

講演番号：3D4a03

講演日時：3月26日 09:52～ 1号館 D4 会場

in planta Particle Bombardment 法によるソバのゲノム編集系の開発

Development of genome editing methods in buckwheat using *in planta* Particle Bombardment

○手塚 大介¹、平山 裕美子¹、ルオ ウェイフェン¹、勝 賢二郎²、鈴木 達郎²、今井 亮三¹ (1農研機構・生物研、²農研機構・九沖農研)

○Daisuke Tezuka¹, Yumiko Hirayama¹, Weifeng Luo¹, Kenjiro Katsu², Tatsuro Suzuki², Ryozo Imai¹ (1Institute of Agrobiological Sciences, NARO, ²Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, NARO)

【背景・目的】普通ソバ (*Fagopyrum esculentum*) は他殖性作物であり、効率的な品種改良が難しい。ゲノム編集等の新たな育種技術への期待も大きいですが、難培養性のためゲノム編集個体の作出が困難である。我々は培養を経ずに植物体を直接ゲノム編集する手法、*in planta* Particle Bombardment (iPB) 法をコムギで開発した。iPB 法は茎頂分裂組織 (SAM) にゲノム編集酵素を直接導入する手法であり、原理的には様々な作物へ応用可能である。本研究では iPB 法を用いて、ソバにおけるゲノム編集系を確立することを目的とした。標的遺伝子には、機能欠損によりモチ性獲得が期待される顆粒性デンプン合成酵素遺伝子 *GBSSa*, *GBSSb* を用いた。

【方法・結果】植物材料には自殖ソバ系統の IH3 および 18Nde6 を用いた。18Nde6 は IH3 を背景とする *GBSSa* 欠損株である。*GBSSa* と *GBSSb* の両遺伝子の欠損が、モチ性獲得に必要と考えられている。吸水4日後までのソバ幼苗から子葉と第1葉を切除し SAM を露出させた。*GBSSb* を標的とする CRISPR/Cas9 リボヌクレオタンパク質を iPB 法により SAM へ導入した。導入後の幼苗を育成し、第5葉を用いて遺伝子型を解析した。複数の iPB 条件を検討し、IH3 を背景とするゲノム編集当代が 10 個体、18Nde6 を背景とするゲノム編集当代が 34 個体得られた。またゲノム編集当代の作出効率は最大で 27.4%であった。当代はキメラ変異個体となるため、次世代での変異体選抜を行い、IH3 を背景とするゲノム編集当代 4 個体から *GBSSb* 変異を有する独立 2 系統を取得することに成功した。現在はモチ性ソバの創出を目指し、18Nde6 を背景とする *GBSSb* 変異株の選抜を継続している。以上本研究では、iPB 法をソバに適用することで、ソバにおけるゲノム編集系の開発に世界で初めて成功した。

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) is recalcitrant to culture-based transformation and genome-editing. Here, we developed a genome editing method for buckwheat for the first time using *in planta* Particle Bombardment (iPB). With the iPB method, 27.4% plants ('IH3') grown from the bombarded shoot apical meristems showed *GBSSb* mutations. Subsequent selection for inheritance of the mutations to the next generation identified two independent *GBSSb* mutant lines. The mutations were also introduced into the '18Nde6' line that carries the *GBSSa* mutation. Screening of *GBSSa*, *GBSSb* double mutants, expected to produce waxy starch, is underway.

Buckwheat, Genome editing