

## 植物ミトコンドリアゲノム編集技術の開発と細胞質雄性不稔原因遺伝子の同定

(Genome editing for plant mitochondria and its application for identification of CMS candidate genes in plant mitochondrial genomes)

風間智彦<sup>1,2</sup>・肥塚信也<sup>3</sup>・鳥山欽哉<sup>2</sup>・堤伸浩<sup>4</sup>・○有村慎一<sup>4</sup>

(Tomohiko Kazama, Nobuya Koizuka, Kinya Toriyama, Nobuhiro Tsutsumi, Shin-ichi Arimura)

1九州大学・2東北大学・3玉川大学・4○東京大学

ミトコンドリアは独自のゲノムをもち、呼吸・代謝をはじめとする重要機能に直接・間接的に関連する遺伝子群などをコードしているが、形質転換が不可能な最後のゲノムであり、基礎応用両面の発展において、ゲノム改変技術の開発が待望されてきた。受賞者らは植物ミトコンドリアゲノムを対象として、ゲノム編集で用いられる人工制限酵素TALENにミトコンドリア局在シグナルを付加し、これを核ゲノムから発現させるmitoTALENs法を開発し、植物ミトコンドリアゲノム内の標的遺伝子破壊に世界で初めて成功することができた。最初の成功例の標的遺伝子として、植物ミトコンドリアゲノム上にコードされている農業上の重要形質である細胞質雄性不稔 (Cytoplasmic Male Sterility, CMS) 関連遺伝子を選んだ。CMS関連遺伝子はBT型イネとナタネ kosena 型の二つでは全く異なる配列であるが、それぞれの破壊が雄性稔性を回復したことから、双方の遺伝子が実際にそれぞれのCMSの責任遺伝子であることを初めて直接的/逆遺伝学的に証明することができた。我々が普段食している蔬菜類、穀類の多くはF<sub>1</sub>ハイブリッド品種であるが、この品種作製の母親個体としてCMSが多用されている。CMSの原因遺伝子はそれぞれの種や、品種レベルでも異なる配列が責任候補遺伝子となっており、これらの同定と分子機構解明、将来的には新規のCMS遺伝子を創出するために、今後もこのmitoTALENs法による解析が大きな貢献を果たすと期待されている。

mitoTALENs 法によるDNA二重鎖切断の結果、標的配列はその前後数百-数千 kb を欠失し、残った両末端配列は互いに繋がるのでは無く、「それぞれが遠方にある別々の相同配列と組換えを行い、その結果ゲノム配列構造が大きく変わってしまう」という植物ミトコンドリアゲノムに特徴的な変化が引き起こされることも明らかとなった。mitoTALENs 法では、基本的には標的配列の欠失/遺伝子破壊を引き起こすが、①多くの標的遺伝子では致死性により改変植物がとれない、②同じ配列が核ゲノムに散在していて完全欠失の検出が困難、なために当初成功例を得ることができなかった。しかしながら、CMS 原因候補遺伝子を標的とした場合では、①遺伝子破壊が稔性回復という positive な効果を引き起こす、また②その相同配列は基本的に核ゲノムに存在しない (CMS 系統は核ゲノムがエリート品種、オルガネラゲノムは野生種や近縁種に由来するため) ため塩基配列消失の検出が容易であった、ことなどもあり、最初のミトコンドリアゲノム編集の成功例が農業形質上重要な CMS 原因候補遺伝子の同定となった。この技術開発の後、CMS 以外の遺伝子や調節領域の改変、イネとナタネ以外の作物やモデル植物でも成功しており、現在、基礎応用両面での展開を行っている。

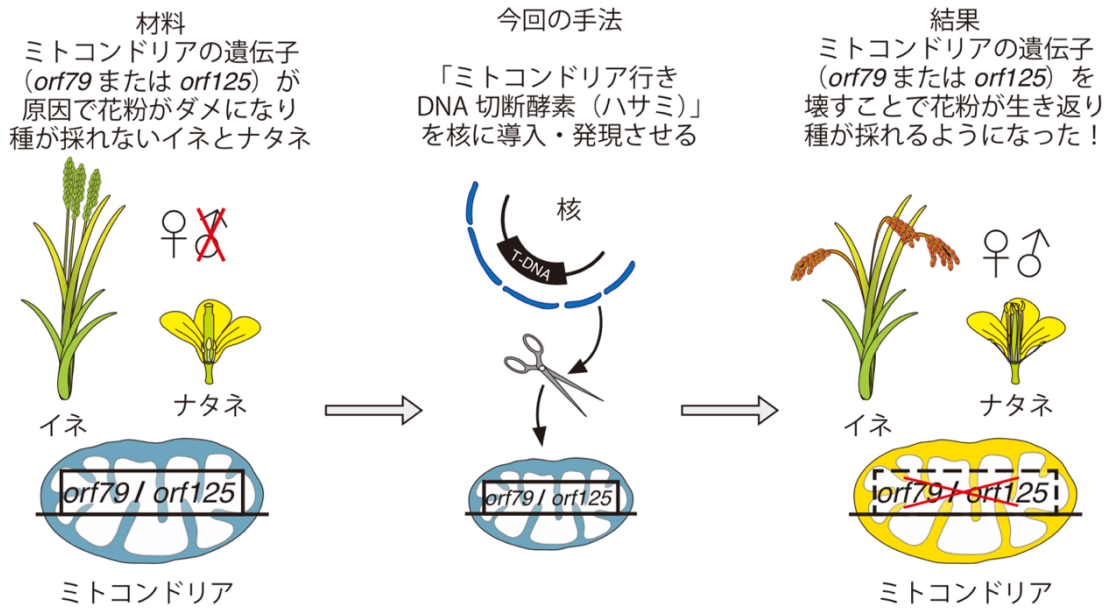


図. mitoTALEN 法による植物ミトコンドリアゲノム上の標的遺伝子 *orf79* (イネ) と *orf125* (セイヨウナタネ) の標的遺伝子破壊とそれによる細胞質雄性不稔性の回復