

ゲノム編集について

令和元年5月23日

千葉大学大学院教授 児玉浩明

無断転載を禁ず

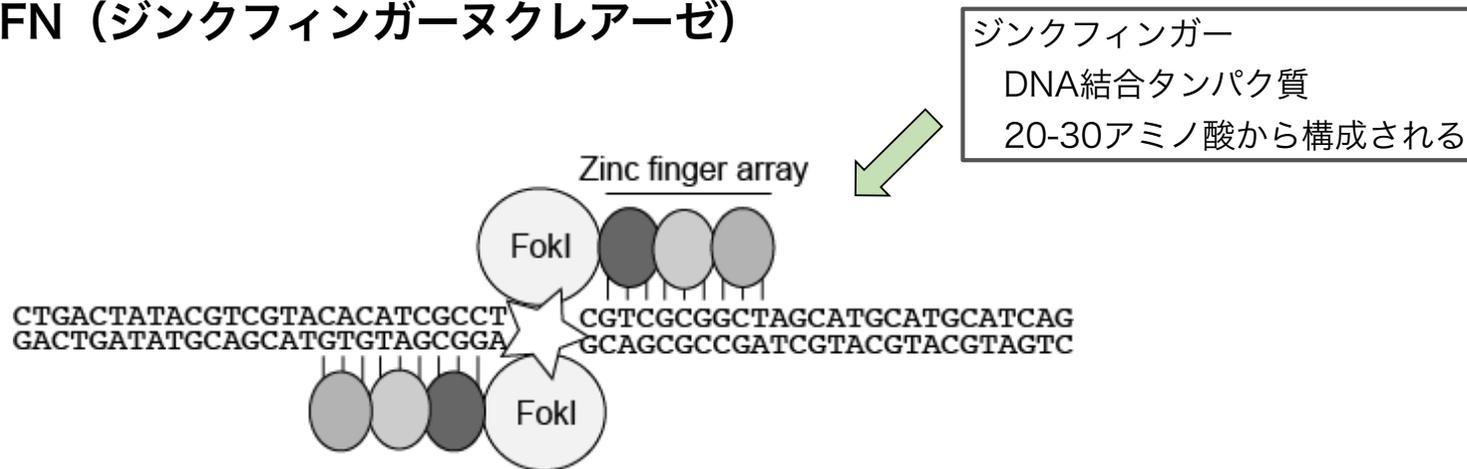
① ゲノム編集技術とは

ゲノムの特定の部位を意図的に改変することが可能な技術であり、既存の遺伝子の欠失や塩基配列の置換だけでなく、外部からの遺伝子の挿入も行うことができる。

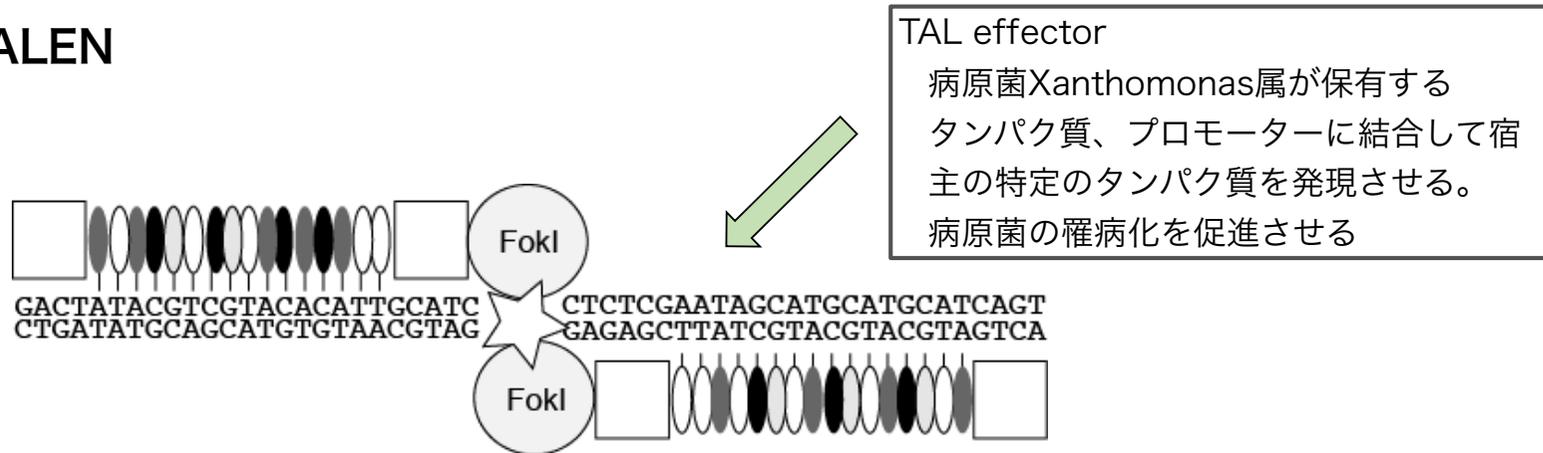
	従来育種	遺伝子組換え	ゲノム編集（ノックアウト）
手法	<ul style="list-style-type: none">・ 自然交配・ 放射線や化学物質による突然変異	<ul style="list-style-type: none">・ 外来遺伝子の挿入	<ul style="list-style-type: none">・ 主として意図する遺伝子を切断
特徴	変異位置を決められない	挿入位置を決められない	変異位置を決められる
外来遺伝子	なし	あり	なし
開発期間	長い（数年～数十年）	やや長い（10年～15年）	短い（1～4年）

② 人工ヌクレアーゼを利用したゲノム編集技術

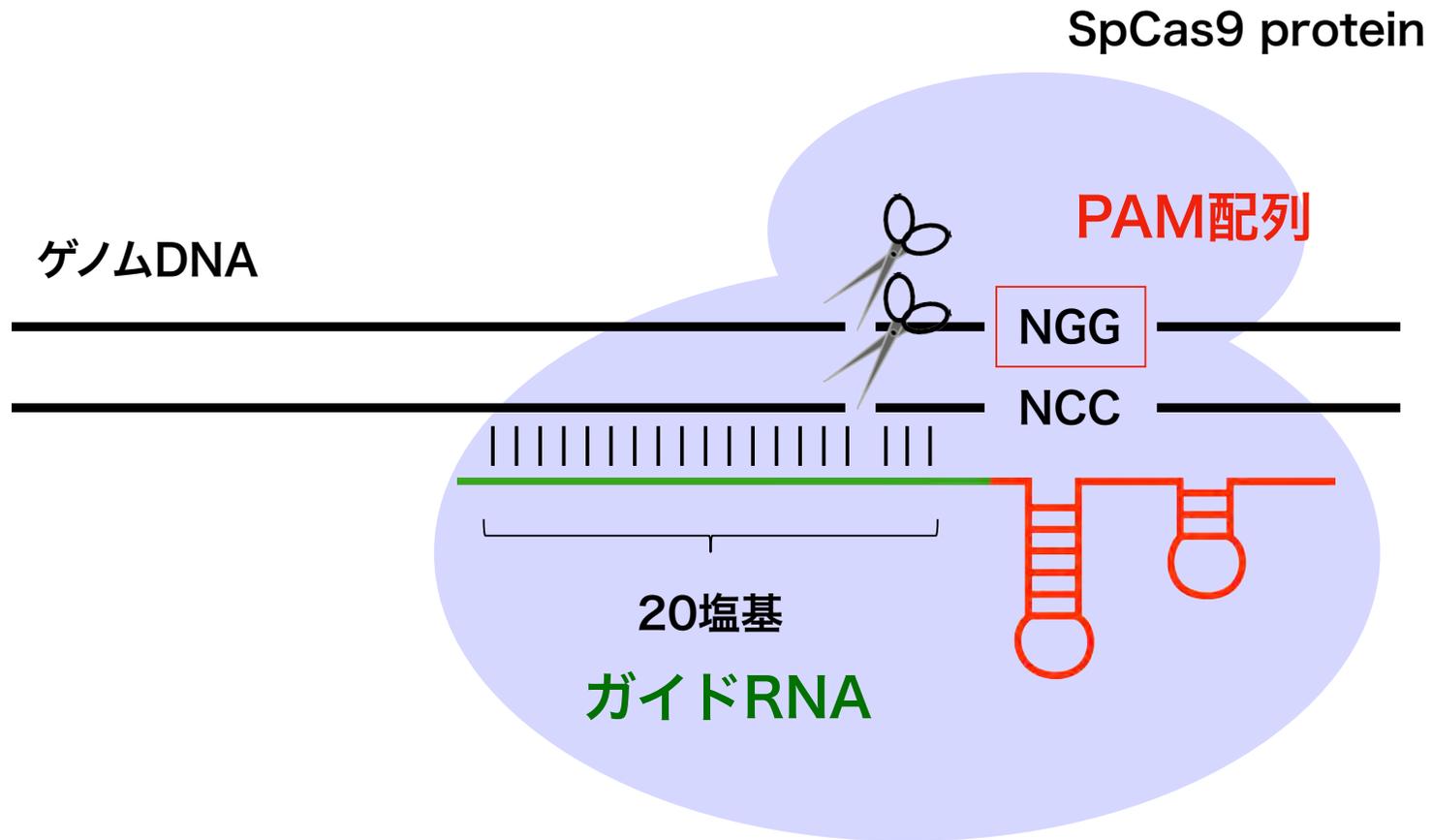
ZFN (ジンクフィンガーヌクレアーゼ)



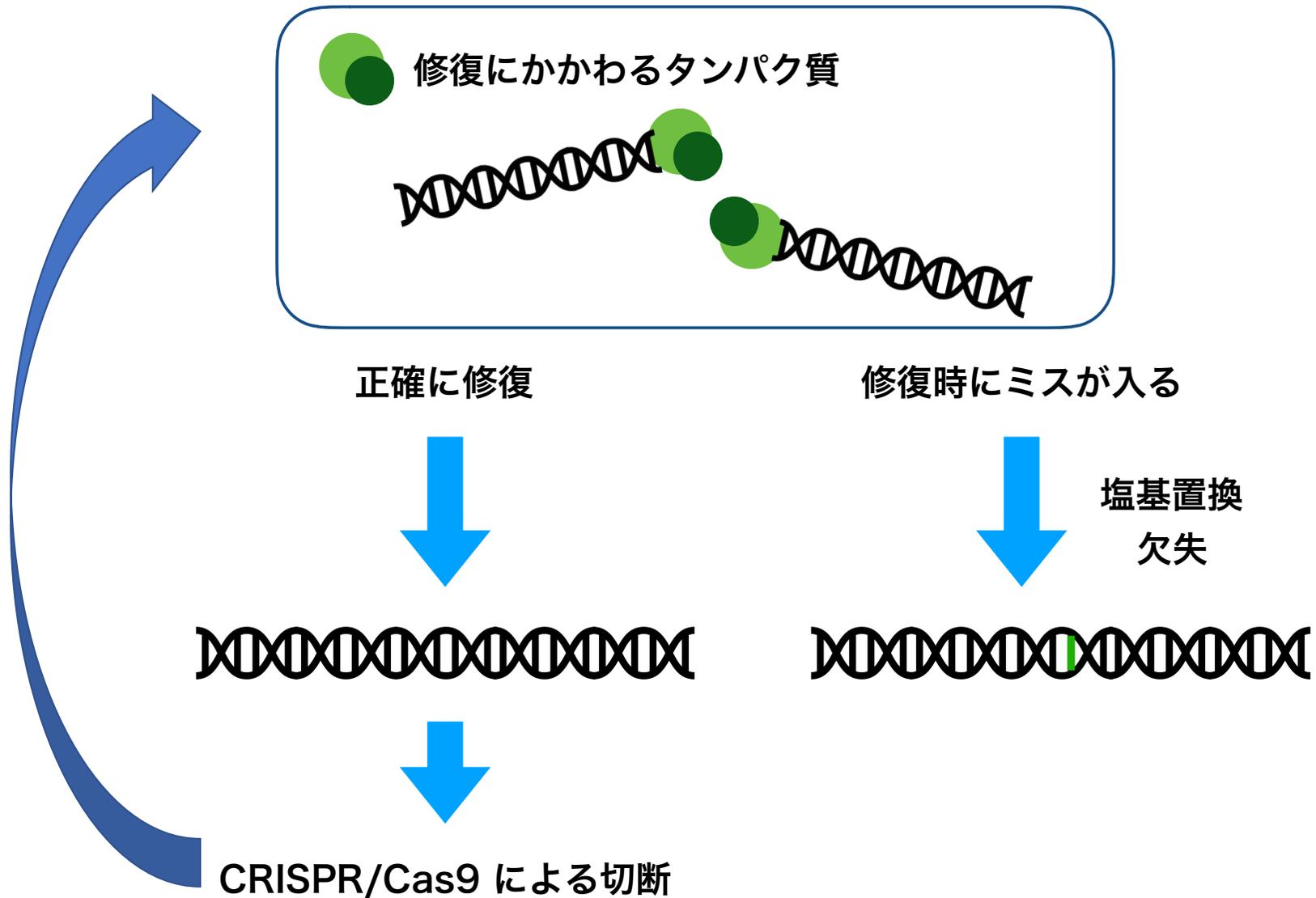
TALEN



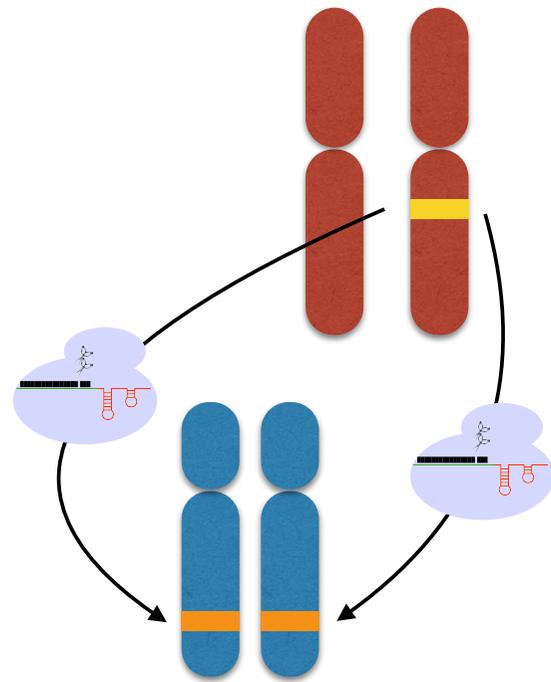
③ CRISPR/Cas9システムによるゲノム編集



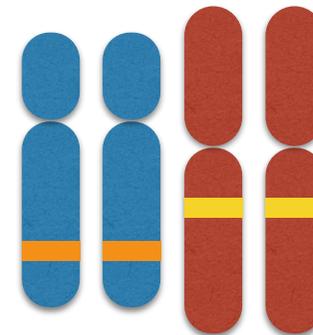
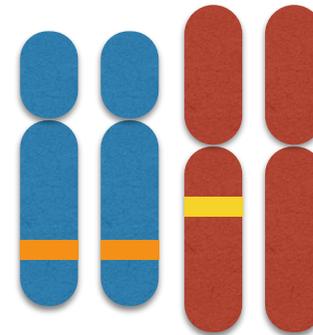
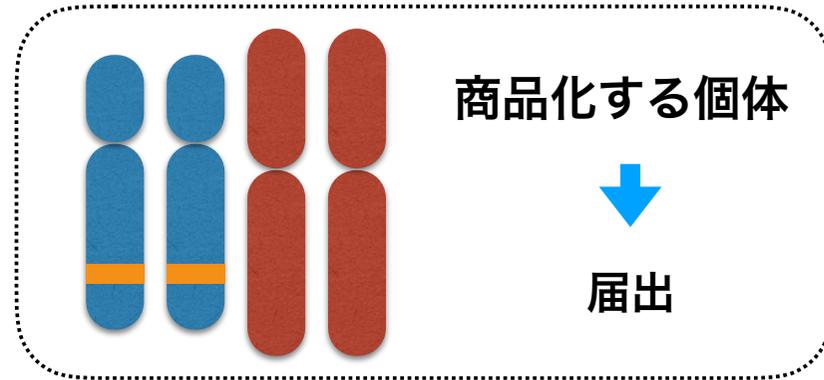
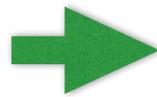
④ 2本鎖DNA切断から生じるDNAの変異



⑤ ゲノム編集植物の作出法



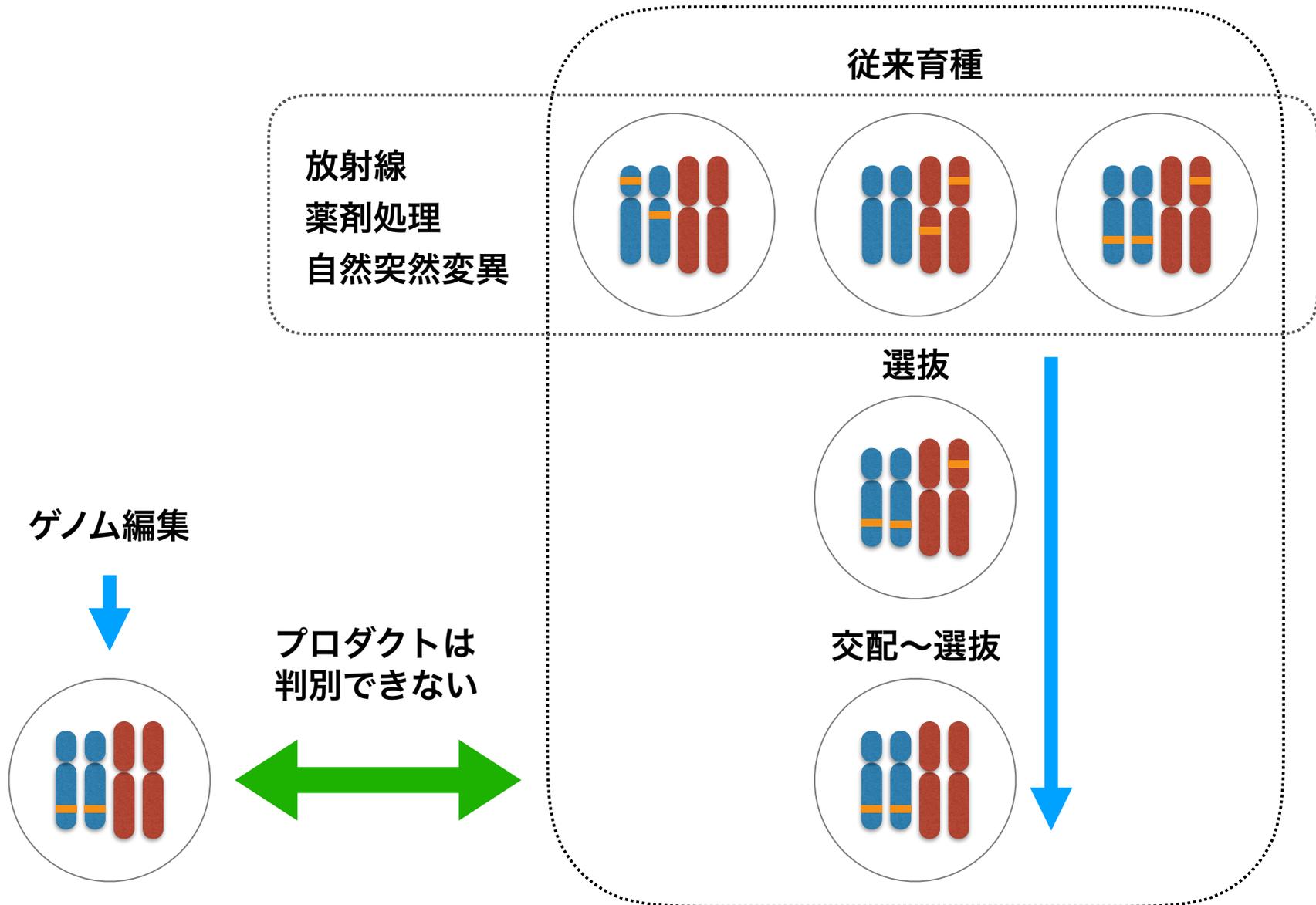
自家受粉



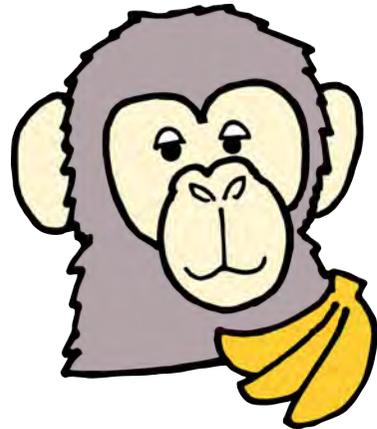
■ CRISPR-Cas9 導入遺伝子座

■ 標的ゲノム編集部位

⑥ ゲノム編集技術と従来育種の違い



⑦ 塩基配列を全部決定したら、ゲノム編集した箇所がわかる？



塩基配列の違い

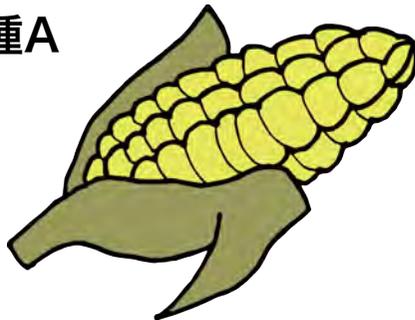
1.34%



Zhao et al. (2000)
PNAS 97: 11354-11358



品種A

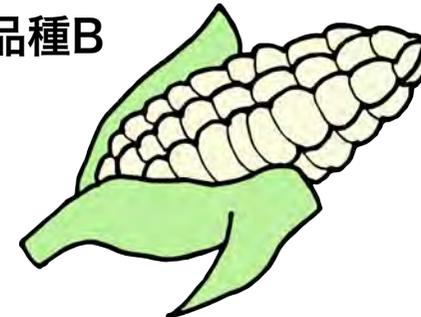


1.42%



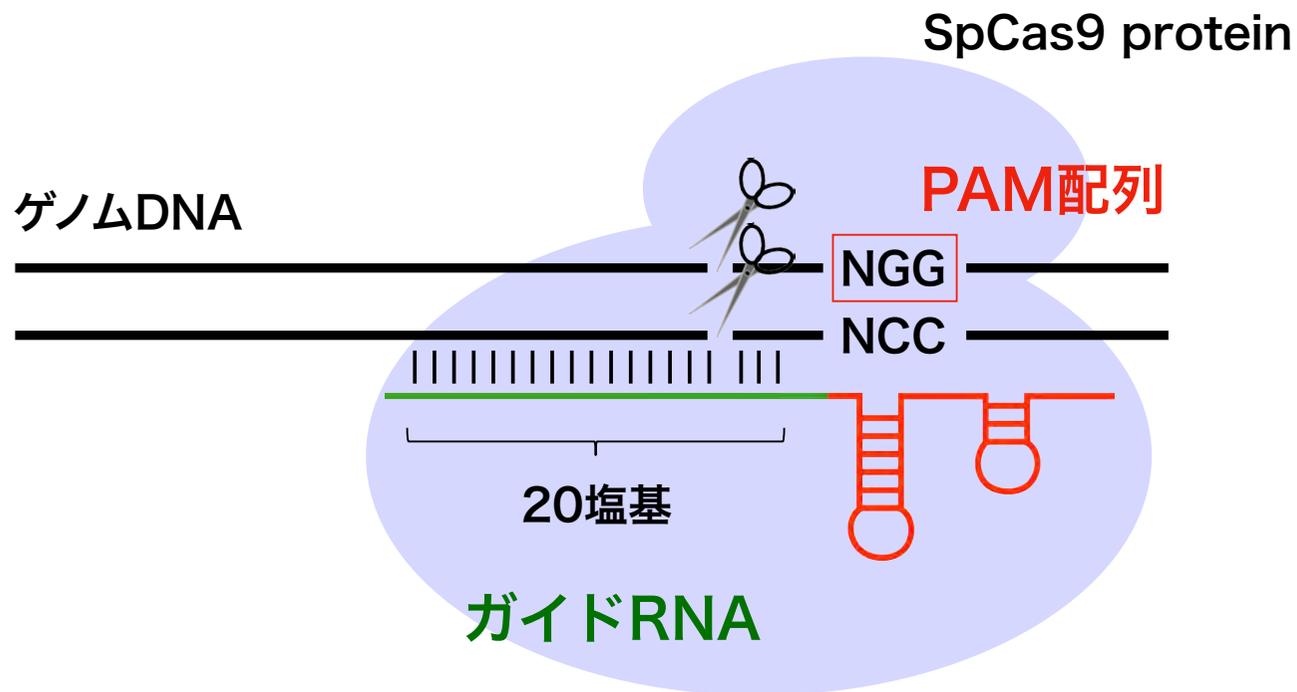
Tenaillon et al. (2001)
PNAS 98: 9161-9166

品種B



品種の違いや育種過程、さらには自然に突然変異により塩基配列は変化する。
全塩基配列を決定してもゲノム編集部位の特定は、きわめて困難。

⑧ ゲノム編集は、標的配列のみを編集できるか？



オフターゲット：

PAM配列・ガイドRNAの結合の条件を満たす部分がゲノムにあれば、
標的としていない箇所でも切断は生じる

⑨ DNA切断は、比較的頻度が高い現象である

DNAの2本鎖切断：

ヒトの細胞では、1回の細胞分裂あたり、およそ50回くらい生じていると推定

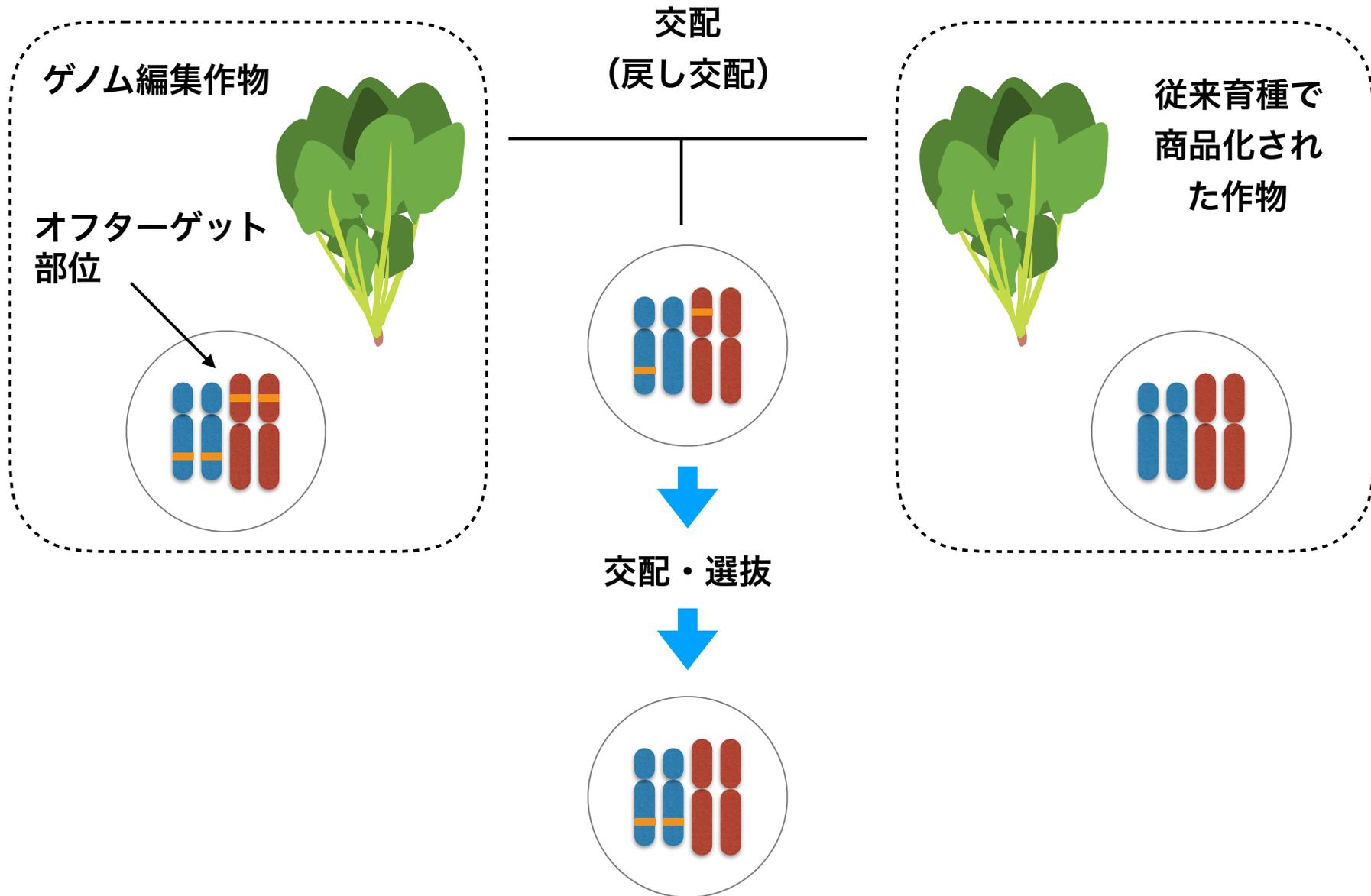
Vilenchik and Knudson (2003) 100: 12871-12876)

- ➡ 切断そのものは、頻繁に起きている
 - ➡ 通常は、正確に修復されるが、まれに塩基置換、欠失等の変異が生じる
 - 一例として、50回の切断のうち、5回は変異につながっている可能性がある
- (Langlois et al., (1989) PNAS 86: 670-674; Vilenchik and Knudson (2003) 100: 12871-12876)

⑩ オフターゲット対策

- ➡ 特異性の高いガイドRNAの設計
- ➡ 意図しない変異部位を戻し交配によって減らす

⑪ オフターゲット部位は、最終プロダクトから除かれる



ゲノム編集で開発中のもの (例)

超多収イネ ※



イネの収穫量をもっと増やして低コスト化。

甘くて長持ちトマト ※



日持ちが良くなれば完熟してから収穫が可能になり、長距離輸送もできる。

芽が出ても安心ジャガイモ ※



新芽に含まれる天然毒素ソラニンやチャコニンは食中毒の原因。

紫色のシャインマスカット ※



糖度が高く皮ごと食べられ、栽培もしやすいシャインマスカットを、様々な色で揃えたい。

白いままマッシュルーム



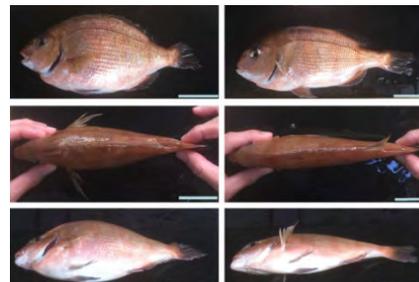
時間がたったり手荒く扱おうと茶色くなり、廃棄される。

おとなしいマグロ ※



マグロは養殖中に網に衝突するなど約3割が死亡。

肉厚マダイ



myostatin 遺伝子（骨格筋増殖の抑制遺伝子）のノックアウトによる筋肉量増加の研究
提供：京都大学

※戦略的イノベーション創造プログラム(SIP)の「次世代農林水産業創造技術」及び厚生労働省の資料を一部改変