

温度制御マルチガスプラズマジェットによる植物細胞へのゲノム編集酵素導入法の改良



Improved method to introduce a genome editing enzyme in plant cells by a temperature controllable multi-gas plasma jet

農研機構¹, 理研 CSRS², 東工大未来研³ ^{O(PC)} 柳川 由紀^{1, 2}, 末永 祐磨³,
守屋 翔平³, 飯島 勇介³, 沖野 晃俊³, 遠藤 真咲¹, 加藤 悦子¹, 土岐 精一¹, 光原 一朗¹

E-mails: yyana@affrc.go.jp¹ / yuki.yanagawa@riken.jp²

ゲノム編集は配列特異的な人工ヌクレアーゼ (ゲノム編集酵素) をタンパク質あるいはタンパク質-RNA 複合体として細胞内へ導入することでその生物のゲノムにある特定の遺伝子に、欠損や機能改変などを導入する技術である。ゲノム編集によって変異が導入された作物には外来遺伝子が含まれないという特徴を有しており、この点がゲノム DNA 上に外来遺伝子を導入することで新たな機能を付加する遺伝子組換えとは異なっている。このような特徴から、ゲノム編集は新しい品種改良法として期待されている。

植物は、クチクラ層やワックス層をはじめ、細胞壁などの動物とは異なる構造物を有していることから、動物などで用いられている既存の方法ではゲノム編集酵素をタンパク質あるいはタンパク質/RNA 複合体の形で植物細胞へ外から導入することは困難であった。そこで、ゲノム編集酵素遺伝子(DNA)を遺伝子組換えによって植物細胞に導入することでゲノム編集を行い、戻し交配などによって不要となった外来 DNA を除去し、さらに DNA が含まれていないことを証明する、という時間のかかることを行っているのが現状である。更に、次世代の取得が困難なライフサイクルの長い樹木や栄養繁殖性の作物では導入した DNA を除去することは困難である。

私たちはこれまでの講演会で、温度制御マルチガスプラズマジェットを用いて植物細胞へ生体高分子を外から直接導入する技術を開発したこと (Yanagawa et al, 2017, PLoS One 12 (2) e0171942; WO2018-016217)、このプラズマ法を用いて植物細胞に Cas9/single guide RNA をタンパク質-RNA 複合体の形で導入し、ゲノム編集が起きたこと、を報告した。

今回私たちは、植物のゲノム編集酵素の導入とその後のゲノム編集に適した条件を探るべく、プラズマ照射装置、生体高分子導入に用いる buffer などの改良を行った。本講演では植物の CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集の成果を含めて報告する。