

スギ細胞へのタンパク質直接導入方法の確立 — ゲノム編集技術の効率化に向けて —

1. はじめに

人工DNA切断酵素を用いて狙ったDNA領域を任意に改変する「ゲノム編集技術」は、2012年に発表されたCRISPR/Cas9システムにより瞬く間に広まり、その革命的なインパクトの大きさは、発表からわずか8年後の2020年に、開発者のエマニュエル・シャルパンティエとジェニファー・ダウドナ両氏にノーベル化学賞が授与されるという形で示されました。現在では高精度・高効率・制御可能な改良型ゲノム編集技術の開発が国内外で猛烈なスピードで進められています。また、日本では、ゲノム編集トマトが筑波大学発のベンチャー企業により上市されるなど、ゲノム編集技術は我々にとってより身近なものとなっています。

2. 樹木におけるゲノム編集技術の課題

植物にゲノム編集をする際は、遺伝子組換え技術により、ゲノム編集遺伝子発現カセットをゲノムDNAに一旦挿入する手法が一般的で、スギのゲノム編集においても同じです。挿入された外来遺伝子は交配により除去可能です。しかし、樹木において交配作業は数年単位の長い期間が必要です。さらに、遺伝子組換え技術が確立していない有用樹木は数多くあり、遺伝子組換え技術を利用しないゲノム編集の手法が求められてきました。

3. 「直接導入」によるゲノム編集の利点

近年注目されているのが、DNA切断酵素を細胞内に送達する「直接導入」という手法でゲノム編集する方法です(図)。導入したDNA切断酵素は一定期間の後、細胞内で分解されます。また、得られた植物体に外来の核酸が含まれていないことが確認されれば「遺伝子組換え生物」には該当しません。すなわち、本手法は交配による外来遺伝子除去という工程を省けるという、大きな利点があるのです。動物細胞において直接導入によるゲノム編集技術はすでに確立しており、広く行われています。しかし、強固な細胞壁に覆われた植物細胞において、効率的な直接導入方法は確立していませんでした。

4. スギ細胞へのタンパク質直接導入方法の確立

そこで、我々は新規の膜透過性ペプチド「ポリヒスチジン」¹⁾を利用することで、スギ細胞へのタンパク質直接導入を試みました。様々なポリヒスチジン分子を検討することで、赤色蛍光タンパク質や酵素タンパク質をスギ細胞へ効率良く直接導入することに成功しました²⁾。さらに、ポリヒスチジンによるタンパク質直接導入はスギ細胞以外にもイネやタバコの培養細胞においても成功したことから、スギ以外の樹種への利用も期待されます。

5. 今後の展開

現在我々は本技術を応用した、直接導入によるゲノム編集技術の確立を目指しています。本技術は樹木におけるゲノム編集技術の完成形ともいえるもので、広い範囲の樹種に適用できるよう研究を進めてまいります。

- 1) アミノ酸の一種ヒスチジンが連続して8~20個連なるポリペプチドの総称。
- 2) Tanaka Y, Nanasato Y, et al. Direct protein delivery into intact plant cells using polyhistidine peptides. Biosci Biotechnol Biochem 2021;85:1405-1414.

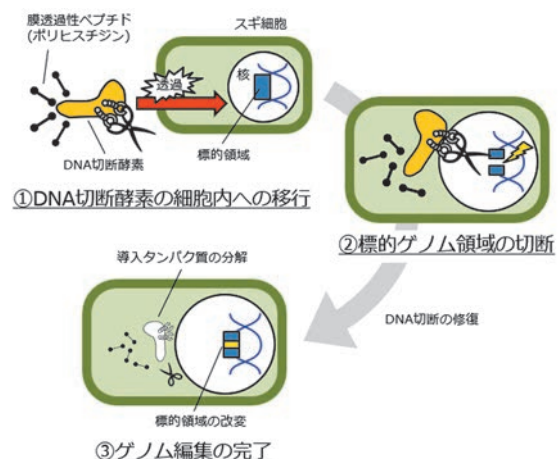
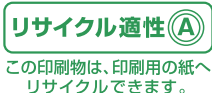


図 直接導入によるゲノム編集の概要

(森林バイオ研究センター 七里 吉彦)

表紙タイトル写真

特定母樹の採種園産種子によるスギ実生コンテナ苗の育成。



林木育種情報 No.37

令和3年7月30日発行

国立研究開発法人 森林研究・整備機構

森林総合研究所林木育種センター

〒319-1301 茨城県日立市十王町伊師 3809-1

TEL : 0294-39-7000 (代)

FAX : 0294-39-7306

ホームページ <https://www.ffpri.affrc.go.jp/ftbc/index.html>