

作物ゲノム編集におけるプラズマ革命への挑戦的研究

分野

適応地域

【研究グループ】

農研機構生物機能利用研究部門

【研究期間】

令和4年度～令和5年度(2年間)

03010
A12

農業一畑作物

全国

【研究総括者】

農研機構生物機能利用研究部門 今井 亮三

キーワード 小麦、ゲノム編集、デリバリー技術、プラズマ、膜輸送

1 研究の目的・終了時の達成目標

プラズマ技術をメリステム工学に応用し、タンパク質のみを用いた革新的な作物ゲノム編集技術を開発することを本研究課題の最終到達点とする。本課題では、プラズマ照射を利用してゲノム編集酵素であるCRISPR/Cas9リボ核タンパク質を植物細胞に導入し、ゲノム編集を起こさせた植物個体を獲得するとともに、タンパク質取り込み機構を解明する。最終的には、変異導入により有用形質を獲得した作物を複数系統獲得することを達成目標とする。

2 研究の主要な成果

- ①コムギの茎頂表皮細胞において、蛍光タンパク質(GFP)の細胞内への取り込みを検出できた。
- ②コムギの茎頂組織にCRISPR/Cas9 リボ核タンパク質(RNP)の導入を行い、変異創出に成功した。細胞レベルでゲノム編集が起きていることを確認した。
- ③KNO₃の添加とプラズマ処理前後の温度処理がタンパク質の導入効率を向上させることを示した。
- ④プラズマ処理による細胞へのタンパク質導入にクラスリンを介した経路が必要であることを証明し、タンパク質導入機構の一端を解明した。

公表した主な特許・論文

- ①Yanagawa *et al.* Genome editing by introduction of Cas9/sgRNA into plant cells using temperature-controlled atmospheric pressure plasma. Plos One 18, e0281767 (2023)
- ②柳川由紀他. 大気圧プラズマを用いた植物のゲノム編集技術- 品種改良の新しいツールとしての活用を目指して. 化学 11(2), 12-15 (2023)

3 今後の展開方向

- ①茎頂組織へのゲノム編集酵素導入効率を改良し、ゲノム編集システムを作出する技術を確認する。その技術を利用して、麦類やウリ科植物において優良形質を有するゲノム編集個体を作出する。
- ②タバコ等のモデル植物を用いて、ゲノム編集酵素導入条件のさらなる向上を目指し、変異細胞の創出頻度を高める。

【今後の開発・普及目標】

- ①2年後(2025年度)は、プラズマ処理による細胞へのタンパク質取り込み機構を解明し、タンパク質導入効率を最大化する要因を明らかにする。
- ②5年後(2028年度)は、プラズマ処理を利用した作物ゲノム編集に成功する。
- ③最終的には、プラズマ処理を利用したゲノム編集技術を多様な作物種で確立する。

4 開発した技術・成果の実用化により見込まれる波及効果及び国民生活への貢献

- ①核酸を使用しないゲノム編集技術が開発されることで、消費者が受け入れやすいゲノム編集作物を作出することが可能になる。
- ②国産Cas3技術など、複雑な構成のゲノム編集酵素の利用が可能となるため、国産Cas3技術の利用等により、外国特許に依存しないゲノム編集作物開発の可能性が高まる。

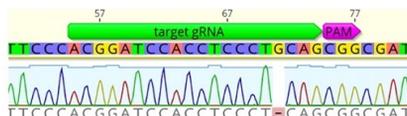
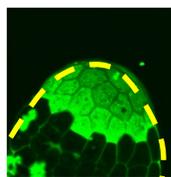
研究終了時の達成目標

プラズマ処理をメリステム工学に応用し、植物細胞へのゲノム編集酵素の直接導入により、培養を経ない革新的な作物ゲノム編集技術を開発する。

研究の主要な成果

① プラズマ処理後の茎頂組織へのタンパク質導入と変異誘導

プラズマ照射後のコムギ茎頂組織への蛍光タンパク質(GFP)の導入を検出した。また、照射後に、Cas9 RNPを接触させた茎頂から成長した植物体当代において変異が検出された。



Bゲノムにおいて1塩基の欠損が見られた例

② プラズマ処理によるタンパク質導入効率の向上

プラズマ照射によるタンパク質導入について、浸漬する緩衝液の組成(pH, 塩濃度)などを検討することで、導入効率を向上させた。特にKNO₃の添加が有効であった。

③ エンドサイトーシスによる取り込みモデル

エンドサイトーシスに関与するクラスリンタンパク質を欠損するシロイヌナズナ変異株(chc2-1, 2-3)では、プラズマ照射によるタンパク質導入が認められないことから、プラズマ処理によるタンパク質導入はクラスリン経路を介したエンドサイトーシスによると考えられる。

今後の展開方向

- ① 茎頂組織へのゲノム編集酵素の導入効率の改良とゲノム編集系統作出。
- ② モデル植物を用いた、タンパク質取り込み機構の解明。

見込まれる波及効果及び国民生活への貢献

ゲノム編集を使った作物育種を支援し、これまでにない優れた形質を持った作物品種の実用化に貢献する。