

## 試験研究成果普及情報

部門	その他	対象	研究
課題名：トマト遺伝子の大量発現解析を可能とするDNAアレイ			
[要約] トマトの果実と葉で発現する 10,914 個の遺伝子を配置した DNA アレイを作製した。これにより、トマト遺伝子の網羅的な発現解析が可能である。			
キーワード (専門区分) バイテク (研究対象) 野菜類 - トマト (フリーワード) DNAアレイ、遺伝子発現解析、トマト			
実施機関名 (主 査) 農業総合研究センター生物学部遺伝子工学研究室 (協力機関) かずさDNA研究所植物遺伝子第二研究室 (実施期間) 2002年度～2004年度			

### [ 目的及び背景 ]

DNAアレイ技術は、数千の遺伝子発現を同時に測定できる研究ツールである。DNAアレイを用いて遺伝子発現解析を行うことにより、さまざまな条件下での生理的变化や品種、系統間の生理的特性を知ることができる。このため、DNAアレイ技術の開発には、植物生理学や植物病理学など、多くの方面から期待が寄せられている。

これまでに、イネ、シロイヌナズナといったモデル植物のDNAアレイが開発され、広く利用されているが、国内で利用可能なトマトのDNAアレイは未開発である。そこで、トマトの大量遺伝子発現解析が可能となるDNAアレイを作製する。

### [ 成果内容 ]

1. 作製したDNAアレイは、トマト(品種: Micro-Tom)果実と葉で発現する遺伝子に由来するcDNAクローンの挿入配列をPCR法により増幅し、ナイロンメンブレン上に固定したマクロアレイである(図1)。アレイ上には、10,914個の遺伝子のDNAが配置され、それらの塩基配列情報は、トマトESTデータベースMiBASE<<http://www.kazusa.or.jp/jsol/microtom/indexj.html>>で公開されている。本DNAアレイでは、放射性同位元素でターゲットとなるRNAを標識し、プローブ上のシグナルから遺伝子発現量を測定する。
2. トマト果実のRNAを用いた実験では、DNAアレイ上に配置した大部分の遺伝子の発現が検出できる(図2)。
3. DNAアレイを用いた遺伝子発現解析の1例として、成熟段階別 Micro-Tom の果実を供試したところ、果実成熟とともに発現量が増大するPhytoene synthase等の既知の遺伝子の発現変動が測定できることを確認した(表1)。

### [ 留意事項 ]

1. 信頼性の高い結果を得るために、糖やタンパク質のような不純物の少ない、高純度のRNAを使用する。
2. DNAアレイの分譲については、千葉県農業総合研究センターが照会窓口である。

- [ 普及対象地域 ]
- [ 行政上の措置 ]
- [ 普及状況 ]
- [ 成果の概要 ]

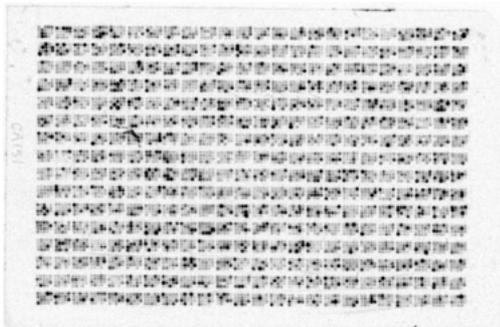


図1 トマトDNAアレイによる遺伝子発現量の測定結果の画像  
 注) 1つの点が1つの遺伝子に対応する。点の濃度が遺伝子発現量を表す。

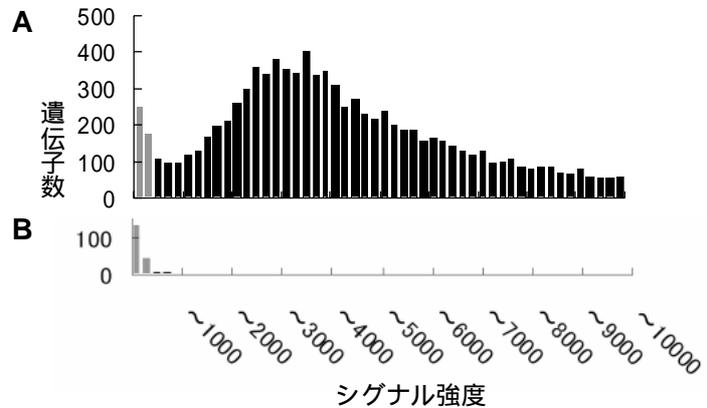


図2 トマト(品種: Micro-Tom)の緑色果実におけるシグナル強度の分布  
 A: 遺伝子のDNAプローブのシグナル強度分布  
 B: DNAプローブ(バックグラウンド測定用)のシグナル強度分布  
 注) バックグラウンドシグナル測定用のDNAプローブの95%を含む区間の遺伝子数を灰色で示す。

表1 トマト果実成熟過程における各種遺伝子の発現シグナル強度

遺伝子産物	遺伝子産物の機能分類	果実の発育段階別の発現シグナル強度 <sup>1)</sup>				
		IG <sup>2)</sup>	G	O1	O2	R
DOXP synthase	非メバロン酸IPP合成	1.09	0.92	1.35	1.19	1.16
DOXP reductisomerase	非メバロン酸IPP合成	0.91	0.97	0.83	0.75	1.03
DPME kinase	非メバロン酸IPP合成	0.63	0.53	0.93	0.73	0.79
MECDP synthase	非メバロン酸IPP合成	1.77	1.21	1.38	1.36	1.75
IPP isomerase	イソプレノイド合成	0.84	1.32	2.61	2.14	1.82
GPP synthase	イソプレノイド合成	0.47	0.38	0.52	0.65	0.65
GGPP synthase	イソプレノイド合成	0.54	0.48	0.62	0.66	0.82
Phytoene synthase 1	カロテノイド合成	1.27	1.55	27.31	25.77	31.88
Phytoene desaturase	カロテノイド合成	0.86	0.57	1.45	1.56	1.26
zeta-Carotenedesaturase	カロテノイド合成	1.04	0.79	1.99	2.05	1.50
Lycopene epsilon-cyclase	カロテノイド合成	0.94	1.00	0.81	0.74	1.11
chromoplast specific Lycopene beta-cyclase	カロテノイド合成	4.20	4.68	5.92	5.86	5.21
ACC oxidase(E8 protein)	エチレン合成	1.43	3.06	54.26	39.09	32.87
Polygalacturonase	細胞壁分解関連	0.39	0.40	111.44	96.28	61.39
Chlorophyll a/b-binding protein	光合成関連	4.00	2.36	0.78	0.62	0.63

1) 各遺伝子のシグナル強度をアレイ上の全遺伝子のシグナル強度の中央値で除した値

2) IG: 開花20日後の未成熟果実、G: 開花30日後の緑色果実、O1: 橙色果実、O2: 濃橙色果実、R: 赤色果実

[ 発表及び関連文献 ]

- 平成16年度野菜茶業課題別研究会
- 育種学研究第六巻別冊1号(2004)p40
- 育種学研究第五巻別冊2号(2003)p168
- 平成14~15年度生物学試験成績書

[ その他 ]

農林水産試験研究高度化事業「課題名: DNAアレイを活用したトマト果実の育種選抜技術の開発」