

ジャガイモ塊茎デンプンの代謝工学に向けた高効率ゲノム編集技術の開発

Establishment of the efficient genome editing system for metabolic engineering of the potato tuber starch

竹内 亜美

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻

ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) は穀物生産量が世界第 4 位の主要作物であり、塊茎のデンプンは食用から工業用まで広く利用されている。高機能なデンプン形質を有するジャガイモの育成は、大きな育種目標の 1 つである。しかし、栽培種のジャガイモは栄養生殖性が強く、4 倍体ゲノムをもつため、従来の交配育種法で新たな品種を作出することは容易でない。本研究では、ゲノム編集技術を利用したジャガイモの変異体育種を目指して、その技術開発と、これを利用した塊茎のデンプン生合成に関与する遺伝子群のゲノム編集により新規形質を有するジャガイモ変異体の作出を行った。

1. CRISPR/dMac3-Cas9 システムを用いたジャガイモ変異体の作出

ジャガイモ塊茎の貯蔵デンプンは、アミロースとアミロペクチンから構成される。アミロース生合成には顆粒結合型デンプン合成酵素(GBSS)が関与する。この酵素活性が低い変異体は低アミロースの形質を示す。アミロース含量が減少することでデンプンは粘り気が増し、完全に欠損した変異体はモチ性の形質を示す。一方、アミロペクチン生合成には、デンプン枝付け酵素(SBE)が大きく関与する。この酵素活性が低い変異体は高アミロース形質を示し、このデンプンは繊維質で難消化性の性質が増す。また、ジャガイモデンプンは *glucan-water-dikinase* (GWD) によるリン酸架橋がされており、この反応はデンプンの含水性の増大に寄与している。本研究では、CRISPR/dMac3-Cas9 システムを用いて、これらの酵素遺伝子の変異体作出を試みた。

ところで、4 倍体ゲノムのジャガイモには標的となる遺伝子が 4 アリル存在するため、これら 4 つの遺伝子座の全てに変異を導入する必要がある。CRISPR/dMac3-Cas9 システムは、翻訳エンハンサー dMac3 を利用した強力なゲノム編集ツールである。このシステムを利用して、GBSS 遺伝子、SBE 遺伝子、GWD 遺伝子のゲノム編集による変異体の作出を行った。既に GBSS1 遺伝子の変異体が得られており、これが低アミロース形質を示すことが明らかとなっている[1]。そこで、アミロペクチン生合成に関与する SBE3 遺伝子のゲノム編集を試み、複数の *sbe3* 変異体を得た[2]。ウエスタン分析により、これらの変異体は SBE3 が欠損している 4 アリル変異体であることが分かった。*sbe3* 変異体の塊茎デンプンの形質評価の結果、この変異体塊茎のデンプンは野生型と異なる形質を有することが分かった。次に、類似の手法により、デンプンのリン酸化に関わる GWD1 遺伝子の変異体を得た。

この変異体の *GWD1* 遺伝子には 4 つのアリルの全てに変異が生じていた。また、塊茎に含まれるデンプンはリン含量が減少していることが分かった。

CRISPR/dMac-Cas9 システムを用いたゲノム編集では、高頻度で標的遺伝子の変異体を得られたことから、このシステムはジャガイモのゲノム編集に有用なツールであることが明らかとなった。この技術は、多倍数体ゲノムを有する植物への応用が可能であり、代謝工学に基づく新たな品種開発に寄与することが期待される。

2. トマトとの接ぎ木によるジャガイモ交配技術の開発

ゲノム編集により得られた変異体には、*CRISPR/Cas9* 遺伝子などの外来遺伝子が残存することが多い。また、再分化の過程で、複数の変異体細胞が入り交じったキメラ個体が生じる場合がある。変異体を交配することにより、人工ヌクレアーゼ遺伝子が分離・脱落したヌルセグリガントが得られる。また、キメラ性もなくなり、形質が安定した変異体系統を確立することができる。しかし、一般にジャガイモを交配して種子を得ることは非常に困難である。本研究で用いたジャガイモ品種「さやか」は形質転換効率が良く、変異体作出が容易な品種であるが、交配による稔実率は非常に低く、交配育種が困難であった。栄養生殖性の強いジャガイモは開花時期と塊茎形成期が重複する。そのため、栄養成分の多くが塊茎形成に配分されることから、交配を行っても果実が得られにくいのではないかと考えられた。そこで、塊茎を形成しないトマトを台木にした変異体ジャガイモの接ぎ木を行い、接ぎ木個体を利用して交配を行った。その結果、稔実率が飛躍的に向上し、多くの後代種子が得られた。これにより、ジャガイモの交配が可能となった[3]。また、この技術を用いて *gbss* 変異体を交配し、多数の後代植物が得られた。さらに、この中から *CRISPR/dMac3-Cas9* 遺伝子が分離したヌルセグリガントが得られた。この技術はジャガイモの交配を容易にするものであり、ゲノム編集育種のみならず従来育種の促進に寄与することが期待される。

本研究は東京理科大学在学中に行われたものである。研究を遂行するにあたり終始懇切なご指導を賜りました東京理科大学の島田浩章教授およびご支援を賜りました多くの共同研究者の方々に厚く御礼申し上げます。

1. Kusano H, *et al.*, *Sci Rep.* **8**(1): 13753 (2018)
2. Takeuchi A, *et al.*, *Plant Biotechnol.* **38**(3): 345-353 (2021)
3. Takeuchi A, *et al.*, *Plant Biotechnol.* **in press** (2022)