

## 黄麹菌の新しい育種法・ゲノム編集技術の開発

麹菌は、日本の醸造・発酵産業に深く関わり有用菌株が求められていましたが、多核、交雑が出来ない等の理由により育種が非常に難しい状況にありました。それを打ち破ったのが、2020年にノーベル医学生理学賞に輝いたCas9によるゲノム編集技術です。

ゲノム編集は、遺伝子上の狙った位置に改変を施すことができる技術ですが、ゲノム編集を施した育種体に細胞外で加工した核酸又はその複製物が残存する場合、遺伝子組換え生物として取り扱われます。

そこで当所では、育種体が遺伝子組換え生物に該当する可能性を減らす方法として、Cas9酵素及びsgRNAを外から直接導入しゲノム編集する系を開発しました。また、直接導入の系を応用して、市販のCas9酵素及び複数の目的とする配列に相同するsgRNAを使用し実用されている産業株にゲノム編集を実施できる系を構築しました。

原理としては、目的とする遺伝子及び破壊されることで薬剤耐性などの選択が可能な形質を示す遺伝子のsgRNAを同時に導入することで各々に変異導入し、選択が可能な性質で変異株の選抜を行う方法であり、共ゲノム編集法と名付けました。

共ゲノム編集の技術を応用して、一般に遺伝子組換えで汎用されている遺伝子破壊、ノックイン、大規模欠失などの一連の手法がゲノム編集により効率よく実施出来ることを確認し、技術基盤が構築されました。さらに、Cas9でのゲノム編集では、稀にオフターゲットと呼ばれる目的以外の部位に変異を導入してしまうことが起こるとされていますが、開発した方法では、そのような変異が起きていないことが確認され、安全なゲノム編集育種の可能性が示されました。今後、本研究の成果は産業株に対して様々な有用形質を付加する実用育種に活用されることが期待されます。

麹菌の実用育種に繋がるゲノム編集技術基盤を確立した。

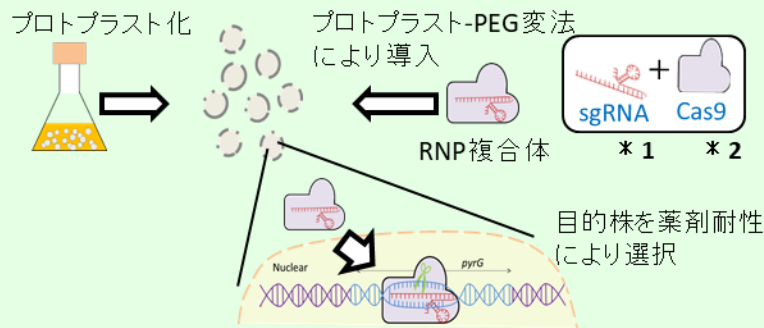
# 黄麹菌の新しい育種法・ゲノム編集技術の開発

麹菌は掛け合わせによる交雑ができず育種が非常に困難。

遺伝子組換えではないゲノム編集による育種法の開発を目指す。

原理

## Cas9タンパク質直接導入ゲノム編集法

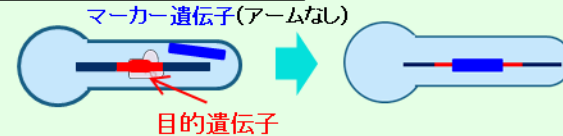


\*1 目的部位にガイドするsingle guide RNA \*2 DNAを切断するCas9酵素

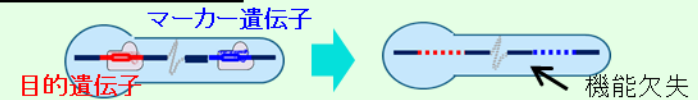
基本

## ノックインゲノム編集法

目的遺伝子の位置にマーカー挿入



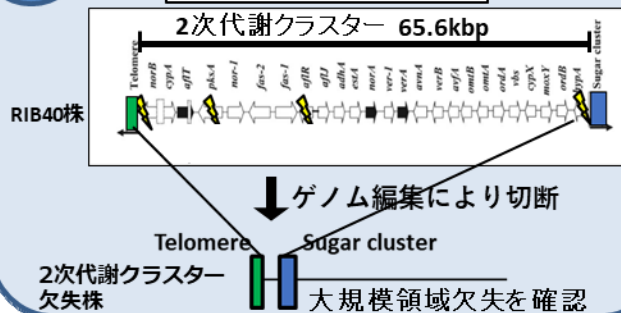
## 共ゲノム編集法



・マーカーがない実用株に適用可能

応用

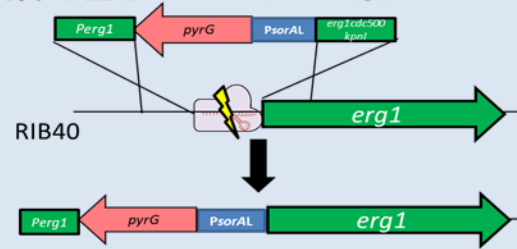
## 大規模領域欠失



応用

## プロモーターの導入

制御可能なプロモーターの導入



確認

## オフターゲットの確認

ゲノム編集体を全ゲノム解析

- ・sgRNAの相同位置に変異無し
- ・自然変異の数(SNPs)に差はない

安全なゲノム編集育種の可能性



黄麹菌でのゲノム編集技術基盤を確立