

貞明皇后記念蚕糸科学賞

「カイコにおけるゲノム編集技術の開発と産業利用に向けた高度化」

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

生物機能利用研究部門

高須 陽子 / 坪田 拓也

功 績 概 要

1 研究の背景と経緯

豊かな遺伝資源と高度な蚕糸関連技術を背景に、日本はカイコをモデル生物として用いた遺伝学、生理学研究において世界をリードしてきた。2008年にはゲノムの解読により、カイコが1万6千以上の遺伝子を持つことが予想されたが、それら遺伝子の機能を解明する手段は限られていた。ごく一部の遺伝子については、その遺伝子が機能しない突然変異系統のカイコに遺伝子組換え技術を適用して機能を回復させることで、機能の特定が可能であったが、大部分の遺伝子については機能を解明するための有効な手段がなかった。

初期のゲノム編集ツールであるジンクフィンガーヌクレアーゼ (ZFN) は、DNA 配列を認識する部位と DNA を切断する部位を組み合わせた人工の酵素であり、配列認識部位を変化させることで、特定の遺伝子のみを切断するよう設計できる。切断された遺伝子は細胞の修復機構により再結合されるが、その際、修復ミスが起こることで遺伝子が破壊 (ノックアウト) されることがある。すなわち、機能を解明したい遺伝子の塩基配列がわかれば、その遺伝子を切断する ZFN を作用させて遺伝子の機能を失わせ、得られた表現型からその機能を推定することが可能である。受賞者は、この有力な遺伝子改変ツールを世界で初めてカイコに適用し、カイコにおけるゲノム編集利用の基盤を築いた。

2 研究の内容と意義

カイコにおける ZFN の動作を検証するために、皮膚が半透明になる油蚕変異の原因遺伝子を標的としてゲノム編集を試みた。この遺伝子を切断する ZFN をデザインし、mRNA として正常なカイコの受精卵に注射したところ、次世代の幼虫に油蚕が得られたことから、ZFN によるゲノム編集がカイコでも有効であることが確認された。しかし、それぞれ異なる配列を標的とした7組の ZFN のうち変異を導入できたのは1組のみであった。2010年に発表された Transcription activator-like effector nuclease (TALEN) は、この ZFN の欠点である成功率の低さを大きく改善するゲノム編集ツールであった。油蚕原因遺伝子を利用した動作検証の結果、すべての標的に

いてゲノム編集が成功した。さらに、TALEN の構造をカイコの初期胚において高い効果が得られるよう最適化することで、ゲノム編集効率が劇的に向上し、比較的容易に遺伝子ノックアウトカイコが作製できるようになった。

遺伝子を壊すノックアウトに加え、遺伝子配列を思い通りに変更するノックインについても、カイコを用いた物質生産や新素材開発のために重要な技術であることから検討を重ねた。一本鎖 DNA を配列ドナーとして加えることでアミノ酸置換等の比較的小さな配列の変更が可能であった。さらに大きな変異を起こす遺伝子ノックインについては、PITCh 法および相同組み換え法で成功し、受精卵に導入したドナープラスミドとゲノムが生体内で同時に切断されることが重要であると考えられた。

現在、カイコのみならず多くの昆虫においてゲノム編集が可能になりつつあり、この流れは TALEN よりさらに簡易に利用できる CRISPR/Cas9 の登場によって加速した。当初目的とされていた遺伝子機能の解明手段としてのゲノム編集は、すでに多くの研究者に利用される標準的な研究ツールとなっている。カイコゲノムへの遺伝子ノックイン技術についてはまだ成功例は少ないものの、画期的なシルクの開発や有用タンパク質の生産性向上への応用において産業界からの注目を集めている。