

イネ複数品種におけるゲノム編集系および効率的な変異系統獲得手法

Genome editing systems in rice cultivars and strategy for producing desired mutants with homozygous mutation

CRISPR/Cas9(クリスパー・キャスナイン)は標的遺伝子に変異を誘起するゲノム編集技術の一つであり、変異導入による作物の農業形質改良への利用が期待されている。未熟胚を用いたアグロバクテリウム法は、主要イネ5品種へのCRISPR/Cas9システム導入によるゲノム編集に有効であることを明らかにした(表1)。分離検定の結果、遺伝したCas9遺伝子は後代において新規変異を誘起し、分離異常およびキメラ個体発生 の要因となることが明らかとなった(図1)。Cas9遺伝子が除去された形質転換後代の個体を選抜することで、キメラ性および分離異常を示さない変異系統を効率的かつ確実に作出できる。

CRISPR/Cas9 is a novel tool for targeted mutagenesis. *Agrobacterium*-mediated methods using immature embryos successfully transformed a CRISPR/Cas9 system into five rice cultivars and subsequently induced mutation (Table 1). Our segregation analyses revealed that inherited Cas9 was still active in later generations and could induce new mutations in the progeny, leading to chimerism and unpredicted segregation (Fig. 1). We conclude that Cas9 must be eliminated by segregation in T₁ to generate homozygous mutants without chimerism or unpredicted segregation.

表1 未熟胚を用いたアグロバクテリウム法およびCRISPR/Cas9によるイネ品種における標的遺伝子への変異誘起
Table 1. Targeted mutagenesis in rice cultivars using the CRISPR/Cas9 system and the *Agrobacterium*-mediated transformation of immature embryos

Cultivar	Number of transgenic plants	Number of monoallelic mutants	Number of biallelic mutants	Total number of mutants
Nipponbare	106	26	64	90
Koshihikari	17	1	10	11
NERICA1	54	16	33	49
Curinga	272	137	80	217
IR64	5	4	1	5
Total	454	184	188	372

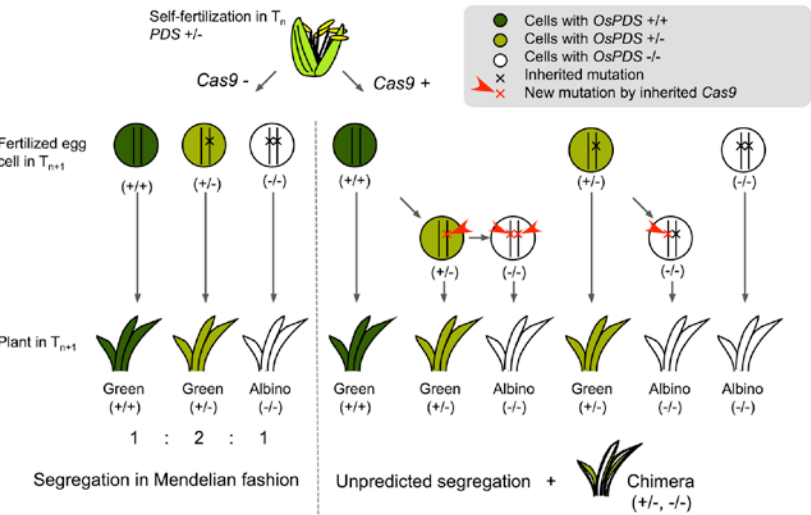


図1 CRISPR/Cas9により導入した変異遺伝子の分離異常発生 の模式図

Fig. 1. Diagrammatic model showing the unpredicted segregation of a targeted mutation

