

デリバリー技術の適応によるゲノム編集トマト作出に関する研究

堀 雄希 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 三浦 謙治 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

ゲノム編集とはゲノム上の特定部位を切断できる TALEN や CRISPE/Cas9 などの人工ヌクレアーゼを用いて目的の配列に DNA 二重鎖切断を誘導し、DNA 修復機構を発動させて任意の配列を改変する技術である。二重鎖切断時の修復機構には非相同末端再結合 (Non-Homologous End-Joining: NHEJ) と相同組換え (homologous recombination: HR) があり、NHEJ 経路を利用すると遺伝子のノックアウトが行われ、HR を利用すると切断部位に外来の遺伝子のノックインが行われる。

ゲノム編集は基礎研究分野をはじめ、創薬、再生医療、作物の品種改良などさまざまな分野において活用が期待されている技術である。例えば、基礎研究分野では変異体作製が困難であった多くの生物で、目的の変異体の作製が報告されている。さらにレポーター遺伝子の挿入も可能であるため、遺伝子発現のライブイメージングにも今後広く利用されることも予想されている。応用分野の例として創薬を考えた場合、ゲノム編集によって病態を反映したモデル細胞またはモデル動物の作製がより簡易になる。これまでの技術ではそれらモデル系の構築に長い年月を要し、また複数遺伝子を同時に改変することは極めて困難であった。しかしゲノム編集技術を用いることで短時間に多くのモデル系を構築することが可能となるだけでなく、複数の遺伝子を同時に改変することも可能となった。植物においてもゲノム編集の適応例が報告されている。例えば、コムギにおける病害耐性株の作出などである。ただ、現状、植物において目的の遺伝子をノックアウトするには、Cas9 タンパク質と標的遺伝子への Cas9 の誘導を行う RNA がコードされた配列をアグロバクテリウム法やパーティクルガン法などの方法で植物のゲノムに組み込む方法が主流である。この方法で得られた植物は Cas9 遺伝子組換え体であり、ヌルセグレガント (目的の遺伝子がゲノム編集されており、なおかつ Cas9 遺伝子が除去された植物体) を得るには戻し交配をする等が必要となり、作製までに時間がかかる。

そこで本研究では標的遺伝子を破壊するように設計した gRNA および Cas9 タンパク質を直接細胞内へ輸送させることで、目的の変異体の作出の短期間化、及び組換え体を経ずに変異体を作製することを目的とした。

【結果と考察】

詳細は発表会にて報告する。

【今後の予定】

Cas9 を導入する際の時間や組成などの条件を変化させていき、結果に影響がでるかを見ていきたいと考えている。