

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K07902

研究課題名(和文) 水産植物スサビノリのゲノム編集による新育種基盤技術の研究開発

研究課題名(英文) Research and development of new breeding basic technology by genome editing in the marine red alga *Neopyropia yezoensis* (Rhodophyta)

研究代表者

福田 覚 (Fukuda, Satoru)

弘前大学・地域戦略研究所・准教授

研究者番号：20520951

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、研究代表者らが開発したスサビノリの遺伝子導入技術を応用し、スサビノリのゲノム編集技術の確立に挑戦することで、スサビノリ育種研究の発展に繋げることが目的である。スサビノリのゲノム編集実験系の基盤を整備するため、マイクロインジェクション法によるCRISPR/Cas9システムの適用を検討した。その結果、マイクロインジェクション法によるゲノム編集の実証には至らなかったが、同法によって導入したレポーター遺伝子がスサビノリ単胞子の発生段階で一過的に発現することを確認し、同法がスサビノリのゲノム編集を含む遺伝子導入技術に資する方法であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海藻類の養殖業では海苔類が生産量の7割を占めている。海苔類の代表的な品種はスサビノリであり、わが国の重要な水産物である。昨今、養殖海苔の白化問題や病害などが多発し、200億円(生産額の約20%に相当)もの損害が出ることもある。そのため、海苔の安定生産、かつ高品質・高収量そして耐病性などの品種改良に向けて、海苔独自の新育種基盤技術の整備が急務である。一方、2013年以降、ゲノム編集技術は世界的に広まり農林水産生物の次世代型の遺伝子改変技術として適用されつつある。本研究成果は、スサビノリのゲノム編集技術確立に向けた知見であり、海苔の品種改良等の課題解決に資する育種基盤技術への貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to establish the genome editing technology of *Neopyropia yezoensis* by applying our gene transfer technology. Although this study could not demonstrate genome editing by the microinjection method, it was confirmed that the reporter gene introduced by the method was transiently expressed in *Neopyropia yezoensis* cells. It was suggested that the microinjection method contributes to gene transfer technology including genome editing of *Neopyropia yezoensis*.

研究分野：水産科学

キーワード：スサビノリ 形質転換 ゲノム編集

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海藻類の養殖業では海苔類が生産量の 7 割を占めている。海苔類の代表的な品種はスサビノリであり、わが国の重要な水産物である。昨今、養殖海苔の白化問題や病害などが多発し、生産高の約 20%に相当する 200 億円もの損害が出ることもある。そのため、海苔の生産を安定させ、かつ高品質・高収量そして耐病性などの品種改良に向けて、海苔独自の育種手法の整備が急務である。

研究代表者らは、スサビノリを水産植物のモデル生物とすべく室内培養、凍結保存、遺伝子導入技術などの基盤研究開発に携わってきた。特に遺伝子導入技術の開発は、スサビノリのモデル生物としての価値を大きく向上させた。

2013 年、任意の遺伝子をゲノムレベルで改変する第 3 世代のゲノム編集技術として CRISPR/Cas9 システムが報告された。その後、同システムは世界的に広まり、モデル生物をはじめ、あらゆる生物の次世代型の遺伝子改変技術として適用されつつある。本研究では、研究代表者らが開発した遺伝子導入技術を応用し、CRISPR/Cas9 システムによるスサビノリのゲノム編集技術の確立に挑戦する。

2. 研究の目的

本研究は、研究代表者らが開発したスサビノリの遺伝子導入技術を応用し、スサビノリのゲノム編集技術の確立に向けた知見を得ることを目的とする。

スサビノリのゲノム編集を成功させるためには、下記の 3 つの条件を満たす必要がある。この 3 つの条件は相互関係にあり、1 つ欠けても CRISPR/Cas9 システムの二本鎖 DNA 切断活性を誘導できない。そこで研究代表者らは、下記のように各条件に対応できることを独自の技術から見出し、スサビノリのゲノム編集技術の確立に十分挑戦できるとの考えに至った。

①生細胞の調製と室内培養（閉鎖的環境条件下の培養）の整備

外来 DNA を導入するための適切なスサビノリの生細胞ならびに導入後の安定な継代培養が重要である。そのため、室内培養技術を習熟し、スサビノリの生活環における各段階（ステージ）の生細胞を調製可能にした。

②生細胞内で発現するコンストラクトの作製

スサビノリ細胞内では、固有の転写調節領域（プロモーター領域）とスサビノリ特有のアミノ酸配列（コドン使用頻度に従った配列: コドン配列）に改変した遺伝子を組み合わせることによって、遺伝子の発現が可能であることを見出した。

③外来 DNA の導入方法

細胞壁に囲まれたスサビノリ細胞内に DNA を導入する有効な方法は、パーティクルガン法であることを明らかにした。コンストラクトはプラスミド DNA 状に調製することで、パーティクルガン法でも安定に導入可能にした。

このように、研究代表者らがこれまで開発した室内培養や遺伝子導入技術の応用とノウハウを駆使して、CRISPR/Cas9 システムがスサビノリで機能することを実証する。

3. 研究の方法

公表を一定期間見合わせ

4. 研究成果

公表を一定期間見合わせ

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 泉ひかり、宇治利樹、水田浩之、嵯峨直恆、福田 覚
2. 発表標題 スサビノリの野生株と外来遺伝子導入株の交雑
3. 学会等名 令和2年度 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	泉 ひかり (Izumi Hikari) (10784027)	弘前大学・地域戦略研究所・助教 (11101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------