

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： ジーンターゲットイングを向上させるエフェクターのデリバリーのための *piggyBac* シャトルベクターの開発

2. 個人研究者名

横井 彩子（農業・食品産業技術総合研究機構生物機能利用研究部門 上級研究員）

3. 事後評価結果

ジーンターゲットイング (GT) は相同組換え (HR) によって任意の配列を標的遺伝子内に導入し機能獲得型変異体を作成する技術として、農作物の品種改良においても極めて重要であるが、相同組換え効率の低さゆえ、高等植物における GT 効率は非常に低い。横井研究者は、CRISPR/Cas9 発現カセット、GT 鋳型配列、選抜マーカーを一つの T-DNA 上に配置した all-in-one vector を用いて *ALS* 遺伝子に点変異を導入したイネカルス細胞の選抜を試みた。用いた細胞のうち 0.2% が GT ポジティブ細胞であり、それらの細胞から GT 個体を得た。ついで GT 系の効率を高めるために、相同組換えの効率を高める薬剤処理や非相同末端結合経路の発現を抑制するなどの手法改良を試み、複数の有望な改良点を見出した。また、より実用的な技術に発展させるために、GT を誘導するために核内に導入した CRISPR/Cas9 発現カセットを核内から痕跡を留めずに除去する手法として、*piggyBac* トランスポゾンを用いた一時的導入系の開発に取り組み、予想通りに発現カセットを出し入れできることを確認した。さらに、再現性ある GT 系が確立されていなかったタバコを用いた実験系も作り、約 0.2% の割合で GT ポジティブのカルス系統を得るなど、イネ以外の植物にもこの手法を適用する可能性を認めた。

横井研究者はさきがけ期間中に産前産後・育児休暇を取得し、研究期間を9ヶ月間延長して研究を継続した。育児と研究の両立に悩む時期もあったとのことだが、簡便で再現性の高い GT 系を確立したことは大きな成果である。今後は、実用化に向けてより精密・高効率の GT を可能にする技術革新を目指し、この手法以外では改変が困難な作物や有用植物の創出を目標として着実に前進することを期待する。