

作物のゲノム編集による栄養機能性の改良：現状と将来展望

文献情報

論文名： **Improving Nutritional and Functional Quality by Genome Editing of Crops: Status and Perspectives**

著者： Hyung-Keun Ku and Sun-Hwa Ha

ジャーナル： Frontiers in Plant Science (2020) 11, 577313

<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.577313>

概要

ZFN、TALEN、CRISPRシステムなどのゲノム編集ツールは、従来の育種と比較して非常に正確かつ効率的に、主食作物、油糧種子作物、園芸作物の品質を向上させるために応用されてきた。特にCRISPR法は、植物ゲノムの正確かつ効率的な編集を可能にし、費用対効果の高い汎用性の高いツールであり、作物の改良において大きな可能性を示している。本稿では、ゲノム編集技術による様々な作物における栄養的・機能的な品質等の改善について、現状と将来展望について概説する。

はじめに

作物の改良は、高収量性、生物的・非生物学的ストレスへの耐性、栄養価や機能性の達成を目指し続けられてきた。これまで、遺伝資源の利用や交雑育種、突然変異育種が利用されてきたが、労力と時間を要する。遺伝子組換え技術により開発された遺伝子組換え(GM)作物には大きな可能性はあるものの様々な規制がかかる。そこで、高精度で効率的な遺伝的改変を可能にする新たな育種技術としてゲノム編集技術が注目され、ゲノム編集作物が急速に開発されている。

主要穀物

急速に増加する世界人口に食糧を供給するため主食作物は重要であり、ゲノム編集技術は主食作物（トウモロコシ、小麦、コメ、ジャガイモなど）で積極的に利用されている。

トウモロコシに含まれているフィチン酸は栄養吸収を妨げる抗栄養素として働く。そこ

でフィチン酸を減少させるため合成酵素遺伝子が ZFN で改変され、さらに TALEN や CRISPR/Cas9 を用いてフィチン酸生合成経路の 2 つのイノシトールリン酸キナーゼと多剤耐性関連タンパク質 4 をコードする *IPK1A*、*IPK*、*MRP4* のノックアウトが試みられている。また、トウモロコシの主要な貯蔵タンパク質であるゼインは、必須アミノ酸であるリジンとトリプトファンが少なくトウモロコシの栄養価の低さの一因となっている。

CRISPR/Cas9 により MADS-box タンパク質をコードする遺伝子 *ZmMADS47* を標的とした変異体が生産され、収量性を維持しながらゼイン含量を低下させた。トウモロコシのもう一つの重要な標的形質はデンプン（アミロースとアミロペクチンからなる高分子炭水化物）である。CRISPR/Cas9 を用いてアミロース合成を担う顆粒結合デンプン合成酵素（GBSS）をコードする *waxy* 遺伝子（Wx1）を破壊し、アミロペクチン含量を増加させた。

コムギでは、グルテンタンパク質中の α -グリアジン含量を減らすため、 α -グリアジン遺伝子のノックアウト体が生産されている。

イネの最初の標的は香りの生産である。インドのバスマティ種やタイのジャスミン種のような特別な香りを持つコメ品種は消費者に人気があり市場価格が高い。一般米から香米を作り出すために、ベタインアルデヒド脱水素酵素（BADH）をコードする *BADH2* 遺伝子を破壊した。また、*SBEIIb* 遺伝子の破壊により高アミロース・低粘度のイネが生産され、*Waxy* 遺伝子の破壊で低アミロースのもちもちしたイネが生産され、*Rc* 遺伝子への変異導入により赤色の果皮を持つイネが生産されている。

ジャガイモは、収穫後の保存期間を延ばすため冷蔵処理をするが、この低温処理により還元糖（グルコースやフルクトースなど）の蓄積を促し、高温で調理することでアクリルアミドを生成するため、これを回避するため、ショ糖を還元糖に分解する液胞インベルターゼをコードする *VInv* 遺伝子をノックアウトした。この *VInv* ノックアウトジャガイモは、Collectis Plant Sciences 社（現 Calyxt 社）によって商品化された。さらに、ジャガイモ塊茎には自然毒である SGA（ α -ソラニンと α -チャコニン）が蓄積するため、ステロイド側鎖還元酵素 2 をコードする *SSR2* 遺伝子をノックアウトし自然毒を大幅に低減でき、SGA 生合成経路のステロイド 16 α -水酸化酵素をコードする *St16DOX* 遺伝子を変異体も生産されている。高アミロペクチンデンプンをもつジャガイモ生産のため、3 つの異なる *GBSS* 遺伝子をノックアウトし、さらに塊茎の黒変を防ぐために *PPO* 遺伝子の一つをノックアウトした。

油糧作物

人類はダイズ、なたね、ヒマワリ、ワタ、ナッツなどの油糧作物から食用油や工業用油を得ており、目的に応じて種子の脂肪酸プロファイルを改変し、油の品質を向上させてきた。

ダイズは世界で最も広く利用されている食用油脂作物のひとつであり、2019/2020 年における世界の油脂生産量は 5,700 万トン（世界供給量の 28%）と推定されている。大豆油の品質は、2 つの脂肪酸デサチュラーゼ *FAD2* 遺伝子 (*FAD2-1A* と *FAD2-1B*) に変異を導入することで、オレイン酸レベルの増加 (20% から 80%) と、リノール酸レベルの減少 (50% から 4.7%) を実現した。さらにリノール酸レベルを低下させるため (2.5% まで)、Calyxt 社は *FAD3* 遺伝子をノックアウトしたダイズを作出し、米国において商業利用を開始した。

カメリナ (*Camelina sativa*) の最初の標的は *FAD2* であった。カメリナは 6 倍体種であるため、すべての *FAD2* 遺伝子を同時に標的とする gRNA が使用された。またトリアシルグリセロール合成に関与する *CsDGAT1* 遺伝子または *CsPDAT1* 遺伝子の全てのホメオログをノックアウトし、CRISPR/Cas 法の効率が再認識された。一方、カメリナ種子油には、工業的または消費的利用には望ましくない超長鎖脂肪酸 (VLCFA) が相当量含まれているため、脂肪酸エロンガーゼ 1 をコードする *FAE1* 遺伝子を不活性化することにより、C18 不飽和脂肪酸 (オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸を含む) のレベルが上昇し、C20-C24 VLCFAs (エイコセン酸、エルカ酸を含む) のレベルが低下した。

FAD2 遺伝子は、ナタネ (*Brassica napus*) でも標的とされた *FAD2_Aa* 単一変異体は、オレイン酸含量をわずかに高め、リノール酸含量を低下させた。

園芸作物

園芸作物には、炭水化物、タンパク質、有機酸、ビタミン、ミネラルの重要な供給源である野菜や果物が含まれる。

経済的にも栄養学的にも重要で、最もゲノム編集が進んでいる作物の一つがトマトである。果実の成熟を遅らせるため、いくつかの品種で MADS-box 転写因子をコードする熟成阻害因子 (*RIN*) 遺伝子が破壊され、リコピン産生の減少により赤色素の少ない果実となり成熟遅延を示した。成熟を遅延させる別の試みは、長鎖ノンコーディング RNA1459 (*lncRNA1459*) を標的とした。トマトの機能性向上もまた、その目的のひとつである。トマトは他の主要な園芸作物と比較して、GABA を比較的多く含んでいるが、GABA 生合成の主要酵素であるグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) をコードする *SIGAD2* および *SIGAD3* の C 末端自己抑制ドメインを欠失させることで、GABA 蓄積量を 15 倍増加させた。*GABA-TP1*、*GABA-TP3*、*CAT9*、*SSADH* の遺伝子を編集した四重変異体では、トマト葉の GABA 含量が 19 倍増加した。さらに、シュウ酸の減少、トマトの果皮の色の改変、リコピンなどのカロテノイドを濃縮するための取組がなされている。

Solanum pimpinellifolium (トマトの野生種) は高いストレス耐性と病害抵抗性を示すことから、その *de novo* 家畜化は将来の商業栽培に有望である。そのために 6 つの遺伝子を標的に改変を試みた。また、ゲノム編集操作により果実サイズを 3 倍、収量を 10 倍に増加

させるとともに、リコピン含量を5倍にし、さらにアスコルビン酸レベルを増加させた。

ゲノム編集された園芸作物として、他にもキノコ、タバコ、ブドウが報告されている。キノコでも6つのPPO遺伝子のうち1つをノックアウトした褐変低減キノコ、ニコチン生合成の最終段階の1つの酵素遺伝子を改変した低ニコチンタバコがある。ブドウ (*Vitis vinifera*) では抗栄養素となる酒石酸の蓄積を最大36%減少させている。

ゲノム編集による農作物の品質向上の現状

一般に、作物のゲノム編集は、動物よりもはるかに急速に発展している。その理由は、大規模な集団での選択が容易であることや、生命倫理上の懸念が少ないことなどである。ゲノム編集技術の適用に成功した作物等の迅速かつ合理的な商業化を加速させるためには、政策や知的所有権に起因する技術的制約を優先的に解決し、編集関連技術を進化させ続けなければならない。多くの国々で、最終製品に外来DNA配列が含まれていなければ、ゲノム編集製品はGM作物としての規制されない方針を打ち出している。

前述した褐変低減キノコやニコチン低減タバコの事例が含まれる。これらは企業ではなく大学の研究室によって開発されたものであり、ゲノム編集技術は一般的に参入障壁が低いことを示している。

ゲノム編集のため導入遺伝子を用いる場合には、後代において分離によりT-DNAを除けば規制を受けないことになるが、RNP (ガイドRNAとCas9の複合体) 等により導入遺伝子を用いない高度な技術の利用によって、ゲノム編集作物の商業化は促進されると思われる。標的外の変異がないことを確認するには、初期のスクリーニング過程でゲノム上の広範な確認を行う必要があり、以前は困難であったが、最近の技術的進歩により、外来遺伝子を含まないゲノム編集作物を同定するための多様な解決策が示されている。

ゲノム編集による作物品質向上の将来展望

ゲノム編集技術は、植物だけでなく微生物や動物など多様な生物において、急速に進歩している。CRISPR/Cas9は、標的配列の小さなIN/DEL変異を導入するだけでなく、ベースエディターによる塩基置換や、新たなエンドヌクレアーゼ (Cpf1) によりプロトスペーサー隣接モチーフ (PAM) 配列の制限を解決している。また、ゲノム編集による改良に適した標的形質の数が限られている。ゲノム編集によって作物の栄養的および機能的な品質形質を多様化するためには、代謝経路における遺伝子とその制御形質との関連を調べる必要がある。現在、作物種の栄養・機能強化を目指す研究の多くは、様々な栄養・機能代謝経路の機能と制御メカニズムを解明している段階にある。

今日まで、ゲノム編集技術の可能性は、さまざまな作物植物において、高い効率と精度で

望ましい形質を工学的に作り出すことによって示されてきた。この技術の現状は、栄養的・機能的品質を含む植物形質の改良に適した多くの応用を可能にしている。継続的な技術改良と、未知の遺伝子の機能に関するより知識の獲得は、将来の新しいゲノム編集作物の開発とその商業化を促進するだろう。