

ゲノム編集技術を用いた、新しい家禽産業の構築

SATテクノロジー・ショーケース2017

■ はじめに

国内の採卵養鶏業は市場が飽和状態となっておりと言われ、国内における市場拡大が難しくなってきました。今後の国内養鶏業を発展させるためには、新しい家禽産業を創出することも重要と考えます。私たちは、最新の科学技術である「ゲノム編集技術」と家禽の「発生工学技術」を組み合わせることにより、家禽を利用した新たな産業が構築できるのではないかと考えています。今回、ゲノム編集技術を用いてアレルギー原因物質の遺伝子を欠失させることにより、これまでの育種方法では作出が困難であった「卵アレルギーの原因物質を作らないニワトリ」を作出いたしました。また、ゲノム編集技術がもたらす家禽産業の未来を展望いたします。

■ ゲノム編集とは

「ゲノム編集」とは、CRISPR/Cas9 システム等の人工制限酵素等を用い、狙った DNA 配列の一部をピンポイントで削除(カット)することで目的とするタンパク質が作られないようにする遺伝子ノックアウトや、新たな機能をもつ遺伝情報(DNA 配列)を任意の場所に貼り付け (ペースト)する遺伝子ノックイン技術を可能にし、文字通り遺伝情報を自由自在に「編集」できる技術です。

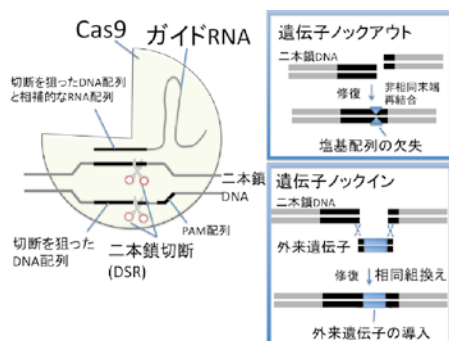


図1. CRISPR/Cas9システムによる二本鎖DNA切断(左)修復時に生じる遺伝子ノックアウトとノックイン(右)
(畜産技術2016年9月号より一部改変)

■ オボムコイド遺伝子欠失ニワトリ作出の意義

鶏卵は食品としてはもちろん、インフルエンザワクチンなどのワクチン製造にも使われます。しかし鶏卵を利用したワクチンには微量ながら卵白成分が含まれる場合があり、これがワクチン投与後のアレルギー反応を引き起こす可能性を排除できません。卵白の中で最も強いアレルギー

ン活性を持つ成分が「オボムコイド」です。もし、オボムコイドを全く含まない卵を作ることができれば、ワクチン製造などに有用になることが期待されます。私たちはゲノム編集技術を用いて、オボムコイド遺伝子を欠失(ノックアウト)させ、オボムコイドタンパク質を作ることができないニワトリの作出を試みました。

■ ゲノム編集によるオボムコイド遺伝子欠失ニワトリの作出

ニワトリにはマウスのようなES細胞がありません。また、卵子への直接アプローチも巨大な卵黄が邪魔をするため困難です。そのため、ニワトリ独自のゲノム編集技術確立する必要があります。私たちは、精子や卵子の源になる細胞である「始原生殖細胞 (PGCs)」を利用するゲノム編集技術を開発しました(図2)。

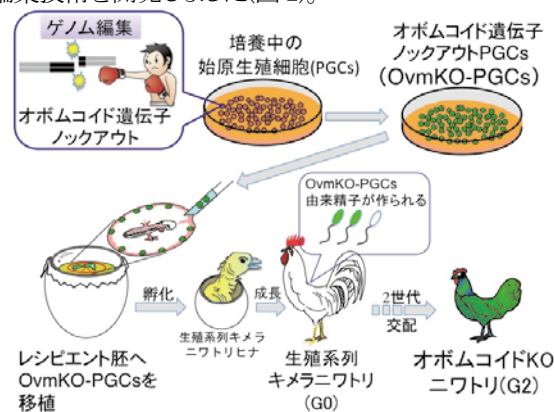


図2. ゲノム編集によるオボムコイド遺伝子欠失ニワトリの作出法

1. ニワトリPGCsの培養技術の高度化

ニワトリ由来膜結合型幹細胞因子(chSCF2)は、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF/FGF2)と協調してニワトリPGCsの増殖を促進することを明らかにしました。そこで、chSCF2を発現するフィーダー細胞を作製し、このフィーダー細胞と共に培養する方法によってPGCsの増殖効率を5倍以上に引き上げました(図3)。



図3. 培養して増殖したニワトリ始原生殖細胞

代表発表者 **田上 貴寛 (たがみ たかひろ)**
所 属 **農研機構 畜産研究部門 家畜育種繁殖研究領域**
問合せ先 **〒305-8517 茨城県つくば市池の台 2
TEL:029-838-8624 FAX:029-838-8624
tagami@affrc.go.jp**

■キーワード: (1)ニワトリ
(2)ゲノム編集技術
(3)医薬品

■共同研究者:
大石 勲 (産業技術総合研究所)
宮原大地 (現:信州大学)

SATテクノロジー・ショーケース2017

2. 培養ニワトリPGCsへのゲノム編集操作

オボムコイド遺伝子を欠失させるためのCRISPR/Cas9システムを培養中のPGCsへ導入し、その後、選択培地により、オボムコイド遺伝子が欠失したPGCs (OvoKO-PGCs)を増殖させました。

3. キメラニワトリを介したオボムコイド遺伝子欠失ニワトリの作出

OvoKO-PGCsをレシピエント胚へ移植し、生殖系列キメラニワトリ(第0世代:G0)を作出しました。このキメラニワトリでは、OvoKO-PGC 由来の精子が生産されています。G0から交配を2世代経ることにより、オボムコイド遺伝子が完全に欠失したニワトリを作出しました(図4)。



図4. ゲノム編集によるオボムコイド遺伝子欠失ニワトリ (G2)

現在はこのG2ニワトリの性成熟を待っているところであり、産卵開始後はオボムコイド遺伝子が欠失した雌G2ニワトリが生産する卵の性質を解析する予定です。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

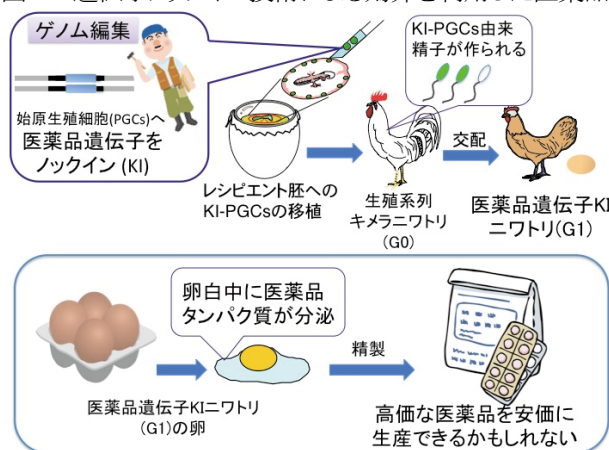
- Oishi I, , Yoshii K, Miyahara D, Kagami H, Tagami T. (2016) Targeted mutagenesis in chicken using CRISPR/Cas9 system. Sci Rep ;6:23980. doi: 10.1038/srep23980.
- Miyahara D, Oishi I, Makino R, Kurumisawa N, Nakaya R, Ono T, Kagami H, Tagami T. (2016) Chicken stem cell factor enhances primordial germ cell proliferation cooperatively with fibroblast growth factor 2. J. Reprod. Dev. 61, 143-149.

- 特許第5688373号「 α -ガラクトースエピトープを発現するトランスジェニック鳥類、ウイルス及びワクチン」
- 特願 2014-132007「家禽の遺伝子改変方法」

■ 新しい家禽産業の構築に向けた今後の展望

ゲノム編集技術は、遺伝子をノックアウトさせるだけではなく、思った場所に遺伝情報を組み込むノックインも可能にします(図 1 右)。遺伝子ノックイン技術を用いると、現在は高価な医薬品を非常に安価に生産することが可能になるかもしれません(図 5)。

図 5. 遺伝子ノックイン技術による鶏卵を利用した医薬品



生産

近年、バイオ医薬品と呼ばれるバイオテクノロジーによって作られるリウマチや癌などに対するタンパク質医薬品が脚光を浴びています。一方で、生産コストが高いことが、薬価を上げる原因ともなっています。

ニワトリの卵白は、タンパク質が豊富なことで知られています。そして1個の生産コストが約10円程度です。もし卵白成分の一部をバイオ医薬品となるタンパク質に置き換えることができれば非常に安価にバイオ医薬品の大量生産が可能になることが予想されます。

ニワトリの卵白中にバイオ医薬品を生産することが可能になれば、食料生産だけではない、医薬品生産事業という全く新しい家禽産業を構築できるのではないかと考えています。