

ジャガイモ育種における ゲノム編集利用の可能性について

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

講演会では、2017年10月号¹⁾に掲載されたポテトグリコアルカロイド（PGA）を生成しないジャガイモ作出を中心に話をさせていただいた。この分野は急速に進展している。日本のゲノム編集植物の開発状況と世界でのジャガイモのゲノム編集育種の取り組み、本会などでの発表の反響やジャガイモ育種関係者との意見交換会を踏まえた「ジャガイモ新技術連絡協議会」の立ち上げなど、最新情報も加えてお伝えする。

1 ゲノム編集とは

ゲノム編集技術とは、規制のない従来育種の範囲である放射線や化学物質によって得られた変異体と区別がつかない変異体を得るための技術である。簡便な手法であるクリスパー・キャスナイン（CRISPR/Cas9）を見出した外国の研究者が2017年に日本国際賞を受賞しているが、いずれノーベル賞をとるのではないかとされている。この最初の報告は2012年であり、いかに急速に実用化に向けた展開がされているかがわかる。この技術は遺伝子の並びに結合する部分と遺伝子を切断す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ることで遺伝子変異が導入できる。放射線や化学物質がランダムに変異を入れることに対して、ゲノム編集では、

狙った遺伝子にだけ正確に変異を入れることができる。2017年11月にNHK-BSで放映された「“ゲノム編集”食物～密着 食の未来の最前線～」²⁾では、我々の「PGAをつくらないジャガイモ」も取り上げられた。より衝撃的だったのは、欧州で食用されている牛の自然突然変異種を模して、ゲノム編集で同様の遺伝子変異を導入し作成された「マッスル・マダイ（真鯛）」である。同じ餌と同じ期間で1.5倍の筋肉量（刺身）を得たマダイが映されていた。しかも美味しいらしい。これらは「はさみ」である人工制限酵素タンパク質を受精卵に導入しゲノム編集した個体の子孫である。遺伝子を導入していないので遺伝子組換え体ではない。京都大学木下助教らは、閉鎖環境で養殖することと生魚ではなく切り身として提供することで市場へ投入することを進めている。シンポジウムで以前お会いした際には、この真鯛の付け合わせにゲノム編集したジャガイモもつけて、ゲノム編集素材で提供できたらいいですね、と話されていた。

2 日本でのゲノム編集の進展

日本では内閣府の戦略的イノベーション創造プログラム（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」で研究開発が進められてきた。

本年度が研究計画の最終年度である。研究代表者の筑波大学江面教授らは高血圧予防に効果のあるギャバ（GABA）を高蓄積したトマトを開発している。従来育種で数倍蓄積を増やしたものが市販されていたが、ゲノム編集で得た新しい変異は10倍以上蓄積することができ、1日1食のトマトで効果を得られる必要量を摂食できるようになった³⁾。イネは農研機構小松上級研究員らが、標的遺伝子に新しい変異を導入した高収量のイネの作成・開発を進めている。江面教授は上市を目指して、農水省と内閣府（食品安全委員会）にゲノム編集植物の申請を出し、承認を得たい考えのようである。イネは2017年度から文科省・環境省から第一種使用規定の承認を得て、つくば市で野外試験を行ってきた⁴⁾。今年度も実施し、筑波大に引き続き農水省と厚労省に申請を出す方向であると伺っている。後述する米国と違い、日本のゲノム編集植物の規制は本稿を書いている5月の時点では明確な指針は示されていない。

植物でのゲノム編集は、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ゲノムに導入する。ゲノムに組み込むため遺伝子組換え植物になる。標的の遺伝子がすべて破壊された個体を得たのち、交配することで、後代で「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。上記のゲノム編集トマトやイネは、このような“ヌルセグリガント”品種を作成する。一旦、遺伝子組換えの手法を用いるが、品種や生産物には遺伝子組換えの痕跡がないため遺伝子組換え植物には該当しないと考えられている。ゲノム編集ではないが、デュポン

社がSPT技術で作成した、遺伝子組換えの手法を用いるが生産物には遺伝子組換えの痕跡がない品種は、2015年に日本でも遺伝子組換え植物には該当しないと判断されている⁵⁾。

3 世界のジャガイモのゲノム編集育種

ゲノム編集技術は、真鯛のように他の生物で見出された変異を導入する場合や、上述したトマトやイネのように標的の遺伝子は分かっているが、期待される変異が見つからない新しい変異を得る場合に優れた効果が期待できる。さらには、ジャガイモのような多倍数体の実用植物で遺伝子破壊することにも最適な技術である。放射線や化学物質による変異は、通常1アリル(遺伝子座)にしかおきない。4倍体であるジャガイモの4つあるアリルに、同時に変異が入ることは、ほぼ不可能な事象である。このため世界でも精力的にジャガイモにゲノム編集を適用することが行われてきた。世界で初めての例は、我々が行った2014年の報告⁶⁾である。米国でゲノム編集技術の確立をすすめてきたBoyta博士らは、2016年にフライ用品種「Ranger Russet」で低温保存時に還元糖を生成する液胞インペルターゼ遺伝子の破壊を報告した⁷⁾。低温保存時に還元糖が増えずアクリルアミドの増加が抑制され、チップが淡色のままであった。この研究開発はCalyxt社が2015年に米国で最初のフィールドテストを終え現在塊茎を増殖中であるとしている⁸⁾。同社は、疫病耐性の性質付与を含め4つのジャガイモの製品パイプラインを記載し、この低温貯蔵性と打撲耐性（ポリフェノールオキシダーゼ遺伝子を標的）のジャガイモは米国

農務省の規制範囲外である確認を得ていることをHPに記載している⁹⁾。つまり米国では、自由に栽培および販売することができるようになっている。なお2018年3月28日に米農務省(USDA)は、ゲノム編集によって開発された植物について、従来型の育種法で実現可能な範囲に限り特別な規制はかけないとの方針を発表した¹⁰⁾。2017年にスウェーデン農科大グループは、でん粉用品種「Kuras」でアミロース生成に必要なGBSS遺伝子を破壊してアミロースがないジャガイモを得た¹⁰⁾。欧州では、ゲノム編集に対する規制が日本と同様に不透明であり開発の状況は確認できていない。アミロースフリーは以前ドイツの化学メーカーのBASFが紙のコーティング剤への利用で遺伝子組換え体の実用を目指していたこともあり、そのような用途での利用を意図している可能性もある。

2つのグループが用いたのは葉肉細胞などから得たプロトプラストに「はさみ」である人工制限酵素を発現するDNAを一過的に導入したものである。ゲノムに遺伝子は組み込まれておらず遺伝子組換え植物には該当しない。本筋からそれるが、一般にプロトプラストによる再分化を経た個体では高い頻度で望ましくない培養変異が入ることが知られている。本方法で得られたゲノム編集個体が品種になりうるのか、報告が待たれるところである。

4 我々の取り組み

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。育種への効果も期待できる。遺伝子組換えによるゲノム編集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⁶⁾。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。詳細は以前の報告を参照いただきたい¹⁾。我々の当初の戦略も、トマトやイネと同様、遺伝子組換えされたゲノム編集個体を作成し、それ同士を交配することで、次の世代で「遺伝子組換えの痕跡」がない系統“ヌルセグリガント”を得ることであった。現在までに、育種系統の「97H32-6」や「西海35号」では自殖で、種子親「サッシー」と花粉親「西海35号」の交配で、“ヌルセグリガント”が得られつつある。しかし、実用化の観点では、交配を経て品種を作成することは従来育種と違いはなく、さらに10年以上の開発期間が必要ということになる。前項のBoytaş博士らの取り組みは、交配を経ることなく品種の一部改良を目指す方法である。しかし、前述の通りの変異とプロトプラスト再生が限られた品種でしかできないという問題がある。

講演会では詳しく話すことができなかったが、我々は、この問題点を解消する画期的な技術を考案・実証し2017年に特許を出願した¹²⁾。植物組織から個体を再分化させる際に、ゲノムに組込むことがなく一過的に、再分化促進遺伝子と「はさみ」である人工制限酵素遺伝子を発現させる。このことによって遺伝子をゲノムに組込まないゲノム編集をジャガイモで起こすことに成功した。我々はこれを“当代ヌル”と呼んでいる(図1)。遺伝子を組み込んでいないので遺伝子組換え体ではないと判断されることが期待される。

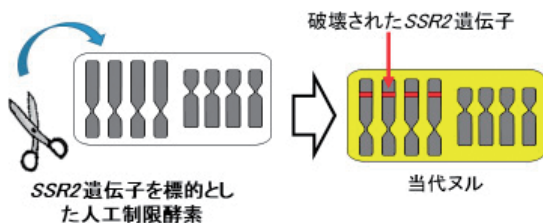


図1 「はさみ」である人工制限酵素遺伝子を一過的に発現させることにより、ゲノムに遺伝子を組込まない当代ヌルが獲得できた。交配を経っていないので品種の性質は維持される。(実際のジャガイモ4倍体は $4n=48$ であるが、模式的に $4n=8$ で記載した。)



図3 「さやか」から獲得したゲノム編集されている当代ヌル候補の2系統

DNAを抽出し塩基配列を確認した結果、SSR2遺伝子が破壊されていた。PGA分析や栽培試験を行うため、植物培養容器の中で挿し木をして個体数を増やしている。

現在、「サッシー」(図2)、「さやか」(図3)、「メイクイン」でゲノム編集を起こすことができることを確認している。つまり、「サッシー」、「さやか」、「メイクイン」は既存品種の性質のままでPGAを生成しないところだけ改良されることを意味している。これはジャガイモにとっては画期的技術であり、実用化への道が開けてきたことになる。特に「メイクイン」は、依然大きな栽培面積を占める重要品種でありながら、PGAが格段に高くなりやすい品種である。「メイクイン」を改良するだけでも

例年報道される大規模な食中毒事件や家庭において原因不明で起きている体調不良を大きく減ずることができ、社会に貢献ができるのではないかと期待している。

5 反響、意見交換や実用化への取り組みと課題

当代ヌルが得られたことから、懸案であった野外試験を2019年度に実施する方向で検討を開始した。2018年中に文科省に申請を出したいと考えている。昨年11月に十勝川温泉で開催された育種関係者の集まる

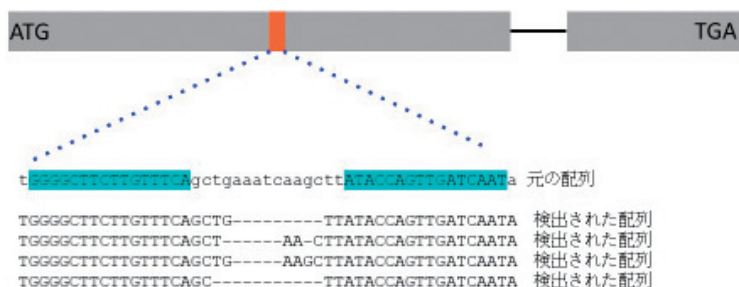


図2 「サッシー」で獲得した当代ヌルのSSE2遺伝子の破壊状況

SSR2遺伝子は2つの遺伝子をコードする領域(エクソン)からなる。人工制限酵素はSSR2遺伝子の第1エクソンの大事な部分を標的としてデザインした(橙色)。DNAを抽出し塩基配列を調べたところ、認識する部分(水色)の間の塩基がなくなっていた(-)。4つの配列欠失は、4つのアレルに対応すると考えている。成分分析ではPGAが大きく減少しており、SSR2遺伝子が破壊されていることが確認できた。

次世代バレイショセミナーや本会で我々の開発状況を説明する機会を得て、ジャガイモ育種や実需の関係方々と意見交換することができた。「ジャガイモにとって、品種を維持してのポイントを改良できるということは極めて望ましい」、「育種家は1遺伝子で解決するような形質はゲノム編集技術に任せることで、多因子による収量性や栽培性などの育種に注力できる」などの肯定的意見や技術への期待をいただいた。一方、実質的な被害やネガティブな影響がないにもかかわらず、遺伝子組換えの社会受容（パブリックアクセプタンス）が全く進んでないことから、「ジャガイモはトマトとイネに隠れて、すぐ後ろで進めてほしい」、「農家さんのものを預かっている立場としてはゲノム編集がいいと軽々しく発言することにも問題があるかもしれない」、「原料が遺伝子組換えでないと表示できるのなら取り組みたい（上述の通り、遺伝子組換えではないと判断されるだろうが）」など開発に参加する、直接支援することにも躊躇する意見も多数あがった。

SIPのゲノム編集育種では、関係者の努力で、トマト、イネに継ぐ存在感を得るところまでくることができた。一方、内閣府では、プロジェクトの目標を、いかに民間企業や産業に活かすかという観点で進められてきている。ジャガイモの育種は農研機構・北海道農業研究センターなど公的機関が主導で進めてきた経緯もあり、トマトのように民間企業で品種を出した例が少ない・取りづらいことも懸念事項となっている。これらを打開し解決するためには、開発者だけではなく、ジャガイモ業界関係者と協議し知恵を合わせて進める必要を感じ

ている。現在、関係者が意見交換できる場、個々の団体が表に出るのではなくジャガイモ業界全体として開発推進を支援できるような「ジャガイモ新技術連絡協議会」の立ち上げを進めている。今まで研究者の視点でPGAの低減を中心に進めてきたが、同会では、ジャガイモ品種に導入したい形質についても広く意見交換をして開発ができるようにしたいと考えている。また、研究者としては多倍数体作物であるサツマイモはゲノム編集で取り組みたい作物である。今後とも、いも類関係者から様々なご意見やご支援をいただければと考えている。

謝辞：理化学研究所環境資源科学研究センター、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) 梅基直行 (2017) いも類振興情報 133: 15-19.
- 2) NHK BS1スペシャル「“ゲノム編集” 食物～密着 食の未来の最前線～」
<http://www4.nhk.or.jp/bs1sp/#past-onair>
- 3) 筑波大学 健康促進トマトとして期待ゲノム編集技術を利用してγアミノ酪酸（GABA）高含有トマトを作出
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p201708011800.html>

-
- 4) 環境省 シンク能改変イネ 生物多様性影響評価書
http://www.biodic.go.jp/bch/download/lmo/H29.4.20_kenkyu_gnla_ap1.pdf
http://www.biodic.go.jp/bch/download/lmo/H29.4.20_kenkyu_tgw6_ap2.pdf
- 5) 厚労省 Seed Production Technology (SPT) プロセスによる F1 ハイブリッド種子に関する審議結果概要
<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002tccm-att/2r9852000002tck7.pdf>
- 6) Sawai, S et al. (2014) *Plant Cell* **26**:3763-3774.
- 7) Clasen, B et al. (2016) *Plant Biotechnology Journal* **14**:169-176.
- 8) Calyxt Completes the First Field Trials of its Cold Storable Potato Product
<http://www.calyxt.com/calyxt-completes-the-first-field-trials-of-its-cold-storable-potato-product/>
- 9) Calyxt PRODUCT OVERVIEW
<http://www.calyxt.com/products/>
- 10) USDA Secretary Perdue Issues USDA Statement on Plant Breeding Innovation
<https://content.govdelivery.com/accounts/USDAAPHIS/bulletins/1e599ff>
- 11) Andersson, M. et al. (2017) *Plant Cell Reports* **36**:117-128
- 12) 梅基直行、齊藤和季 特願2017-226643 (2017)