

平成21年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

1	4	6	0	3
---	---	---	---	---

 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学
3. 研究種目名 若手研究(B) 4. 研究期間 平成21年度～平成22年度
5. 課題番号

2	1	7	7	0	0	4	6
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題名 タバコアルカロイド合成の制御遺伝子の同定
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
40343272	フリガナ ショウジ ツバサ 庄司 翼	バイオサイエンス研究科	助教

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		
	フリガナ		

9. 研究実績の概要

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

オリゴDNAアレイ解析により低ニコチン変異株 *nic1nic2* において発現抑制されている遺伝子として転写因子 *NtTF1* 遺伝子が新たに同定した。ゲノムDNAを鋳型としたPCR解析の結果、***NtTF1*とその相**
同遺伝子 *NtTF2-6*は *nic2*変異遺伝型でゲノムから欠失していた。また分離集団を用いた解析から *NtTF1-6*は遺伝的に連鎖しており *NIC2* 遺伝子座に座位することが推定された。*nic1nic2* 変異体の形質転換毛状根に *NtTF1*, *NtTF2*, *NtTF3*, *NtTF5* を構成的に**過剰発現**させると *NIC* による制御を受ける生合成遺伝子の発現が誘導されニコチン蓄積量も増加した。さらに**条件誘導的**に *NtTF1* を過剰発現させた場合も同様に遺伝子誘導が見られ、それらの誘導はシクロヘキシミド存在下でも起こることから *NtTF1* による遺伝子活性化は**1次応答**であることが示唆された。一方、CREST法を用いて *NtTF1*, *NtTF6* の優性な機能欠損を引き起こすと野生型毛状根において生合成遺伝子群の発現、ニコチン蓄積共に抑制された。組換え *NtTF1*, *NtTF2*, *NtTF3*, *NtTF5*, *NtTF6* タンパク質はいずれも *PMT* 遺伝子プロモーター内のシス配列 **EX** に結合することが **EMSA 解析**により示された。EX 様配列は *PMT* 以外の生合成遺伝子プロモーターにも見出された。BY2 培養細胞の一過性発現系を用いた**トランスアクティベーション解析**において *NtTF1* が *PMT*, *QPT2*, *NBB1*, *A622* プロモーターを活性化することや少なくとも *PMT* プロモーターにおいて EX 配列に変異を導入すると *NtTF1* による活性化が起こらなくなることが示された。

10. キーワード

(1) 植物	(2) 二次代謝	(3) アルカロイド
(4) ニコチン	(5) タバコ	(6)
(7)	(8)	(裏面に続く)

11. 研究発表（平成21年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（1）件 うち査読付論文 計（1）件

著 者 名	論 文 標 題			
Shoji T, Inai K, Yazaki Y, Sato Y, Takase H, Shitan N, Yazaki K, Goto Y, Toyooka K, Matsuoka K, Hashimoto T.	Mulyidrug and toxic compound extrusion-type transporters implicated in vacuolar sequestration of nicotine in tobacco roots.			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁
<i>Plant Physiology</i>	有	149	2009	708-718

著 者 名	論 文 標 題			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁

著 者 名	論 文 標 題			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁

〔学会発表〕 計（1）件 うち招待講演 計（0）件

発 表 者 名	発 表 標 題		
庄司翼、橋本隆	タバコBY2培養細胞ではなぜニコチンではなくアナタピンが蓄積されるか？		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
日本植物細胞分子生物学会	2009年7月29日	日大(神奈川)	

〔図 書〕 計（0）件

著 者 名	出 版 社		
書 名	発 行 年	総ページ数	

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出 願〕 計（0）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取 得〕 計（0）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。

--