

Direct parental CRISPR 法による昆虫のゲノム編集○大門 高明¹, 白井 雄¹¹京都大学大学院農学研究科**Insect genome editing by direct parental CRISPR**○Takaaki Daimon¹, Yu Shirai¹¹Graduate School of Agriculture, Kyoto University

昆虫は多様性の宝庫であり、地球の覇者である。昆虫の種数は地球の全生物の半数以上を占めるとされ、昆虫は熱帯から極地にわたる多様な環境に進出している。これを可能にしたのが、昆虫が4億年をかけて進化させてきた特異な形態・生理・生態である。昆虫の生命活動は時に人間との利害関係を産んでおり、その一方で、昆虫は現在の地球環境・生態系の維持に欠かすことができない重要なグループとなっている。

近年のゲノム編集ツールの開発によって、昆虫においてもゲノム編集が可能となっている。しかし従来の方法では、昆虫の初期胚にゲノム編集ツールを注射する必要がある、これには高価な機材やトレーニング、そして種ごとに特別な実験系のセットアップが必要である。さらに、従来法では原理上ゲノム編集できない、あるいは著しく困難な昆虫も存在する（卵胎生、卵鞘、超小型、内部寄生者など）。従来法には以上のような限界があり、これが昆虫科学の基礎研究の発展とゲノム編集昆虫の産業応用を阻む障壁となってきた。

演者らの研究グループは、従来法とは異なるアプローチによって簡便に昆虫のゲノム編集を行うための方法論の開発に取り組んできた。その結果、成虫に注射することで高効率にゲノム編集を行うことができる方法を確認することができた。本講演では、この方法（direct parental CRISPR, DIPA-CRISPR）について紹介したい。

DIPA-CRISPR 法では、卵黄形成期のメス成虫の体腔内に Cas9 RNP を注射し、そのメスにゲノム編集された子世代を産ませる。昆虫は開放血管系をもつため、注射された RNP は体液に乗って全身を循環する。一方、卵黄形成期の卵母細胞は、卵黄タンパクの前駆体を体液からエンドサイトーシスで大量に取り込み、細胞内に蓄積させていく。これらの性質をうまく利用すると、メス成虫が体内に抱える卵母細胞の内部に Cas9 RNP をデリバリーすることができ、そこでゲノム編集を施すことができる。DIPA-CRISPR 法は極めてシンプルである。メス成虫に注射するだけで良く、これには高価な機材や技術的な熟練は不要である。用いる試薬は Cas9 と sgRNA だけで良く、市販品をそのまま使えば良い。メス成虫のステージングを適切に行うことにより、子の半数以上（甲虫の一種）または2割程度（ゴキブリ、卵鞘型）がゲノム編集個体となった。子の多くはモザイクとなるが、全身の細胞でノックアウトされた個体も得られた。

昆虫科学は昆虫の特異な形態・生理・生態を理解することで将来にわたる人類の生存を保障しようとする学問分野である。今後、DIPA-CRISPR 法を改良し、さらなる高効率化、多用途化を図ることにより、150万種を超える昆虫のほぼすべてにおいてゲノム編集を可能とし、昆虫の驚異的な生物機能をフル活用する未来を拓くことができるかもしれない。また、原理上、他の節足動物でも同様のアプローチでゲノム編集ができる可能性がある。その中には、ダニ（鋏角類）などの農業・衛生害虫や、えび、かに（甲殻類）などの重要な水産資源も含まれる。