

**【成果情報名】 アレルゲンタンパク質含有量の低いトマト育種への *rin* 遺伝子の利用**

**【要 約】** 成熟制御遺伝子 *LeMADS-RIN* 遺伝子の *rin* 変異をヘテロに持つトマトは生食に適した成熟を示しながら優れた高日持ち性を示す。このトマトはトマトアレルゲンとして知られるβ-fructofuranosidase 及び PG-2A の発現が少なく、その抽出液は正常型と比較してトマトアレルギー患者血清に対する反応性が低下していた。従って *rin* 変異遺伝子は低アレルゲントマトの育種において有望な素材と言える。

**【部 署】** 食品総合研究所・生物機能開発部・細胞機能研究室

**【連絡先】** 029-838-8050 yasuito@affrc.go.jp

**【成果区分】** 参考

**【キーワード】** トマト、アレルゲンタンパク質、*rin* 変異遺伝子、高日持ち性

---

**【背景・ねらい】**

日持ち性を改善する目的でカゴメ（株）において育種された *rin* 変異遺伝子をヘテロに持つトマトは生食に適した成熟を示しながら優れた高日持ち性を示す（図1）。このトマトの特性を解析をする過程で、トマトアレルギーの原因タンパク質となる遺伝子の転写量が減少していることを見出した。一般にトマトアレルギーの症状として、患者が生果実を食したときに口腔周辺部にかゆみや刺激感等が生じる（Oral allergy syndrome; OAS）ことが知られている。そこで *RIN/rin* ヘテロ型トマトにおいてアレルゲンタンパク質の蓄積が低下していることを実証し、低アレルゲントマト育種における *rin* 変異遺伝子の利用の可能性を調査する。

**【成果の内容・特徴】**

1. *RIN/rin* ヘテロ型トマトのマイクロアレイ解析によりトマトアレルゲンタンパク質として知られるβ-fructofuranosidase 及び PG-2A の mRNA 転写量が低下していることを見出した。この結果についてはリアルタイムPCR法で再現性を確認した（図2）。
2. 両タンパク質について果実成熟過程における蓄積量を検討した結果、両タンパク質ともヘテロ型トマトにおいて蓄積量が大きく減少していることが明らかとなった（図3）。
3. 正常型及びヘテロ型トマトから抽出したタンパク質のIgE反応性を、患者血清を用いてウェスタンブロット法により調べたところ、正常型トマトにおいて反応するタンパク質のうち、ヘテロ型トマトではβ-fructofuranosidase と思われるバンド以外にもいくつかのバンドについてシグナルが弱くなったり、消失したりするものがあった（図4）。
4. 以上の結果より、*RIN* 遺伝子はアレルゲンとなるタンパク質の発現に関与しており、*rin* 変異遺伝子の利用によりその発現が低下することが示された。従って低アレルゲントマトの育種においては、本遺伝子の利用、例えばここで示した *RIN/rin* ヘテロ型トマトが利用できる可能性がある。

**【成果の活用面・留意点】**

正常型のトマトに比べると、IgE 反応性を示すタンパク質の量は明白に減少しているが、完全に消失するわけではないので、ヘテロ型果実を実際に患者が食べられるのかどうかは、十分その反応性を医学的に検討していく必要がある。

[ 具体的データ ]

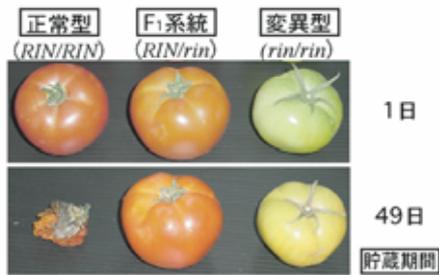


図1 トマト果実におけるrin変異遺伝子の影響  
正常型果実は収穫して49日後には劣化し萎びているが、F1系統果実は変異型果実と同様に、外観を維持していた。

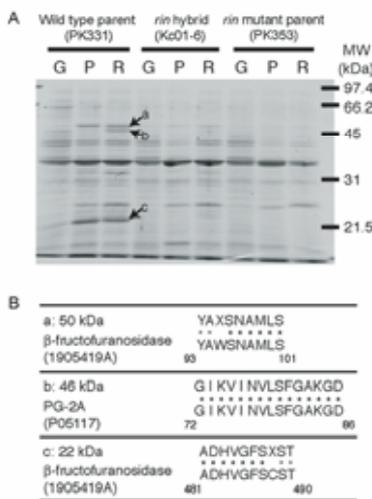


図3. トマト果実のタンパク質蓄積における変異rin遺伝子の影響  
A. トマト粗抽出タンパク質のSDS-PAGE解析  
正常型のPとRステージで検出された50 kDa(a)と22 kDa(c)のバンドはF1系統果実ではごくわずかに検出されなかった。正常型のRステージで検出された46 kDaのバンド(b)もF1系統果実ではごくわずかに検出されなかった。  
B. 既知のタンパク質配列とのN末端アミノ酸配列の比較  
上記Aでa, b, cと示された3つのバンドのN末端アミノ酸配列を決定した。各タンパク質名の下にDDBJ Accession Numberを記した。  
\*は一致したアミノ酸を表す。

[ その他 ]

研究課題名：低アレルギートマトの開発に関する研究

予算区分：経常

研究期間：2004～2005年度（2005年度）

研究担当者：伊藤康博、森山達哉（近畿大学）北川麻美子（カゴメ（株））

発表論文等：

- 1) M. Kitagawa *et al.*, Characterization of tomato fruit ripening and analysis of gene expression in F<sub>1</sub> hybrid of the ripening inhibitor (*rin*) mutant. *Physiologia Plantarum*, **123**(3), 331-338 (2005)
- 2) M. Kitagawa *et al.*, Reduction of allergenic proteins by the effect of the ripening inhibitor (*rin*) mutant gene in F<sub>1</sub> hybrid of the *rin* mutant tomato. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (2006) (in press)

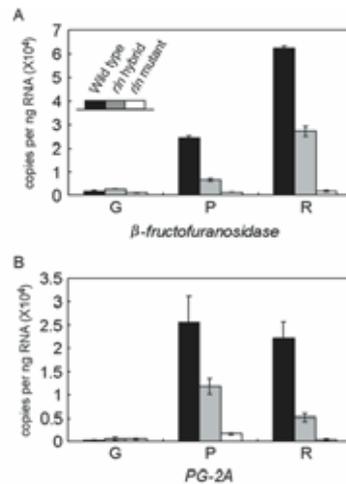


図2. β-fructofuranosidase及びPG-2AのmRNAの定量

A β-fructofuranosidase 遺伝子の発現量  
正常型とF<sub>1</sub>系統果実では果実の成熟に伴い発現量は増加したが、F<sub>1</sub>系統のRステージにおける発現量は正常型の半分以下であった。  
B PG-2A 遺伝子の発現量  
正常型とF<sub>1</sub>系統果実ではPステージで一気に増加し、Rステージでやや減少したが、Pステージにおける発現量は正常型の半分以下であった。

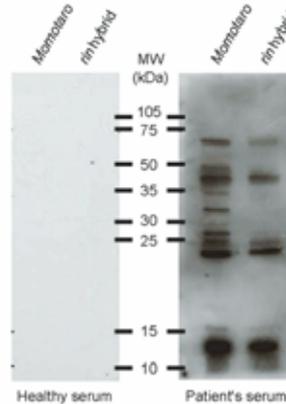


図4. トマトアレルギー患者血清を用いた完熟果実のイムノブロット解析

F<sub>1</sub>系統果実のIgE反応性は桃太郎（正常型）と比べ明らかに低下していた。正常型果実で反応性を示したおよそ50 kDaのバンドがF<sub>1</sub>系統果実でははっきりと消えていた(▲)。その他のバンドも薄くなったりなくなったりした(△)。