

報道機関 各位

熊本大学

ゲノム編集によって遺伝子の働きを部分的に 抑える新しい技術の実証実験に成功

(ポイント)

- ゲノム編集技術CRISPR-Cas9を応用して、遺伝子を完全には壊さず部分的に抑える方法を発案し、実証実験を行いました。
- モデル植物シロイヌナズナで、機能が失われると致命的な影響をもたらす遺伝子*HPY2*の部分的機能抑制型突然変異体の作出に成功しました。
- その機能が失われると生存できなくなる重要な遺伝子の研究への貢献や、これらの遺伝子を標的とする品種改良への応用が期待されます。

(概要説明)

熊本大学大学院先端科学研究部の石田喬志准教授らの研究グループは、ゲノム編集技術CRISPR-Cas9^{*1}を応用して、機能が失われると致命的な影響をもたらす重要遺伝子について、生存可能な部分的機能抑制型突然変異体を作成する方法を考案して実際に作り出すことに成功しました。

生き物の設計図であるゲノムDNA上には多数の遺伝子が存在します。生存に必須な遺伝子の多くは、その機能が失われると死んでしまうため、遺伝子の働きを研究することが困難でした。石田准教授らは、遺伝子の働きを完全に止めるのではなく低減させる方法を考案し、実際にモデル植物シロイヌナズナで致死遺伝子として知られる*HPY2* 遺伝子を標的にゲノム編集を行いました。その結果、予想通り、生育に遅延が見られるものの致命的ではない、部分的機能抑制型突然変異体を取得することに成功しました。

本研究の成果は、これまで研究することが困難であった重要遺伝子の研究への貢献が期待されます。また、繊細な遺伝子機能の活性調節が必要となる、農畜産物の品種改良技術への発展も期待されます。

本研究は日本学術振興会科学研究費補助金(研究代表者：石田喬志、課題番号：23K05803)の支援により、「Journal of Plant Research」誌から11月16日(日本時間)に公開されました。

(説明)

[背景]

ある遺伝子の役割を研究しようとするとき、その遺伝子が働かないようにして、その結果どのようなところに異常が生じるかを分析する方法がとられます。ゲノム編集法の一つであるCRISPR-Cas9はこのような遺伝子の機能を止める目的で広く使われています。しかし、生存に必須な遺伝子の多くは機能が損なわれると致命的な影響をもたらすため、研究が困難でした。このような問題がある場合、遺伝子の働きを完全に止めるのではなく、部分的に機能を抑えて研究する方法がとられます。しかし、このための実験手法の多くは難度が高かったり不安定だったり課題があり、簡便で安定的に遺伝子の機能を抑える方法の開発が期待されていました。そこで、本研究ではCRISPR-Cas9の使い方を工夫することで、簡便で安定的な部分的機能抑制型突然変異体を作成する方法の開発に取り組みました。

[研究の内容]

生き物の設計図であるゲノムDNAは、セントラル・ドグマ^{*2}と呼ばれる基本原理に従い、mRNA、タンパク質を作り出して細胞の働きを調節します。今回の研究に用いたシロイヌナズナ^{*3}を含む植物や、ヒトを含む動物が属する「真核生物」では、DNAからmRNAが作り出された後に、mRNAの一部が切り出され(スプライシング^{*4})て成熟したmRNAとなります。DNAにはスプライシングを制御する配列が記されていますが、この部分に異常が生じると、スプライシング後のmRNAやタンパク質の配列が異常なものになってしまいます。

本研究ではこのような異常を作り出すことを狙って、CRISPR-Cas9によるゲノム編集を行いました。モデル植物シロイヌナズナで、機能が失われると細胞分裂能力が著しく低下して発芽後数日で致死となることが報告されている遺伝子*HPY2* をモデルケースとしてスプライシング制御を担う配列を狙ってCRISPR-Cas9システムを設計し、シロイヌナズナに導入しました。その結果、狙い通りにスプライシング制御配列が除かれた配列を持つシロイヌナズナを作り出すことに成功しました。さらに、このシロイヌナズナでは*HPY2* 遺伝子から作り出される成熟mRNA配列が正常なものとは異なりやや短くなっていることを確認しました。このmRNAから作り出されるタンパク質は正常なものとは比べて一部の配列を欠く可能性があります。しかし、大まかな構造は保持されているため、タンパク質の機能の一部が残っている可能性が示唆されました。実際、本研究で作りに出された突然変異体である*hpy2-cr3* は、既知の*HPY2* 遺伝子の機能が完全に失われ致命的な影響を受けているものとは比べると、長く生きることができ、一部の個体は花を咲かせる段階まで成長することができました。

これらの結果から、スプライシング制御配列を標的としてゲノム編集することで、簡便で安定的な部分的機能抑制型突然変異体を作成できると示すことができたと考えています。

[展開]

ゲノムDNA上には、機能が損なわれると致命的な影響をもたらす重要な遺伝子が多数存在しており、その役割に関する研究は道半ばです。本研究で提案した方法は、これまで研究することが困難であったこのような遺伝子の研究にも適用することができると考えられ、生命の仕組みを理解するための研究に大きく貢献することが期待されます。

また、農作物では、品種改良の際に鍵となる遺伝子の多くに、部分的な機能変化が生じていると考えられています。遺伝子の働きを完全に止めると二次的に大きな影響が生じることがあり、そのようなケースでも利用できる新たな方法が必要とされています。本研究で提案した方法は、このような繊細な遺伝子機能の活性調節が必要となる、農畜産物の品種改良技術への応用も期待できるものと考えています。

図 1 CRISPR-Cas9 によるスプライシング制御配列の削除

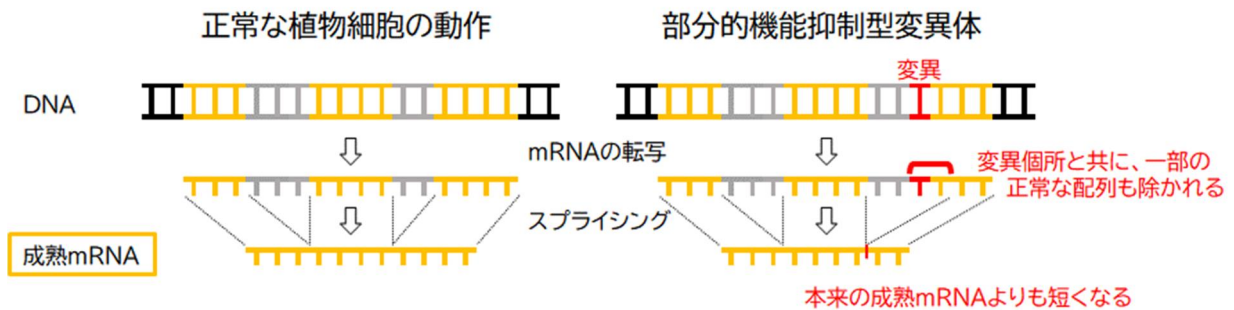
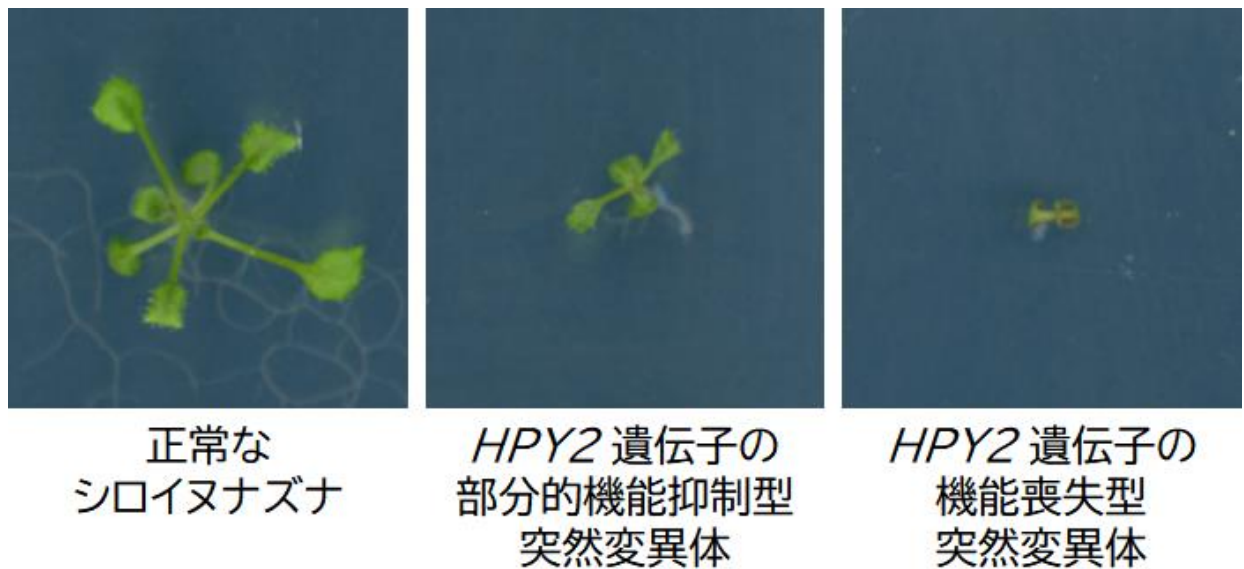


図 2 本研究で作出した、HPY2 遺伝子の部分的機能抑制型突然変異体



[用語解説]

*1 : CRISPR-Cas9

DNA を編集する、「ゲノム編集」に用いられる技術の一つで、2020年にノー

ベル化学賞の受賞対象となった。ガイド RNA という分子を使って遺伝子の狙った場所を切ったり修正したりすることができる。本研究ではスプライシング制御配列を除くために CRISPR-Cas9 を使用した。

*2: セントラル・ドグマ

生物が自分の遺伝情報を使って細胞や組織の働きを調整する仕組みのこと。DNA にある遺伝情報が mRNA という分子にコピーされ、その情報をもとにタンパク質が作られる。最終的にタンパク質が細胞の構造を作ったり、細胞の動作を決めたりする。

*3: シロイヌナズナ

シロイヌナズナはアブラナ科の小さな植物で、生物学研究の「モデル生物」として知られている。成長が早く、遺伝子の操作がしやすいという特徴を持ったため扱いやすく、他の動植物と共通する遺伝子や成長の仕組みを持つことから便利な研究材料として世界中で使われている。

*4: スプライシング

セントラル・ドグマに従って遺伝情報を伝える過程で、RNA から不要な部分を取り除く反応。DNA の情報を元に作られた mRNA には使われない部分も含まれており、スプライシングによって不要な部分が取り除かれて、必要な情報のみをもつ成熟した mRNA が作られる。この成熟 mRNA を元にタンパク質が作られる。

(論文情報)

論文名 : Generation of viable hypomorphic and null mutant plants via CRISPR-Cas9 targeting mRNA splicing sites

著者 : Mika Yoshimura, Takashi Ishida

掲載誌 : Journal of Plant Research

doi : 10.1007/s10265-024-01597-2

URL : <https://link.springer.com/article/10.1007/s10265-024-01597-2>

【お問い合わせ先】

熊本大学大学院先端科学研究部 (理学系)

担当 : 准教授 石田 喬志

電話 : 096-342-3474

e-mail : ishida-takashi@kumamoto-u.ac.jp