

組換え DNA 技術応用飼料の安全性確認 (案)

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-000Z6-5

令和 3 年 3 月 17 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.....	4
	(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.....	4
	(2) 遺伝的先祖に関する事項.....	4
	(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.....	9
	(3) 構造に関する事項.....	9
	(4) 性質に関する事項.....	10
35	(5) 純度に関する事項.....	11
	(6) コピー数に関する事項.....	11
	(7) 安定性に関する事項.....	11
	(8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項.....	11
	(9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項.....	12
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.....	12
	6 組換え体に関する事項.....	12
	(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.....	12
	(2) 遺伝子産物の毒性に関する事項.....	12
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.....	13
	(4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項.....	13
	(5) 宿主との差異に関する事項.....	13
	(6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項.....	14
	(7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項.....	14
50	(8) 不活化法に関する事項.....	14
	(9) 外国における認可等に関する事項.....	14
	(10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項.....	14
	(11) 種子の製法及び管理方法に関する事項.....	14
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.....	14
	IV 審議結果.....	14
	V 参考文献及び参考資料.....	15

「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-000Z6-5」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-000Z6-5（以下「ジャガイモ SPS-000Z6-5」という。）について、
令和 2 年 7 月 16 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-000Z6-5

性 質：ジャガイモ疫病抵抗性、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

70

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-000Z6-5 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。加えて、
食品として高温加熱加工する過程で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
成酵素遺伝子断片、還元糖の合成に関わる水ジキナーゼ遺伝子断片、ホスホリラーゼ-L
遺伝子断片及び液胞インベルターゼ遺伝子断片が導入されている。さらに、ジャガイモ
80 が物理的衝撃を受けたときに形成される黒斑を低減するため、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断片が導入されている。

80

III 審議内容

1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

85

(1) 遺伝的素材に関する事項

ジャガイモ SPS-000Z6-5 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 Snowden である。

ジャガイモ SPS-000Z6-5 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。

90

加えて、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*) 遺伝子断片、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子プロモーター領域断片、ホスホ
リラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子プロモーター領域断片及び液胞インベルターゼ
(*VInv*) 遺伝子断片が導入されており、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。

95

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*) 遺伝子断片が導入されており、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。

100 (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。

105 (3) 飼料の構成成分等に関する事項

ジャガイモ SPS-000Z6-5 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

110 宿主の Snowden では通常の貯蔵期間が 8℃で 8 か月のところ、ジャガイモ SPS-000Z6-5 では、還元糖を低減する形質のため 9 か月に延ばすことができる。この点を除けば、ジャガイモ SPS-000Z6-5 は非組換えジャガイモと差異はなく、収穫時期（成熟程度）、家畜等の摂取（可食）部位、家畜等の摂取量、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。

115 (1) ～ (4) により、ジャガイモ SPS-000Z6-5 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

120 ジャガイモ SPS-000Z6-5 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。

125 さらに、ジャガイモは物理的衝撃を受けた際にジャガイモ内部でフェノール類の酸化重合が進むことにより品質の低下につながる黒斑が形成されるが、フェノール類の酸化を抑制することにより、黒斑形成を低減し、品質低下の防止が期待される。

130 なお、ジャガイモ SPS-000Z6-5 は、米国の特定の圃場で栽培され、特定の工場でポテトチップス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。

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

135 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 Snowden である。

(2) 遺伝的先祖に関する事項

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)。

140

(3) 有害生理活性物質の生産に関する事項

145

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)。また、プロテアーゼインヒビター及びレクチンも含まれ、プロテアーゼインヒビターはたん白質分解酵素阻害物質であり、摂取したたん白質の消化を阻害する。レクチンは炭水化物含有化合物に結合するたん白質で、血液凝集の原因となる赤血球凝集素として作用することが知られている。プロテアーゼインヒビター及びレクチンは加熱により失活するため (OECD, 2001、OECD, 2012)、実際に摂取される量はごくわずかであると考えられる。

150

(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報告はない (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、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

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

180 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-000Z6-5 の作出に使用された導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の外側骨格領域は、プラスミド pVS1、pBR322 等に基づき作成された。

(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。

(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-000Z6-5 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。

(4) 伝達性に関する事項

205 プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の外側骨格領域には、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 (*AsnI*) 遺伝子断片及びポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子断片を含むカセット並びに水ジキナーゼ (*RI*) 遺伝子プロモーター領域断片及びホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子プロモーター領域断片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 (*VInv*) 遺伝子断片及びジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 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 Snowden に導入している。

5 挿入遺伝子に関する事項

225 (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

以下の表に、導入された遺伝子の名称及びその由来を示す。

表1 pSIM1278 の T-DNA 領域

構成要素	由来	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		
pAgp	ジャガイモ栽培種	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 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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する。
Ppo5 遺伝子断片	ジャガイモ野生種	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する。
Spacer-1	ジャガイモゲノムの非構造領域	ヘアピンループ構造形成のための配列
Ppo5 遺伝子断片	ジャガイモ野生種	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する。
Asn1 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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
pGbss	ジャガイモ栽培種	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		
pAgp	ジャガイモ栽培種	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 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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する。
R1 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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する。

構成要素	由来	機能
Spacer-2	ジャガイモのポリユビキチン遺伝子のイントロン	ヘアピンループ構造形成のための配列
<i>R1</i> 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	水ジキナーゼ <i>R1</i> 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する。
<i>PhL</i> 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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する。
<i>pGbss</i>	ジャガイモ栽培種	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

230

表 2 pSIM1678 の T-DNA 領域

構成 DNA	由来	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		
<i>pVnt1</i>	ジャガイモ野生種	<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	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>Phytophthora infestans</i> に対する抵抗性を付与する。
<i>tVnt1</i>	ジャガイモ野生種	<i>Rpi-vnt1</i> 遺伝子のターミネーター領域
第 2 カセット		
<i>pAgp</i>	ジャガイモ栽培種	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
<i>VInv</i> 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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する。
Spacer	ジャガイモ	液胞インベルターゼ遺伝子配列の一部を含むヘアピンループ構造形成のための配列
<i>VInv</i> 遺伝子断片	ジャガイモ栽培種	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する。
<i>pGbss</i>	ジャガイモ栽培種	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

② 安全性に関する事項

ジャガイモ野生種は、塊茎が小さい (Hawkes and Hjerting, 1960、Correll, 1962) ため、食用として利用されていない。しかし、ジャガイモ疫病抵抗性遺伝子 (*Rpi-vnt1*) 及びポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子断片は、ジャガイモ野生種由来であり、ジャガイモ野生種は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*) 遺伝子断片、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*) 遺伝子断片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。

(2) 遺伝子の挿入方法に関する事項

宿主への導入は、導入用プラスミド pSIM1278 を用いてアグロバクテリウム法により行った。形質転換後、抗生物質であるチメンチンを含む培地に移しアグロバクテリウムを除去した。次に再生培地で育成し、外側骨格領域にある *ipt* 遺伝子由来の表現型を示す発育不全な幼植物体を除去した。その後、複数回の PCR 分析により T-DNA 領域が挿入された個体を選抜し、その茎頂を再度チメンチン含有培地で発根させ、アグロバクテリウムを除去するための選抜を継続して行った。

上記で選抜した個体からシュートを切り出し、再度生育させた後、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*) 遺伝子が均一に発現抑制されている個体を選抜した。選抜した個体について、pSIM1278 の外側骨格領域がないこと及び T-DNA 領域の挿入数を確認するためサザンブロット分析を行った。確認された個体の中から、ほ場での能力評価の結果に基づき中間体を選抜した。

この中間体に、導入用プラスミド pSIM1678 を用いてアグロバクテリウム法により形質転換を行った。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 の外側骨格領域がないこと及び T-DNA 領域の挿入数を確認するためサザンブロット分析を行った。確認された個体の中から、ほ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-000Z6-5 を選抜した。

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り、ジャガイモ SPS-000Z6-5 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して増殖させる。

(3) 構造に関する事項

① プロモーターに関する事項

ジャガイモ SPS-000Z6-5 に導入されたアスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子、還元糖の合成に関わる水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子、ホスホリラーゼ-L (*PhL*)

275 遺伝子、液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子及びポリフェノール酸化酵素
(*Ppo5*) 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 (*Agp*) 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
280 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。

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
285 *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。

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
290 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

以下に各遺伝子の機能を示す。

295 ・アスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 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いてグルタミンからアス
パラギン酸 (塩) へアミノ基を転移し、アスパラギンへ変換させる反応を触媒
する酵素である。ジャガイモ SPS-000Z6-5 の塊茎において、アスパラギン合成
300 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。

・水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子及び液胞インベ
ルターゼ (*VInv*) 遺伝子の機能

305 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 (*VInv*) 遺伝子によるジーンサイレ
ンシングの誘導に加え、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子及びホスホリラーゼ-L

(*PhL*) 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
310 糖の生成が低減する。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
生成することから、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。

・ポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子の機能

315 ポリフェノール酸化酵素は、打撲等の傷害を受けた際に細胞内の化合物を酸化

して *o*-キノンを産生する。この *o*-キノンがポリマー化することで黒色メラニン色素を形成し、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、打撲黒斑の発生を低減することができる。

320

・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)。325 *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 (*P. 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)。

325

330

(5) 純度に関する事項

導入用プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 の T-DNA 領域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

335

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、挿入遺伝子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、4 世代のジャガイモ SPS-000Z6-5 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、挿入遺伝子が安定して引き継がれていることが確認された。

340

(7) コピー数に関する事項

次世代及びサンガーシーケンス解析を用いて確認した結果、ジャガイモ SPS-000Z6-5 には、プラスミド pSIM1278 及び pSIM1678 由来の T-DNA 領域がそれぞれ 1 か所に 1 コピーずつ導入されていることが確認された。また、導入用プラスミド由来の外側骨格領域が存在しないことが確認された。さらに、遺伝子の挿入による内在性遺伝子の破壊がないことも確認された。

345

(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-000Z6-5 の各部位における、アスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子、液胞インベルダーゼ (*VInv*) 遺伝子及びポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 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、塊茎中においてこれらの遺伝子の発現が抑制されていることが確認された。その他葉、茎、根、及び花においては遺伝子の発現は抑制されていなかった。

355

また、ジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子により発現する VNT1 たん白

360 質を測定するため、塊茎及び葉を用いてウェスタンブロット分析を行った。その結果、いずれも発現量は定量限界値未満であった。ただし、定量 Reverse Transcription PCR (RT-qPCR) 法を用いて SPS-000Z6-5 の葉、茎、根、花及び塊茎におけるジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子の転写量を測定したところ、遺伝子の発現が確認された。

(9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

365 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* 遺伝子が外側骨格領域に存在しているが、シーケンス解析によりジャガイモ SPS-000Z6-5 中に *Kan^R* 遺伝子が導入されていないことを確認した。

(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

370 ジャガイモ SPS-000Z6-5 の挿入遺伝子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 及び pSIM1678 由来の T-DNA 領域及び、T-DNA 領域と近傍領域との接合部では 220 個の ORF が検出された。これらの ORF について、NCBI データベースを用いて
375 BLAST 検索を行ったところ、既知の毒性たん白質との相同性は認められなかった。

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

380 ジャガイモ SPS-000Z6-5 では、導入された疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 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 (*Asn1*) 遺伝子断片、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子のプロモーター領域断片、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子のプロモーター領域断片、液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子断片及びポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子断片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
385 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-000Z6-5 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。

390 (2) 遺伝子産物の毒性に関する事項

ジャガイモ SPS-000Z6-5 には、アスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子断片、水ジキナーゼ (*R1*) 遺伝子のプロモーター領域断片、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子のプロモーター領域断片、液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子断片及びポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子断片が導入されているが、これらは dsRNA を発現させるのみで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
395 にくい。

また、ジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子により発現する 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、NCBI データベースを用いて BLAST 検索を行った。その結果、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。

(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

ジャガイモ疫病抵抗性 (*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。ジャガイモ SPS-000Z6-5 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-000Z6-5 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、ジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 遺伝子の供与体及びこれまでの摂取経験並びに VNT1 たん白質と高い相同性を示す他のたん白質の摂取経験及び既知の毒性物質と相同性を示さないこと等を総合的に判断し、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

ジャガイモ SPS-000Z6-5 では、導入したアスパラギン合成酵素 (*Asn1*) 遺伝子断片により、アスパラギンが減少しグルタミンが増加している。加えて、水ジキナーゼ (*RI*) 遺伝子のプロモーター領域断片、ホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子のプロモーター領域断片及び液胞インベルターゼ (*VInv*) 遺伝子断片により、デンプン分解の抑制及びショ糖からブドウ糖及び果糖への加水分解が抑制され、還元糖が低減している。さらに、ポリフェノール酸化酵素 (*Ppo5*) 遺伝子断片により、ポリフェノール酸化酵素の発現が抑制されている。

上述した目的以外の代謝経路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。その結果、水ジキナーゼ遺伝子 (*RI*) 断片及びホスホリラーゼ-L (*PhL*) 遺伝子断片から生じる 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の相同性領域を持っていたが、これらはテトラスパニン-10 遺伝子の 2 つのスプライス変異体であった。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-000Z6-5 の形態に異常は認められなかった。

また、ジャガイモ疫病抵抗性 (*Rpi-vnt1*) 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、これ以外の機能は知られていない。

(5) 宿主との差異に関する事項

米国のは場において栽培されたジャガイモ SPS-000Z6-5 と、宿主品種の Snowden の塊茎部を用いて、主要構成成分、ビタミン及びミネラル、アミノ酸、有害生理活性物質の分析を行った。その結果、SPS-000Z6-5 と Snowden との間に統計学的有意差が認められたものもあったが、いずれも従来品種の許容区間内であった。有害生理活性物質であるグリコアルカロイドについては、Snowden より SPS-000Z6-5 が低い結果となった。

- 440 (6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項
2018 年に、ジャガイモ SPS-000Z6-5 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。
- 445 (7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項
ジャガイモ SPS-000Z6-5 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。
- 450 (8) 不活化法に関する事項
ジャガイモ SPS-000Z6-5 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

表 3 諸外国における認可状況*

申請国	飼料	食品	環境
米国	FDA 申請中 (2019 年 4 月)	FDA 申請中 (2019 年 4 月)	USDA 承認 (2020 年 8 月) EPA 承認 (2020 年 1 月)
カナダ	CFIA 承認 (2020 年 10 月)	HC 承認 (2020 年 9 月)	CFIA 承認 (2020 年 10 月)
オーストラリ ア・ニュージ ーランド	—	FSANZ 承認 (2020 年 12 月)	—

455 *2021 年 1 月 26 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。
- 460 (11) 種子の製法及び管理方法に関する事項
種いもの増殖法及び管理方法は、従来のジャガイモと同様である。
- 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
- 465 該当しない。

IV 審議結果

ジャガイモ SPS-000Z6-5 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續」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

V 参考文献及び参考資料

参考資料（申請者提出 社外秘）

1. Sequence of pSIM1278. 16-42-SPS-SEQ-01 pSIM1278-A.
2. Sequence of pSIM1678. 16-43-SPS-SEQ-01 pSIM1678-A.
3. Efficacy of Reduced Polyphenol Oxidase Activity in Z6 Tubers. 18-20-SPS-MOL-A.
4. Allergen and Toxin Evaluation of Open Reading Frames in Z6: Stop-to-Stop. 19-26-SPS-MOL.
5. 2016 Field Efficacy of Potato Events Z6 against *Phytophthora infestans* (Late Blight). 19-42-SPS-ENV.
6. Sequence Characterization of the Inserts in Z6. 19-14-SPS-MOL-01.
7. Expression of RNAi-targeted Transcripts in Z6. 19-21-SPS-MOL.
8. VNT1 Protein and *Rpi-vnt1* Gene Expression in Z6. 19-07-SPS-MOL.
9. Stability of Inserts in Vegetatively Propagated Z6. 19-8-SPS-MOL.
10. Analysis of pSIM1278 siRNA Targets and Specificity in Potato. 16-73-SPS-MOL-02.
11. Analysis of pSIM1678 siRNA Targets and Specificity in Potato. 16-74-SPS-MOL-01.
12. Compositional Assessment of Z6 Compared to Snowden. 19-15-SPS-COMP-RPT.
13. VNT1 Protein Expression in Alouette. 19-36-SPS-MOL

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. 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.
4. 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
5. 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
6. 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

7. 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_fu1l.pdf
8. 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>
9. 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
10. 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
11. 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
12. Agrico UK (2017). Carolus.
<http://www.agrico.co.uk/products/varieties/documents/carolusfactsheet.pdf>.
13. AHDB (2017). Alouette. Agriculture and Horticulture Development Board. Potato Variety Database. <http://varieties.ahdb.org.uk/varieties/view/alouette>.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. Balbás, P., Soberón, X., Merino, E., Zurita, M., Lomeli, H., Valle, F., Flores, N., and Bolivar, F. (1986). Plasmid Vector PBR322 and Its Special-Purpose Derivatives — a Review. *Gene* *50*, 3–40.
 20. 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.
 21. Behbahani, I., Miller, S., and Okeeffe, D. (1993). A Comparison of Mushroom Tyrosinase Dopaquinone and Dopachrome Assays Using Diode-Array Spectrophotometry: Dopachrome Formation vs Ascorbate-Linked Dopaquinone. *Microchemical Journal* *47*, 251–260.
 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.
 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.
 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.
 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.
 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.
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.
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.
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.
35. DellaVedova, 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.
36. Dodds, P.N., and Rathjen, J.P. (2010). Plant Immunity: Towards an Integrated View of Plant–Pathogen Interactions. *Nature Reviews Genetics* *11*, 539–548.
37. 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.

38. EFSA CONTAM Panel (2015). Scientific Opinion on Acrylamide in Food. EFSA Journal *13*, 1–321.
39. FAO/WHO (2001). Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology. http://www.who.int/fsf/gmfood/consultation_jan2001/report20.pdf 22-25 janu, 1–29.
40. 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.
41. 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.
42. FDA (2016). Guidance for Industry: Acrylamide in Foods. FDA Food Guidances 1–37.
43. Feys, B.J., and Parker, J.E. (2000). Interplay of Signaling Pathways in Plant Disease Resistance. Trends in Genetics : TIG *16*, 449–455.
44. 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.
45. Food Drink Europe (2019). Acrylamide Tollbox 2019. <https://www.fooddrinkeurope.eu/news/press-release/fooddrinkeurope-publishes-15th-edition-of-acrylamide-toolbox/>.
46. 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.
47. 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.

48. 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>.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. Hammond, S.M. (2005). Dicing and Slicing: The Core Machinery of the RNA Interference Pathway. *FEBS Letters* 579, 5822–5829.
55. 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.
56. 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.
57. 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 Costs of Late Blight in Potato and Prospects of Durable Resistance Through Cisgenic Modification. *Potato Research* 51, 47–57.

58. 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.
59. 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*. (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.
63. Health Canada (2012). Revised Exposure Assessment of Acrylamide in Food. Health Canada Bureau of Chemical Safety.
64. Heeb, S., Itoh, Y., Nishijyo, T., Schnider, U., Keel, C., Wade, J., Walsh, U., O’Gara, F., and Haas, D. (2000). Small, Stable Shuttle Vectors Based on the Minimal PVS1 Replicon for Use in Gram-Negative, Plant-Associated Bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13, 232–237.
65. Hirai, S., and Kodama, H. (2008). RNAi Vectors for Manipulation of Gene Expression in Higher Plants. *The Open Plant Science Journal* 2, 21–30.
66. Hopkins, B.G., Stark, J., Hafez, S.L., Hutchinson, P.J.S., Patterson, P., Miller, J., Thornton, M., and Alvarez, J. (2003). Field Selection, Crop Rotations, and Soil Management.
67. 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.
68. Hutten, R., van Berloo, R., and Finkers, R. (2013). Potato Pedigree Database. Wageningen University and Research Centre. <https://www.plantbreeding.wur.nl/potatopedigree/>.

69. 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 Pathogen *Phytophthora Infestans* in Canada and the United States. *American Journal of Potato Research* 91, 579–593.
70. ILSI (2019). International Life Sciences Institute Crop Composition Database, Version 7.0. <https://www.cropcomposition.org/query/index.html>. 10 January 2019.
71. ISAAA (2017). GM Approval Database (<http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/>).
72. 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.
73. Jansky, S., and Hamernik, A. (2009). The Introgression of 2X 1EBN *Solanum* Species into the Cultivated Potato Using *Solanum Verrucosum* as a Bridge. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56, 1107–1115.
74. JECFA (1992). Evaluation of Certain Food Additives and Naturally Occurring Toxicants. WHO Technical Report Series.
75. JECFA (2011). Evaluation of Certain Contaminants in Food. WHO Technical Report Series 1–105, back cover.
76. 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.
77. 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.
78. JRITA (2012). Encyclopedia of Potato. In Japan Root and Tuber Crops Development Association Inc. Foundation Encyclopedia of Potato, (Japan Root and Tuber Crops Development Association (JRITA)), 167–168.
79. 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.
80. 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.
81. 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.
82. 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.
83. 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.
84. 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.
85. 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.
86. Li, H., and Durbin, R. (2009). Fast and Accurate Short Read Alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics* *25*, 1754–1760.
87. Lorang, J.M., Sweat, T.A., and Wolpert, T.J. (2007). Plant Disease Susceptibility Conferred by a “Resistance” Gene. *PNAS* *104*, 14861–14866.
88. 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.

89. Love, S.L. (1994). Ecological Risk of Growing Transgenic Potatoes in the United States and Canada. Idaho Agricultural Experiment Station 647–658.
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. 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.
94. McHale, L., Tan, X., Koehl, P., and Michelmore, R.W. (2006). Plant NBS-LRR Proteins: Adaptable Guards. *Genome Biology* 7, 1–11.
95. 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.
96. 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.
97. 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.
98. 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.
99. 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.
 100. 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.
 101. 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>.
 102. 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.
 103. 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.
 104. 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.
 105. 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.
 106. 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.
 107. NPC (2019). National Potato Council. 2018 Potato Statistical Yearbook. *Potato Statistical Yearbook* *29*, 4471–4480.

108. 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.
109. 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>.
110. 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>.
111. PAA (2017a). Snowden (*Solanum Tuberosum*). The Potato Association of America. <http://www.potatoassociation.org/industry/varieties/russet-potato-varieties/Snowden-solanum-tuberosum/>.
112. PAA (2017b). Kennebec (*Solanum Tuberosum*). The Potato Association of America. <http://potatoassociation.org/industry/varieties/white-varieties/kennebec-solanum-tuberosum>.
113. Panstruga, R., Parker, J.E., and Schulze-Lefert, P. (2009). SnapShot: Plant Immune Response Pathways. *Cell* 136.
114. 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.
115. 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.
116. Pel, M.A. (2010). Mapping, Isolation and Characterization of Genes Responsible for Late Blight Resistance in Potato. Wageningen University.
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.

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.
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.
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 Sarpò Mira Is Determined by the Perception of Five Distinct RXLR Effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions* *25*, 910–919.
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.
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.
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),.

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.
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.
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.
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. *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.
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.
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.
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.
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.
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.
143. UNL (2014). Snowden: Management Profile. UNL Crop Watch 1–3.
144. 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.
145. 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.
146. Velasco, R., Zharkikh, A., Affourtit, J., Dhingra, A., Cestaro, A., Kalyanaraman,

- A., Fontana, P., Bhatnagar, S.K., Troggio, M., Pruss, D., et al. (2010). The Genome of the Domesticated Apple (*Malus × Domestica* Borkh.). *Nature Genetics* *42*, 833–839.
147. VIB (2017). A Late Blight Resistant Potato for Europe.
148. 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.
149. 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 in the United States. *Journal of Food Science* *71*, C81–C85.
150. 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.
151. 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.
152. Walton, J.D. (1996). Host-Selective Toxins: Agents of Compatibility. *The Plant Cell* *8*, 1723–1733.
153. Wang, F., Vandepoele, K., and Van Lijsebettens, M. (2012). Tetraspanin Genes in Plants. *Plant Science* *190*, 9–15.
154. Wei, C., Chen, J., and Kuang, H. (2016). Dramatic Number Variation of *R* Genes in Solanaceae Species Accounted for by a Few *R* Gene Subfamilies. *PLoS ONE* *11*, 1–15.
155. 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.
156. 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.

157. Yan, H., Chretien, R., Ye, J., and Rommens, C.M. (2006). New Construct Approaches for Efficient Gene Silencing in Plants. Plant Physiology 141, 1508–1518.
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.