

トマトの役立つ遺伝子変異

～**熟**れないトマトと**取**れないトマト～



農研機構 食品研究部門

伊藤 康博

農研機構 食品研究部門 (旧食品総合研究所)

役割

- 安全で豊かな食生活の提供
- 食に関わる適正な科学情報の提供
- 食に関わる行政施策への貢献
- 食品産業の健全な発展への貢献

食品に関わる、基礎から応用に至る幅広い研究を実施



食品 健康機能 研究領域

食品 加工流通 研究領域

食品 安全 研究領域

食品 分析 研究領域

食品 生物機能開発 研究領域

今日のトピック

トマトの役立つ遺伝子変異

～**熟**れないトマトと**取**れないトマト～

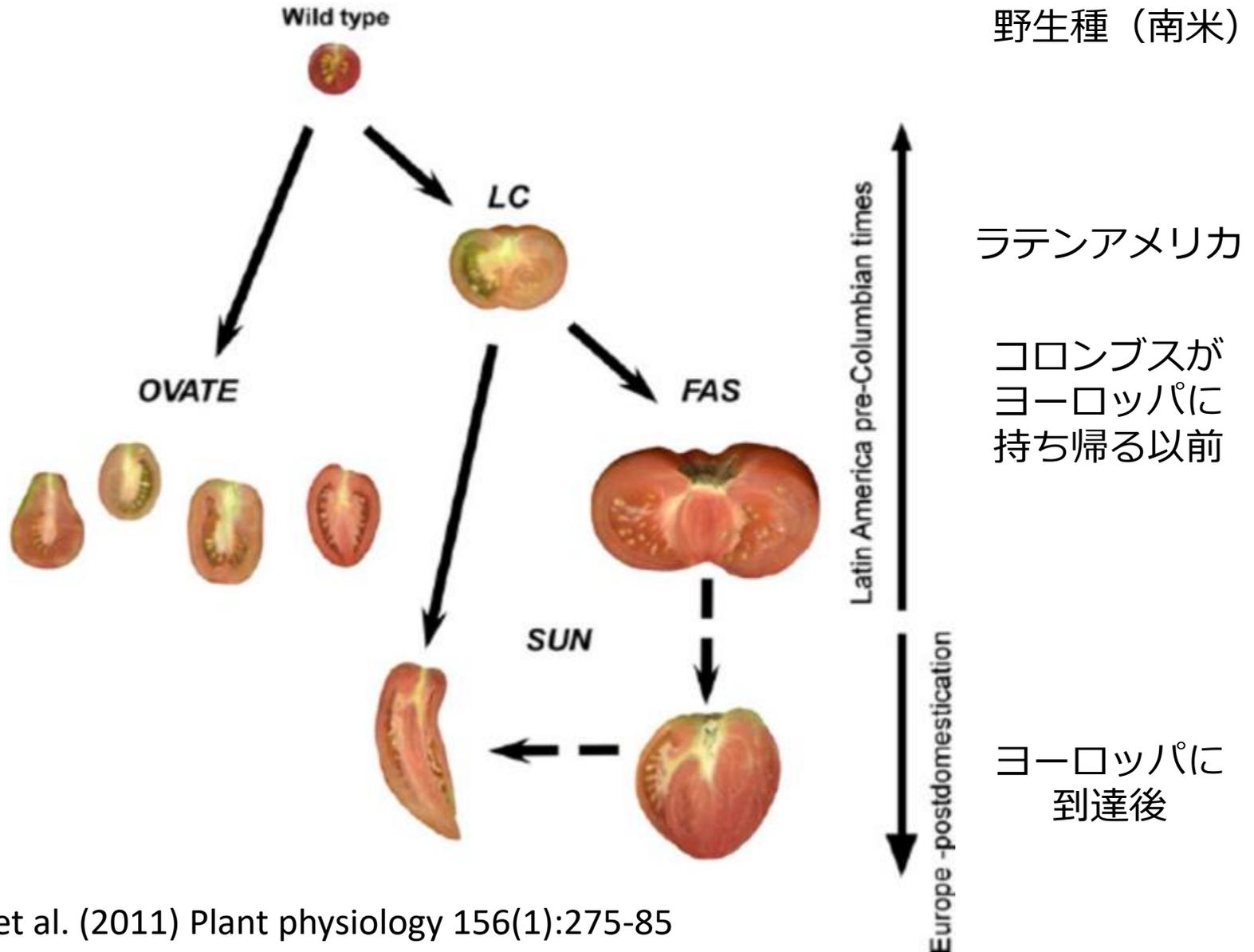
1. 育種に使われるトマトの変異
2. ゲノム編集法とは？
3. トマト成熟のコントロール
 - 常識を打ち破れ！
4. ジョイントレスのメカニズム
 - セレンディピティの意味を知る

nature
plants

いろいろなトマト

いろいろな**突然変異**を
利用して育種されてきた

野生トマトから栽培種へ ~ 変異の集積



高リコペン 変異 (*hp-1*)

リコペン (リコピン、Lycopene) : 赤色色素

トマトジュースには高リコペン化が必須



hp-1

普通トマト

高リコペントマト変異 (*hp-1*)

WT ATGAGTGTATGG.....CTAGACA|ATGCT.....



アデニンがチミンに置き換わった

翻訳

AAT → アスパラギン

TAT → チロシン



hp-1

WT

高リコペントマト変異 (hp-1)

WT

MSVWNYVVTAHKPTNVTHSCVGNFTGPQELNLI IAKCTRIEIHLLTPQGLQCICLQPMLDVPIYGRIATLELFRPHGETQDL
LFIATERYKFCVLQWDTEASEVITRAMGDVSDRIGRPTDNGQIGIIDPDCRLIGLHLYDGLFKVIPFDNKGQLKEAFNIRLE
ELQVLDIKFLYGCPCPTIVVLYQDNKDARHVKTIEVSLKDKDFIEGPWAQNNLDNGASLLIPVPPPLCGVLIIGEETIVYCS
ASAFKAIPIRPSITRAYGRVDADGSRVLLGDHNGLLHLLVITHEKEKVTGLKIELLGETSIASTISYLDNAFVFIGSSYGDS
QLVKLNLQPDTKGSYVEVLERYVNLGPIVDFCVVDLERQGGQVVTCSGAYKDGSLRIVRNGIGINEQASVELQGIKGMWSL
RSATDDPYDTFLVVSFISETRVLAMNLEDELEETEIEGFNSQVQTLFCHDAVYNQLVQVTSNSVRLVSSTSRLKNEWFAFV
GYSVNVATANATQVLLATGGGHLVYLEIGDGVLEVKYAKLDYDISCLDINPIGENPNYSNIAAVGMWTDISVRIYSLPDLN
LITKEQLGGEIIPRSVLMCSFEGISYLLCALGDGHELLNFVLSMSTGELTDRKKVSLGTQPIITLRTFSSKDTTHVFAASDRPT
VIYSSNKLLYSNVNLKEVSHMCPFNVAAFPDSLAIAKEGELTIGTIDEIQKLHIRSIPLGEHARRISHQEQTRTFALCSVK
YTQSNADDPPEMHFVRLDDQTFEFISTYPLDQFEYGCSILSCSFSDDSNVYYCIGTAYVMPEENEPTKGRILVFIVEDGKLQ
LIAEKETKGAVYSLNAFNGKLLAAINQKIQLYKVASREDGGSRELQTECGHHGHILALYVQTRGDFIVVGDLMKSI SLLIFK
HEEGAIEERARDYNANWMSAVEILDDDIYLGAEENNFNLFTRKNSEGATDEERSRLEVVGGEYHLGEFVNRFRHGSLVMRLPD
SDVGQIPTVIFGTVNGVIGVIAASLPHDQYLFLEKQLQTNLRKVIKGVGGLSHEQWRSFYNEKKTVDANKFLDGD LIESFLDLS
RNRMEEISKAMSVPEELMKRVEELTRLH *

hp-1

MSVWNYVVTAHKPTNVTHSCVGNFTGPQELNLI IAKCTRIEIHLLTPQGLQCICLQPMLDVPIYGRIATLELFRPHGETQDL
LFIATERYKFCVLQWDTEASEVITRAMGDVSDRIGRPTDNGQIGIIDPDCRLIGLHLYDGLFKVIPFDNKGQLKEAFNIRLE
ELQVLDIKFLYGCPCPTIVVLYQDNKDARHVKTIEVSLKDKDFIEGPWAQNNLDNGASLLIPVPPPLCGVLIIGEETIVYCS
ASAFKAIPIRPSITRAYGRVDADGSRVLLGDHNGLLHLLVITHEKEKVTGLKIELLGETSIASTISYLDYAFVFIGSSYGDS
QLVKLNLQPDTKGSYVEVLERYVNLGPIVDFCVVDLERQGGQVVTCSGAYKDGSLRIVRNGIGINEQASVELQGIKGMWSL
RSATDDPYDTFLVVSFISETRVLAMNLEDELEETEIEGFNSQVQTLFCHDAVYNQLVQVTSNSVRLVSSTSRLKNEWFAFV
GYSVNVATANATQVLLATGGGHLVYLEIGDGVLEVKYAKLDYDISCLDINPIGENPNYSNIAAVGMWTDISVRIYSLPDLN
LITKEQLGGEIIPRSVLMCSFEGISYLLCALGDGHELLNFVLSMSTGELTDRKKVSLGTQPIITLRTFSSKDTTHVFAASDRPT
VIYSSNKLLYSNVNLKEVSHMCPFNVAAFPDSLAIAKEGELTIGTIDEIQKLHIRSIPLGEHARRISHQEQTRTFALCSVK
YTQSNADDPPEMHFVRLDDQTFEFISTYPLDQFEYGCSILSCSFSDDSNVYYCIGTAYVMPEENEPTKGRILVFIVEDGKLQ
LIAEKETKGAVYSLNAFNGKLLAAINQKIQLYKVASREDGGSRELQTECGHHGHILALYVQTRGDFIVVGDLMKSI SLLIFK
HEEGAIEERARDYNANWMSAVEILDDDIYLGAEENNFNLFTRKNSEGATDEERSRLEVVGGEYHLGEFVNRFRHGSLVMRLPD
SDVGQIPTVIFGTVNGVIGVIAASLPHDQYLFLEKQLQTNLRKVIKGVGGLSHEQWRSFYNEKKTVDANKFLDGD LIESFLDLS
RNRMEEISKAMSVPEELMKRVEELTRLH *

1アミノ酸が書き換わっただけ

さらに高リコペンへ ~ *og (old gold)*変異



さらに高リコペンへ ~ *og^c* (*old gold*)変異

lycopene beta-cyclase 遺伝子



110 120 130 140 150 160 170 180

CCAAAAAAAAATCAAGAAAATGTCTTCTTAGAAACAAAAGTAGTAAACTTTTTTGTAGCTTTCTTGATTTAGCACCCACA

K K K S R K C L L R N K S S K L F C S F L D L A P T

CCAAAAAAAAATCAAGAAAATGTCTTCTTAGAAACAAAAGTAGTAAACTTTTTTGTAGCTTTCTTGATTTAGCACCCACAT

K K N Q E N V F L E T K V V N F F V A F L I *

均一に赤くなる ~ *u* (*uniform*)変異



190 200 210 220 230 240

正常型 GGAAATATGAAATCTAAGTCAAAGAAGCT**AAAAAA**TCATCTAGCAAATCAAAAATCCT
 G N M K S K S K E A K K S S S K I K N P

u* 変異** GGAAATATGAAATCTAAGTCAAAGAAGCT**AAAAAA*A**TCATCTAGCAAATCAAAAATCC
 G N M K S K S K E A K K I I * Q N Q K S

Aが一つ増えた

均一に赤くなる ~ *u (uniform)*変異

190 200 210 220 230 240
 GGAAATATGAAATCTAAGTCAAAGAAGCTAAAAAATCATCTAGCAAATCAAATCCT
 G N M K S K S K E A K K S S S K I K N P

GGAAATATGAAATCTAAGTCAAAGAAGCTAAAAAAATCATCTAGCAAATCAAATCC
 G N M K S K S K E A K K I I * Q N Q K S

MLALSSSLSYKNERENYDLFQDFSHGN
 LIDTINFDDFFDEINGDLLPDEIFC
 EEPAIHGNMKSKSKEAKKSSSKIKNPQ
 GKKKVKLDWTPELHRKFVKAIEKLGVD
 KAVPSRILELMATHGLTRHNIASHLQK
 YRAHRKHLLAREAEAASLNHRKQMYSG
 ATTIGGGGKRILMNPWPAPPTMGFPPM
 AHHVRPLHVWGHPHVNNSFWHPHYQRV
 SNSLVPGTPCFSAPITSARFAAPLMVP
 GIPPSPAIIKVDTVASDLHPSNESIDA
 AIEDVLSKPQLPLPIGLKPPSIDSVLN
 ELQRQGITKIPPT

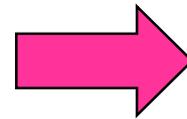
310 アミノ酸

MLALSSSLSYKNERENYDLFQDFSHGN
 LIDTINFDDFFDEINGDLLPDEIFC
 EEPAIHGNMKSKSKEAKKII

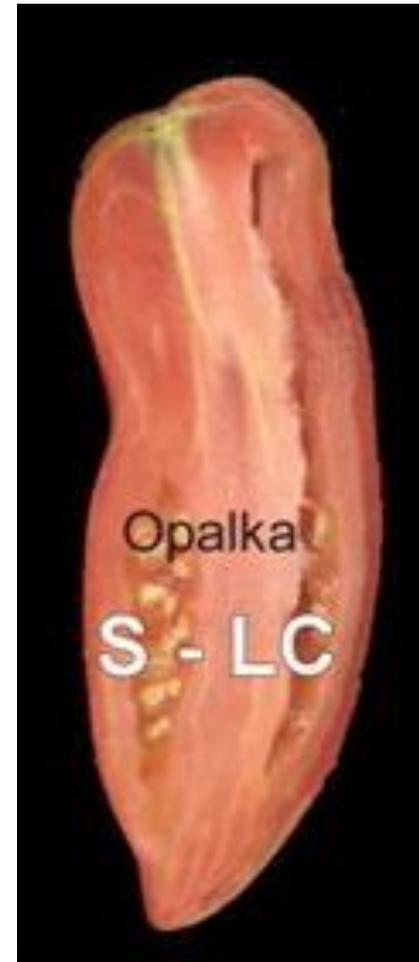
74 アミノ酸



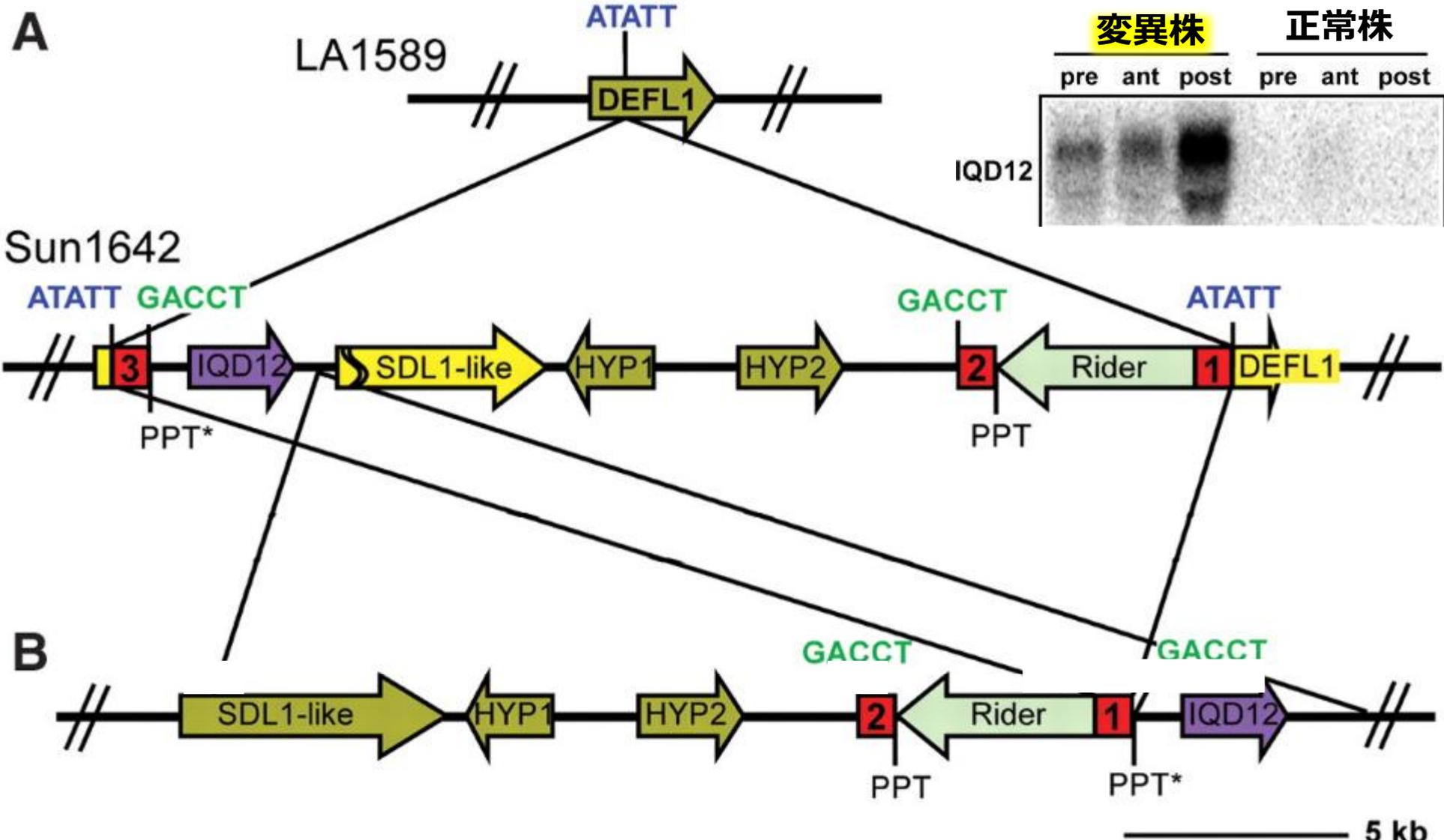
細長い果実 ~ *sun* 変異



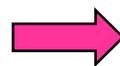
変異



細長い果実 ~ *sun* 変異



別の染色体領域が入り込む



遺伝子発現が増えた

熟れないトマト : *rin* (ripening inhibitor)

7日後

1か月後

2か月後

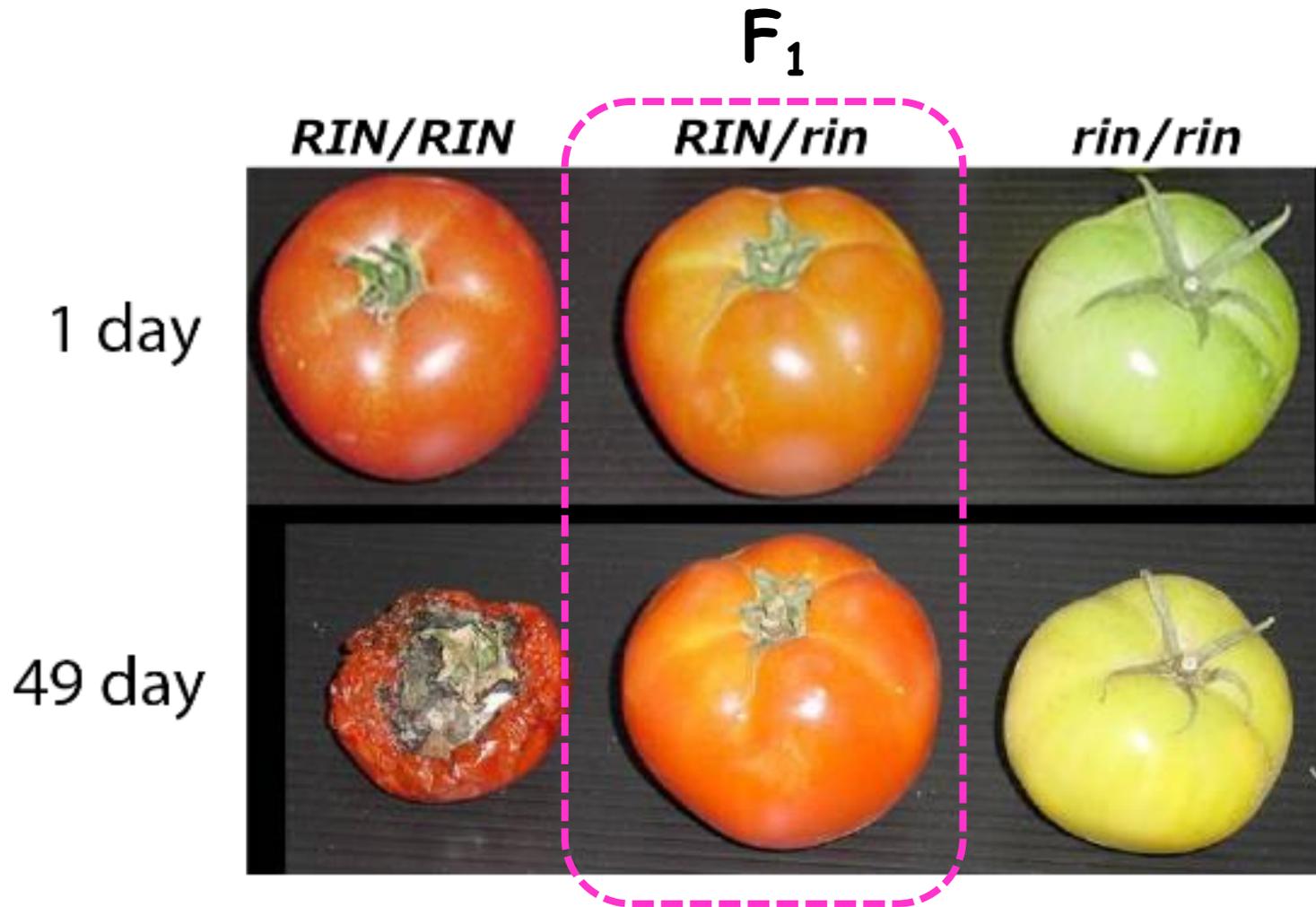
WT



rin



"rin" 変異を使った 高日持ち育種



Kitagawa et al. 2005

*rin*変異による遺伝子産物の変化

RIN
遺伝子座

RIN

MC

mRNA

ターミネーター

ターミネーター

野生型

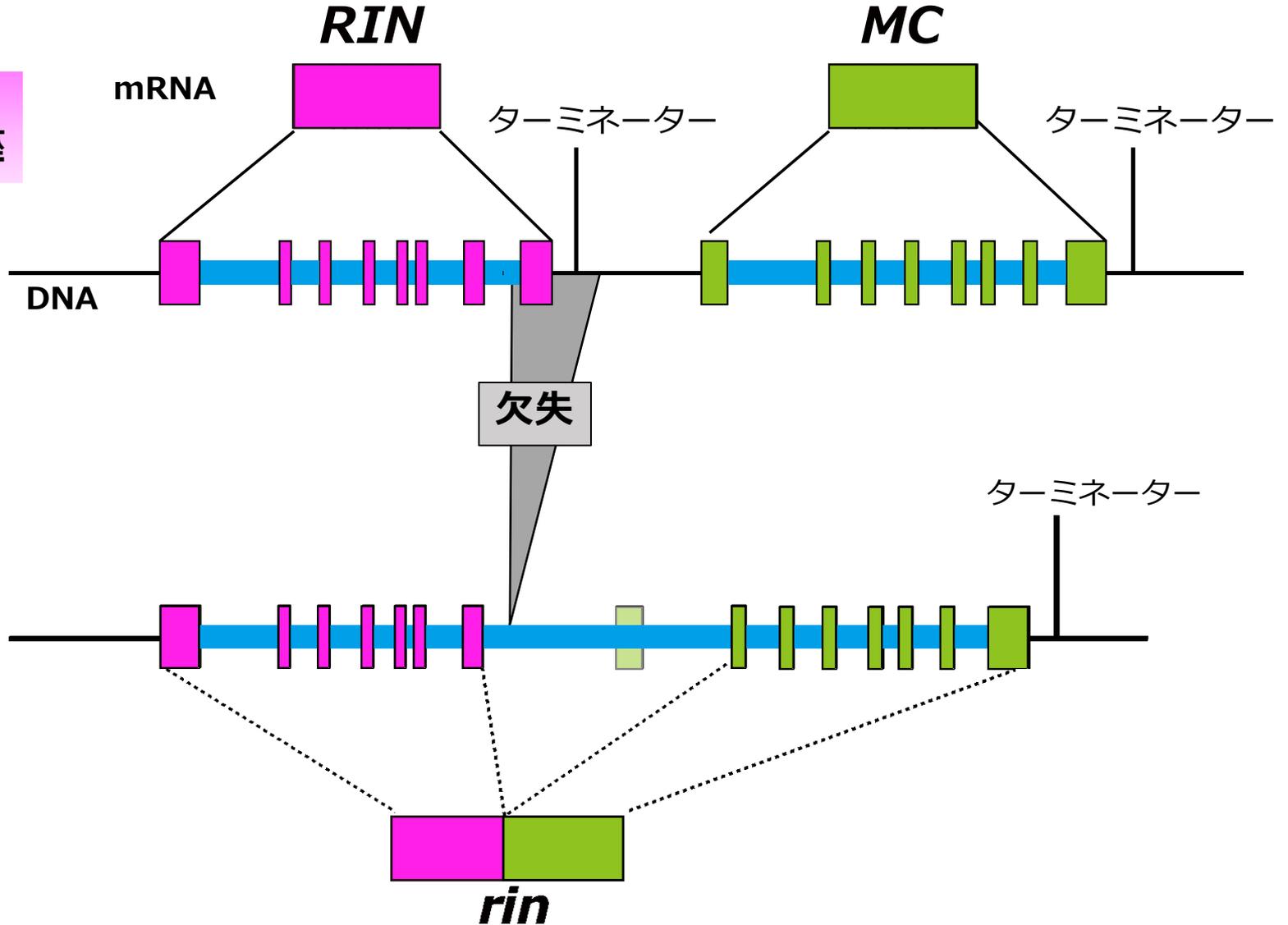
DNA

欠失

rin
変異型

ターミネーター

rin



b**Wild-type allele**

AAAAATAATATTATTTTACATTTTTTTTCTTCATACAATATGGGTAGAGCGAAAGTAGAA
 M G R G K V E
 30 40 50 60 70 80
 TTGAAGAGAAATTGAGAACAATAAATAGACAAGTTACCTTTGCAAAGCAAGAATAATGGA
 L K R I E N K I N R Q V T F A K R R N G
 90 100 110 120 130 140
 CTCCTAAAGAAAAGCTTATGAACTTTCTATACCTTTGTGATGCTGAAATTTGCTCTTATTATT
 L L K K A Y E L S I L C D A E I A L I I
 150 160 170 180 190 200
 TTCTCTAGTCGTGGCAAGCTTTATGAATTTTGCAGCAATTTCAAGTATGTCGAAGACATTTG
 F S S R G K L Y E F C S N S S M S K T L
 210 220 230 240 250 260
 GAGAGATACCACAGATACAATATGTTGACACTTGAAGGAACCCAAACTTTCATCAGATGCA
 E R Y H R Y N Y G T L E G T Q T S S D S
 270 280 290 300 310 320
 CAGAAACAATACCAAGACTTATGAACTTAAACAAGAGTGGAAATTTTACAACAGCTCT
 Q N N Y Q E Y L K L K T R V E M L Q Q S
 330 340 350 360 370 380
 CAAAGGCATTTGCTAGGTGAGGATTTGGGACAATTTGGGCACAAAAGACTTTGGAACAGCTT
 Q R H L L G E D L G Q L G T K D L E Q L
 ** 390 400 410 420 430 440
 GAACGTCAATTTGGATTTCATCATTGAGGCAAAATAGGTCAACAAGACACACACATTTCTT
 E R Q L D S S L R Q I R S T K T Q H I L
 450 460 470 480 490 500
 GATCAACTTGCCTGAACTTCAACAAAAGGAACAATCTCTTACTGAAATGAACAAATCTTTG
 D Q L A E L Q Q K E Q S L T E M N K S L
 510 520 530 540 550 560
 AGAATAAAGTTGGAAGAAGCTTTGGTGTACTTTCAACATCATGGCATTGTTGGTGGAGCAA
 R I K L E E L G V T F Q T S W H C G E Q
 570 580 590 600 610 620
 AGTGTACAATATAGACATGAACAGCCTTCTCATCATGAGGGATTTTTCAACATGTAAT
 S V Q Y R H E Q P S H H E G F F Q H V N
 630 640 650 660 670 680
 TGCAATAATACATTTGCCTATAAGT TACGGATACGATAATGTACAACCCGAAAATGCAGCA
 C N N T L P I S Y G Y D N V Q P E N A A
 690 700 710 720 730 740
 CCATCAACACATGATGCTACTGGAGTTGTACTGGATGGATGCITTTGAATTTGGAGTATA
 P S T H D A T G V V P G W M L *

 : CRISPR/Cas9 target sites
 (*: Guide 3, **: Guide 1)

 : Antibody recognisiton site

 : Putative repression motif

 : DNA binding domain (MADS domain)

c**rin mutant allele**

AAAAATAATATTATTTTACATTTTTTTTCTTCATACAATATGGGTAGAGCGAAAGTAGAA
 M G R G K V E
 30 40 50 60 70 80
 TTGAAGAGAAATTGAGAACAATAAATAGACAAGTTACCTTTGCAAAGCAAGAATAATGGA
 L K R I E N K I N R Q V T F A K R R N G
 90 100 110 120 130 140
 CTCCTAAAGAAAAGCTTATGAACTTTCTATACCTTTGTGATGCTGAAATTTGCTCTTATTATT
 L L K K A Y E L S I L C D A E I A L I I
 150 160 170 180 190 200
 TTCTCTAGTCGTGGCAAGCTTTATGAATTTTGCAGCAATTTCAAGTATGTCGAAGACATTTG
 F S S R G K L Y E F C S N S S M S K T L
 210 220 230 240 250 260
 GAGAGATACCACAGATACAATATGTTGACACTTGAAGGAACCCAAACTTTCATCAGATGCA
 E R Y H R Y N Y G T L E G T Q T S S D S
 270 280 290 300 310 320
 CAGAAACAATACCAAGACTTATGAACTTAAACAAGAGTGGAAATTTTACAACAGCTCT
 Q N N Y Q E Y L K L K T R V E M L Q Q S
 330 340 350 360 370 380
 CAAAGGCATTTGCTAGGTGAGGATTTGGGACAATTTGGGCACAAAAGACTTTGGAACAGCTT
 Q R H L L G E D L G Q L G T K D L E Q L
 390 400 410 420 430 440
 GAACGTCAATTTGGATTTCATCATTGAGGCAAAATAGGTCAACAAGACACACACATTTCTT
 E R Q L D S S L R Q I R S T K T Q H I L
 450 460 470 480 490 500
 GATCAACTTGCCTGAACTTCAACAAAAGGAACAATCTCTTACTGAAATGAACAAATCTTTG
 D Q L A E L Q Q K E Q S L T E M N K S L
 510 520 530 540 550 560
 AGAATAAAGTTGGAAGAAGCTTTGGTGTACTTTCAACATCATGGCATTGTTGGTGGAGCAA
 R I K L E E L G V T F Q T S W H C G E Q
 570 580 590 600 610 620
 AGTGTACAATATAGACATGAACAGCCTTCTCATCATGAGGGATTTTTTCAACATGTAAT
 S V Q Y R H E Q P S H H E G F F Q H V N
 630 640 650 660 670 680
 TGCAATAATACATTTGCCTATAAGT ATGGAACAAATCTTGAACGATATGAAAGATACTCA
 C N N T L P I S M E Q I L E R Y E R Y S
 690 700 710 720 730 740
 TATGCAGAGAGACGCTTTGCTTTGCAAATAATTTCTGAATCACCAGGTTGACGAGAAACTGGAGC
 Y A E R R R L L A N N S E S P V Q E N W S
 750 760 770 780 790 800
 TTGGAATATACTAAACTCAAGGCTAGGATTTGATCTCCTTTCAAAGGAACACAGCATTAT
 L E Y T K L K A R I D L L Q R N H R H Y
 810 820 830 840 850 860
 ATGGGAGAAGATCTTGTATCAATGAGCTTGAAGGACTTGCAAAACCTTGAACACACAGCTT
 M G E D L D S M S L K D L Q N L E Q Q L
 870 880 890 900 910 920
 GATTCGTCTTAAAGCTAATTCGATCGAGAAAGAACCAACTCATGCATGAATCAATCTCT
 D S A L K L I R S R K N Q L M H E S I S
 930 940 950 960 970 980
 GAACCTGCAGAAAAGAAAAGACTATCCTTAGAGGAGAATAACATGCTAACCAAGAAGATT
 E L Q K K E R A I L E E N N M L T K K I
 990 1000 1010 1020 1030 1040
 AAGGAGAAGGATAAGATAGTGAACACAGCAAGTGAATGGCACCAGCAAACTAATCAAGTT
 K E K D K I V E Q Q G E W H Q Q T N Q V
 1050 1060 1070 1080 1090 1100
 TCTACTCAACATCTTTCTTACCAACACATCAATGCCTAAATATGGGAGGTAATAC
 S T S T S F L L Q P H Q C L N M G G N Y
 1110 1120 1130 1140 1150 1160
 CAAGATGAAGTAGCAGAAGCAAGGAGGAATAATGAGCTTGACCTAAATCTTGAATCATT
 Q D E V A E A R R R N N E I D L N L D S I
 1170 1180 1190 1200 1210 1220
 TATCCACTTTACAACATGAATAAACATCTATGAATAATTTCACTCTTTGCTAATCGCTTG
 Y P L Y N M N K H L *

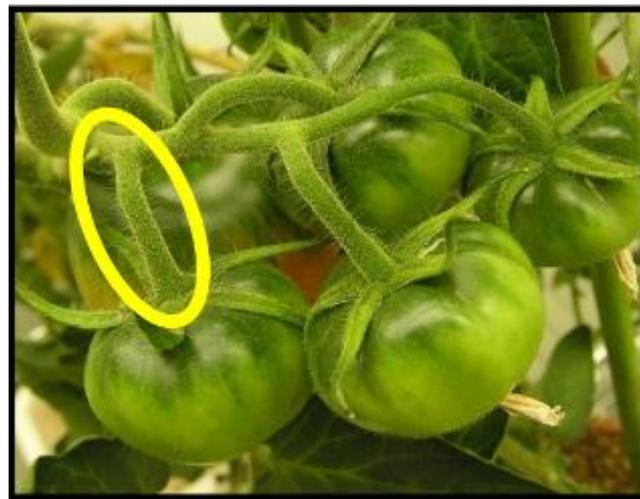
RIN derived

MC derived

取れないトマト ~ 「ジョイントレス」変異



正常型



ジョイントレス変異型



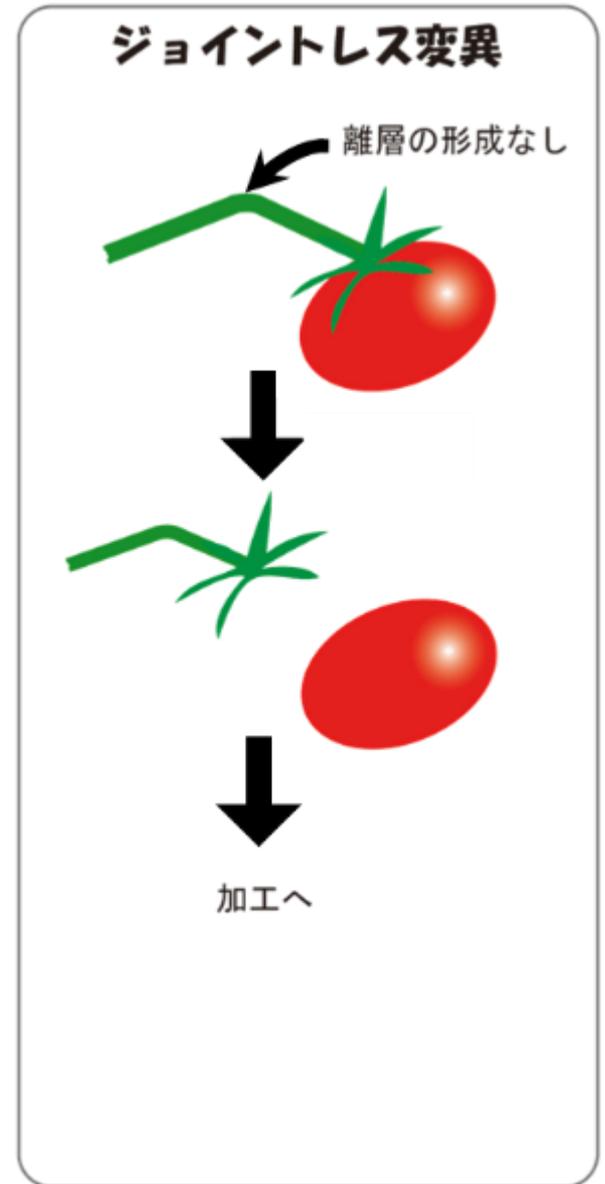
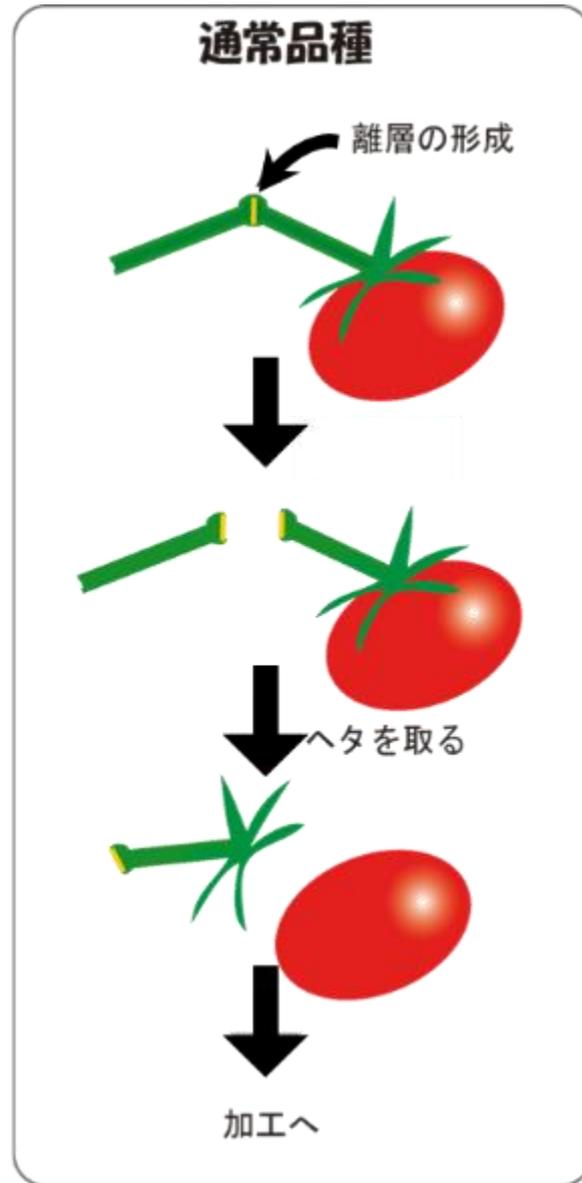
ジョイントレス変異は複数ある

1. *jointless* (*j*)

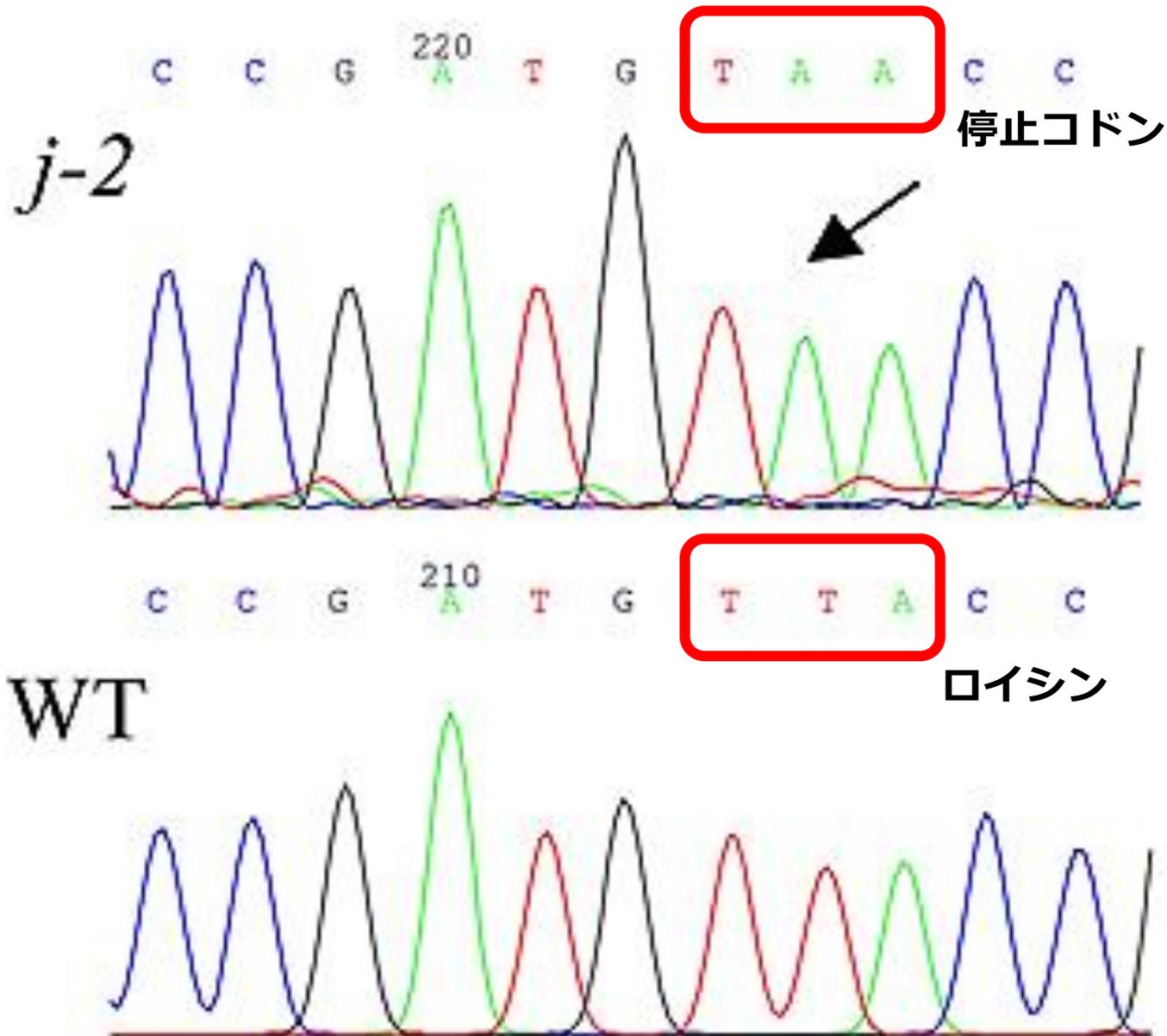
2. *jointless-2* (*j-2*)

(食品産業的に重要なのは *j-2*)

加工用トマトの収穫効率化に貢献している

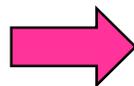


jointless-2 変異 – 塩基が置き換わった



jointless-2 変異 - タンパク質が短くなった

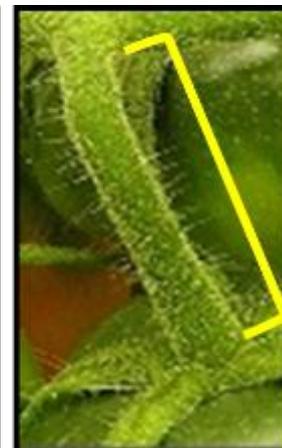
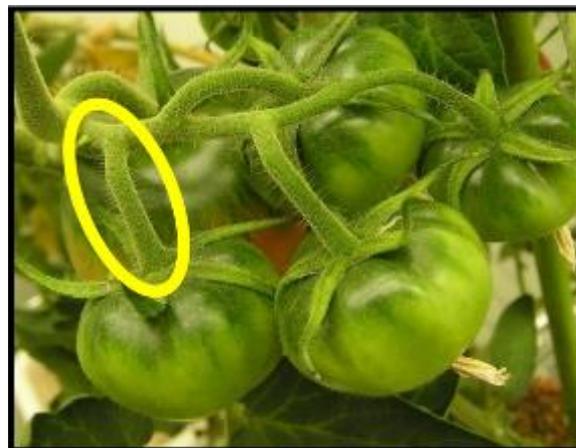
野生型



j-2
変異型

MGRGRVELKRIENKINRQVTFKR
RNGLLKKAYELSILCDAEVALIIF
SSRGKLYEFSSASSMMTTLEKYQQ
CSYASLDPMLPVSDTQMNYNEYVR
LKARVELLQRSQRHILGEDLGTLN
SKELEQLEHQLDASLKKVRSKKTQ
SMLDQLADLQEKEQMLEEANKQLK
NKLEESAARIPLGLSWGNNGGQTM
EYNRLPPQTTAQPFFQPLRLNSSS
PQFGYNPNMGANDHEVNAATTAHN
INGFIPGWML

MGRGRVELKRIENKINRQVTFKR
RNGLLKKAYELSILCDAEVALIIF
SSRGKLYEFSSASSMMTTLEKYQQ
CSYASLDPM



今日のトピック

1. 育種に使われるトマトの変異
2. ゲノム編集法とは？
3. トマト成熟のコントロール
 - 常識を打ち破れ！
4. ジョイントレスのメカニズム
 - セレンディピティの意味を知る

ゲノム編集の実例：遺伝子 X の3つの変異の影響

野生型

自然変異体

ゲノム編集 1

ゲノム編集 2

7日



1ヶ月



2ヶ月



成熟開始後

ゲノム編集とは？

染色体(ゲノム)上の狙ったDNAを書き換える技術

1. 狙った領域に変異を起こす
2. 狙った領域に必要なDNAを入れる

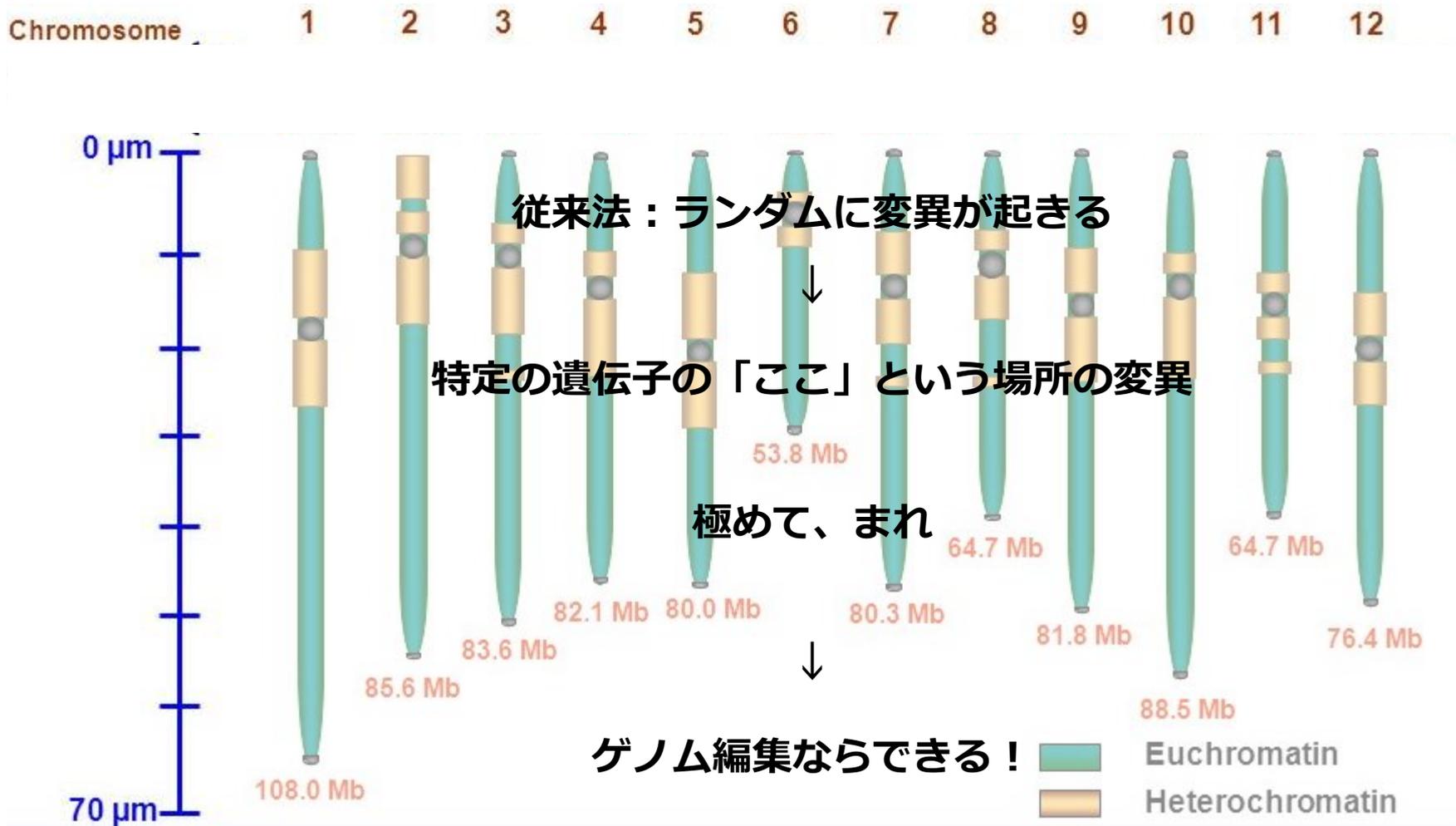
変異が起きるシチュエーション

実際の育種に利用

1. 自然変異
 2. 放射線を照射（ガンマ線 等）
 3. 薬剤を処理（エチルメタンスルホン酸 等）
-
4. ゲノム編集

規制が必要？

なぜゲノム編集が必要な？

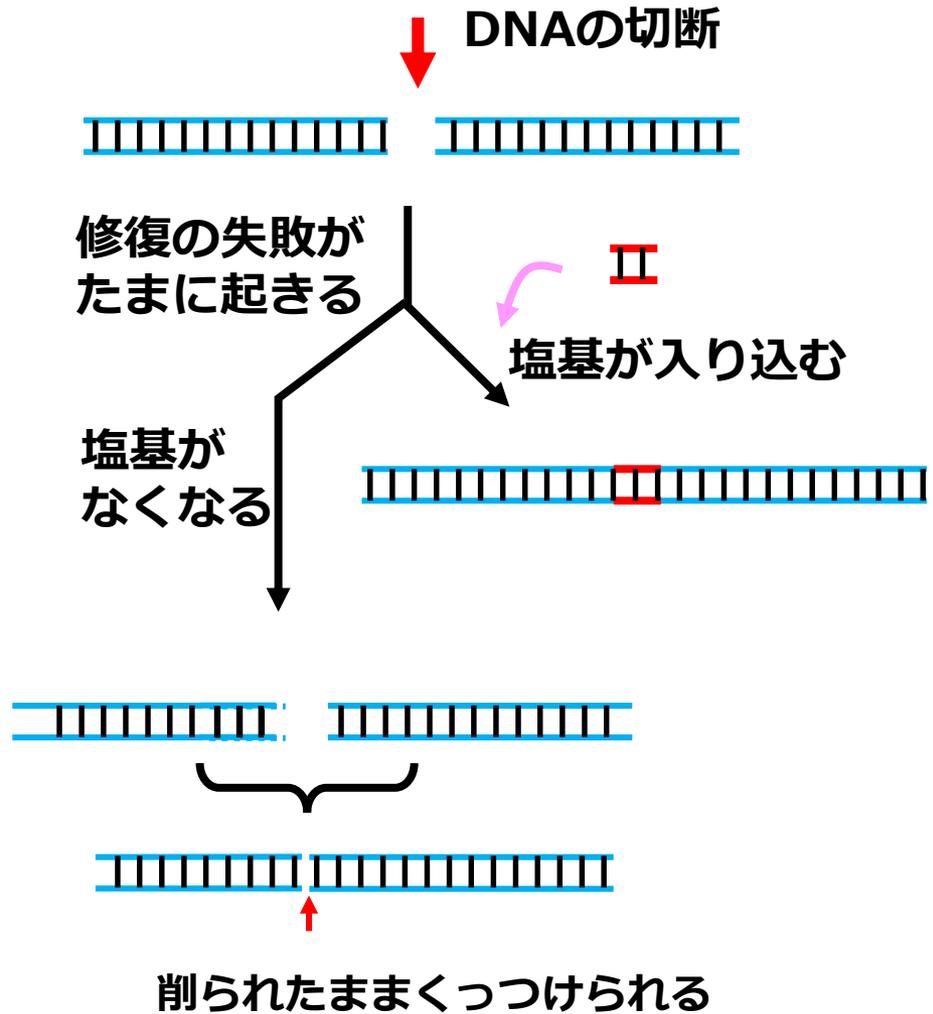
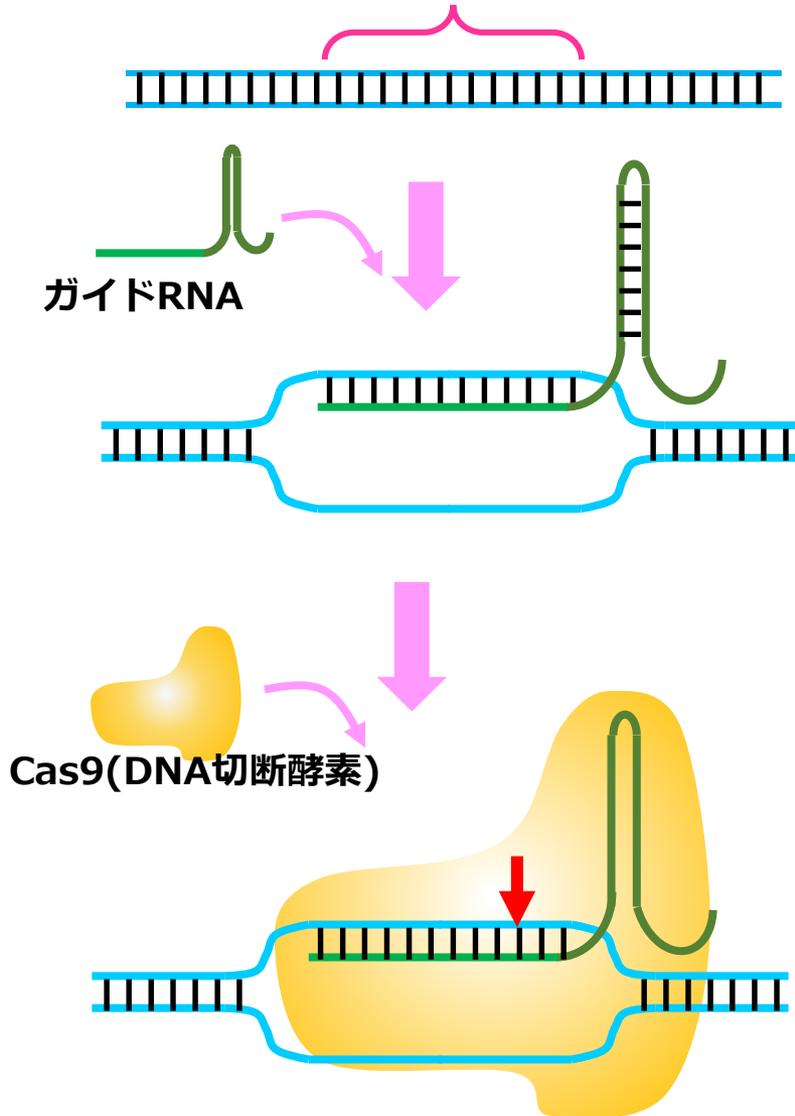


トマトの全ゲノム：950Mb (=950,000,000塩基) 9億5千万塩基

朝刊 (約10万文字) 1万部

ゲノム編集（CRISPR/Cas9システム）の概要

標的とするDNA

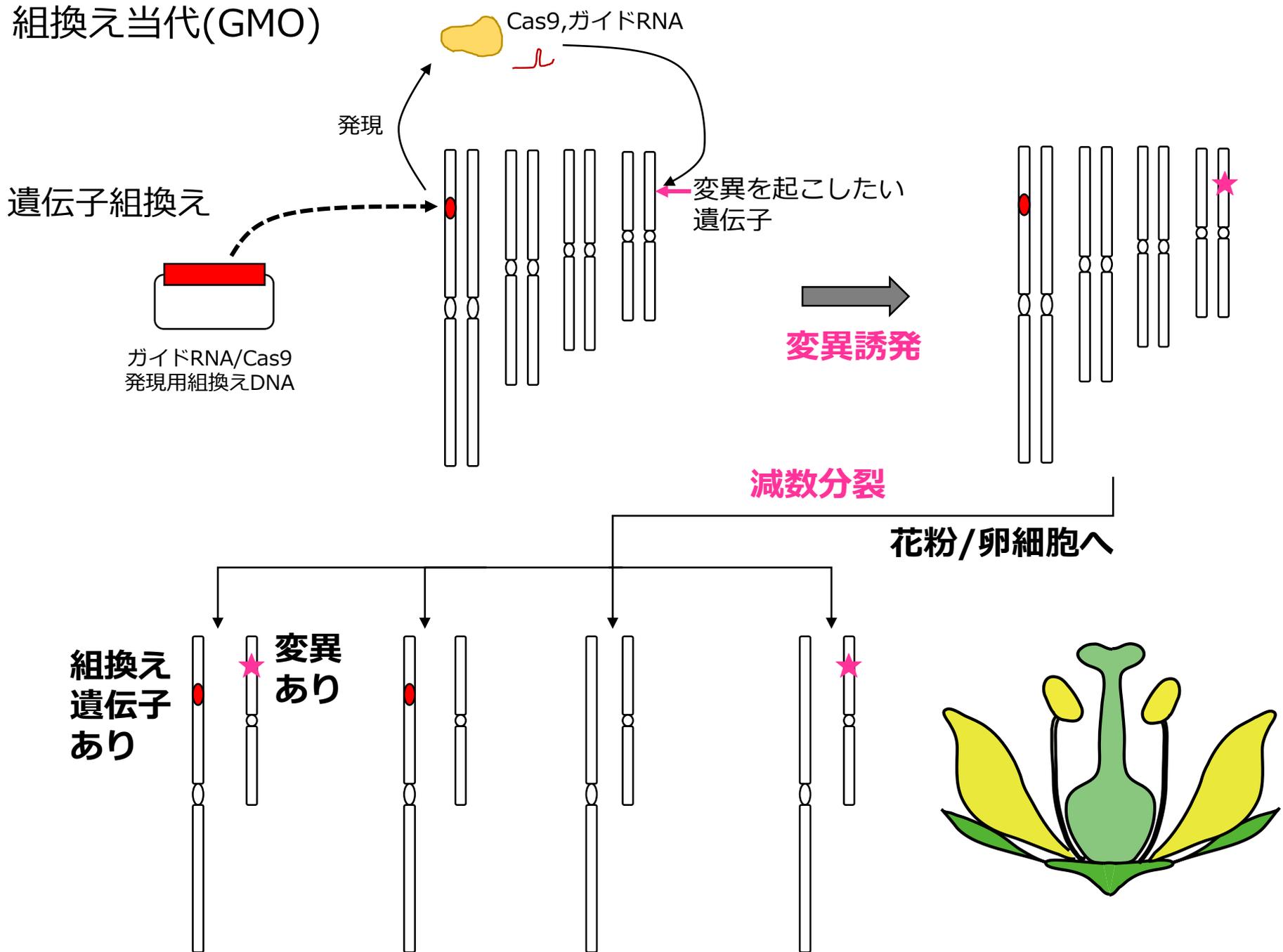


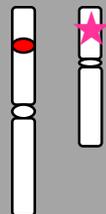
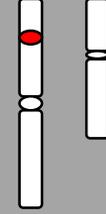
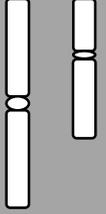
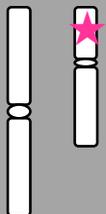
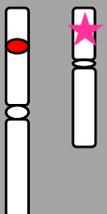
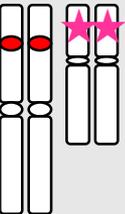
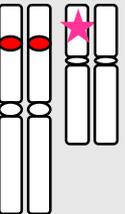
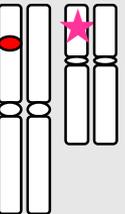
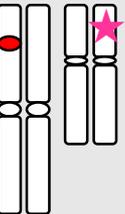
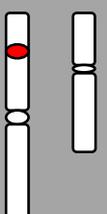
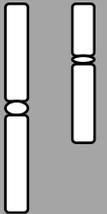
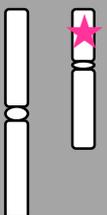
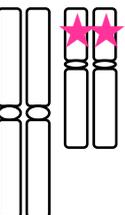
「ゲノム編集」は「遺伝子組換え」とちがうの？

現在の、植物での、一般的なゲノム編集の手順

1. 遺伝子組換え法を使って、
ゲノム編集のシステムを動かす
(変異を起こす)
2. 組換え遺伝子は持たず、
変異をもつ植物を選ぶ

組換え当代(GMO)



<p>花粉</p> <p>卵細胞</p>				
				
				
				
				

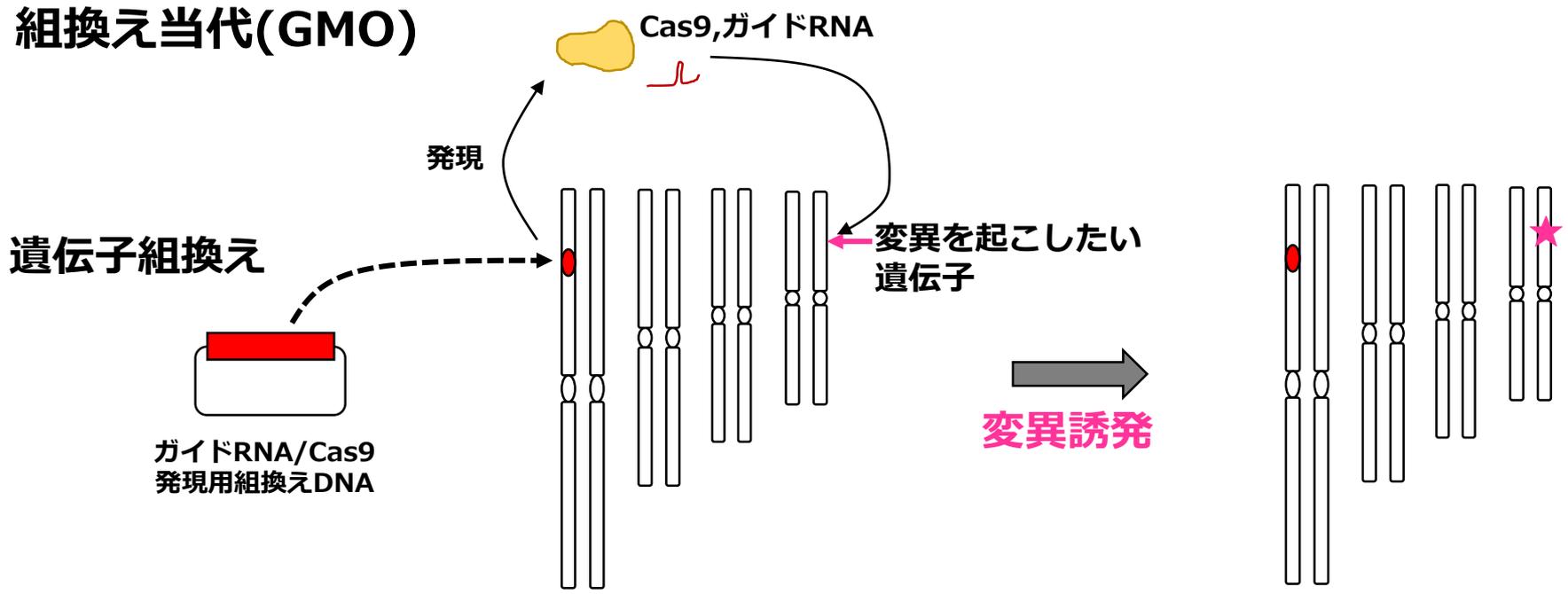


組換え
遺伝子
あり

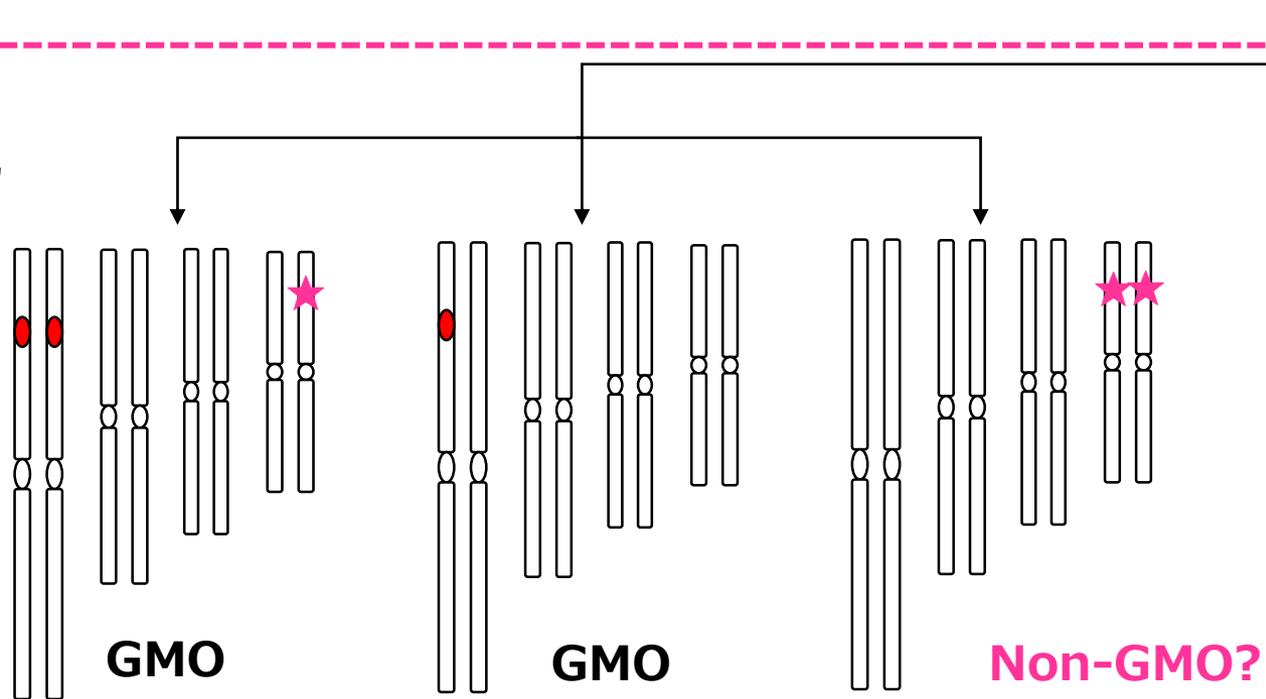


変異
あり

組換え当代(GMO)



分離世代



トマトにおけるゲノム編集の実際（組換え体の作出）

子葉を細断し、アグロバクテリウム（組換え遺伝子を運ぶ）に接触



組換え遺伝子がトマト細胞へ

子葉切片から細胞塊（カルス）が発生



カルスから植物体が発生



DNAを検査して、標的DNAに変異が生じた植物を選抜

遺伝子 X の異なる変異による形質の変化

成熟開始後

野生型

自然変異体

ゲノム編集 1

ゲノム編集 2

7日



1ヶ月



2ヶ月

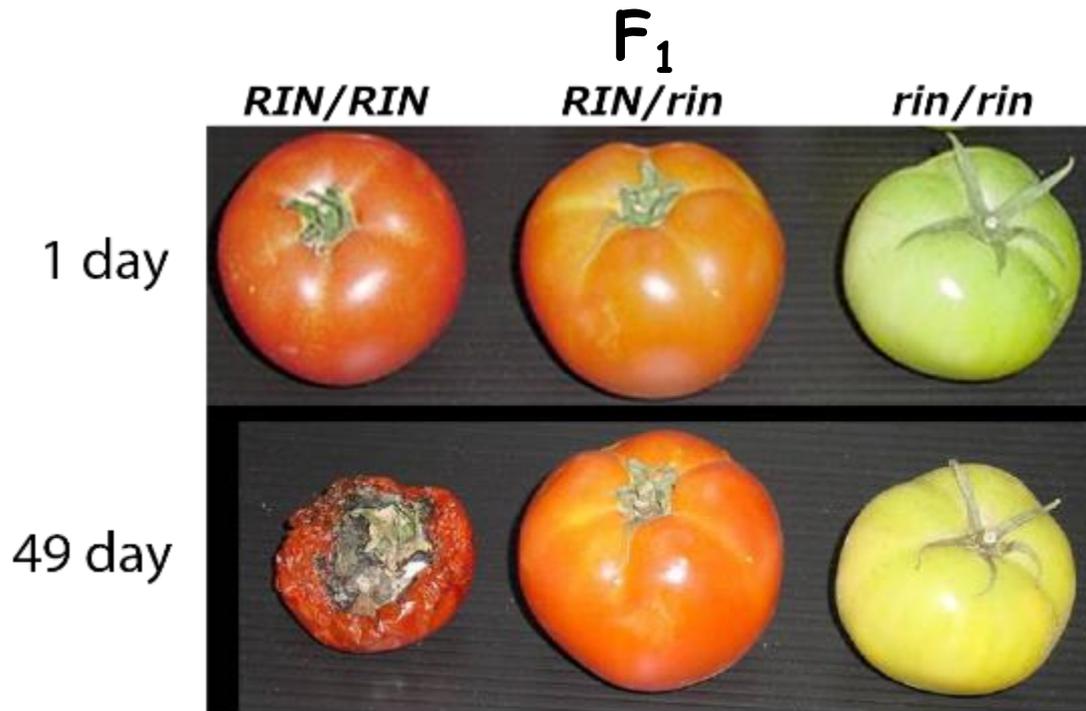


変異はあるが組換え遺伝子は持たない³⁵

今日のトピック

1. 育種に使われるトマトの変異
2. ゲノム編集法とは？
3. トマト成熟のコントロール
 - 常識を打ち破れ！
4. ジョイントレスのメカニズム
 - セレンディピティの意味を知る

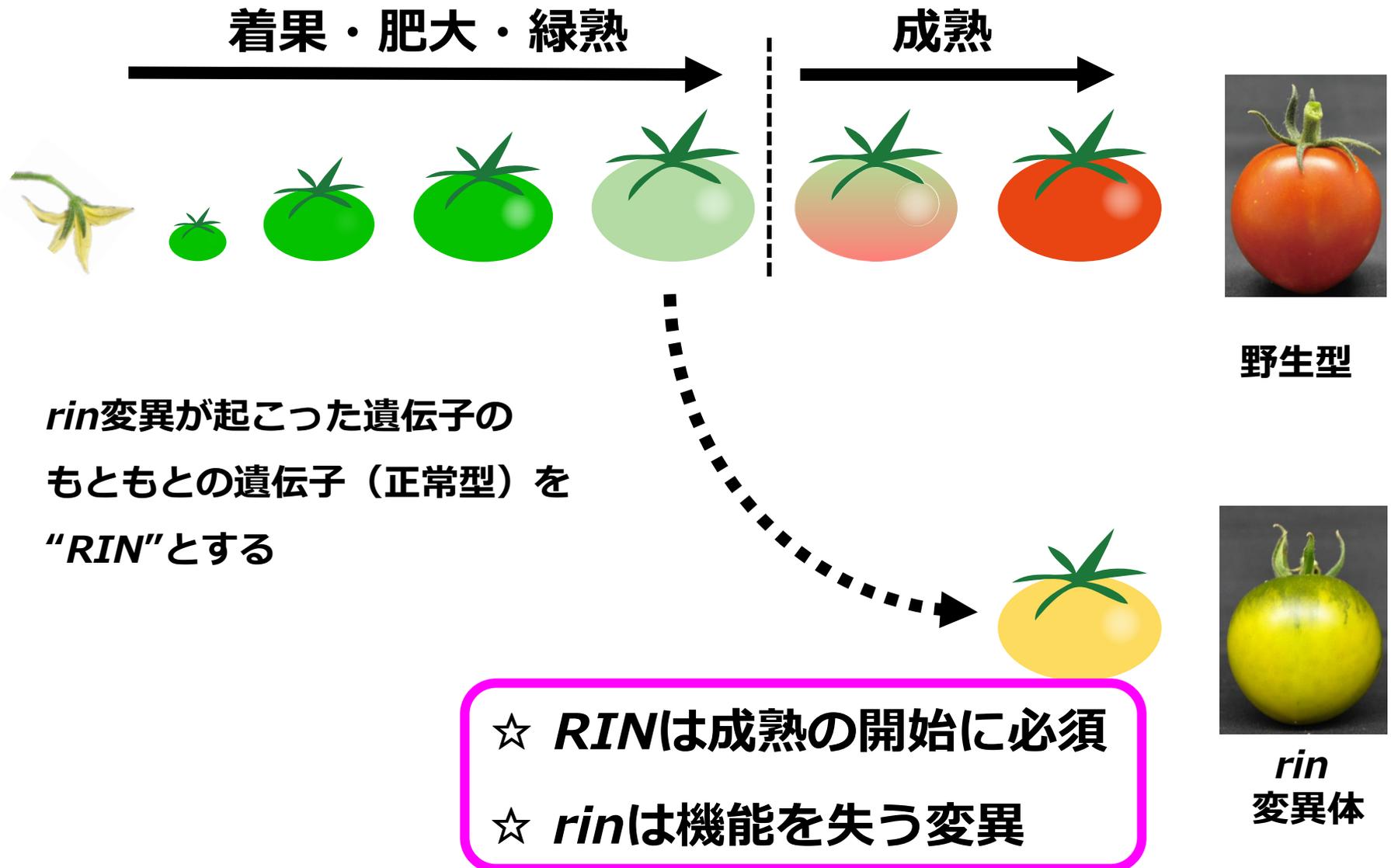
熟れないトマトの突然変異とは？



たった一つの遺伝子の変異で全く成熟しない

正常型と掛け合わせた次世代 (F_1) は中間型を示す

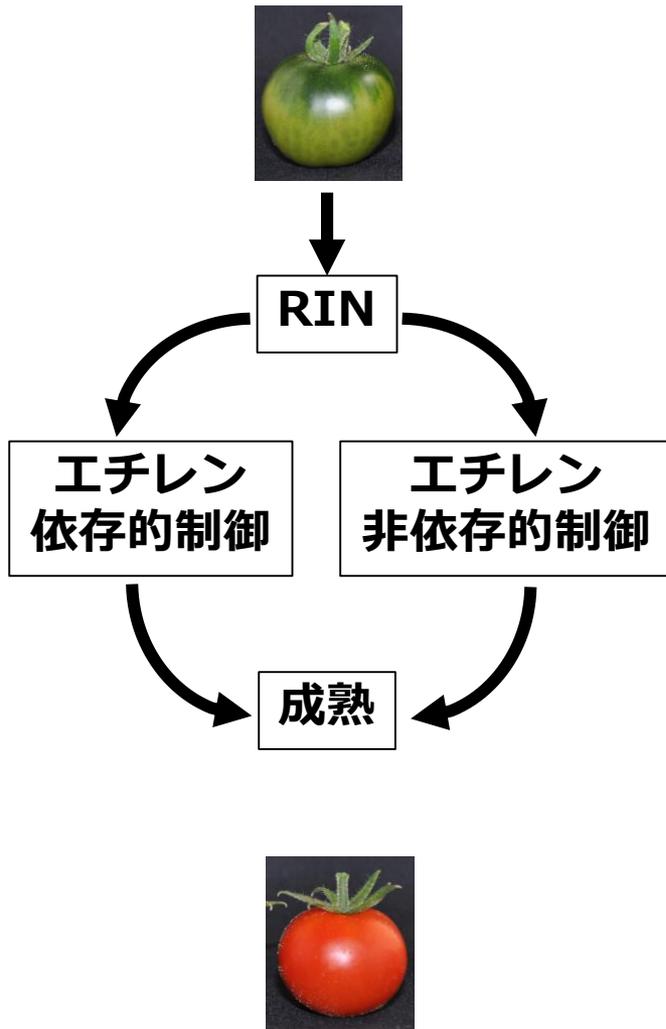
rin (*ripening inhibitor*)変異とは？



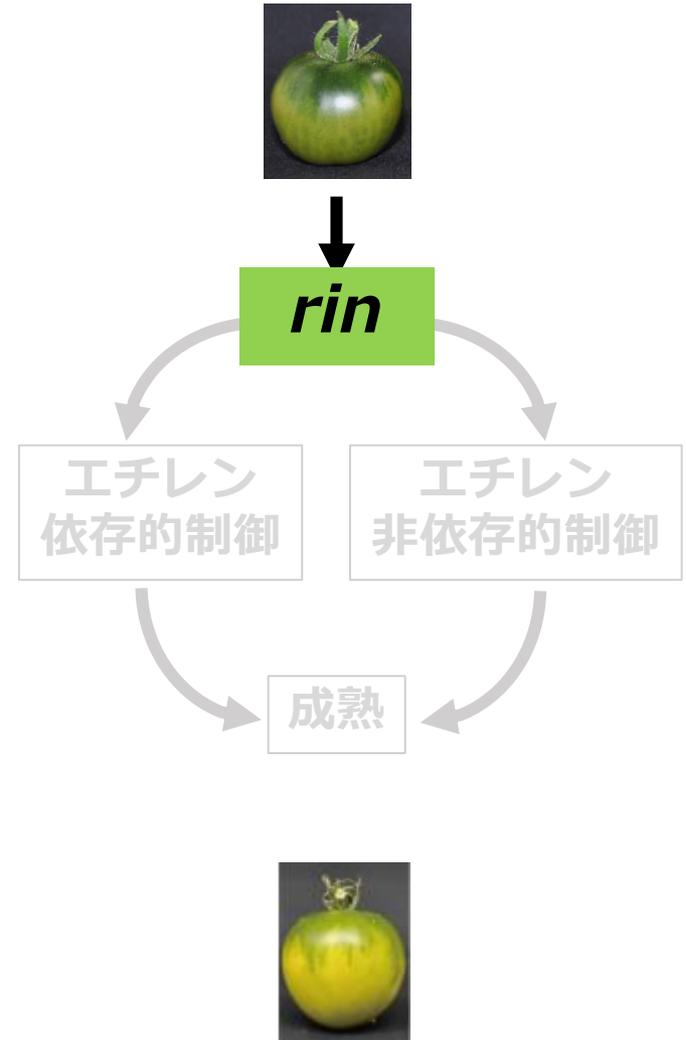
と信じられてきた...

これまでの成熟開始制御モデル

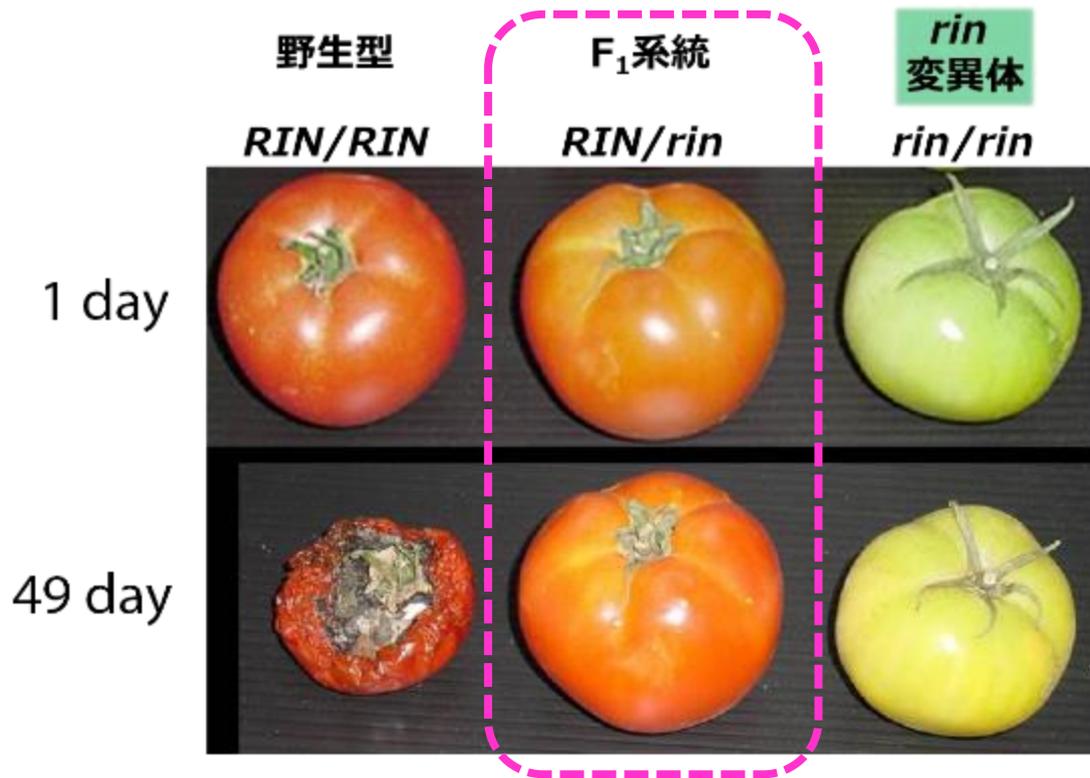
RIN は成熟に必要な遺伝子



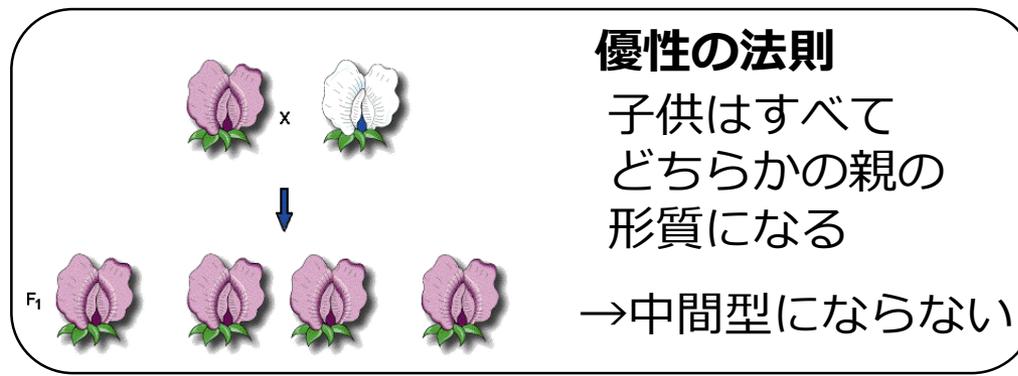
rin は機能がなくなる変異



従来の成熟制御モデルは本当か？

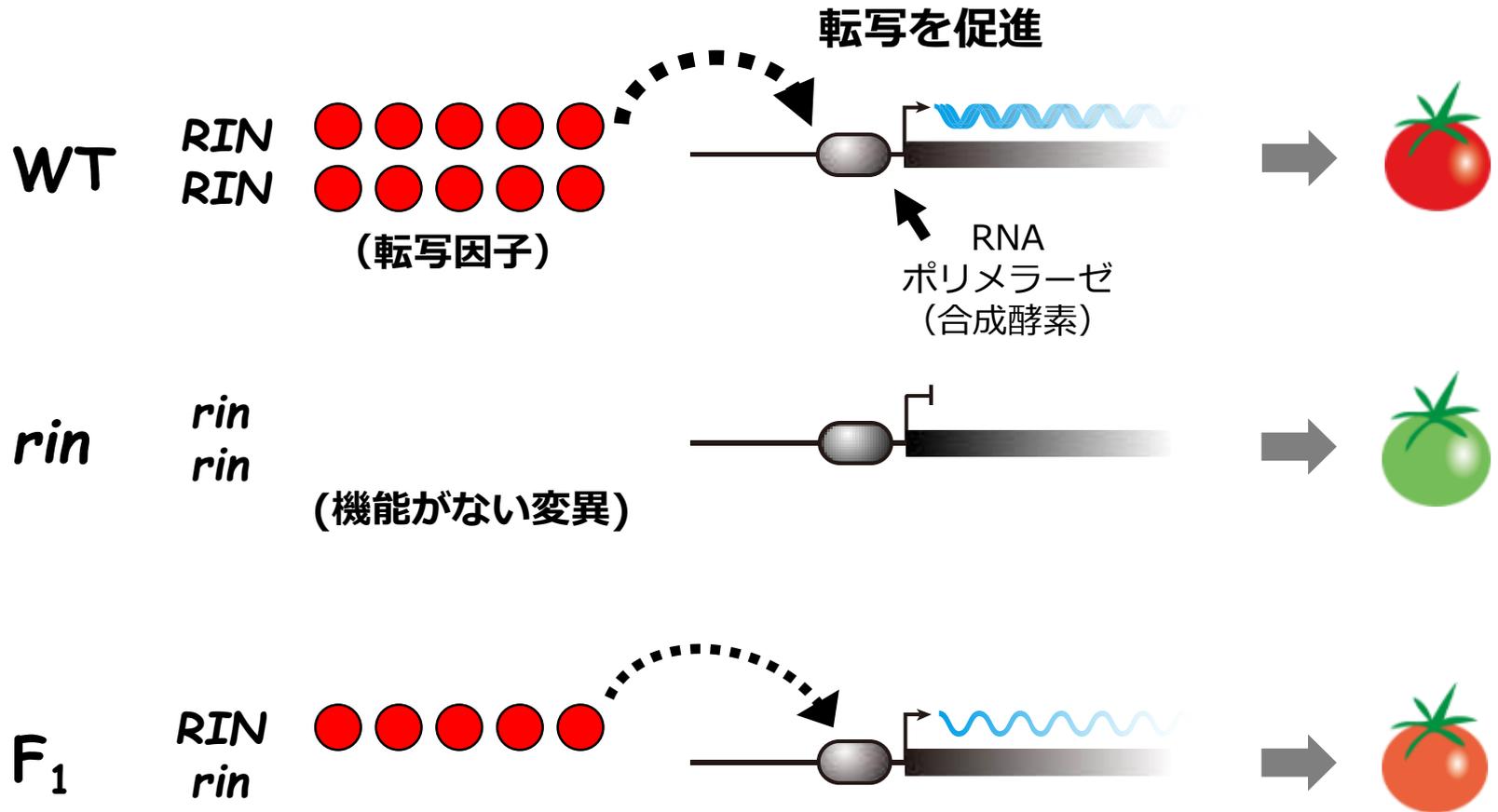


なぜ、「優性の法則」にしたがわない？



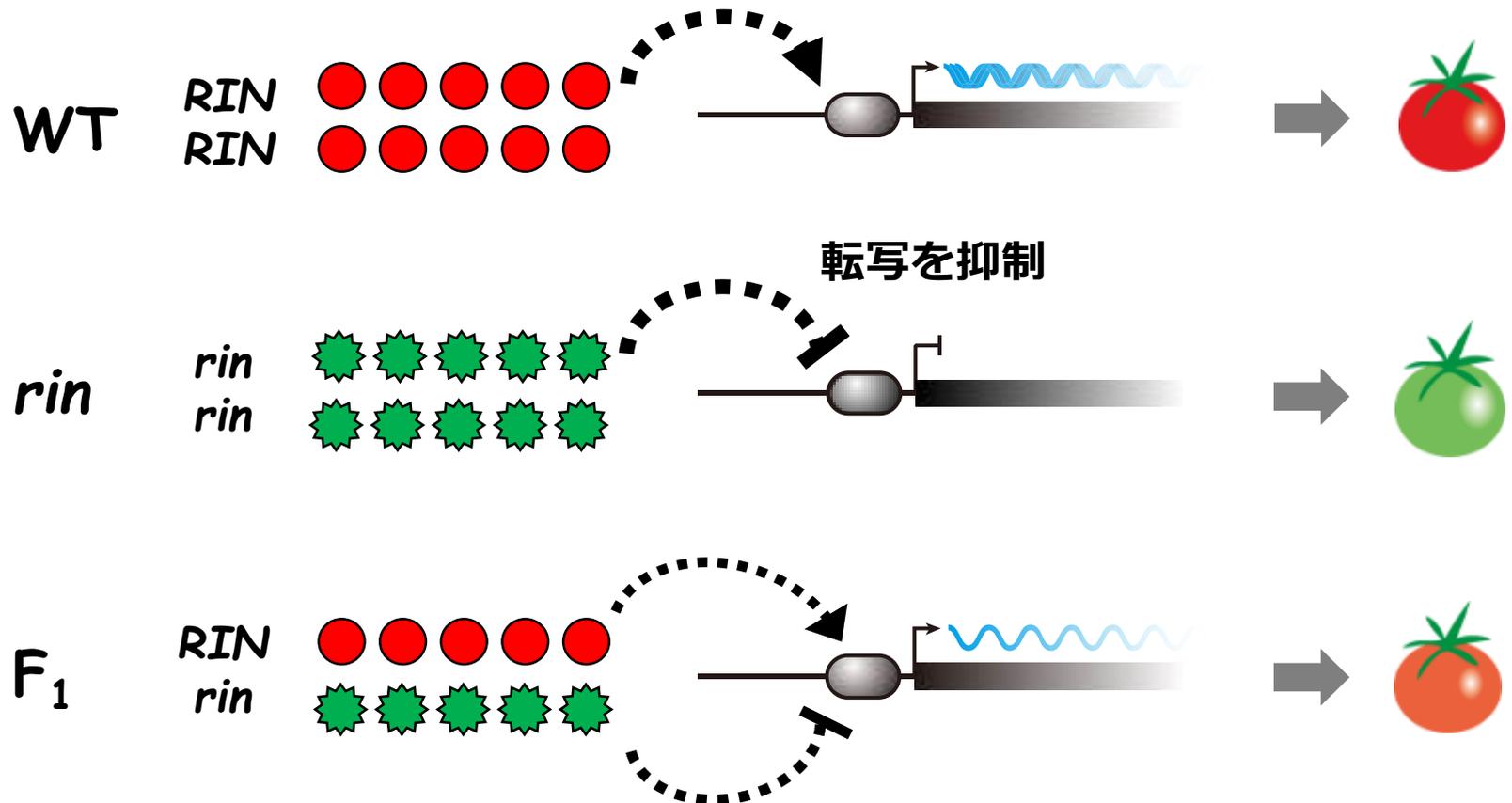
なぜ *rin* 変異は優性の法則にならない？

仮説 1: 正常型遺伝子が半減するから



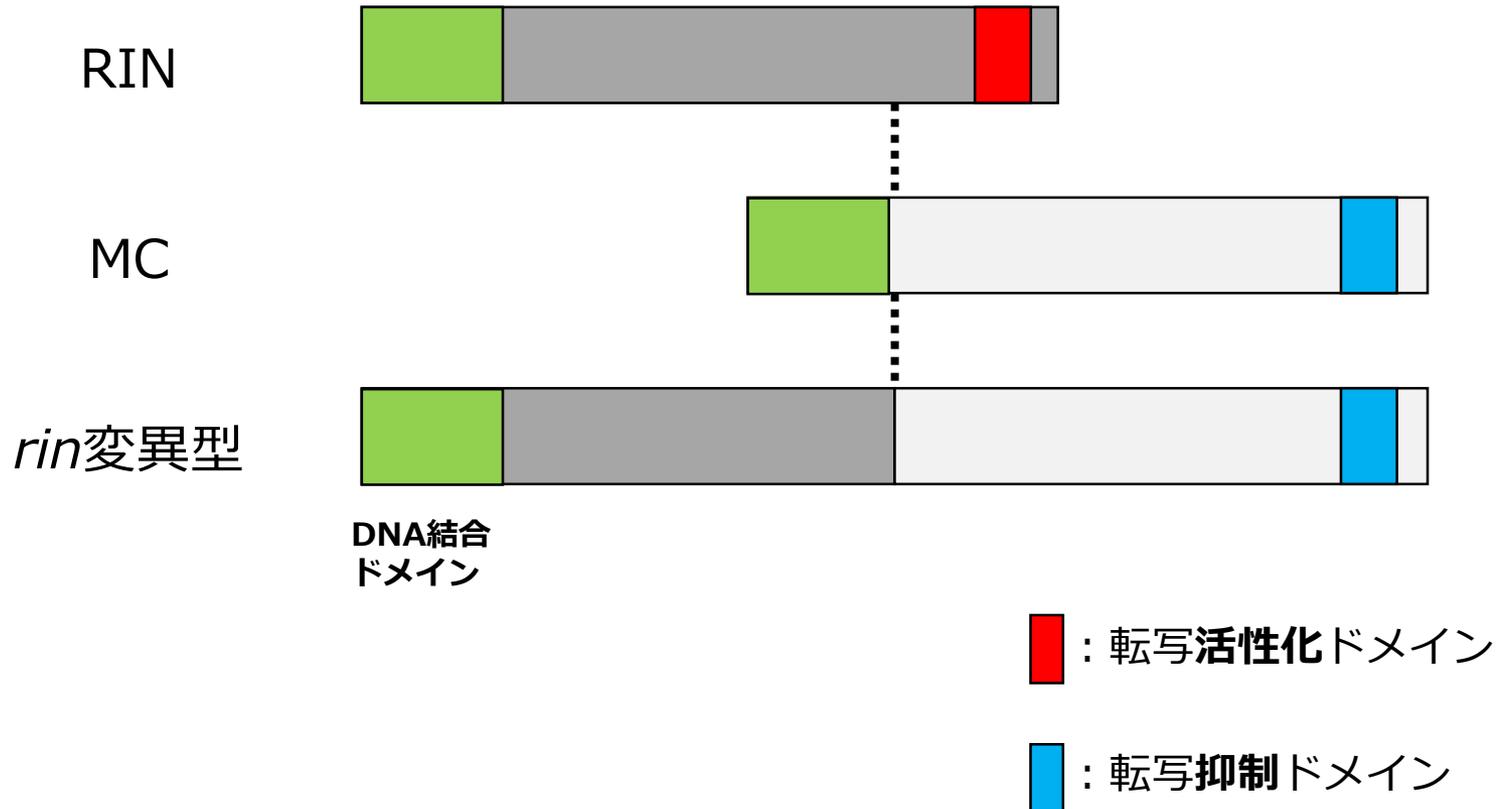
なぜ *rin* 変異は優性の法則にならない？

仮説 2: 変異型遺伝子が正常型遺伝子を抑えている？



"*rin*" 変異は機能が変化した？

RINおよび変異タンパク質の構造



***rin*変異 : 転写の活性化因子 から 抑制因子へ ?**

RIN の発現を完全になくす（ノックアウト）と？

これまでの
常識

☆ **RINは成熟の開始に必須**

☆ **rinは機能がなくなる変異**

(ゲノム編集による)

正常型遺伝子のノックアウト



rin変異遺伝子のノックアウト

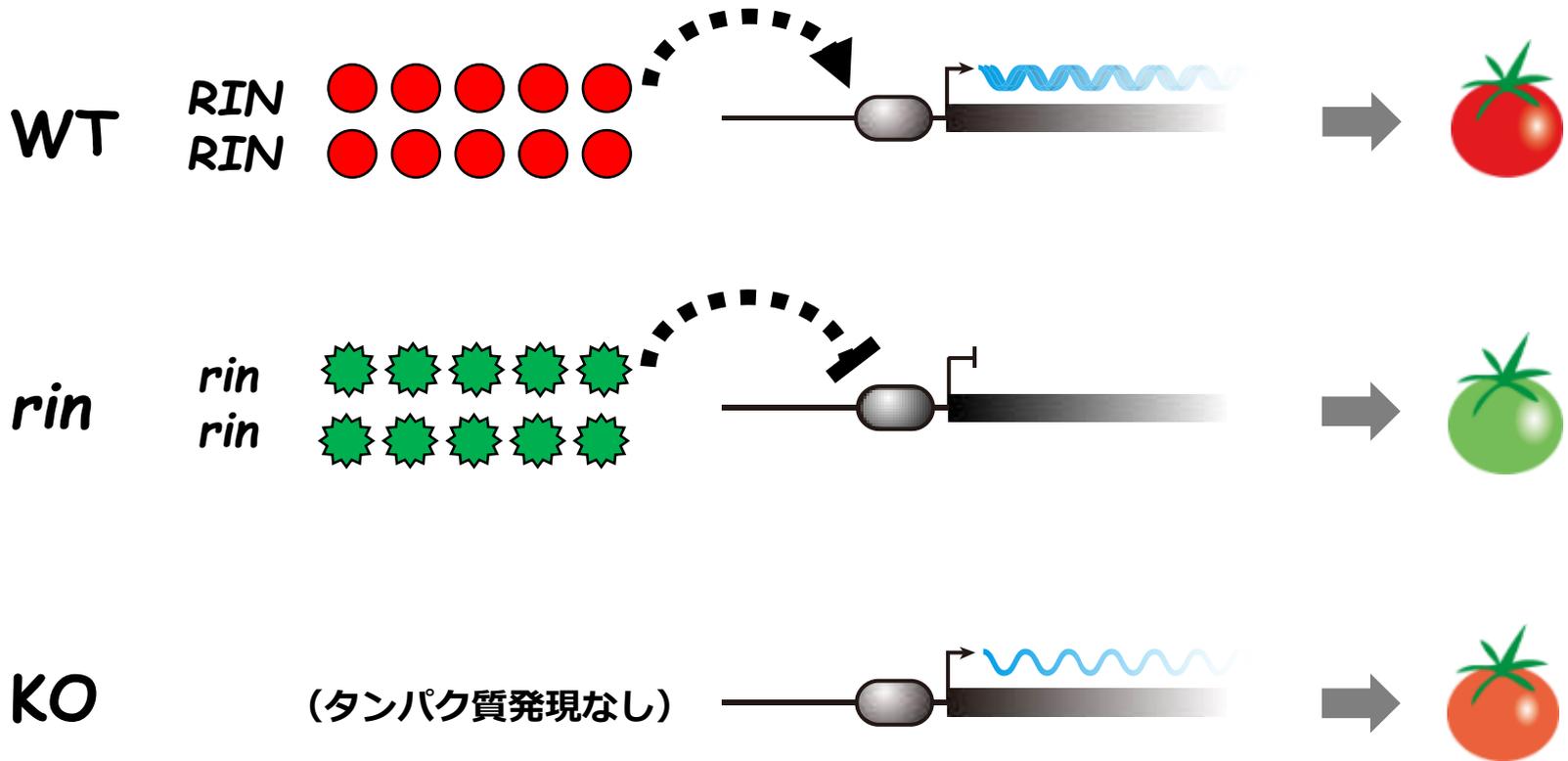


伊藤説

変異により成熟促進因子から
抑制因子に変わったのでは？

RINがないのに（ゆっくり）成熟？

伊藤説：RIN遺伝子をなくしたら成熟がちょっとだけ始まる？



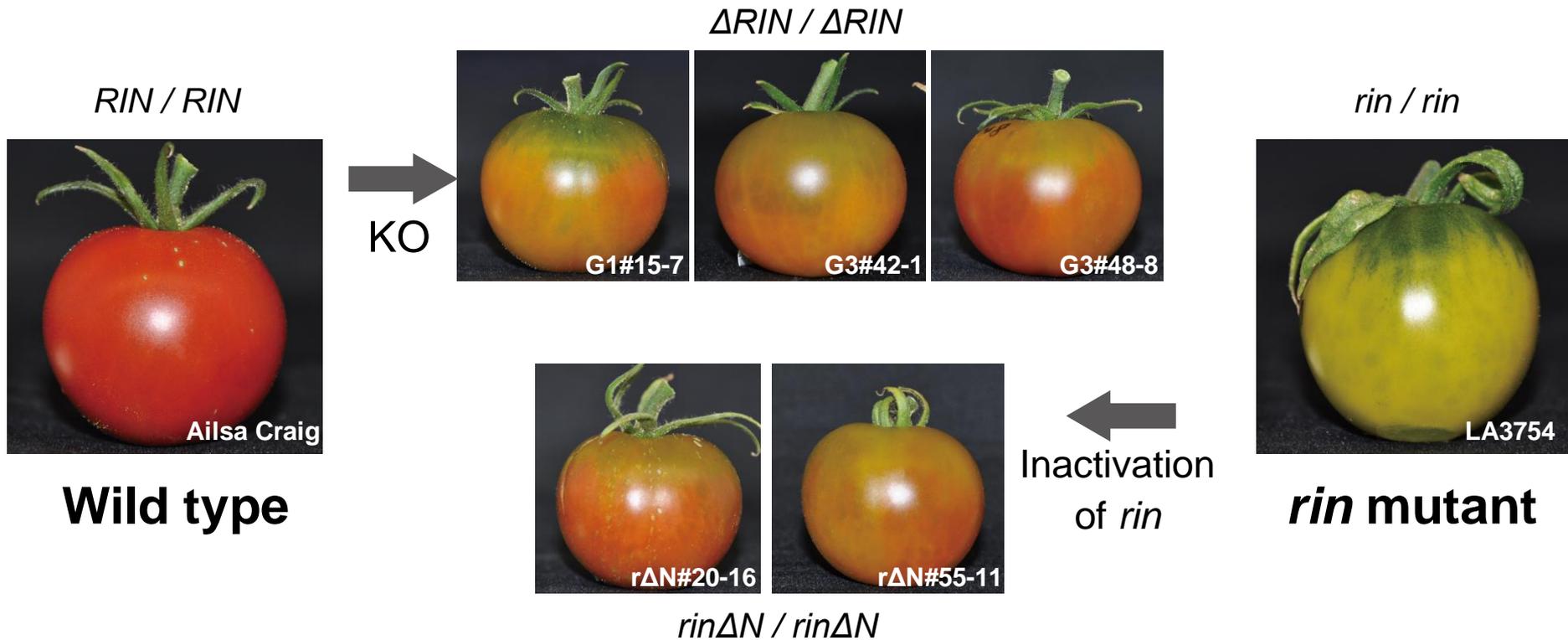
→ ゲノム編集で、タンパク質が発現できなくする変異を起こす

トマトにおけるゲノム編集の実際（変異の検出）

sgRNA	T1 mutant line	cDNA sequences of the target sites and encoding amino acids ^b				
		1	10	20	30	40
G3	Wild type	ttct	<u>tcatacaat</u>	<u>ATGGGTAGAGG</u>	GAAAGTAGAATTGAAGAGAATTGAGAACAAAAT	
			M G R G	K V E L	K R I E	N K I
	LA55-11	ttcttca	-----	TAGAGGG	AAGTAGAATTGAAGAGAATTGAGAACAAAAT	
	LA20-16	ttcttcatacaat	ATGGG	A	TAGAGGG	AAGTAGAATTGAAGAGAATTGAGAACAAAAT
			M G	*	R E S R I E E N	* E O N

(Ito et al. *BBRC* 2015)

ゲノム編集による *RIN* 遺伝子のノックアウト

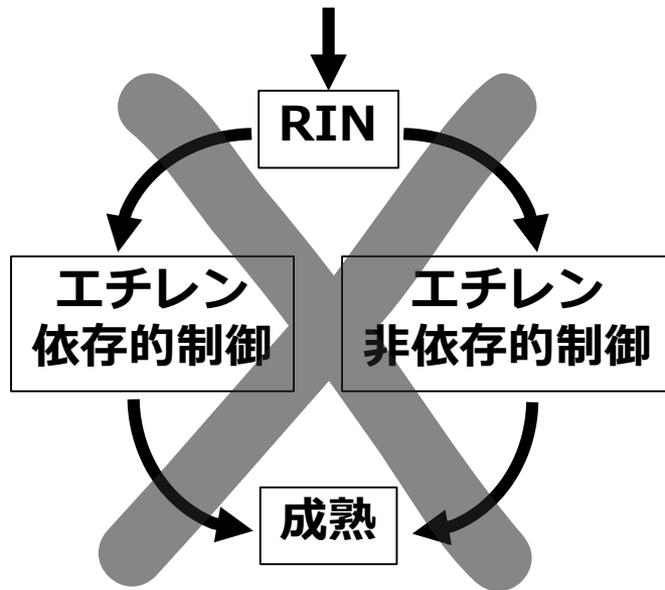


伊藤説が正しい！

(Ito et al. *Nature Plants* 2017)

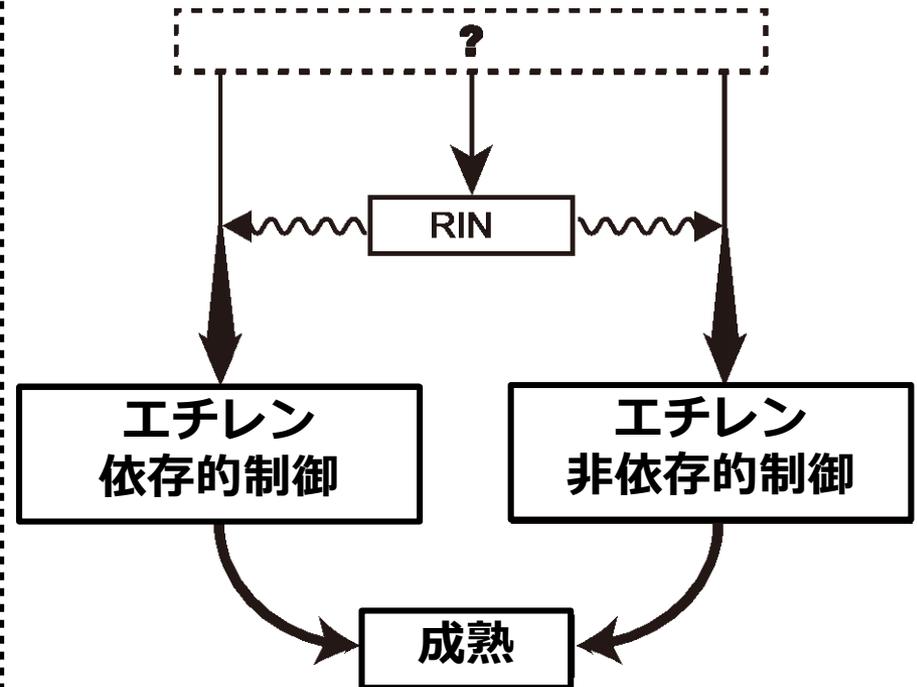
トマトの成熟制御の新しい考え方

従来モデル



RIN は成熟に必須

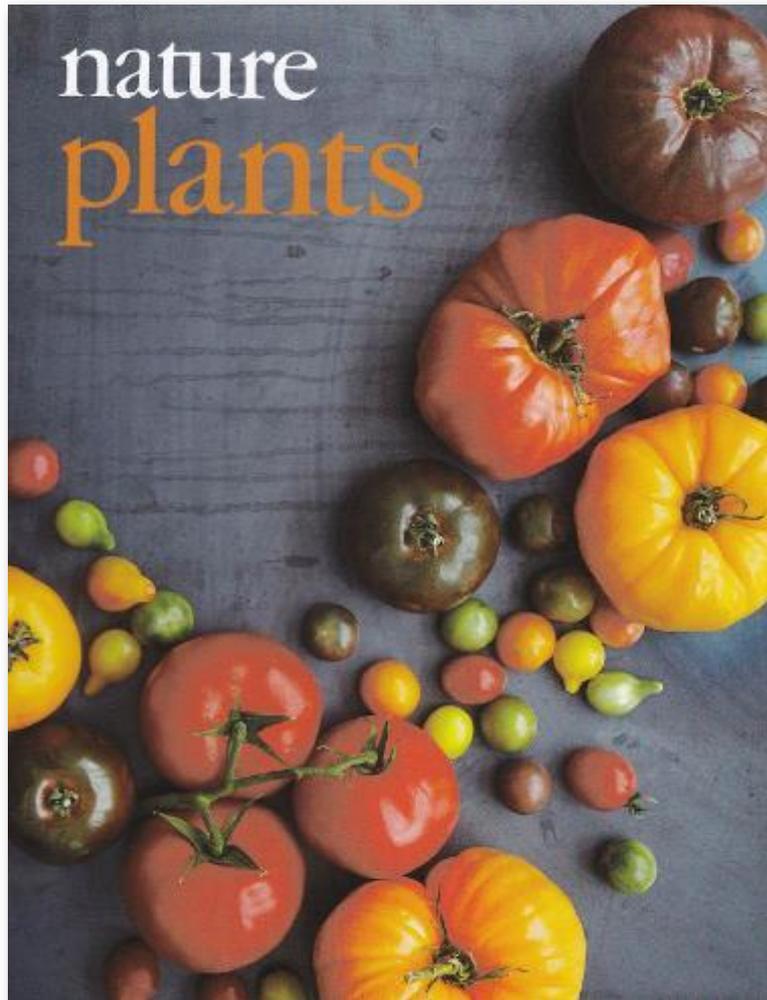
新モデル



RIN は成熟開始に必ずしも必要ない

RIN は成熟の進行を促進する

半世紀間の「常識」を覆した！



1968年 *rin* 変異体発見の論文



現在も、世界中で、
トマト成熟の研究者が使っている

半世紀分の成熟研究を見直す必要あり？

(研究の世界の厳しい競争)

2週間差で、先に論文を公開！

Ito et al. (2017) *Nature plants* 3(11) 866-874

今日のトピック

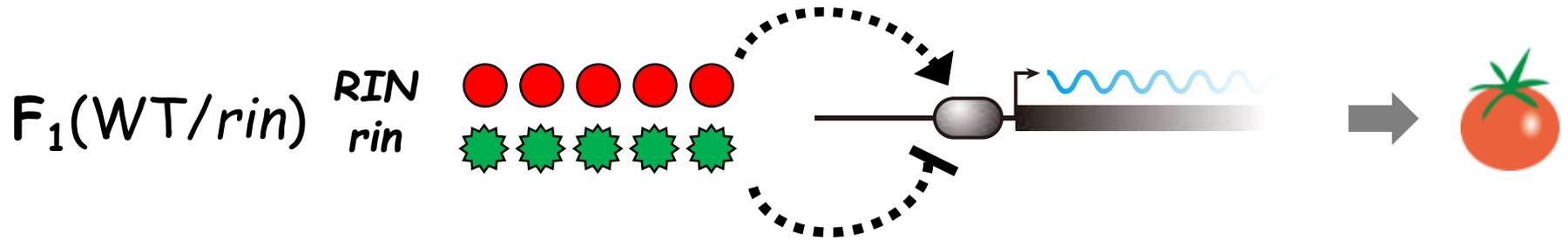
1. 育種に使われるトマトの変異
2. ゲノム編集法とは？
3. トマト成熟のコントロール
 - 常識を打ち破れ！
4. ジョイントレスのメカニズム
 - セレンディピティの意味を知る

セレンディピティ (serendipity)

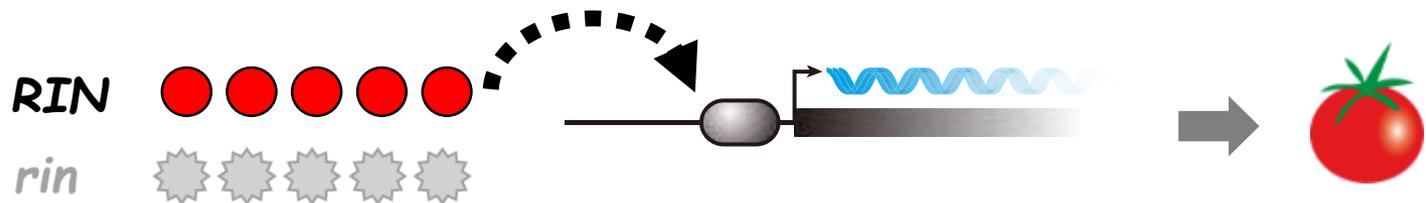
- 素敵な偶然に出会ったり、予想外のものを発見すること。
- 何かを探しているときに、探しているものとは別の価値があるものを偶然見つけること。
- 平たく言うと、ふとした偶然をきっかけに、幸運をつかみ取ることである。

「伊藤説」を証明するには？

伊藤説：変異型遺伝子が正常型遺伝子を抑えている？



変異遺伝子 (*rin*) を発現させなくすれば...

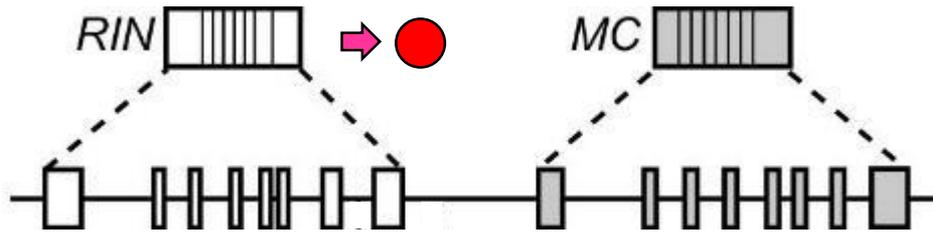


普通に成熟するようになれば、*rin* の抑制機能を証明できる！

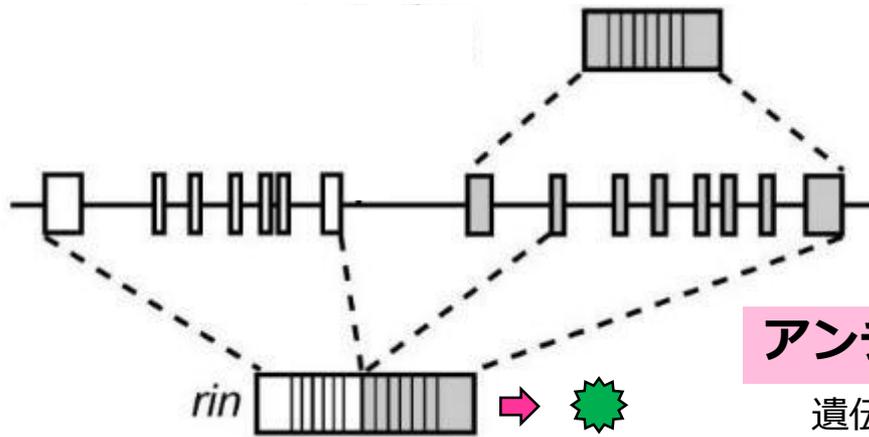
rin 変異遺伝子を抑え込む！

F₁系統の
相同染色体

正常型



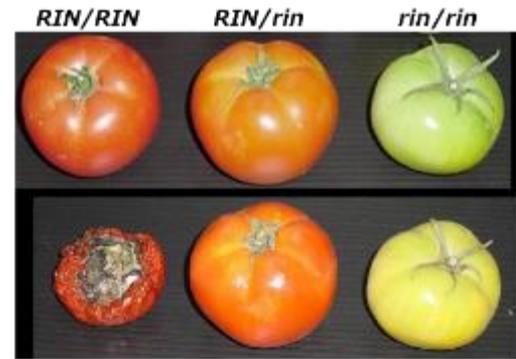
変異型



F₁

1 day

49 day

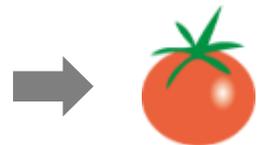
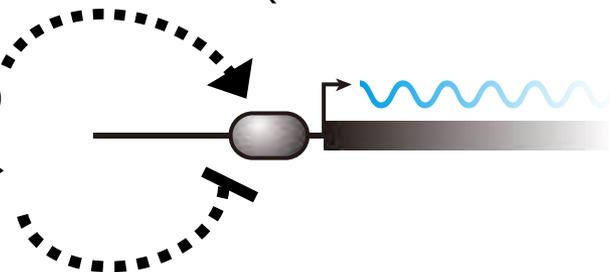
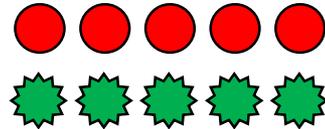


アンチセンスRNA法を適用！

遺伝子の発現を抑制する方法。
相補な配列を持つRNAを
(組換え遺伝子を導入して)発現させる。

F₁(WT/*rin*)

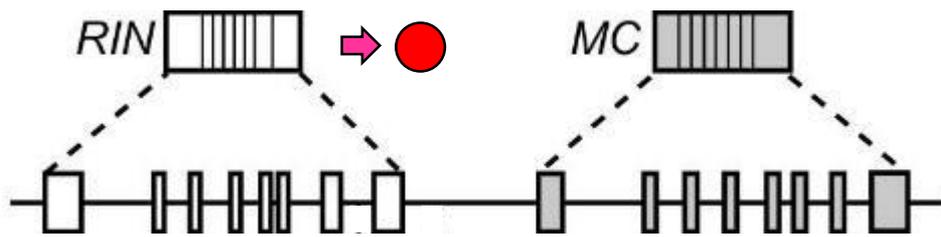
RIN
rin



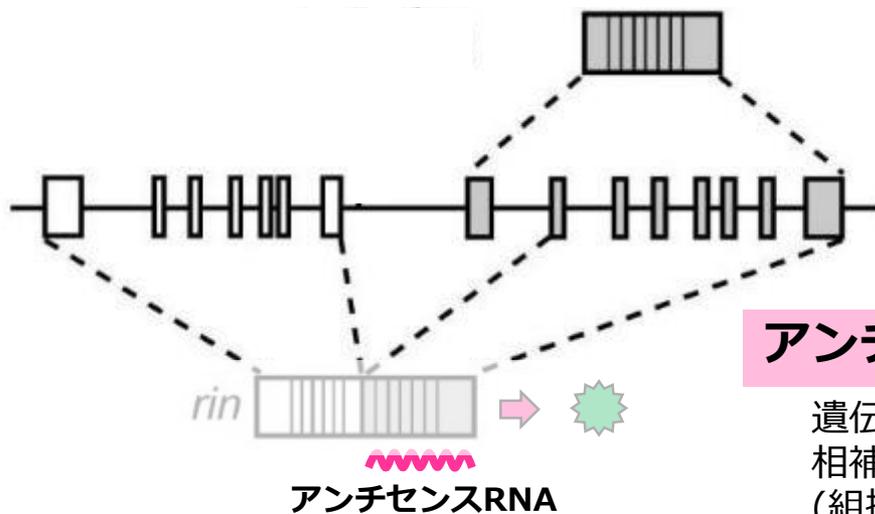
rin 変異遺伝子を抑え込む！

F₁系統の
相同染色体

正常型



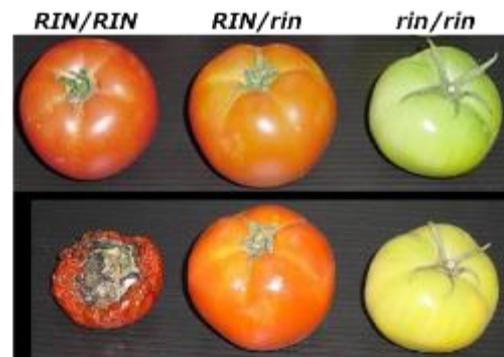
変異型



F₁

1 day

49 day

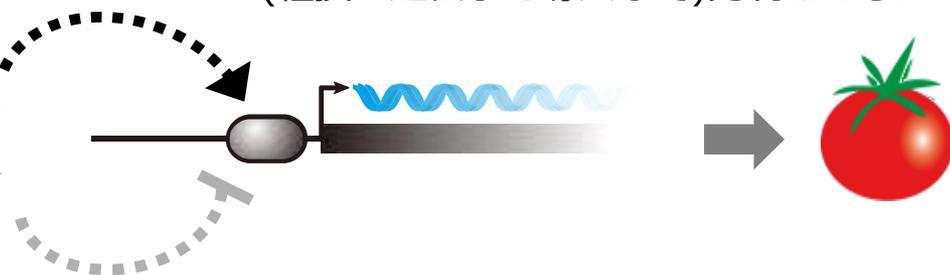
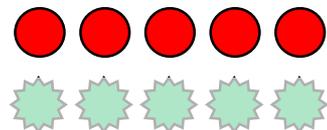


アンチセンスRNA法を適用！

遺伝子の発現を抑制する方法。
相補な配列を持つRNAを
(組換え遺伝子を導入して)発現させる。

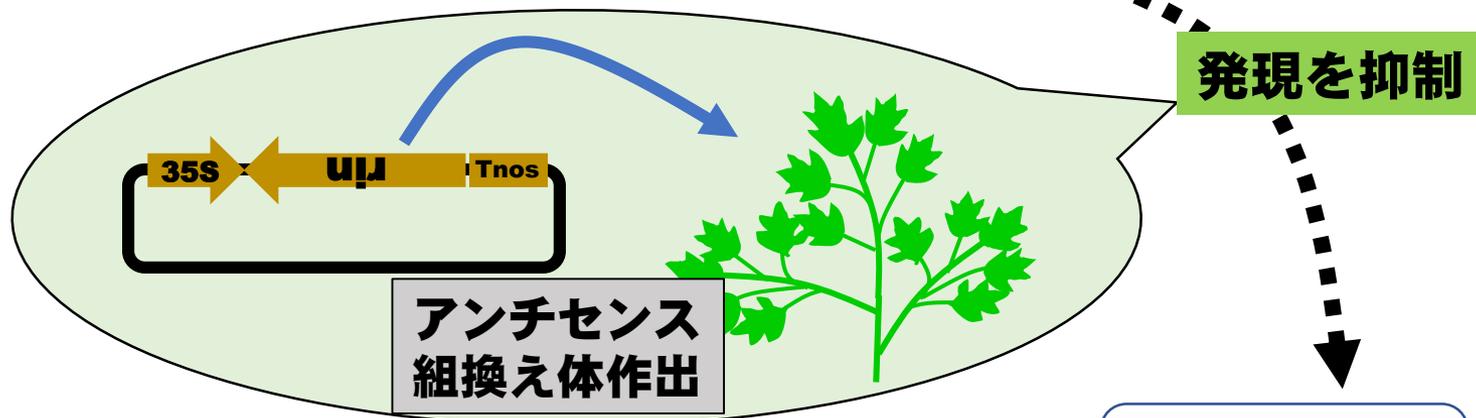
F₁(WT/*rin*)

RIN
rin



「ジョイントレスになってますよ」 by カゴメ(株) 金原氏

アンチセンス遺伝子



正常型



rin
変異体



jointless
変異体



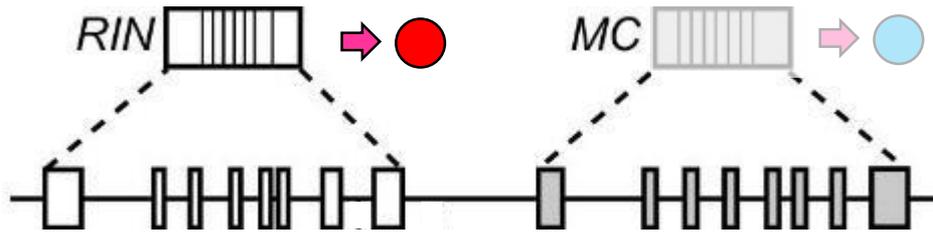
アンチセンス
組換え体



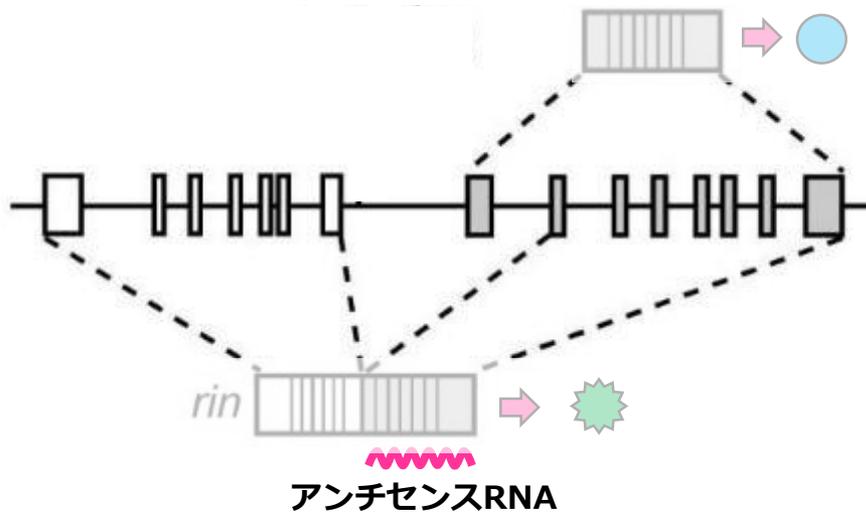
rin 変異遺伝子を抑え込む！

F₁系統の
相同染色体

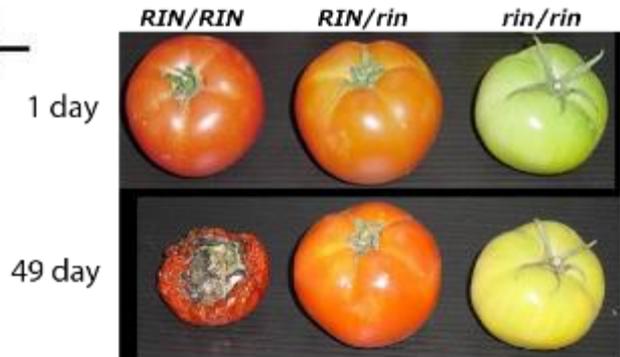
正常型



変異型

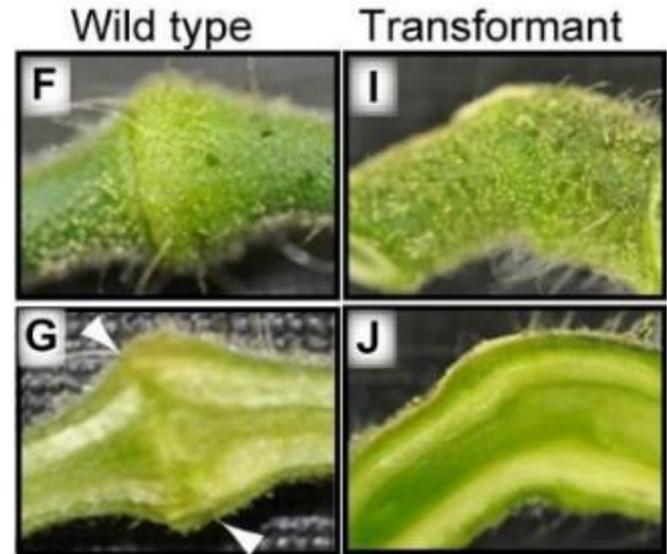


F₁



MC 遺伝子が抑え込まれてた...

「ジョイントレスになってますよ」 by カゴメ(株) 金原氏

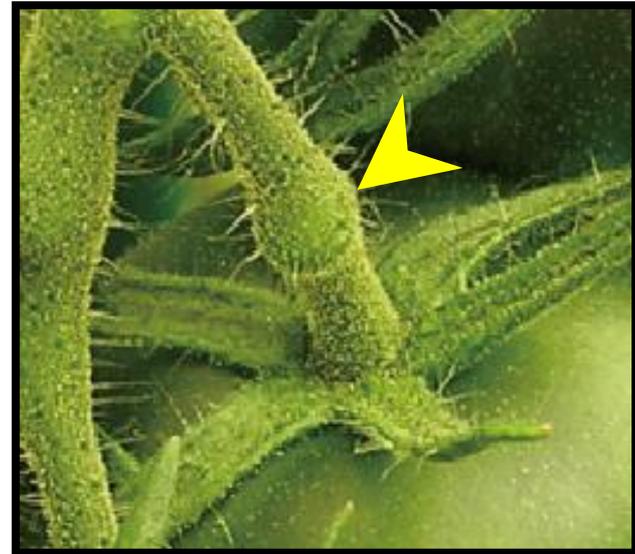
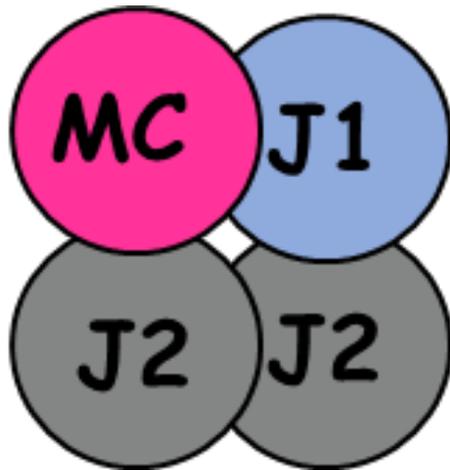


MC 遺伝子が抑制されて、ジョイントレスになった

要約

MC が離層の形成を制御していることを発見

MC は J-1、J-2 と複合体を形成して離層形成を制御



肝心の *rin* 遺伝子の機能解析は？



正常型

F₁ 系統

アンチセンス
系統

それっぽいが、中途半端な結果に終わった...

→ 後年、ゲノム編集技術により解決

ジョイントレス研究の応用 – リンゴの台風被害を防ぐ



一つの台風で数十億円以上の被害も...

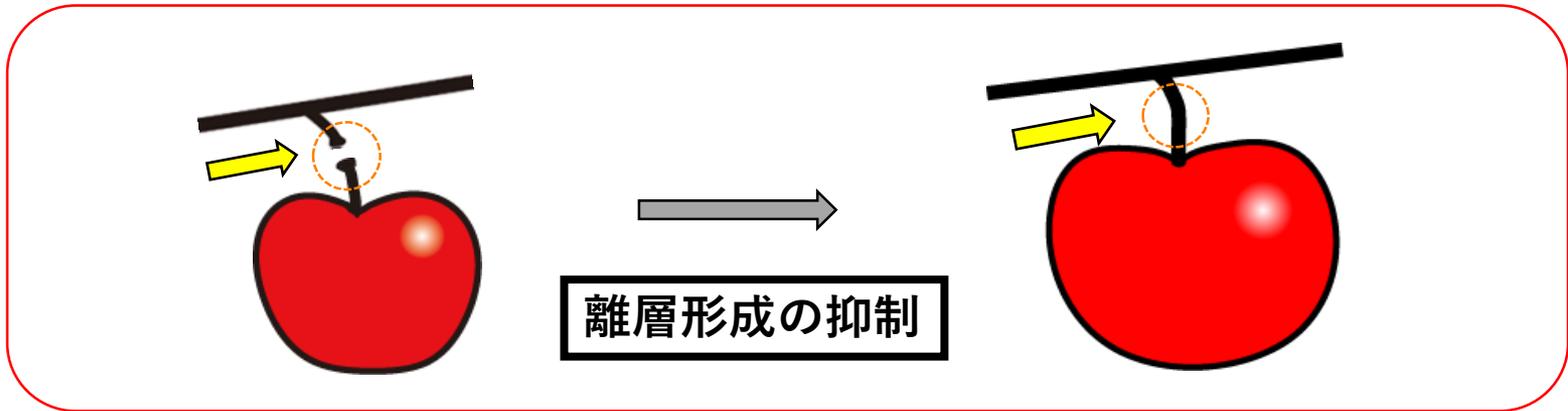
落果は「離層」から起こる



ジョイントレス リンゴの作出

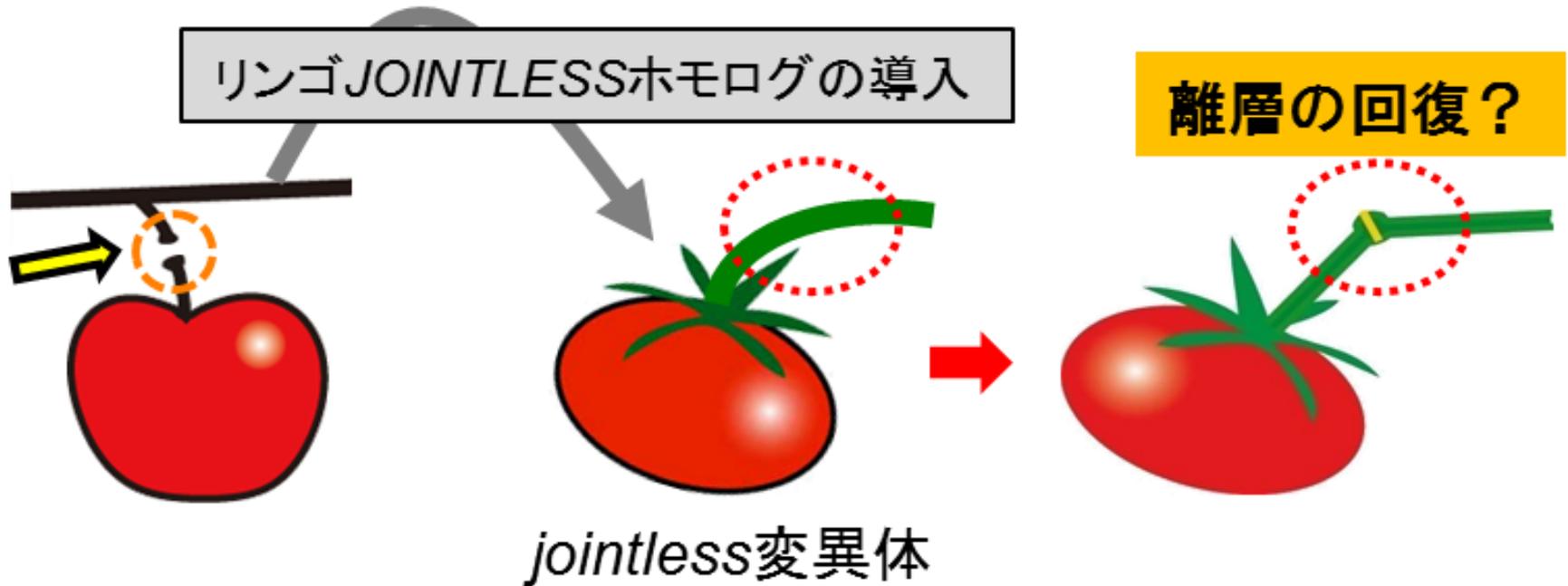


落果被害を抑制することができる？



リンゴ *J-1* 類似遺伝子の研究 – 離層形成制御に関わる？

実験の概要



リンゴの遺伝子がトマトに離層を形成できるか？

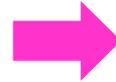
リンゴノ相同遺伝子の機能解析 – 離層形成制御に関わる？

結果



ジョイントレス
変異体

リンゴ遺伝子の
導入



離層形成
の回復！

組換え体

リンゴ相同遺伝子の導入によって離層の形成が回復した！

要約

トマトとリンゴの離層形成は共通のシステムで制御されている可能性がある。

栽培管理上、リンゴの離層は必要！
(ジョイントレスは要らないのでは...)



研究中断. . .



Nakano et al. (2015) *Plant Cell Physiol*
56,1097-1106

参考文献

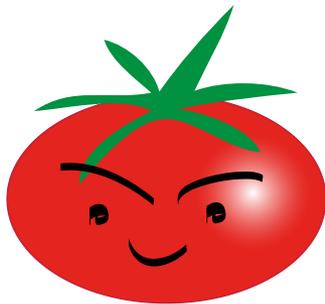
- 1) 伊藤「加工用トマトの収穫作業を効率化するジョイントレス遺伝子」
野菜情報、171(6):41-49, 2018
- 2) 伊藤「高日持ちトマトの謎が明らかに－半世紀にわたる成熟制御因子の誤解を解く」
ニューフードインダストリー、60(9):1-10, 2018

謝辞

NFRI

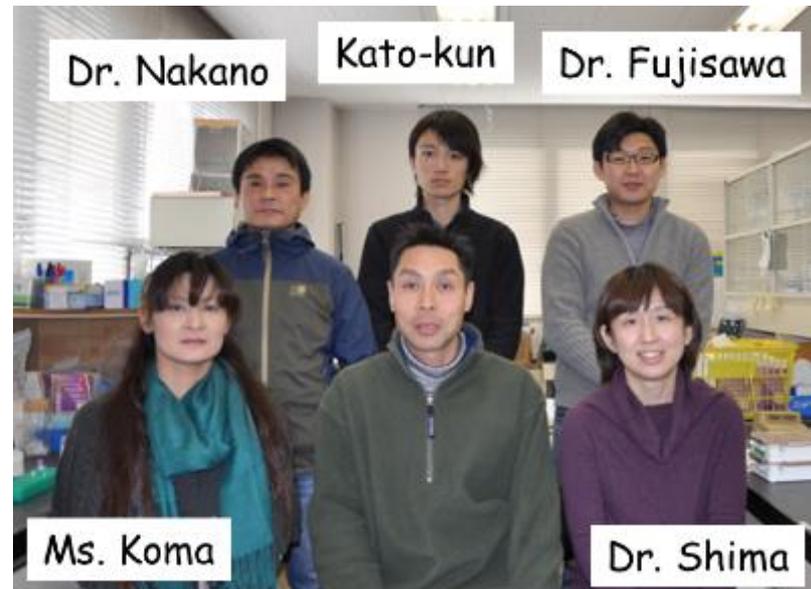
Dr. Toshitsugu NAKANO
Dr. Masaki FUJISAWA
Dr. Yoko SHIMA

Mr. Hiroki KATO
Ms. Akemi KOMA
Ms. Yayoi SASAKI



KAGOME Co., LTD

Dr. Mamiko KITAGAWA
Dr. Junji KIMBARA



本サイエンスカフェは、
農林水産省「平成30年度農林水産先端技術の社会実装の
加速化のためのアウトリーチ活動強化委託事業」の活動
の一環として実施いたしました。