

TOKYO UNIVERSITY OF SCIENCE

1-3 KAGURAZAKA, SHINJUKU-KU, TOKYO 162-8601, JAPAN Phone: +81-3-5228-8107

2018年 9月 14日

報道関係各位

ゲノム編集でモチモチしたジャガイモができました **〜強力なゲノム編集ツールの開発、** およびジャガイモのデンプン合成酵素遺伝子の変異体の作出〜

東京理科大学

研究の要旨

- ・東京理科大学基礎工学部生物工学科島田浩章教授は、翻訳エンハンサーdMac3という強力なゲノム編集ツール(改良型 CRISPR/Cas9)を開発し、新しく開発したゲノム編集技術により、4倍体ゲノムをもつジャガイモの遺伝子を効率的にゲノム編集する技術を確立しました。また、この技術を用いてジャガイモデンプンの質的な改善を試み、低アミロースデンプンを有するジャガイモの作出に成功しました。
 - ・本研究成果は Scientific Reports 誌に 9月13日付けで掲載されました。 報道解禁日時は日本時間で 9月13日 (木) 18時となります。

【研究の背景】

ジャガイモは世界中でおよそ3億トン生産される主要作物の1つである。ジャガイモは 生食されるほか、多様な加工食品に利用されている。また、デンプンは接着剤や紙への添 加物などにも多く用いられており、工業用途も多い。ジャガイモのデンプンはアミロース とアミロペクチンと呼ばれる2種類の物質からなる。アミロースの含量が少ないデンプン は粘り気が強く、モチモチした食感となる。また、接着剤として用いる場合にはアミロー ス含量が低い方が望ましい。しかしながらジャガイモは同じ遺伝子が4組ある4倍体ゲノ ムを持っているため、突然変異による変異体を得るためには、4組すべての遺伝子に変異 を起こさせる必要がある。このため従来の突然変異育種法による育種が困難とされてきた。 そこで、ゲノム編集法を用いたジャガイモの品種改良を試みた。

【研究成果の概要】

4倍体ゲノムのすべてに変異を起こさせるためには、非常に強力なゲノム編集ツールが必要である。私たちはこれまでにdMac3という翻訳エンハンサーを見つけている。これはイネのOsMac3遺伝子に含まれる特殊な塩基配列であり、これを組み込むことでタンパク質の生産量が飛躍的に増大する。そこで、ゲノム編集ツールの1つであるCRISPR/Cas9にこのdMac3を組み込むことで、ジャガイモの細胞の中に導入されたゲノム編集ツールを大量に作らせるのではないかと考えた。そこで、dMac3を組み込んだCRISPR/Cas9を用

いてジャガイモデンプン合成酵素(GBSS 遺伝子)を標的としたゲノム編集用のCRISPR/Cas9を作製し、これを用いてジャガイモのゲノム編集を行った(図1)。その結果、生じたジャガイモ形質転換体のうち、およそ3割で4つの遺伝子のすべてに変異が生じていた。また、これらの変異体のデンプン合成酵素(GBSS 遺伝子)では、様々な長さの塩基配列の脱落変異や挿入変異などが起こっており、用いたCRISPR/Cas9がこの遺伝子に強力に作用したものと考えられた。これらの変異体ジャガイモは正常に育ち、数多くの塊茎が得られた(図2)。得られた塊茎についてアミロース含量を調べたところ、いずれの変異体も低アミロースの形質を有していることが分かった(図3)。この結果から、私たちの開発したCRISPR/Cas9をもちいたジャガイモのゲノム編集に成功したといえる。

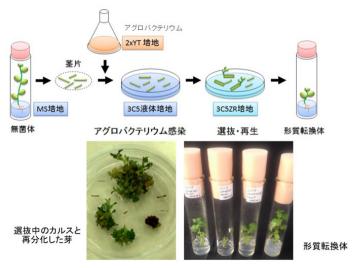


図1.ゲノム編集ジャガイモの作出法 無菌的に栽培したジャガイモを取り出し、茎片を調製する。 これにCRISPR/Cas9を含むアグロバクテリウムを感染させ、 ジャガイモ細胞にCRISPR/Cas9を導入する。これによりゲノ ム編集される。これを培養し変異体個体を得る。



図2. ゲノム編集したジャガイモの塊茎 変異体ジャガイモを栽培して得られた塊茎の写真。

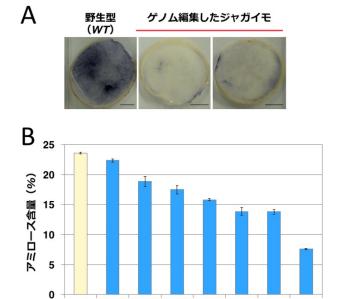


図3. ゲノム編集したジャガイモのデンプンの形質 A:野生型およびゲノム編集したジャガイモの塊茎の切片をヨウ素液により染色した。低アミロースジャガイモは染色度合いが低くなる。

WT

ゲノム編集したジャガイモ

B: ヨウ素デンプン反応によりアミロース量を調べた。野生型に比べてゲノム編集したジャガイモではアミロース含量の減少が認められた

【今後の展望】

今回、作出された低アミロースデンプンのジャガイモは接着剤などの工業用途として優れた形質を有している。これまで食用の低アミロースデンプンのジャガイモは品種として確立されていない。今回の低アミロース・ジャガイモは新たな食感を有するジャガイモとして開発されれば、食用としての利用用途も期待される。なお、この変異体ジャガイモには CRISPR/Cas9 が含まれない変異体ジャガイモの開発を行いたいと考えている。今後は CRISPR/Cas9 が含まれない変異体ジャガイモの開発を行いたいと考えている。

私たちの開発したゲノム編集ツールは、ジャガイモだけではなく、さまざまな植物種のゲノム編集に応用できると考えている。作物として栽培されている多くの植物は多倍数体ゲノムを持っている種が多いため、これらの育種に威力を発揮するものと期待される。

用語

1・・・・CRISPR/Cas9。ゲノム編集で用いられる。ゲノム中の特定の塩基配列(DNA)を認識して切断する活性を持っている。特定の遺伝子に含まれる塩基配列を標的とした CRISPR/Cas9 を導入することで、この遺伝子を狙い撃ちにした DNA 切断が可能であり、これによって、この遺伝子だけを狙い撃ちで変異させることが可能である。

2・・・アミロースとアミロペクチン。デンプンを構成する主要成分である。アミロースは グルコースが直鎖状につながった構造を有する。アミロペクチンはグルコースが鎖状につ ながったものであるが、ところどころで側鎖が生じており、櫛状の構造となっている。

【論文情報】

Establishment of a modified CRISPR/Cas9 system with increased mutagenesis frequency using the translational enhancer dMac3 and multiple guide RNAs in potato

Hiroaki Kusano^{1,3}, Mariko Ohnuma¹, Hiromi Mutsuro-Aoki¹, Takahiro Asahi¹, Dai Ichinosawa¹, Hitomi Onodera¹, Kenji Asano², Takahiro Noda², Takaaki Horie¹, Kou Fukumoto¹, Miho Kihira¹, Hiroshi Teramura¹, Kazufumi Yazaki³, Naoyuki Umemoto⁴, Toshiya Muranaka⁵, Hiroaki Shimada¹

- 1. Department of Biological Science and Technology, Tokyo University of Science, Katsushika, Tokyo 125-8585
- 2. Division of Field Crop Research and Development, Hokkaido Agricultural Research Center, NARO, 9-4 Shinsei-minami, Memuro, Kasai, Hokkaido 082-0081
- 3. Laboratory of Plant Gene Expression, Research Institute for Sustainable Humanosphere, Kyoto University, Gokasho, Uji 611-0011
- 4. Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University, Suita, Osaka 565-0871
- 5. RIKEN Center for Sustainable Resource Science, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045

https://www.nature.com/articles/s41598-018-32049-2

(この研究は、主に東京理科大学と農研機構北海道農業研究センターで実施されました。)

〜本件に関するお問い合わせ〜 東京理科大学 研究戦略・産学連携センター 〒162-8601 東京都新宿区神楽坂 1-3 TEL: 03-5228-7440 FAX: 03-5228-7441