

ゲノム編集技術を利用した保存性向上メロンの作出に成功

本研究では、ゲノム編集技術を利用して、収穫後の保存期間が従来よりも14日間延びたメロンを作出しました。このような技術は、食品ロスと廃棄物を削減し、世界の食料システムの持続可能性を高めることに貢献すると期待できます。

ガス状の植物ホルモンであるエチレンは、果物の追熟を促す働きがあり、保存性（日持ち）に関与することが古くから知られています。本研究では、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムを用いて、国産高級ネットメロン（*Cucumis melo* var. *reticulatus* 'Harukei-3'）のエチレン合成経路を改変し、保存性の向上を試みました。

1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸オキシダーゼ（ACO）は、エチレン生成経路の最終段階を制御する酵素で、複数の相同遺伝子を持っています。本研究グループではこれまでに、メロンのゲノムには5つの *CmACO* 遺伝子（ACO の相同遺伝子）が存在することを、また、収穫した果実では *CmACO1* 遺伝子が主に発現していることを示していました。このことから、*CmACO1* はメロン果実の保存性向上にとって重要な遺伝子であると予想できました。そこで今回、*CmACO1* をゲノム編集のターゲットとして選択し、変異の導入を試みました。その結果、収穫されたメロンには外来遺伝子はなく、誘導した突然変異は少なくとも2世代にわたって受け継がれました。非ゲノム編集系統（野生型）においては、収穫後14日で果実のエチレン発生が観察され、果皮は黄色に色づき、果肉の軟化も進んでいました。一方、ゲノム編集で作った変異体では、エチレン発生が野生型の10分の1に減少し、果皮の色は緑色のままで、果実は硬いままでした。すなわち、ゲノム編集による *CmACO1* 変異導入が、メロンの保存性を向上させたと考えられます。本研究結果は、ゲノム編集技術が、食品ロスの削減や、食料安全保障にも貢献できる技術であることを示しています。

研究担当者

筑波大学生命環境系／つくば機能植物イノベーション研究センター

江面 浩 教授

野中 聡子 助教

研究の背景

食品の保存性向上は、食品ロスと廃棄物抑制の面から育種において重要な特性です。世界的には、食料総生産量の 14%が小売販売前に (FAO、2019)、さらに 17%が小売および消費者レベルで失われており (UNEP 2021)、4,000 億米ドルもの損失が生じています。果物や野菜は、穀物と比較して保存性 (日持ち) が短いため、これらの損失は特に顕著です (FAO、2019)。従って、果物や野菜を改変して保存性を向上することができれば、食品ロスや廃棄物が減り、世界の食料システムの持続可能性が向上すると期待されています。また、果物の品質と鮮度を維持するには、温度、湿度、酸素、二酸化炭素を厳密に管理する必要があり、輸出の際のエネルギー使用量とコストが高くなっていることから、長期保存が可能な品種を生産すれば、これらを大幅に削減できます (Lamberty and Kreyenschmidt、2022)。このため、果物や野菜の保存性を向上することは輸出戦略においても極めて重要な課題です。

果物や野菜は、ガス状の植物ホルモンであるエチレン^{注1)}によって追熟が促進されることから、保存性の向上には、エチレン発生の制御が鍵となります。先行研究において、エチレン合成経路の最終段階を担う 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸オキシダーゼ (ACO) 遺伝子の発現を、遺伝子組換え技術により抑制した場合に保存性が向上することが示されていました。そこで本研究では、実用的な育種ツールとしての有用性が証明されているゲノム編集技術^{注2)} CRISPR/Cas9 を用いて、日本の重要輸出農作物の一つである高級ネットメロンの ACO 遺伝子に変異を導入し、保存性を向上させることを目指しました。

研究内容と成果

1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸オキシダーゼ (ACO) は、多くの植物ゲノム中で相同遺伝子^{注3)}を複数持つことが知られています。そこでまず、ゲノム編集のターゲットとなる遺伝子配列を選択するために、マスクメロンの全ゲノム発現遺伝子情報データベースである Melonet-DB (Yano et al., 2018, 2020、<https://melonet-db.dna.affrc.go.jp/ap/top>) を用いて、メロンのゲノムに ACO 遺伝子が幾つ存在するか調査し、5つの *CmACO1* が存在することを明らかにしました。次に、それぞれの遺伝子の発現部位を調べたところ、5つの *CmACO* のうち、*CmACO1* が収穫後果実において特異的に発現していたことから、*CmACO1* をゲノム編集のターゲットとすることにしました。

ゲノム編集ベクターをメロンゲノムへ導入した後、標的とした *CmACO1* に変異が導入された系統を選抜しました。得られたゲノム編集メロンは倍加^{注4)}しており、四倍体^{注5)}でした。自殖後代^{注6)} (T₂ 世代) から、ゲノム編集ベクターが遺伝分離した系統を選抜して形質を評価しました。その結果、非ゲノム編集個体では、果実収穫後 2 週間でエチレン発生量が最も大きくなり、果皮色も黄色く色づきました。また、果実の軟化が観察され、果肉に戈塾^{ゴ塾}されました。一方、ゲノム編集個体においては、果実収穫後 2 週間でもエチレン発生はほとんど観察されず、果皮色は緑のまま、果実の軟化と早期発酵も見られませんでした (参考図)。以上のことから、ゲノム編集技術を利用して *CmACO1* へ変異を導入することにより、保存性が向上したメロンを作出することに成功しました。

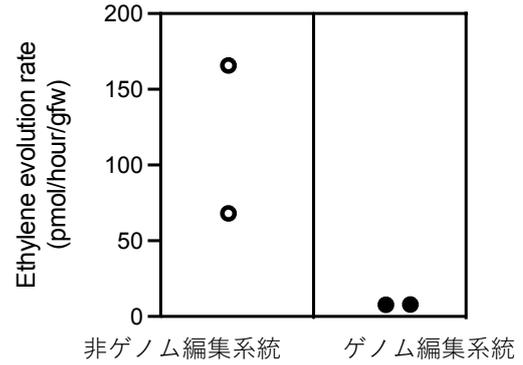
今後の展開

メロンでは、四倍体と二倍体を交配し、三倍体メロンを作ることができます (Ezura et al., 1993)。三倍体メロンは、二倍体と同様に球形の果実を持ち、糖度がほぼ二倍体と同じ特徴を示す一方で、外皮のみで中身のない種子のみが含まれるため、種子の流出が防止されるというメリットがあります。今回開発した保存性に優れた四倍体メロンを用いて、長期保存性に優れた三倍体メロンの開発が可能になると期待されます。

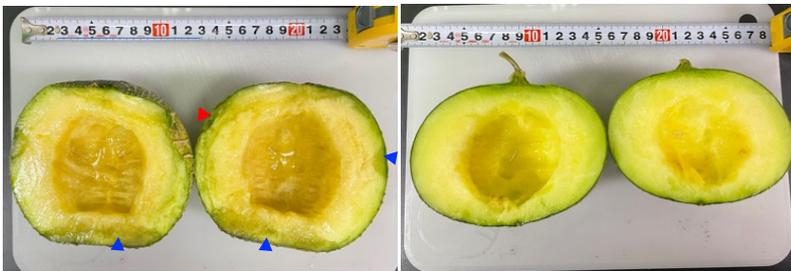
参考図



ゲノム編集により *CmACO1* へ変異を導入したメロン
 収穫後14日目の様子
 非ゲノム編集系統では果皮色が黄色く色づいたが、ゲノム編集系統では果皮色が緑のまま

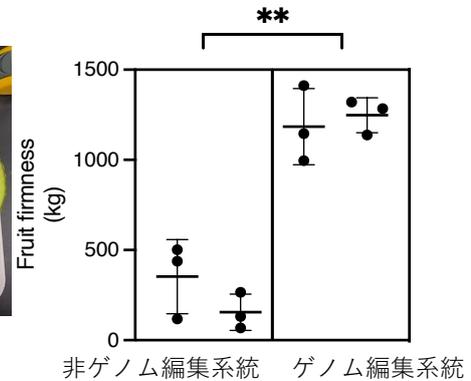


収穫後14日目の果実からのエチレン発生量
 非ゲノム編集系統ではエチレン発生が観察できたが、ゲノム編集系統では非ゲノム編集系統の1/10程度に減少している



非ゲノム編集系統 ゲノム編集系統

ゲノム編集により *CmACO1* へ変異を導入したメロン
 収穫後14日目の様子
 半切果実の観察。非ゲノム編集系統では、早期発酵（図中青矢印）が観察されたが、ゲノム編集系統では観察されていない。



収穫後14日目の果実硬度
 非ゲノム編集系統では、軟化が進んでいるが、ゲノム編集系統では硬度を維持している。

図 ゲノム編集したメロンと非ゲノム編集メロンの収穫後14日目の比較

用語解説

注1) エチレン

ガス状の植物ホルモン。果実の保存性や成熟の他、花の老化などにも関係する。また、植物病害抵抗性にも関連するとの報告がある。

注2) ゲノム編集技術

DNA 結合領域と DNA 二重鎖の切断領域とからなる酵素を用いて、任意の配列の DNA 二重鎖を切断し、変異を導入する技術。本研究では CRISPR/Cas9 システムを利用した。

注3) 相同遺伝子

同一の祖先に由来し、同じ構造・機能を持つ遺伝子。

注4) 倍加

染色体数（遺伝子のセット）が2倍に増えること。

注5) 四倍体

メロンの体細胞は遺伝子2セット分の染色体を持つ二倍体であるが、これが2倍に増えた（倍加）もの。一般に、四倍体は二倍体よりも枝や葉が大きくなる。

注6) 自殖後代

同一個体内の雄蕊（花粉）と雌蕊（卵細胞）による受精を自家受精といい、この形式による生殖を自殖という。自殖後代とは自殖により得られた子孫を指す。

研究資金

本研究は、戦略的推進プログラム SIP「戦略的イノベーション創造プログラム（スマートバイオ産業・農業基盤技術）」1B「バイオ産業・農業に貢献する精密ゲノム編集基盤技術の開発」の一環として実施されました。

掲載論文

- 【題 名】 Targeted modification of *CmACO1* by CRISPR/Cas9 extends the shelf-life of *Cucumis melo* var. *reticulatus* melon
(ゲノム編集技術による棚持ち性向上メロンの作出)
- 【著者名】 S. Nonaka, M. Ito, H. Ezura
- 【掲載誌】 *Frontiers in Genome Editing*
- 【掲載日】 2023年5月25日
- 【DOI】 10.3389/fgeed.2023.1176125

問い合わせ先

【研究に関すること】

江面 浩（えづら ひろし）

筑波大学 生命環境系／つくば機能植物イノベーション研究センター（T-PIRC） 教授

URL: <https://trios.tsukuba.ac.jp/researcher/0000001297>

【取材・報道に関すること】

筑波大学広報局

TEL: 029-853-2040

E-mail: kohositu@un.tsukuba.ac.jp