

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成 23 年度）

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 基盤研究(C) 4. 補助事業期間 平成 23 年度～平成 25 年度
5. 課題番号

2	3	5	7	0	0	5	5
---	---	---	---	---	---	---	---
6. 研究課題 タバコアルカロイド制御遺伝子の機能解析
7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
4 0 3 4 3 2 7 2	シヨウジ 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

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名

9. 研究実績の概要

1) ERF転写因子とジャスモン酸シグナル伝達系の関係性の解明 高等植物は普遍的なコアとなるジャスモン酸シグナル経路を持っている。タバコにもジャスモン酸伝達系を構成するCOI1, JAZ, MYC2は保存されており、いずれの機能を阻害してもニコチンのジャスモン酸応答性は失われる。特に転写因子であるMYC2はニコチン生合成遺伝子プロモーター内のG boxに結合して直接に転写活性化するばかりでなく、ニコチン制御に関わるクレード2のERFの発現も直接または間接的に制御することが示された。クレード2のERFはいずれもジャスモン酸応答性を示すがその応答性はMYC2に依存するものと考えられる。 2) ERF転写因子レギュロンへの一次代謝遺伝子のリクルート タバコにはQPTをコードする2つの遺伝子QPT1とQPT2（いずれもN. tomentosiformisに由来する）が存在するQPT1はすべての器官でジャスモン酸処理の有無にかかわらず構成的に発現するのに対して、QPT2は他のニコチン生合成遺伝子と同様にジャスモン酸応答性、根特異性を示し、かつNIC遺伝子の制御を受ける。実際、ERF189の過剰発現や機能抑制型ERF189の発現はQPT2の発現にのみ影響を与えた。QPT2遺伝子のプロモーター領域には3つの機能的なERF189結合配列が存在し、いずれもERF189によるQPT2プロモーターの活性化に寄与することが、in vitro結合解析、一過的発現系を用いたトランスアクティベーション解析、及び、タバコ形質転換毛状根を用いたプロモーター解析から分かった。一方、QPT1プロモーターはERF189に結合せず、またその制御を受けなかった。

10. キーワード

(1) ニコチン

(2) 転写因子

(3) ジャスモン酸

(4)

(5)

(6)

(7)

(8)

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

本研究内容はERF転写因子のジャスモン酸伝達系における位置付けや本因子の統括する生合成レギュロンの進化に関する洞察を与えるものである。筆頭著者としての2編の論文発表を含む多くの成果を得ている。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

タバコNIC2-locus ERFであるERF189に関してはその結合配列特異性が解析され、ERF189結合性シス配列がニコチン生合成遺伝子プロモーター上に複数個推定された(投稿中)。一方、ニチニチソウORCAに関しては同様の知見はない。これまでに申請者はORCA3がERF189とは若干異なる結合特異性を持つことを確認した。この結合性の違いは両者のDNA結合ドメイン内の構造的差異に起因すると考えられる。ニチニチソウORCA3の結合特異性とそれを基にインドールアルカロイド生合成遺伝子プロモーター内のORCA結合配列を決定し、ORCA3とタバコERF189の結合性の違いを明らかとする。また、DNA結合性ドメイン内の両者間に構造上の差異に注目し、ドメインの一部を互いに置換した組換えタンパク質の結合特異性を検討する。最終的に、結合性の差異を決める1つまたは複数のアミノ残基を決め、NIC2/ORCA型ERF転写因子の分子進化について考察する。

(次年度の研究費の使用計画)

設備備品の購入は予定していない。消耗品、試薬代を中心に研究費使用を計画している。旅費とその他経費については特に計画していないが、必要に応じて適宜使用する予定である。

13.研究発表(平成23年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計(5)件 うち査読付論文 計(5)件

著 者 名		論 文 標 題						
Shoji T, Hashimoto T		Recruitment of a duplicated primary metabolism gene into the nicotine biosynthesis regulon in tobacco						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年				最初と最後の頁
Plant J		有	67	2	0	1	1	949-959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)								
-								

著 者 名		論 文 標 題						
Shoji T, Hashimoto T		Tobacco MYC2 regulates jasmonate-inducible nicotine biosynthesis genes directly and by way of the NIC2-locus ERF genes.						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Plant Cell & Physiology		有	52	2	0	1	1	1117-1130
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)								
-								

著 者 名		論 文 標 題						
Kajikawa M, Shoji T, Katoh A, Hashimoto T		Vacuole-localized berberine bridge enzyme-like proteins are required for a late step of nicotine biosynthesis in tobacco.						
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁		
Plant Physiology		有	155	2	0	1	1	2010-2022
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)								
-								

著 者 名		論 文 標 題				
庄司翼、橋本隆		ニコチン生合成のマスター転写因子				
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年		最初と最後の頁
化学と生物		有	49	2	0 1 1	778-783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
-						

著 者 名		論 文 標 題			
庄司翼、橋本隆		ニコチン生成のマスター遺伝子:低ニコチン変異体からのアプローチ			
雑 誌 名		査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁
BSJ-Review		有	2	2 0 1 1	30-37
掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子)					
-					

[学会発表] 計(8)件 うち招待講演 計(3)件

発 表 者 名	発 表 標 題	
庄司翼、橋本隆	一次代謝系遺伝子のニコチン生成レギュロンへの取り込み	
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	20110906	福岡県博多市

発 表 者 名	発 表 標 題	
加藤啓太、Teoh Seddon, 庄司翼、梶川昌考、原田和生、平田収正、橋本隆	Novel genes involved in nicotine biosynthesis in tobacco	
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	20110906	福岡県博多市

発 表 者 名	発 表 標 題	
庄司翼	ニコチン生成の分子制御:変異体からのアプローチ	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
形質転換植物デザイン研究拠点公開シンポジウム2、形質転換植物のデザイン:基礎研究から実用化に向けて(招待講演)	20110712	東京都台東区

発 表 者 名	発 表 標 題	
庄司翼	タバコアルカロイド生成のマスター転写因子	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物学会(招待講演)	20110917	東京都世田谷区

発 表 者 名	発 表 標 題	
庄司翼、橋本隆	タバコMYC2によるニコチン生成制御	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物生理学会	2012.3.17	京都府京都市

発 表 者 名	発 表 標 題	
加藤啓太、庄司翼、土反伸和、橋本隆	Purine Permease -Like transporters facilitate nicotine uptake in tobacco roots	
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所
日本植物生理学会	2012.3.17	京都府京都市

発 表 者 名	発 表 標 題		
庄司翼、橋本隆	2つの転写因子によるニコチン生合成制御		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
日本農芸化学学会	2012.3.22	京都府京都市	

発 表 者 名	発 表 標 題		
Shoji T	Jasmonate-induced nicotine biosynthesis in tobacco		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	
Workshop sponsored by IPSR "Jasmatate signaling and plant defense against insect herbivores" (招待講演)	20120224	岡山県倉敷市	

〔図書〕計(1)件

著 者 名	出 版 社		
Shoji T, Hashimoto T	Nicotine biosynthesis		
書 名		発行年	総ページ数
Plant Metabolism and Biotechnology		2 0 1 1	191-216

14. 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
				出願年月日	

15.備考

--