

組換え DNA 技術応用飼料の安全性確認

令和元年 11 月 25 日付け元消安第 3303 号をもって諮問された以下の組換え DNA 技術応用飼料の安全性に関する確認について「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」（平成 14 年 11 月 26 日付け農林水産省告示第 1780 号）に基づき遺伝子組換え飼料部会において審議を行った。その概要は次のとおりである。

1. 申請品目

飼料名 : ジャガイモ疫病抵抗性、低遊離アスパラギン、低還元糖及び低ポリフェノール酸化酵素ジャガイモ SPS-000X17-5
性 質 : ジャガイモ疫病に対する抵抗性、遊離アスパラギン低減、還元糖低減、ポリフェノール酸化酵素低減
申請者 : J. R. Simplot Company
開発者 : J. R. Simplot Company

2. 経過

令和元年 11 月 25 日 諮問
令和元年 11 月 26 日 第 26 回遺伝子組換え飼料部会

3. 遺伝子組換え飼料部会の審議結果
安全性確認のとおり。

組換え DNA 技術応用飼料の安全性確認

ジャガイモ疫病抵抗性、低遊離アスパラギン、
低還元糖及び低ポリフェノール酸化酵素
ジャガイモ SPS-000X17-5

令和元年 12 月 24 日
農林水産省消費・安全局
畜水産安全管理課

目次

	I	はじめに	3
	II	確認対象飼料の概要	3
	III	審議内容	3
	1	生産物の既存のものとの同等性に関する事項	3
5	(1)	遺伝的素材に関する事項	3
	(2)	家畜等の安全な飼養経験に関する事項	4
	(3)	飼料の構成成分等に関する事項	4
	(4)	既存種と新品種との使用方法の相違に関する事項	4
	2	組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項	4
10	3	宿主に関する事項	5
	(1)	学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項	5
	(2)	遺伝的先祖に関する事項	5
	(3)	有害生理活性物質の生産に関する事項	5
	(4)	寄生性及び定着性に関する事項	5
15	(5)	ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項	5
	(6)	自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項	5
	(7)	有性生殖周期及び交雑性に関する事項	5
	(8)	飼料に利用された歴史に関する事項	5
	(9)	飼料の安全な利用に関する事項	5
20	(10)	生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項	5
	(11)	近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項	6
	4	ベクターに関する事項	6
	(1)	名称及び由来に関する事項	6
	(2)	性質に関する事項	6
25	(3)	薬剤耐性に関する事項	6
	(4)	伝達性に関する事項	6
	(5)	宿主依存性に関する事項	6
	(6)	発現ベクターの作成方法に関する事項	6
	(7)	発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項	7
30	5	挿入遺伝子に関する事項	7

	(1) 供与体に関する事項.....	7
	(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項.....	7
	(3) 構造に関する事項.....	8
	(4) 性質に関する事項.....	8
35	(5) 純度に関する事項.....	1 1
	(6) コピー数に関する事項.....	1 1
	(7) 安定性に関する事項.....	1 1
	(8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項.....	1 2
	(9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項.....	1 2
40	(10) 外来のオープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項.....	1 2
	6 組換え体に関する事項.....	1 3
	(1) 組換えDNA操作により新たに獲得された性質に関する事項.....	1 3
	(2) 遺伝子産物の毒性に関する事項.....	1 3
45	(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項.....	1 3
	(4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項.....	1 3
	(5) 宿主との差異に関する事項.....	1 4
	(6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項.....	1 4
	(7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項.....	1 5
50	(8) 不活化法に関する事項.....	1 5
	(9) 外国における認可等に関する事項.....	1 5
	(10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項.....	1 5
	(11) 種子の製法及び管理方法に関する事項.....	1 5
55	7 2から6までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項.....	1 5
	IV 審議結果.....	1 5
	V 参考文献及び参考資料.....	1 6

「ジャガイモ疫病抵抗性、低遊離アスパラギン、低還元糖及び低ポリフェノール酸化酵素
ジャガイモ SPS-000X17-5」に係る安全性確認

I はじめに

60 ジャガイモ疫病抵抗性、低遊離アスパラギン、低還元糖及び低ポリフェノール酸化酵
素ジャガイモ SPS-000X17-5（以下「ジャガイモ SPS-000X17-5」という。）について、
令和元年 10 月 31 日付けで遺伝子組換え飼料としての安全性確認の申請があったこと
から、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」（平成
14 年 11 月 26 日農林水産省告示第 1780 号）に基づき審議を行った。

65

II 確認対象飼料の概要

飼料名：ジャガイモ疫病抵抗性、低遊離アスパラギン、低還元糖及び低ポリフェノー
ル酸化酵素ジャガイモ SPS-000X17-5

70 性 質：ジャガイモ疫病耐性、遊離アスパラギン、還元糖及びポリフェノール酸化酵
素の低減

申請者：J. R. Simplot Company（米国）

開発者：J. R. Simplot Company（米国）

75 ジャガイモ SPS-000X17-5 は、ジャガイモ疫病菌に対する抵抗性を付与するため、
ジャガイモ野生種 *Solanum venturi* 由来の疫病抵抗性遺伝子が導入されている。また、
ジャガイモを食品として高温加熱加工する過程においてアスパラギン及び還元糖から生
成されるアクリルアミドを低減するため、ジャガイモ従来品種 *Solanum tuberosum* 由
来のアスパラギン合成酵素遺伝子、還元糖の合成に関わる水ジキナーゼ遺伝子、ホスホ
リラーゼ-L 遺伝子、液胞インベルターゼ遺伝子の部分配列が導入されている。

80 さらに、ジャガイモが物理的衝撃を受けると、ジャガイモ内部でフェノール類の酸
化重合が進むことで、ジャガイモの品質の低下につながる黒斑が形成される。この黒斑
の形成を低減するため、ジャガイモ野生種 *Solanum verrucosum* 由来のポリフェノー
ル酸化酵素遺伝子の部分配列が導入されている。

85 ジャガイモ SPS-000X17-5 と非組換えジャガイモを比較したところ、遺伝子
組換え技術を用いて付与されたこれらの性質を除き、差異は認められなかつ
た。このため、ジャガイモ SPS-000X17-5 に付与された性質について安全性を
評価したところ、飼料として安全上問題となる点は認められなかった。した
がって、飼料として摂取する家畜等の健康に影響を及ぼすおそれはないと考
えられた。

90 なお、ジャガイモ SPS-000X17-5 は、米国の特定の圃場で栽培され、特定の
工場でフレンチフライ用に加工利用される予定であり、栽培用や飼料用とし
て日本に輸入される予定はない。

III 審議内容

95 1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

(1) 遺伝的素材に関する事項

ジャガイモ SPS-000X17-5 の宿主植物は、ナス科ナス属に属する *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* の非組換えジャガイモ品種 Ranger Russet である。

100 ジャガイモ SPS-000X17-5 には、ジャガイモ野生種 *S. venturii* に由来するジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子が導入されている。

105 また、ジャガイモ従来品種 *S. tuberosum* に由来するアスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子プロモーター領域、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子プロモーター領域及び液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子の部分配列が導入されており、導入された各部分配列の転写産物によってジーンサイレンシングが誘導され、これらの内在性遺伝子の発現が抑制されている。

さらに、ジャガイモ野生種 *S. verrucosum* に由来するポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子の部分配列が導入されており、導入された部分配列の転写産物によってジーンサイレンシングが誘導され、内在性遺伝子の発現が抑制されている。

110 (2) 家畜等の安全な飼養経験に関する事項

ジャガイモは一般的に飼料用のみを目的として栽培されることはないが、食用としては広く利用されてきた歴史がある。飼料には、規格外のジャガイモや食品残さを通じて利用される。

115 (3) 飼料の構成成分等に関する事項

ジャガイモ SPS-000X17-5 及び非組換えジャガイモの構成成分等の分析値及び文献値は明らかとなっており、比較が可能である。

(4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する事項

120 ジャガイモ SPS-000X17-5 では、還元糖を低減する形質のため貯蔵期間を通常の5～7か月から8～9か月ほど延ばしてもフレンチフライの変色を抑えることができる。この点を除けば、ジャガイモ SPS-000X17-5 は非組換えジャガイモと差異はなく、①収穫時期(成熟程度)、②家畜等の摂取(可食)部位、③家畜等の摂取量、④調製及び加工方法についても非組換えジャガイモとの相違はない。

125

(1)～(4)により、ジャガイモ SPS-000X17-5 の飼料としての安全性評価においては、非組換えジャガイモとの比較が可能であると判断された。

2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

130 ジャガイモ SPS-000X17-5 は、導入された疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子によりジャガイモ疫病への抵抗性を持つため、殺菌剤の使用量及び環境放出量を減らすことができる。また、アクリルアミド生成に関わる遊離アスパラギン及び還元糖の蓄積を抑制することにより、高温で加熱加工した際のアクリルアミド生成量の低減が図られ、摂取した人体への健康影響を低減させることが期待される。

135 さらに、フェノール類の酸化を抑制することにより、物理的衝撃を受けた際の黒斑形成を低減することで、品質低下の防止が期待される。

3 宿主に関する事項

(1) 学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項

140 宿主植物は、ナス科ナス属に属する *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* の非組換えジャガイモ品種 **Ranger Russet** である。

(2) 遺伝的先祖に関する事項

145 ジャガイモの原産地は南米アンデス地方であり、ジャガイモの栽培は約 7,000 年前から栽培されていたと考えられている。(ジャガイモ辞典, 2012)。

(3) 有害生理活性物質の生産に関する事項

150 ジャガイモ塊茎には、毒性物質であるソラニン、チャコニン等のグリコアルカロイドが含まれ、安全許容限度が示されている (Smith et al., 1996)。

(4) 寄生性及び定着性に関する事項

ジャガイモの家畜等に寄生性及び定着性は知られていない。

(5) ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項

155 ジャガイモには、ウイルス、細菌及び菌類による各種病害が知られている (山崎ら, 2004) が、これらが人や家畜に対して病原性を示すことは知られていない。

(6) 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項

160 ジャガイモは栽培作物であり、雑草性はなく、自然生態系における侵略性に関する記録はない (CFIA,1996)。

(7) 有性生殖周期及び交雑性に関する事項

165 ジャガイモは、栄養繁殖により増殖・栽培され、多くの品種で種いもが生産され販売されている。また、ジャガイモは倍数性及び交雑和合性の違いのため、自然交雑することができるのはナス属の中でも地下塊茎を作る種のみである (CFIA,1996)。

(8) 飼料に利用された歴史に関する事項

170 規格外のジャガイモや、食品に加工される過程で生じる食品残さが飼料として用いられている。また日本では、食品の売れ残りを飼料として利用している。

(9) 飼料の安全な利用に関する事項

175 ジャガイモの芽生えにグリコアルカロイドが多く含まれているが、発芽したジャガイモであっても芽の部分を取り除かれていれば、家畜等に対する有害な影響はないとされている。

(10) 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項

180 ジャガイモはある程度生育すると、他の草木と競合することができず (CFIA, 1996)、実際はジャガイモが野生化するとは考えにくい。加えて、冬に土壤中の水分が凍結する寒冷な地域のは場では、ジャガイモが越冬して生育する可能性は極めて低い (CFIA, 1996)。ジャガイモは自然生態系において競合性が低く、生育できないと考えられている (Love, 1994)。

(11) 近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項

185 近縁種にはナス科のトマトやナスなどがあり、ナス科に共通して存在するグリコアルカロイドを含有する。

4 ベクターに関する事項

(1) 名称及び由来に関する事項

190 SPS-000X17-5 の作出に使用された導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の外骨格領域は、プラスミド pVS1、pBR322 等に基づき構築された。

(2) 性質に関する事項

195 プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の塩基数は 19660 bp 及び 18601bp であり、プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の全塩基配列、制限酵素切断部位及び構成要素の性質は明らかになっている (参考資料 1、参考資料 2)。

(3) 薬剤耐性に関する事項

200 プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 には、*E. coli* 由来のアミノグリコシドフォスフォトランスフェラーゼをコードする Kan^R 遺伝子が含まれており、細菌中でカナマイシン耐性マーカーとして機能するが、ジャガイモ SPS-000X17-5 には、これらカナマイシン耐性遺伝子は導入されていないことが確認されている (参考資料 8)。

205 (4) 伝達性に関する事項

プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の外骨格領域には、伝達を可能とする配列は含まれていない。

(5) 宿主依存性に関する事項

210 プラスミド pSIM1278 及びプラスミド pSIM1678 に含まれる全ての構成要素の性質は明らかにされており、植物や動物での複製を可能とする配列を含まない。

(6) 発現ベクターの作成方法に関する事項

215 *E. coli* の中で作成したプラスミドの T-DNA 領域に、アスパラギン合成酵素遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子を含むカセット並びに水ジキナーゼ遺伝子及びホスホリラーゼ-L 遺伝子を含むカセットを挿入することによってプラスミド pSIM1278 を作成した。また、プラスミド pSIM1278 の T-DNA 領域を液胞インベルターゼ遺伝子及びジャガイモ疫病抵抗性遺伝子を含む T-DNA 領域と置き換えるこ

とでプラスミドpSIM1678を作成した。

220

(7) 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項

アグロバクテリウム法により導入用プラスミド pSIM1278 及びプラスミド pSIM1678 の T-DNA 領域を非組換え品種 Ranger Russet に導入している。

225

5 挿入遺伝子に関する事項

(1) 供与体に関する事項

① 名称、由来及び分類に関する事項

ジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子はジャガイモ野生種 *S. venturii* 由来、アスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子プロモーター領域、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子プロモーター領域及び液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子の部分配列はジャガイモ栽培種 *S. tuberosum* 由来、ポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子の部分配列はジャガイモ野生種 *S. verrucosum* 由来である。

230

235

② 安全性に関する事項

ジャガイモ野生種は、塊茎が 5~10mm 程度と小さい (Hawkes and Hjerting, 1960) ため、食用として利用されたことはない。しかし、*Rpi-vnt1* 遺伝子はジャガイモ疫病抵抗性遺伝子として、また *Ppo5* 遺伝子の部分配列はポリフェノール酸化酵素を低減させる遺伝子として長い間従来育種において使われてきた歴史がある (Malcolmsom and Black, 1996、Jansky and Hamernik, 2009)。アスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子プロモーター領域、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子プロモーター領域及び液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子の部分配列は従来ジャガイモ栽培品種 *S. tuberosum* 由来で、安全に摂取されてきた歴史がある。これらは、その転写産物によって生じるジーンサイレンシングを誘導するために利用されることから、新たなたん白質の発現はなく有害物質等を産生する可能性は低い。

240

245

(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項

組織培養で維持された幼植物体を生育させて約 4 週目のジャガイモの節間断片を切り出し、アグロバクテリウムを用いて導入用プラスミド pSIM1278 を導入し形質転換を行った。

250

その後、抗生物質であるチメンチンを含む培地に移すことにより、アグロバクテリウムを排除した上で再生培地にて育成し、発達不全な幼植物体を除去することで、外骨格領域にある *ipt* 遺伝子由来の表現型を示す植物体を除去した。その後複数回の PCR 試験により、挿入 DNA を含む個体を選抜し、その茎頂を摘出し再度チメンチンを含む培地上で発根させることにより、アグロバクテリウムを除く選抜を継続して行った。

255

上記で選抜した個体からシュートを切り出し再生育させた後、PPO 活性 (カテコール) 試験によりポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子の均一な発現抑制が認められた個体に対し、pSIM1278 の外骨格 DNA 領域がないこと及び T-DNA 領

260

域の挿入数をサザンブロット分析により確認し、最終的には場での能力評価の結果に基づき、中間体を作成した。

265 この中間体に、アグロバクテリウムを用いて導入用プラスミド pSIM1678 を導入し形質転換を行った。2 回目の形質転換のステップは 1 回目と同じであるが、2 回目は PPO 活性試験の代わりにジャガイモ疫病菌 *P. infestans* に対する抵抗性を評価する試験を行った。ジャガイモ疫病菌に抵抗性を示した個体に対し、pSIM1678 の外骨格 DNA 領域がないこと及び T-DNA 領域の挿入数をサザンブロット分析により確認し、最終的には場での能力評価の結果に基づき、最終的な商業化系統としてジャガイモ SPS-000X17-5 を選抜した。

270 なお、ジャガイモは栄養繁殖性の作物であるため、全ての植物体は単一起源である。ジャガイモ SPS-000X17-5 の幼植物体を培養して塊茎を生産し、その塊茎を栽培し塊茎を得ることを繰り返すことで増殖される。

(3) 構造に関する事項

275 ① プロモーターに関する事項

ジャガイモ SPS-000X17-5 に導入されたアスパラギン合成酵素遺伝子、還元糖の合成に関わる水ジキナーゼ遺伝子、ホスホリラーゼ-L 遺伝子、液胞インベルターゼ遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子の部分配列には、ジャガイモ (*S. tuberosum*) 由来の ADP グルコースピロホスホリラーゼ遺伝子及び顆粒結合型デンプン合成酵素(Gbss)遺伝子のプロモーターが使用されている。ジャガイモ疫病抵抗性遺伝子には、この遺伝子自身のプロモーターである Vnt1 プロモーターが用いられており、野生ジャガイモ *S. venturii* に由来する。

285 ② ターミネーターに関する事項

ジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子には、この遺伝子自身のターミネーターである Vnt1 ターミネーターが用いられており、野生ジャガイモ *S. venturii* に由来する。その他の挿入遺伝子にはターミネーターを用いていない。

290 ③ 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の各構成要素の機能は既に明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まない。

(4) 性質に関する事項

295 導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の挿入 DNA の各構成要素の由来及び機能について表 1 及び表 2 に示した。アスパラギン合成酵素遺伝子、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子、ホスホリラーゼ-L 遺伝子、液胞インベルターゼ遺伝子、ポリフェノール酸化酵素遺伝子及びジャガイモ疫病耐性遺伝子の機能については詳細を表外に記載した。

300

表 1 挿入 DNA の構成要素 (pSIM1278 の T-DNA)

構成 DNA	由来及び機能
--------	--------

構成 DNA	由来及び機能
LB	<i>Rhizobium radiobacter</i> の Ti プラスミド由来の左側境界配列と類似の合成 DNA
第 1 カセット	
p <i>Agp</i>	ジャガイモ栽培種由来の ADP グルコースピロホスホリラーゼ遺伝子プロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域
Asn1 断片	ジャガイモ栽培種由来のアスパラギン合成酵素遺伝子断片（アンチセンス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
Ppo5 断片	ジャガイモ野生種由来のポリフェノール酸化酵素遺伝子 3'末端非翻訳領域断片（アンチセンス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
Spacer-1	ジャガイモゲノムの非構造領域由来のヘアピンカーブ構造形成のための配列
Ppo5 断片	ジャガイモ野生種由来のポリフェノール酸化酵素遺伝子 3'末端非翻訳領域断片（センス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
Asn1 断片	ジャガイモ栽培種由来のアスパラギン合成酵素遺伝子断片（センス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
p <i>Gbss</i>	ジャガイモ栽培種由来の顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子のプロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域
第 2 カセット	
p <i>Agp</i>	ジャガイモ栽培種由来の ADP グルコースホスホリラーゼ遺伝子プロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域
PhL 断片	ジャガイモ栽培種由来のホスホリラーゼ-L 遺伝子プロモーター領域断片（アンチセンス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
R1 断片	ジャガイモ栽培種由来の水ジキナーゼ R1 たん白質遺伝子プロモーター領域断片（アンチセンス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
Spacer-2	ジャガイモのポリユビキチン遺伝子のイントロン由来のヘアピンカーブ構造形成のための配列
R1 断片	ジャガイモ栽培種由来の水ジキナーゼ R1 たん白質遺伝子プロモーター領域断片（センス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
PhL 断片	ジャガイモ栽培種由来のホスホリラーゼ-L 遺伝子プロモーター領域断片（センス鎖）であり、ジーンサイレンシングを誘導
p <i>Gbss</i>	ジャガイモ栽培種由来の顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子プロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域

構成 DNA	由来及び機能
RB	<i>R. radiobacter</i> の Ti プラスミド由来の右側境界配列と類似の合成 DNA

表 2 挿入 DNA の構成要素 (pSIM1678 の T-DNA)

構成 DNA	由来及び機能
LB	<i>Rhizobium radiobacter</i> の Ti プラスミド由来の左側境界配列と類似の合成 DNA
第 1 カセット	
p <i>Vnt1</i>	ジャガイモ野生種由来の <i>Rpi-vnt1</i> 遺伝子のプロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域
<i>Rpi-vnt1</i>	ジャガイモ野生種由来の VNT たん白質をコードする。ジャガイモ疫病を引き起こす病原体 <i>P. infestans</i> に対する抵抗性を付与
t <i>Vnt1</i>	ジャガイモ野生種由来の <i>Rpi-vnt1</i> 遺伝子のターミネーター領域
第 2 カセット	
p <i>Agp</i>	ジャガイモ栽培種由来の ADP グルコースホスホリラーゼ遺伝子プロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域
VInv 断片	ジャガイモ栽培種由来の液胞インベルターゼ遺伝子断片 (センス鎖) であり、ジーンサイレンシングを誘導
Spacer	ジャガイモ由来の液胞インベルターゼ遺伝子配列の一部を含むヘアピンカーブ構造形成のための配列
VInv 断片	ジャガイモ栽培種由来の液胞インベルターゼ遺伝子断片 (アンチセンス鎖) であり、ジーンサイレンシングを誘導
p <i>Gbss</i>	ジャガイモ栽培種由来の顆粒結合型デンプン合成酵素遺伝子プロモーター領域及び 5'末端非翻訳領域
RB	<i>R. radiobacter</i> の Ti プラスミド由来の右側境界配列と類似の合成 DNA

305

① アスパラギン合成酵素遺伝子の機能

アスパラギン合成酵素は、アスパラギン合成経路におけるグルタミンからアスパラギンへのアミノ基転移を触媒する酵素であり、ジャガイモでは、主に塊茎で発現するアスパラギン合成酵素遺伝子と主に葉で発現するアスパラギン合成酵素-2 遺伝子がある。ジャガイモ SPS-000X17-5 の塊茎において、アスパラギン合成酵素 (Asn1) 断片の導入により、ジーンサイレンシングが誘導される結果、内在性アスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子の発現が抑制され、遊離アスパラギンが減少する。

310

② 水ジキナーゼ遺伝子、ホスホリラーゼ-L 遺伝子及び液胞インベルターゼ遺伝子

315 の機能

水ジキナーゼ、ホスホリラーゼ-L 及び液胞インベルターゼは、デンプン分解に関与している。導入した液胞インベルターゼ遺伝子によるジーンサイレンシングの誘導及び、水ジキナーゼ遺伝子及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域がメチル化されることによるジーンサイレンシングの誘導 (Yan et al., 2006) により、内在性遺伝子の発現が抑制され、還元糖の生成が低減される。アクリルアミドは遊離アスパラギンと還元糖の反応により生成されることから、これらの成分が低減した結果、ジャガイモの高温加熱加工時におけるアクリルアミド生成を抑制することができる。

325 ③ ポリフェノール酸化酵素遺伝子の機能

ポリフェノール酸化酵素は、細胞内の化合物を酸化して *o*-キノン類を産生する。この *o*-キノン類は、さらに非酵素的な酸化・縮合反応により、最終的にたん白質と結合し、黒褐色のたん白性ポリマーとなり、黒斑が形成される。ポリフェノール酸化酵素遺伝子の部分配列の導入により、ジーンサイレンシングが誘導される結果、内在性ポリフェノール酸化酵素遺伝子の発現が抑制され、打撲黒斑の感受性を低減することができる。

330 ④ ジャガイモ疫病耐性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子の機能

R たん白質は病原体が分泌する非病原性エフェクターたん白質を認識することにより、植物体のエフェクター誘導免疫を誘導する (Nimchuk et al., 2003)。この免疫反応はプログラム細胞死を通して病原体の細胞間の移動を妨げることで、病原体の植物体内での拡散を抑制する (Gururani et al., 2012)。*Rpi-vnt1* 遺伝子がコードする VNT1 たん白質は、R たん白質の一つであり、ジャガイモ疫病菌 (*Phytophthora infestans*) が分泌するたん白質を認識して、免疫反応を起こすことで、茎葉にジャガイモ疾病への抵抗性を付加することができる (Pel 2009)。

345 (5) 純度に関する事項

導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の挿入 DNA に目的外の遺伝子の混入がないことは、塩基配列解析により確認されている。

(6) 安定性に関する事項

ジャガイモは、塊茎による栄養生殖であるため、減数分裂を伴う有性生殖を行う植物と比べ、組換えのような遺伝的変異が生じるプロセスが無く、挿入 DNA は安定的と考えられる。遺伝子の安定性を経時的に確認するため、5 世代のジャガイモ SPS-000X17-5 から得られた DNA を用いて、サザンブロット分析を行った結果、挿入 DNA が安定して引き継がれていることが確認された (参考資料 12)。

355 (7) コピー数に関する事項

ジャガイモ SPS-000X17-5 に導入された遺伝子のコピー数を決定し、挿入 DNA 領域及び導入用プラスミド由来の外側骨格配列の有無を確認するため、サザンブ

ロット分析を行った。その結果、ジャガイモ SPS-000X17-5 には各プラスミド由来の挿入 DNA 領域が 1 か所ずつ導入されていること及び、導入用プラスミドの外側骨格配列が存在しないことが確認された（参考資料 8）。次世代及びサンガーシーケンス解析用いた解析によっても確認している。

360

(8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

ジャガイモ SPS-000X17-5 の各部位における、アスパラギン合成酵素遺伝子、ホスホリラーゼ-L 遺伝子、水ジキナーゼ遺伝子、液胞インベルダーゼ遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子の発現が抑制されていることを確認するため、塊茎、葉、茎、根及び花を用いてノーザンブロット分析により測定した。その結果、塊茎においては、アスパラギン合成酵素遺伝子、液胞インベルダーゼ遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子の発現が抑制されていることが確認された。ホスホリラーゼ-L 遺伝子、水ジキナーゼ遺伝子の発現抑制は認められなかった。塊茎を除く部位においては、発現が抑制されていない遺伝子もあったが、飼料としての安全性に対しては影響を及ぼさないと考えられた。

365

370

塊茎及び葉の VNT1 たん白質を測定するため、ウェスタンブロット分析を行った結果、いずれも発現量は定量限界値未満であった。なお、*Rpi-vnt1* 遺伝子の対立遺伝子変異体である *Rpi-vnt1.3* 遺伝子を有するジャガイモ品種である *Alouette* の塊茎を用いて同様にウェスタンブロット分析を行った結果、VNT1 たん白質の発現量は定量限界値未満であった（参考資料 10、参考資料 16）

375

また、定量 Reverse Transcription PCR (RT-qPCR) 法を用いて SPS-000X17-5 の葉、茎、根、花及び塊茎における *Rpi-vnt1* 遺伝子の転写量を、*S. venturii* の葉から調製した RNA を陽性コントロールとして測定した結果、*Rpi-vnt1* 遺伝子の発現が確認された（参考資料 11）。

380

(9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 には、カナマイシン耐性を付与する Kan^R 遺伝子が挿入 DNA 領域の外側に存在しているが、ジャガイモ SPS-000X17-5 中に Kan^R 遺伝子が導入されていないことは、シーケンス解析によって確認されている。

385

(10) 外来のオープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

ジャガイモ SPS-000X17-5 の挿入 DNA とその両近傍配列の境界領域におけるオープンリーディングフレーム (ORF) 検索を行った。終止コドンから終止コドンまでの配列を 6 フレーム全てについて検索した結果、プラスミド pSIM1278 由来の挿入 DNA 領域と近傍領域との接合部では、8 個の ORF が検出され、プラスミド pSIM1678 由来の挿入 DNA 領域と近傍領域との接合部では、9 個の ORF が検出された（参考資料 4）。これらの ORF について、既知の毒性たん白質との相同性検索を行った結果、相同性は認められなかった。

390

395

6 組換え体に関する事項

(1) 組換え DNA 操作により新たに獲得された性質に関する事項

400 ジャガイモ SPS-000X17-5 では、導入された疫病抵抗性遺伝子によってジャガイモ疫病に対する抵抗性が付与されている。また、導入されたアスパラギン合成酵素遺伝子、水ジキナーゼ遺伝子のプロモーター領域、ホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域、液胞インベルターゼ遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子の部分配列によってジーンサイレンシングが誘導される。その結果、ジャガイモ内在性の各遺伝子の発現が抑制されることにより、高温加熱加工によるアクリルアミドの生成並びに物理的衝撃による打撲黒斑の形成が低減している。この点を除けば、ジャガイモ SPS-000X17-5 は非組換えジャガイモと性質の相違は認められず、飼料としての利用方法も変わらない。

(2) 遺伝子産物の毒性に関する事項

410 ジャガイモ SPS-000X17-5 には、アスパラギン合成酵素遺伝子、水ジキナーゼ遺伝子のプロモーター領域、ホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域、液胞インベルターゼ遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子の部分配列が導入されているが、宿主植物と比較して新たなたん白質が産生されることは考えにくく、本項に関する検討は必要ないと判断された。

415 また、ジャガイモ疫病抵抗性遺伝子がコードする VNT1 たん白質と既知の毒性たん白質との構造相同性の有無を確認するために、データベース を用いて E-value<10⁻⁵ を指標として相同性検索を行った結果、VNT1 たん白質と相同性を有する既知の毒性たん白質は確認されなかった（参考資料 4）

420

(3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

Rpi-vnt1 遺伝子以外の導入された遺伝子は dsRNA を発現するが、新たなたん白質が産生されることは考えにくいため、本項に関する検討は必要ないと判断された。

425 ジャガイモ SPS-000X17-5 塊茎中の VNT1 たん白質については、発現量が定量限界値未満であり、ジャガイモ SPS-000X17-5 由来の VNT1 たん白質の摂取量も低いと推測されたことから、総合的に判断し、VNT1 たん白質の有害性は低いと考えられた。

(4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項

430 ジャガイモ SPS-000X17-5 では、ジーンサイレンシングを誘導するためにアスパラギン合成酵素遺伝子、水ジキナーゼ遺伝子のプロモーター領域及びホスホリラーゼ-L 遺伝子のプロモーター領域、液胞インベルターゼ遺伝子及びポリフェノール酸化酵素遺伝子の部分配列が導入されている。

435 これらの挿入遺伝子が目的以外の遺伝子発現に影響を及ぼしていないことを確認するため、バイオインフォマティクス分析を行った（参考資料 13、参考資料 14）。その結果、水ジキナーゼ遺伝子及びホスホリラーゼ-L 遺伝子断から生じる

440 siRNA の 21 塩基長と相同性を示す目的以外の遺伝子が 15 個確認された。このうち、2 個がジーンサイレンシングを誘導するのに十分な長さを持っていたが、これらはテトラスパニン-10 遺伝子の 2 つのスプライシング変異体であった。シロイヌナズナ由来のテトラスパニン-10 遺伝子は、植物の形態形成に関与すると報告されている (Wang et al., 2012) が、ジャガイモ SPS-000X17-5 の形態に異常は認められなかった。

445 また、ジャガイモ疫病抵抗性遺伝子がコードする VNT1 たん白質は、ジャガイモ疫病菌が分泌するエフェクターたん白質を認識して、植物の免疫反応を引き起こすが、これ以外の機能を知られていない。

(5) 宿主との差異に関する事項

450 ジャガイモ SPS-000X17-5 及び非組換えジャガイモとの構成成分の同等性を評価するため、米国のほ場において栽培されたジャガイモ SPS-000X17-5、対照の非組換えジャガイモ及び非組換え栽培品種の塊茎部を用いて、①主要構成成分、②ビタミン及びミネラル、③アミノ酸、④有害生理活性物質の分析を行った (参考資料 15)。

455 ① 主要構成成分

塊茎部の粗たん白質、粗脂肪、灰分、粗繊維、炭水化物、水分について分析した結果、一部の成分において対照の非組換えジャガイモとの間で統計学的有意差が見られたが、いずれも従来品種の許容区間内であった。

460 ② ビタミン及びミネラル

塊茎部のビタミンB₃、ビタミンB₆、ビタミンC、銅、マグネシウム及びカリウムを分析した結果、ビタミンC及びカリウムにおいて、対照の非組換えジャガイモとの間で統計学的有意差が見られたが、従来品種の許容区間内であった。

465 ③ アミノ酸

470 塊茎部の各アミノ酸について分析した結果、アスパラギン酸及びアスパラギンの合計が統計学的に有意に減少し、グルタミン酸及びグルタミンの合計が統計学的に有意に増加していたが、いずれも従来品種の許容区間及び文献値の範囲内であった。その他にも複数のアミノ酸について統計学的有意差が見られたが、いずれも従来品種の許容区間及び文献値の範囲内であった。

④ 有害生理活性物質

塊茎部の有害生理活性物質として、グリコアルカロイドについて分析した結果、対照の非組換えジャガイモと同等であった。

475

(6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項

2014 年に、ジャガイモ SPS-000X17-5 のほ場試験が米国で行われているが、生存及び増殖能力は非組換えジャガイモと同等であることが確認されている。

480 (7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項
ジャガイモ SPS-000X17-5 の生存・増殖能力は非組換えジャガイモと同等であり、生存・増殖能力の制限要因にも両者の間に変化はないと考えられる。

485 (8) 不活化法に関する事項
ジャガイモ SPS-000X17-5 の不活化法については、従来のジャガイモと同様である。

(9) 外国における認可等に関する事項

490 表1 諸外国における認可状況*

申請国	申請先	目的	申請状況
米国	米国農務省 (USDA)	無規制裁培	2016年10月承認
	米国食品医薬品庁 (FDA)	食品・飼料	2017年2月安全性確認済
	米国環境保護庁 (EPA)	環境	2017年1月登録完了
残留基準等の免除		2017年2月決定	
カナダ	カナダ保健省 (HC)	食品	2017年7月承認
	カナダ食品検査庁 (CFIA)	飼料・環境	2017年7月承認
オーストラリア・ニュージーランド	オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)	食品	2017年12月承認

*2019年9月5日現在

(10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項
ジャガイモの栽培方法は非組換え品種と同様である。

495 (11) 種子の製法及び管理方法に関する事項
種いもの製法及び管理方法は非組換えジャガイモと同等である。種いものは、Simplot社の種子保管庫で専用容器に入れられ保管されている。

500 7 2から6までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項該当しない。

IV 審議結果

505 ジャガイモ SPS-000X17-5 について、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき審議した結果、飼料として摂取する家畜等への安全上の問題はないと判断した。

V 参考文献及び参考資料

510

参考資料 (申請者提出 社外秘)

1. Sequence of pSIM1278. 16-42-SPS-SEQ.
2. Sequence of pSIM1678. 16-43-SPS-SEQ.
3. Efficacy of Polyphenol Oxidase Downregulation in X17 Tubers. 15-95-SPS-MOL.
- 515 4. Allergen and Toxin Evaluation of Open Reading Frames in X17: Stop-to-Stop. 19-23-SPS-MOL.
5. 2013 Field Efficacy of Potato Events W8, X17, and Y9 against *Phytophthora infestans* (Late Blight). 13-04-SPS-ENV.
6. 2014 Field Efficacy of Potato Events W8, X17, and Y9 against *Phytophthora infestans* (Late Blight). 14-04-SPS-ENV.
- 520 7. 2014 Field Efficacy of Potato Event W8, X17, and Y9 against *Phytophthora infestans* (Late Blight) Strain US-24. 16-72-SPS-ENV.
8. Sequence Characterization of the Inserts in X17. 17-29-SPS-MOL.
9. Expression of RNAi-targeted Transcripts in X17. 15-08-SPS-MOL.
10. Characterization of VNT1 Protein Expression in X17. 17-55-SPS-MOL.
- 525 11. Gene Expression of *Rpi-vnt1* in X17 During Plant Development. 17-44-SPS-MOL.
12. Genetic Stability of the Inserts in Vegetatively Propagated X17 Plants. 16-96-SPS-MOL.
13. Analysis of pSIM1278 siRNA Targets and Specificity in Potato. 16-73-SPS-MOL.
14. Analysis of pSIM1678 siRNA Targets and Specificity in Potato. 16-74-SPS-MOL.
- 530 15. Compositional Assessment of X17 Compared to Ranger Russet. 15-51-SPS-COMP-RPT.
16. Characterization of VNT1 Protein Expression in Alouette.

参考文献

1. いも類振興会 (編) (2012) ジャガイモ事典 一般社団法人いも類振興会
2. 木村藤敬・大口秀司・山本るみ子・河野建夫 (2009) 馬鈴薯由来残渣の給与が肉豚の発育と肉質に及ぼす影響 愛知農総試研報 41:119-125
3. 厚生労働省 (2016) 平成 26 年国民健康・栄養調査報告 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室 <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/dl/h26-houkoku.pdf>
4. 嶋澤光一・本多昭幸・竹野大志・西川轍・尾野喜孝 (2007) バレイショ混合サイレージ給与が肥育豚の発育および肉質に及ぼす影響 日本畜産学会報 78(3), 355-362.
5. 嶋澤光一・本多昭幸・尾野喜孝 (2009) 昼間屋外飼育およびバレイショ混合サイレージの給与が肥育豚の行動、生産性、肉質および筋線維特性に及ぼす影響 日本畜産学会報 80(2), 189-197
6. 食品安全委員会 (2015) 加熱時に生じるアクリルアミドに係る食品健康影響評価 内閣府食品安全委員会 https://www.fsc.go.jp/osirase/acrylamide1.data/acrylamide_hyokasyo1.pdf
7. 農村漁村文化協会 (編) (2010) 農業技術大系 作物編 第 5 巻 一般社団法人農村漁村文化協会
8. 農林水産省 (2013) 食品中のアクリルアミドを低減するための指針 農林水産省消費・安全局、食料産業局、生産局

http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/acryl_amide/a_gl/pdf/131127_acrylamide_full.pdf

9. 農林水産省 (2016a) いも・でん粉に関する資料 農林水産省政策統括官付地域作物課 <http://www.maff.go.jp/j/seisan/tokusan/imo/27siryou.html>
10. 農林水産省 (2016b) エコフィードについて 農林水産省生産局畜産部飼料課 http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryo/ecofeed.html
11. 橋本 平九郎 (1957) 甘藷・馬鈴薯の飼料的利用方法 株式会社養賢堂
12. 山崎耕宇、久保祐雄、西尾敏彦 (2004) 新編農学大事典 石原邦 (監修) 株式会社養賢堂
13. Agrico UK (2017). Carolus. <http://www.agrico.co.uk/products/varieties/documents/carolusfactsheet.pdf>.
- 535 14. AHDB (2010). Agriculture and Horticulture Development Board. Ranger Russet. AHDB Potato Variety Database. <http://varieties.ahdb.org.uk/varieties/view/ranger%20russet>. 1-3.
15. AHDB (2017). Alouette. Agriculture and Horticulture Development Board. Potato Variety Database. <http://varieties.ahdb.org.uk/varieties/view/alouette>.
- 540 16. Amrein, T.M., Bachmann, S., Noti, A., Biedermann, M., Barbosa, M.F., Biedermann-Brem, S., Grob, K., Keiser, A., Realini, P., Escher, F., et al. (2003). Potential of Acrylamide Formation, Sugars, and Free Asparagine in Potatoes: A Comparison of Cultivars and Farming Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 5556–5560.
- 545 17. Andersen, E.J., Ali, S., Reese, R.N., Yen, Y., and Neupane, S. (2016). Diversity and Evolution of Disease Resistance Genes in Barley (*Hordeum Vulgare* L.). *Evolutionary Bioinformatics Online* 12, 99–108.
18. Armstrong, M.R., Vossen, J., Lim, T.Y., Hutten, R.C.B., Xu, J., Strachan, S.M., Harrower, B., Champouret, N., Gilroy, E.M., and Hein, I. (2018). Tracking Disease Resistance Deployment in Potato Breeding by Enrichment Sequencing. *Plant Biotechnology Journal* 17, 540–549.
- 550 19. Baker, B., Zambryski, P., Staskawicz, B., and Dinesh-Kumar, S.P. (1997). Signaling in Plant-Microbe Interactions. *Science (New York, N.Y.)* 276, 726–733.
- 555 20. Bakker, E., Borm, T., Prins, P., van der Vossen, E., Uenk, G., Arens, M., de Boer, J., van Eck, H., Muskens, M., Vossen, J., et al. (2011). A Genome-Wide Genetic Map of NB-LRR Disease Resistance Loci in Potato. *Theoretical and Applied Genetics* 123, 493–508.
21. Ballvora, A., Ercolano, M.R., Weiß, J., Meksem, K., Bormann, C.A., Oberhagemann, P., Salamini, F., and Gebhardt, C. (2002). The R1 Gene for Potato Resistance to Late Blight (*Phytophthora Infestans*) Belongs to the Leucine Zipper/NBS/LRR Class of Plant Resistance Genes. *Plant Journal* 30, 361–371.
- 560 22. Bethke, P. (2014). Postharvest Storage and Physiology. In *The Potato: Botany, Production and Uses*, Navarre, R., and Pavek, M., eds. (CAB International / United States Department of Agriculture), 255–271.
- 565 23. Bhaskar, P.B., Wu, L., Busse, J.S., Whitty, B.R., Hamernik, A.J., Jansky, S.H., Buell, C.R., Bethke, P.C., and Jiang, J. (2010). Suppression of the Vacuolar Invertase Gene Prevents Cold-Induced Sweetening in Potato. *Plant Physiology* 154, 939–948.
- 570 24. Bushey, D.F., Bannon, G.A., Delaney, B.F., Graser, G., Hefford, M., Jiang, X., Lee, T.C., Madduri, K.M., Pariza, M., Privalle, L.S., et al. (2014). Characteristics and

- Safety Assessment of Intractable Proteins in Genetically Modified Crops. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69, 154–170.
- 575 25. Buzby, J.C., Hyman, J., Stewart, H., and Wells, H.F. (2011). The Value of Retail and Consumer Level Fruit and Vegetable Losses in the United States. *The Journal of Consumer Affairs* 45, 492–515.
26. CFIA (1997). Canadian Food Inspection Agency. The Biology of *Solanum Tuberosum* (L.) (Potatoes). Plant Biosafety Office *December*, 1–8.
- 580 27. Charmley, E., Nelson, D., and Zvomuya, F. (2006). Nutrient Cycling in the Vegetable Processing Industry: Utilization of Potato by-Products. *Canadian Journal of Soil Science* 86, 621–629.
28. Chau, B.L., and Lee, K.A. (2007). Function and Anatomy of Plant SiRNA Pools Derived from Hairpin Transgenes. *Plant Methods* 3, 13.
- 585 29. Chawla, R., Shakya, R., and Rommens, C.M. (2012). Tuber-Specific Silencing of Asparagine Synthetase-1 Reduces the Acrylamide-Forming Potential of Potatoes Grown in the Field without Affecting Tuber Shape and Yield. *Plant Biotechnology Journal* 10, 913–924.
30. Chiang, Y.-H., and Coaker, G. (2015). Effector Triggered Immunity: NLR Immune Perception and Downstream Defense Responses. *The Arabidopsis Book* 11:e0183.
- 590 31. Christopoulou, M., Wo, S.R.-C., Kozik, A., McHale, L.K., Truco, M.-J., Wroblewski, T., and Michelmore, R.W. (2015). Genome-Wide Architecture of Disease Resistance Genes in Lettuce. *Genes Genomes Genetics* 5, 2655–2669.
32. CIAA (2013). Commission Recommendation of 8 November 2013 on Investigations into the Levels of Acrylamide in Food. *Official Journal of the European Union* 15, 2012–2014.
- 595 33. Codex (2003). Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from the Recombinant-DNA Plants. *Codex Alimentarius Commission CAC/GL 45*, 1–18.
34. Correll, D.S. (1962). *Solanum Verrucosum*. In *The Potato and Its Wild Relatives*, (Texas Research Foundation), 360–364.
- 600 35. DeBuck, S., Jacobs, A., Van Montagu, M., and Depicker, A. (1999). The DNA Sequences of T-DNA Junctions Suggest That Complex T-DNA Loci Are Formed by a Recombination Process Resembling T-DNA Integration. *The Plant Journal* 20, 295–304.
- 605 36. Della Vedova, C.B., Lorbiecke, R., Kirsch, H., Schulte, M.B., Scheets, K., Borchert, L.M., Scheffler, B.E., Wienand, U., Cone, K.C., and Birchler, J.A. (2005). The Dominant Inhibitory Chalcone Synthase Allele *C2-Idf (Inhibitor Diffuse)* from *Zea Mays* (L.) Acts via an Endogenous RNA Silencing Mechanism. *Genetics* 170, 1989–2002.
- 610 37. Dodds, P.N., and Rathjen, J.P. (2010). Plant Immunity: Towards an Integrated View of Plant–Pathogen Interactions. *Nature Reviews Genetics* 11, 539–548.1
38. Edner, C., Li, J., Albrecht, T., Mahlow, S., Hejazi, M., Hussain, H., Kaplan, F., Guy, C., Smith, S.M., Steup, M., et al. (2007). Glucan, Water Dikinase Activity Stimulates Breakdown of Starch Granules by Plastidial β -Amylases. *Plant Physiology* 145, 17–28.
- 615 39. EFSA CONTAM Panel (2015). Scientific Opinion on Acrylamide in Food. *EFSA Journal* 13, 1–321.
40. FAO/WHO (2001). Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from
- 620 Biotechnology. http://www.who.int/fsf/gmfood/consultation_jan2001/report20.pdf

[22-25 janu, 1-29.](#)

41. Faris, J.D., Zhang, Z., Lu, H., Lu, S., Reddy, L., Cloutier, S., Fellers, J.P., Meinhardt, S.W., Rasmussen, J.B., Xu, S.S., et al. (2010). A Unique Wheat Disease Resistance-like Gene Governs Effector-Triggered Susceptibility to Necrotrophic Pathogens. *PNAS* *107*, 13544–13549.
- 625 42. FDA (2006). Guidance for Industry: Recommendations for the Early Food Safety Evaluation of New Non-Pesticidal Proteins Produced by New Plant Varieties Intended for Food Use.
43. FDA (2016). Guidance for Industry: Acrylamide in Foods. FDA Food Guidances 1–37.
- 630 44. Feys, B.J., and Parker, J.E. (2000). Interplay of Signaling Pathways in Plant Disease Resistance. *Trends in Genetics : TIG* *16*, 449–455.
45. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K., Kostas, S.A., Driver, S., and Mello, C.C. (1998). Potent and Specific Genetic Interference by Double-Stranded RNA in *Caenorhabditis Elegans*. *Nature* *391*, 806–811.
- 635 46. Food Drink Europe (2019). Acrylamide Tollbox 2019. <https://www.fooddrinkeurope.eu/news/press-release/fooddrinkeurope-publishes-15th-edition-of-acrylamide-toolbox/>.
47. Foster, S.J., Park, T.-H., Pel, M., Brigneti, G., Śliwka, J., Jagger, L., van der Vossen, E., and Jones, J.D.G. (2009). Rpi-Vnt1.1, a Tm-22 Homolog from *Solanum Venturii*, Confers Resistance to Potato Late Blight. *Molecular Plant-Microbe Interactions* *22*, 589–600.
- 640 48. Friedman, M., McDonald, G.M., and Filadelfi-Keszi, M. (1997). Potato Glycoalkaloids: Chemistry, Analysis, Safety, and Plant Physiology. *Critical Reviews in Plant Sciences* *16*, 55–132.
- 645 49. Fry, B., Myers, K., Mayton, H., Small, I., and Danies, G. (2016). Late Blight Update 2015. Cornell University <http://www.hort.cornell.edu/expo/proceedings/2016>.
50. Garbarino, J.E., and Belknap, W.R. (1994). Isolation of a Ubiquitin-Ribosomal Protein Gene (*Ubi3*) from Potato and Expression of Its Promoter in Transgenic Plants. *Plant Molecular Biology* *24*, 119–127.
- 650 51. Garbarino, J.E., Oosumi, T., and Belknap, W.R. (1995). Isolation of a Polyubiquitin Promoter and Its Expression in Transgenic Potato Plants. *Plant Physiology* *109*, 1371–1378.
- 655 52. Gururani, M.A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C.P., Nookaraju, A., Pandey, S.K., and Park, S.W. (2012). Plant Disease Resistance Genes: Current Status and Future Directions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* *78*, 51–65.
53. Habig, J.W., Rowland, A., Pence, M.G., and Zhong, C.X. (2018). Food Safety Evaluation for R-Proteins Introduced by Biotechnology: A Case Study of VNT1 in Late Blight Protected Potatoes. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* *95*, 66–74.
- 660 54. Halterman, D., Guenther, J., Collinge, S., Butler, N., and Douches, D. (2016). Biotech Potatoes in the 21st Century: 20 Years Since the First Biotech Potato. *American Journal of Potato Research* *93*, 1–20.
- 665 55. Hammond, S.M. (2005). Dicing and Slicing: The Core Machinery of the RNA Interference Pathway. *FEBS Letters* *579*, 5822–5829.
56. Hammond, B., and Cockburn, A. (2008). The Safety Assessment of Proteins Introduced into Crops Developed through Agricultural Biotechnology. In *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*, (CRC Press), 259–288.

- 670 57.Hanes, C.S. (1940). The Reversible Formation of Starch from Glucose-1-Phosphate
Catalysed by Potato Phosphorylase. *Proceedings of the Royal Society of London*
129, 174–208.
- 58.Haverkort, A.J., Boonekamp, P.M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L.A.P., Kessel,
G.J.T., Visser, R.G.F., Vossen, E.A.G., and Van Der Vossen, E.A.G. (2008). Societal
675 Costs of Late Blight in Potato and Prospects of Durable Resistance Through
Cisgenic Modification. *Potato Research* *51*, 47–57.
- 59.Haverkort, A.J., Struik, P.C., Visser, R.G.F., and Jacobsen, E. (2009). Applied
Biotechnology to Combat Late Blight in Potato Caused by *Phytophthora Infestans*.
Potato Research *52*, 249–264.
- 680 60.Haverkort, A.J., Boonekamp, P.M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L.A.P., Kessel,
G.J.T., Vossen, J.H., and Visser, R.G.F. (2016). Durable Late Blight Resistance in
Potato Through Dynamic Varieties Obtained by Cisgenesis: Scientific and Societal
Advances in the DuRPh Project. *Potato Research* *59*, 35–66.
- 60.Hawkes, J.G. (1990). *The Potato: Evolution, Biodiversity and Genetic Resources*.
685 (Belhaven Press),.
- 61.Hawkes, J., and Hjerting, J. (1960). Some Wild Potato Species from Argentina.
Phyton *9*, 140–146.
- 62.He, X.-J., Chen, T., and Zhu, J.-K. (2011). Regulation and Function of DNA
Methylation in Plants and Animals. *Cell Research* *21*, 442–465.
- 690 63.Health Canada (2012). Revised Exposure Assessment of Acrylamide in Food.
Health Canada Bureau of Chemical Safety.
- 64.Hirai, S., and Kodama, H. (2008). RNAi Vectors for Manipulation of Gene
Expression in Higher Plants. *The Open Plant Science Journal* *2*, 21–30.
- 65.Hopkins, B.G., Stark, J., Hafez, S.L., Hutchinson, P.J.S., Patterson, P., Miller, J.,
695 Thornton, M., and Alvarez, J. (2003). Field Selection, Crop Rotations, and Soil
Management.
- 66.Hopkins, B.G., Hutchinson, P.J.S., Patterson, P., Miller, J., Thornton, M., Hafez, S.,
and Alvarez, J. (2004). Cropping Sequence and Rotation: Impact on Potato
Production and Soil Condition. United Potato Growers of America.
- 700 67.Hutten, R., van Berloo, R., and Finkers, R. (2013). Potato Pedigree Database.
Wageningen University and Research Centre.
<https://www.plantbreeding.wur.nl/potatopedigree/>.
- 68.Hwang, Y.T., Wijekoon, C., Kalischuk, M., Johnson, D., Howard, R., Prufer, D., and
Kawchuk, L. (2014). Evolution and Management of the Irish Potato Famine
705 Pathogen *Phytophthora Infestans* in Canada and the United States. *American*
Journal of Potato Research *91*, 579–593.
- 69.ILSI (2016). International Life Sciences Institute Crop Composition Database,
Version 7.0. <https://www.cropcomposition.org/query/index.html>. 10 January 2019.
- 70.ISAAA (2017). GM Approval Database (<http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>).
- 710 71.Ivashuta, S.I., Petrick, J.S., Heisel, S.E., Zhang, Y., Guo, L., Reynolds, T.L., Rice,
J.F., Allen, E., and Roberts, J.K. (2009). Endogenous Small RNAs in Grain: Semi-
Quantification and Sequence Homology to Human and Animal Genes. *Food and*
Chemical Toxicology *47*, 353–360.
- 72.Jansky, S., and Hamernik, A. (2009). The Introgression of 2X 1EBN *Solanum*
715 Species into the Cultivated Potato Using *Solanum Verrucosum* as a Bridge.
Genetic Resources and Crop Evolution *56*, 1107–1115.
- 73.JECFA (1992). Evaluation of Certain Food Additives and Naturally Occurring
Toxicants. WHO Technical Report Series.

74. JECFA (2011). Evaluation of Certain Contaminants in Food. WHO Technical Report Series 1–105, back cover.
- 720 75. Jensen, P.D., Zhang, Y., Wiggins, B.E., Petrick, J.S., Zhu, J., Kerstetter, R. a, Heck, G.R., and Ivashuta, S.I. (2013). Computational Sequence Analysis of Predicted Long DsRNA Transcriptomes of Major Crops Reveals Sequence Complementarity with Human Genes. *GM Crops & Food* 4, 90–97.
- 725 76. Jones, J.D.G., Witek, K., Verweij, W., Jupe, F., Cooke, D., Dorling, S., Tomlinson, L., Smoker, M., Perkins, S., and Foster, S. (2014). Elevating Crop Disease Resistance with Cloned Genes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 369, 20130087.
- 730 77. JRTA (2012). Encyclopedia of Potato. In Japan Root and Tuber Crops Development Association Inc. Foundation Encyclopedia of Potato, (Japan Root and Tuber Crops Development Association (JRTA)), 167–168.
- 735 78. Jupe, F., Pritchard, L., Etherington, G.J., MacKenzie, K., Cock, P.J.A., Wright, F., Sharma, S.K., Bolser, D., Bryan, G.J., Jones, J.D.G., et al. (2012). Identification and Localisation of the NB-LRR Gene Family within the Potato Genome. *BMC Genomics* 13, 75.
- 740 79. Jupe, F., Witek, K., Verweij, W., Śliwka, J., Pritchard, L., Etherington, G.J., Maclean, D., Cock, P.J., Leggett, R.M., Bryan, G.J., et al. (2013). Resistance Gene Enrichment Sequencing (RenSeq) Enables Reannotation of the NB-LRR Gene Family from Sequenced Plant Genomes and Rapid Mapping of Resistance Loci in Segregating Populations. *Plant Journal* 76, 530–544.
80. Kang, Y.J., Kim, K.H., Shim, S., Yoon, M.Y., Sun, S., Kim, M.Y., Van, K., and Lee, S.-H. (2012). Genome-Wide Mapping of NBS-LRR Genes and Their Association with Disease Resistance in Soybean. *BMC Plant Biology* 12, 139.
- 745 81. Kozukue, N., Yoon, K.-S., Byun, G.-I., Misoo, S., Levin, C.E., and Friedman, M. (2008). Distribution of Glycoalkaloids in Potato Tubers of 59 Accessions of Two Wild and Five Cultivated *Solanum* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 11920–11928.
- 750 82. Lakshmanan, V., Venkataramareddy, S.R., and Neelwarne, B. (2007). Molecular Analysis of Genetic Stability in Long-Term Micropropagated Shoots of Banana Using RAPD and ISSR Markers. *Electronic Journal of Biotechnology* 10, 1–11.
83. Lazo, G.R., Stein, P.A., and Ludwig, R.A. (1991). A DNA Transformation-Competent *Arabidopsis* Genomic Library in *Agrobacterium*. *Nature Biotechnology* 9, 963–967.
- 755 84. Lehmann, T., and Ratajczak, L. (2008). The Pivotal Role of Glutamate Dehydrogenase (GDH) in the Mobilization of N and C from Storage Material to Asparagine in Germinating Seeds of Yellow Lupine. *Journal of Plant Physiology* 165, 149–158.
- 760 85. Li, H., and Durbin, R. (2009). Fast and Accurate Short Read Alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics* 25, 1754–1760.
86. Lorang, J.M., Sweat, T.A., and Wolpert, T.J. (2007). Plant Disease Susceptibility Conferred by a “Resistance” Gene. *PNAS* 104, 14861–14866.
87. Lorberth, R., Ritte, G., Willmitzer, L., and Kossmann, J. (1998). Inhibition of a Starch-Granule-Bound Protein Leads to Modified Starch and Repression of Cold Sweetening. *Nature Biotechnology* 16, 473–477.
- 765 88. Love, S.L. (1994). Ecological Risk of Growing Transgenic Potatoes in the United States and Canada. *Idaho Agricultural Experiment Station* 647–658.
89. Madden, L.V., Hughes, G., and van den Bosch, F. (2007). Temporal Analysis I:

- Quantifying and Comparing Epidemics. In *The Study of Plant Disease Epidemics*, Madden, L.V., Hughes, G., and van den Bosch, F., eds. (American Phytopathological Society (APS Press)), 63–116.
- 770 90. Malcolmson, J.F., and Black, W. (1966). New R Genes in *Solanum Demissum* Lindl. and Their Complementary Races of *Phytophthora Infestans* (Mont.) de Bary. *Euphytica* *15*, 199–203.
- 775 91. Marone, D., Russo, M.A., Laidò, G., De Leonardis, A.M., and Mastrangelo, A.M. (2013). Plant Nucleotide Binding Site–Leucine-Rich Repeat (NBS-LRR) Genes: Active Guardians in Host Defense Responses. *International Journal of Molecular Sciences* *14*, 7302–7326.
- 780 92. Masclaux-Daubresse, C., Reisdorf-Cren, M., Pageau, K., Lelandais, M., Grandjean, O., Kronenberger, J., Valadier, M.-H., Feraud, M., Jouglet, T., and Suzuki, A. (2006). Glutamine Synthetase-Glutamate Synthase Pathway and Glutamate Dehydrogenase Play Distinct Roles in the Sink-Source Nitrogen Cycle in Tobacco. *Plant Physiology* *140*, 444–456.
- 785 93. McHale, L., Tan, X., Koehl, P., and Michelmore, R.W. (2006). Plant NBS-LRR Proteins: Adaptable Guards. *Genome Biology* *7*, 1–11.
- 790 94. Moffett, P., Farnham, G., Peart, J., and Baulcombe, D.C. (2002). Interaction between Domains of a Plant NBS-LRR Protein in Disease Resistance-Related Cell Death. *The EMBO Journal* *21*, 4511–4519.
95. Monosi, B., Wisser, R.J., Pennill, L., and Hulbert, S.H. (2004). Full-Genome Analysis of Resistance Gene Homologues in Rice. *Theoretical and Applied Genetics* *109*, 1434–1447.
96. Mucyn, T.S., Clemente, A., Andriotis, V.M.E., Balmuth, A.L., Oldroyd, G.E.D., Staskawicz, B.J., and Rathjen, J.P. (2006). The Tomato NBARC-LRR Protein Prf Interacts with Pto Kinase in Vivo to Regulate Specific Plant Immunity. *The Plant Cell* *18*, 2792–2806.
- 795 97. Mueller, L.A., Tanskley, S.D., Giovannoni, J.J., van Eck, J., Stack, S., Choi, D., Kim, B.D., Chen, M., Cheng, Z., Li, C., et al. (2005). The Tomato Sequencing Project, the First Cornerstone of the International Solanaceae Project (SOL). *Comparative and Functional Genomics* *6*, 153–158.
- 800 98. Nagy, E.D., and Bennetzen, J.L. (2008). Pathogen Corruption and Site-Directed Recombination at a Plant Disease Resistance Gene Cluster. *Genome Research* *18*, 1918–1923.
99. Nakata, P.A., Anderson, J.M., and Okita, T.W. (1994). Structure and Expression of the Potato ADP-Glucose Pyrophosphorylase Small Subunit. *The Journal of Biological Chemistry* *269*, 30798–30807.
- 805 100. NDSU (2017). North Dakota State University. Dakota Trailblazer. North Dakota State University Plant Sciences.
<https://www.ag.ndsu.edu/plantsciences/research/releases/potato/dakota-trailblazer>.
- 810 101. NIH (2012). National Institutes of Health. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Acrylamide in F344/N Rats and B6C3F1 Mice. National Toxicology Program. *12-5917*, 1–234.
102. Nimchuk, Z., Eulgem, T., Holt III, B.F., and Dangl, J.L. (2003). Recognition and Response in the Plant Immune System. *Annual Review of Genetics* *37*, 579–609.
- 815 103. Novy, R.G., Love, S.L., Corsini, D.L., Pavek, J.J., Whitworth, J.L., Mosley, A.R., James, S.R., Hane, D.C., Shock, C.C., Rykbost, K.A., et al. (2006). Defender: A High-Yielding, Processing Potato Cultivar with Foliar and Tuber Resistance to Late Blight. *American Journal of Potato Research* *83*, 9–19.

104. Novy, R.G., Whitworth, J.L., Stark, J.C., Charlton, B.A., Yilma, S., Knowles, N.R., Pavek, M.J., Brandt, T.L., Gupta, S., Olsen, N., et al. (2012). Palisade Russet : A Late Blight Resistant Potato Cultivar Having a Low Incidence of Sugar Ends and High Specific Gravity. *American Journal of Potato Research* 89, 89–101.
- 820
105. Novy, R.G., Whitworth, J.L., Stark, J.C., Schneider, B.L., Knowles, N.R., Pavek, M.J., Knowles, L.O., Charlton, B.A., Sathuvalli, V., Yilma, S., et al. (2017). Payette Russet : A Dual-Purpose Potato Cultivar with Cold-Sweetening Resistance , Low Acrylamide Formation , and Resistance to Late Blight and Potato Virus Y. *American Journal of Potato Research* 94, 38–53.
- 825
106. NPC (2018). National Potato Council. 2018 Potato Statistical Yearbook. *Potato Statistical Yearbook* 29, 4471–4480.
107. O'Brien, J., and Morrissey, P.A.A. (1989). Nutritional and Toxicological Aspects of the Maillard Browning Reaction in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 28, 211–248.
- 830
108. OECD (1997). Consensus Document on the Biology of *Solanum Tuberosum* Subsp. *Tuberosum* (Potato). Organization for Economic Co-Operation and Development. <http://www.oecd.org/science/biotrack/46815598.pdf>.
109. OECD (2002). Organization for Economic Co-Operation and Development. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Potatoes: Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Toxicants. <https://www.oecd.org/science/biotrack/46815167.pdf>.
- 835
110. PAA (2017a). Ranger Russet (*Solanum Tuberosum*). The Potato Association of America. <http://www.potatoassociation.org/industry/varieties/russet-potato-varieties/ranger-russet-solanum-tuberosum/>.
- 840
111. PAA (2017b). Kennebec (*Solanum Tuberosum*). The Potato Association of America. <http://potatoassociation.org/industry/varieties/white-varieties/kennebec-solanum-tuberosum>.
112. Panstruga, R., Parker, J.E., and Schulze-Lefert, P. (2009). SnapShot: Plant Immune Response Pathways. *Cell* 136.
- 845
113. Park, T., Gros, J., Sikkema, A., Vleeshouwers, V.G.A.A., Muskens, M., Allefs, S., Jacobsen, E., Visser, R.G.F., and Vossen, E.A.G. Van Der (2005). The Late Blight Resistance Locus Rpi-Blb3 from *Solanum Bulbocastanum* Belongs to a Major Late Blight R Gene Cluster on Chromosome 4 of Potato. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18, 722–729.
- 850
114. Parrott, W., Chassy, B., Ligon, J., Meyer, L., Petrick, J., Zhou, J., Herman, R., Delaney, B., and Levine, M. (2010). Application of Food and Feed Safety Assessment Principles to Evaluate Transgenic Approaches to Gene Modulation in Crops. *Food and Chemical Toxicology* 48, 1773–1790.
- 855
115. Pavek, J.J., Corsini, D.L., Love, S.L., Hane, D.C., Holm, D.G., Iritani, W.M., James, S.R., Martin, M.W., Mosley, A.R., Ojala, J.C., et al. (1992). Ranger Russet: A Long Russet Potato Variety for Processing and Fresh Market with Improved Quality, Disease Resistance, and Yield. *American Potato Journal* 69, 483–488.
116. Pel, M.A. (2010). Mapping, Isolation and Characterization of Genes Responsible for Late Blight Resistance in Potato. Wageningen University.
- 860
117. Pel, M.A., Foster, S.J., Park, T.-H., Rietman, H., van Arkel, G., Jones, J.D.G., Van Eck, H.J., Jacobsen, E., Visser, R.G.F., and Van der Vossen, E.A.G. (2009). Mapping and Cloning of Late Blight Resistance Genes from *Solanum Venturii* Using an Interspecific Candidate Gene Approach. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22, 601–615.
- 865

118. Petrick, J.S., Brower-Toland, B., Jackson, A.L., and Kier, L.D. (2013). Safety Assessment of Food and Feed from Biotechnology-Derived Crops Employing RNA-Mediated Gene Regulation to Achieve Desired Traits: A Scientific Review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* *66*, 167–176.
- 870 119. Reddick, D. (1940). Problems in Breeding for Disease Resistance. *Chronica Botanica* *6*, 73–77.
120. Richael, C.M., Kalyaeva, M., Chretien, R.C., Yan, H., Adimulam, S., Stivison, A., Weeks, J.T., and Rommens, C.M. (2008). Cytokinin Vectors Mediate Marker-Free and Backbone-Free Plant Transformation. *Transgenic Research* *17*, 905–917.
- 875 121. Rietman, H., Bijsterbosch, G., Cano, L.M., Lee, H.-R., Vossen, J.H., Jacobsen, E., Visser, R.G.F., Kamoun, S., and Vleeshouwers, V.G. a a (2012). Qualitative and Quantitative Late Blight Resistance in the Potato Cultivar Sarpo Mira Is Determined by the Perception of Five Distinct RXLR Effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions* *25*, 910–919.
- 880 122. Ritte, G., Heydenreich, M., Mahlow, S., Haebel, S., Kötting, O., and Steup, M. (2006). Phosphorylation of C6- and C3-Positions of Glucosyl Residues in Starch Is Catalysed by Distinct Dikinases. *FEBS Letters* *580*, 4872–4876.
123. Rommens, C.M., Ye, J., Richael, C., and Swords, K. (2006). Improving Potato Storage and Processing Characteristics through All-Native DNA Transformation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* *54*, 9882–9887.
- 885 124. Rout, G.R., Das, P., Goel, S., and Raina, S.N. (1998). Determination of Genetic Stability of Micropropagated Plants of Ginger Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* *39*, 23–27.
- 890 125. Sedlák, P., Vejl, P., Melounová, M., Křenek, P., Domkářová, J., and Zoufalá, J. (2005). Characterisation of Resistance Genes Resources against Late Blight Available for Czech Potato Breeding by Means of Selected DNA Markers. *Plant, Soil and Environment* *51*, 82–86.
126. Śliwka, J., and Zimnoch-guzowska, E. (2013). Resistance to Late Blight in Potato. In *Translational Genomic for Crop Breeding*, Varshney, R.K., and Tuberosa, R., eds. (Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons),
- 895 127. Śliwka, J., Świątek, M., Tomczyńska, I., Stefańczyk, E., Chmielarz, M., and Zimnoch-Guzowska, E. (2013). Influence of Genetic Background and Plant Age on Expression of the Potato Late Blight Resistance Gene *Rpi-Phu1* during Incompatible Interactions with *Phytophthora Infestans*. *Plant Pathology* *62*, 1072–1080.
- 900 128. Smigocki, A.C., and Owens, L.D. (1988). Cytokinin Gene Fused with a Strong Promoter Enhances Shoot Organogenesis and Zeatin Levels in Transformed Plant Cells. *PNAS* *85*, 5131–5135.
- 905 129. Smith, D.B., Roddick, J.G., and Jones, J.L. (1996). Potato Glycoalkaloids: Some Unanswered Questions. *Trends in Food Science & Technology* *7*, 126–131.
130. Song, W., Wang, B., Li, X., Wei, J., Chen, L., Zhang, D., Zhang, W., and Li, R. (2015). Identification of Immune Related LRR-Containing Genes in Maize (*Zea Mays* L.) by Genome-Wide Sequence Analysis. *International Journal of Genomics* *2015*, 1–11.
- 910 131. Spoel, S.H., and Dong, X. (2012). How Do Plants Achieve Immunity? Defence without Specialized Immune Cells. *Nature Reviews. Immunology* *12*, 89–100.
132. Spooner, D.M., Ghislain, M., Simon, R., Jansky, S.H., and Gavrilenko, T. (2014). Systematics, Diversity, Genetics, and Evolution of Wild and Cultivated Potatoes.

- 915 The Botanical Review 80, 283–383.
133. Stadler, R.H. (2005). Acrylamide Formation in Different Foods and Potential Strategies for Reduction. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 561, 157–169.
- 920 134. Stefanczyk, E., Sobkowiak, S., Brylinska, M., and Sliwka, J. (2017). Expression of the Potato Late Blight Resistance Gene Rpi-Phu1 and Phytophthora Infestans Effectors in the Compatible and Incompatible Interactions in Potato. *Phytopathology* 107, 740–748.
135. Stokes, T.L., Kunkel, B.N., and Richards, E.J. (2002). Epigenetic Variation in Arabidopsis Disease Resistance. *Genes & Development* 16, 171–182.
- 925 136. Tan, M.Y.A., Hutten, R.C.B., Celis, C., Park, T.-H., Niks, R.E., Visser, R.G.F., and van Eck, H.J. (2008). The Rpi-Mcd1 Locus from Solanum Microdontum Involved in Resistance to Phytophthora Infestans, Causing a Delay in Infection, Maps on Potato Chromosome 4 in a Cluster of NBS-LRR Genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21, 909–918.
- 930 137. The James Hutton Institute (2017). Disease and Resistance in Potato. Disease-Resistance. <http://www.hutton.ac.uk/research/groups/cell-and-molecular-sciences/potato-genetics/disease-resistance> 1–5.
138. Thipyapong, P., Hunt, M.D., and Steffens, J.C. (2004). Antisense Downregulation of Polyphenol Oxidase Results in Enhanced Disease Susceptibility. *Planta* 220, 105–117.
- 935 139. Thornton, M., Hopkins, B., and Stark, J. (2004). Influence of Soil Compaction and Tillage on Potato Production. *Idaho Potato Conference January*, 1–3.
140. Thygesen, P.W., Dry, I.B., and Robinson, S.P. (1995). Polyphenol Oxidase in Potato: A Multigene Family That Exhibits Differential Expression Patterns. *Plant Physiology* 109, 525–531.
- 940 141. Tuteja, J.H., Clough, S.J., Chan, W., and Vodkin, L.O. (2004). Tissue-Specific Gene Silencing Mediated by a Naturally Occurring Chalcone Synthase Gene Cluster in *Glycine Max*. *The Plant Cell* 16, 819–835.
142. Umaerus, V., Umaerus, M., Erjefalt, L., and Nilsson, B.A. (1983). Control of Phytophthora by Host Resistance: Problems and Progress. In *Phytophthora Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*, Erwin, D.C., Bartnicki-Garcia, S., and Tsao, P.H., eds. (The American Phytopathological Society), 315–326.
- 945 143. VanHaaren, M.J.J., Sedee, N.J.A., de Boer, H.A., Schilperoort, R.A., and Hooykaas, P.J.J. (1989). Mutational Analysis of the Conserved Domains of a T-Region Border Repeat of Agrobacterium Tumefaciens. *Plant Molecular Biology* 13, 523–531.
- 950 144. VanLunen, T.A., Anderson, D.M., St. Laurent, A.M., Nicholson, J.W.G., and Dean, P.R. (1989). The Feeding Value of Potato Steam Peel for Growing-Finishing Pigs. *Canadian Journal of Animal Science* 69, 225–234.
- 955 145. Velasco, R., Zharkikh, A., Affourtit, J., Dhingra, A., Cestaro, A., Kalyanaraman, A., Fontana, P., Bhatnagar, S.K., Troglio, M., Pruss, D., et al. (2010). The Genome of the Domesticated Apple (*Malus × Domestica* Borkh.). *Nature Genetics* 42, 833–839.
146. VIB (2017). A Late Blight Resistant Potato for Europe.
- 960 147. Visser, R.G.F., Stolte, A., and Jacobsen, E. (1991). Expression of a Chimaeric Granule-Bound Starch Synthase-GUS Gene in Transgenic Potato Plants. *Plant Molecular Biology* 17, 691–699.
148. Vivanti, V., Finotti, E., and Friedman, M. (2006). Level of Acrylamide Precursors

- Asparagine, Fructose, Glucose, and Sucrose in Potatoes Sold at Retail in Italy and
965 in the United States. *Journal of Food Science* 71, C81–C85.
149. Vleeshouwers, V.G., A, A., Raffaele, S., Vossen, J.H., Champouret, N., Oliva, R.,
Segretin, M.E., Rietman, H., Cano, L.M., Lokossou, A., et al. (2011).
Understanding and Exploiting Late Blight Resistance in the Age of Effectors.
Annual Review of Phytopathology 49, 507–531.
- 970 150. Vossen, J.H., van Arkel, G., Bergervoet, M., Jo, K.-R., Jacobsen, E., Visser,
R.G.F.F., Arkel, G. Van, Bergervoet, M., Ryong, K., Jacobsen, E., et al. (2016).
The Solanum Demissum R8 Late Blight Resistance Gene Is an Sw-5 Homologue
That Has Been Deployed Worldwide in Late Blight Resistant Varieties.
Theoretical and Applied Genetics 129, 1785.
- 975 151. Walton, J.D. (1996). Host-Selective Toxins: Agents of Compatibility. The Plant
Cell 8, 1723–1733.
152. Wang, F., Vandepoele, K., and Van Lijsebettens, M. (2012). Tetraspanin Genes in
Plants. Plant Science 190, 9–15.
153. Wei, C., Chen, J., and Kuang, H. (2016). Dramatic Number Variation of *R* Genes
980 in Solanaceae Species Accounted for by a Few *R* Gene Subfamilies. PLoS ONE 11,
1–15.
154. Wijekoon, C.P., Peters, R.D., Al-Mughrabi, K.I., and Kawchuk, L.M. (2014). First
Report of Late Blight Caused by *Phytophthora Infestans* Clonal Lineage US-23 on
Tomato and Potato in Atlantic Canada. Plant Disease 98, 426.
- 985 155. Xu, C., Jiao, C., Sun, H., Cai, X., Wang, X., Ge, C., Zheng, Y., Liu, W., Sun, X., Xu,
Y., et al. (2017). Draft Genome of Spinach and Transcriptome Diversity of 120
Spinacia Accessions. Nature Communications 8, 15275.
156. Yan, H., Chretien, R., Ye, J., and Rommens, C.M. (2006). New Construct
Approaches for Efficient Gene Silencing in Plants. Plant Physiology 141, 1508–
990 1518.
157. Yang, L., Wang, C., Holst-Jensen, A., Morisset, D., Lin, Y., and Zhang, D. (2013).
Characterization of GM Events by Insert Knowledge Adapted Re-Sequencing
Approaches. Scientific Reports 3, 2839.
- 995 158. Zhu, X., Richael, C., Chamberlain, P., Busse, J.S., Bussan, A.J., Jiang, J., and
Bethke, P.C. (2014). Vacuolar Invertase Gene Silencing in Potato (*Solanum
Tuberosum* L.) Improves Processing Quality by Decreasing the Frequency of
Sugar-End Defects. PLoS ONE 9, e93381.