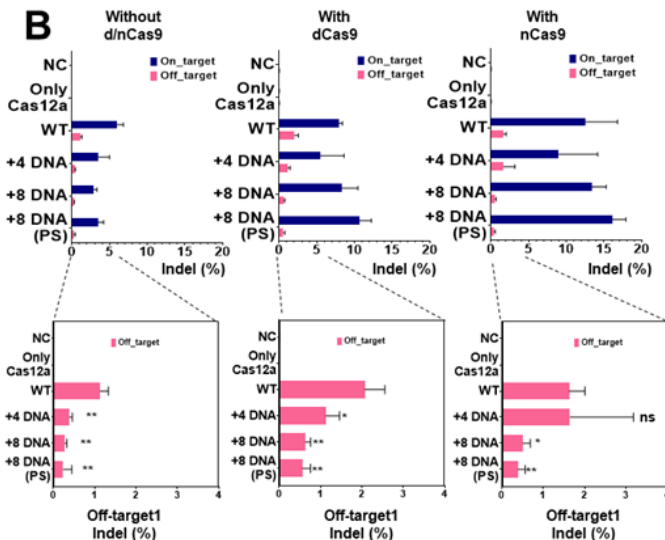
키메릭 DNA-RNA 가이드 기반의 AsCpf1 유전자 가위의 표적 유전자와 비표적 유전자의 절단 효율 비교



A : 키메릭 DNA-RNA 가이드(crRNA의 3'말단 4nt, 8nt 길이의 연속된 DNA 치환, +4, +8은 치환된 DNA 갯수)를 이용한 AsCpf1의 DNMT1 유전자 염기서열 타겟 표적 특이성 비교. On/Off1 비율(파란색)

B,C,D : 키메릭 DNA-RNA를 이용한 AsCpf1의 GRIN2B(B), HPRT1(C), RPL32P3(D) 상 표적 염기서열에 대한 특이성 비교.

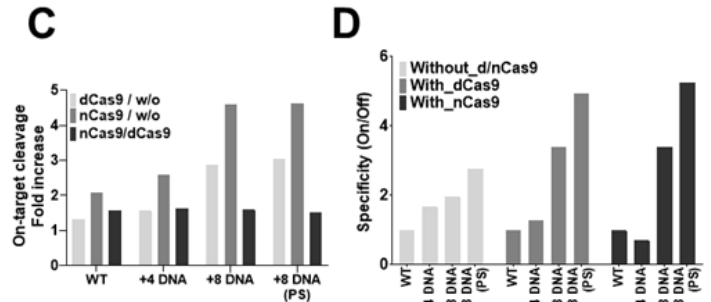
Cas12a(Cpf1) 유전자 교정 활성도 조사



B : 키메릭 DNA-RNA 기반 Cas12a 와 nickase SpCas9 동시전달에 의한 NGS 유전체 교정 효율 분석, +4DNA: crRNA 3' 말단 4nt DNA 치환, +8DNA: crRNA 3' 말단 8nt DNA 치환, PS: phosphorothioate 를 각각 나타냄.

C : dead/nickase SpCas9 복합 처리에 의한 유전체 교정 효율 증가.

D : dead/nickase SpCas9 복합 처리에 의한 유전체 교정 특이성 증가.



지재권 현황



No.	발명의 명칭	특허 번호 (현황)
1	[미공개특허] Cpf1 및 키메릭 DNA-RNA 가이드를 포함하는 유전체 교정 또는 발현 억제용 조성물 공개 예정일 : 2021.06.18.	KR: 10-2019-0170035 (출원, 2019.12.18.) PCT (출원 준비중)