

講演番号：3J02-06

質疑応答日時、会場：3月17日 09:30～ ミーティングルームJ

ゲノム編集酵素の直接導入による多収性オオムギ品種の開発

Development of high yield commercial barley by protein-based genome editing

○手塚 大介¹、チョ フイキョン¹、小野寺 瞳¹、リンフ キャンヤン¹、千々松 武司²、今井 亮三¹
(¹農研機構・生物研、²佐々木食品工業(株))

○Daisuke Tezuka¹, Huikyong Cho¹, Hitomi Onodera¹, Qianyan Linghu¹, Takeshi Chijimatsu²,
Ryozo Imai¹ (¹Institute of Agrobiological Sciences, NARO, ²SASAKI FOOD Co.,Ltd)

【背景・目的】

植物のゲノム編集では、CRISPR/Cas9などの人工ヌクレアーゼ遺伝子を染色体に挿入し、ゲノム編集された再生個体から交配等により挿入遺伝子を欠落させる方法が一般的である。この手法では形質転換系が必須であるが、実際に実用作物品種の多くは培養や再分化が困難なため、ゲノム編集が難しい。我々は培養せずに、植物体の未分化細胞（茎頂分裂細胞）を直接ゲノム編集する *in planta* Particle Bombardment (iPB) 法をコムギで開発した。本研究では、iPB法のオオムギへの適用を検討するとともに、出穂遅延による茎葉収量および子実収量の増加を目的として、花成制御遺伝子 (*Ppd-H1*) の変異体作出を試みた。

【方法・結果】

オオムギ品種「ニシノホシ」を用いた。吸水種子の胚をナノニードルで切開し、茎頂分裂組織 (SAM) を露出させた。SAMを含む胚組織を胚乳から切り離し、MS培地上に円周状に置床した。*Ppd-H1*を標的とするCRISPR/Cas9リボヌクレオタンパク質を0.6 μm径の金粒子に結合させ、パーティクルボンバードメントによりSAMに導入した。無選抜に生育させた植物体の第5葉を用いて遺伝子型解析を行い、変異を検出したところ、導入当代605個体中16個体においてゲノム編集が検出された。このうち6個体は、次世代で脱キメラ化させた個体の中に変異の遺伝が確認された。長日条件下の *ppd-H1* 変異株では、原品種に対して出穂が約40日遅延した。原品種では、幼穂形成が観察される発芽25日後にかけて *HvFT1* の発現が上昇したが、変異株では低レベルで推移していた。変異株では *HvFT1* の経日的な発現上昇も遅延している可能性が考えられた。また変異株では、栄養成長期間が延長されたことにより原品種比で茎葉収量が約17倍、子実収量が約4倍に増加した。

Application of genome editing to commercial crop varieties is challenged by the lack of efficient transformation methodology. Here, we developed the *in planta* particle bombardment (iPB) method in barley. This method introduces CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein into shoot apical meristem (SAM) and allows genome editing without transgenesis. A key regulator of photoperiod sensitivity, *Photoperiod-H1* (*Ppd-H1*), was selected as a target of editing. The *ppd-H1* mutants delayed heading under long-day conditions and showed increase of leaf biomass and grain yield due to extended vegetative growth.

Barley, Genome editing, Flowering