
口頭発表

[D] 生理学・生化学・分子生物学

2024年3月31日(日) 09:00 ~ 11:30 D会場 (白檯2)

11:15 ~ 11:30

[D-43] Cas9エンジニアリングが拓く成虫注射による昆虫ゲノム編集の新展開

○白井 雄¹、大門 高明¹ (1. 京都大学)

これまでの昆虫のゲノム編集は、初期胚への顕微注入法に大きく依存していた。近年、我々が、メス成虫への注射によってゲノム編集を可能にする DIPA-CRISPR法の開発に成功したことで、極めて簡便に、あらゆる昆虫でのゲノム編集が可能になった。しかし、ノックインの技術的な難易度は高く、実用レベルには至っていなかった。2018年に、サーコウイルス由来の PCV タグを融合させた Cas9 が、一本鎖 DNA との共有結合を介して、ノックイン効率を向上させることがヒト培養細胞において示された (Aird et al., 2018)。そこで我々は、このアプローチが成虫注射によるゲノム編集においても有効であるかどうかを検証するために、3段階のクロマトグラフィー精製による Cas9 の内製化に取り組み、PCV タグを融合した Cas9 を作成した。甲虫を用いてこれをテストしたところ、タグ無しのものに比べて約 5 倍の極めて高いノックアウト効率を示した。また、ノックインについても、共有結合していないものに比べて約 2.5 倍の効率を示した。本講演では、Cas9 エンジニアリングによって実現した、成虫注射による昆虫ゲノム編集の新しい展開について議論したい。