

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		植物における中枢時計の探索			
研究テーマ (欧文) AZ		Searching for main clock in plants			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓) エンドウ	名) モトム	研究期間 B	2009 ~ 2010 年
	漢字 CB	遠藤	求	報告年度 YR	2011 年
	ローマ字 CZ	ENDO	MOTOMU	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学 大学院 生命科学研究科・助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>細胞/分子レベルで明らかになりつつある知見をもとに上位の器官/組織レベルで生体を理解するために、本研究では、植物の生物時計をモデル系とし、高い時空間分解能で生体内組織/細胞の分子動態を定量する方法を開発することで、植物における生物時計の組織特異的な役割を明らかにすることを目的とし研究を行った。</p> <p>植物組織の直接的単離・定量的 PCR とは異なる原理で、生体内における時計遺伝子の挙動を組織特異的に測定するための方法として split luciferase を応用した MLCA (Modified split Luciferase Complementation Assay) を開発した。この方法では、N 末端および C 末端に分割した LUC に対して二量体化因子(Dimerizer)を融合させたものをそれぞれ組織特異的プロモーターおよび時計プロモーターで発現させることで、両者の発現が重なる時間・空間でのみ二量体化因子の働きによって LUC が再構成され組織/時間特異的な発光リズムが検出されることを狙っているものである。シロイヌナズナの維管束特異的に時計遺伝子 <i>TOC1</i> の発現リズムを測定するための形質転換植物 pSUC2::CaMXMT-nLUC/pTOC1::CaMXMT-cluc (CaMXMT はコーヒーのカフェイン生合成経路に関わる酵素をコードするホモ二量体化因子) を作出したところ、維管束特異的に LUC による発光リズムが測定されることが見出された。また、同様の結果はタバコの一過的発現系においても測定されており、二量体化因子を介して LUC が再構成されることや発光強度が約 24 時間のリズムを持っていることを確認された。</p> <p>今後は、測定系の評価を進めると共に、組織特異的プロモーターや時計プロモーターのカタログ化を進め、さまざまな組織でさまざまな時計遺伝子の挙動を測定できるようにしていく必要がある。</p>					
キーワード FA	生物時計	組織特異性	シロイヌナズナ		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

To integrate cell and molecular biological insights into organ and tissue levels, we have developed a system for quantifying gene expression levels with high spatiotemporal resolution. In this study, we adopted biological clock system as a model system and elucidate tissue-specific functions of clock in *Arabidopsis*.

MLCA (Modified split Luciferase Complementation Assay) is totally different principle as direct isolation and qPCR method, and it is based on split luciferase. In this system, N terminal of luciferase and C terminal of luciferase are fused with dimerizer and are driven by tissue-specific promoter and clock promoter, respectively. When both fusion proteins are assembled, functional luciferase is reconstructed in accordance with tissue-specific and time-specific manners, which means that tissue-specific clock-gene expression patterns are observed as luminescence. We produced transgenic plants harboring pSUC2::CaMXMT-nLUC and pTOC1::CaMXMT-cLUC (CaMXMT is a dimer formation enzyme that catalyzed caffeine biosynthesis process). These plants have fluctuated luminescence only in vasculature, and similar results were observed transient assay using tobacco leaves.

Now, we are going to conduct assessment of this system and collect various tissue-specific and clock promoters. All this work will help to ensure that tissue-specific functions of biological clock are totally elucidated.