

Potatisproteiner med högre denatureringstemperatur - en möjlighet via CRISPR/Cas9

FÖRFATTARE; EVA JOHANSSON SLU, MATHIAS SAMUELSSON, LYCKEBY STARCH AB OCH MARIETTE ANDERSSON, SLU

Vårt projekt (PA 1040) påvisade möjligheten att använda CRISPR/Cas9 för att skraddarsy aminosyrasammansättningen hos potatisproteiner med det långsiktiga målet att förändra dess denatureringstemperatur, vilket skulle öka möjligheterna att använda potatisprotein i nya livsmedelsprodukter. Det omtalade proteinskiftet innebär att konsumtionen av proteiner via köttprodukter minskar medan den från vegetabiliska alternativ ökar. Trenden kan tydligt ses i dagens livsmedelsbutiker där utbudet av vegetabiliska proteinlivsmedel ökat väsentligt under senare år. Förändringen drivs av en önskan att minska klimatpåverkan, av en önskan om en hälsosammare kosthållning samt av ökningen av olika typer av allergier och överkänslighetsreaktioner hos dagens befolkning. Proteiner hos potatis har en stor potential att bidra till proteinskiftet. Proteinskörden per ytenhet är hög hos potatis och proteinerna är både högnutritionella och lågallergena. För en hållbar utvinning av potatisproteinerna för livsmedelsanvändning skulle dock denatureringstemperaturen hos proteinerna behöva ändras och CRISPR/Cas9 är en möjlig metod för detta. Projektet PA1040 har bidragit till att lägga grunden för vårt nya Formasprojekt "Enhanced utilization of an industrial side stream for a circular biobased economy – food grading of superior nutritional protein" som startar 1 december 2018 och som kommer att möjliggöra att potatisprotein används i nya livsmedelsprodukter.

Hur bidrar odling av stärkelsepotatis till proteinskiftet?

Vid framställning av stärkelse, en industriell process som bl.a. genererar ca 2 miljoner ton potatisstärkelse i Europa per år, hamnar potatisproteinerna i en sidoström tillsammans med fibrer och fruktvattnet. Potatisproteiner har extraordinärt högt näringsvärde med en hög andel essentiella aminosyror. Dessa aminosyror kan kroppen inte själv producera utan de måste intas via vår föda. Av särskild vikt hos potatisproteinet är ett högt lysininnehåll, en aminosyra som förutom att vara essentiell, är svår att få i sig via vegetabilisk föda då den ofta saknas hos växtproteiner. Potatisprotein liknar proteiner från ägg vad gäller näringsvärdet. Men, möjligheten att utvinna proteinerna med högt utbyte och bibehållen kvalitet från sidoströmmen är svår. Proteinerna är nämligen väldigt känsliga för förhöjda temperaturer och börjar redan vid 45 °C att ändra form och funktion. Processen som idag används för att tillvarata proteinerna och rena dem från anrikade ohälsosamma ämnen, innefattar medelhöga temperaturer och lågt pH, vilket de inte tål. Om vi kan få proteinerna att tåla en processtemperatur på 50–55 °C



Biobaserad plast gjord av potatisprotein.
Bild: William R Newsons

kan de utvinnas med ett högre utbyte och med en ökad renhet och bibehållen funktionalitet.

Hur kan samma potatisprotein även ersätta plast från fossil olja i framtiden?

Proteinet har också intressanta egenskaper vad gäller deras förmåga att bilda nätverk och processas till material som skulle kunna ersätta olika typer av petroleum-baserade material i framtiden, som tex plaster och superabsorbenter. Nyligen har en tydlig koppling mellan behandling av proteiner vid processningen och deras funktionalitet för olika användningsområden kunnat visas. Skonsam processning eller tåligare



Bild 1. Plantor av en genomiterad potatislinjje. Målet med modifieringen är att få potatisknölarna att bilda ett mer processstabil protein utan att påverka det höga näringsvärde potatisknölsprotein har.



Bild 2. Mikroknölar (små potatisknölar framodlade i steril miljö) av genomiterade linjer. De små knölar kan användas för en första preliminär analys av proteinkomposition och kvalitet.

proteiner är därmed möjliga lösningar för att erhålla bra funktionalitet på proteiner efter extraktion av desamma, där detta projekt har fokuserat på den senaste lösningen.

Hur kan modern växtförädling användas för att göra proteiner stabilare?

CRISPR/Cas9, också benämnd som gensaxen, är en relativt ny växtförädlingsmetod där man kan tillföra riktade mutationer i grödor och därmed förändra en eller ett fåtal egenskaper i en sort. Denna teknik har framgångsrikt etablerats för potatis på Institutionen för Växtförädling, och använts för att stänga av specifika genfunktioner. I detta projekt har vi lyckats förfinna CRISPR/Cas9 metoden och skraddarsy mutationerna till att se ut på ett önskvärt sätt. Vi har haft som mål att byta ut ett fåtal aminosyror och på det sätt förändra potatisproteinets så att det får en högre denatureringstemperatur utan att påverka dess höga lysininnehåll. Majoriteten av det protein som finns hos potatisknölar

heter patatin, vilket regleras av en stor genfamilj. Generna är lika varandra och vi kunde hitta överstämmande regioner mellan dem. I en av dessa regioner identifierade vi tre aminosyror som vi ville byta ut, för att ge ett stabilare patatin. För att byta ut dessa tre aminosyror räckte det med tre skraddarsydda mutationer, men då genfamiljen är stor och potatis är tetraploid (innehåller fyra kopior av varje kromosom/gen), behövs eventuellt upp mot 30 genkopior muteras.

Resultat

Vi tog fram ett trettiotal nya potatisplantor där vi försökt ändra aminosyrasammansättningen med hjälp av CRISPR/Cas9. Av dessa kunde vi identifiera två potatislinjer som hade den önskade förändringen i en genkopia vardera. Det är första gången denna typ av skraddarsydda mutationer gjorts i potatis. Dock hade fler antal förändrade genkopior i samma planta varit önskvärt, då det inte är så troligt att enbart en förändrad genkopia påverkar proteinet i tillräckligt hög grad för att göra det märkbart mer stabilt.

Hur går vi vidare

Det påbörjade arbetet inom PA1040 kommer att vidareutvecklas som en del av ett tvärvetenskapligt Formas-finansierat projekt (Enhanced utilization of an industrial side stream for a circular biobased economy – food grading of superior nutritional protein) som startar 1 december 2018. Där kommer vi bl.a. jobba med att öka frekvensen genkopior med skraddarsydda förändringar och studera hur de i praktiken påverkar stabilitet och extraherbarhet av proteinerna.

Sammanfattning

Genom användning av gensaxen CRISPR/Cas9 har vi designat små enskilda mutationer i potatisens arvs massa för att förändra potatisknölens protein så att det erhåller en högre stabilitet. Med en bättre stabilitet skulle potatisproteiner med bibehållen hög kvalitet kunna utvinnas ur en sidoström från stärkelseproduktion, något som idag är svårt i de tuffa processförhållandena som råder. Det utvunna potatisprotein

skulle kunna livsmedelsklassas och användas i innovativa livsmedel samt bidra till en hållbar livsmedelsproduktion i det rådande proteinskiftet från animalisk till vegetabilisk kosthållning.

Kan vi skräddarsy framtidens livsmedel och bio-baserade material

Genom att kombinera de nya växtförädlingsmetoderna som tex CRISPR/Cas9 för att förbättra funktionaliteten hos potatisproteinerna med nya metoder för att kemiskt funktionalisera proteinerna samt med nya processmetoder, ger det helt nya möjligheter att skräddarsy produkter efter konsumenternas behov. Detta partnerskapsprojekt i kombination med andra projekt på institutionen kommer således att resul-

tera i helt nya och unika möjligheter att framställa framtidens svenskproducerade proteinlivsmedel och hållbara nya material för ett föränderligt klimat.

Referenser;

Capezza A, Newson W, Olsson R, Hedenqvist M, Johansson E (2019) Advances in the use of protein-based materials: towards sustainable naturally sourced absorbent materials. ACS Sust Chem Eng (accepted)
Newson WR, Prieto-Linde ML, Kuktaite R, Hedenqvist MS, Gällstedt M, Johansson E (2017) Effect of extraction routes on protein content, solubility and molecular weight distribution of Crambe abyssinica protein concentrates and thermally processed films thereof. Ind Crops Prod. 97:591-598.

Rasheed F, Hedenqvist MS, Kuktaite R, Plivelic TS, Gällstedt M, Johansson E (2015) Mild gluten separation – A non-destructive approach to fine tune structure and mechanical behaviour of wheat gluten films. Ind Crops Prod 73:90-98.

Newson WR, Rasheed F, Kuktaite R, Hedenqvist MS, Gällstedt M, Plivelic TS, Johansson E (2015) Commercial potato protein concentrate as a novel source for thermoformed bio-based plastic films with unusual polymerization and tensile properties. RSC Adv. 5:32217-32226.

Faktaruta

Potatis är världen tredje största matgröda och en ekonomiskt viktig gröda för växtodlaren och potatisindustrin. I Sverige är potatis bland de tio största grödorna och vi är till 90 procent självförsörjande på matpotatis. En stor andel potatis odlas även för stärkelseframställning. Stärkelse från potatis håller mycket hög kvalitet och används i hög grad både i livsmedelsprodukter och andra industriella produkter. En stor sidoströmsprodukt från framställning av potatisstärkelse är protein. En ökning av potatisproteinets tillvaratagande från sidoströmmen skulle bidra till ökad ekonomisk bärighet för potatisodlare och industri samt fler hållbara livsmedelsprodukter för konsumenterna.

- Detta faktablad är utarbetat vid Institutionen för Växtförädling, inom forskargrupperna Växtens Produktkvalitet samt Växtbioteknik.
- Projektet är samfinansierat av Lyckeby Starch AB och Partnerskap Alnarp.
- Projektansvariga har varit:
Professor Eva Johansson, SLU, Dr. Mariette Andersson, SLU och Mathis Samuelsson, Lyckeby Starch AB
eva.johansson@slu.se, mariette.andersson@slu.se, mathias.samuelsson@lyckeby.com
Medverkade vid framtagning av data gjorde också Waqas Khan Kayani waqas.khan.kayani@slu.se
- På webbadressen <http://epsilon.slu.se> kan detta faktablad hämtas elektroniskt