

ゲノム編集の時代における「緑の酵母」クラミドモナスの復権

浜地 貴志*・西村 芳樹

「緑の酵母」とよばれる生き物がいる。緑色植物として葉緑体を持ちながら、動物のように2本の鞭毛で自由に泳ぎ回り、生殖の際にはパートナー探しに奔走する。クラミドモナス (*Chlamydomonas*) という真核単細胞緑藻であるが、この生物、応用面ではオイル・健康食品・化粧品生産などに役立つばかりでなく、基礎研究では光合成の分子メカニズム解明のほか、鞭毛運動のモデルとして医学分野の研究 [カルタゲナー症候群 (内臓逆位, 男性不妊, 慢性副鼻腔炎など), 水頭症などの機構解明] にも貢献してきた。

クラミドモナスは遺伝学・生化学のモデル生物として研究されてきた。その特長としては、一倍体が主の生活環を展開するために突然変異が表現型として顕れやすい点、核ゲノムの形質転換系に加え、ミトコンドリア・葉緑体ゲノムの遺伝子操作が可能である点、さらに全ゲノム配列情報も利用可能である点などがあげられる。こうしたさまざまな実験上の長所から、基礎生物学研究のツールとして確固たる地位を築いている出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) になぞらえて「緑の酵母」とも渾名されるクラミドモナスだが、「逆遺伝学」においては苦戦を強いられることとなってしまった。

逆遺伝学とは、機能から原因遺伝子を解明する「順」遺伝学に対して「逆」、つまり何かの遺伝子の異常がどのような表現型を引き起こすか、を明らかにしようというアプローチである。これまでにクラミドモナスでもさまざまな手法が試みられてきたが、RNA干渉法による発現抑制は効果が不安定であり、全ゲノム内の各遺伝子に対応する突然変異を網羅的に作出する取組みは、まだ一部の遺伝子しか網羅できていない。そこで注目されているのが、ゲノム編集技術である。

一般的な「ゲノム編集」の手法としてはさまざまなものがあるが、なかでも切断の対象となる配列の選択やデザイン、プラスミド構築の容易さから、原核生物がウイルス応答・獲得免疫システムとして持っていたCRISPRに由来するシステムが急速に脚光を浴びている。CRISPRはClustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeatsの略称で、定訳はないが「任意配列が規則的に挿入された、短い回文繰り返し配列からなるクラスター」となるかもしれない¹⁾。ただし現在、化膿レンサ球菌 *Streptococcus pyogenes* のCRISPR-associated 9 (Cas9) がDNA切断酵素として広く用いられているが、この生物の「CRISPR」は厳密には繰り返し配列に「回文」構造を有さないで、単に「クリスパー」と呼んで通じ

てしまうのは少し奇妙である。Cas9が切断する標的DNA配列はprotospacer、その隣接配列はprotospacer adjacent motif (PAM) とよばれる。Cas9は、標的DNAを認識する protospacer 配列を付与されたガイドRNAによって標的DNA部位に誘導され、切断を行う。Cas9タンパク質・ガイドRNA・標的DNAという、この3種類の生体高分子がひとつになったとき切断が起きるこの現象は、まるでシンプルな数式のような美しさを感じさせる。切断後、修復の雛形となるドナーを同時に入れておいて相同組換えで組み込ませる相同組換え修復homology directed repair (HDR) や、切断末端を直接つなぐ非相同末端結合 non-homologous end joining (NHEJ) のときに引き起こされるランダムな塩基挿入・欠失が起こることによりゲノムが編集される。

CRISPRを用いた応用例は、陸上植物でもすでに多数の報告がある。クラミドモナスでも世界中で熾烈な開発競争が繰り広げられており、2014年²⁾、2016年と立て続けに報告があったものの^{3,4)}、その効率はきわめて低かった。それが2017年になって、選択マーカーとともに、ガイドRNA・Cas9タンパク質とHDRドナーの二本鎖オリゴDNAを混合してエレクトロポレーションするという手法が開発され、ようやく数%程度という現実的な確率で遺伝子破壊株が得られたという報告が世に出たことで、潮目が変わりはじめている⁵⁾。クラミドモナスの全ゲノム配列はすでに報告されており、そこには約18,000の遺伝子の存在が予測されている。そのうちの多くは未だ手付かずの、機能未知遺伝子である。クラミドモナスにおけるCRISPR技術開発の成功は、これらすべての遺伝子が、逆遺伝学の射程内に入るということを意味し、そしてその結果として冒頭でも触れた応用分野への展開を加速する。

クラミドモナスは半世紀以上にわたり、光合成や鞭毛研究の遺伝学的研究における中心的なモデルとして活躍してきた。ゲノム編集の時代における、「緑の酵母」クラミドモナスの復権に向けた潮流は、いままさに動き出したばかりだ。

- 1) 石野良純: 生物工学, **94**, 336 (2016).
- 2) Jiang, W. *et al.*: *Eukaryot. Cell*, **13**, 1465 (2014).
- 3) Shin, S. E. *et al.*: *Sci. Rep.*, **6**, 27810 (2016).
- 4) Baek, K. *et al.*: *Sci. Rep.*, **6**, 30620 (2016).
- 5) Greiner, A. *et al.*: *Plant Cell*, **29**, 2498 (2017).