

Cryptochrome Genes Are Highly Expressed in the Ovary of the African Clawed Frog, *Xenopus tropicalis*

Yoko Kubo[†], Takahiro Takeuchi[†], Keiko Okano, Toshiyuki Okano

PLoS One 5, e9273 (2010)

doi:10.1371/journal.pone.0009273

ネッタイツメガエルにおいてクリプトクロム遺伝子群は卵巣において高発現している

久保葉子[†]、竹内崇裕[†]、岡野恵子、岡野俊行

[†]両者とも第一著者

【本論文のポイント】

クリプトクロム (Cryptochrome, CRY) は、分子種によって多彩な機能を持ち、概日時計発振系のネガティブフィードバックループ^{※1}の中心的な転写抑制因子や青色光受容分子、あるいは磁気受容分子として機能する。ネッタイツメガエル (トロピカリス) の CRY の機能を調べる第一段階として、*Cry1* および *Cry2* の発現部位と転写抑制能を調べた。その結果、*Cry1* および *Cry2* の mRNA は、他の組織に比べて卵巣において桁違いに高く発現していることを見出した。CRY1 および CRY2 タンパク質は転写抑制能を保持しており、時計因子として機能することが考えられるが、卵巣においては日内変動性は見られず、概日時計とは異なる未知の機能を担っていると推定された。

【概要】

概日時計の研究は、マウスやショウジョウバエといった一部のモデル生物に集中して進められてきた。ゼブラフィッシュやアフリカツメガエルを用いた研究は一部報告されているものの、下等脊椎動物を用いた研究は限られている。そこで本研究では、ネッタイツメガエルを用いて、クリプトクロム (XtCRYs) の発現及び概日時計発振に関わる転写調節機能についてさらなる研究を行った。ネッタイツメガエルは脊椎動物の遺伝子操作に適したモデル動物の1つである。

まず、Ensembl *X. tropicalis* と EST データベース^{※2} の配列情報に基づいて、生体のカエルの腎臓から *XtBmal1*、*XtCry1*、*XtCry2*、*Xtβ2M* (β2-ミクログロブリン) の全長の cDNA をクローニングした。完全長の *XtClock* 配列は NCBI のデータベースにおいて既に同定されており、本研究においては完全長の *XtCry1*、*XtCry2*、*XtBmal1*、*Xtβ2M* 配列を決定することが出来た。そして得られた XtCRY1、XtCRY2、XtBMAL1 のアミノ酸配列と XtCLOCK のアミノ酸配列を、他の種のオルソログタンパク質と共に Neighbor-Joining (NJ)法を用いて分子系統樹を作製した。この結果は最尤法を用いて作製したものとほぼ同じ結果であった。

次に、昼夜交代に伴って *XtCry* の mRNA の発現量が変化するかを調べるために、正午(ZT6)と真夜中(ZT18)にサンプル

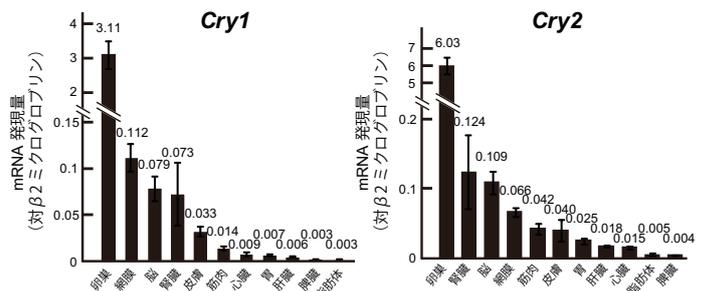


図1 ネッタイツメガエル各臓器における Cry mRNA 発現量

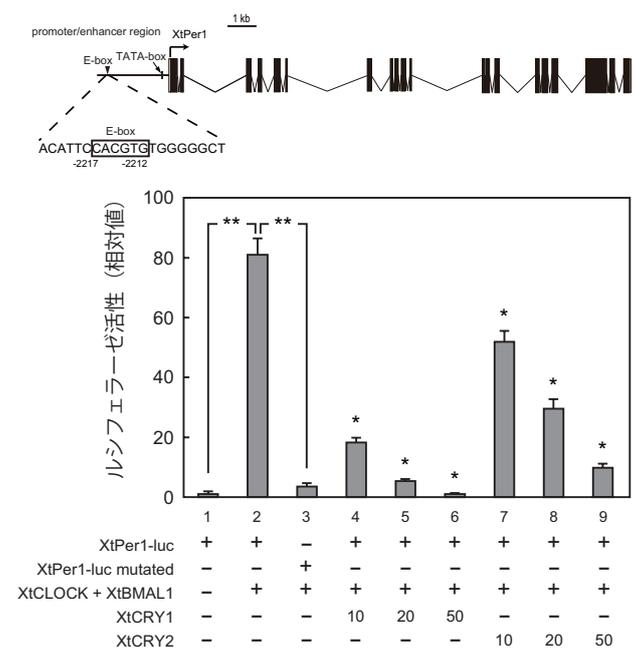


図2 ネッタイツメガエル Per1 遺伝子のゲノム構造とルシフェラーゼアッセイによる CRY の転写抑制能の解析

