

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月3日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]
京都大学・大学院農学研究科
[職・氏名]
教授・大門高明
[課題番号]
JPJSBP 120209917

1. 事業名 相手国: スペイン (振興会対応機関: OP) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) ゴキブリのゲノム編集: 日西共同研究チームの挑戦

(英文) Genome editing of cockroaches: a collaborative challenge by Japanese and Spanish teams

3. 共同研究実施期間 2020年4月1日 ~ 2023年3月31日 (3年 0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Institute of Evolutionary Biology · Research Professor · Xavier Belles-Ros

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3,705,000 円
内訳	1年度目執行経費	1,881,000 円
	2年度目執行経費	1,824,000 円
	3年度目執行経費	円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	8名
相手国側参加者等	8名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0	0	0
2年度目	0	0	0
3年度目	0	2	0

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣: 委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入: 相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

本研究課題では、成虫にゲノム編集ツール CRISPR/Cas9 RNP を注射することによる、革新的なゲノム編集法の開発を目的とし、卵に注射「できない」昆虫のモデルとしてチャバネゴキブリを採用した。この方法を開発するために、ゴキブリの発育・生殖の生理学に関する研究で名高い Xavier Belles 博士、Maria-Dolors Piulachs 博士らの研究チーム(進化生物学研究所、スペイン)との共同研究を行った。

本研究課題は2020年4月1日に開始した。当初計画では2022年3月31日までの2年0ヶ月の研究期間を設定していたが、新型コロナウイルス感染症のパンデミックに伴い、研究期間を1年0ヶ月延長し、2023年3月31日までとした。

2020年、2021年度は、コロナウイルス感染症の影響で海外への渡航が困難となり、オンラインでの研究交流を行った。2022年7月には、大学院生2名をヘルシンキ(フィンランド)で開催された国際昆虫学会議(The 26th International Congress of Entomology)に派遣し、現地でスペイン側2名(Xavier Belles 博士、Maria-Dolors Piulachs 博士)と合流、対面での研究討議および研究交流を行った。

本課題は「ゴキブリのゲノム編集:日西研究チームの挑戦」と題したが、本事業による研究交流の結果、前人未到のゴキブリのゲノム編集を成功させることができた(以下に詳述)。また、スペイン側の Xavier Belles 博士、Maria-Dolors Piulachs 博士のもとへ大学院生を長期派遣(別プログラムによる)させる道筋をつけることもでき、研究交流・若手研究者育成という面でも大変有意義なものであった。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

本研究課題によって、成虫への注射によって昆虫のゲノム編集を可能とする、DIPA-CRISPR 法(Direct Parental CRISPR)の開発が達成された。

チャバネゴキブリにおいては、(i) Cas9 試薬の種類、(ii) 注射する Cas9 RNP の濃度、(iii) Endosomal escape を補助する試薬の利用、(iv) 注射するメス成虫のステージ等について検討を行い、高効率でのゲノム編集法を確立した(変異導入効率は20%以上)。この方法を用いて、世界で初めてのゲノム編集ゴキブリ系統を樹立した。また、モデル甲虫であるコクヌストモドキを用いてその汎用性を検証したところ、最適条件下においてゲノム編集効率を50%に到達させることに成功した。さらに広範な種において調査したところ、カメムシ・蚊においてもDIPA-CRISPR法によるゲノム編集法が可能であることが判明した。

これまで、昆虫のゲノム編集は初期胚に試薬を注射できるとは限らず種においてのみ可能な技術であり、誰もが、どの種においても使えるものではなかった。しかし、DIPA-CRISPR 法の開発によって、成虫への注射という簡便な方法で昆虫のゲノム編集が可能となった。本法は、今後の昆虫ゲノム編集法の標準的な手法として、様々な昆虫を対象に世界で広く利用されていくものと考えられる。

DIPA-CRISPR 法の開発を報告した論文(相手方との共著論文、Shirai et al. 2022 Cell Reports Methods)は大きな反響をよび、京都大学から行ったプレスリリースは国内の多数のメディア(いわゆる五大全国紙を含む)で紹介された。また、代表者が確認できた範囲では、20ヶ国以上の海外メディアで報道された。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

DIPA-CRISPR 法の成否を左右するのが、対象種ごとの正確な繁殖生理の理解である。ゴキブリのゲノム編集実験にあたっては、スペイン側の研究者から専門的な知識にもとづく貴重なフィードバックを得て、実験のデザインや実験系の最適化を図ることができた。その結果、最終的にはゴキブリのゲノム編集効率は20%もの高効率に達した(=注射したメスの子の20%がゲノム編集個体となった)。また、他の昆虫にDIPA-CRISPR法

を応用する際にも、相手方がもつ昆虫の卵黄形成機構の専門的知識を活用することで、産卵タイプ(周期型、継続型)ごとに実験系を最適化することによって、極めて高いゲノム編集効率を達成することができた(たとえばコクヌストモドキにおいて50%以上)。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

昆虫は現在の地球上で最も繁栄しているグループであり、生存・繁殖のために驚異的な生物機能を備えている。たとえば明治以来のわが国の養蚕学がカイコの生物学的機能を活用した物質生産系(組換えカイコによる有用物質生産系、バキュロウイルスによる有用物質生産系など)の開発・産業化をもたらしたように、DIPA-CRISPR法を用いた多種多様な昆虫の柔軟な遺伝子改変によって、今後、人類が昆虫の驚異的な生物機能を覚醒・フル活用する道が拓かれるものと期待される。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

本課題には日本側の大学院生6名が参画した。うち2名は国際会議(The 26th International Congress of Entomology, Helsinki)へ派遣して相手側研究者と対面での研究交流を行うことができた。そのうち1名は、別プログラム(若手研究者海外挑戦プログラム)によって相手側研究者の研究室に長期滞在し(約3ヶ月)、キャリアの早期に海外のラボで研究を行う、という貴重な経験を積むことができた。研究期間中に行ったDIPA-CRISPR法に関連する学会発表は11件であり、そのうち9件が大学院生が筆頭演者であった。そのうち5件において発表賞を受賞している。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

DIPA-CRISPR法は、誰でも、すぐに、簡単に、昆虫のゲノム編集を可能とする画期的な方法である。研究環境の整っていない国/地域/研究室においても、容易に実験系の導入が可能であるため、本法は、昆虫科学の発展を基礎・応用の両面から強力に牽引するものと期待される。また、DIPA-CRISPR法は、原理上、他の節足動物(甲殻類・鋏角類・多足類)、あるいは魚類においても適用できる可能性がある。これらの生物の中には、重要な衛生害虫(マダニなど)や水産資源(エビ・カニ、養殖魚など)が含まれる。

(7)その他(上記(2)~(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

[受賞]

1. Yu Shirai “Parental CRISPR: a versatile tool for insect genome engineering” 第67回日本応用動物昆虫学会、The 2023 (2nd) Best English Presentation Award
2. 白井雄「成虫インジェクションによる昆虫ゲノム編集技術の高度化」日本ゲノム編集学会第7回大会、優秀発表賞
3. 白井雄「成虫インジェクションによる昆虫ゲノム編集技術の高度化」日本ゲノム編集学会第7回大会、優秀ポスター賞(学生の部)
4. 白井雄「昆虫の卵巣発達を利用した新規ゲノム編集法」第65回日本応用動物昆虫学会大会、ポスター賞
5. 白井雄「成虫へのインジェクションによる新規ゲノム編集法の最適化とその汎用性の検証」令和3年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会、学生発表賞