

ポテトグリコアルカロイドを生成しない ジャガイモ作出の可能性

理化学研究所 環境資源科学研究センター
上級研究員

うめもと 梅基
なおゆき 直行

ポテトグリコアルカロイド (PGA) は、管理を誤ることでジャガイモに増加・蓄積し、人や家畜に中毒を起こす危険物質である。国立医薬品食品衛生研究所の調査では、1989-2015年では02年と08年を除く毎年発生し、計30件で718人が食中毒になっている¹⁾。2016年にも静岡県の小中学校で25名の大規模な食中毒事件が起きている²⁾。報道される事件以外にも統計に現れない家庭等での原因不明の食中毒を起こしている可能性がある。萌芽や緑色になった塊茎（特に表皮の近傍）は多量に含んでいるが、少量喫食では「えぐ味」の原因となる。ジャガイモの芽を取ることや、緑色になった皮を厚く剥く（緑色になった領域より深いところまでPGAは蓄積しているの）のは加熱調理では破壊できないPGAを除くためである。近年、我々の研究グループではこの生合成に関わる遺伝子を同定することができた。PGAを生成しないジャガイモ作出の見通しについて報告する。

PGAをつくる遺伝子を見出す

かつて麒麟麦酒(株)がM&Aで取得し保有していたフランスのジャガイモ育種会社Germicopa社から「ジャガイモ育種で、いままでの技術の延長線上でできない最大の課題はPGAである」と研究の着手を勧め

められた。PGAのないジャガイモができれば食の安全や品質向上が期待できる。ジャガイモを安全に食べるためには収穫後の貯蔵・輸送・販売や調理・加工の過程でコストをかけて管理をされており、コスト削減の可能性がある。耐病性付与等のため野生種の形質導入の交雑育種では、交配するとPGA含量が高くなる場合が多く、育種への効果も期待できる。PGAは身近な毒性物質であるが、我々の研究以前には生合成経路に関する報告はほとんどなかった。現在までに少なくとも6つの遺伝子がコードする酵素で逐次的に生合成が進むことがわかった³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾(図1)。遺伝子組換えの手法を用いて植物ステロイドとの分岐に関わる最初の遺伝子SSR2を止めることでPGAが大幅に減少したジャガイモが得られた³⁾。このジャガイモは元品種と比べ閉鎖系温室で生育や収量に違いは認められなかった。PGA自体はジャガイモの生育とは直接関係のないことを示している。成分でもPGAとその原料となるコレステロールの分だけ植物ステロールが増加していて、期待通りの結果であった。興味深いことに、経路の前方に位置する3遺伝子どれかを止めると、PGAが大幅に減少する塊茎が得られるとともに、副次的に萌芽が抑制されることを見出した⁴⁾⁵⁾。原因は分かっ

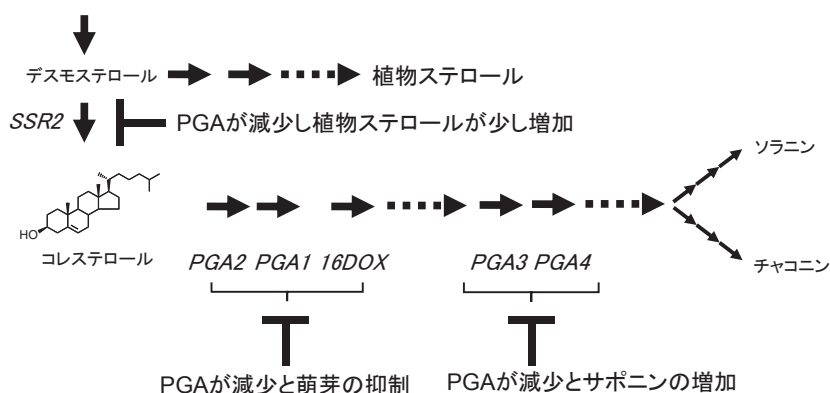


図1 PGA (ソラニン、チャコニン) の生合成経路と同定した6つの遺伝子 (斜字) 各遺伝子の働きを止めた場合に観察された表現型を記した。

ていないが、この塊茎は3年たっても瑞々しいままであり、驚くべきことに土に植えると萌芽を開始した。ジャガイモがあたかも穀類のように長期保存できる可能性を示した。経路の後方の2遺伝子どちらかを止めるとPGAが大幅に減少する代わりにサポニンを蓄積した⁶⁾。このサポニンはヤマイモから抽出される医薬品原料や機能性成分と類似したものであった。機能性成分を含む新しいジャガイモができるかもしれない。

PGAをつくる遺伝子をゲノム編集技術で
遺伝子破壊（ノックアウト）する

遺伝子を同定した後に従来育種に応用するため変異体を取得する必要がある。自殖性作物のイネ、トマトやダイズでは、放射線や化学物質による突然変異体の集団から遺伝子検査することで変異体を選抜・取得することが広く行われつつある。通常のジャガイモは4倍体であること、ジャガイモは塊茎による栄養繁殖性で多種のアリルが存在していることから、この方法によって変異体取得が行われた例は限られている。変異が得られたとしても、4倍体に劣

性変異を集積しなければならないことを考えると表現型を持つ変異体を得るには時間と労力が必要である。

近年、標的遺伝子に変異を導入するゲノム編集技術が脚光を浴びており、ノーベル賞候補にもなっている。遺伝子の並びに結合するようにデザインされた部分と遺伝子を切る制限酵素をつなげた、言わば「はさみ」である人工制限酵素を用いて、変異を導入することが可能となった。この技術はジャガイモのPGA生合成遺伝子を破壊するような、多倍数体の実用植物で遺伝子破壊することに最適な技術である。我々は特異性の高いゲノム編集技術であるTALEN (Tal effector nuclease) を用いてPGAを下げ副次的な効果がないSSR2遺伝子の破壊を先行して進めた。SSR2遺伝子を認識するTALENのデザインを行って発現カセットを導入した形質転換体を取得し、4倍体にあるSSR2遺伝子のすべてのアリルを破壊した系統を獲得することができた(図2)。多倍数体植物での実施例としてはコムギに先を越されたが、ジャガイモでは初めての例となった³⁾。

現在、内閣府戦略的イノベーション創造

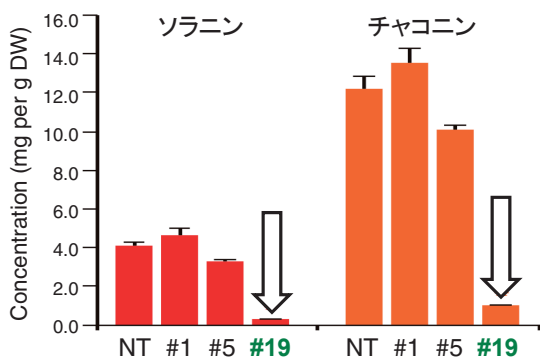


図2 SSR2遺伝子が破壊されたジャガイモ(#19)のポテトグリコアルカロイド含量

対照(NT)と正常なSSR2遺伝子を持つ系統(#1、#5)

プログラム(SIP)の試験研究計画「ゲノム編集技術等を用いた農水産物の画期的育種改良」で研究開発を継続している。品種は形質転換が容易な「サッシー」に加え、近年品種育成に利用され花粉稔性が高い「西海35号」、品種育成の親としても評価の高い「さやか」、欧州でF1育種の母本として使われた自殖可能な2倍体種「97H32-6」などでもゲノム編集個体が見られることがわかった。現プログラムは育種親系統の作成を目標としている。親系統は、「はさみ」を染色体に組み込んであるため遺伝子組換え植物である(図3)。交配するこ

とで、後代ではSSR2遺伝子が破壊され、かつ「はさみ」、つまり「遺伝子組換えの痕跡」がない系統「ヌルセグリガント」ができる。従来規制のない突然変異を集積した変異体と遺伝子を比較しても違いを見出せないジャガイモが得られることになる。現在、自殖した「97H32-6」の果実(図4)を取得し次代の解析を行っている。さらに各育種団体で簡易に利用するためには親系統でも遺伝子組換え植物でないものが求められる。また、現在の戦略では交配が必須であり新しい品種の作り直しが必要とな



図4 SSR2遺伝子が破壊された97H32-6のジャガイモ果実

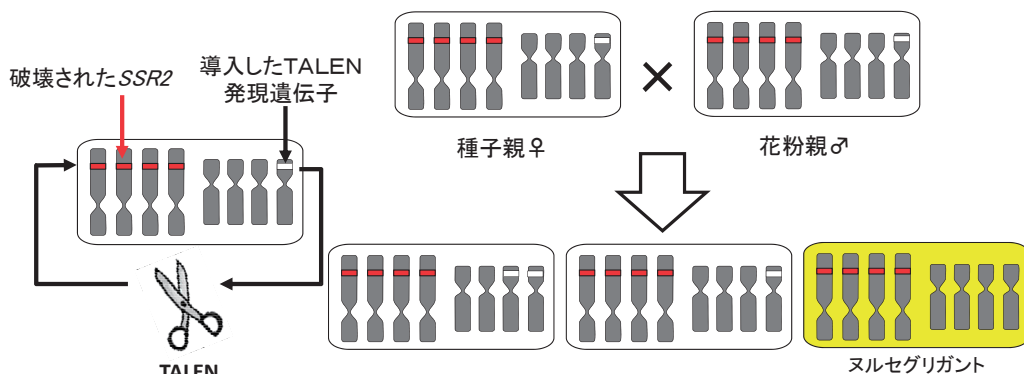


図3 交配によるヌルセグリガント獲得

実際のジャガイモ4倍体は $4n=48$ であるが、模式的に $4n=8$ で記載した。

る。この2点についても、「はさみ」を染色体に組込まずゲノム編集個体を得る試みを進めている。特に後者の観点では「男爵薯」、「メークイン」など既存品種そのままPGAを生成しないところだけ改良できることを意味する。

ゲノム編集技術の進展と規制について

同じ試験研究計画内のグループが2017年にイネのヌルセグリガントについて筑波で隔離圃場試験を開始した。トマトも同様な試験の準備が進んでいる。SIPの別グループでは社会科学の手法を用いてゲノム編集植物が社会に受容されるための調査研究を行っている。規制当局である農水省から研究会の報告書として2015年に「作出された農作物が最終的に人工制限酵素遺伝子(外来遺伝子)を有していないことが確認できれば、慣行の突然変異育種法によって作出される農作物とみなすことができるため、特段、生物多様性影響に関し、懸念すべき事項はない」を公開している⁷⁾。ゲノム編集植物を利用するため遺伝子組換え植物と異なった規制のなかで進められるよう急速に制度や指針等の整備が進みつつある状況である。

前述の通り現状、植物では遺伝子組換えの手法を用いて、一度「はさみ」を発現させる遺伝子を導入する必要がある。余談ではあるが、動物、特に受精卵を容易に扱える魚類・昆虫では、この「はさみ」を発現するmRNAや「はさみ」タンパク質を受精卵に注入することで、いままでマウスや微生物でしかできなかった標的の遺伝子の破壊ができるようになった。これらは遺伝子組換え生物ではなく(遺伝子を導入して

いないから)、自然に見つかった変異体生物と遺伝子を検査しても見分けがつかない。大学等の実験室では規制が追い付いていない生物が容易にたくさんつくられている。

おわりに

PGAはどうしてあるのか?無くしてしまふと虫や病気に弱くなるのではないのか?この研究を発表すると多くの人から質問を受ける。PGAは少なくともジャガイモ塊茎の生産については必要ない。我々が作成したPGAをつくらない遺伝子組換えジャガイモは、限られた環境でしか試験をしておらず、今後、実際の栽培環境に近い状態で評価・検討を進めなければ答えることはできない。そのためにもヌルセグリガントを早期に作出したいと考えている。過去の研究や総説ではPGAと耐虫、耐病性との関連を述べているものがあるが、引用している原著には根拠の乏しいものが多い。2009年に京都大学大山修一らによって、原産地であるペルーのアンデス山脈でジャガイモ野生種とラクダ科の草食動物のビクーニャとの共進化の関係が報告された⁸⁾。本現象にPGAが関与している報告ではないが、PGAが草食動物の摂食コントロールに用いられてきた可能性を示唆するものである。トウガラシの辛味成分であるアルカロイドのカプサイシンやウリ科の苦味成分であるククルビタシン類は、栽培化でこれらを失ったピーマンやウリの類が知られている。耐虫性・耐病性には大きな違いは認められておらず、これら植物も鳥や動物との共進化が推測されている。

ジャガイモのPGAに関する研究は、一

部イスラエルのグループと競合したが、ほぼ日本が先頭を切って進めてきた。ジャガイモは摂食するものであり、代謝物を変化させたものについてはしっかりとした評価を行う必要がある。ゲノム編集した植物の社会受容についても、多くの課題がある。今後のPGAの研究の深耕、ジャガイモ育種が進展すること、PGAを生成しないジャガイモを皆様に届けられることを願っている。

謝辞：理化学研究所環境資源研究センター、大阪大学、神戸大学、農研機構北海道農業研究センター、東京理科大学をはじめ、多くの方々との共同研究で行われた。本研究の一部は内閣府戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）「次世代農林水産業創造技術」（管理法人：生研支援センター）によって実施された。

引用文献

- 1) 2016.10.31 朝日新聞デジタル
- 2) 2016.7.22 毎日新聞
- 3) Sawai, S., Ohyama, K., Yasumoto, S., Seki, H., Sakuma, T., Yamamoto, T., Takebayashi, Y., Kojima, M., Sakakibara, H., Aoki, T., Muranaka, T., Saito, K., and Umemoto, N. (2014) *Plant Cell* **26** : 3763-3774.
- 4) Umemoto, N., Nakayasu, M., Ohyama, K., Yotsu-Yamashita, M., Mizutani, M., Seki, H., Saito, K., and Muranaka, T. (2016) *Plant Physiol* **171** : 2458-2467.
- 5) Nakayasu, M., Umemoto, N., Ohyama, K., Fujimoto, Y., Lee, H. J., Watanabe, B., Muranaka, T., Saito, K., Sugimoto, Y., and Mizutani, M. (2017) *Plant Physiology* 10.1104/pp.1117.00501.
- 6) 梅基直行, 佐々木勝徳, 大山清, 山下まり, 水谷正治, 關光, 齊藤和季, 村中俊哉 (2013) 第31回植物細胞分子生物学会大会
- 7) 「新たな育種技術（NPBT）研究会」報告書
<http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/150911.htm>
- 8) 大山修一, 山本紀夫, 近藤史 (2009) 国立民族学博物館調査報告 84 : 177-203.