

# 長期保存時の糖類生成を抑制した加工食品用ジャガイモの作出

東京理科大学基礎工学部生物工学科・助教 寺村 浩

## ■ 目的

本研究の目的は、長期保存時におこる糖類の生成を抑制したジャガイモを作出することである。ジャガイモは、家庭での料理だけでなく、ポテトチップスやポテトフライ等の多くの加工食品の原料として利用される重要な作物である。ジャガイモの収穫は年に1回または2回であるため、収穫後は利用されるまで倉庫等で長期保存される。この際に、ジャガイモ中のデンプンが分解・代謝され、糖類が生産される。これらの糖類はジャガイモを揚げた際の焦げ色の原因であり、加えて有害な化合物であるアクリルアミドの原料にもなる。そのため、糖類含量が少ないジャガイモがポテトフライ等の原料に適している。しかし、既存の品種では、保存時の環境などに影響を受け、ジャガイモ内の糖類含量をコントロールすることが困難であった。そこで、糖類生成に関わるデンプン分解酵素をコードする遺伝子を破壊し、長期保存時後の糖類含量が低いジャガイモの作出を本研究の目的とした。

## ■ 方法

本実験では、翻訳エンハンサー dMac3 を用いた高効率なゲノム編集技術を用いて、*Pho* 遺伝子の機能を欠損したジャガイモを作出する。しかし、これまでにジャガイモの塊茎において高発現をしている *Pho* 遺伝子の情報はなかった。そこで、データベース (ePlant Potato) の情報を用いて探索を行った。解析結果を基に、標的遺伝子および標的領域の決定を行い、gRNA の設計を行う。設計した gRNA を用いてゲノム編集用プラスミド (StPho-pZD-dxCas9) の構築を行い、アグロバクテリウム法を用いてジャガイモゲノムへの導入を行う。得られた形質転換体植物からゲノム DNA の抽出を行い、外来性遺伝子の導入および標的遺伝子への変異の導入の解析を行う。

## ■ 結果と考察

以前の研究により、ジャガイモのゲノム上には3個の *Pho* 遺伝子が存在することが報告されていた。一方で、これらの遺伝子のうち、どの遺伝子が塊茎にて高発現しているのかは、明らかになっていなかった。そこで ePlant Potato を用いて解析した結果、PGSC0003DMG400007782 と名付けられた *Pho* 遺伝子が最も塊茎中で高発現していることが明らかになった。そこで、この *Pho* 遺伝子を標的とできる gRNA の設計を行った。また、データベースの構築に用いた品種と本実験で用いる品種「さやか」のゲノム DNA の配列が異なる可能性が考えられたため、標的領域付近の塩基配列の解析も行った。その結果、4564bp の位置において、G または A の対立遺伝子間の多型が検出された。この位置は、gRNA1 および gRNA2 を設計した領域内であったが、PAM 配列から十分に離れた位置であったので、ゲノム編集の効率には大きく影響しないと考えられた。一方で、A 型の対立遺伝子が多く検出されたことから、gRNA1 の設計を ccTCGAGTTTGCATATTTGGGG から ccTCGAGTTTGCATATTTGGAG へ、gRNA2 の設計を ccTCGAGTTTGCATATTTGGGGG から ccTCGAGTTTGCATATTTGGAGG へ変更した。次に、設計した gRNA を用いてゲノム編集用プラスミドを構築し、アグロバクテリウム法を用いてジャガイモのゲノムへ導入することを試みた。その結果、10 個体の形質転換体と考えられる植物体が得られた。

## ■ 結語

本研究を行った結果、ジャガイモの塊茎において、デンプンの分解に関わっていると考えられる *Pho* 遺伝子の候補を見つけることに成功した。また、*Pho* 遺伝子を欠損させるためのゲノム編集用プラスミドの構築およびそれが導入された形質転換ジャガイモの作出に成功したと考えられた。今後は、これらの形質転換ジャガイモからゲノム DNA を抽出し、外来性遺伝子の導入および標的領域への変異の導入を解析する予定である。