

## 第17回麻布大学 生殖・発生工学セミナー

## ブタにおけるゲノム編集および生殖関連細胞の超低温保存

柏崎直巳

麻布大学 獣医学部

最近、様々な生物種を対象に個体レベルで特定遺伝子をターゲットとして、その機能を失わせたり、あるいは遺伝子を挿入したりするゲノム編集技術が開発され、その応用が期待されている。このゲノム編集とは、ゲノムの特定部位を切断できる人工制限酵素を用いて特定ゲノム配列を「置換、挿入、削除」する技術である。第一世代のツールは「zinc-finger nuclease: ZFN」(1)、第二世代のツールは「transcription activator-like effector nuclease: TALEN」(2)で、ともにゲノムの特定領域を認識して制限酵素 Fok I によってゲノムの DNA 二本鎖切断を誘起する人工ヌクレアーゼを受精卵や初期胚の細胞質で機能させてゲノムを改変しようとするものである。2012年には第三世代の CRISPR/Cas システムが報告され(3)、ゲノムの標的部位を認識する「clustered regularly interspaced short palindromic repeats: CRISPR」という RNA と DNA 切断酵素である Cas との RNA 複合体を受精卵や初期胚の細胞質で機能させて特定のゲノム領域を切断させることに基づいている。そして特定領域ゲノムの DNA 二重鎖が上記の ZFN, TALEN もしくは CRISPR/Cas の人工ヌクレアーゼによって切断されると、そのゲノムは非相同末端結合によって修復されるが、その際にそのゲノムは結

果的に、高頻度で偶発的に塩基の挿入欠失が高率におきたり、相同組替え効率が高くなったりする。ブタにおいても生産効率の改善や環境変化への対応、さらには生産性低下をもたらす疾病や人獣共通感染症に対する抵抗性付与などが求められるであろう。さらに、ヒト臓器のドナーとしてのブタや疾病モデルとしてのブタの開発が求められている。これらの開発には、従来の選抜を重ねる育種技術だけではその開発は難しく、このゲノム編集技術を適用することが1つの解決法になる。このゲノム編集技術あるいは人為的に作出された遺伝子改変ブタは、その遺伝資源を効率的に保存するために、配偶子や初期胚などの生殖関連細胞を超低温保存し、さらに保存細胞から個体を復元する技術が重要である。さらに、この遺伝子改変ブタは、基本的には従来のノックアウト動物と変わらないことから、オフターゲット効果など、その特徴を十分に理解してから応用するべきであるとの意見もある。

- 1) Kim YG *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* (1996) 93: 1156.
- 2) Bach J *et al.*, *Annu Rev Phytopathol* (2010) 48: 419.
- 3) Jinek M *et al.*, *Science* (2012) 337: 816.