

課題名	系統保存の高信頼化を可能にする基盤技術整備
課題管理者	近藤 周 国立遺伝学研究所 遺伝メカニズム研究系
実施期間	2017 - 2018 年度
概要・実施体制	<p>現在ショウジョウバエ系統の維持は、継代飼育によって行われている。継代飼育の性質上、飼育中のアクシデントや、遺伝的組換えによる遺伝形質の消失により、重要な系統が失われるリスクを完全に排除することはできない。従って、より安定的に系統を維持する方法を確立するとともに、万が一失われた系統については同等の遺伝的形質を迅速に復元する技術の開発が求められている。さらに、ストックセンターで維持される系統の数は毎年増え続けており、省力化・省スペース化を可能にする抜本的な新規保存方法の開発も急務である。本課題ではこれらの問題点を解決するため、次の基盤技術整備を行った。(1) 長期かつ安定的に系統を保存する新技術として、始原生殖細胞の凍結保存方法を実用レベルまで効率化した。(2) 継代飼育における遺伝的安定性を高めるため、組換えを完全に抑制し、より安定的に遺伝形質を維持することが可能な新規バランサー染色体の開発を行った。</p>
成果	<p>【概要】</p> <p>バランサー染色体は遺伝的組換えを防ぐことにより、劣勢致死変異等をヘテロ接合体として安定的な維持を可能にするツールである。組換え抑制はバランサー染色体上に存在する複数の染色体逆位に依存するが、逆位の大きいとその内部で二重交叉が起り、低頻度ながら組換えが起きるとい問題がある。本課題では、既存のバランサー染色体の大きな逆位領域に新たな逆位を追加導入し、逆位領域をさらに細かく分割することで、組換えの完全抑制を可能にするバランサーを開発した。2017 年度は、X 染色体のバランサーである FM7i への逆位追加導入を行った。FM7i の逆位の一つは 4E1-11F2 領域に存在するが、この逆位は 33cM の遺伝的距離があり大きいため、組換えを完全に抑制できない。まず、この逆位の内部が 3 分割されるように、phiC31 組換え酵素の認識配列である attP 及び attB 配列を一つずつ逆向きに挿入した。ゲノムへの組み込みには CRISPR/Cas9 を用いたノックイン法を適用した。attP/attB を持つ FM7i 系統と phiC31 を発現する系統を交配し、attP/attB 間での組換えを誘導、次世代で逆位が追加誘導された個体を選択した。尚、組換えにより可視マーカーの発現が消えるようになっており、目視で組換え個体を選択できるようになっている。この個体から安定した系統を樹立し、新規バランサー系統として確立した。次年度よりこの系統の性能チェックを行う。</p>