

課題名	ゲノム編集技術を用いた効率的遺伝子ノックイン系統作製システムの開発
課題管理者	佐藤 豊 国立遺伝学研究所 遺伝形質研究系
実施期間	2017 - 2018 年度
概要・実施体制	遺伝子導入が可能な野生イネ系統を公開することにより、野生イネ遺伝資源の利活用促進を目指している。具体的には、カルスによる遺伝子導入が不可能な野生イネ系統について、約 100 系統を目標に未熟胚を用いた遺伝子導入を試みる。
成果	<p>【概要】</p> <p>本事業では、中核的拠点整備プログラムにおける野生イネリソース利用者拡大を図るため、CRISPR/cas9 システムを野生イネでも使えるように基盤技術の整備を行う。具体的には、(1)野生イネにおける遺伝子導入系を確立し、(2)CRISPR/cas9 によるゲノム編集を野生イネで試みる。</p> <p>(1) 代表的な近縁・遠縁野生イネ系統を用いた遺伝子導入条件の検討</p> <p>栽培イネの遺伝子導入条件に不適合の野生イネ系統について、未熟胚を用いた遺伝子導入条件の検討を行った。未熟胚を用いた遺伝子導入は、通常のカルスを用いた遺伝子導入より効率が低いと言われており、カルスからの遺伝子導入ができないトウモロコシ等遺伝子導入が難しい他のイネ科植物に用いられている。平成 29 年度に、約 15 系統の野生イネで未熟胚を用いて実際に遺伝子導入を試みた。平成 29 年度 3 月の段階でこのうち 4 系統には未熟胚に遺伝子導入されていることが確認できており、現在再分化を待っている。遠縁野生イネは遺伝的に非常に多様であり、遺伝子導入に条件も系統によって様々であることが予想される世界的にもこれまで全く検討されてこなかった未知の領域である。平成 30 年度は 100 系統を目標に未熟胚を用いた遺伝子導入条件を検討し、成功したものについてその方法・条件を Oryzabase 等から公開する予定である。</p> <p>(2) CRISPR/cas9 システムによる近縁野生イネ遺伝子への突然変異の導入</p> <p>カルスを用いた通常の栽培イネの再分化・脱分化条件の適用が可能な数種類の近縁野生イネ系統を対象に、CRISPR/cas9 システムによる標的遺伝子への欠失変異の導入個体を作成し、その表現型を確認する。標的遺伝子には、再分化後の比較的早期に変異表現型の評価が可能で、一つの遺伝子破壊で容易に変異表現型が識別でき、かつ分子機能が既知の遺伝子を対象として選んである。平成 29 年度中に 4 系統の近縁野生イネでガイド RNA と cas9 を発現する再分化個体を得ている。一部初期再分化個体で表現型も確認できつつある。平成 30 年度は残りの再分化個体の表現型観察とゲノタイプ確認を行い、イネ遺伝子導入の常套法で CRISPR/cas9 が可能な近縁野生イネリストを今後の高度利活用につながる情報として公開する予定である。</p> <p>【学会・シンポジウム等における口頭・ポスター】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 野生イネ集団 (<i>Oryza rufipogon</i>) を用いた種子形質制御因子の GWAS 解析, 口頭, Nhung Ta, 佐藤 (志水) 佐江, 高橋 (野坂) 実鈴, 鈴木俊哉, 佐藤豊, 日本育種学会第 133 回講演会, 2018/3/25, 国内. (口頭) <p>【「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 植物の高い再生機能・全能性について①, 野々村賢一, ラジオ『サイエンス NOW』(ボイスキュー: エフエムみしま・かなみ 毎週日曜日 12:00~12:30), 2017/7/23, 国内. 2. 植物の高い再生機能・全能性について②, 野々村賢一, ラジオ『サイエンス NOW』(ボイスキュー: エフエムみしま・かなみ 毎週日曜日 12:00~12:30), 2017/7/30, 国内. 3. 佐藤先生について①, 佐藤豊、野々村賢一, ラジオ『サイエンス NOW』(ボイスキュー: エフエムみしま・かなみ 毎週日曜日 12:00~12:30), 2017/11/26, 国内. 4. 佐藤先生について②, 佐藤豊、野々村賢一, ラジオ『サイエンス NOW』(ボイスキュー: エフエムみしま・かなみ 毎週日曜日 12:00~12:30), 2017/12/3, 国内. 5. 遺伝研のさくら, 野々村賢一, 静岡朝日テレビ『夕方情報ワイドとびっきり静岡』(毎週月曜日から金曜日 16:45~), 2018/3/23, 国内