

講演番号：3A28a12

講演日時：3月17日 11:21～ 共通講義棟北 A28 会場

コムギにおける *in planta* ゲノム編集技術の開発

Development of *in planta* genome editing technology in wheat

濱田 晴康²、LIU Yuelin¹、LINGHU Qianyan¹、柳楽 洋三²、三木 隆二²、田岡 直明²、○今井 亮三¹ (¹農研機構生物部門、²(株)カネカ)

Haruyasu HAMADA², Yuelin LIU¹, Qianyan LINGHU¹, Yozo NAGIRA², Ryuji MIKI², Naoaki TAOKA², ○Ryozo IMAI¹ (¹NIAS, NARO, ²Kaneka Co)

作物の形質転換やゲノム編集は通常カルス培養や組織培養を必要としており、培養特性や再分化効率等の優れた特定の品種に実施範囲が限定されるのが大きな問題である。コムギにおいても、一部の外国品種のみが形質転換可能あり、国産主要品種における形質転換成功例は殆どない。一方、組織培養を経ず、植物体の状態で形質転換を行う、いわゆる *in planta* 法がシロイヌナズナで確立されているが、作物における成功例は極めて少ない。我々は、コムギを材料に、国産実用品種にも適用可能な再現性の高い形質転換法 (*in planta* particle bombardment (iPB)法)を開発した (Hamada et al. *Sci Rep* 2017)。そこで、本研究では、iPB 法をゲノム編集に適用したコムギ *in planta* ゲノム編集技術の確立することを目的とした。

iPB 法は吸水後のコムギ種子を供試し、実体顕微鏡下で胚より鞘葉および葉原基を取り除き、茎頂分裂組織を露出させる。切り取った胚をプレート上に並べ、DNA を付着させた金粒子を茎頂 L2 層に存在する生殖系列細胞をターゲットにパーティクルガンで導入する。撃ち込み後の胚より植物体を成長させ、PCR による遺伝子導入個体の選抜後、次世代に遺伝する種子を選抜する。iPB 法は、形質転換体作製以外にも、一過的発現系としても利用できることに着目し、CRISPR-Cas9 システムを用いたゲノム編集を試みた。変異導入遺伝子としては千粒重に関わる *TaGASR7* を選択し、これに対してデザインされた gRNA 及び Cas9 遺伝子を導入マーカー (GFP) 遺伝子と共に金粒子にコートしてパーティクルガンを用いて種子胚茎頂に導入した。ボンバードした 210 個の胚から生育させた植物個体のうち、11 個体 (5.2%) で目的部位に変異が検出され、3 個体 (1.4%) で変異の次世代への遺伝が観察された。遺伝分離後の T1 世代において、A, B, D ゲノムの全 *TaGASR7* 遺伝子に変異し、完全にノックアウトされた個体が複数得られた。また、得られた変異体について、Cas9, gRNA 遺伝子断片の挿入は検出されなかった。以上の結果から、種子胚茎頂の L2 細胞において、導入した CRISPR-Cas9 遺伝子の一過的発現による変異が誘導され、花粉等生殖細胞を経て、次世代に変異が遺伝することが明らかとなった。

iPB 法はコムギに以外にも多様な作物品種に適用可能であり、RNP やタンパク質の導入も可能であることから、次世代作物ゲノム編集技術として有望である。

genome editing, wheat, particle bombardment

発表責任者：今井亮三 (rzi@affrc.go.jp)