

ネムリユスリカの乾燥耐性遺伝子検索のためのゲノム編集技術構築

SATテクノロジー・ショーケース2015

■ はじめに

ネムリユスリカ (*Polypedilum vanderplanki*) は、乾燥しても給水により蘇生できる唯一の昆虫であり、近年、全ゲノム配列の決定に成功した⁽¹⁾。ネムリユスリカ由来培養細胞 (Pv11) は個々の細胞での乾燥耐性能も示すことが確認されている(図1)⁽²⁾。これにより、乾燥耐性を細胞レベルで解析することが可能である。

我々は、Pv11 の乾燥耐性に決定的な役割を果たす遺伝子を特定するために、ゲノム編集技術 (CRISPR system) を利用することにした。CRISPR system とは逆遺伝的な解析により機能未知遺伝子を解明する最新の解析法である。その為には、Pv11 による Cas9 タンパク質と guideRNA の発現が必要となる。しかし、本研究対象であるネムリユスリカが非モデル生物であるため、独自にシステム構築を行わなければならない。

■ 活動内容

1. Cas9 タンパク質を Pv11 で発現させる配列 (プロモーター) の特定

Pv11 では比較的近縁種 (蛾) のプロモーター配列でもタンパク質を発現させることができなくなった。そのため、ネムリユスリカ全ゲノム配列と mRNAseq データより、タンパク質を常時発現しているプロモーターを選出した。その中から、Pv11 のタンパク質発現プロモーター (PvGAPDH) を特定、タンパク質の発現に成功した。特定した PvGAPDH プロモーターを用いて Cas9 タンパク質の発現に成功した(図2)。

2. guideRNA を Pv11 で発現させるプロモーターの特定

ネムリユスリカ全ゲノム配列と mRNAseq データより、RNA を常時発現しているプロモーターを選出し、Pv11 専用の RNA 発現プロモーター (PvU6) を特定し、guideRNA の発現に成功した。

上記の成功によって Pv11 のゲノム編集における逆遺伝的解析へ近づいた。そこから、乾燥耐性に決定的な役割を果たす遺伝子を特定する。

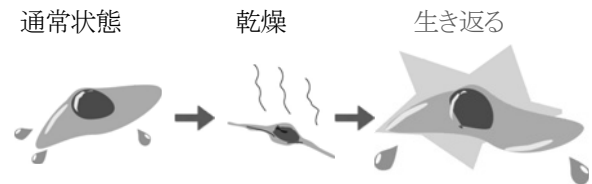


図1. ネムリユスリカ由来培養細胞 (Pv11)

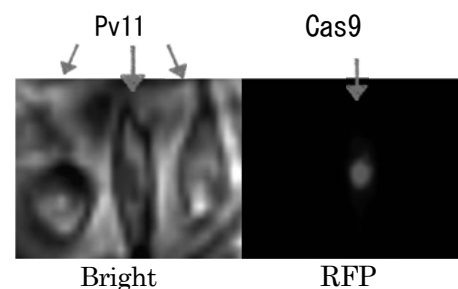


図2. Pv11 で発現した Cas9

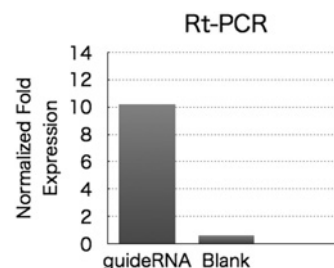


図3. Pv11 で発現した guideRNA

■ 関連情報等 (特許関係、施設)

- Gusev O, Suetsugu Y, Cornette R, Kawashima T, Logacheva MD, Kondrashov AS, Penin AA, Hatanaka R, Kikuta S, Shimura S, Kanamori H, Katayose Y, Matsumoto T, Shagimardanova E, Alexeev D, Govorun V, Wisecaver J, Mikheyev A, Koyanagi R, Fujie M, Nishiyama T, Shigenobu S, Shibata TF, Golygina V, Hasebe M, Okuda T, Satoh N, Kikawada T. Comparative genome sequencing reveals genomic signature of extreme desiccation tolerance in the anhydrobiotic midge. *Nat Commun* 5: 4784.
- Nakahara Y, Imanishi S, Mitsumasu K, et.al., Cells from an anhydrobiotic chironomid survive almost complete desiccation., *Cryobiology*, 2010. 60(2):p. 138-146.

代表発表者 岡田 淳 (おかだ じゅん)
 所属 (独) 農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター
 昆虫機能研究開発ユニット
 問合せ先 〒305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2
 広報室
 TEL: 029-838-8469 FAX: 029-838-8465
 nias-koho@nias.affrc.go.jp

■キーワード: (1) ネムリユスリカ
 (2) 乾燥耐性
 (3) ゲノム編集