

## 自己評価報告書

平成23年 4月 15日現在

機関番号：15301  
研究種目：基盤研究（B）  
研究期間：2008～2011  
課題番号：20380022  
研究課題名（和文）DNAアレイと成熟不全変異体、形質転換体トマトを用いた果実成熟制御因子の解析  
研究課題名（英文）Analysis of Key Factor in Fruit Ripening using DNA Array, Ripening Impaired Mutant and Transgenic Tomato  
研究代表者  
久保 康隆（KUBO YASUTAKA）  
岡山大学・大学院自然科学研究科・教授  
研究者番号：80167387

研究分野：園芸利用学

科研費の分科・細目：農学 園芸学・造園学

キーワード：果実成熟、アレイ解析、形質転換、1-MCP、転写因子、トマト

## 1. 研究計画の概要

果実の成熟機構解明は、貯蔵・流通技術の開発・改善の鍵であるとともに、園芸生理研究の焦点の一つである。最近、トマトが果実のモデル作物として取り上げられ、国際協力の下にゲノム計画が進展しつつある。国内では筆者らも協力した変異体集団の作成やDNAアレイの整備、完全長cDNA収集、データベースの整備などが行われ、トマトにおいては多様な研究基盤が整ってきた。このような背景の下に、本研究は、①トマト果実成熟に関わる遺伝子を網羅的に解析し、その制御機構の全体像を把握すること、②成熟の引き金となる最初のエチレン生成を誘導する鍵因子を決定すること、③成熟進行における信号伝達系の系統整理と主要転写制御因子を決定することを目的とする先駆的試みである。本研究の特徴は、筆者らが独自に作出したエチレン不感受性形質転換体（エチレン信号伝達因子EIN3/EIL遺伝子をノックアウト）、変異体集団およびDNAアレイなどの新素材・技術を駆使して、多数の候補の中から成熟の鍵因子を検索し、形質転換技術を用いて決定することにある。

本研究の成果は、果実生理研究における新局面を開くとともに、実用面でも果実品質の向上、流通・貯蔵技術の改善、高品質・長寿命品種の育成に直接的に貢献できる。

## 2. 研究の進捗状況

1-MCP 処理した野生型トマトおよび成熟不全変異体トマトについてマクロアレイを用いて成熟関連遺伝子を網羅的に調査した。その結果、12284 個の遺伝子のうち成熟関連遺伝子として 428 個（全体の約 5%）が同定された。成熟に伴い発現が増加した遺伝子は 240 個、減少した遺伝子は 216 個あった。そのうち Turning 段階の 1-MCP 処理によって、発現レベルが MG 段階のレベルに戻るエチレン依存性遺伝子は、成熟に伴って発現が増加する遺伝子のうち 231 個（96%）、減少した遺伝子のうち 67 個（35%）、合計 298 個であった。

エチレン依存性成熟関連遺伝子のうち RIN 依存性の遺伝子は、213 個存在し 71% の割合を占めた。NOR 依存性の遺伝子は、264 個存在し 89% の割合を占めた。RIN と NOR 両方に非依存性を示した遺伝子は、僅か 16 個でエ

チレン応答性遺伝子の多くは、RIN, NORに依存していた。信号伝達経路においてNORはRINの上流に位置し、より多くの遺伝子を制御していると推測されており、今回の結果はその見解に一致した。また、成熟に伴って増加するエチレン依存性転写因子としてTDR4, TDR6などのMADS因子に加えてGRAS因子が抽出され、エチレン信号伝達系とGA信号伝達系のクロストークが示唆された。また、成熟に伴って減少する転写因子としてはbZip, BTB, TF-other因子などが抽出された。さらに、抽出された転写因子について、VIGS法および形質転換技術を用いて、果実成熟における役割と制御範囲の解析を進めている。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

理由：ほぼ研究計画に記載したスケジュール通りに研究は進んでいる。

### 4. 今後の研究の推進方策

これまでにエチレン信号伝達系の下流で果実成熟を支配する転写因子候補としてMADS因子以外にGRAB, b-Zip, BTB, TF-otherが抽出されている。これら因子の機能および転写因子としての守備範囲を明確に確定するためにVIGS法による解析および形質転換体作成を進めている。今後、形質転換体の果実成熟における表現型、特に果実軟化と着色に注目して関連遺伝子の挙動を含めて詳細に解析することを予定している。

### 5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計4件)

- ① 閻瑞・上高大典・横谷尚起・牛島幸一郎・中野龍平・久保康隆. トマトDNAマクロアレイによるエチレン制御下にある果実成熟関連因子のスクリーニング. 園芸学研究 別冊2. 2010. 9:606. 査読なし.
- ② Yokotani N., R. Nakano, S. Imanishi, M. Nagata, A. Inaba and Y. Kubo.

Ripening-associated ethylene biosynthesis in tomato fruit is autocatalytically and developmental regulated. *J. Exp. Bot.* 60:3422-3433. 2009. 査読あり

- ③ Suzuki A., Sawabe K., Yano K. Web databases for Omics data in tomato. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 78:23-31. 2009. 査読あり
- ④ Mworira E., T. Yoshikawa, N. Yokotani, T. Fukuda, K. Suezawa, K. Ushijima, R. Nakano, Y. Kubo. Characterization of ethylene biosynthesis and its regulation during fruit ripening in kiwifruit, *Actinidia chinensis* 'Sanuki Gold'. *Postharvest Biol. Technol.* 55:108-113. 2009. 査読あり

〔学会発表〕(計4件)

- ① Kubo Y. Regulation of fruit ripening through manipulation of ethylene biosynthesis and signaling. AASPP and JKUAT Joint Conference. 2011年11月18日. JKUAT, Kenya.
- ② Kubo Y., N. Yokotani, Y. Rui, D. Kamitaka, K. Ushijima and R. Nakano. Screening of ripening related genes using tomato DNA macroarray, 1-MCP and ripening impaired mutants. Gordon Conference for Postharvest Physiology and Technology. 2010年6月30日. Tilton School NH USA.
- ③ Kubo Y. Diversity in Regulation of Fruit Ripening. JSOL2010. 3月13日, 東北大学
- ④ 久保康隆・上高大典・牛島幸一郎・中野龍平. トマトマクロアレイを用いた果実成熟に関連する転写因子の探索. 園芸学会平成20年度秋季大会. 2008年9月27日~29日. 三重大学.

〔図書〕(計 件)

該当なし

〔産業財産権〕

該当なし

〔その他〕

該当なし