

(独) 科学技術振興機構  
戦略的創造研究推進事業  
チーム型研究 (CREST)  
追跡評価用資料

研究領域「植物の機能と制御」  
(2000 - 2007年度)

研究総括 鈴木 昭憲

2013年10月



## 目次

要旨 .....	1
第 1 章 追跡調査概要.....	2
1.1 研究領域概要.....	2
1.1.1 戦略目標 .....	2
1.1.2 研究領域概要.....	2
1.1.3 研究総括 .....	2
1.1.4 領域アドバイザー.....	2
1.1.5 研究課題および研究代表者.....	3
1.2 研究領域終了後の進展と波及効果.....	6
1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況.....	6
1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果.....	8
第 2 章 追跡調査 .....	10
2.1 追跡調査について.....	10
2.1.1 調査の目的.....	10
2.1.2 調査の対象.....	10
2.1.3 調査の方法.....	10
2.2 アウトプット概要.....	13
2.2.1 研究助成金から見た研究の発展状況.....	13
2.2.2 論文 .....	16
2.2.3 特許 .....	18
2.3 アウトカム.....	33
2.3.1 科学技術的アウトカム.....	33
2.3.2 社会・経済的アウトカム.....	35
第 3 章 各研究課題の主な研究成果および波及効果.....	37
3.1 2000 年度採択課題 .....	37
3.1.1 植物の重力感知の分子機構(飯田秀利).....	37
3.1.2 植物生殖成長のキープロセスを統御する分子機構の解明(経塚淳子).....	41
3.1.3 光合成生物の生物時計：その分子機構と環境適応(近藤孝男).....	45
3.1.4 ポストゲノム科学を基盤とする植物同化代謝機能のダイナミクス解明 (斉藤和季).....	49
3.1.5 オオムギゲノム機能の開発と制御(武田和義).....	53
3.1.6 デンプンメタボリックエンジニアリングの開発(中村保典).....	57
3.1.7 植物における染色体機能要素の分子的解析と人工染色体の構築(村田 稔)...	61
3.2 2001 年度採択課題 .....	64

3.2.1 植物発生における細胞間シグナリング(岡田清孝).....	64
3.2.2 植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構(高林純示).....	68
3.2.3 植物の鉄栄養制御(西澤直子).....	71
3.2.4 植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用(森川弘道).....	76
3.2.5 トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用(若狭暁)....	80
3.3 2002年度採択課題.....	83
3.3.1 タバコモザイクウイルスの増殖機構(石川雅之).....	83
3.3.2 共生ネットワークの分子基盤(川口正代司).....	87
3.3.3 植物特異的な転写因子機能ネットワーク(高木優).....	91
3.3.4 種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種(西村 いくこ).....	95
3.3.5 寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構(原 登志彦).....	99
第4章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況.....	102
4.1 研究領域からの研究成果事例.....	102
4.1.1 植物の鉄栄養制御(西澤直子).....	102
4.2 外部有識者コメント.....	106
4.3 まとめ.....	106

## 要旨

本資料は、戦略的創造研究推進事業のチーム型研究 CREST の研究領域「植物の機能と制御」(2000～2007 年度)において、研究終了後一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況等を明らかにし、独立行政法人科学技術振興機構(JST)事業及び事業運営の改善等に資するために、追跡調査を実施した結果をまとめたものである。

第一章は、研究領域の戦略目標、領域概要、研究総括、領域アドバイザー、研究課題と研究代表者を記載し、本研究領域終了後の進展と波及効果について概説した。

第二章は、追跡調査の目的、調査の対象、調査の方法(研究助成金、論文、特許)を記載し、各研究代表者のアウトプットの概要と、受賞歴や報道等から見た科学技術的および社会・経済的アウトカムの概要を記述した。

第三章は、本研究領域終了後の各研究課題の研究の継続と発展状況について、科学技術の進歩の貢献および社会・経済的な波及効果の観点から詳述し、併せて研究成果に関連した主な成果論文を添付した。その他特記事項として、研究代表者以外の共同研究者の動向等について記載した。

第四章は、科学技術イノベーションに資する研究成果の状況について「植物の鉄栄養制御」研究者代表者 西澤直子にインタビュー調査した結果を記述した。

この領域では、「技術革新による活力に満ちた高齢化社会の実現」を戦略目標とし、豊かで健康な食生活と安心して暮らせる生活環境の実現を目指して、植物の持つ多様な機能を解明し、その機能を制御・利用することを目指した研究が行われた。追跡調査の結果、基礎研究が継続され、また、基礎研究の知見を植物の機能制御や物質生産へと展開し、食料増産・環境浄化・農林水産業など幅広い分野で応用するための研究も継続されていた。

まず、植物の持つ多様な機能の解明に関する基礎研究において多くの知見が新たに得られている。重力感知を含む機械刺激センサーの実体遺伝子の解明(飯田秀利)、植物ホルモン・ストリゴラクトンの新機能の発見(経塚淳子)、植物の概日リズムに関する新たな知見(近藤孝男)、葉が平たい形に成長する仕組み(岡田清孝)、植物の鉄栄養制御の分子機構の解明(西澤直子)、ウイルスが特定の植物種にしか感染しないしくみの解明(石川雅之)、根粒の数とシュートの形の両方を制御するクラビア遺伝子の発見(川口正代司)、原形質流動の仕組みの解明(西村いくこ)、葉の気孔の数を増加させるペプチド・スマートジェンの単離同定(西村いくこ)などがその例である。

一方、植物機能を制御・利用する研究開発も継続され、農薬に頼らない新しい病害防除技術の開発(西村いくこ)、石灰質アルカリ土壌耐性イネや鉄分を豊富に含むコメおよび環境浄化用植物の開発(西澤直子)、より食用に適したムギの開発(武田和義)、遺伝子組換え作物の安全性を評価する手法の開発(斉藤和季)、玄米のファンクショナルゲノム解析による有用な形質に対応する遺伝子の迅速な選抜(斉藤和季)、遺伝子サイレンシング法(CRES-T)による実用植物の作出と商業化に向けたベンチャー企業の設定(高木優)など、実用化に向けた取り組みも進んでいる。また、インタビュー調査の結果、西澤直子はカドミウム吸収を担う遺伝子を解明すると同時に低カドミウムコシヒカリの作出に成功したことが判明した。当該コシヒカリは共同研究先の独立行政法人農業環境技術研究所から「コシヒカリ環1号」として2012年8月に品種登録出願された。

## 第 1 章 追跡調査概要

### 1.1 研究領域概要

#### 1.1.1 戦略目標

技術革新による活力に満ちた高齢化社会の実現

21 世紀は、世界各国で高齢化が進み、特に我が国においては世界に例を見ない速度で高齢化社会を迎えることが予測されている。このような状況はかつて経験したことがないのであり、高齢化社会にどのように対応してゆくかという問題は人類の直面する大きな課題である。このような中、大胆な技術革新に取り組むことにより 21 世紀に向け、豊かで活力のある高齢化社会を実現することが大変重要である。

このためには高齢化社会に対応し個人の特徴に応じた革新的医療を実現することを目指して、オーダーメイド医療、再生医療等の実現に不可欠な発生・分化・再生のメカニズムを解明することや、豊かで健康な食生活と安心して暮らせる生活環境の実現を目指して植物の持つ多様な機能を解明しその機能を制御・利用すること等が必要である。

#### 1.1.2 研究領域概要

植物の持つ多様な機能発現機構をマクロ的(生態学的)およびミクロ的(分子科学的)に両面より解明することによりその機能を人為的に制御する技術を早急に確立し、人類の生活基盤である食料、衣料、居住環境の安定的な提供、改善へと繋げる研究を対象としている。

具体的には、植物ゲノムの解析並びに遺伝情報の解明、植物と環境との相互作用や環境ストレス下での植物遺伝情報の発現、さらには分子育種や生理機能の制御等を通じて食料生産の増大及び質の向上、創薬への応用、パルプや建築材、繊維等の工業製品、その他未利用植物資源の利用、地球環境の保全や災害防止などに至る様々な植物の利活用を目指している。

#### 1.1.3 研究総括

鈴木昭憲(秋田県立大学 学長)

#### 1.1.4 領域アドバイザー

採択研究対象範囲の広さから、植物分子科学、植物生化学、植物細胞工学、園芸学、生化学を専門とする気鋭研究者ならびに食品科学、植物学、薬学、農学、植物工学など総合的な分野を専門とする者などから領域アドバイザーを選定した。

表 1-1 領域アドバイザー

領域アドバイザー	所属	役職	任期
高倍 鉄子	名古屋大学	教授	2000年4月～2002年3月
若狭 暁	農業・生物系特定産業技術研究 機構作物研究所	研究室長	2000年4月～2001年3月
荒井 綜一	東京農業大学	客員教授	2000年4月～2008年3月
岩淵 雅樹	岡山県生物科学総合研究所	所長	2000年4月～2008年3月
大宮 あけみ	農業・生物系特定産業技術研究 機構花き研究所	室長	2001年4月～2008年3月
佐藤 文彦	京都大学大学院	教授	2000年4月～2008年3月
三川 潮	東京大学	名誉教授	2000年4月～2008年3月
西尾 敏彦	農林水産技術情報協会	名誉会長	2000年4月～2008年3月
松岡 信	名古屋大学	教授	2000年4月～2008年3月
渡辺 知之	(株)植物工学研究所	(元)社長	2000年4月～2008年3月

(註)所属と役職は本研究領域終了時点

#### 1.1.5 研究課題および研究代表者

研究課題(研究者)の公募は2000年度から3年間、3期にわたり、総計17件の研究課題を採択した。表1-2に各期の研究課題、研究代表者、採択当時の所属機関と役職、終了時の所属と役職ならびに現在の所属と役職を示した。

表 1-2 研究課題と研究代表者

採択年度	研究課題	研究代表者	採択時の所属 役職	終了時の所属 役職	追跡調査時の所属 役職
2000年度	植物の重力感知の分子機構	飯田 秀利	東京学芸大学教育学部 教授	東京学芸大学教育学部 教授	東京学芸大学教育学部生命科学分野 教授
2000年度	植物生殖成長のキーププロセスを統御する分子機構の解明	経塚 淳子	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 助教授	東京大学大学院農学生命科学研究科 助教授	東京大学大学院農学生命科学研究科生産環境生物学専攻 准教授
2000年度	光合成生物の生物時計：その分子機構と環境適応	近藤 孝男	名古屋大学大学院理学研究科 教授	名古屋大学大学院理学研究科 教授	名古屋大学大学院理学研究科 生命理学専攻 教授
2000年度	ポストゲノム科学を基盤とする植物同化代謝機能のダイナミクス解明	斉藤 和季	千葉大学薬学部 教授	千葉大学大学院薬学研究科 教授	千葉大学大学院薬学研究院 遺伝子資源応用研究室 教授 理化学研究所メタボローム機能研究グループ グループディレクター
2000年度	オオムギゲノム機能の開発と制御	武田 和義	岡山大学資源生物科学研究所 教授	岡山大学資源生物科学研究所 教授	岡山大学 名誉教授 香川大学 常勤監事
2000年度	デンプンメタボリックエンジニアリングの開発	中村 保典	秋田県立大学生物資源科学部 教授	秋田県立大学生物資源科学部 教授	秋田県立大学生物資源科学部 教授
2000年度	植物における染色体機能要素の分子的解析と人工染色体の構築	村田 稔	岡山大学資源生物科学研究所 教授	岡山大学資源生物科学研究所 教授	岡山大学資源生物科学研究所核機能分子解析 教授
2001年度	植物発生における細胞間シグナリング	岡田 清孝	京都大学大学院理学研究科 教授	京都大学大学院理学研究科 教授	自然科学研究機構基礎生物学研究所 所長
2001年度	植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構	高林純示	京都大学生態学研究センター 教授	京都大学生態学研究センター 教授	京都大学生態学研究センター 教授

採択年度	研究課題	研究代表者	採択時の所属 役職	終了時の所属 役職	追跡調査時の所属 役職
2001年度	植物の鉄栄養制御	西澤 直子	東京大学大学院農学生命科学研究科教授	東京大学大学院農学生命科学研究科教授	石川県立大学 生物資源工学研究所植物細胞工学研究室 特任教授
2001年度	植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用	森川弘道	広島大学大学院理学研究科 教授	広島大学大学院理学研究科 特任教授	広島大学 名誉教授
2001年度	トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用	若狭 暁	農業技術研究機構作物研究所 研究室長	東京農業大学農学部農学科 教授	東京農業大学農学部教授
2002年度	タバコモザイクウイルスの増殖機構	石川 雅之	北海道大学大学院農学研究科 助教授	(独)農業生物資源研究所 植物・微生物間相互作用研究ユニット 上級研究員	(独)農業生物資源研究所植物・微生物間相互作用研究ユニット ユニット長
2002年度	共生ネットワークの分子基盤	川口 正代司	新潟大学理学部自然環境科学科 助教授	東京大学大学院理学系研究科 准教授	自然科学研究機構基礎生物学研究所共生システム研究部門進化多様性生物学領域教授
2002年度	植物特異的な転写因子機能ネットワーク	高木 優	(独)産業技術総合研究所 ジーンファンクション研究ラボ 主任研究員	(独)産業技術総合研究所ゲノムファクトリー研究部門遺伝子転写制御研究グループ チームリーダー	(独)産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門植物機能制御研究チーム 客員研究員
2002年度	種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種	西村 いくこ	京都大学大学院理学研究科 教授	京都大学大学院理学研究科 教授	京都大学大学院理学研究科 教授
2002年度	寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構	原 登志彦	北海道大学低温科学研究科 教授	北海道大学低温科学研究科 教授	北海道大学低温科学研究科 教授

## 1.2 研究領域終了後の進展と波及効果

### 1.2.1 研究成果の発展状況や活用状況

本研究領域では、「技術革新による活力に満ちた高齢化社会の実現」を戦略目標として、植物の持つ多様な機能の発現機構をマクロ的(生態学的)およびミクロ的(分子科学的)の両面より解明することにより、その機能を人為的に制御する技術を確立し、人類の生活基盤である食料、衣料、居住環境の安定的な提供、改善へと繋げることを目指した研究が継続して行われた。

植物の有する優れた機能がいかにして発現するのか、そのメカニズムには未解明なことがまだ数多い。本研究領域終了後も引き続き、植物の機能発現メカニズムの解明に関する基礎研究が継続され、その結果、多くの知見が新たに得られた。

飯田秀利は、本研究領域終了時点においては未達成であった重力感知の分子機構の解明について研究を継続し、機械刺激センサーの実体遺伝子としての *MCA1* を発見した。また、機械受容チャネルの研究を発展させて分裂酵母から細胞内の小胞体膜に存在する別のカルシウムイオンチャネルである *Msy1* と *Msy2* を見出し、それらが浸透圧調整に重要な役割を果たすことを世界で初めて示した。

経塚淳子は、期間中に分離していた花器官の数が減少したイネの新規突然変異株から、植物ホルモン・サイトカイニン活性発現の最終段階を司る酵素遺伝子 *LOG* を理化学研究所との共同研究で発見した。また、期間中に分離していたイネの枝分かれ過剰突然変異体の解析から、ストリゴラクトンが植物の枝分かれを制御する新しいホルモンであることを理化学研究所と共同で見出した。

近藤孝男は、期間中の成果である Kai タンパク質時計を精査し、中核をなす振動子が時を刻む様子を捉え、時計機能を発現するための基本要素が KaiC に内包されることを実証した。

斉藤和季は、メタボローム解析技術と統計解析手法を組み合わせたファンクショナルゲノム解析法を発展させ、遺伝子組換えトマトを対象に組換え作物の安全性を評価する手法を開発した。さらに、玄米の遺伝型と表現型の関連性を詳細に分析し、数百にのぼる遺伝子や代謝物を発見した。

武田和義は、オオムギゲノム育種研究を継続し、皮麦と裸麦の違いを決める遺伝子を世界で初めて突き止めた。

岡田清孝は、葉の形態形成に関わる研究を発展させ、*PRS* 遺伝子と *WOX1* 遺伝子の 2 つに着目して葉が平たい形に成長するメカニズムの解明に成功した。

西澤直子は、鉄栄養制御研究を進展させ、鉄の体内移行の調節するトランス転写因子、鉄・ムギネ酸吸収に関わるトランスポーター遺伝子、ムギネ酸を根から分泌するトランスポーター遺伝子、ミトコンドリアに鉄を運び込むタンパク質、フェノール性酸を分泌するトランスポーター遺伝子の発見によりイネの鉄栄養制御の全容を解明した。さらに、鉄高含有イネの創出に成功した。

石川雅之は、ウイルス増殖機構の研究を発展させ、トマトの TM-1 タンパク質がタバコマイルドグリーンモザイクウイルスの複製を阻害することを見出し、ウイルスが特定の植物種にしか感染しないしくみを初めて明らかにした。また、分子シャペロン・HSP90 が RNA サイレncing を引き起こす RNA 複合体(RISC)の形成を促進する機構を解明した。

川口正代司は、植物と根粒菌・菌根菌の共生機構の研究を進展させ、根粒の数と植物の形の両方を制御する遺伝子 *KLAVIER* を発見し、窒素固定に限定されない共生の新しい役割を提示した。

高木優は、遺伝子サイレンシング法 (CRES-T 法) を発展させ、植物細胞の脱分化を促進するスイッチ因子 *WIND1* を発見し、植物が傷ストレスに応じて脱分化を促進するという現象を分子レベルで明らかにした。

西村いくこは、病害に対する抵抗反応に関する研究を継続し、植物の病原細菌に対する免疫機構という新たなプログラム細胞死を発見した。また、細胞内オルガネラが原形質を流れるように動く現象 (原形質流動) の仕組みを解明した。さらに、葉の気孔の数を増加させるペプチド (スマトジェン) を単離同定し、遺伝子組み換えに頼らず様々な植物の  $\text{CO}_2$  吸収能力を上げる技術開発の道を開いた。

一方、本領域における研究成果に期待された社会的貢献としては、1) 生産力 (収量) 向上、2) 高付加価値植物質生産、3) 環境保全、4) 新技術の創成が挙げられる。前述の基礎研究の成果は、農薬に頼らない病害防除技術開発 (西村いくこ)、病害ウイルスに対する抵抗性作物の創出技術 (石川雅之)、石灰質アルカリ土壌耐性イネや鉄分を豊富に含むコメおよび環境浄化用植物の開発 (西澤直子)、より食用に適したムギの開発 (武田和義)、遺伝子組換え作物の安全性を評価する手法の開発 (斉藤和季)、玄米のファンクショナルゲノム解析による有用な形質に対応する遺伝子の迅速な選抜技術の開発 (斉藤和季)、といった分野で社会に貢献することが期待される旨の新聞報道が多数見られた。また、高木優の CRES-T 法による実用植物の作出と商業化に向けたベンチャー企業の設立、中村保典の分岐オリゴ糖の開発など、実用化に向けた取り組みも進んでいる。

また、西澤直子はイネがカドミウムを根に取り込む時に必要な遺伝子を同定するとともに、従来の育種法による低カドミウムコシヒカリの作出に成功した (2013 年度インタビュー調査)。当該コシヒカリは共同研究先の農業環境技術研究所から「コシヒカリ環 1 号」として品種登録出願された。

総体的に、基礎研究の成果に基づく知見を植物の機能制御や物質生産へと展開し、食料増産・環境浄化・農林水産業など幅広い分野で応用するための研究活動が継続されていることが窺える。

## 1.2.2 研究成果の科学技術的および社会・経済的な波及効果

### (1) 科学技術の進歩への貢献

経塚淳子はストリゴラクトン研究により、日本の先端分野で活躍する研究者 16 人の一人として、米調査会社トムソン・ロイターの「第 3 回リサーチフロントアワード」に選定された。

近藤孝男は、一連の生物時計研究の成果により、文部科学大臣表彰・科学技術賞(2006 年)、日本植物生理学会賞(2006 年)、朝日賞(2007 年)、日本遺伝学会木原賞(2011 年)、紫綬褒章(2011 年)を受賞した。

斉藤和季は、メタボロミクスを基盤とした植物ゲノム機能科学研究の成果により、文部科学大臣表彰 科学技術賞(2010 年)、日本植物細胞分子生物学会学術賞(2011 年)を受賞した。

武田和義は、オオムギゲノム育種はもとより麦類全体の分子育種の基盤を築き、世界規模での農業問題解決に貢献しうる成果を上げてことにより、2009 年には日本学士院賞を、2011 年には第 69 回山陽新聞賞を受賞した。

岡田清孝は、植物が葉や花や根といった機能的な構造を作るために必要とされる情報交換の分子機構解明に果たした貢献により、第 6 回日本植物学会学術賞(2009 年)、日本植物生理学会賞(2010 年)を受賞した。

西澤直子は、植物の鉄栄養制御に関する研究成果により、2010 年に日本農学賞、2011 年に紫綬褒章を受賞した。

高木優のチームが開発した、転写抑制因子を用いた遺伝子サイレンシングシステム(CRES-T 法)は、多くの植物研究者に利用されており、2011 年に「新しい遺伝子サイレンシング法(CRES-T)を用いた転写因子機能解析法の開発と応用」で日本植物細胞分子生物学会技術賞を受賞したほか、Plant Biotechnology 28 巻(2011)には CRES-T 法を活用した研究論文が特集された。

本研究領域終了後も研究活動が活発であったことは研究代表者の受賞歴の多さから窺える。

### (2) 社会・経済的波及効果

経塚淳子のサイトカイニン活性化因子 LOG の発見は、作物の生産性向上につながる可能性が報じられた。

近藤孝男の生物時計研究は、人間を含めた生物の生活の質を維持向上させることに繋がり、人間の生物時計の仕組みが解明されれば睡眠障害等の治療法の開発や、植物であれば成長を制御して食料の増産手法の開発につながると報道された。

斉藤和季の遺伝子組換えトマトのファンクショナルゲノム解析は、組換え作物の安全性評価に有効であると報じられた。

岡田清孝がシロイヌナズナで明らかにした葉が平たく成長するメカニズムは、他の植物の葉においても同様に機能していると考えられ、園芸植物や作物などの品種改良を行う上でも有用な知見になりうると報じられた。

西澤直子のイネ鉄栄養制御の全容解明は、生産性が低いアルカリ土壌での鉄欠乏に耐える作物の創出に貢献し農業生産量増大に繋がることが報じられた。鉄分の豊富なコメの開

発技術は、貧血症の克服と予防に貢献すると報道された。

石川雅之によるトマト tm-1 タンパク質の発見は、病害ウイルスに対する新規抵抗性遺伝子発見にも繋がり新たなウイルス抵抗性作物の創出技術になると報道された。

西村いくこのスマートジェンの発見は、植物の CO<sub>2</sub> 吸収能力を上げることによる CO<sub>2</sub> 削減を通じた環境問題の解決および CO<sub>2</sub> 吸収増によるデンプンや油の物質生産量増大を通じた食糧問題の解決に貢献すると報じられた。

本研究領域終了後の研究が社会に及ぼした影響が大きかったことは新聞報道の多さから窺える。

## 第 2 章 追跡調査

### 2.1 追跡調査について

#### 2.1.1 調査の目的

追跡調査は研究領域終了から一定期間を経過した後、副次的効果を含めて研究成果の発展状況や活用状況を明らかにし、JST の事業および事業運営の改善に資するために行うもので研究領域終了後の研究代表者の研究課題の発展状況等を調査した。

#### 2.1.2 調査の対象

本追跡調査は CREST 研究領域「植物の機能と制御(2000～2007 年度)」の研究代表者全員を対象とする。表 2-1 に調査対象と調査対象期間を示す。

表 2-1 調査対象と調査対象期間

採択年度	研究実施期間(※)	終了後調査対象期間	研究課題数
2000 年度	2000 年 10 月～2006 年 3 月	2006 年 4 月～2012 年 9 月	7
2001 年度	2001 年 10 月～2007 年 3 月	2007 年 4 月～2012 年 9 月	5
2002 年度	2002 年 11 月～2008 年 3 月	2008 年 4 月～2012 年 9 月	5

※：2000 年度採択者のうち、

武田和義・村田稔については

研究実施期間：2000 年 11 月～2006 年 3 月、終了後調査対象期間：2006 年 4 月～2012 年 9 月

経塚淳子・斉藤和季・中村保典については

研究実施期間：2000 年 12 月～2006 年 3 月、終了後調査対象期間：2006 年 4 月～2012 年 9 月

近藤孝男については

研究実施期間：2000 年 11 月～2005 年 10 月、終了後調査対象期間：2005 年 11 月～2012 年 9 月

2001 年度採択者のうち、

高林純示・西澤直子・森川弘道・若狭暁については

研究実施期間：2001 年 12 月～2007 年 3 月、終了後調査対象期間：2007 年 4 月～2012 年 9 月

とする。

#### 2.1.3 調査の方法

##### (1) 研究助成金

本研究領域終了以降に、研究代表者が代表もしくはそれに相当する立場(総括研究者、プロジェクトリーダー等)で獲得した外部研究資金を調査した。対象となる外部研究資金と調査方法は以下の通りである。

##### ① 科研費

KAKEN 科学研究費助成事業データベース<sup>1</sup>から研究代表者が代表となっている研究課題を

<sup>1</sup> <http://kaken.nii.ac.jp/>

検索した。さらに CREST 研究の規模から継続・発展が図られているかという観点から、大型(1千万円/件以上)のものを抽出した。

## ② JST 事業

JST ホームページ<sup>2</sup>(<http://www.jst.go.jp/>)のサイト内検索で研究代表者の情報を検索し、プロジェクト終了以降に研究代表者が代表となって採択された事業もしくはプロジェクト(研究総括あるいは領域総括としての関与は含まない)を抽出した。

## ③ NEDO プロジェクト

NEDO ホームページのサイト内検索、および成果報告書データベース<sup>3</sup>(Login 利用には ID とパスワードが必要)から研究代表者の情報を検索し、本研究領域終了以降に代表者もしくはプロジェクトリーダー等として実施しているプロジェクトの有無を確認した。

## ④ 最先端・次世代研究開発支援プログラム

最先端研究開発支援プログラム(FIRST プログラム)のホームページ<sup>4</sup>および最先端・次世代研究開発支援プログラムのホームページ<sup>5</sup>から、研究代表者の採択実績を確認した。

## ⑤ その他

本研究領域においては研究成果の農林水産分野への応用も想定されることから、関連するものとして農研機構・生物系特定産業技術研究支援センターのホームページ<sup>6</sup>から、同センターが支援する研究プロジェクトへの採択実績についても調査した。

## (2) 論文

本研究領域期間中および本研究領域終了以降の研究代表者の発表論文について、Scopus (Elsevier)の名寄せ機能を用いて検索を行った。著者名だけでは研究代表者の論文と特定できない場合には、所属機関の情報や内容から絞り込みを行った。

次に、本研究領域期間中および本研究領域終了以降の論文数を求めた。対象は Article と Review に絞り込み、さらに本研究領域終了以降の論文については、研究代表者が筆頭著者(1st Author)もしくは責任著者(Last Author)となっている論文(以下「責任著者論文」)の数を求めた。

## (3) 特許

本研究領域期間中出願特許の成立および海外出願の状況と、本研究領域終了以降の国内・海外出願特許について調査した。国内特許の出願・成立状況の検索・確認には国内特許公報 ATMS を、海外(国際)出願・成立状況の検索・確認には欧州特許庁の esp@cenet を用いた。

---

<sup>2</sup> <http://www.nedo.go.jp/>

<sup>3</sup> <https://app5.infoc.nedo.go.jp/disclosure/>

<sup>4</sup> <http://first-pg.jp/about-us/about-30.html>

<sup>5</sup> <http://www.jsps.go.jp/j-jisedai/life.html>

<sup>6</sup> <http://www.naro.affrc.go.jp/brain/shien/index.html>

本研究領域期間中の出願特許についてはまず国内出願特許の成立状況を国内特許公報 ATMS で確認した。次に、その出願を優先権とする国内・海外(国際)出願と成立状況を esp@cenet で確認した。

本研究領域終了以降の出願特許については研究代表者が発明者に含まれる国内出願特許を検索し、成立状況を確認した。海外(国際)出願と成立状況については、本研究領域期間中出願特許の確認方法に準じ、esp@cenet を用いて行った。

## 2.2 アウトプット概要

### 2.2.1 研究助成金から見た研究の発展状況

研究の展開を大枠で把握するために、表 2-2 に研究代表者の本研究領域終了以降の助成金獲得状況を示した。

獲得助成金の中心となっているのは科研費であり、植物機能のメカニズム解明を目指した基礎研究が継続されている。研究代表者のほとんどは本研究領域期間中あるいは終了後、文部科学省の科研費、特定領域研究、学術創成研究費、基盤研究(A)(B)の研究補助金を得て、研究をさらに展開していることが窺える。

応用を想定した研究としては、研究成果が活用される分野として主として考えられるのが分子育種や環境ストレス耐性作物の作出といった農林水産の分野であることから、新農業ゲノム展開プロジェクト(西澤直子、高木優)や、生物系特定産業(農林水産業、食品産業等)への応用を想定した基礎研究を行う農研機構の基礎的研究事業(村田稔、西澤直子、石川雅之)への展開が見られる。

JST 事業としては、近藤孝男が発展研究 SORST を経て、新たな CREST 「生命システムの動作原理と基盤技術」で引き続き生物時計の機能解明の研究を継続しているほか、中村保典の産学協同シーズイノベーション化事業、西澤直子の低炭素化技術開発(ALCA)、斉藤和季、西澤直子の国際科学技術協力推進事業への採択がある。

食糧増産・農業・環境といった内容は世界規模の課題でもあることから、海外を対象とした研究や国際共同研究の助成金獲得もあり、これに該当するのは先述の斉藤和季、西澤直子の JST 事業のほか、武田和義の東アジアや中国の作物を対象とした研究、高林純示の先端研究拠点事業が挙げられる。

総じて、ほとんどの代表研究者は大型助成金を受けて研究を継続したことが窺える。

表 2-2 研究代表者の研究助成金獲得状況

採択年度	研究代表者	研究費名称	研究テーマ名	開始年度	終了(予定)年度	年度												金額 (百万円)		
						00	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11		12	
2000	飯田 秀利	科研費 基盤研究(B)	出芽酵母の伸展活性化カルシウムチャネルの構造・機能相関	2004	2006	研究領域期間中						研究領域終了以降						15.4		
						2009	2011													
						2011	2012													
2000	経塚 淳子	科研費 基盤研究(B)	腋芽の形成を制御する分子メカニズムの解析	2006	2008	研究領域期間中						研究領域終了以降						17.5		
						2010	2013													
						2010	2014													
2000	近藤 孝男	科研費 学術創成研究費	概日時計により統合されるシアノバクテリアの細胞システムの時間的	2003	2007	研究領域期間中						研究領域終了以降						413.0		
						2005	2007													
						2007	2012													
						2012	2016													
2000	斉藤 和季	科研費 基盤研究(A)	メタボロミクスを基盤とした植物の統合ポストゲノム学	2003	2006	研究領域期間中						研究領域終了以降						41.9		
						2007	2010													
						2010	2014													
						2012	2014													
						2011	2014													
2000	武田 和義	科研費 基盤研究(B)	東アジアに局在するオオムギ半矮性系統“鴻”の進化的・形態的・生理的な多様性解析	2004	2006	研究領域期間中						研究領域終了以降						15.6		
						2007	2009													
2000	中村 保典	JST 産学協同シーズイノベーション事業 顕在化ステージ	機能性高分岐オリゴ糖の開発	2006	2007	研究領域期間中						研究領域終了以降						47.6		
						2008	2011													
2000	村田 稔	農研機構 イノベーション創出基礎的研究推進事業	植物人工染色体の創出と伝達制御に関する研究	2009	2014	研究領域期間中						研究領域終了以降						17.9		
						2010	2012													
2001	岡田 清孝	科研費 基盤研究(S)	植物器官分化を制御する細胞間シグナル機構の解析	2007	2007	研究領域期間中						研究領域終了以降						35.1		
						2007	2011													
						2007	2012													
2001	高林 純示	科研費 基盤研究(S)	植物の間接防御の誘導機構解明と防除への応用	2007	2011	研究領域期間中						研究領域終了以降						110.0		
						2008	2009													
						2010	2012													



## 2.2.2 論文

論文発表件数は研究者の研究活動を示す重要な指標であると考えられるため研究代表者について本研究領域期間中の論文数と終了後の論文数とを比較した。

本研究領域は 2000～2007 年度のプロジェクトであるが、課題採択は 3 回に分けて行われており、2000 年度採択課題は 2000～2005 年度(2006 年 3 月)、2001 年度採択課題は 2001～2006 年度 (2007 年 3 月)、2002 年度採択課題は 2002～2007 年度 (2008 年 3 月)が研究実施期間となるが、いずれも領域終了の 2007 年度までを研究実施期間とした。そのため、期間中の論文数は、2000 年度採択課題は 7 年、2001 年度採択課題は 6 年、2002 年度採択課題は 5 年分のデータを用いた。

検索データベースには Scopus (Elsevier)を用い、対象とするドキュメントタイプは Article と Review に絞りカウントした。また、期間後論文については、研究代表者の責任論文(1st Author か Last Author に名前があるもの) をカウントした。

本研究領域期間中の発表論文数は全体で 591 報、期間後の発表論文数は 504 報であった。また、期間後発表論文のうち責任著者となっている論文は 285 報であった。

論文発表数が突出しているのが斉藤和季で、期間中の 7 年間は 77 報であるが、期間後の 5 年間で 102 報と急増している。次いで高林純示(期間中 53 報、期間後 60 報)、西澤直子(期間中 50 報、期間後 55 報)の順となっている。期間中・期間後を通じて論文発表が 50 報を超えているのはこの 3 名である。

総じて、論文発表のペースは本研究領域期間中とほぼ変わらないペースでおこなわれている。

表 2-3 研究代表者の論文(原著論文)数

採択 年度	研究課題	研究代表者	① 本研究領 域期間中 の 論文数	② 本研究領 域終了後 の 論文数	③ 本研究領域 終了後の 責任著者 論文数	
2000 年度	植物の重力感知の分子機構	飯田秀利	16	9	4	※1
	植物生殖成長のキーププロセスを統御する分子機構の解明	経塚淳子	24	17	8	※1
	光合成生物の生物時計：その分子機構と環境適応	近藤孝男	51	14	5	※3
	ポストゲノム科学を基盤とする植物同化代謝機能のダイナミクス解明	斉藤和季	77	102	42	
	オオムギゲノム機能の開発と制御	武田和義	50	23	18	
	デンプンメタボリックエンジニアリングの開発	中村保典	26	21	10	
	植物における染色体機能要素の分子的解析と人工染色体の構築	村田 稔	22	14	9	※2
2001 年度	植物発生における細胞間シグナリング	岡田清孝	37	25	11	
	植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構	高林 純示	53	60	40	※2
	植物の鉄栄養制御	西澤直子	50	55	44	※2
	植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用	森川弘道	23	10	5	※2
	トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用	若狭 暁	26	10	6	※2
2002 年度	タバコモザイクウイルスの増殖機構	石川雅之	21	18	12	※2
	共生ネットワークの分子基盤	川口正代司	25	23	14	※2
	植物特異的な転写因子機能ネットワーク	高木 優	24	38	17	※2
	種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種	西村いくこ	44	38	22	※2
	寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構	原 登志彦	22	27	18	※2
	合計		591	504	285	※2

データ取得日 ※1：2012年9月 ※2：2012年10月 ※3：2012年11月

### 2.2.3 特許

特許出願件数は基礎研究から産業への貢献を分析する一つの指標であると考えられるため、本本研究領域期間中と終了後の特許出願数および登録数を各研究代表者について調査し、表 2-4 に示した。

本本研究領域期間中の研究代表者の特許出願は国内 161 件、海外 28 件であった。成立件数は国内 53 件、海外 14 件であった。武田和義の特許出願が国内 33 件、海外 7 件と突出して多く、高木優、中村保典、森川弘道、石川雅之、斉藤和季が 10 件以上の特許出願を行った。成立特許は、武田和義 12 件(国内 10 件、海外 2 件)、中村保典 9 件(国内のみ)、森川弘道 9 件(国内 3 件、海外 6 件)、石川雅之 8 件(国内 5 件、海外 3 件)となっている。

本研究領域終了以降の特許出願状況については、森川弘道は本研究領域終了後に退官しているため期間後の特許出願数は減少しているが、武田和義・高木優・中村保典・斉藤和季の 4 名は、引き続き活発な特許出願が行われている。一方、本研究領域終了後に特許出願が確認できなかった研究代表者も半数以上(9 名)いる。本研究領域は植物分子科学、植物生化学、植物細胞工学、園芸学、生化学といった基礎的な分野から、食品科学、薬学、育種といった比較的産業応用に近い分野まで広範に渡って採択されており、研究の内容によって比較的知的財産に結びつけやすいものとそうでないものに分かれる傾向が見られる。

表 2-4 本研究領域期間中・終了後の特許出願・成立状況

採択年度	研究代表者	本研究領域期間中				本研究領域終了以降			
		出願件数		登録件数		出願件数		登録件数	
		国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)	国内	海外 (国際)
2000年度	飯田 秀利	2	0	0	0	0	0	0	0
	経塚 淳子	9	0	2	0	0	0	0	0
	近藤 孝男	4	1	1	0	1	0	1	0
	斉藤 和季	10	0	3	0	9	0	2	0
	武田 和義	33	7	10	2	8	1	3	1
	中村 保典	17	1	9	0	4	1	0	0
	村田 稔	9	0	0	0	0	0	0	0
2001年度	岡田 清孝	5	0	3	0	0	0	0	0
	高林 純示	4	0	3	0	0	0	0	0
	西澤 直子	7	2	4	0	1	1	1	2
	森川 弘道	14	9	3	6	2	0	0	0
	若狭 暁	9	1	4	1	0	0	0	0
2002年度	石川 雅之	9	2	5	3	0	0	0	0
	川口 正代司	1	0	0	0	0	0	0	0
	高木 優	21	4	3	2	4	3	1	0
	西村 いくこ	5	1	2	0	2	0	0	0
	原 登志彦	2	0	1	0	0	0	0	0
領域全体		161	28	53	14	31	6	8	3

表 2-5 本研究領域期間中・期間後の研究代表者の成立特許  
経塚淳子

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2001-187240	2003-009872	4677583	花成制御方法	独立行政法人科学技術振興機構	後藤弘爾 小竹敬久 経塚淳子		
	2001-187291	2003-024071	4685278	シロイヌナズナ由来の花成制御遺伝子およびそれにコードされる蛋	独立行政法人科学技術振興機構	荒木崇 小林恭士 経塚淳子		

近藤孝男

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2005-300920	2007-104998	4939791	タンパク質を含む時間計測用組成物及びその利用	国立大学法人名古屋大学、独立行政法人科学技術振興機構	近藤孝男 小山時隆 岩崎秀雄 中嶋正人 大川妙子		
期間後	2007-176279	2009-014490	5019111	生体分子の自律的振動反応の検出方法	オリンパス株式会社、国立大学法人名古屋大学	合田和史 小山時隆 近藤孝男		

斉藤和季

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2002-225617	2004-065030	3870234	カンプトテシン生産植物の育成方法及びカンプトテシンの生産方法	国立大学法人千葉大学	須藤浩 山崎真巳 相見則郎 斉藤和季		
	2003-060014	2004-271273	4077339	高等植物の糖リン酸の網羅的分析法	独立行政法人科学技術振興機構	三村徹郎 関口陽子 斉藤和季		
	2003-204085	2005-046022	4254949	アルカロイドアシル転移酵素をコードする遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構、国立大学法人千葉大学	斉藤和季 岡田岳人 平井優美		

期間 後	2006-226772	2008-050288	4730785	新規トリテルペン配糖体化合物および該化合物を含む天然甘味料	株式会社常磐植物化学研究所、国立大学法人千葉大学	李楊金緯 中嶋淳一郎 妹尾修次郎 斉藤和季		
	2007-331369	2008-122404	4574669	高等植物の糖リン酸の網羅的分析法	独立行政法人科学技術振興機構	三村徹郎 関口陽子 斉藤和季		

武田和義

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間 中	2001-097221	2002-291474	4575613	アルミニウム耐性因子に連鎖するDNAマーカー、及びその利用	独立行政法人科学技術振興機構	佐藤和広 武田和義		
	2001-309184	2003-111593	4101493	オオムギ染色体由来の核酸マーカーを、コムギの背景で検出するための新規なプライマーセット、およびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	武田真 武田和義		
	2003-095547	2004-298094	4387120	深播耐性に関する遺伝子等についての新規遺伝マーカーおよびその利用法	独立行政法人科学技術振興機構	佐藤和広 武田和義 高橋秀和		
	2003-119023	2004-321055	4437895	小穂非脱落性遺伝子等についての新規遺伝マーカーおよびその利用法	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所	武田和義 小松田隆夫 ナテサン センシル ペーター マキシム 間野吉郎 ダナセカ ランビデ アサラス ワテ ベルマル アザグエル		

	2003-142514	2004-344024	4312502	アルミニウム耐性オオムギの判別方法	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広 馬建鋒		
	2003-307587	2005-073569	4302466	発現プロファイル解析システム、発現プロファイル解析方法、発現プロファイル解析プログラム、およびそのプログラムを記録した記録媒体	独立行政法人科学技術振興機構	矢野健太郎 佐藤和広 武田和義		
	2003-419643	2005-040125	4357952	皮裸性遺伝子に連鎖する遺伝マーカー、及びその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所	武田和義 武田真 川崎信二		
	(優先権 2003-195069)							
	2004-040655	2005-229849	4298538	休眠性に関与する遺伝子座に連鎖する遺伝マーカーおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広		
	2004-040662	2005-229853	4326981	小穂脱落性を支配する遺伝子座に連鎖する遺伝マーカーおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広		
	2005-517286		4068110	赤かび病抵抗性因子に連鎖する遺伝マーカーおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広	W02005071076	
	(優先権 2004-014839)						CN1910279	
期間中	2006-511479		3999254	大麦縞萎縮病抵抗性に関与する遺伝子座に連鎖する遺伝マーカーおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広	W02005093058	
	(優先権 2004-090644)							

	2003-126667			支持体上に固定化した物質を染色体の順あるいは配列位置情報を付加して配列するアレイおよびその製造方法、アレイを用いた解析システム、並びにそれらの利用	独立行政法人科学技術振興機構	佐藤和広 武田和義	W02004097015	AU2004234996 (B2)
	2004-093824						ZA200509385	
	2004-093826						RU2005134952	
	2004-093825							
	2004-101618							US7977087 (B2)
	2004-101641							AU2005228283 (B2)
	2004-101646							
	2004-101662							
	2004-101675			オオムギ染色体にマップされるポリヌクレオチドを利用した検出器具	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広	W02005095603	
	2004-101682							
	2004-341944							
	2004-342018							
	2004-342097							
	2004-342261							
	2004-342406							
	2004-342258							
	2004-342598							
	2004-101626							
	2007-232098(優先権 2004-270268、 2004-342737)	2007-312795	4134255	赤かび病抵抗性イネ科植物の判定キットおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	武田和義 佐藤和広		
期間後	2007-057632	2008-216207	4531782	大麦の選抜方法及び選抜マーカー	サポートロビール株式会社、国立大学法人岡山大学	飯牟礼隆 伊藤一敏 武田和義		
	2007-057637	2008-216208	4531783	麦芽発酵飲料の泡持ちの良さの判定方法及び泡持ち判定用マーカー	サポートロビール株式会社、国立大学法人岡山大学	飯牟礼隆 蛸井潔 伊藤一敏 武田和義	W02008111527	AU2008225496 (B2)

	2007-280897	2008-043348	4178176	大麦リポキシゲナーゼ-1 遺伝子、大麦の選抜方法、麦芽アルコール飲料用原料及び麦芽アルコール飲料の製造方法	サ ッ ポ ロ ビ ー ル 株 式 会 社	廣田直彦 金子隆史 黒田久夫 金田弘挙 蛸井潔 武田和義		
--	-------------	-------------	---------	---	--------------------------------	---	--	--

中村保典

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間 中	2001-277332	2003-079260	4703919	スターチシンターゼ I 型の機能解明と新規デンプン作出法	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構	藤田直子 中村保典 廣近洋彦 宮尾安藝雄		
	2002-076932	2003-265186	4454906	ヒ素耐性に関する遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構	都筑幹夫 中村保典 藤原祥子 下河原浩介 小林功		
	2003-069795	2004-275050	4267942	遺伝子欠損ラシ藻	独立行政法人科学技術振興機構	鈴木英治 守屋克哉 高橋純一郎 工藤春香 中村保典		
	2003-081308	2004-283121	4257933	紅藻類のチノリモ (Porphyridium) 由来のイソアミラーゼ	独立行政法人科学技術振興機構	都筑幹夫 下永高弘 中村保典 藤原祥子		
	2003-310688	2005-073652	4481607	新規なポリグルカン構造を有するデンプン代謝関連酵素類、及びその遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構	中村保典 鈴木英治 鈴木倫子 大段隆史 高橋純一郎 都筑幹夫 藤原祥子 藏野憲秀		

	2004-084794	2005-269928	4358006	イネ SSIIa の活性の制御方法、及びその変異体	独立行政法人科学技術振興機構	中村保典 藤田直子 ペリジオフィランシスコジュニア		
	2004-200863	2006-020554	4502731	デンプン合成関連酵素等の機能解析法	独立行政法人科学技術振興機構	藤田直子 中村保典		
	2005-207678	2007-020475	4868492	ブルナーゼ活性が低下しているイネ変異体およびイネ変異体の生産方法	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所	藤田直子 中村保典 吉田真由美 廣近洋彦 宮尾安藝雄		
	2001-273166		4308002	デンプン合成酵素類	独立行政法人科学技術振興機構	中村保典 藤田直子 佐藤光	W003023024	
	2001-277120							
	2001-277109							
	2001-287010							
	2005-201809	2006-051023	4711762	スターチシンターゼ IIIa 型の機能解明と新規デンプン作出法	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所	中村保典 吉田真由美 齋藤かほり 廣近洋彦 宮尾安藝雄		
	(優先権 2004-209174)							
期間後	2008-156112	2009-000112	4308002	デンプン合成酵素類	独立行政法人科学技術振興機構	中村保典 藤田直子 佐藤光	W003023024	
		2008-156113		2008-271984	デンプン合成酵素類	独立行政法人科学技術振興機構		

岡田清孝

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2002-185246	2004-024108	4163454	花粉形成に関わる遺伝子 KOM	独立行政法人科学技術振興機構	岡田清孝 金岡雅浩 清水健太郎		
	2002-185184	2004-024106	4105486	雌性配偶体形成に関わる遺伝子 MAA3	独立行政法人科学技術振興機構	岡田清孝 清水健太郎		

					機構			
	2003-175361	2005-006570	4334921	植物の根毛の形成の制御に関連するタンパク質、それをコードする遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構	岡田清孝 桐山春奈 石黒澄衛 槻木竜二		

高林純示

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2002-313334	2004-149420	4188055	植物における害虫の天敵誘引機能の向上方法	独立行政法人科学技術振興機構	高林純示 西岡孝明 小澤理香 堀内淳一郎 室井敦 有村源一郎		
	2003-199977	2005-041782	4402386	植物用抵抗性誘導剤、植物の抵抗性誘導方法、及び植物の病害・食害予防方法	独立行政法人科学技術振興機構	松井健二 岸本久太郎 高林純示		
	2004-249226	2006-063037	4621906	植物食害防止剤、およびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	高林純示 小澤理香 塩尻かおり		

西澤直子

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2003-335355		4699211	イネの鉄などの金属錯体の吸収や輸送に関与するトランスポーター、その遺伝子	独立行政法人科学技術振興機構	西澤直子 森敏 水野大地 小池慎太郎	W02005030950	
	2003-177063	2005-6599	4439844	植物の鉄欠乏応答性及び／又は根特異的発現を付与するシスエレメント	独立行政法人科学技術振興機構、財団法人電力中央研究所	西澤直子 森敏 小林高範 吉原利一		

	2004-038331	2005-225835	4523781	2" - ヒドロキシニコチアミン及びその製造方法	長谷川香料株式会社	北原武 青柳康夫 西澤直子		
	2006-218548	2008-43203	5001602	デオキシムギネ酸合成酵素およびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	西澤直子 森敏		
期間後	2009-512948		4998809	植物の鉄欠乏耐性を向上させるポリペプチドおよびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	西澤直子 森敏 小林高範 小郷裕子	W02008136345	US8207401 (B2) AU2008246775 (B2)

森川弘道

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2001-29640	2002-233360		ヒメイタビの培養細胞及び該培養細胞を用いた組織培養法	広島大学長	森川弘道 高橋美佐	US2002160513	CN1206346 (C)
							EP1229111	
							CN1374401	
	2001-029613	2002-233359		シャリンバイの培養細胞及び該培養細胞を用いた組織培養法	広島大学長	森川弘道 高橋美佐	CA2371047	CA2371047 (C)
							US2002137207	US6727094 (B2)
							EP1229110	CN1186442 (C)
							CN1371991	
2001-011435	2002-209575		トベラの培養細胞及び該培養細胞を用いた組織培養法	広島大学長	森川弘道 高橋美佐	US2002137206	US6800482 (B2)	
						CA2352441	CA2352441 (C)	
2004-030088	2005-218375	4495981	外来遺伝子の導入方法	独立行政法人科学技術振興機構	森川弘道 高橋美佐 外菌寛郎			
2004-231332	2006-042723	4608264	植物による二酸化窒素代謝の促進方法	独立行政法人科学技術振興機構	高橋美佐 森川弘道 坂本敦 橋本愛美			
2006-053286	2007-228858	4977382	トランスジェニックシャリンバイ又はその子孫の作製方法	独立行政法人科学技術振興機構	森川弘道 高橋美佐			

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間 中	2002-073951	2003-265182	4189163	カルス特異的 発現プロモ ーターを含む プラスミド及 び形質転換 された植物 細胞カルス の選抜方法	独立行政 法人科学 技術振興 機構、独 立行政 法人農 業・食品 産業技 術総合 研究機 構、独立 行政法 人農業 生物資 源研究 所	若狭暁 小松晃 西澤洋子		
	2003-156655	2004-357517	4920865	緑色組織特異 的プロモ ーター	独立行政 法人科学 技術振興 機構、独 立行政 法人農 業・食品 産業技 術総合 研究機 構、独立 行政法 人農業 生物資 源研究 所	若狭暁 小松晃 杉本和彦		
期間 中	2004-272540	2006-081517	4538645	トリプトファン 含有ダイズ、 およびその利 用	独立行政 法人科学 技術振興 機構、独 立行政 法人農 業・食品 産業技 術総合 研究機 構	石本政男 若狭暁 中本有美		

2005-055165	2006-042801	4651410	イネのアントラニル酸合成酵素遺伝子OASA2の新規改変遺伝子およびその利用	国立大学法人愛媛大学、独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構	戸澤譲 菅野拓也 若狭暁	W02006092882	AU2005328634 (B2)
(優先権 2004-118430)							
2005-309408	2006-149377	4792567	フェニルアラニンの合成に関与する遺伝子、および、フェニルアラニンを高レベルに蓄積する変異植物	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構	若狭暁 山田哲也 松田史生		

石川雅之

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2003-303617	2005-065651	4330957	無細胞タンパク質合成液およびその製造方法、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構	石川雅之 内藤哲 薦田圭介 石橋和大	W02004027077	
	2003-343747	2005-102652		形質転換細胞、および該細胞を用いたタンパク質の生産方法、並びにタンパク質生産キット	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所	森正之 土肥浩二 錦織雅樹 玉井淳史 飯哲夫 石川雅之	W02005033306	EP1672066 (B1)
	2004-056912	2005-245228	4388392	タンパク質生産用植物由来培養細胞の生産方法	独立行政法人科学技術振興機構	森正之 土肥浩二 石川雅之		CA2540668 (C)

2003-350091	2005-110594	4371761	ウイルスベクター一発現用DNA断片およびその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人農業生物資源研究所	森正之 土肥浩二 錦織雅樹 飯哲夫 石川雅之		AU2004278624 (B2)
2004-052499	2005-237301	4399294	ウイルスRNA複製液の製造方法およびその利用	独立行政法人科学技術振興機構	石川雅之 錦織雅樹 森正之 土肥浩二 内藤哲		
2007-014197	2008-178343	5035769	トバモウイルス抵抗性植物の製造方法およびその利用	独立行政法人農業生物資源研究所	石川雅之 飯哲夫 錦織雅樹		

高木 優

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2004-002192	2005-192483		植物の雄性不稔体の生産方法およびこれを用いて得られる植物体、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人産業技術総合研究所	高木優 平津圭一郎 光田展隆		
	2004-093796	2005-278422	4437936	薬の裂開が抑制された植物体の生産方法およびこれを用いて得られる植物体、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人産業技術総合研究所	高木優 光田展隆	W02005065446	AU2005203861 (B2)
	2004-221592	2006-034218		薬の裂開が抑制された植物体の生産方法2およびこれを用いて得られる植物体、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人産業技術	高木優 光田展隆		

					総合研究所			
	2004-231544	2006-042729		八重咲き植物体の生産方法およびこれを用いて得られる植物体、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人産業技術総合研究所	高木優 平津圭一郎 光田展隆		
	2004-016105	2005-027654	4283127	転写因子を転写抑制因子に変換するペプチド及びこれをコードするポリヌクレオチド、並びにその利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人産業技術総合研究所	高木優 平津圭一郎 小山知嗣		
	(優先権 2003-177066)							
	2006-53331		4831370	グルカン量を低減させることなくリグニン量およびセルロース量を低減させた植物体およびその生産方法、並びにこれらの利用	独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人産業技術総合研究所	高木優 光田展隆 岩瀬哲 平津圭一郎	W02007102346	US8183432 (B2)
期間後	2008-222884	2010-051293	4528953	矮性化形質転換植物および矮性化を誘導するための遺伝子	独立行政法人産業技術総合研究所	高木優 池田美穂	W02010024269	

西村いくこ

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2003-117686	2004-321034	4375993	V P E 欠損モデル	独立行政法人科学技術振興機構	西村いくこ 野田佳苗 浅野雅秀 西村幹夫		
	2004-346925	2006-149313	4606140	種皮特異的誘導性プロモーター	独立行政法人	西村いくこ		

				ター	科学技術振興機構	中畦悟		
--	--	--	--	----	----------	-----	--	--

原 登志彦

区分	出願番号	公開番号	特許番号	発明の名称	出願人	発明者	国際公開番号	海外での成立
期間中	2003-057279	2004-264245	4094971	植物の生育状態を測定する方法、及びそのためのキット	独立行政法人科学技術振興機構、岡山県	小川健一 柳田元継 原登志彦		

## 2.3 アウトカム

### 2.3.1 科学技術的アウトカム

#### (1) 受賞

科学技術の進歩への貢献や研究成果に対する評価を図る指標として受賞歴がある。表 2-6 に、本研究領域終了以降の研究代表者の受賞歴をまとめた。

何らかの受賞歴が確認されたのは 12 名であり、紫綬褒章受賞者(2名)や学士院賞受賞者を輩出し、本研究領域の研究代表者の多くが植物分野の学会に貢献していることが窺える。

表 2-6 本研究領域終了以降の研究代表者受賞リスト

受賞者	賞の名称	受賞年
経塚 淳子	トムソン・ロイター 第 3 回リサーチフロントアワード	2012
近藤 孝男	文部大臣表彰科学技術賞	2006
	日本植物生理学会賞	2006
	朝日賞	2007
	紫綬褒章	2011
	日本遺伝学会 木原賞	2011
斉藤 和季	トムソン・ロイター社 Fast Breaking Papers 2008	2008
	米国植物生物学会 (ASPB) Top Authors	2010
	文部科学大臣表彰 科学技術賞(研究部門)	2010
	日本植物細胞分子生物学会学術賞	2011
武田 和義	日本学士院賞	2009
	第 69 回山陽新聞賞	2011
中村 保典	日本応用糖質学会学会賞	2011
岡田 清孝	第 6 回日本植物学会学術賞	2009
	日本植物生理学会賞	2010
高林 純示	第 9 回バイオビジネスコンペ JAPAN 優秀賞および協賛企業特別賞	2009
西澤 直子	日本農芸化学会論文賞	2007
	日本土壌肥料学会論文賞	2009
	日本農学賞	2010
	紫綬褒章	2011
	全米科学振興協会 (AAAS) フェロー	2012
森川 弘道	平成 22 年度島津賞	2011
若狭 暁	日本植物細胞分子生物学会学術賞	2008
川口 正代司	日本植物生理学会 (PCP) 第 18 回 PCP 論文賞	2011
高木 優	日本植物細胞分子生物学会技術賞	2010

## (2) 学会・研究会への貢献

近藤孝男は、「シアノバクテリアの概日時計の分子メカニズムに関する研究」により日本植物生理学会賞、ならびに「シアノバクテリアの概日時計の分子遺伝学と時計蛋白質 KaiC の分子生理・生化学」により日本遺伝学会木原賞を受賞した。また、2011年5月から日本時間生物学会の理事長に就任した。

斉藤和季は2004～2008年に出版された論文の引用度調査から最も影響の大きな研究者(ASPB TOP AUTHORS)として、米国の植物生物学会 American Society of Plant Biologists (ASPB)により表彰された。また、「植物メタボロミクスを中心とした統合オミクスとその展開研究」により植物細胞分子生物学会学術賞を受賞した。2008年度・2009年度の日本植物細胞分子生物学会・会長を務め、2012年度現在、Metabolomics Society (メタボローム学会)の Director に就任している。2012年度の日本生薬学会第59回年会実行委員長を務めた。

中村保典は、「澱粉生合成代謝システムの解明と制御」により日本応用糖質学会学術賞を受賞した。2012年度現在、日本応用糖質学会理事に就任している。

岡田清孝は、「シロイヌナズナを用いた植物分子遺伝学の展開」により日本植物学会学術賞、「シロイヌナズナを用いた植物器官発生機構の解析」により日本植物生理学会賞を受賞した。また、2008年度～2010年度の日本分子生物学会・理事長を務めた。

西澤直子は、「植物の鉄栄養制御に関する研究」により日本農学賞を受賞した。2012年度現在、日本鉄バイオサイエンス学会世話人を務めている。

若狭暁は、「代謝系遺伝子組換えイネの基礎科学のおよび実用化に関する研究」により植物細胞分子生物学会学術賞を受賞した。

川口正代司は、“Nod factor/nitrate-induced CLE genes that drive HAR1-mediated systemic regulation of nodulation.” で PCB 論文賞を受賞した。

高木優は、「新しい遺伝子サイレンシング法(CRES-T)を用いた転写因子機能解析法の開発と応用」により日本植物細胞分子生物学会技術賞を受賞した。

西村いくこは、2012年度現在、日本生化学会理事を務めている。

## (3) 共同研究・技術指導等

経塚淳子は、川口正代司の研究チームの共同研究者である秋山康紀(大阪府立大学教授)とともに、植物ホルモンのストリゴラクトンの機能解明でトムソン・ロイターの第3回リサーチフロントアワードを受賞した。生研機構のイノベーション創出基礎的研究推進事業において、「作物生産向上のためのストリゴラクトンの生合成と作用機構の解明」(研究代表者：理化学研究所植物科学研究センター・山口信次郎、2009～2013年度)において、引き続きストリゴラクトンの生合成と作用機序の解明について秋山と共同研究を行っている。

中村保典は、文部科学省の都市エリア産学官連携促進事業において、研究課題「中・高齢者の心身両面の健康を支える米等を活用した食品の開発と食品産業クラスターの形成」(研究代表者：秋山美展、2007～2009年度)に共同研究者として参加し、秋田県内の食品会社や医療機関との連携し、高齢者向け食品などの製品試作・開発を行った。

高林純示は、日本学術振興会の先端研究拠点事業(2008～2009年度：拠点形成型、2010～2012年度：国際戦略型)において、オランダ・アムステルダム大学、ドイツ・マックス

プランク化学生態学研究所、ドイツ・ベルリン自由大学、カナダ・西オンタリオ大学、アメリカ・ミネソタ大学ドルース校、京都大学、山口大学、筑波大学で生物多様性を維持促進する生物間相互作用ネットワークを解明する国際共同研究ネットワークを構築した。

西澤直子は、JST 戦略的国際科学技術協力推進事業「日本-タイ研究交流」(2012~2014年度)において、BIOTEC(タイ国立遺伝子生命工学研究センター)と共同研究を行っている。タイ側が保有するイネ遺伝資源の鉄栄養関連遺伝子群を解析し、それらを活用することによって、ヒトの貧血症を改善するための白米中の鉄含有量の高いイネ品種と鉄過剰耐性イネ品種の開発を目指している。

## 2.3.2 社会・経済的アウトカム

### (1) 新聞報道等

本研究領域終了後、研究成果の報道回数(日本経済新聞および日経産業新聞)は経塚淳子(2回、1受賞報道)、斉藤和季(2回)、近藤孝男(5回、1受賞報道)、武田和義(1回、1受賞報道)、岡田清孝(1回)、西澤直子(12回、1受賞報道)、森川弘道(1回、1受賞報道)、石川雅之(1回)、西村いくこ(3回)である。

報道の内容は、各研究代表者の研究成果が「食糧増産」、「地球環境浄化」、あるいは「医療・健康増進」に貢献することが期待されるとするものであり、「豊かで健康な食生活と安心して暮らせる生活環境の実現をめざして、植物の持つ多様な機能を解明し、その機能を制御・利用すること」を目標とした本研究領域の趣旨が、社会的ニーズに合致していることが窺える。

報道回数の多い西澤直子の鉄栄養制御の研究は、農業生産性の低いアルカリ土壌での穀物増産に繋がると期待されており、鉄分高含有イネの創出は貧血症改善に有効であると報じられた。また、カドミウム高吸収イネの研究成果は環境浄化に有効と報じられた。

近藤孝男の光合成生物の生物時計に関する研究は、人間の生物時計システムの解明の足がかりとなり、睡眠リズム障害等の改善や薬物送達システム(DDS)の開発への応用を期待した報道がなされた。

経塚淳子の植物ホルモン・サイトカイニンに関する研究は、イネの穀粒数増加や枯れにくい植物の創出に繋がる点で、また、岡田清孝の葉を横方向に伸ばす遺伝子解明は光合成効率の良い作物の品種改良に繋がる点で食糧増産への可能性が報じられた。西村いくこのスマートジェン研究は、気孔数増大に伴うCO<sub>2</sub>吸収能増加により作物増産が可能となるだけでなく、大気中CO<sub>2</sub>削減という環境浄化への貢献可能性も報道された。

また、西村いくこの植物の細菌免疫解明は耐病性作物の創出に繋がり、石川雅之のトマトのウイルス耐性遺伝子解明はウイルス耐性作物の創出に繋がる点で、それぞれ食糧増産への貢献が期待されている。

斉藤和季のメタボローム解析研究は、植物代謝物ができる仕組みの解明により健康に良い成分を多く含む植物や環境変化に強い植物の創出に繋がると報じられた。

### (2) アウトリーチ活動

経塚淳子は第57回小石川植物園市民セミナーにおいて、「実りの秋・・・イネ穂の形を

決める遺伝子のしくみ」の演題で講演した(2007年11月10日)。

斉藤和季はNHKテレビ番組「サイエンスZERO」に出演し、代謝の仕組みを解き明かす研究について説明した(「生命活動のなぞに迫れ」2009年8月1日放送)。2012年度現在、日本学術振興会学術システム研究センター生物系科学専門調査班の専門研究員に就任している。

近藤孝男は、名古屋大学グローバルCOEプログラム「機能分子医学への神経疾患・腫瘍の融合拠点」の第26回プログレスレポート会議において特別講演を行った(「KaiCのATPaseによるシアノバクテリアの概日ペースペーカー」2011年10月18日)。

高林純示は、「おがわまち有機農業フォーラム2010」の技術講演会で「かおりの生態学基礎研究と応用への展望」の演題で講演した(2010年2月13日)。

原登志彦は、2009年度～2011年度に日本学術振興会学術システム研究センター生物系科学専門調査班の主任研究員を務めた。

## 第 3 章 各研究課題の主な研究成果および波及効果

### 3.1 2000 年度採択課題

#### 3.1.1 植物の重力感知の分子機構(飯田秀利)

##### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

###### ① 研究のねらい

植物が如何にして重力を感知するのか、その分子機構は未だ良く分かっていない。これまでに種々の生理学的研究から重力屈性には  $\text{Ca}^{2+}$  が重要な役割を担っていることが指摘されている。

本研究では細胞膜に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  透過性伸展活性陽イオンチャンネルに着目し重力センサーの分子の実体と役割を明らかにすることをめざした。

###### ② 期間中の主な研究成果

(i) *AtMid1A* と *AtMid1B* (それぞれ次項以降の *MCA1* と *MCA2* に相当) と名付けられたシロイヌナズナの伸展活性化カルシウムチャンネルに類似している出芽酵母の *Mid1* について構生物学的に研究した。*Mid1* には H3 と H4 と名付けた推定上の膜貫通領域がある。この領域はチャンネル活性に必須であること、およびその領域内に存在するそれぞれ 20 個および 23 個のアミノ酸残基のうち約半数がチャンネル活性に重要であることを明らかにした。この 2 つの領域に類似の領域は *AtMid1A* と *AtMid1B* にも存在するので、本研究成果は両チャンネルタンパク質の構造と機能の関係を解明することに役立つ<sup>1)</sup>。

(ii) 植物が発生や形態形成を行うとき細胞の肥大や伸長が起こる。この現象を調節することは正常な植物体を作るのに必須である。これまでの多くの研究者による研究から、細胞の肥大や伸長を感知する重要な分子の一つは細胞膜に存在する伸展活性化イオンチャンネル(別名機械受容チャンネル)であると予想されてきた。そのチャンネルの一種である機械受容陰イオンチャンネルをシロイヌナズナの葉肉細胞に発見した。このチャンネル分子は細胞膜がへこんだときには開口せず、細胞膜が盛り上がったときにのみ開口した。つまり、このチャンネルは細胞の膨圧が増して肥大化するときや細胞の一部が伸長するときに働くものと予想され、植物の形作りにこの機械受容陰イオンチャンネルは関与しているものと考えられた<sup>2)</sup>。

(iii) シロイヌナズナの *AtMID1A* と *AtMID1B* 遺伝子に類似の遺伝子をイネにおいても発見し、*OsMIDI* (後述の *OsMCA1* に相当) と名付けた。この遺伝子産物は伸展活性化カルシウムチャンネルであることが予想され、その機能を解析した結果、*OsMid1* と協調してはたらくと予想される電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) 候補の遺伝子を単離することに成功し *OsTPC1* と名付けて機能解析を行なった。その結果、*OsTpc1* タンパク質は二次構造上動物の VDCC に類似していること、および VDCC のブロッカーであるベラパミルによって阻害されることを明らかにした。これらの成果により、*OsTpc1* がイネの VDCC であることが示唆され、*AtMid1A* と *AtMid1B* との機能的相互作用を遺伝学および生化学

学的に解析する道が開かれた<sup>3)</sup>。

### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Tada T, Ohmori M, Iida H, “Molecular dissection of the hydrophobic segments H3 and H4 of the yeast Ca<sup>2+</sup> channel component Mid1.” , *J. Biol. Chem.* , 278, 9647-9654, (2003)
- 2) Qi Z, Kishigami A, Nakagawa Y, Iida H, Sokabe M, “A mechanosensitive anion channel in *Arabidopsis thaliana* mesophyll cells.” , *Plant Cell Physiol.* , 45, 1704-1708, (2004)
- 3) Hashimoto K, Saito M, Matsuoka H, Iida K, Iida H, “Functional analysis of a rice putative voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel, OsTPC1, expressed in yeast cells lacking its homologous gene CCH1.” , *Plant Cell Physiol.* , 45, 496-500, (2004)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了時点においては、本研究の目的である重力感知の分子機構の解明には至っていなかったが、終了後も飯田秀利は科研費特定領域研究「シロイヌナズナのカルシウム透過性機械刺激センサーの動作機構」(2007~2008年度)、科研費特定領域研究「シロイヌナズナの新規カルシウム透過性機械刺激センサーの動作機構」(2009~2010年度)、科研費基盤研究(B)「シロイヌナズナの物理刺激感受における新規機械受容性カルシウムチャネルの役割解明」(2009~2011年度)、ノバルティス研究助成金「植物の機械刺激センサーとしてはたらく機械受容性カルシウムチャネルの研究」(2009~2010年度)を通じて、Ca<sup>2+</sup>透過性伸展活性陽イオンチャネルに着目した研究を継続し、本研究領域の成果である *MIDI* 遺伝子を起点に重力感知を含む機械刺激センサーの実体遺伝子としての *MCAI* を発見した。*MCAI* の発見は、ダーウィンの研究以来の難問(植物の触角の本体は何か)の解決に糸口を与えるものであるとのプレスリリースがあった(2007年2月20日、東京学芸大学プレスリリース；植物の触角に大切な遺伝子を発見)。

また、本研究領域の共同研究者であった辰巳仁史(名古屋大学医学部准教授)と曾我部正博(同教授)と共同で *MCAI* を中心とした宇宙実験のテーマ「植物細胞の重力受容装置の形成分化とその分子機構の研究」(代表者辰巳仁史)が2010年度の宇宙高級研究開発機構の「きぼう」船内実験室利用第2期後半期間テーマに採択され、2014年度の宇宙実験に向けて研究を進めている。

さらに、分裂酵母から細胞内の小胞体膜に存在する別のカルシウムイオンチャネルである *Msy1* と *Msy2* を見出し、それらの機械受容チャネルが浸透圧センサーとして細胞の生存に必要な防御応答に働いている新しい仕組みであることを世界で初めて明らかにした(2012年8月22日、東京学芸大学プレスリリース；浸透圧調節の新しいしくみを発見)。

すなわち、  
(i)シロイヌナズナから機械刺激作動性カルシウムチャネルの候補遺伝子を単離するために、酵母の機械刺激作動性カルシウムチャネルであると予想されているタンパク質を欠失

した突然変異株(*mid1* 変異株)を利用した。酵母の *mid1* 変異株はある条件で致死となるので、その致死性を回復できるシロイヌナズナの遺伝子を検索し *MCA1* 遺伝子を得た。*MCA1* 遺伝子から作られるタンパク質(*Mca1*)は、酵母細胞に発現させると細胞膜に局在し、カルシウムを取り込む活性を持っていた。*MCA1* 遺伝子をシロイヌナズナで過剰発現させると根からのカルシウムの取り込みが増加した。また、機械刺激の一種である低浸透圧刺激を与えると野生株よりも多くのカルシウムを取り込んだ。動物の細胞に *MCA1* 遺伝子を発現させその細胞膜を伸ばすという機械刺激を与えた場合でも細胞内のカルシウム濃度が上昇した。*MCA1* 遺伝子を欠失したシロイヌナズナの芽生えの根は軟寒天培地から硬寒天培地へと侵入することができなかつたことから著者は *MCA1* 遺伝子は根による寒天の硬さの感知に働き、*MCA1* 遺伝子が機械刺激作動性カルシウムチャネルの遺伝子であると考察している<sup>1)</sup>。

(ii)シロイヌナズナから *MCA1* の唯一のパラログである *MCA2* を得た。*MCA2*cDNA は酵母の *Mid1* と *Cch1* とからなるカルシウムチャネル欠損株のカルシウムイオン取り込み能を回復させた。*MCA1*promoter::*GUS*発現株と *MCA2*promoter::*GUS*発現株の *GUS* 染色から *MCA1* と *MCA2*はほぼ共通して根と地上部の維管束系に多く発現していたが、異なる器官で発現している例も観察された。*mca2* 欠損株の根は *mca1* 欠損株とは違い硬寒天培地へ正常に侵入した。*mca2* 欠損株の根におけるカルシウム取り込み能は野生株よりも低く、高濃度のマグネシウムを含む培地での *mca1mca2* 二重欠損株の増殖は、それぞれの単独欠損株や野生株に比べてより阻害を受けた。以上の結果から著者は、*MCA2* タンパク質は根におけるカルシウム取り込みに関して *MCA1* タンパク質とは違う役割を持つとしている<sup>2)</sup>。

(iii)*MCA1* および *MCA2* は共に原形質膜たんぱく質で 72.7%のアミノ酸配列相同性を持ち、いくつかの共通の構造特性を有している。カルシウム取り込み活性に重要なアミノ酸領域を決定するために、それぞれについて種々の長さのタンパク質断片を作成し酵母での発現アッセイに供した。コイルドコイルモチーフを持つ *MCA1* の N-末端側 (*MCA1*1-273)はカルシウム取り込み活性も持たないが *MCA2* の N-末端側 1-237 は活性を保持した。一方、コイルドコイルモチーフがない *MCA1*N-末端 (1-185)は *MCA2*(1-186)と同じく活性を示した。EF ハンド様領域を含む *MCA1*1-173 および *MCA2*1-173 も共に活性を有した。推定膜貫通領域 (Ile11-Ala33)の欠失、Asp21 のアスパラギンへの置換は共にカルシウム取り込み活性を消失させた。これらの結果から著者は、カルシウム取り込みに必須の領域は両タンパク質共に EF ハンド様構造を持つ N-末端側にあり、コイルドコイルモチーフは *MCA1* に対してはネガティブ、*MCA2* に対してはポジティブに働くと考察している<sup>3)</sup>。

(iv)分裂酵母からバクテリアの機械受容チャネル *MscS* のホモログ遺伝子を二つ見出し、*Msy1* と *Msy2* と名付けた。両遺伝子は浸透圧ストレス後に発現量が 5 倍以上上昇し、*Msy1* と *Msy2* の遺伝子を破壊すると浸透圧刺激後の細胞の生存率が著しく低下した。遺伝子破壊細胞では低浸透圧刺激時の細胞の体積と細胞内のカルシウム濃度が野生株の細胞よりも増大した。蛍光標識された *Msy1* と *Msy2* のタンパク質は共に小胞体膜に局在した。但し、*Msy1* は核周辺の小胞体の膜に、*Msy2* は細胞膜周辺の小胞体の膜に存在した。*Msy1* を大腸菌で発現させて膜に張力を与えるとイオンチャネル電流が計測された。これらの結果から *Msy1*

と Msy2 は小胞体で低浸透圧を感じている機械受容チャネルであると報告されている<sup>4)</sup>。

## ② 社会・経済的波及効果

植物重力センサーも含めた機械刺激作動性カルシウムチャネルである *MCA1* の発見は、単に接触感知だけでなく、細胞や花粉管の伸長など、細胞形態の変化を伴う生命現象に重要であるので、この成果は植物生長の基礎研究にも役立つことが期待されるとのプレスリリースがあった(2007年2月20日、東京学芸大学プレスリリース；植物の触角に大切な遺伝子を発見)。本研究領域の研究領域事後評価資料(2008年3月4日)は、伸展活性化カルシウムイオン透過チャネル遺伝子の制御機構を解明することで効率的に光受容形態を保持し、光合成能の維持・充進が図れるとしている。

Msy1、Msy2 機械受容チャネルによる浸透圧調節は、腎臓や神経細胞の機能にも重要なことから、本研究はこれらの研究にも役立つものと期待されるとのプレスリリースがあった(2012年8月22日、東京学芸大学プレスリリース；浸透圧調節の新しいしくみを発見)。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Nakagawa Y, Katagiri T, Shinozaki K, Qi Z, Tatsumi H, Furuichi T, Kishigami A, Sokabe M, Kojima I, Sato S, Kato T, Tabata S, Iida K, Terashima A, Nakano M, Ikeda M, Yamanaka T, Iida H, "Arabidopsis plasma membrane protein crucial for  $\text{Ca}^{2+}$  influx and touch sensing in roots.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 3639-3644, (2007)
- 2) Yamanaka T, Nakagawa Y, Mori K, Nakano M, Imamura T, Kataoka H, Terashima A, Iida K, Kojima I, Katagiri T, Shinozaki K, Iida H, "*MCA1* and *MCA2* that mediate  $\text{Ca}^{2+}$  uptake have distinct and overlapping roles in Arabidopsis.", *Plant Physiology*, 152, 1284-1296, (2010)
- 3) Nakano M, Iida K, Nyunoya H, Iida H, "Determination of structural regions important for  $\text{Ca}^{2+}$  uptake activity in arabidopsis *MCA1* and *MCA2* expressed in yeast.", *Plant and Cell Physiology*, 52, 1915-1930, (2011)
- 4) Nakayama Y, Yoshimura K, Iida H, "Organelle mechanosensitive channels in fission yeast regulate the hypo-osmotic shock response.", *Nature Communications*, 3, 1020 doi: 10. 1038/ncomms2014 (2012)

### 3.1.2 植物生殖成長のキーププロセスを統御する分子機構の解明(経塚淳子)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

いつ花を咲かせるかは植物の生存にとって非常に重要な問題であり、多数の遺伝子のネットワークにより精密に制御されている。

本研究では、植物が環境の変化を感知して花成にいたる情報伝達ネットワークの主要経路を明らかにすることをめざした。

##### ② 期間中の主な研究成果

(i) 古くから花成ホルモンの存在が指摘されていながらその実体は不明のままであった。FT (FLOWERING LOCUS T) 遺伝子が葉から茎頂への花成シグナルを伝達する花成ホルモンの遺伝子であることを強く示唆する結果を示し、自然科学の発展に大きく寄与する成果を得た<sup>1)</sup>。

(ii) 早咲きになる突然変異体 *tf12* の解析から TFL2 はクロマチン因子であり、FT の発現を抑制することにより花成を制御していることを明らかにした。さらに TFL2 はヘテロクロマチンタンパク質のホモログであるにもかかわらずヘテロクロマチン領域の遺伝子ではなく、FT や花のホメオティック遺伝子といったユークロマチン遺伝子を抑制していることを示した<sup>2)</sup>。

(iii) イネの花序形成制御ネットワークの解明を目的にイネの分枝形成に必須の遺伝子である LAX を単離し、分枝形成時に新たに作られる分裂組織を取り囲んで発現することを発見した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Abe M, Kobayashi Y, Yamamoto S, Daimon Y, Yamaguchi A, Ikeda Y, Ichinoki H, Notaguchi M, Goto K, Araki T, “FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex.” , *Science* 309, 1052-1056, (2005)
- 2) Takada S, Goto K, “TERMINAL FLOWER2, an Arabidopsis Homolog of HETEROCHROMATIN PROTEIN1, Counteracts the Activation of FLOWERING LOCUS T by CONSTANS in the Vascular Tissues of Leaves to Regulate Flowering Time.” , *Plant Cell*, 15, 2856-2865, (2003)
- 3) Komatsu K, Maekawa M, Ujiie S, Satake Y, Okamoto H, Furutani I, Shimamoto K, Kyojuka J, “LAX and SPA - major regulators of shoot branching in rice.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 11765-11770, (2003)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域期間中に取得した生殖成長に関わる遺伝子群の解析を「分枝形成」「分裂組織の分化」「分裂組織アイデンティティの維持」の三過程に注視して継続している。研究代表者の意図は「枝分かれ」をキーワードとして花形成も含めた植物の形づくりの機構を解明することにありその結果、多くの成果が得られた。

茎頂分裂組織などで細胞の分裂や分化の制御に重要な役割を果たすことが知られている植物ホルモンのサイトカイニンについて、その活性発現の最終段階を司る酵素遺伝子 LOG を理化学研究所との共同研究で発見した(科研費基盤研究(B))。「腋芽の形成を制御する分子メカニズムの解析」(2006～2008年度)、科研費特定領域研究「メリステムの活性維持、相転換におけるサイトカイニンの役割」(2008年度)、および科研費特定領域研究「イネ花序形成においてメリステムの相転換を調節する分子機構」(2009～2010年度))。さらに、科研費基盤研究(A)「腋芽の成長を制御する分子機構の解明」(2010～2013年度)を通じて、研究代表者が分離していたイネの枝分かれ過剰突然変異体の解析からストリゴラクトンが植物の枝分かれを制御する新しいホルモンであることを理化学研究所と共同で見出した。すなわち、

(i) 茎頂分裂組織に異常が見られ花器官の数が減少したイネの新規突然変異株からクローニングされた遺伝子 LOG がサイトカイニン生合成の最終ステップを触媒する酵素をコードすることを見出した。LOG は、これまで2段階の反応で進むと考えられていた脱リン酸化と脱リボースの両方を触媒した。LOG 遺伝子は未分化細胞が存在する茎頂分裂組織の先端部分で発現していることから、LOG は未分化細胞の領域でサイトカイニン前駆体を活性型に転換して未分化細胞を維持するためのサイトカイニンを供給していると著者は考察している<sup>1)</sup>。

(ii) 一連の枝分かれ過剰突然変異株の解析から、オーキシンとサイトカイニン以外にカロチノイドから由来する別のホルモンの存在が指摘されていた。枝分かれ過剰変異株のいくつかではストリゴラクトンの量が減少していた。これらの変異株にストリゴラクトンを投与すると枝分かれが正常に戻ることを見出した。根の周りで菌根菌や根寄生植物種子とのコミュニケーション物質として働くことが分かっていたストリゴラクトンが植物体内で枝分かれを抑制するホルモンとして機能することを突き止めた。ストリゴラクトンが持つ栄養応答における役割モデルが提案された<sup>2)</sup>。

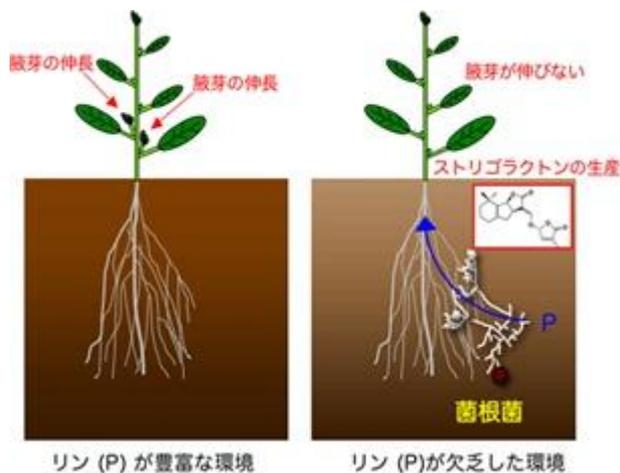


図 3-1 ストリゴラクトンの栄養応答における役割

植物が、リン酸の欠乏した環境下にさらされると、根からストリゴラクトンを放出しアーバスキュラー菌根菌の生育を活発にする。植物の根に感染したアーバスキュラー菌根菌は土壌中の少ないリン酸を効率よく植物に供給する。その一方で、植物は限られた栄養を有効に利用するためにストリゴラクトンのシグナルを通じて、余計な腋芽の伸長を抑制していると考えられる。

(出典：2008年8月11日、(独)理化学研究所プレスリリース；植物の枝分かれを制御する新しいホルモンを発見)<sup>7</sup>

(iii) 小穂数の増加につながる4つの優性変異株を分離し、それらがAPO (ABERRANT PANICLE ORGANIZATION) 1 遺伝子の機能獲得型変異であることを見出した。4つの変異株でのAPO1発現量と花序分裂組織への転換程度を解析した結果、APO1活性レベルが花序形成を分裂組織の細胞増殖を介して制御していた<sup>3)</sup>。

(iv) 穂 pap2-1 変異株では分裂組織の開始パターンが組織化されておらず新しく形成された分裂組織は小穂分裂組織に分化する能力が減少していた。加えて、小穂の副護穎と護穎は伸長して葉状を示すことからPAP2は小穂分裂組織のアイデンティティを正に制御するレギュレーターであった。ポジショナルクローニングによりPAP2はMADS-boxタンパク質群のLOFSEPサブグループに属するOsMADS34タンパク質をコードしていることがわかった<sup>4)</sup>。

このストリゴラクトン研究により、研究代表者の経塚淳子は日本の先端分野で活躍する研究者16人の一人として米調査会社トムソン・ロイターの「第3回リサーチフロントアワード」に選定された。(トムソン・ロイタープレスリリース)<sup>8</sup>

## ② 社会・経済的波及効果

サイトカイニン葉の老化を抑え、光合成を活発化し稲の穀粒数を決めるなど重要な役割を持つ植物ホルモンであるが、その活性化因子としてLOGを同定できたことで作物の生

<sup>7</sup> [http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080811\\_1/20080811\\_1.pdf](http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080811_1/20080811_1.pdf)

<sup>8</sup> <http://ip-science.thomsonreuters.jp/press/release/2012/rf2012/>

産性向上につながる可能性が報じられた(2007年2月8日、日経産業新聞)。

また、ストリゴラクトンの持つ新機能の発見は科学的に大きな業績であると同時に農作物の根に寄生する根寄生植物の被害を軽減する方法論に繋がり、栄養分の乏しい土地での作物の生産性向上の鍵になるとのプレスリリースがあった(2008年8月11日、理化学研究所プレスリリース；植物の枝分かれを制御する新しいホルモンを発見<sup>9</sup>)。

### ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, Sakakibara H, Kyojuka J, "Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme." *Nature*, 445, 652-655, (2007)
- 2) Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S, "Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones.", *Nature*, 455, 195-200, (2008)
- 3) Ikeda-Kawakatsu K, Yasuno N, Oikawa T, Iida S, Nagato Y, Maekawa M, Kyojuka J, "Expression level of ABERRANT PANICLE ORGANIZATION1 determines rice inflorescence form through control of cell proliferation in the meristem.", *Plant Physiology*, 150, 736-747, (2009)
- 4) Kobayashi K, Maekawa M, Miyao A, Hirochika H, Kyojuka J, "PANICLE PHYTOMER2 (PAP2), encoding a SEPALLATA subfamily MADS-box protein, positively controls spikelet meristem identity in rice.", *Plant and Cell Physiology*, 51, 47-57, (2010)

### ④ その他

本研究領域期間中の成果であった花成ホルモンについては、サブリーダーの荒木崇(京都大学大学院生命科学科)が研究を継続している。葉で作られたフロリゲンタンパク質が篩管を通過して茎頂に運ばれ、茎頂で FD (FLOWERING LOCUS D) タンパク質と複合体を形成し他の因子との作用で花芽を形成することが提唱されている<sup>10</sup>。

<sup>9</sup> [http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080811\\_1/20080811\\_1.pdf](http://www.riken.jp/~media/riken/pr/press/2008/20080811_1/20080811_1.pdf)

<sup>10</sup> 『新しい植物ホルモンの科学 第2版』神谷勇治, 小柴共一(編), 講談社サイエンティフィック, pp. 169-182.

### 3.1.3 光合成生物の生物時計：その分子機構と環境適応(近藤孝男)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

生物にとって昼夜の変化は最も重要な環境変動で生命はこの変動を予測しより効率的な生命活動を実現するため、進化の過程で約 24 時間周期の時計機構(概日時計または生物時計)を細胞内に備えるようになったと考えられている。

本研究では、概日時計を機能的な時計たらしめている物質的メカニズムを理解するものであり、その振動が概日時計の特性である安定した 24 時間の振動となることを生化学的に理解することをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) シアノバクテリアの概日時計蛋白質の細胞内動態を解析し、KaiA が KaiC のリン酸化を促進しその後 KaiB が複合体に加わり、脱リン酸化を進めることを明らかにした。3 つの Kai 蛋白質が KaiC のリン酸化サイクルを調整していることが明らかになった<sup>1)</sup>。

(ii) KaiC の過剰発現により、すべての遺伝子の振動成分が完全に押さえられ、KaiC の遺伝子発現制御はゲノムワイドに起こっていることを示した。また大腸菌のプロモーターによる kaiBC の人工発現により概日リズムが回復することを示し、kaiBC のプロモーターが必須ではないことを明らかにした<sup>2)</sup>。

(iii) 暗期中で転写も翻訳も全く起こっていない状態でも KaiC のリン酸化サイクルは 24 時間振動を継続することを示した。これはこれまで生物時計の基本構造とされていた時計遺伝子の発現制御を否定するもので、生物時計の原因は KaiC のリン酸化サイクルであることを示すものである<sup>3)</sup>。

(iv) 3 つの Kai タンパク質を精製し、それらをリン酸化に必須な ATP と一緒に混ぜ KaiC の状態を 2 時間ごとに測定した。リン酸化された KaiC とそうでない KaiC は 12 時間ずれたリズムを示し、24 時間周期で交互に現れたり消えたりした。温度を変えてもこの周期は変わらなかった。さらに KaiC 突然変異のタンパク質を精製し再構成して周期を調べてみると、元の突然変異シアノバクテリアが示す周期と同じ周期を示した<sup>1)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3 報以内)

- 1) Kitayama Y, Iwasaki H, Nishiwaki T, Kondo T, “KaiB functions as an attenuator of KaiC phosphorylation in the cyanobacterial circadian clock system.”, *EMBO J.* 22, 2127-2134, (2003)

---

<sup>1)</sup> Nakajima, M., Imai, K., Ito, H., Nishiwaki, T., Murayama, Y., Iwasaki, H., Oyama, T., Kondo, T. “Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro”, *Science* 308, 414-415, (2005)

- 2) Nakahira Y, Katayama M, Miyashita H, Kutsuna S, Iwasaki H, Oyama T, Kondo T, “Global gene repression by KaiC as a master process of prokaryotic circadian system.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 881-885, (2004)
- 3) Tomita J, Nakajima M, Kondo T, Iwasaki H, “No transcription-translation feedback in circadian rhythm of KaiC phosphorylation.” , *Science* 307: 251-254, (2005)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了以降、JST 発展研究 SORST「KaiC リン酸化サイクルによる生物時計の計時機構」(2005~2007 年度)を経て、JST CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」領域(2007~2012 年度)の「シアノバクテリアの概日システム」として継続して研究が続けられている。

生命がいかにして 24 時間という地球周期をタンパク分子に取り込んだかの解答を得るために、シアノバクテリアの時計タンパク質 KaiC に潜む概日振動発生機構を生化学、構造生物学および生物物理学の複数の視点から研究を継続し以下に示すような知見が得られた。

(i) 3 つの時計タンパク質(KaiA、KaiB、KaiC)を ATP 存在下で混合すると KaiC の ATP 加水分解酵素活性やリン酸化状態が 24 時間周期で振動することが確認された。KaiC の ATPase 活性は安定ではあるが非常に低く、種々の ATPase 変異株の解析から ATP 分解速度が体内時計の周期を決めていると著者は考察している<sup>1)</sup>。

(ii) KaiC リン酸化リズムでは、異なる位相の KaiC タンパク質を混合するとその位相が独特の様式で速やかに統合された。この統合は KaiC 脱リン酸化と密接にリンクしており KaiC 六量体間のモノマー交換により仲介されていることが判明した<sup>2)</sup>。

(iii) 著者は KaiC リン酸化のリズムがシアノバクテリア概日振動発生の基本と考えている。培養温度を 30℃と 45℃の間で上下させると、温度は水分子の熱運動として伝達され非パラメトリック同調と呼ばれる形式で KaiC リン酸化リズムを同調させることができた<sup>3)</sup>。

(iv) X 線小角散乱を用いて KaiC の溶液中での分子形状を観察したところ、KaiC が ATPase 活性、リン酸化状態、分子形状を互いに連動させつつ 4 つの状態を経由することが明らかになった。N-末端領域アミノ酸が六量体で形成する CI ドメインが持つ ATPase 活性の制御状態と密に連動して、C-末端アミノ酸六量体の CII ドメインのリング半径が膨張・収縮を繰り返した。ATPase の基準信号を KaiC の構造変化へと変換しさらにそれを通じて KaiB や KaiC の結合・解離と連動させることで、より強固で安定な 24 時間振動を実現していると著者は考察している<sup>4)</sup>。

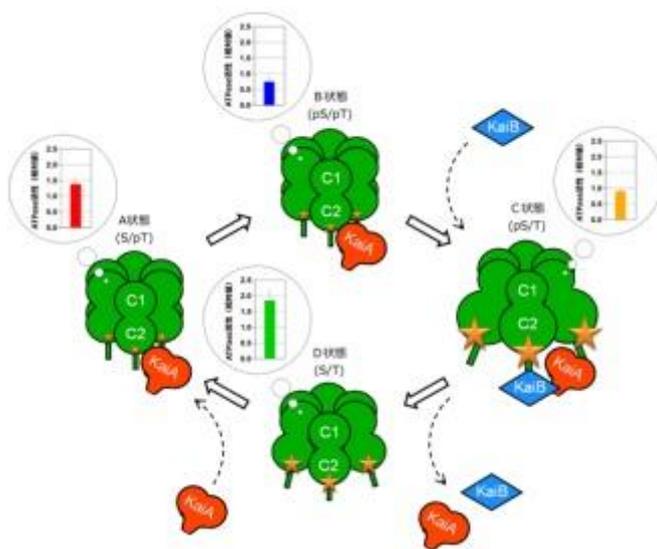


図 3-2 KaiA タンパク質時計の反応サイクルの模式図

(出典：2010年11月27日、科学技術振興機構プレスリリース；藻類の「時計たんぱく質」のリズミカルな構造変化を解明<sup>12)</sup>)

Kai タンパク質時計の中核をなす振動子が時を刻む様子を捉え時計機能を発現するための基本要素が KaiC に内包されることを証明した。KaiC のような機能を有するタンパク質が見出されているのはシアノバクテリアのみであるが、ATP を使ったタイミング制御は人間を含め高等生物でも姿を変えて進化してきた可能性があり、今後の生物時計研究の手がかりになるとのプレスリリースがあった(2010年11月27日、JST プレスリリース；藍藻の「時計たんぱく質」のリズミカルな構造変化を解明<sup>12)</sup>)。

一連の研究成果に対して近藤孝男は文部科学大臣表彰・科学技術賞(2006年)、日本植物生理学会賞(2006年)、朝日賞(2007年)、日本遺伝学会木原賞(2011年)、紫綬褒章(2011年)を受賞した。

## ② 社会・経済的波及効果

KaiC の自律的振動を検出する手法をオリンパスと共同で特許を出願、2012年に成立した(生体分子の自律的振動反応の検出方法；特願 2007-176279、特許第 5019111 号)。オリンパス社の発光イメージング機器が最も多く使われている分野のひとつが生体時計研究であり同社は同社機器への応用をめざしている(出典：オリンパスホームページ<sup>13)</sup>)。

生物時計の機構解明は、人間を含めた生物の生活の質を維持向上させることに繋がる。海外旅行の時差ぼけや睡眠リズム障害は生物時計の昼夜のずれによって生じるため、人間の生物時計の仕組みが解明されればこれらの治療法にもつながるほか植物であれば成長を制御して食料の増産手法の開発につながると報じられた(2008年6月8日、日本経済新聞)。

また、生体が一定のリズムで時を刻む仕組みが解明されれば、その原理を応用して、毎

<sup>12</sup> <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20101127/>

<sup>13</sup> <http://www.olympus.co.jp/jp/corc/technology/lv200/>

日一定のタイミングで薬を放出する薬物送達システム(DDS)の開発など、タンパク質工学への応用の可能性が報道された(2007年10月29日、日経産業新聞)。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Nishiwaki T, Satomi Y, Kitayama Y, Terauchi K, Kiyohara R, Takao T, Kondo T, "A sequential program of dual phosphorylation of KaiC as a basis for circadian rhythm in cyanobacteria.", *EMBO Journal*, 26, 4029-4037, (2007)
- 2) Ito H, Kageyama H, Mutsuda M, Nakajima M, Oyama T, Kondo T, "Autonomous synchronization of the circadian KaiC phosphorylation rhythm", *Nature Structural and Molecular Biology*, 14, 1084-1088, (2007)
- 3) Yoshida T, Murayama Y, Ito H, Kageyama H, Kondo T, "Nonparametric entrainment of the in vitro circadian phosphorylation rhythm of cyanobacterial KaiC by temperature cycle", *Proc Natl. Acad Sci. USA*, 106, 1648-1653, (2009)
- 4) Murayama Y, Mukaiyama A, Imai K, Onoue Y, Tsunoda A, Nohara A, Ishida T, Maéda Y, Terauchi K, Kondo T, Akiyama S, "Tracking and visualizing the circadian ticking of the cyanobacterial clock protein KaiC in solution.", *EMBO Journal*, 30, 68-78, (2011)

### 3.1.4 ポストゲノム科学を基盤とする植物同化代謝機能のダイナミクス解明(齊藤和季)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

植物の生産性と品質の向上に関わる分子基盤を植物代謝機能と制御の局面から確立することを最終目標とした。

本研究では急速にゲノム解析が進んでいるシロイヌナズナとイネを研究材料として、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボロミクスなどのポストゲノム科学を基盤とし炭素・窒素・硫黄・リンの同化代謝間相互のダイナミクスを解明すること、具体的にはトランスクリプトミクスやタンパク質レベルでのダイナミクスに加え遺伝子機能とその代謝物パターンの変化を一对一对応させるメタボロミクス研究に重点を置き代謝の分子ネットワーク解明をめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) イオウ代謝に関与する酵素 cystine lyase について、シロイヌナズナから遺伝子をクローニングし、組換えタンパク質を用いてその生化学的性質を明らかにし、本酵素が新しいタイプの植物酵素であることを明らかにした<sup>1)</sup>。

(ii) トランスクリプトミクスとメタボロミクスの統合によりシロイヌナズナにおける栄養ストレスに対する全体的なレスポンス機構を明らかにし新たなファンクショナルゲノム解析法を開発した<sup>2)</sup>。

(iii) 植物メタボロミクス実験とその結果を記述するための国際的に共通なフレームワークを提唱した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Jones P, Manabe T, Awazuhara M, Saito K, “A new member of plant CS-lyases - A cystine lyase from *Arabidopsis thaliana*.” , *J. Biol. Chem.*, 278, 10291-10296, (2003)
- 2) Yokota-Hirai M, Yano M, Goodenow D.B, Kanaya S, Kimura T, Awazuhara M, Arita M, Fujiwara T, Kazuki Saito K, “Integration of transcriptomics and metabolomics for understanding of global responses to nutritional stresses in *Arabidopsis thaliana*.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 10205-10210, (2004)
- 3) Jenkins H, Hardy N, Beckmann M, Draper J, Smith A. R, Taylor J, Fiehn O, Goodacre R, Bino R, Hall R, Kopka J, Lane G. A, Lange M, Liu J. R, Mendes P, Nikolau B. J, Oliver S. G, Paton N. W, Roessner-Tunali U, Saito K, Smedsgaard J, Sumner L. W, Wang T, Walsh S, Eve Syrkin-Wurtele E, Kell D. B, “A proposed framework for the description of plant metabolomics experiments and their results.” , *Nature Biotech.*, 22, 1601-1606, (2004)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

齊藤和季はメタボロミクスとトランスクリプトミクスの統合による新たなファンクショナルゲノム解析法を発展させて、植物が 20 万種におよぶ化学成分を生産している基本原理の解明研究を継続した。科研費基盤研究(A)「ファイトケミカルゲノミクス:植物化学的多様性のゲノム基盤」(2007~2010 年度)を通じて、健康機能を有するフラボノイドや含硫黄化合物、アルカロイドなどの生合成遺伝子やその代謝的なネットワーク解明に伸展がみられた。また、新たに理化学研究所植物科学センター内に設置された「メタボローム機能研究グループ」のグループ長も兼任し、メタボローム解析技術と新たに開発した統計解析手法を組み合わせて、遺伝子組換えトマトを対象に組換え作物の安全性を評価する手法を開発した。直近では、農林水産省「新農業展開ゲノムプロジェクト(課題番号 NVR-0005)の助成を受けて、玄米の遺伝型と表現型の関連性を詳細に分析し、数百にのぼる遺伝子や代謝物を発見した。すなわち、

(i) シロイヌナズナのアントシアニンおよびフラボノール生合成を制御する転写因子を 2 個同時発現させた遺伝子組み換えラインを作出し、フラボノイド成分の探索および遺伝子発現ネットワークの解析から新規のフラボノイド成分の単離同定に成功した。また、二重転写因子高発現株は環境ストレス耐性が向上しており、フラボノイド生合成機構とストレス耐性との強い関連性が示された<sup>1)</sup>。

(ii) 含硫黄成分生合成遺伝子の網羅的同定を目的に、システイン合成系に関与する複数のセリンアセチル転移酵素およびベーター置換アラニン類合成酵素遺伝子群の解析を多重挿入変異体や組換えタンパク質を用いて行い、それぞれのアイソフォーム遺伝子の機能を同定した<sup>2)</sup>。

(iii) 酸味を甘味に変える作用を持つ糖タンパク質「ミラクリン」の遺伝子を導入した遺伝子組換え作物「ミラクリントマト」のメタボロームを、3 種類の高性能質量分析装置を用いて測定した。その結果、ミラクリントマトはトマトメタボロームの 86%を網羅し、同じ遺伝的背景の非組換え体栽培品種「マナーメーカー」と 92%以上の類似性を示した。ミラクリントマトで変化するアミノ酸などの代謝物を特定することができた<sup>3)</sup>。

(iv) QTL 解析用のイネ実験系統群を 2005 年と 2007 年に 2 回栽培し、生育環境の異なる玄米を得た。総計 170 サンプルの玄米に含まれる代謝物をメタボローム分析パイプラインを用いて解析し、759 個の代謝成分を検出した。そのうち新たに 131 個の化学構造同定に成功し、玄米にアミノ酸、糖、脂質、有機酸、フラボノイドなどの多様な成分が含まれることを明らかにした。サンプル間における各代謝成分含有量を比較し、各成分の遺伝率を見積もり、フラボノイド成分量が糖・アミノ酸と比較し遺伝的要因が強く影響することを見出した。また、759 個の代謝成分含有量データを用いて QTL 解析を行い、代謝成分含有量に影響を与える 801 個の遺伝子を同定した。これらの情報は、予め目的の形質の原因遺伝子の場所を特定し、遺伝マーカーを用いてその遺伝子を持つ系統を短期間で選抜するマー

カー育種法に有効である<sup>4)</sup>。

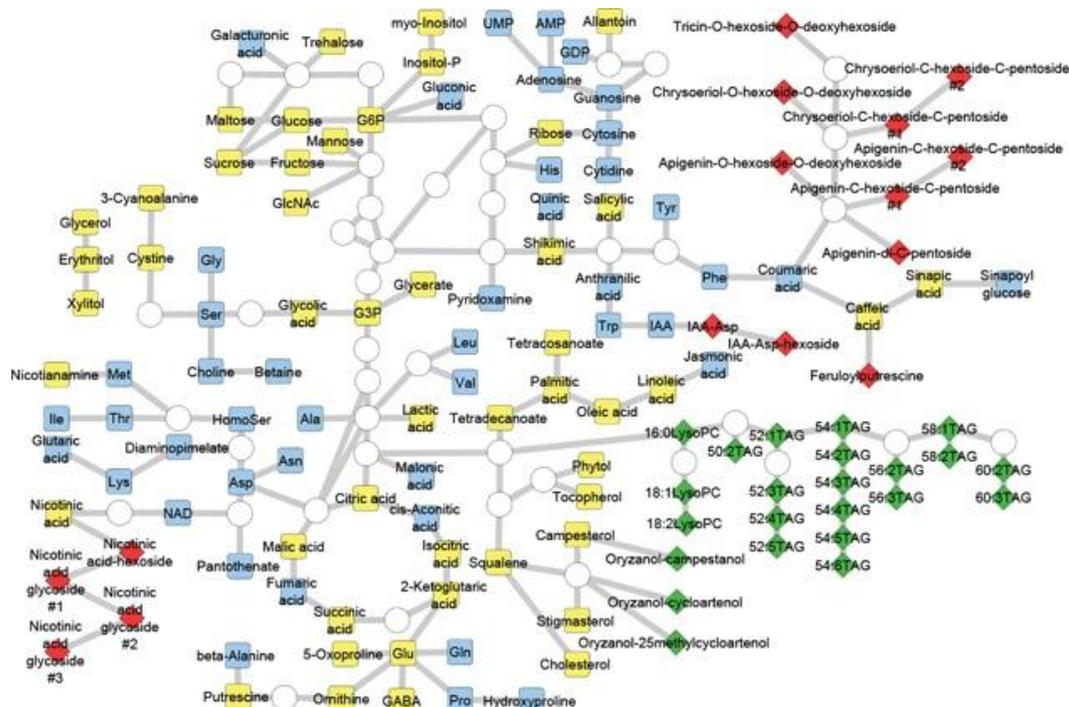


図 3-3 検出した玄米代謝成分

代謝物は簡略化した代謝マップ上に示している。異なる 4 種の質量分析装置 (MS) で測定を行った。

青；キャピラリー電気泳動—飛行時間型 (TOF)-MS

黄；ガスクロマトグラフィー—TOF-MS

緑；HPLC—イオントラップ—MS

赤：HPLC-TOF-MS

(出典：2012 年 2 月 8 日、理化学研究所プレスリリース；玄米の代謝成分量を決める遺伝型を網羅的解析<sup>14)</sup>)

斉藤和季は、トムソン・ロイター社 Fast Breaking Papers2008、2010 年文部科学大臣表彰科学技術賞 (研究部門)、2010 年米国植物生物学会 (ASPB) Top Authors、2011 年日本植物細胞分子生物学会学術賞を受賞した。

## ② 社会・経済的波及効果

玄米のファンクショナルゲノム解析は有用な形質に対応する遺伝子の迅速な選抜を可能とするものである。この方法により選抜された自然突然変異株を交配することにより、遺伝子組換え技術を使わない効率的かつ迅速な品種改良技術の構築に繋がるとのプレスリリースがあった (2012 年 2 月 8 日、理化学研究所プレスリリース；玄米の代謝成分量を決める遺伝型を網羅的解析<sup>15)</sup>)。

<sup>14</sup> [http://www.riken.jp/pr/press/2012/20120208\\_2/digest/](http://www.riken.jp/pr/press/2012/20120208_2/digest/)

<sup>15</sup> [http://www.riken.jp/pr/press/2012/20120208\\_2/digest/](http://www.riken.jp/pr/press/2012/20120208_2/digest/)

一方で、メタボローム解析技術と統計解析手法を組み合わせることで遺伝子組換え作物の代謝の変化などを包括的に知ることができる成分評価手法を確立したことは遺伝子組換え作物の客観的な安全性評価に役立つと報じられた(2011年2月17日、日本経済新聞夕刊)。

斉藤和季のメタボローム解析研究は、植物代謝物ができる仕組みの解明により健康に良い成分を多く含む植物や環境変化に強い植物の創出に繋がると報じられた(2010年11月16日、日経産業新聞)。

### ③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Nakabayashi R, Kusano M, Kobayashi M, Tohge T, Yonekura-Sakakibara K, Kogure N, Yamazaki M, Kitajima M, Saito K, Takayama H, "Metabolomics-oriented isolation and structure elucidation of 37 compounds including two anthocyanins from *Arabidopsis thaliana*.", *Phytochemistry*, 70, 1017-1029, (2009)
- 2) Watanabe M, Mochida K, Kato T, Tabata S, Yoshimoto N, Noji M, Saito K, "Comparative Genomics and Reverse Genetics Analysis Reveal Indispensable Functions of the Serine Acetyltransferase Gene Family in *Arabidopsis*.", *The Plant Cell*, 20, 2484-2496, (2008)
- 3) Kusano M, Redestig H, Hirai T, Oikawa A, Matsuda F, Fukushima A, Arita M, Watanabe S, Yano M, Hiwasa-Tanase K, Ezura H, Saito K, "Covering chemical diversity of genetically-modified tomatoes using metabolomics for objective substantial equivalence assessment.", *PLoS ONE*, 6 (2), art. no. e16989, (2011)
- 4) Matsuda F, Okazaki Y, Oikawa A, Kusano M, Nakabayashi R, Kikuchi J, Yonemaru J, Ebana K, Yano M, and Saito K, "Dissection of genotype-phenotype associations in rice grains using metabolome quantitative trait loci analysis.", *Plant J.*, 70, 624-636, (2012)

### 3.1.5 オオムギゲノム機能の開発と制御(武田和義)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

オオムギは主要な農作物のひとつであり一万年の栽培の歴史を経て種々のストレス耐性や農業形質などに大きな変異を生じてきた。オオムギは主要穀物の中では自殖性二倍体で染色体数も  $n=7$  と少なく、ムギ類のモデルプラントとして注目されている。

本研究では「ゲノム解析」そのものをターゲットにするのではなく作物の生産性やストレス耐性の解析を視野に入れた研究を展開したいと考えオオムギのゲノム解析に必要な大規模な実験系の開発を進めた。

##### ② 期間中の研究成果

(i) 高能率ゲノム走査法を利用してオオムギの高密度遺伝地図を作製する技術を開発した。その手法を用いて約6ヶ月で AFLP を中心とする 1,000 マーカーを超えるオオムギの連鎖地図を安価に作製し、作製した地図を利用して量的遺伝子座の検出を行い、マーカーを利用した選抜技術や遺伝子単離に有効であることを確認した<sup>1)</sup>。

(ii) 酸性土壌障害の主な原因であるアルミニウムに対して穀類の中でオオムギは最も感受性が高いが、品種間には明確な差異が認められる。この差異の原因をアルミニウム耐性に差のあるオオムギ21品種で解析し根からのクエン酸の放出が耐性を左右することを発見した<sup>2)</sup>。

(iii) オオムギ品種の皮裸性を支配する7H染色体の劣性遺伝子 nud を単離することを目的として高能率ゲノム走査法を用いて強連鎖する遺伝マーカーを作製した。また共分離マーカーを用いて世界各地の野生種ならびに栽培種における多型性の調査を行い、現在の裸麦は単一起源であると推定した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Hori K, Kobayashi T, Shimizu A, Sato K, Takeda K, Kawasaki S, “Efficient construction of high-density linkage map and its application to QTL analysis in barley.”, *Theor. Appl. Genet.* 107, 806-813, (2003)
- 2) Zhao Z, Ma J, Sato K, and Takeda K, “Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.).”, *Planta*, 217, 794-800, (2003)
- 3) Kikuchi S, Taketa S, Ichii M, Kawasaki S, “Efficient fine mapping of the naked caryopsis gene (nud) by HEGS (High efficiency genome scanning)/AFLP in barley.”, *Theoretical and Applied Genetics* 108, 73-78, (2003)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域終了後もオオムギゲノム解析に必要なツールの開発研究が続けられている。また、分子育種への展開として本研究領域終了時に可能性が見えていたストレス耐性や裸性遺伝子などの有用遺伝子の単離に成功し、ビール醸造形質に関わる遺伝子の利用研究も順調に進められている。すなわち、

(i) オオムギゲノム解析に不可欠な大分子量 DNA 断片を挿入した全ゲノムライブラリー構築を目的にオオムギ「はるな二条」の BAC ライブラリーを作成した。BAC ライブラリーは 294,912 クローン(クロロプラスト DNA 由来のクローンはそのうちの 1.7%)からなり、平均挿入断片の大きさは 115.2kb であった。「はるな二条」全ゲノムの 6.6 倍量に相当する。モデル実験ではマーカー当たり平均 5.1 クローンが得られ、本 BAC ライブラリーがオオムギゲノム解析に有用であることが示された<sup>1)</sup>。

(ii) オオムギには実と殻が固く接着した皮麦と実と殻がきれいに分かれる裸麦があるが、皮麦と裸麦の違いがエチレン応答性転写因子(ERF 転写因子)の一つである *Nud* 遺伝子により制御されていることを見出した。*Nud* 遺伝子は、脂肪生合成に関与するとされているシロイヌナズナ *WIN1/SHN1* 転写因子遺伝子と相同性を示した。脂肪染色で皮麦だけに果皮上に脂肪が検出されたことから、著者は裸麦ではこの遺伝子が働かなくなり実と皮がわかれると考察している<sup>2)</sup>。

(iii) オオムギの高解像度連鎖地図を単一の倍加半数体のマッピング集団、3' 末端の EST、および PCR ベースのアッセイで作製した。「はるな二条」と祖先型野生種 H602 を EST 供与体およびマッピング集団の交配親とした。マッピングされた EST はコムギ遺伝子目録の配列と最も高い相同性を示し(93%)、イネのそれとは 50%の相同性であった。著者は、得られた情報はオオムギ全ゲノム解析に必要な物理地図を作成するための基盤となると考えている<sup>3)</sup>。

(iv) ビールの品質を左右する泡の安定化に関わるタンパク質を探索した。安定した泡立ちを示すビールの原料となった麦芽品種のタンパク質を二次元電気泳動で網羅的に分析した。その結果、オオムギの二量体  $\alpha$  - アミラーゼ阻害剤-1(BDA-1)がビール泡の安定化因子であることを見出した<sup>4)</sup>。

オオムギ全ゲノム解析完成の道しるべを付けるなど(2012年10月15日、岡山大学プレスリリース;オオムギのゲノム配列の詳細な解読に成功)、オオムギゲノム育種はもとより、麦類全体の分子育種の基盤を築いたことに対して、研究代表者の武田和義は2009年には日本学士院賞を、2011年には第69回山陽新聞賞を受賞した。

### ② 社会・経済的波及効果

実と殻がくっついている一般的なオオムギ(皮麦)と、きれいに分かれ食用に適したオオ

ムギ(裸麦)の違いを決める遺伝子を突き止めたのは世界で初めての成果である。オオムギの野生種の中には実は小さいが塩害や寒害などの環境ストレスに強いものもあり、この遺伝子に着目して品種改良を進めれば、未利用の野生種を人の食用に変えることもできるとプレスリリースされた(2008年5月22日、岡山大学プレスリリース;オオムギの実と殻を分ける遺伝子を特定<sup>16</sup>)。

### ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Saisho D, Myoraku E, Kawasaki S, Sato K, Takeda K, “Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome (BAC) library from the Japanese malting barley variety 'Haruna Nijo'.” , *Breeding Science*, 57, 29-38, (2007)
- 2) Taketa S, Amano S, Tsujino Y, Sato T, Saisho D, Kakeda K, Nomura M, Suzuki T, Matsumoto T, Sato K, Kanamori H, Kawasaki S, Takeda K, “Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105 , 4062-4067, (2008)
- 3) Sato K, Nankaku N, Takeda K, “A high-density transcript linkage map of barley derived from a single population.” , *Heredity*, 103, 110-117, (2009)
- 4) Okada Y, Ilmure T, Takoi K, Kaneko T, Kihara M, Hayashi K, Ito K, Sato K, Takeda K, “The influence of barley malt protein modification on beer foam stability and their relationship to the Barley Dimeric  $\alpha$ -Amylase Inhibitor-1 (BDAI-1) as a possible foam-promoting protein.” , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1458-1464, (2008)

### ④ その他特記事項

研究代表者の武田和義は2009年3月に岡山大学を定年退官後香川大学監事となったが後任研究者ならびにサブリーダーが本課題を発展させ成果を得ているので追記する。

・佐藤和広(岡山大学資源植物科学研究所)

オオムギの17万個以上の完全長 cDNA を収集し、そのうち重複を除いた 24,783 個の cDNA について塩基配列が決定された。遺伝子データベースと照合することで配列が決定された遺伝子の 85% について機能を推定しデータベース The barley full length cDNA database として公開された<sup>17</sup>。

さらに、岡山大学資源科学研究所と(独)農業生物資源研究所が参加していた国際オオムギゲノム配列決定コンソーシアムが米国のオオムギ品種「Morex」のゲノム配列解読を終了

<sup>16</sup> [http://www.nias.affrc.go.jp/press/2008/20080522\\_4/](http://www.nias.affrc.go.jp/press/2008/20080522_4/)

<sup>17</sup> Matsumoto T, Tanaka T, Sakai H, Amano N, Kanamori H, Kurita K, Kikuta A, Kamiya K, Yamamoto M, Ikawa H, Fujii N, Hori K, Itoh T, Takeda K and Sato K, “Construction and sequence analysis of barley 24,783 full-length cDNAs.” *Plant Physiol.* 156, 20-28, (2011)

し、全体で 51 億塩基からなるオオムギのゲノム塩基配列のうち 98%に相当する 49.8 億塩基の解読に成功したことが報告されている(岡山大学プレスリリース 2012 年 10 月 15 日 ; オオムギのゲノム配列の詳細な解読に成功<sup>18</sup>)。本研究領域には後任研究者が研究推進責任者として参加しており、その成果は 2012 年 11 月 29 日付の *Nature* 誌に掲載された<sup>19</sup>。

・馬建鋒(岡山大学資源植物科学研究所)

酸性土壌での溶出アルミニウム毒性に強いオオムギ品種では、根からクエン酸を分泌してアルミニウムを無毒化しているが、このクエン酸の分泌を司る遺伝子 HvAACT1 を世界で初めて同定した。アルミニウム耐性品種では HvAACT1 遺伝子の上流にプロモーター活性を有する約 1000 塩基対の挿入があり、そのために遺伝子発現が増大していることを明らかにした。この増幅システムを活用すれば世界の耕地面積の 3 割以上を占める酸性土壌での作物収量増大を期待できるとプレスリリースされた(2012 年 3 月 7、岡山大学プレスリリース日 ; 大麦の酸性土壌環境適応力を解明<sup>20</sup>)。

・武田真(岡山大学資源植物科学研究所)

オオムギの芒の長さを決める Lks2 遺伝子をポジショナルクローニングにより単離した。自然変異で生じた短芒遺伝子 lks2. b は、雨の多い東アジア地域で風雨による穂の抵抗が少なく倒れにくい利点があり、この遺伝子の品種改良への活用が期待されるとプレスリリースされた(2012 年 7 月 19 日、岡山大学プレスリリース ; オオムギの芒の長さを決める遺伝子を特定<sup>21</sup>)。

---

<sup>18</sup> <http://www.nias.affrc.go.jp/press/20121015/pdf.pdf>

<sup>19</sup> Mayer KF, Waugh R, Brown JW, Schulman A, Langridge P, Platzer M, Fincher GB, Muehlbauer GJ, Sato K, Close TJ, Wise RP, Stein N, “A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome. International Barley Genome Sequencing Consortium” *Nature* 491, 711-716, (2012)

<sup>20</sup> Fujii M, Yokosho K, Yamaji N, Saisho D, Yamane M, Takahashi H, Sato K, Nakazono M, Ma JF. “Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley” *Nature Communications* 2012 3: 713. doi: 10.1038/ncomms1726.

<sup>21</sup> Yuo T1, Yamashita Y, Kanamori H, Matsumoto T, Lundqvist U, Sato K, Ichii M, Jobling SA, Taketa S. “A SHORT INTERNODES (SHI) family transcription factor gene regulates awn elongation 1 and pistil morphology in barley.” *Journal of Experimental Botany* 63, 5223-5232, (2012)

### 3.1.6 デンプンメタボリックエンジニアリングの開発(中村保典)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

デンプンは食糧食品分野にとどまらず工業製品の素材としても広く利用され、バイオマスとしての利用の他これまでに利用されてこなかった産品においても生物や環境に負荷を与えない生物資源物質として今後ますます重要性を増す可能性が高い。

本研究では、デンプンの産業利用などの応用を視野に、デンプンの主成分であるアミロペクチンの合成代謝システムを明らかにし、関連主用酵素群がアミロペクチンの構造決定にどのように寄与するかに重点を置いて解析した。さらにそれら酵素遺伝子を組み込んだイネ形質転換体のアミロペクチンを解析し、新規デンプンを作る系の開発をめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) イネ胚乳デンプン合成代謝システムをモデルとして、変異体や組換え植物の解析を通じて解明された遺伝子機能に基づいて、アミロペクチンのクラスター構造の形成過程に各酵素がどのように関与するかを説明した新モデルを提唱した<sup>1)</sup>。

(ii) イネの BEIIb が欠損した amylose-extender (ae) 変異体に正常な *BEIIb* ゲノミック遺伝子を導入した形質転換体から *BEIIb* 発現レベルが低い系統 (ae 型)、野生型に近い系統 (補償型)、野生型よりも高い系統 (過剰発現型) に分けて 6 系統を選抜した。その結果、*BEIIb* 発現レベルに応じてアミロペクチンのクラスター構造が異なり、それに伴ってデンプンの結晶型や熱糊化特性が変動し、過剰発現型では過剰に  $\alpha$ -1,6 結合が形成されたためにクラスターの規則性が変形した可溶性デンプンが形成された<sup>2)</sup>。

(iii) イネ sugary-1 変異体にコムギ *ISAI* ゲノミック遺伝子を導入した形質転換体を選抜し詳細に解析した結果、第一には、*ISAI* の導入によってフィトグリコーゲンがデンプンに変換することから、*ISAI* がアミロペクチンのクラスターの形成とデンプン粒の形成に必須であることを直接証明することに初めて成功した。第二には、*ISAI* の発現レベルに応じてアミロペクチンの構造が変化しそれに伴って糊化特性が異なるデンプンが合成されることから、*ISAI* 遺伝子制御によるデンプン合成バイオテクノロジーが有効であることを明らかにした<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト (3 報以内)

- 1) Nakamura Y, "Towards a better understanding of the metabolic system for amylopectin biosynthesis in plants: Rice endosperm as a model tissue.", *Plant Cell Physiology* 43, 718-725, (2002)
- 2) Naoki T, Fujita N, Nishi A, Satoh H, Hosaka Y, Ugaki M, Kawasaki S, Nakamura Y, "The structure of starch can be manipulated by changing the expression levels of starch branching enzyme IIb in rice endosperm.", *Plant Biotechnology Journal*

2, 507-516, (2002)

- 3) Kubo A, Rahman S, Utsumi Y, Li Z, Mukai Y, Yamamoto M, Ugaki M, Harada K, Satoh H, Konik-Rose C, Morell M, Nakamura Y, “Complementation of sugary-1 phenotype in rice endosperm with the wheat isoamylase1 gene supports a direct role of isoamylase1 in amylopectin biosynthesis.”, *Plant Physiology* 137, 43-56, (2005)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の発展への貢献

本研究領域期間中に、高等植物のアミロペクチン合成代謝に関与する主要酵素であるスターチシンターゼ(SS)、デンプン枝作り酵素(BE)およびデンプン枝切り酵素(DBE)についてそれぞれのアイソザイムの中で最もキーとなるアイソザイム(SS II a、BE II b、ISA1)の変異体を分離していたが、終了後も科研費基盤研究(A)「産業用素材としてのデンプンを合成する育種素材の作出」(2008年～2011年度)を通じて、他のアイソザイムの欠損変異体(SS I、SS III a、BE I、BE II a、ISA2、PUL)を精力的に取得し、アミロペクチンの構造ならびに物性に及ぼす影響を詳細に検討している。また、デンプン生合成の初期反応に重要な $\alpha$ -グルカンフォスホリラーゼ(Pho)の変異体を分離し、BE、Phoアイソザイムが互いの機能を活性化してグルカン合成を行うことを見出した。研究代表者の中村保典は、酵素間の相互作用が相乗的であることを初めて明確にした点は、デンプン代謝制御研究の新分野を開拓することに繋がる成果であると報告している(科研費2008～2011年度「産業用素材としてのデンプンを合成する育種素材の作出」研究報告書)。すなわち、

(i) レトロトランスポゾンである *Tos17* を用いた逆遺伝学的手法を用いて、貯蔵澱粉を蓄積する植物としては初めて SSI 活性レベルの異なる 4 種類の SSI 変異体を単離した。これらの変異体では、種子の形態、稔性やデンプン蓄積量は全く正常であった。一方、アミロペクチンの鎖長分布を詳細に調べたところ、4 種類の変異体のいずれでも同様の変化を示し、その変化の程度は SSI 活性レベルが低いほど激しかった。つまり、これらの変化が SSI 活性の低下から生じていることを示す。これらの鎖長分布の変化から、著者は SSI がアミロペクチンの DP6-7 の非常に短い鎖を少しだけ DP8-12 にまで伸長する機能を持つと推測している<sup>1)</sup>。

(ii) SS III a は SSI に次いでイネ登熟胚乳の可溶性画分の約 20-30% を占める主要な SS である。このアイソザイムの変異体はトウモロコシの *dull-1* 変異体が古くから知られていたが、イネでは単離されていなかった。トランスポゾン挿入法と変異処理により *SS III a* 変異体を単離した。この変異体は、種子が心白になりデンプン粒は丸い。アミロペクチンの鎖長分布は DP40 以上の長鎖が著しく減少しているため、著者は *SS III a* の機能はアミロペクチンのクラスター 2 個以上をつなぐ長い鎖を伸長することであると考察した。また、*SS III a* が欠失する代わりに *SSI* と *GBSSI* の発現量が増加するため、アミロペクチンの短鎖の鎖長分布が変化し、アミロース含量、アミロペクチンの超長鎖が増加した。これらの構造変化はデンプン物性の劇的な変化の原因になっていると著者は考察している<sup>2)</sup>。

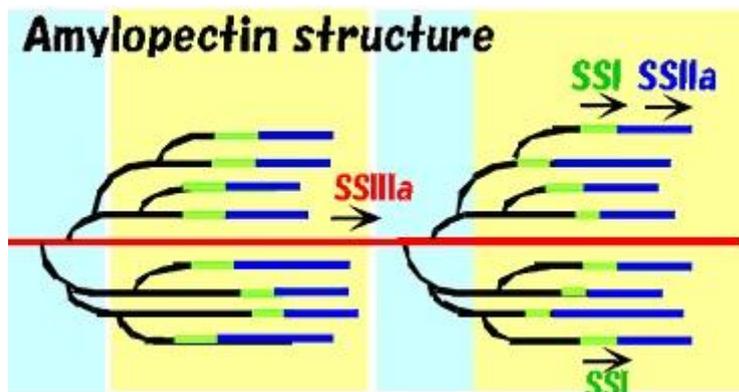


図 3-4 アミロペクチン構造内での 3 つの SS アイソザイムの機能を示した模式図

イネ胚乳のアミロペクチン生合成には、SSI、SSIIa、SSIIIa の 3 つが大きく関わっている。、SSI は BEIIb が枝作りした DP6-7 の短い枝を少しだけ伸長して DP8-12 にする機能を有し、SSIIa は、SSI が伸長した DP<12 の鎖を  $12 \leq DP \leq 24$  に伸長する。SSIIIa は、アミロペクチンのクラスターとクラスターを連結しているような長い鎖 (B2-4 鎖) を伸長すると考えられる。

(出典：秋田県立大学生物資源科学部生物生産科学科植物生理分野ホームページ)

(iii) デンプン枝作り酵素の 3 種のアイソザイム、BEI、BEIIa、BEIIb の機能を詳細に解析し、それぞれのアイソザイムが酵素的特性において異なっていると同時に胚乳でのアミロペクチン生合成において別々の役割を果たしていることが分かった<sup>3)</sup>。

(iv) 胚乳でのデンプン生合成のプライマーとなるマルトデキストリンを合成する  $\alpha$ -グルカンフォスホリラーゼ (Pho1) の活性は、枝作り酵素 BE により著しく増強された。増強の程度はアイソザイム BE I は BE II a や BE II b よりも大きかった。同時に Pho1 が BE 活性を増強することも判明し、Pho1 と BE が互いの機能を活性化することによってグルカン合成を行うという新しいデンプン代謝制御機構の存在が提案された<sup>4)</sup>。

中村保典は、一連のデンプンメタボリックエンジニアリングの研究成果に対して、2011 年度日本応用糖質学会学会賞を受賞した。

## ② 社会・経済的波及効果

デンプン合成系酵素の網羅的機能解析がより高レベルで進展しており、多くのアイソザイム変異体の単離およびメタボリックエンジニアリングの展開など基礎的、応用的な知見が積み上げられている。日本食品化工株式会社と共同で機能性分岐オリゴ糖の開発に取り組み (JST 産学共同シーズイノベーション事業、2006 年度顕在化ステージ<sup>22)</sup>、イネの 3 種の BE を大量精製して分岐オリゴ糖の生産効率を上げることに成功した。顕在化ステージ・事後報告書で、整腸作用や血糖値上昇抑制作用などの機能性食品素材の繋がることが期待されると記載されている。

<sup>22</sup> <http://www.jst.go.jp/pr/info/info353/besshi.html>

多数の酵素アイソザイムが関与するデンプン生合成制御系を解明する試みは、デンプン産業の発展にするもので、機能未知のマイナーなアイソザイム変異体の取得ならびに多重変異体の整備を通じた実用化が今後の課題とされている<sup>23</sup>。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Fujita N, Yoshida M, Asakura N, Ohdan T, Miyao A, Hirochika H, Nakamura Y, “Function and characterization of starch synthase I using mutants in rice.” , *Plant Physiology*, 140, 1070-1084, (2006)
- 2) Fujita N, Yoshida M, Kondo T, Saito K, Utsumi Y, Tokunaga T, Nishi A, Satoh H, Park J. -H, Jane J. -L, Miyao A, Hirochika H, Nakamura Y, “Characterization of SSIIIa-deficient mutants of rice: The function of SSIIIa and pleiotropic effects by SSIIIa deficiency in the rice endosperm.” , *Plant Physiology*, 144, 2009-2023, (2007)
- 3) Nakamura Y, Utsumi Y, Sawada T, Aihara S, Utsumi C, Yoshida M, Kitamura S, “Characterization of the reactions of starch branching enzymes from rice endosperm.” , *Plant and Cell Physiology*, 51, 776-794, (2010)
- 4) Nakamura Y, Ono M, Utsumi C, Steup M, “Functional interaction between plastidial starch phosphorylase and starch branching enzymes from rice during the synthesis of branched maltodextrins.” , *Plant and Cell Physiology*, 53, 869-878, (2012)

---

<sup>23</sup>共同研究者・藤田直子(2011)特集：食品新素材「ユニークな性質をもった米澱粉の開発と利用可能性食品工業 54:76-82」

### 3.1.7 植物における染色体機能要素の分子的解析と人工染色体の構築(村田 稔)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

植物科学がゲノム情報を利用した分子育種“人工染色体”の構築を進める上で“セントロメア(動原体)”の機能解明は最も重要な課題の一つである。

本研究では、動原体のDNAとタンパク質との相互作用を解析し、細胞分裂における“染色体分配”がどのように制御されているかを解明することをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) コムギの近縁種から、コムギのセントロメア領域に特異的な縦列型反復配列が単離された。この配列がTy3/gypsy型のレトロエレメントの一部に由来していることは、セントロメアの起源を理解する上で重要な発見であった<sup>1)</sup>。

(ii) シロイヌナズナのセントロメア領域に局在する反復配列180-bpファミリーとセントロメア特異的タンパク質の局在を、間接免疫染色とFISH法から調べた。その結果、一部の180-bpクラスターのみがセントロメアタンパク質(HTR12, AtCENP-C)を集めうることが明らかとなった<sup>2)</sup>。

(iii) セントロメアに共通の機能にもかかわらず、セントロメアDNAの塩基配列にはほとんど保存性がない。このパラドックスをシロイヌナズナとその近縁種のセントロメアDNAを解析することによって解き明かそうとした<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Cheng Z.-J, Murata M, “A centromeric tandem repeat family originating from a part of Ty3/gypsy-retroelement in wheat and its relatives.”, *Genetics* 164, 665-72, (2003)
- 2) Shibata F, Murata M, “Differential localization of the centromere-specific proteins in the major centromeric satellite of *Arabidopsis thaliana*.”, *Journal of Cell Science*, 117, 2963-2970, (2004)
- 3) Heslop-Harrison J.S, Brandes A, Schwarzacher T, “Tandemly repeated DNA sequences and centromeric chromosomal regions of *Arabidopsis* species.”, *Chromosome Research*, 11, 241-253, (2003)

#### (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

##### ① 科学技術の進歩への貢献

科研費萌芽研究→挑戦的萌芽研究「DNA複製起点の単離と分子育種への応用」(2008～2009年度)、科研費基盤研究(B)「モデル植物のゲノム工学的改変と遺伝子発現解析」(2010

～2012 年度)および農研機構イノベーション創出基礎的研究推進事業「植物人工染色体の創出と伝達制御に関する研究」(2009～2014 年度)を通じて、人工染色体の構築技術の開発という課題に継続して取り組み、シロイヌナズナ、マメ科植物およびタバコを用いて人工染色体作出に必須となる動原体 DNA とタンパク質の相互作用の解明を図っている。シロイヌナズナにおいてこれまで不安定で維持できないとされていた環状型の二動原体染色体を発見するなど、基礎的知見の集積が続けられた。すなわち、

- (i)シロイヌナズナにおいて 4 種の異常染色体( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ )を発見し、それらの生成機構を明らかにした。 $\delta$ は環状型のミニ染色体であり、テロメア DNA を含まず、2 つの動原体を有しているにもかかわらず伝達が花粉側からしか起こらないという通常の染色体とは全く異なる性質を有していた<sup>1)</sup>。

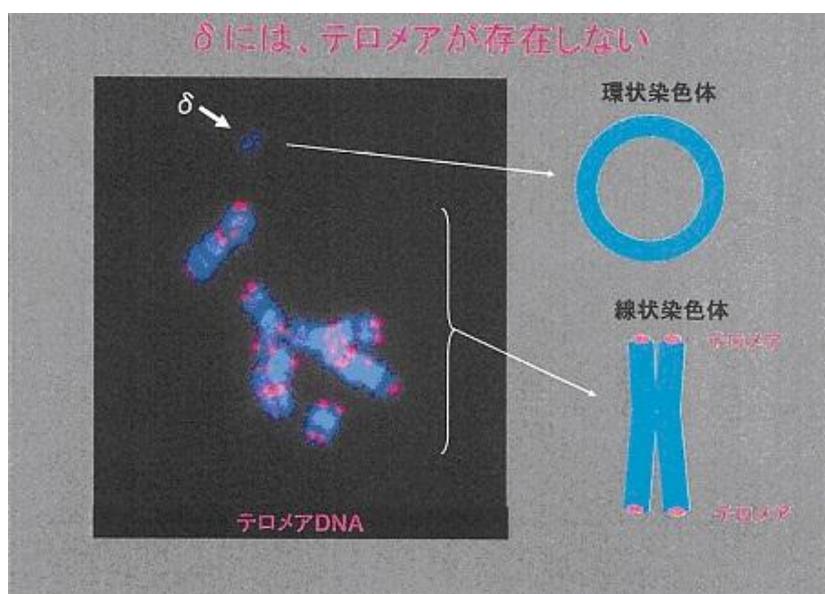


図 3-5 植物における安定環状染色体の発見<sup>24</sup>

- (ii)マメ科植物の動原体構成要素を明らかにするために、レンゲから新たに動原体タンパク質 CENH<sub>3</sub>(AsCENH<sub>3</sub>)を単離した。AsCENH<sub>3</sub>は 122 アミノ酸残基から成り、高等真核生物の中で最小の CENH<sub>3</sub>であった。レンゲ動原体 DNA は 20bp を反復単位とする縦列型反復配列がであり、ダイズ動原体 DNA とは異なることを明らかにした<sup>2)</sup>。

- (iii)タバコにおいて動原体特異的に存在する DNA 断片として、新たに *NtoI* という 4 倍体タバコの片側のゲノムの動原体のみに存在する配列を発見した。これらの DNA 断片を含むタバコ BAC クローンを解析した結果、これらの DNA 断片は、それぞれ異なった動原体特異的レトロトランスポゾンの一部であることが判明した。さらに、クロマチン免疫沈降により、これらのレトロトランスポゾンが機能的な動原体領域の指標である動原体特異的ヒストン H3 と共在していることが明らかになり、これらのレ

<sup>24</sup> <http://www.okayama-u.ac.jp/jp/press/data/200626/shiryou1.pdf>

トロトランスポゾンがタバコ人工染色体の動原体配列として利用可能であることが示された<sup>3)</sup>。

(iv) HaloTag7 と呼ばれる共有結合が生じる標識をタバコ動原体特異的ヒストン H3 と融合タンパクとして発現させ、動原体 DNA 配列の単離に用いた。この標識を用いることにより、抗体を用いたときに比べて精製時に混入してくる非動原体 DNA 配列を高効率に除去出来るようになった。新規に 4 種類の動原体特異的縦列型反復配列を単離したところ、そのうち 3 種の配列は染色体特異的動原体 DNA 配列であった。今回用いた精製法を用いることで通常成功率が低くコストもかかる抗体作成をせずに動原体 DNA 配列を単離出来ることが示された<sup>4)</sup>。

## ② 社会・経済的波及効果

CREST 研究領域事後評価資料は、人工染色体の構築技術はゲノム情報を利用した植物分子育種を進めるうえで解決しなければならない課題としている。生物系特定産業技術研究支援センター・イノベーション創出基礎的研究推進事業「植物人工染色体の創出と伝達制御に関する研究」(2009～2014 年度)の 2011 年度中間評価結果において、世界的にも国内的にも有意義な成果を生み出すことが期待される、と記されている。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4 報以内)

- 1) Murata M, Yokota E, Shibata F, Kashihara K, “Functional analysis of the Arabidopsis centromere by T-DNA insertion-induced centromere breakage.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 7511-7516, (2008)
- 2) Tek A. L, Kashihara K, Murata M, Nagaki K, “Functional centromeres in *Astragalus sinicus* include a compact centromere-specific histone H3 and a 20-bp tandem repeat.” , *Chromosome Research*, 19, 969-978, (2011)
- 3) Nagaki K, Shibata F, Suzuki G, Kanatani A, Ozaki S, Hironaka A, Kashihara K, Murata M, “Coexistence of NtCENH3 and two retrotransposons in tobacco centromeres.” , *Chromosome Research*, 19, 591-605, (2011).
- 4) Nagaki K, Shibata F, Kanatani A, Kashihara K, Murata M, “Isolation of centromeric-tandem repetitive DNA sequences by chromatin affinity purification using a HaloTag7-fused centromere-specific histone H3 in tobacco.” , *Plant Cell Reports*, 31, 771-779, (2012)

## 3.2 2001 年度採択課題

### 3.2.1 植物発生における細胞間シグナリング(岡田清孝)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

植物の形態と機能の多様な変化を支配する遺伝機構を明らかにし、植物形態と機能をより効率的で安全に変える人工的な制御の方法を見いだすために、本研究では、植物の分裂組織から器官が形成される過程や受精に至る過程において重要な役割を担っている「細胞間シグナル伝達機構」に注目し、シグナルの分子の実体や受容・伝達の分子機構を明らかにすることをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) 葉の裏側領域で特異的に発現する機構を知るために、裏側領域の形成に必要な *FIL*(FILAMENTOUS FLOWER) 遺伝子のプロモーター領域を解析しプロモーター内に二つのシス制御領域が必要十分であることを示した<sup>1)</sup>。

(ii) 茎頂の分裂組織の維持や気孔の形成に 3 種類のレセプター型タンパク質キナーゼが関与し細胞分裂を強制的に促進させる機能を持つと考察した。さらに 3 つの受容体キナーゼは花器官形成初期には均一に冗長して発現することによって迅速な器官成長を促進し、形成後期には局所的・特異的に発現することにより細部の形態を微妙に調整していることを示した<sup>2)</sup>。

(iii) 顕微鏡下で花粉管が胚珠に向かって伸長す実験系を確立し、助細胞の cDNA ライブラリーを得ることに成功し、EST 解析の結果から花粉管をガイドする物質が分泌されることを示した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3 報以内)

- 1) Watanabe K, Okada K, “Two discrete cis elements control the abaxial side-specific expression of the FILAMENTOUS FLOWER gene in Arabidopsis.” , *Plant Cell*, 15, 2592-2603, (2003)
- 2) Shpak E. D, Berthiaume C. T, Hill E. J, Torii K. U, “Synergistic interaction of three ERECTA-family receptor-like kinases controls Arabidopsis organ growth and flower.” , *Development*, 131, 1491-1501, (2004)
- 3) Higashiyama T, Yabe S, Sasaki N, Nishimura Y, Miyagishima S, Kuroiwa H, Kuroiwa T, “Pollen tube attraction by the synergid cell.” , *Science*, 293, 1480-1483, (2001)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の発展への貢献

研究代表者の岡田清孝は京都大学から基礎生物学研究所に転籍後も植物分裂組織において器官が形成される際に働く「細胞間シグナル」を解明するという課題に科研費学術創成研究費「植物体内における細胞集団の分化状態を規定するシグナル分子の機能探索」(2007～2011年度)を通じて継続して取り組んでいる。研究領域期間に開始した候補ペプチドとmiRNAの網羅的な解析についても、それらを添加した培地でシロイヌナズナを発芽させて器官発生と形態の変化を観察するバイオアッセイ系の開発を通して挑んでいる。また、科研費特定領域研究「葉の発生における領域決定機構」(2007～2012年度)で、葉の表裏の区別を生じる仕組みの解明というメインテーマに取り組み新たに2つの遺伝子に着目して葉が平たい形に成長するメカニズムの解明に成功した。業績を要約すると

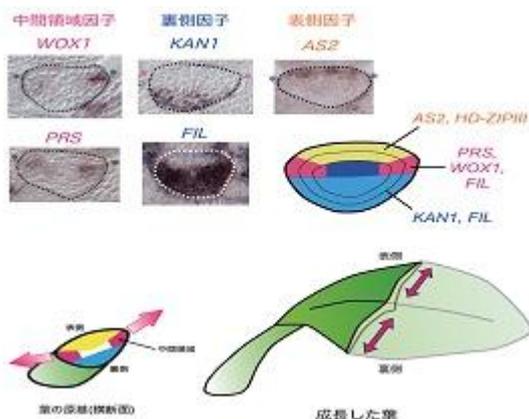
(i) 26S プロテアソームは調節タンパク質の分解を通して多様な細胞プロセスを制御している。シロイヌナズナの RPT2 プロテアソームタンパク質について、2つのホモログス遺伝子(RPT2a, RPT2b)にコードされるサブユニットの発生プロセス制御における役割を検討した結果それぞれが異なった機能を持つことが示された<sup>1)</sup>。

(ii) オーキシンは分裂組織の維持、葉原基の形成、維管束組織の形成などの多様な役割を持つシグナル分子であり、それぞれの過程においては、オーキシンの極性輸送の方向と輸送量の制御が重要である。維管束前駆細胞の協調的な細胞分化に関わる NO VEIN 突然変異体を単離して解析し、オーキシンの分布を制御する新たな分子複合体の存在を示唆する結果が得られた<sup>2)</sup>。

(iii) 葉の裏側で発現し、裏側組織の形成に必要な FIL 遺伝子の発現が異常になったシロイヌナズナ突然変異体のなかで、*enf1* 突然変異体では表裏の領域を決定する機構が働いていない。*ENFI*(enlarged fil expression domain1) 遺伝子はコハク酸セミアルデヒド脱水酵素をコードしており、コハク酸セミアルデヒドあるいはその代謝産物が葉の表裏決定に関与しているシグナル分子であることが示された<sup>3)</sup>。

(iv) 葉の周縁部に特異的な細長い表皮細胞の形成に *PRS* 遺伝子と *WOX1* 遺伝子が必要である。この2つの遺伝子は葉原基の周縁部で発現しており、その発現領域は葉の表側・裏側それぞれに分化する領域(中間領域)に挟まれていることが明らかになった。分子遺伝学的解析から両遺伝子は葉の横方向への成長を引き起こすことも分かっているため、葉の発生の初期段階で葉の表側・裏側領域だけではなく、PRS と WOX1 が働く中間領域も含めた3領域が決定されることで葉の正常な分化が起こることが示された<sup>4)</sup>。

研究代表者の岡田清孝は、「細胞間シグナル」をキーワードとして、植物が葉や花や根といった機能的な構造を作るために必要とされる情報交換の分子機構を解明し、第6回日本植物学会学術賞(2009年)、日本植物生理学会賞(2010年)を受賞した。



葉は、細胞分裂をもつぱら横方向に繰り返すことにより、薄くて広い形に成長する(左下図矢印)。葉の原基は表側因子と裏側因子がそれぞれ発現する領域に加えて、その両者に挟まれた PRS 遺伝子と WOX1 遺伝子が発現する中間領域の3つに分けられる(左上図)。表側領域、中間領域、裏側領域それぞれの性質を司る制御遺伝子が互いに拮抗的に作用することで、葉の発生初期段に3領域の正しいパターンが形成される。葉の横方向に偏った成長は中間領域で PRS と WOX1 遺伝子が働くことにより促される(図左下)。

図 3-6 葉が平たい形に成長するメカニズム<sup>25</sup>

## ② 社会・経済的波及効果

シロイヌナズナで明かされた、葉が平たく成長するメカニズムは他の植物の葉においても同様に機能していると考えられ、地上に存在する様々な葉の成り立ちを理解する基盤となりうるほか、園芸植物や作物などの品種改良を行う上でも有用な知見になりうると報じられた<sup>26</sup>。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Ueda M, Matsui K, Ishiguro S, Kato T, Tabata S, Kobayashi M, Seki M, Shinozaki K, Okada K, “Arabidopsis RPT2a encoding the 26S proteasome subunit is required for various aspects of root meristem maintenance, and regulates gametogenesis redundantly with its homolog, RPT2b.” , *Plant and Cell Physiology*, 52, 1628-1640, (2011)
- 2) Tsugeki R, Ditengou F.A, Sumi Y, Teale W, Palme K, Okada K, “NO VEIN mediates auxin-dependent specification and patterning in the Arabidopsis embryo, shoot and root.” , *Plant Cell*, 21, 3133-3151, (2009)
- 3) Toyokura K, Watanabe K, Oiwa A, Kusano M, Tameshige T, Tatematsu K, Matsumoto N, Tsugeki R, Saito K, Okada K, “Succinic semialdehyde dehydrogenase is involved in the robust patterning of arabidopsis leaves along the Adaxial-abaxial Axis.” , *Plant and Cell Physiology*, 52, 1340-1353, (2011)
- 4) Nakata M, Matsumoto N, Tsugeki R, Rikirsch E, Laux T, Okada K, “Roles of the middle domain-specific WUSCHEL-RELATED HOMEBOX genes in early development of leaves in Arabidopsis.” , *Plant Cell*, 24, 519-535, (2012)

<sup>25</sup> 基礎生物学研究所プレスリリース、2012年3月6日；葉が平たい形に成長するメカニズムを解明

<sup>26</sup> 日経産業新聞、2012年3月14日

#### ④ その他の特記事項

本研究課題は、個々のサブグループがそれまでに遂行していた研究を持ち寄った形で編成されたが、本研究領域期間中にそれぞれが成果を残した。「気孔分化とエレクトキナーゼ」、「花粉管ガイダンスとシステインリッチタンパク質」のそれぞれで業績を残した鳥居啓子サブリーダーおよび東山哲也サブリーダーは本研究領域終了後も研究を継続し成果を上げているので追記する。

##### ・鳥居啓子(ワシントン大学)

気孔の形成には「促進」と「抑制」の2つの制御機構があるが、抑制制御に関わるペプチドホルモンの受容メカニズムを解明した(2012年1月12日、科学技術振興機構プレスリリース；植物気孔の数を制御するペプチドホルモンの受容メカニズムを解明<sup>27</sup>)。鳥居啓子は、2011年にハワード・ヒューズ・メディカル・インスティテュートの2011 Plant Science Program HHMI-GBMF Investigatorの一人に選ばれている<sup>28</sup>。

##### ・東山哲也(名古屋大学)

トレニアを実験材料に、植物の花粉管誘引物質の実体が雌性配偶体助細胞が細胞外に分泌するタンパク質 LURE1, LURE2 であることを初めて突き止めた(2009年3月19日、科学技術振興機構・名古屋大学プレスリリース；植物の花粉管誘引物質を発見—140年来の謎解明<sup>29</sup>)。また、シロイヌナズナの半数が受精できない精細胞を持つ変異体を用いて1つ目の花粉管が受精に失敗した時に2つ目の助細胞がバックアップする機能を果たすことを見出した(2012年5月18日、科学技術振興機構・名古屋大学プレスリリース；めしべが持つ秘められた受精回復機構を発見<sup>30</sup>)。なお、東山は JST ERATO 東山ライブホロニクスプロジェクトに採択されている(2010年～2015年)。

---

<sup>27</sup> <http://www.jst.go.jp/pr/info/info856/>、Jin Suk Lee, Takeshi Kuroha, Marketa Hnilova, Dmitriy Khatayevich, Masahiro M. Kanaoka, Jessica M. McAbee, Mehmet Sarikaya, Candan Tamerler, and Keiko U. Torii “Direct interaction of ligand-receptor pairs specifying stomatal patterning.” *Genes & Dev.* 26 (2): 126-136, (2012))

<sup>28</sup> [http://www.hhmi.org/news/plantscience20110616\\_list.html](http://www.hhmi.org/news/plantscience20110616_list.html)

<sup>29</sup> <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20090319/>、Okuda S. et al; “Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells”, *Nature* 458, 357-361, (2009)

<sup>30</sup> <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120518/>、Kasahara, R. D. et al; “Fertilization Recovery after Defective Sperm Cell Release in *Arabidopsis*”, *Current Biology*. Published online: May 17, 2012

### 3.2.2 植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構(高林純示)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

植物は害虫に食われたとき、害虫の種特異的な匂いを食害誘導的に生産・放出する。この「匂い(揮発性の化学情報)」は食害している害虫特異的な天敵を誘引する機能がある。

本研究では食害誘導性の天敵誘引物質生産に関わるエリシターの探索と誘導メカニズムの解明を進め、さらに植物がどのような様にして匂い刺激を受容しているのかに焦点をしばって揮発性化学物質(HIV)の受容体蛋白の同定を試みた。

##### ② 期間中の研究成果

(i) シロイヌナズナがモンシロチョウ幼虫やコナガ幼虫の食害に応答して誘導的に生産する天敵誘引物質の主成分である(E)- $\beta$ -ocimeneの生合成酵素遺伝子を単離した。同酵素は(E)- $\beta$ -ocimeneを94%、(Z)- $\beta$ -ocimeneを4%、myrceneを2%の比率で生産し、本酵素は機械的傷やジャスモン酸処理で誘導された<sup>1)</sup>。

(ii) マメ科モデル植物であるミヤコグサが持つ(E)- $\beta$ -ocimeneの生合成酵素の機能的クローニングを行った。同定された酵素は(E)- $\beta$ -ocimeneを98%、(Z)- $\beta$ -ocimeneを2%の比率で生産する(E)- $\beta$ -ocimene特異的な合成酵素であった。また、この酵素は害虫であるナミハダニの食害で誘導され、(E)- $\beta$ -ocimeneの放出が認められたが、機械的傷、アラメシチン処理では誘導されるものの顕著な放出が認められなかった。これらの結果は、ナミハダニ特異的な(E)- $\beta$ -ocimeneの生産、放出と一致した<sup>2)</sup>。

(iii) カイコガのボンビコールは最初に見つけられた性フェロモンである。メスの蛾が出す性フェロモンは、高い選択性と感度を備えた同種のオス蛾の触角にある嗅覚感受子によって受容される。嗅覚受容体遺伝子の1つである*BmOR-1*はZ性染色体上に座乗し、8つのエクソン構造をとり、カイコガのオス触角にある性フェロモン受容神経細胞で、蛹後期から成虫にかけて発現していた。遺伝子*BmOR-1*と*BmGaq*を共発現したアフリカツメガエルの胚はボンビコールだけに応答し、Gタンパク質が介在する内向き電流が流れた。また、遺伝子*BmOR-1*で組替えたウイルスに感染させたメス蛾の触角はボンビコールによって電位を生じたが、ボンビカルには応答しなかった。以上の実験結果から、オス特異的なG蛋白質共役型嗅覚受容体*BmOR-1*をボンビコール受容体と同定した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Fäldt J, Arimura G, Gershenzon J, Takabayashi J, Jörg Bohlmann J, “Function identification of AtTPS03 as (E)- $\beta$ -ocimene synthase : A new monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*.” , *Planta*, 216, 745-751, (2003)
- 2) Arimura G, Ozawa R, Kugimiya S, Takabayashi J, Jörg Bohlmann J,

“Herbivore-induced defense response in a model legume. Two-spotted spider mites induced emission of (E)- $\beta$ -ocimene and transcript accumulation of (E)- $\beta$ -ocimene synthase in *Lotus japonicus*.”, *Plant Physiology*, 135, 1976-1983, (2004)

- 3) Sakurai T, Nakagawa T, Mitsuno H, Mori H, Endo Y, Tanoue S, Yasukochi Y, Touhara K, Nishioka T, “Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 16653-16658, (2004)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の発展への貢献

持続的農業技術生産に貢献する事を最終目的として、食害を受けた植物が発する植食者誘導性植物揮発性物質(HIPV)の生合成制御機構の解明を継続している(科研費基盤研究(S)「植物の間接防衛の誘導機構解明と防除への応用」(2007 - 2011 年度))。研究領域期間中に見出したヒドロキシペルオキドリアーゼの役割を広くフィトオキシピリン経路の枠組みで深掘するとともに、植物の揮発性物質が生態系の生物間相互作用ネットワークに及ぼす影響の解明に取り組んでいる。

(i) 植物が害虫に食われた時、害虫の種特異的な匂いを食害誘導的に生産放出し食害している害虫特異的な天敵を誘引する機能がある。放出されるこの HIPV の生合成制御機構について論説した<sup>1)</sup>。

(ii) 蛾の一種「コナガ」の幼虫に食べられたキャベツが幼虫の天敵である「コナガコマユバチ」を誘引する機構を調べ、4 種類の化学物質がハチの誘引に関与していることが分かった。一般に食害の程度がおおきいほどHIPVの放出量が多いと考えられていたが、キャベツは食べられた面積の大小によらず一定量のHIPVを放出した。著者は少しの食害に対しても過剰にHIPVを放出する植物の防衛戦略は生態学的にも興味深いと考察している<sup>2)</sup>。

(iii) コナガ幼虫の食害を受けたコマツナが放出する揮発成分を捕集し、GCMSで分析した結果、食害中のみ放出される成分としてベンジルシアニドとジメチルトリスルフィドが検出された。これら2物質を化学合成し、10mg/Lの濃度でコマツナに付与することで天敵であるコナガサムライコマユバチが効率よく誘引された<sup>3)</sup>。

(iv) コナガ幼虫寄生蜂であるコナガコマユバチを誘引する4つの成分の合成品を用いその誘引性を野外で検証した。合成誘引成分は約70メートルの距離から寄生蜂を誘引することが明らかになった。食害を受けた植物が発する植食者誘導性植物揮発性物質(HIPV)の誘引性に関する研究は多いが野外環境下での誘引性を示したのは本研究が世界で初めてである<sup>4)</sup>。

## ② 社会・経済的波及効果

農研機構・異分野融合研究支援事業プロジェクト(2007～2008年度)において害虫防除技術として天敵誘引剤(ハチクール)・天敵活性化剤(ハチゲンキ)の商品化に向けた研究が進められ、その結果、高林純示は2009年に第9回バイオビジネスコンペ JAPANの優秀賞および協賛企業特別賞を受賞した。植物の誘導的間接防衛を利用した害虫防除の試みは、世界的に見ても本事業による成果のみであるとされている(京都大学グローバルCOE「生物の多様性と進化形成のための拠点形成ーゲノムから生態系まで」ホームページ、[http://gcoe.biol.sci.kyoto-u.ac.jp/gcoe/jpn/member/2008/01/takabayashi\\_junji.php](http://gcoe.biol.sci.kyoto-u.ac.jp/gcoe/jpn/member/2008/01/takabayashi_junji.php))。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Arimura G.-I, Matsui K, Takabayashi J, “Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: Proximate factors and their ultimate functions.”, *Plant and Cell Physiology*, 50, 911-923, (2009)
- 2) Shiojiri K, Ozawa R, Kugimiya S, Uefune M, Van Wijk M, Sabelis M.W, Takabayashi J, “Herbivore-specific, density-dependent induction of plant volatiles: Honest or “Cry Wolf” signals?”, *PLoS ONE*, 5, art. no. e12161 (2010)
- 3) Kugimiya S, Shimoda T, Tabata J, Takabayashi J, “Present or past herbivory: A screening of volatiles released from brassica rapa under caterpillar attacks as attractants for the solitary parasitoid, *cotesia vestalis*.”, *Journal of Chemical Ecology*, 36, 620-628, (2010)
- 4) Uefune M., Choh Y., Abe J., Shiojiri K., Sano K., Takabayashi J. “Application of synthetic herbivore-induced plant volatiles causes increased parasitism of herbivores in the field”, *Journal of Applied Entomology*, 136, 561-567, (2012)

### 3.2.3 植物の鉄栄養制御(西澤直子)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

不良アルカリ土壌耐性のイネが実用化されれば、不良アルカリ土壌が多い海外において「緑の革命」につながる可能性がある。

本研究では、石灰質アルカリ土壌における鉄欠乏に耐性の作物を分子育種することによって、食糧の増産と砂漠の緑化に貢献することを第一の目的とし、それを可能にするための基礎研究として植物の鉄栄養制御の分子機構を明らかにすることをめざした。また鉄欠乏性貧血症を改善する機能性食品としての、鉄含有量の高いコメを創製することに挑戦した。

##### ② 期間中の研究成果

(i) 必須金属栄養素の体内移行に関与するトランスポーター, *OsYSL2* をイネから単離した。*OsYSL* はイネにおいて 18 個のメンバーからなるファミリーを形成し、*OsYSL2* の遺伝子発現は鉄栄養によって制御されていた。*OsYSL2* は「鉄・ニコチナミン」と「マンガン・ニコチアナミン」を輸送し、鉄とマンガンの体内長距離輸送と種子中への蓄積に関与することが示され、鉄の長距離輸送と種子中への蓄積に関与する「金属・ニコチアナミン」トランスポーターを生物界において初めて同定した<sup>1)</sup>。

(ii) 鉄欠乏誘導性のオオムギのヒドロキシムギネ酸合成酵素遺伝子 (*Ids2*) のプロモーター領域において、2 つの鉄欠乏応答性シスエレメント、*IDE1*、*IDE2* を同定した。鉄欠乏を感知して発現が誘導される遺伝子のプロモーター領域に存在する鉄欠乏応答性シスエレメントを世界で最初に同定することに成功した。また、*IDE1* と相同性のある配列がオオムギ、イネ、シロイヌナズナで報告されている多くの鉄欠乏誘導性遺伝子のプロモーターに存在することが明らかになり、鉄欠乏誘導性のシスエレメントが多くの遺伝子や植物種において鉄栄養の制御に関わる因子として保存されている可能性が示された<sup>2)</sup>。

(iii) イネ科以外の植物ではニコチアナミンが鉄、亜鉛、マンガンなどの金属栄養素の体内輸送において必須で、従って植物の成長過程のすべてにおいて特に正常な花の形成や種子の稔実に不可欠の物質であることを明らかにした。また、ニコチアナミンが金属を必要とする各種のタンパク質への細胞内金属輸送にも関与する可能性、とくに亜鉛を必要とする転写因子群の機能制御を通して遺伝子発現の制御に関わっている可能性を示した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Koike S, Inoue H, Mizuno D, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa N K, “*OsYSL2* is a rice metal-nicotianamine transporter that is regulated by iron and

- expressed in the phloem.” , *Plant Journal*, 39, 415-424, (2004)
- 2) Kobayashi T, Nakayama Y, Nakanishi-Itai R, Nakanishi H, Yoshihara T, Mori S, Nishizawa N K, . “Identification of novel cis-acting elements, IDE1 and IDE2, of the barley IDS2 gene promoter conferring iron-deficiency-inducible, root-specific expression in heterogeneous tobacco plants.” , *Plant Journal*, 36, 780-793, (2003)
  - 3) Takahashi M, Terada Y, Nakai I, Nakanishi H, Yoshimura H, Mori S, Nishizawa N K, “The Role of Nicotianamine in the Intracellular Delivery of Metals and Plant Reproductive Development.” , *Plant Cell*, 15, 1263-1280, (2003)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の発展への貢献

本研究領域での主要目的は、「アルカリ土壌での鉄欠乏に耐性な作物の創出」ならびに「鉄含有量の多いコメの創製」を可能にする「鉄栄養制御の分子機構の解明」であった。本研究領域終了後も多くの成果を生み出している。

概略すると、2つの鉄欠乏応答性シスエレメント、*IDE1*、*IDE2*、それぞれに特異的に結合するトランス転写因子 *IDEF1*<sup>31</sup>および *IDEF2*(下記(i)参照)の発見、鉄・ムギネ酸吸収に関わるトランスポーター遺伝子の発見、ムギネ酸を根から分泌するトランスポーター遺伝子の発見、ミトコンドリアに鉄を運び込むタンパク質の発見、細胞壁に沈着した鉄を溶解するのに必要なフェノール性酸を分泌するトランスポーター遺伝子の発見が挙げられる(科研費基盤研究(B)「金属栄養に応答する制御系の解明」(2006~2007年度および科研費特定領域研究「必須金属栄養素の吸収、移行と分配の分子機構」(2005~2009年度))。さらに、鉄輸送に働くニコチアミンの合成能を強化することで3倍量の鉄を含有するコメの創製に成功した(科研費特定領域研究「必須金属栄養素の吸収、移行と分配の分子機構」(2005~2009年度))。また、ファイトレメディエーション用カドミウム高吸収イネの開発にも成功した。すなわち、

(i)鉄欠乏で誘導される遺伝子群の塩基配列の上流に共通に存在する「シス配列」である *IDE2*に結合する「転写因子」*IDEF2*の同定に成功した。*IDEF2*によりスイッチがオンになる遺伝子の中にはすでに報告した転写因子 *IDEF1* などによりスイッチがオンにならない遺伝子も多く含まれており、*IDEF1* などとは独立した新たな経路でスイッチを調節していることがわかった。特に、鉄の体内輸送に関わる重要な「鉄・ニコチアミン」のトランスポーターである *OsYSL2*の調節を行っていた。また、以前に発見した鉄欠乏誘導性転写因子である *IRO2*による発現の調節とも関連があることが示唆された。*IDEF2*の機能を抑制したイネは植物体内の鉄の分配に異常をきたしたことから、著者は *IDEF2*は *OsYSL2*などの発現を制御することによって、植物体内の鉄の移行に深く関わっていると考察している<sup>1)</sup>。

---

<sup>31</sup> Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 104, 19150-19155, (2007)

## 鉄欠乏応答遺伝子発現制御のネットワーク

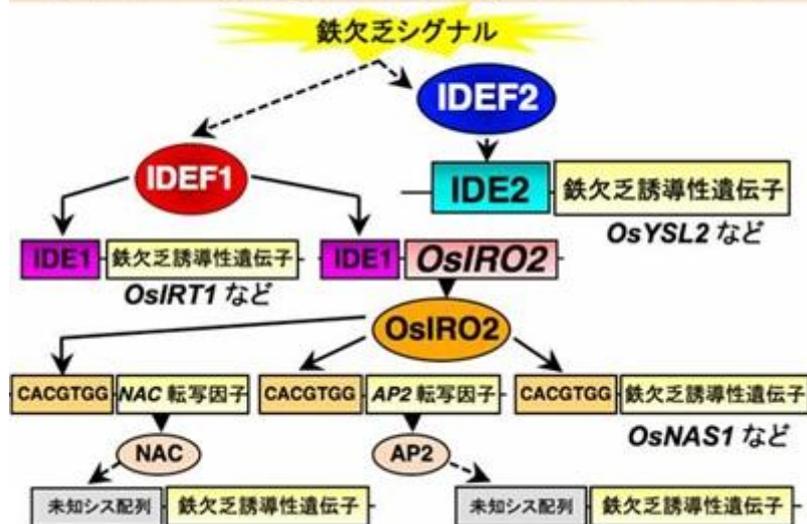


図 3-7 IDEF1 と IDEF2 を介した鉄欠乏性応答遺伝子<sup>20</sup>

恒常的に発現している IDEF1 が鉄欠乏シグナルを受け取って CATGC 配列を含む IDE1 配列に結合することにより、鉄欠乏応答性遺伝子の発現を誘導する。この遺伝子の中には、2 価鉄トランスポーター遺伝子 *OsIRT1* と、鉄欠乏誘導性転写因子 *OsIRO2* が含まれる。*OsIRO2* は直接多くの鉄欠乏応答性遺伝子発現を制御し、その中にはニコチアナミン合成酵素遺伝子も含まれる。また、これら *OsIRO2* によって直接制御される遺伝子の中には NAC 転写因子と AP2 転写因子が含まれる。NAC 転写因子と AP2 転写因子はさらに未知のシス配列を介して多くの鉄欠乏応答性遺伝子を制御する<sup>32</sup>。

(ii) 「鉄・デオキシムギネ酸」トランスポーターの候補遺伝子がイネのゲノム上に 18 個存在することを見出しこれらを *OsYSL1*~*OsYSL18* と命名した。これらの遺伝子の発現パターンを解析した結果、*OsYSL15* 遺伝子が根の表層で発現しており、この発現が鉄欠乏で強く誘導されることを確認した。アフリカツメガエルの卵母細胞と酵母を用いた実験により、*OsYSL15* タンパク質が「鉄・デオキシムギネ酸」を輸送するトランスポーターであることを証明した。以上のことから、*OsYSL15* がイネの土壌からの「鉄・デオキシムギネ酸」吸収を担う遺伝子であると著者は考えた。さらに、*OsYSL15* 遺伝子は根だけでなく、鉄の体内移行に重要な維管束細胞や、花・種子などにおいても発現していた。「鉄・デオキシムギネ酸」の輸送が土壌からの鉄吸収だけでなくイネ体内での鉄の移行や種子への集積にも重要な役割を果たすことが考えられ、実際、この遺伝子の発現を抑制したイネは発芽した後には伸びることができなかった<sup>2)</sup>。

(iii) イネ科植物の鉄獲得に関わる分子機構の中で最後まで未解明であったムギネ酸類を土壌中に分泌するために働くトランスポーターとして世界で初めて「TOM1」をイネとオオムギから発見することに成功した。このムギネ酸類分泌トランスポーターの発見により高等植物の鉄獲得の分子機構において唯一欠けていた最後のピースが解明されムギネ酸分泌

<sup>32</sup> 東京大学農学生命科学研究科プレスリリース 2008/5/2；鉄の体内移行を調整する新規転写因子の発見

と鉄吸収の全貌が明らかになった<sup>3)</sup>。

(iv)ニコチアナミン合成酵素遺伝子を高発現させることによって、ムギネ酸類の生合成中間体であるニコチアナミンの合成能力を高めて鉄輸送能力を強化し、白米の鉄含有量が3倍に増加したイネを作出した。これらのイネではニコチアナミンだけではなくムギネ酸類の合成量も増加していたので、鉄輸送の強化に加えて土壌からの鉄の吸収も強化されていると考えられる。また、通常コメ中の鉄の多くは利用されにくい「フィチン酸鉄」として存在するが、作出したイネでは増加した鉄が生体に利用されやすい「ニコチアナミン鉄」として存在することも明らかになり、食品として鉄の供給にさらに効果的であると著者は指摘した。この鉄分豊富なコメが実際に貧血症からの回復に効果があることを、マウスへの投与実験により証明した<sup>4)</sup>。

西澤直子は、一連の研究成果を受けて、日本農学会賞(2010年)、紫綬褒章(2011年)を受賞した。

## ② 社会・経済的波及効果

イネの鉄栄養制御の全容を解明したことは、農耕地として生産性の低いアルカリ土壌での鉄欠乏にも耐える作物の創出に貢献することが期待され、世界の耕地面積のうち石灰質のアルカリ土壌が3割を占めることから、農業生産量増大に繋がる成果であると報じられた<sup>33)</sup>。

また、鉄分の豊富なコメの開発技術は、イネだけではなくコムギやトウモロコシなどの他の主要穀物にも応用可能であり、貧血症の克服と予防、更には発展途上国など栄養状態の悪い地域などで栄養補給効果のある食料として実用化が期待されると報道された<sup>34)</sup>。

カドミウムを効率よく吸収するイネの開発は土壌浄化の新たな手法として活用でき、西澤の「原発事故で問題になった放射性セシウムの吸収にも、カドミウム同様の輸送タンパク質が関わっている可能性がある」とのコメントが報道された。

## ③上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Ogo Y, Kobayashi T, Itai R.N, Nakanishi H, Kakei Y, Takahashi M, Toki S, Mori S, Nishizawa N.K, “A novel NAC transcription factor, IDEF2, that recognizes the iron deficiency-responsive element 2 regulates the genes involved in iron homeostasis in plants.”, *Journal of Biological Chemistry*, 283, 13407-13417, (2008)
- 2) Inoue H, Kobayashi T, Nozoye T, Takahashi M, Kakei Y, Suzuki K, Nakazono M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa N.K, “Rice OsYSL15 is an iron-regulated iron (III)-deoxymugineic acid transporter expressed in the roots and is essential for iron uptake in early growth of the seedlings.”, *Journal of Biological Chemistry*,

<sup>33)</sup> 2008年5月6日、日経産業新聞 2009年2月5日、日経産業新聞 2011年2月25日、日経産業新聞

<sup>34)</sup> 2010年1月14日、日経産業新聞

284, 3470-3479, (2009)

- 3) Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, Takahashi M, Sato Y, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa N.K, “Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants.” , *Journal of Biological Chemistry*, 286, 5446-5454, (2011).
- 4) Lee S, Jeon U. S, Lee S. J, Kim Y. -K, Persson D.P, Husted S, Schjørring J.K, Kakei Y, Masuda H, Nishizawa N.K, An G, “Iron fortification of rice seeds through activation of the nicotianamine synthase gene.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 22014-22019, (2009)

なお、ミトコンドリアに鉄を運び込むタンパク質の発見は *Nature Communications* 2, 286, (2011) (オンライン版) に、フェノール性酸を分泌するトランスポーター遺伝子については *J. Biological Chem.* (2011), 286, 24689 に、ファイトレメディエーション用カドミウム高吸収イネの開発については *Scientific Reports* 2, 286, (2012) (オンライン版) に報告された。

### 3.2.4 植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用 (森川弘道)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

大気中の窒素酸化物( $\text{NO}_x$ )は都市大気の中心的汚染物質であり植物による大気中の窒素酸化物の低減除去(ファイトレメディエーション)が研究されてきた。

本研究では植物に吸収された窒素酸化物や硝酸由来の全窒素の窒素代謝物を検討し、未解明の窒素代謝物(UN化合物)の構造、生成機構、生理作用、分解機構など、その全容を解明し新規窒素代謝経路を提案することをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) シロイヌナズナなど10種以上の植物の葉に二酸化窒素を与えると植物葉内に取り込まれた二酸化窒素由来の窒素の最大三分の一がUNとなることを発見した。また、UN化合物の生成メカニズムについて活性窒素( $\text{NO}$ やペルオキシナイトライト)による細胞内成分のニトロ、ニトロソ化の考えを提案した。植物が作る未解明窒素(UN)について系統的に報告した初めての論文である<sup>1)</sup>。

(ii) シロイヌナズナ葉における有力なUN化合物としてチアジアゾリン誘導体を同定したがこのチアジアゾリン化合物が化合物検索では検索されない新規化合物であることから、その有機合成について研究した。チアジアゾリン誘導体の全合成は未だ成功していないがその過程で新規な硫黄環状化合物の合成法を見出した<sup>2)</sup>。

(iii) 生物においてヘモグロビンは酸素の運搬において重要な役割を持つことは言うまでもないが、植物には酸素運搬には直接関与しないと考えられる非共生型ヘモグロビン遺伝子ファミリーが知られており、その内の1つ( $\text{AtGLB1}$ )が亜硝酸を硝酸に酸化するペルオキシダーゼ様活性をもつことをリコンビナント・テクノロジーを使って初めて示した。その結果、 $\text{AtGLB1}$ が植物体内で亜硝酸イオンを二酸化窒素に酸化しUN化合物生成酵素の一つであることが示唆された<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Morikawa H, Takahashi M, Sakamoto A, Matsubara T, Arimura G.-I, Kawamura Y, Fukunaga K, Fujita K, Sakurai N, Hirata T, Ide H, Nonoyama N, Suzuki H, "Formation of unidentified nitrogen in plants: an implication for a novel nitrogen metabolism." *Planta*, 219, 14-22, (2004)
- 2) Miyawaki K, Suzuki H, Morikawa H, " Attempted reduction of 1,2,3-thiadiazole-4-carboxylates with samarium/iodine in methanol. Unexpected ring enlargement to 1,2,5-trithiepan-4,6-dicarboxylates." , *Org. Biomol. Chem.*, 2, 2870-2873, (2004)
- 3) Sakamoto A, Sakurao S.-H, Fukunaga K, Matsubara T, Ueda-Hashimoto M, Tsukamoto

S, Takahashi M, Morikawa H, “Three distinct Arabidopsis hemoglobins exhibit peroxidase-like activity and differentially mediate nitrite-dependent protein nitration.”, *FEBS Lett.*, 572: 27-32, (2004)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域の主要課題は未解明 N 代謝物の網羅的解析によりそれらの化学構造、生成機構、生理作用、分解機構を明らかにし、新しい N 代謝経路を提案するというものであった。本研究領域後に森川弘道が退任し、本研究領域での共同研究者である坂本敦が 2006 年に教授となって研究室を引き継いだ。硝酸同化とクロストークする活性窒素代謝を植物機能制御にかかると新規代謝と位置付けた研究(科研費 2007~2008 年度植物の同化的硝酸還元と密接に関わる活性窒素ストレスの実態解明とその代謝制御; 研究代表者坂本敦)や、窒素の同化代謝研究と並行して、核酸塩基の分解代謝も植物機能制御に深く関わっていることを示し、全窒素代謝(同化・異化)の解明を通して植物機能を理解しようとする研究(科研費 2010~2013 年度プリン分解代謝の二元的な植物生理機能の解明とその制御に関する研究; 研究代表者坂本敦)が継続されている。

また、同じく本研究領域の共同研究者で、坂本研究室の高橋美佐(広島大学大学院理学研究科助教)は、本研究領域で見出した NO<sub>x</sub> の植物生理活性(植物バイタリゼーション)について、科研費若手研究(B)「大気中活性窒素の細胞増殖バイタリゼーション作用の分子生理学の実態と分子種の解明」(2006 年度-2007 年度)、および科研費基盤研究(C)「大気中 NO<sub>x</sub> の植物バイタリゼーション制御遺伝子の決定と分子機構の理解」(2009-2011 年度)で研究を継続しバイタリゼーションに関わる原因遺伝子の 1 つとしてシロイヌナズナから *VITA1* を同定した。さらに、JST 研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)探索タイプ「植物バイタリゼーション原因遺伝子 *VITA1* を用いた作物増産技術の開発」(2010 年度)において、トマトを用いた研究で、*VITA1* を過剰発現させると、微量の NO<sub>x</sub> 条件下でも果実増産効果があることを見出している。さらに、環境ストレス耐性や環境修復能を付与したトランスジェニック植物創出研究もなされている。要約すると

(i) マメ科植物の窒素固定におけるキサンチンデヒドロゲナーゼ(XDH)の役割はよく知られているがマメ科以外の植物での役割は不明である。シロイヌナズナの二つの XDH パラログ(*AtXDH1*, *AtXDH2*) 遺伝子を RNA 干渉により抑制した。XDH タンパク質レベルの減少に伴い、キサンチンが蓄積されるとともに植物成長等に著しい阻害が認められた。野生株の葉では老化とともに XDH レベルが増加することから、植物の増殖・発生における XDH の役割を論じた<sup>1)</sup>。

(ii) 大気中の NO<sub>2</sub> は植物の葉により除去されるが植物がこの活性ガスをいかに処理するかについて分子レベルでは解明されていない。NO<sub>2</sub> ガスに曝されたアザレアの葉から二つの germin-like protein (GLP) の cDNA (*RmGLP1* と *RmGLP2*) を単離した。定量 mRNA 解析等から葉の NO<sub>2</sub> 暴露が両遺伝子発現を強固に誘導することがわかった。タバコに導入された時、*RmGLP2* はアポプラストに分泌され、スーパーオキシドジスムターゼ活性を示した。活性窒

素と活性酸素に対する植物の防御機構において、両 GLP が果たす役割を考察した<sup>2)</sup>。

(iii) タバコの持つ4種類の同化亜硝酸還元酵素アイソマーの内の2種(葉の Nii1 と根の Nii4)について、解像度 1.25 と 2.3 Å で高分解能結晶構造解析を実施したところ、両タンパク質は非常に似た構造をしていることがわかった。いくつかの変異タンパク質との比較から酵素カイネティクスと結晶構造との相関について知見が得られた<sup>3)</sup>。

(iv) 活性窒素を窒素ガスに還元する植物の作出を目的として、タバコ BY-2 細胞をカビ・Cylindrocara tonkinense の酸化窒素還元酵素(nor)をコードするチトクロム P450nor2 で形質転換した。トランスジェニック BY-2 細胞は硝酸存在下で野生株の 35 倍の N<sub>2</sub>O ガスを発生したが、アンモニウムからの N<sub>2</sub>O ガス生成量は野生株と同等であった<sup>4)</sup>。

## ② 社会・経済的波及効果

共同研究者の高橋美佐によって、NO<sub>x</sub> によるバイタリゼーションの制御遺伝子として同定された VITAI は研究代表者の森川弘道らを共同発明者として特許を国際出願した<sup>35)</sup>。この遺伝子を過剰発現させたトマトで、果実増産効果があることを示した JSTA-STEP での研究開発事後評価では、他のトマト品種や植物でも同様の結果が得られれば、NO<sub>2</sub> をシグナルとした省資源・無環境負荷の多収性作物の育種技術として、技術移転の可能性が高まるとされている。さらに、2012年8月に行われた広島大学新技術説明会では、VITAI 遺伝子のマーカー化を行い、大気汚染浄化植物の実用化を目指すとして発表するなど、食用植物以外への展開も始まっている(出典：広島大学新技術説明会ホームページ<sup>36)</sup>)。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Nakagawa A, Sakamoto S, Takahashi M, Morikawa H, Sakamoto A, “The RNAi-mediated silencing of xanthine dehydrogenase impairs growth and fertility and accelerates leaf senescence in transgenic Arabidopsis plants.” , *Plant and Cell Physiology*, 48, 1484-1495, (2007)
- 2) Kondo K, Yamada K, Nakagawa A, Takahashi M, Morikawa H, Sakamoto A, “Molecular characterization of atmospheric NO<sub>2</sub>-responsive germin-like proteins in azalea leaves.” , *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 377, 857-861, (2008).
- 3) Nakano S, Takahashi M, Sakamoto A, Morikawa H, Katayanagi K, “Structure-function relationship of assimilatory nitrite reductases from the leaf and root of tobacco based on high-resolution structures.” , *Protein Science*, 21, 383-395, (2012)
- 4) Abdel-Banat B.M.A, Adam, S.E.H, Takahashi M, Sakamoto A, Shoun H, Morikawa H, “A fungal cytochrome P-450nor confers denitrifying ability to tobacco BY-2 cells.” , *Biotechnology*, 7, 250-257, (2008).

<sup>35)</sup> 「植物の生育促進およびバイオマス量の増加に関与する遺伝子ならびにその利用方法」; W02011/074553

<sup>36)</sup> <http://www.hiroshima-u.ac.jp/news/show/id/14374>

#### ④ その他

研究代表者の森川弘道は、植物細胞への電気化学技術を用いた遺伝子導入に関する研究業績が評価され、2011年に島津賞を受賞した。

### 3.2.5 トリプトファン生合成系における一次・二次代謝の制御と利用(若狭暁)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

メタボリックエンジニアリングは植物の機能改変をめざす植物バイオテクノロジーの重要な技術の一つである。

本研究ではメタボリックエンジニアリングの可能性を検証するために栄養価を改善した飼料作物の開発と、二次代謝産物生成を制御するネットワークの解析をめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) 2個あるアントラニル酸合成酵素  $\alpha$  サブユニット遺伝子のうちこれまで改変が困難であった *OASA2* について、コムギ胚芽を用いたたんぱく質合成系を利用した *in vitro* でのスクリーニング系を開発し、改変型 *OASA2* 酵素を創製した。フィードバック阻害に対して感受性を低下させるアミノ酸残基と酵素活性を向上させるアミノ酸残基の二箇所を置換することでこれまでになく高効率でトリプトファンを蓄積する改変酵素を創製した<sup>1)</sup>。

(ii) 温室、圃場条件下で栽培した 2 系統の形質転換体について、遊離トリプトファン蓄積の安定性、その蓄積による代謝プロファイリングの変動の有無、農業形質への影響について調査、解析した。その結果、種子におけるトリプトファンの蓄積は栽培年次や条件によらず安定であること、トリプトファン以外の代謝化合物に大きな変動のないこと、一部の農業形質に影響が見られたが 2 系統のうちの 1 系統では対照品種とほぼ同じ特性を示すことを明らかにした<sup>2)</sup>。

(iii) *OAS1D* 遺伝子を導入してトリプトファン含量を高めたイネ、バレイショ、ダイズ、シロイヌナズナの代謝プロファイリング分析の結果をまとめ、トリプトファンの蓄積が下流の関連化合物の生産に大きな変動をもたらさないことを明らかにした<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3 報以内)

- 1) Kanno T, Komatsu A, Kasai K, Dubouzet J. G, Sakurai M, Ikejiri-Kanno Y, Wakasa K, Tozawa Y, “Structure-based *in vitro* engineering of the anthranilate synthase, a metabolic key enzyme in the plant Trp pathway.” , *Plant Physiology* 138, 2260-2268, (2005)
- 2) Wakasa K, Hasegawa H, Nemoto H, Matusda F, Miyazawa H, Tozawa Y, Morino K, Komatsu A, Yamada T, Terakawa T, Miyagawa H, “High-level tryptophan accumulation in seeds of transgenic rice and its limited effects on agronomic traits and seed metabolite profile.” , *J. Exp. Botany*, 57, 3069-3078, (2006)
- 3) Ishihara A, Matsuda F, Miyagawa H, Wakasa K, “Metabolomics for metabolically manipulated plants: effects of tryptophan overproduction.” , *Metabolomics*,

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

トリプトファン高含有イネの作出という主要課題は研究領域期間中に一般圃場栽培まで進むという成果を達成していたこともあり研究領域後はそれらの成果を論文に取りまとめることを中心に研究が継続されている。積み残し課題であった 5-メチル Trp 抵抗性イネにおいて、その変異の実体が Phe 合成酵素にあるにもかかわらず、Trp が Phe とともに蓄積する現象については科研費基盤研究(C)「トリプトファンとフェニルアラニン生合成における相互作用の役割と機構」(2009~2011 年度)を通じて継続検討されているが、論文発表に至っていない。一方で、Trp の二次代謝物が病原菌感染に対する植物防御機構を担っていることを発見し報告があった。すなわち、

(i) アントラニル酸合成酵素  $\alpha$  サブユニットの Trp 脱感作変異である *OAS1D* 遺伝子が導入されたイネと「日本晴」について、その代謝物を詳細に分析した。導入株では Trp の増加程ではないが、アントラニル酸、トリプタミンとセロトニン量が「日本晴」よりも増加していた。Phe と Tyr 量に変動はなかった。トランスクリプトーム分析から、21500 遺伝子のうち 12 遺伝子で有意な発現量差が見られたが、*OAS1D* と推定 IAA  $\beta$  - グルコシルトランスフェラーゼ遺伝子以外は Trp 代謝と無関係な遺伝子であった<sup>1)</sup>。

(ii) 植物体内では Phe はプレフェン酸デヒドラターゼ (PDT) あるいはアロゲン酸デヒドラターゼ (ADT) が関与する経路のいずれかで生合成される。イネ *Mtr1* 変異体は Phe、Trp と数種のフェニルプロパノイドを蓄積するが、その *Mtr1* 変異の実体が PDT のアロステック制御領域内の点変異によることを発見した。生化学的分析の結果イネ PDT は PDT と ADT の両方の活性を示し、主要活性は ADT であることが分かった。野生型 PDT は Phe によるフィードバック制御を受けるが、*Mtr1* は制御を受けにくく結果的に Phe を蓄積した。一方で、野生株カルスに外から Phe を与えても Trp を蓄積することから、Phe と Trp との間には未知の代謝ネットワークが存在するものと著者は考察している<sup>2)</sup>。

(iii) *OAS1D* 遺伝子導入イネの代謝物プロファイルを LC-MS で分析した。イネ苗は他の主要代謝物量に影響することなく Trp のみを高濃度で蓄積し、いくつかのインドール化合物も若干量増加していた。分析の結果植物体内における Trp の分布は不均一で、若い葉で含量が最も高かった<sup>3)</sup>。

(iv) イネごま葉枯病菌に感染したイネ葉では、Trp 生合成経路の「アントラニル酸合成酵素 (AS) 活性の上昇」、「AS mRNA レベルの上昇」、「アントラニル酸、インドール、Trp 量の増大」、が観察された。Trp 由来の代謝物を分析同定したところ、セロトニンおよびそのヒドロキシケイ皮酸アミドの蓄積していた。セロトニンの増加に先行して、トリプタミンと Trp デカルボキラーゼ活性の上昇が見られたことから、Trp 含量増加はトリプタミンを経由してセロトニン増大に繋がると考えられる。放射性同位体でラベルされたセロトニンは損

傷した組織に取り込まれることや、セロトニン生産性が欠けた変異体がイネごま葉枯病菌に対する感受性を増すこと、その変異体をセロトニンで処理するとカビ病原菌の菌糸増殖が抑えられることが分かった。Trp 生合成経路活性化がセロトニン生成を通して病原菌抵抗性獲得に重要であることが示された<sup>4)</sup>。

若狭暁は、一連の研究成果により、2008 年度・日本植物細胞分子生物学会賞学術賞を受賞した。

## ② 社会・経済的波及効果

トリプトファン高含有イネの圃場試験は、農研機構・作物研究所ホームページで 2010 年度も実施されたことが報告されている<sup>37)</sup>。

研究領域事後評価用資料に記載された Trp 高生産細胞を利用した培養 Trp 生産の化学メーカーとの共同研究については、2005・2006 年に計 3 報の共著論文発表が行われた。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4 報以内)

- 1) Dubouzet J.G, Ishihara A, Matsuda F, Miyagawa H, Iwata H, Wakasa K, “Integrated metabolomic and transcriptomic analyses of high-tryptophan rice expressing a mutant anthranilate synthase alpha subunit.” , *Journal of Experimental Botany*, 58, 3309-3321, (2007)
- 2) Yamada T, Matsuda F, Kasai K, Fukuoka S, Kitamura K, Tozawa Y, Miyagawa H, Wakasa, K, “Mutation of a rice gene encoding a phenylalanine biosynthetic enzyme results in accumulation of phenylalanine and tryptophan.” , *Plant Cell*, 20, 1316-1329, (2008)
- 3) Matsuda F, Ishihara A, Takanashi K, Morino K, Miyazawa H, Wakasa K., Miyagawa H, “Metabolic profiling analysis of genetically modified rice seedlings that overproduce tryptophan reveals the occurrence of its inter-tissue translocation.” , *Plant Biotechnology*, 27, 17-27, (2010)
- 4) Ishihara A, Hashimoto Y, Tanaka C, Dubouzet J.G, Nakao T, Matsuda F, Nishioka T, Miyagawa H, Wakasa K, “The tryptophan pathway is involved in the defense responses of rice against pathogenic infection via serotonin production.” , *Plant Journal*, 54, 481-495, (2008)

---

<sup>37)</sup> <http://www.naro.affrc.go.jp/nics/gm/files/2010keikaku.pdf>

### 3.3 2002 年度採択課題

#### 3.3.1 タバコモザイクウイルスの増殖機構(石川雅之)

##### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

###### ① 研究のねらい

ウイルス増殖の人為的コントロールあるいは物質生産や遺伝子導入手段などとしてのウイルスの有効利用の基礎を構築するためには、ウイルスにコードされた因子のみならず宿主因子も含めた機能解析が必要である。

本研究では、試験管内タバコモザイクウイルス (TMV) RNA 翻訳・複製系を用いて、ウイルス増殖に関与する宿主因子を同定しその増殖機構を分子レベルで理解することをめざした。

###### ② 期間中の研究成果

- (i) タバコモザイクウイルス (TMV) の RNA 複製に必要な宿主(シロイヌナズナ) 遺伝子 *TOM2A* を同定した。*TOM2A* は、TMV RNA の複製に必要な宿主膜タンパク質 TOM1 と相互作用する 4 回貫通型膜タンパク質をコードすることが示された<sup>1)</sup>。
- (ii) TOM1 および TOM2A タンパク質が TMV RNA の複製にいかに関与するかを検討するため、TOM1、TOM2A タンパク質、TMV にコードされた複製タンパク質および RNA 合成活性の細胞内での局在を調べた。その結果、緑色蛍光タンパク質を用いた観察と細胞分画法を組み合わせることでこれらのタンパク質と RNA 合成活性のそれぞれ少なくとも一部が液胞膜上に共局在し、TOM1、複製タンパク質、RNA 合成活性は、液胞膜に加えて、より浮遊密度の大きい膜画分にも存在することを明らかにした。これらの知見から、少なくとも TOM1 は TMV の複製複合体が膜上に形成される際の足場として重要な役割を果たすことが示唆された<sup>2)</sup>。
- (iii) 従来 TMV を含む真核生物プラス鎖 RNA ウイルスの RNA 複製は膜上に形成される複製複合体で起こり、試験管内でその形成過程を再現することはできなかったが、タバコ BY-2 培養細胞プロトプラストより脱液胞化を経て生体膜を含む無細胞翻訳系を構築し、この系で TMV を含む植物 RNA ウイルスゲノムを翻訳させ、RNA 合成基質を加えると生体内とほぼ同様のパターンのウイルス RNA 合成させることに成功した。この系は、RNA ウイルスの複製機構を解析する上で有用と考察している<sup>3)</sup>。

###### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3 報以内)

- 1) Tsujimoto Y, Numaga T, Ohshima K, Yano M, Ohsawa R, Goto D. B, Naito S, Ishikawa M, “Arabidopsis TOBAMOVIRUS MULTIPLICATION (TOM) 2 locus encodes a transmembrane protein that interacts with TOM1.” , *EMBO J.*, 22, 335-343, (2003)
- 2) Hagiwara Y, Komoda K, Yamanaka T, Tamai A, Meshi T, Funada R, Tsuchiya T, Naito S, Ishikawa M, “Subcellular localization of host and viral proteins associated

with tobamovirus RNA replication.”, *EMBO J.*, 22, 344-353, (2003)

- 3) Komoda K, Naito S, Ishikawa M, “Replication of plant RNA virus genomes in a cell-free extract of evacuated plant protoplasts.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 1863-1867, (2004)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域での目標は「試験管内タバコモザイクウイルス (TMV) RNA 翻訳複製系を用いてウイルス増殖に関与する宿主因子を同定し、その増殖機構を分子レベルで理解する」ならびに「TMV 複製タンパク質による RNA サイレンシング抑制機構の解明」であった。期間終了後もこれらの課題解明に向けた研究活動が継続され成果が順調に論文投稿されている。科研費基盤研究(B)「トマトモザイクウイルスの RNA 複製複合体形成機構の解析」(2009～2011 年度)および農研機構新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業「ウイルス増殖阻害薬剤開発に向けた基礎研究」(2007～2011 年度)を通じてウイルス感染の植物種特異性に関与する因子やウイルスの増殖に必要な因子を新たに同定している。トマトの tm-1 タンパク質がタバコマイルドグリーンモザイクウイルスの複製を阻害することを見出しウイルスが特定の植物種にしか感染しないしくみ初めて明快にした。また、分子シャペロン・HSP90 が RNA サイレンシングを引き起こす RNA 複合体 (RISC) の形成を促進する機構を解明している(科研費「植物における RNA サイレンシング誘起および抑制の分子機構の解明」(2009～2011 年度)代表者；飯哲夫、研究分担者；石川雅之)。成果を要約すると、

(i) トバモウイルスの複製に必要な宿主の複数回膜貫通型タンパク質 TOM1 は、トバモウイルス 130K タンパク質と相互作用して RNA 複製複合体の構成要素となっている。TOM1 の発現抑制はウイルス増殖を阻害したが、一方で TOM1 の過剰発現もウイルス増殖効率を低下させた。複製タンパク質の膜への結合が過剰になり、RNA サイレンシング抑制に寄与していた非膜結合複製タンパク質の量が低下したためと著者は考察している<sup>1)</sup>。

(ii) ウイルスは決まった植物種にしか感染しないがその理由は分かっていない。トマトの tm-1 というタンパク質がタバコマイルドグリーンモザイクウイルス (TMGMV) の複製に必要なタンパク質に結合しその機能を阻害すること、そしてこの機能阻害がトマトにおいて TMGMV が増殖できない主要な原因となっていることを明らかにした。さらに、トマトには tm-1 タンパク質による複製の阻害に加えて TMGMV が植物体の中で増え広がることを抑制する別の機構が存在することも示唆された。複数のウイルス増殖抑制機構が同時に存在することはウイルスが容易には宿主生物種以外に感染できるように変異しないことと合致する<sup>2)</sup>。

(iii) RNA サイレンシングを引き起こす RNA 複合体の形成は、i) ATP を結合した HSP90 が RNA 複合体を構成する必須タンパク質・AG01 と複合体を形成する、ii) HSP90 に結合した AG01 に二本鎖の短鎖 RNA が結合する、iii) HSP90 に結合した ATP が加水分解され、AG01-二本鎖短鎖 RNA 複合体が HSP90 から離れる、iv) これに伴い短鎖 RNA の一方の鎖が切断されて AG01

から除去されるとともに、もう一方の鎖は AGO1 に保持される、v) 短鎖 RNA-AGO1 複合体が完成し、標的 RNA を認識することが可能になる、という流れであることが示された<sup>3)</sup>。

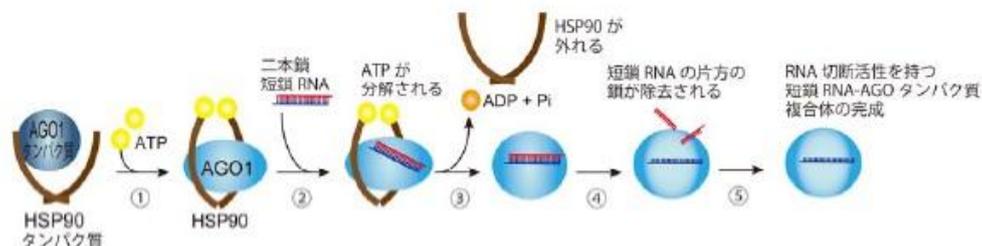


図 3-8 RNA 切断活性を持つ短鎖 RNA-AGO1 複合体形成のモデル<sup>38)</sup>

- ①HSP90 と AGO1 は ATP が結合することによって安定した複合体を形成する。
- ②HSP90 に結合している AGO1 に二本鎖短鎖 RNA が結合する。
- ③HSP90 に結合している ATP の分解が起きると、HSP90 は AGO1-二本鎖短鎖 RNA 複合体から外れる。
- ④AGO1-二本鎖短鎖 RNA 複合体から RNA 鎖が一本除去されるが、もう一本の鎖は AGO1 との結合を保つ。
- ⑤RNA 複合体 (RISC) が完成し標的 RNA を切断する活性を獲得する。

(iv) トマトモザイクウイルス ToMV 感染細胞抽出液から、ToMV 複製タンパク質と共精製されるタンパク質を得た。部分アミノ酸配列を決定しそのタンパク質が ARF ファミリーに属する低分子量 GTP 結合タンパク質 ARL8 であることを明らかにした。ARF ファミリータンパク質は細胞内の膜を介した物質輸送において重要な役割を担うことが知られている。宿主タンパク質 TOM1 は ARL8 と同様 ToMV の増殖に必須である。ToMV 複製タンパク質は ARL8

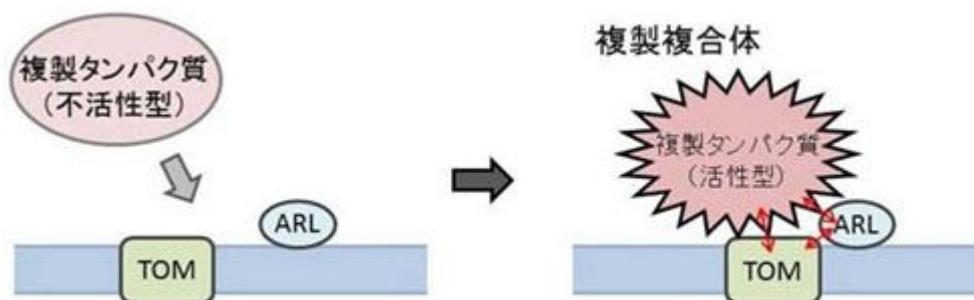


図 3-9 ToMV の複製における TOM1 と ARL8 の役割 (モデル)<sup>39)</sup>

ToMV の複製タンパク質は不活性な形で合成され、TOM1 および ARL8 と相互作用してはじめて複製に必要な酵素活性を獲得すると考えられる。

<sup>38)</sup> (独) 農業生物資源研究所プレスリリース 2010 年 9 月 21 日参考資料図 3  
<http://www.nias.affrc.go.jp/press/20100921/ref.pdf>

<sup>39)</sup> 農業生物資源研究所植物科学研究領域・植物・微生物間相互作用研究ユニット、ホームページ、トピック 2、トマトモザイクウイルスの増殖に必須な宿主タンパク質 ARL8 の同定  
<http://www.nias.affrc.go.jp/seika/nias/h23/nias02308.htm>

および TOM1 と共発現してはじめて ToMV の複製に必要な酵素活性を現した。これらの結果から、著者は TOM1 と ARL8 は複製タンパク質とともに複製複合体を形成し複製タンパク質がウイルス複製のための酵素活性を獲得する過程で重要な役割を果たしていると考えしている<sup>4)</sup>。

## ② 社会・経済的波及効果

トマト tm-1 タンパク質の発見は、「なぜウイルスは限られた範囲の宿主にしか感染しないのか？」という植物病理学およびウイルス学における重要な課題を解く手がかりを与えるものであり、現在有効な抵抗性遺伝子が見つからない病害ウイルスに対する新規抵抗性遺伝子発見にも繋がる成果であるとプレスリリースされた<sup>40)</sup>(RNA サイレncingについても分子シャペロンの役割の解明は植物 RNA サイレncing機構の生化学的解析研究に大きく貢献するもので、ウイルスに対する RNA サイレncing機能を増強することによりウイルス病害を低減する方策に繋がることと期待されるとのプレスリリースがあった<sup>41)</sup>。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Hagiwara-Komoda Y, Hirai K, Mochizuki A, Nishiguchi M, Meshi T, Ishikawa M, “Overexpression of a host factor TOM1 inhibits tomato mosaic virus propagation and suppression of RNA silencing.” , *Virology*, 376, 132-139, (2008)
- 2) Ishibashi K, Naito S, Meshi T, Ishikawa M, “An inhibitory interaction between viral and cellular proteins underlies the resistance of tomato to nonadapted tobamoviruses.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 8778-8783, (2009)
- 3) Iki T, Yoshikawa M, Nishikiori M, Jaudal M.C, Matsumoto-Yokoyama E, Mitsuhara I, Meshi T, Ishikawa M, “In vitro assembly of plant RNA-induced silencing complexes facilitated by molecular chaperone HSP90.” , *Molecular Cell*, 39, 282-291, (2010)
- 4) Nishikiori M, Mori M, Dohi K, Okamura H, Katoh E, Naito S, Meshi T, Ishikawa M, “A host small GTP-binding protein ARL8 plays crucial roles in tobamovirus RNA replication.” , *PLoS Pathogens*, 7, art. no. e1002409 (2011)

---

<sup>40)</sup> 農業生物資源研究所プレスリリース、2009年5月8日；ウイルスが決まった植物種にしか感染しないしくみを発見

<sup>41)</sup> 農業生物資源研究所プレスリリース、2010年9月21日；遺伝子の働きを抑える複合体ができるしくみが明らかに

### 3.3.2 共生ネットワークの分子基盤(川口正代司)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

陸上植物と土壤微生物の最も普遍的な共生はアーバスキュラー菌根菌との共生で、菌根菌は外生菌糸を介して土壤中のリン酸を吸収し宿主に提供する一方、宿主から光合成産物を受け取ることによって増殖し共生関係を成立させている。

本研究では植物と菌根菌の共生に関わるシグナル物質の分子同定を試みると共に、菌類や窒素固定細菌と共生するために進化させてきた植物側遺伝子と両者をつなぐ Common Signaling Pathway の遺伝子を明らかにすることをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) アーバスキュラー菌根菌と植物との共生において植物の根から分泌される共生シグナルをミヤコグサから単離し 5-デオキシストリゴールと同定した。本物質は根寄生雑草に対する寄生シグナルと考えられてきたストリゴラクトンであった。このことから菌根菌と根寄生雑草はストリゴラクトンにより宿主・寄主の存在を感知することが明らかになった<sup>1)</sup>。

(ii) 菌根共生と根粒共生との間で共生初期のシグナル伝達経路 Common Signaling Pathway に関わる 7 つの宿主因子のうち、CASTOR、POLUX、CYCLOPS および NUP85 の 4 種を同定した。CASTOR はカチオンチャネルに相同なタンパクをコードしており、このホモログ遺伝子 Pollux の変異によっても共生表現型が見られ、CASTOR、POLLUX ともにプラスチドに局在したことから共生におけるプラスチドの重要性が示唆された<sup>2)</sup>。

(iii) 菌根形成と根粒形成の両者に必須な共生遺伝子の一つであるミヤコグサのヌクレオポリン NUP85 遺伝子をマップベースクローニングにより同定した。nup85 共生変異体の詳細な表現型解析から NUP85 はカルシウムスパイクの誘導や種子形成に関与することが明らかとなった<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H, “Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi.”, *Nature*, 435, 824-827, (2005)
- 2) Imaizumi-Anraku H, Takeda N, Charpentier M, Perry J, Miwa H, Umehara Y, Kouchi H, Murakami Y, Mulder L, Vickers K, Pike J, Downie A, Wang T, Sato S, Asamizu E, Tabata S, Yoshikawa M, Murooka Y, Wu G.-J, Kawaguchi M, Kawasaki S, Parniske M, Hayashi M, “Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots.”, *Nature* 433, 527-531, (2005)
- 3) Saito K, Yoshikawa M, Yano K, Miwa H, Uchida H, Asamizu E, Sato S, Tabata S, Imaizumi-Anraku H, Umehara Y, Kouchi H, Murooka Y, Szczyglowski K, Downie J. A,

Parniske M, Hayashi M, Kawaguchi M, “NUCLEOPORIN85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses and seed production in *Lotus japonicus*.”, *Plant Cell* 19, 610–624, (2007)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

科研費特定領域研究「根粒原基と茎頂分裂組織の発生制御機構」(2009～2010年度)を通じて本研究領域期間中に発見した菌根菌・根粒菌共生形成にシグナル伝達経路に関わる遺伝子群の詳細な解析を継続している。特に科研費基盤研究(B)「ミヤコグサを用いた根粒形成初期シグナリングの分子機構の解明」(2008～2011年度)で根粒の数と植物の形の両方を制御する遺伝子 *KLAVIER* を発見し、窒素固定に限定されない共生の新しい役割を提示した。更に直近では根粒の発生において植物ホルモンのオーキシンが作用する機構を発見し、*Development* 誌に論文投稿されている<sup>42</sup>。また、植物が内外の刺激に応答して根粒の数を制御するのに必要な二つのペプチド遺伝子発見に関する論文(下記2)は第18回PCP論文賞を受賞した<sup>43</sup>。主な成果を要約すると、

(i) ミヤコグサの微生物感染が極度に阻害されるサイクロプス変異体からポジショナルクローニングにより *CYCLOPS* タンパク質を同定した。*CYCLOPS* は核局在化シグナルとコイルドコイルドメインを持つ。共生刺激不在下での *CYCLOPS*・カルモジュリン依存性キナーゼ(CCaMK)相互作用を植物と酵母の核で観察した。重要なことは *CYCLOPS* は CCaMK の *in vitro* リン酸化基質であるということである。共生進化と *CYCLOPS*・CCaMK の関わりを考察している<sup>1)</sup>。

(ii) マメ科植物は根粒の形成や硝酸の添加といった内部と外部の刺激を感知して根粒の数を制御している。これの刺激に応答する2つのペプチド遺伝子 (*LjCLE-RS1*, *LjCLE-RS2*) を発見した。これらの遺伝子は、根粒菌感染後に根とシュート間の遠距離シグナル伝達により根粒形成が抑制されるというオートレギュレーション機構に深く関わるものであることが示された<sup>2)</sup>。

(iii) ホモクエン酸は窒素固定を触媒するニトロゲナーゼの鉄-モリブデン補因子の1成分である。ホモクエン酸合成酵素(HCS)をコードする *NifV* 遺伝子はジアゾ栄養生物から単離されているがマメ科植物との共生で窒素固定を行う多くの根粒菌には存在しない。共生窒素固定において根粒菌のこの *NifV* 機能欠如を、マメ科植物のミヤコグサの *FEN1* 遺伝子が補っていることを見出した。*FEN1* 遺伝子は、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の HCS 欠損株変異を相補することから HCS をコードすることがわかった<sup>3)</sup>。

(iv) マメ科植物のミヤコグサを用いて、イオンビーム照射により遺伝子を破壊し、クラ

<sup>42</sup> 基礎生物学研究所プレスリリース 2012年10月10日；根粒の形づくりにおけるオーキシンの作用機構を解明

<sup>43</sup> 基礎生物学研究所プレスリリース 2011年7月29日

ビア (*KLAVIER*) 遺伝子を発見した。*KLAVIER* 遺伝子が壊れると根粒の数が通常の 3~4 倍に増えることが分かり、この遺伝子により根粒の数が適正に制御されていると考えられる。一方で、*KLAVIER* 遺伝子は根粒の数だけでなく、花が咲く時期や、茎やサヤの形、花の数などの植物の形を決める機能も併せ持つことがわかった。根粒の数を制御する遺伝子はいくつか知られているが、根粒の数と植物の地上部の形の両方を制御する遺伝子の発見は初めてである<sup>4)</sup>。

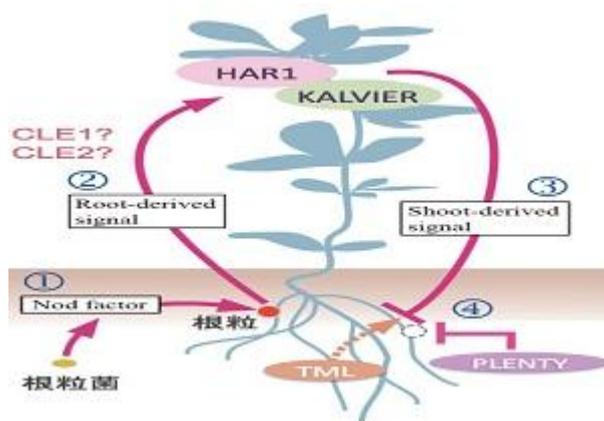


図 3-10 根粒形成の全身的なフィードバック制御機構のモデル図<sup>44)</sup>

## ② 社会・経済的波及効果

根粒の数を制御する遺伝子はいくつか知られているが、根粒の数と植物の地上部の形の両方を制御するクラビア遺伝子の発見は世界で初めてであり、グラビア遺伝子の働きをより詳細に解明していくことで、マメ科植物の能力の遺伝子レベルでの理解が深まるとともに、マメ科植物の持つ窒素固定能力やバイオマスの向上によって、食糧問題・環境問題の解決に貢献することが期待されるとのプレスリリースがあった<sup>45)</sup>。

## ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4 報以内)

- 1) Yano K, Yoshida S, Müller J, Singh S, Banba M, Vickers K, Markmann K, White C, Schuller B, Sato S, Asamizu E, Tabata S, Murooka Y, Perry J, Wang T.L, Kawaguchi M, Imaizumi-Anraku H, Hayashi M, Parniske M, “CYCLOPS, a mediator of symbiotic intracellular accommodation.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 20540-20545, (2008)
- 2) Okamoto S, Ohnishi E, Sato S, Takahashi H, Nakazono M, Tabata S, Kawaguchi M, “Nod factor/nitrate-induced CLE genes that drive HAR1-mediated systemic regulation of nodulation.”, *Plant and Cell Physiology*, 50, 67-77, (2009)
- 3) Hakoyama T, Niimi K, Watanabe H, Tabata R, Matsubara J, Sato S, Nakamura Y, Tabata

<sup>44)</sup> 基礎生物学研究所共生システム研究部門要覧(2012年)

[http://www.nibb.ac.jp/sections/pdf/2012\\_yoran/kawaguchi.pdf](http://www.nibb.ac.jp/sections/pdf/2012_yoran/kawaguchi.pdf)

<sup>45)</sup> 基礎生物学研究所プレスリリース 2010年11月20日；マメ科植物において、根粒の数と植物の形づくりを同時に制御する遺伝子を見

S, Jichun L, Matsumoto T, Tatsumi K, Nomura M, Tajima S, Ishizaka M, Yano K, Imaizumi-Anraku H, Kawaguchi M, Kouchi H, Sukanuma N, “Host plant genome overcomes the lack of a bacterial gene for symbiotic nitrogen fixation.” *Nature*, 462, 514-517, (2009)

- 4) Miyazawa H, Oka-Kira E, Sato N, Takahashi H, Wu G.-J, Sato S, Hayashi M, Betsuyaku S, Nakazono M, Tabata S, Harada K, Sawa S, Fukuda H, Kawaguchi M, “The receptor-like kinase KLAVIER mediates systemic regulation of nodulation and non-symbiotic shoot development in *Lotus japonicus*.”, *Development*, 137, 4317-4325, (2010)

#### ④ その他特記事項

本研究領域共同研究者の秋山康紀(大阪府立大学大学院生命環境科学研究科)は、「植物ホルモン機能の発見によるストリゴラクトン研究の新展開」により、経塚淳子(3.1.2. 参照)らと共にトムソン・ロイター第3回リサーチフロントアワードを受賞した。

### 3.3.3 植物特異的な転写因子機能ネットワーク(高木優)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

植物の多様な機能は個々の遺伝子の発現調節によって制御されており、転写レベルの制御が遺伝子発現制御に中心的な役割を果たしていることが示されている。

本研究では新たに開発した転写抑制因子を用いた遺伝子サイレンシングシステム(CRES-T法)を用いて、シロイヌナズナ、イネにおいて個々の転写因子が制御する形質と遺伝子を明らかにし、転写因子の機能解析を行うことによって転写因子機能ネットワークを解明することをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i)植物特異的なTCP転写因子群の機能解析をCRES-T法を用いて行い、これらの転写因子は頂芽を含む分裂組織の形成をになうCUC転写因子群などの遺伝子の発現を負に抑制することによって頂芽分裂組織の位置を制御する植物のパターン形成に重要な役割を果たす因子であることを明らかにした<sup>1)</sup>。

(ii)植物特異的なNAC転写因子群に属するNSTと名付けた転写因子が植物の木部組織の形成を制御するマスター遺伝子であることを証明した。また、この因子の発現を抑制するか或いはキメラリプレッサーを発現させると導管を除く木部のリグニンおよびセルロースの生合成が抑制され反対に過剰発現体では異所的な二次壁形成が誘導されることを示した<sup>2)</sup>。

(iii)EARモチーフと名付けた短いペプチドが付与されることにより転写因子が強力な転写抑制因子に機能変換されることを見だし、これらのキメラリプレッサーが内在性の転写因子に優性で作用することからこの性質を利用した新たな遺伝子サイレンシング法であるCRES-T法を開発した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Koyama T, Furutani M, Tasaka M, Ohme-Takagi M, “TCP transcription factors control the morphology of shoot lateral organs via negative regulation of the expression of boundary-specific genes in Arabidopsis.” , *Plant Cell*, 19, 473-484, (2007)
- 2) Mitsuda N, Iwase A, Yamamoto H, Yoshida M, Seki M, Shinozaki K, Ohme-Takagi M, “NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of Arabidopsis.” , *Plant Cell*, 19, 270-280, (2007)
- 3) Hiratsu K, Matsui K, Koyama T, Ohme-Takagi M, “Dominant repression of target genes by chimeric repressors that include the EAR motif, a repression domain,

in Arabidopsis.”, *Plant J.*, 34, 733-739, (2003)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

独自に開発した植物遺伝子発現制御技術である CRES-T 法を用い転写因子研究の基盤整備や解析技術の改良を継続して研究し、実用植物での利用技術開発を進めている。基盤整備としては転写因子データベースを更新するとともに、転写の活性化と抑制の両機能を併せ持つ転写因子や理研との共同研究で植物細胞の脱分化を促進するスイッチ因子 WIND1 を新たに報告している。このスイッチ因子の発見は、植物が傷ストレスに応じて脱分化を促進するという現象を分子レベルで明らかにした世界初の成果である<sup>46</sup>。

実用植物への応用としては産総研・技術移転ベンチャー企業である株式会社グリーンソニアを立ち上げ、CRES-T 法の商業化に取り組んでいる<sup>47</sup>。

また、農研機構・花き研究所と共同で CRES-T 法を基盤とした花きの高度形質制御技術の実用化に取り組み八重咲きシクラメンの実用化に目途をつけている。すなわち、

(i) シロイヌナズナの転写因子群の一つである R3 型 MYB タンパク質に属する AtMYBL2 が転写抑制因子でありアントシアニン生合成を負に制御することを見出した。AtMYBL2 の抑制ドメインは C-末端側の 6 アミノ酸残基(TLLFR)であり、ERF モチーフとは異なっていた<sup>1)</sup>。

(ii) 植物において一つの転写因子が転写活性化と転写抑制の両方の機能を持つ明確な例は知られていない。シュート分裂組織における幹細胞集団の維持を制御するシロイヌナズナの WUSCHEL (WUS) タンパク質が主として転写抑制因子として働くが *AGAMOUS* 遺伝子の制御においては転写活性化因子として働くことを見出した。*WOX* 遺伝子群で保存されている WUS ボックスが、WUS が示すこの二重の機能を担うドメインであった<sup>2)</sup>。

(iii) CRES-T 法をシロイヌナズナや各種の花き植物に適用した時の表現型を収録したデータベース FioreDB を大幅に更新した。多くのデータについて遺伝子名を公開し、転写因子データベースとしての機能を持たせているほかシロイヌナズナの全遺伝子について各種有用情報を集約して掲載した<sup>3)</sup>。

(iv) シロイヌナズナ植物体と 3 種類のカルス細胞株に対して DNA マイクロアレイ法による網羅的遺伝子発現解析を行い分化した植物体に比べてカルス細胞株で共通に発現が促進されている遺伝子を探索し、脱分化を促進するスイッチ因子として AP2/ERF 転写因子ファミリーに属する *WIND1* 遺伝子を見出した。*WIND1* 遺伝子に転写抑制ドメイン SRDX を連結して植物体に導入したところ WIND1 機能抑制植物は野生型に比べて傷口からのカルス形成が抑制された。添加する植物ホルモンの濃度比を変えた培地で植物組織片を培養し WIND1 タンパク質の植物ホルモン応答への影響を調べた結果、WIND1 タンパク質はサイトカイニ

<sup>46</sup> 産業総合研究所プレスリリース 2011 年 3 月 11 日

<sup>47</sup> グリーンソニアホームページ ; <http://greensogna.com/>

ンへの応答性を高めることで脱分化を促進することがわかった<sup>4)</sup>。

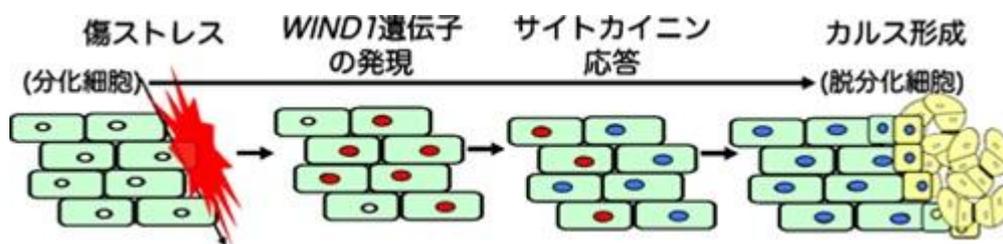


図 3-11 WIND1 タンパク質は傷ストレスで誘導される脱分化を制御する

傷口で発現し機能する WIND1 タンパク質が、植物ホルモンの一種であるサイトカイニンへの応答を高め、細胞の脱分化を促進することが分かった<sup>48)</sup>。



図 3-12 WIND1 タンパク質の機能を利用した分子組織培養法の確立を目指す<sup>24)</sup>

研究グループは、種苗産業や花卉・園芸産業、植物を用いた医薬品原料生産産業などで、分子スイッチを利用した効率的な脱分化・再分化技術(分子組織培養)の確立を目指している。これにより優良品種の大量栽培、飛躍的な生産性向上に向けた分子育種、有用物質生産のための新形質の付与など、これまでわが国で蓄積された高いノウハウをバックアップすることができると考えている。

高木優は、CRES-T 法の開発に対して、2010 年度・日本植物細胞分子生物学会技術賞を受賞した。

## ② 社会・経済的波及効果

植物が傷ストレスに応じて脱分化を促進するという古くから知られていた現象を世界で初めて分子レベルで明らかにした WIND1 タンパク質の発見は、効率の良い組織培養による植物の増産や有用物質生産などの応用貢献するものであるとのプレスリリースがあった<sup>24)</sup>。

CRES-T 法は多くの植物研究者に利用されており、2011 年に「新しい遺伝子サイレンシング法(CRES-T)を用いた転写因子機能解析法の開発と応用」で日本植物細胞分子生物学会技

<sup>48)</sup> 産総研プレスリリース 2011 年 3 月 11 日；植物細胞の脱分化を促進するスイッチ因子を発見

術賞を受賞しているほか、Plant Biotechnology 28 巻 (2011)には CRES-T 法を活用した研究論文が特集された。

また、八重咲きシクラメンについては、共同開発先の北興科学が商業化に向けて生物多様性影響評価試験の実施を検討していると発表された<sup>49</sup>。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Matsui K, Umemura Y, Ohme-Takagi M, “AtMYBL2, a protein with a single MYB domain, acts as a negative regulator of anthocyanin biosynthesis in Arabidopsis.” , *Plant Journal*, 55, 954-967, (2008)
- 2) Ikeda M, Mitsuda N, Ohme-Takagi M, “Arabidopsis wuschel is a bifunctional transcription factor that acts as a repressor in stem cell regulation and as an activator in floral patterning.” , *Plant Cell*, 21, 3493-3505, (2009)
- 3) Mitsuda N, Takiguchi Y, Shikata M, Sage-Ono K, Ono M, Sasaki K, Yamaguchi H, Narumi T, Tanaka Y, Sugiyama M, Yamamura T, Terakawa T, Gion K, Suzuri R, Tanaka Y, Nakatsuka T, Kimura S, Nishihara M, Sakai T, Endo-Onodera R, Saitoh K, Isuzugawa K, Oshima Y, Ikeda T.K.M, Narukawa M, Matsui K, Nakata M, Ohtsubo N, Ohme-Takagi M, “The new fioreDB database provides comprehensive information on plant transcription factors and phenotypes induced by CRES-T in ornamental and model plants.” , *Plant Biotechnology*, 28, 123-130, (2011)
- 4) Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, Sugimoto K, Ohme-Takagi M, “The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in arabidopsis.” , *Current Biology*, 21, 508-514, (2011)

---

<sup>49</sup> 産総研プレスリリース 2010年3月16日；バイオテクノロジーによる多弁咲きシクラメンの開発に成功

### 3.3.4 種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種(西村 いくこ)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

種子の貯蔵タンパク質を改変し、より高品質のタンパク質を含む作物を創出するためには、技術基盤として植物が本来持っている“タンパク質の合成の場から蓄積の場への大量輸送・集積の分子機構”の解明が必須である。

本研究では、植物の特性を理解し、量的向上研究では登熟期の種子の細胞内での種子タンパク質の大量集積に関わる因子を網羅的に単離しこれに関わる分子機構の全容の解明をめざし、質的向上研究では液胞の機能発現に関わる液胞プロセシング酵素 VPE に注目し、種子タンパク質の性質の改変と病害に対する抵抗反応の分子機構を解明することをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) 量的向上研究では、種子貯蔵タンパク質の集積のための「運び屋」と言うべき因子 VSR1 (選別輸送レセプター) を発見し「外来有用タンパク質の種子における細胞外空間への集積技術開発」という視点からも注目された<sup>1)</sup>。

(ii) 質的向上研究では、高等植物の細胞で合成されたタンパク質は液胞へ運ばれた後にプロセスされるが、このプロセシングを行う酵素 VPE がタンパク質の働きを調整するモデュレーターとして働くことを証明した。本成果は、人体に有害な物質(アレルゲンなど)の毒性を低下させた作物の作出に活用できるとした<sup>2)</sup>。

(iii) さらに、VPE が植物のウイルス感染による過敏細胞死の実行因子であることを初めて明らかにし、植物細胞特有の細胞死の分子機構を提唱した。この成果は、病原体の感染を未然に防ぎ、農作物の増収に寄与するための技術開発に繋がるものとして期待された<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3報以内)

- 1) Shimada T, Fuji K, Tamura K, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I, “Vacuolar sorting receptor for seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 16095-16100, (2003)
- 2) Shimada T, Yamada K, Kataoka M, Nakaune S, Koumoto Y, Kuroyanagi M, Tabata S, Kato T, Shinozaki K, Seki M, Kobayashi M, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I, “Vacuolar processing enzymes are essential for proper processing of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*.” , *J. Biol. Chem.*, 278, 32292-32299 (2003)
- 3) Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, Meshi T, Tsuda S, Kondo M, Nishimura M, Hara-Nishimura I, “A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced

hypersensitive cell death.”, *Science*, 305, 855-858 (2004)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

高等植物細胞が示す生命現象を細胞小器官オルガネラレベルと分子レベルで解明することを主眼に、液胞や小胞体をはじめとする細胞内膜系の機能分化やプログラム細胞死に注目して研究を継続している。

本研究領域の課題であった種子の量的・質的向上については、科研費萌芽研究→挑戦的萌芽研究「種子の脂質含量制御因子群の単離～オレオシンを利用した新技術の開発と応用」(2008～2009年度)を通じて、油糧種子における脂質の集積の制御機構の解明とその応用研究を展開し、薬剤を用いない形質転換体の選抜方法を確立した。

科研費基盤研究(S)「植物の細胞死を制御する液胞プロセシング系の解明」(2005～2009年度)では、プログラム細胞死については新たに植物の病原細菌に対する免疫機構を発見している(2009年10月15日、日本経済新聞夕刊)。また、細胞内オルガネラが原形質を流れるように動く現象(原形質流動)の仕組みを解明し、200年来の植物細胞の謎に迫る発見もしている(日経産業新聞2010年3月23日)。さらに、特筆すべきことは、葉の気孔の数を増加させるペプチド(スマートジェン)を単離同定し、遺伝子組み換えに頼らないで様々な植物のCO<sub>2</sub>吸収能力を上げる技術開発の道を開いたと報告があった(2009年12月10日、日本経済新聞)。要約すると、

(i) 脂肪を蓄積しているオルガネラであるオイルボディの膜タンパク質・オレオシンとGFPとの融合タンパク質を発現する種子が緑色蛍光を発する発見に基づいて、薬剤を用いない形質転換系を確立した。すなわち、オレオシンのプロモーターにGFPをつないだDNAコンストラクトを基本とする非破壊的な形質転換体作製技術を開発し、FAST(Fluorescence-Accumulating Technology)と命名した<sup>1)</sup>。

(ii) 植物細胞は液胞の中に細菌を攻撃するための抗菌物質や分解酵素を多量に蓄積しているが、細胞外の細菌を死滅させるためにどのようにして細胞内の抗菌物質を使っているかということは長らく謎のままであった。細菌に感染した植物の細胞が、細胞の内側にある液胞と外部とをつなぐトンネルをつくることにより、液胞内部の抗菌タンパク質を外部に放出して細菌を攻撃すると同時に、自らの細胞を死に至らしめるという防御メカニズムを見出した。このようなトンネル形成は通常の状態では起こらず、これを抑えているのがプロテアソームと呼ばれるタンパク質分解装置の1つであることもわかった。プロテアソームの働きを抑えると、トンネルは形成されず、細胞内の抗菌物質の放出はみられない。本研究の成果から提案されるモデルは図3-13に示す。細菌の感染により、プロテアソーム依存的に膜融合(トンネル形成)が起こり、細胞内に蓄えられている抗菌物質が放出され細菌を攻撃する。同時に細胞内の分解酵素も放出され細胞は死に至る。このように、全ての細胞が持ち合わせている液胞をうまく使って細菌の感染から身をまもっていると考えられ、このような細胞死の機構の発見は世界的にも報告例がなかった<sup>2)</sup>。

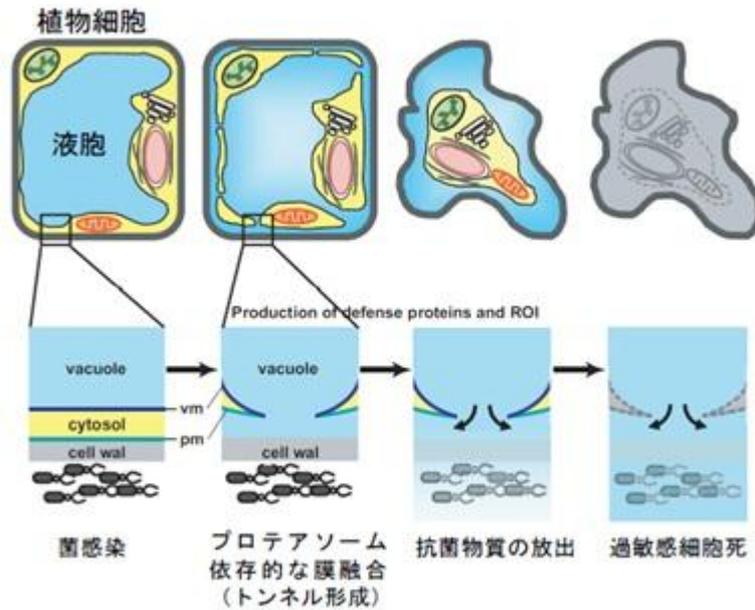


図 3-13 細菌感染にตอบสนองして誘導される膜融合(トンネル形成)とそれによる抗菌物質の放出と過敏感細胞死のモデル

出典 京都大学プレスリリース 2009年10月15日；植物の新しい免疫メカニズムの発見

(iii)小胞体は植物細胞の中で最大の表面積を持つ構造体で、細胞中にネットワーク状に張り巡らされ、川のように方向性を持って流れている。この流れは太いアクチンレールに沿っており、モデル植物シロイヌナズナの特定のミオシン遺伝子を破壊すると、この小胞体の流れがストップし、さらにアクチンレールの秩序そのものが乱れることを発見した。小胞体に結合したミオシンがアクチン上を滑りながらレールの方向を揃え、その上を滑ることによりさらに太い高速レールを構築しているという“小胞体-ミオシン-アクチンの三者相互作用モデル”を提唱した。三者が協調して作り出した高速レール上を小胞体が様々な構造体を巻き込みながら流動する現象が、原形質流動の実体ではないかと著者は考察している<sup>3)</sup>。

(iv)モデル植物シロイヌナズナの遺伝子発現データベースを用いることで、新しいペプチド性因子「ストマジエン」を発見した。植物にストマジエンを過剰に作らせると気孔がたくさん増え、逆にストマジエンを作る能力を弱めると気孔が減ることが分かった。ストマジエンは、植物自身も持っている45個のアミノ酸からなる小さなペプチドであり、化学合成したストマジエンを含む溶液に植物を3日間つけるだけで、気孔の数が劇的に増加することを見出した。これは、遺伝子の改変ではなく、外から物質を投与することにより気孔の数を特異的に制御することに成功した世界で最初の例である<sup>4)</sup>。

## ② 社会・経済的波及効果

VPEによる細胞死とは別の病原細菌に対する新しい免疫機構および細胞死を見出したこ

とは、病虫害による食糧損失の軽減という 21 世紀の食糧危機を救う重要課題に対応するものであり、農薬に頼らない新しい病害防除技術開発に貢献することが期待されると報道された(2009 年 10 月 15 日、日本経済新聞夕刊)。

本研究領域での課題とは離れるが、葉の気孔形成にポジティブに働くペプチド因子スマートジェンを発見し、化学合成スマートジェンの気孔数増加能を確認したことは、スマートジェンを植物に与えるだけで気孔の数が増えることから、様々な植物の CO<sub>2</sub> 吸収能力を上げることによる CO<sub>2</sub> 削減を通じた環境問題の解決、および CO<sub>2</sub> 吸収増によるデンプンや油の物質生産量増大を通じた食糧不足問題の解決に貢献することが期待できると報じられた(2009 年 12 月 10 日、日本経済新聞朝刊)。なお、気孔形成については共同研究者であった鳥居啓子研究員も負の制御機構を解明している(3.2.1(2)④項参照)。

### ③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4 報以内)

- 1) Shimada T.L, Shimada T, Hara-Nishimura I, “A rapid and non-destructive screenable marker, FAST, for identifying transformed seeds of *Arabidopsis thaliana*: TECHNICAL ADVANCE.” , *Plant Journal*, 61, 519-528 (2010)
- 2) Hatsugai N, Iwasaki S, Tamura K, Kondo M, Fuji K., Ogasawara K, Nishimura M, Hara-Nishimura I, “A novel membrane fusion-mediated plant immunity against bacterial pathogens.” , *Genes and Development*, 23, 2496-2506 (2009)
- 3) Ueda H, Yokota E, Kutsuna N, Shimada T, Tamura K, Shimmen T, Hasezawa S, Dolja VV, Hara-Nishimura I, “Myosin-dependent endoplasmic reticulum motility and F-actin organization in plant cells.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 6894-6899 (2010)
- 4) Sugano S.S, Shimada T, Imai Y, Okawa K, Tamai A, Mori M, Hara-Nishimura I, “Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*.” , *Nature*, 463, 241-244 (2010)

### 3.3.5 寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構(原 登志彦)

#### (1) 研究のねらいと研究期間中の達成状況

##### ① 研究のねらい

北方林(北緯 45~70 度に存在する森林)は地球上の全森林面積の約 3 分の 1 を占め、寒冷圏における低温や乾燥のストレスは北方林樹木が受ける光ストレスを増幅させ、北方林における天然の森林再生過程にとって重要である北方林樹木のライフサイクルを制御している。

本研究では、これら生態学的プロセスを生理・生化学的および分子生物学的に解明することをめざした。

##### ② 期間中の研究成果

(i) 森林生態・生理学や気象・水文学などの研究者が協力し、それぞれの専門分野における知見を総合することにより、大気-陸面物理過程と森林植生動態(繁殖、生長・枯死、多様性など)との相互作用を植物生理学、生態学、気象学、水文学的なプロセスを踏まえてメカニスティックに予測・評価する数値モデルを開発した。このモデルにより地球環境変化が北方林などに及ぼす影響を詳しく評価することが可能となった<sup>1)</sup>。

(ii) グルタチオンの合成は葉緑体内で進行しその反応が光合成に伴う ATP 合成に依存していることを示し、さらに合成されたグルタチオンが花成を決定することを世界で初めて示した。日照が十分であるほど花成が早まるという農業上の経験的事実の分子機構を解明した<sup>2)</sup>。

(iii) クロロフィル b 合成酵素(CAO)の N 末端のドメインは、CAO タンパク質の安定性の制御に関わっていることを明らかにした。興味深いことに、この配列は、クロロフィル b が存在するときのみ CAO タンパク質の安定化を制御する。葉緑体にこのようなプロテアーゼを介したフィードバック制御が存在することを初めて示した<sup>3)</sup>。

##### ③ 研究成果に関連した主な成果論文リスト(3 報以内)

- 1) Watanabe T, Yokozawa M, Emori S, Takata K, Sumida A, Hara T, “Developing the multilayered integrated numerical model of surface physics-growing plants interaction, MINoSGI.” , *Global Change Biology*, 10, 963-982 (2004)
- 2) Ogawa K, Hatano-Iwasaki A, Yanagida M, Iwabuchi M, “Level of glutathione is regulated by ATP-dependent ligation of glutamate and cysteine through photosynthesis in Arabidopsis thaliana: Mechanism of strong interaction of light intensity with flowering.” , *Plant & Cell Physiology*, 45, 1-8 (2004)
- 3) Yamasato A, Nagata N, Tanaka R, Tanaka A, “The N-terminal domain of chlorophyllide a oxygenase confers protein instability in response to chlorophyll b accumulation.” , *Plant Cell*, 17, 1585-1597 (2005)

## (2) 本研究領域終了後の継続と発展状況

### ① 科学技術の進歩への貢献

本研究領域期間中の研究課題は、北方樹林が受ける光ストレスが北方樹林のライフサイクルを制御していることを生態学的のみならず、生理生化学的および分子生物学的に解明する事であった。期間中に得られたゲノミクス手法を用いた解析結果は総説としてまとめられ、1) 光合成を行わない冬季に葉を維持すると、光ストレスから葉緑体を防御することにコストを要すること、2) 落葉樹における秋の落葉は、冬季の光ストレスを回避するための適応戦略であること、が指摘されている(日本生態学会誌 57: 89-99 (2007))。期間終了後は分子生物学的な解析の発展は見られない。一方で、生理生化学的検討は継続されており、アカエゾマツの光ストレス防御機構におけるカロチノイド化合物ならびにアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(tAPX)の役割について報告している。また、事後評価結果でその他の特記事項として挙げられていた MINOSGI モデルを用いた解析が継続されている。すなわち、

(i) 耐寒性であるアカエゾマツの初年度と1年経過後の針葉を解析し、初年度針葉では光余剰エネルギーを $\beta$ -カロテンとルテインにより散逸することにより、また1年針葉では迅速に抗酸化機構の誘導することにより、それぞれ光化学系IIを低温下における光ストレスから保護していることを見出した<sup>1)</sup>。

(ii) 徐々に低温に馴らされたアカエゾマツの針葉(馴化針葉)と急激に低温にさらされた針葉(非馴化針葉)を解析し、1) 低温下でゼアキササンチンとルテイン量、およびtAPX活性が増加すること、2) 蓄積されたゼアキササンチンとルテインは、活性酸素が気温の緩やかな低下に応じて形成される前に余剰エネルギーを散逸することで、またtAPXは急激な気温低下時に生じる活性酸素を捕集することで、それぞれ光ストレスから針葉を保護していること、を見出した<sup>2)</sup>。

(iii) 北方落葉広葉樹林におけるエネルギー・炭素循環と森林動態の季節・経年変動をMINOSGIモデル(multilayered integrated numerical model of surface physics-growing plants interaction)を用いてシミュレートした結果、局所気象学および生態生理学的観点から見て、本モデルが将来における森林の動態を予測するのに有効であることがわかった<sup>3)</sup>。

### ② 社会・経済的波及効果

光ストレスと植物生産の関係について本研究領域終了後も研究活動は継続されているが、期間中に得られた成果が大きく展開されるまでにはまだ至っていない。研究領域事後評価用資料(2008年3月4日)では、研究代表者が開拓した分子生態学(生態系長期観察調査結果と分子生物学的アプローチの統合)の発展は北方樹林の適正な保全維持に寄与するものであると記載されている。

③ 上記、継続と発展状況を示す研究成果に関連した主な成果論文リスト(4報以内)

- 1) Jeong-Jin B, Hara T, Choo Y.-S, “Photochemical response in 0-year-old and 1-year-old needles of *Picea glehnii* during cold acclimation and low temperature.” , *Journal of Ecology and Field Biology*, 31, 317-325 (2008)
- 2) Bae J.-J, Choo Y.-S, Ono K, Sumida A, Hara T, “Photoprotective mechanisms in cold-acclimated and nonacclimated needles of *Picea glehnii*.” , *Photosynthetica*, 48, 110-116 (2010)
- 3) Toda M, Takata K, Nishimura N, Yamada M, Miki N, Nakai T, Kodama Y, Uemura S, Watanabe T, Sumida A, Hara T, “Simulating seasonal and inter-annual variations in energy and carbon exchanges and forest dynamics using a process-based atmosphere-vegetation dynamics model.” , *Ecological Research*, 26, 105-121 (2011)

④ その他

本研究領域での共同研究者のうち下記2名が本研究領域終了以降に別のCREST研究の研究代表者となって研究を推進している。

・ 田中歩(北海道低温科学研究所)

CREST 研究領域「二酸化炭素資源化を目指した植物の物質生産力強化と生産物活用のための基盤技術開発」に「葉緑体機能改変によるステイグリーン植物の創出」が採択(2011年)。

・ 小川健一(岡山県生物科学総合研究所植物レドックス制御研究グループ)

CREST 研究領域「二酸化炭素排出抑制に資する革新的技術の創出」に「CO<sub>2</sub>固定の新規促進機構を活用したバイオマテリアルの増産技術開発」が採択(2009年)。

## 第4章 科学技術イノベーションに資する研究成果の状況

### 4.1 研究領域からの研究成果事例

追跡調査時点において、科学技術イノベーション創出に資する展開をしていると思われる事例について、研究代表者にインタビューを行い、基礎研究からの展開について本章でまとめた。

#### 4.1.1 植物の鉄栄養制御(西澤直子)

##### (1) 研究テーマの状況

植物は無機栄養だけで成長するという古典的概念に対して、植物はアミノ酸等の有機物をも栄養として吸収しているという強い思いが植物の鉄栄養制御研究の背景にあった。西澤直子は故・岩手大学名誉教授高城成一博士によって発見された有機物「ムギネ酸」が無機鉄の吸収に関与するという知見と、鉄の栄養学的重要性を勘案し、植物の有機物吸収の観点から鉄栄養制御研究を開始した。

2012年度に実施した追跡調査以後に得られた研究成果を以下に示す。

西澤直子は JST 先端的低炭素化技術開発(ALCA)に採択され(表 2-2)、「不良土壌におけるバイオマス生産拡大を目指す分子育種」という課題で、ダイズやサツマイモ、あるいは飼料用イネ等に鉄欠乏耐性を付与する研究を継続した。また、農研機構 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業に採択され(表 2-2)「食の安全を目指した作物のカドミウム低減の分子機構解明」という課題でファイトレメディエーション用カドミウム高吸収イネを創出していたが(3.2.3.項参照)、さらにイオンビーム照射でカドミウム非含有コシヒカリを作出し<sup>1)</sup>、当該遺伝子の同定に成功した<sup>2),3)</sup>。

また、トウモロコシの葉が黄色い縞模様となる変異体はムギネ酸類分泌トランスポーターが欠損しているために土壌中の鉄を溶かして吸収・利用することができず、そのため鉄欠乏になり葉が黄色い縞模様を呈することを示した<sup>4),5)</sup>。

なお、Nature 誌に世界の食糧増産に向けた作物改良に関する総説が掲載され、西澤直子は世界の先導的な植物学研究者として、12人の執筆者の一人に選ばれた<sup>6)</sup>。

##### (2) 科学技術への波及と展望

西澤直子らの鉄栄養制御研究は、イネ以外の植物へも着実に波及している。ダイズ形質転換系を持つミネソタ大学と共同でダイズにニコチアナミン生合成酵素(NAS)遺伝子やアルカリ耐性三価鉄還元酵素遺伝子を導入し、鉄欠乏耐性ダイズや鉄強化ダイズを作出した(論文準備中)。石川県立大学が持つサツマイモ形質転換系を用いて、鉄欠乏耐性サツマイモの作出にも成功し、隔離温室での試験栽培を実施中である。飼料用イネである「たちすがた」の鉄欠乏耐性化にも成功している(上記 JSTALCA)。

西澤直子は、形質転換系が確立した有用植物であれば「植物の鉄栄養制御」研究で集積した遺伝子を導入することで、鉄欠乏耐性化や鉄含量強化を図ることが可能であり、より広範囲な食糧増産や砂漠緑化研究、および鉄欠乏性貧血症改善研究に発展すると考えている。

西澤直子らにより植物の鉄栄養制御機構はほぼ解明されたが、残された課題は、恒常的に発現している転写因子 IDEF1 および IDEF2 が如何にして鉄欠乏シグナルを認識するかの分子機構を解明することである(3.2.3 図 3-7 参照)。

### (3) 社会経済への波及と展望

鉄栄養制御研究で大きな社会経済への波及効果が期待できるものは①石灰質アルカリ土壌耐性イネ(鉄欠乏耐性イネ)の実用化、②高鉄含有米の実用化、③ファイトレメディエーションへの応用の3点である。

現状を要約すると、遺伝子組換え植物(GMO)に対するパブリックアクセプタンスが未成熟であるため、①と②については実用化に向けた明確な進展は見られない。一方で、③については環境汚染物質であるカドミウムを吸収しないコシヒカリ変異体をイオンビーム照射により取得したことから、カドミウム非含有コシヒカリの実用化が急速に進展している<sup>2)</sup>。

#### ①石灰質アルカリ土壌耐性イネの実用化

西澤直子らは CREST 期間中にオオムギのムギネ酸類生合成系の酵素遺伝子を複数導入した形質転換イネを作出し、隔離圃場試験で形質転換イネが石灰質アルカリ土壌水田で良好に生育し、鉄欠乏耐性であることを証明した。この圃場試験時に強固な GMO 反対運動が起こり、以後種々の啓蒙活動が展開されてきているが未だパブリックアクセプタンスが十分に得られる状況にはなっていない。マーカーフリーあるいはイネ由来遺伝子による組換え体であっても GMO とみなされるため、鉄欠乏耐性イネの実用化に向けた開発は進展していない。

一方で、西澤直子らはバイオ燃料用作物としてのイネ科作物の鉄欠乏耐性化に挑んでいる。鉄欠乏耐性バイオ燃料用作物の実用化は地球規模でのエネルギー問題解決や石灰質アルカリ土壌耕化による砂漠の緑化改善に繋がりその社会的波及効果は大きい。

#### ②高鉄含有米の実用化

西澤直子らは NAS 遺伝子や鉄トランスポーター遺伝子を増強し、精米後の鉄含有量が高いコメの作出に成功したが、GMO に対するパブリックアクセプタンスが得られていないため、実用化研究は進んでいない。しかし、西澤直子はマイクロソフトのビルゲイツが提供する Harvest Plus 基金<sup>7)</sup>(開発国の人々の飢餓や疾病を救済するために、世界の食糧増産に貢献する研究者集団に与えられる基金で、植物栄養学関係では、主として種子中の鉄含量や亜鉛含量やビタミン類などを増加させることを目的としている)を受けており、鉄欠乏性貧血症改善を目的とした高鉄含有米研究の国際的評価は高い。日本国内での進展は乏しいが、海外ではフィリピンで修道女ボランティアによる高鉄含有米の効果試験が実施されている。また、Harvest Plus では実用化に向けて各地域において必要とされるコメの鉄含有量をすでに算出している。

WHO によれば世界人口の約半分が鉄欠乏による貧血症といわれ、特に途上国やコメを主食とする地域では深刻な健康問題となっており、今後海外で高鉄含有米(GMO)に対するパブリックアクセプタンスが広がり、実用化が進む可能性が高い。

なお高鉄含有米については、スイスのグループも作出に成功しているが<sup>8)</sup>、この高鉄含

有米も西澤直子らが発見したNAS 遺伝子(出願人 JST、特許番号 4998809)を使用している。

### ③ファイトレメディエーションへの応用

ファイトレメディエーションの定義とは異なるが、西澤直子らはイタイイタイ病の原因物質であるカドミウム含有量が少ないコシヒカリの作出に成功した。コーデックス委員会が設定した食品中のカドミウム濃度の国際基準値に従い、2011年2月に日本の食品衛生法が改正され、コメの規制値はそれまでの1.0mg/kg未満から0.4mg/kgに引き下げられた。日本国内のコメ生産地の一部では精米中のカドミウム濃度が新規規制値以上となる懸念があり、カドミウム吸収を抑えるために客土による汚染土壌の入れ替えや湛水管理を実施せざるを得ず、経済的にも労働負荷的にも大きな問題となっている。カドミウム非含有コシヒカリはカドミウム集積を決める主要遺伝子(*OsNRAMP5* 遺伝子)に変異が入ることによりタンパク質の機能が欠損しており、土壌中のカドミウム濃度に関わらず、安定的に規制値以下のコメ生産を可能とするものである。

当該遺伝子の変異は、コシヒカリ種子へのイオンビーム照射によって導入されており、GMO 規制を受けない。また、西澤直子らは鉄栄養制御研究で蓄積された知見をベースに当該遺伝子を短時間で同定し、変異遺伝子の配列をもとに遺伝子マーカーを開発した。これにより遺伝子組換え操作に頼ることなく、カドミウムを吸収しない形質を様々なイネ実用品種へ導入することが可能となった。実際、秋田県や富山県の農業試験所ではブランド米への導入試験が実施されている。また、共同研究先の独立行政法人農業環境技術研究所が、このカドミウム非含有コシヒカリを2013年8月に「コシヒカリ環1号」として品種登録出願を終了した。

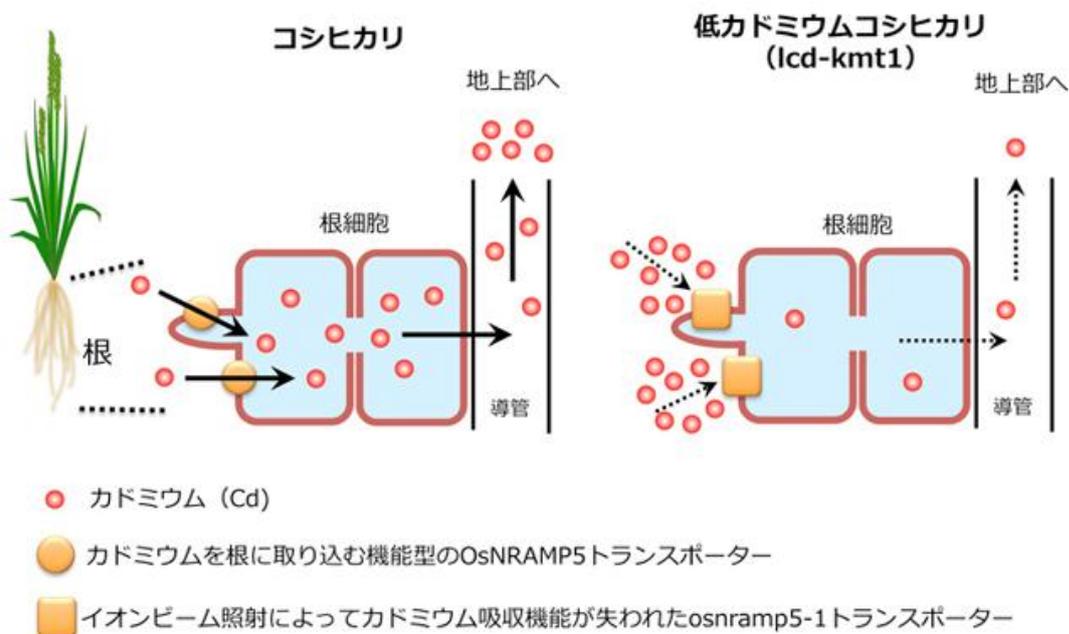


図 4-1 低カドミウムコシヒカリのカドミウム吸収抑制機構<sup>2)</sup>

低カドミウムコシヒカリは *OsNRAMP5* の機能が欠損しているため、根のカドミウム吸収が抑制され、玄米や稲わらへのカドミウム蓄積が少ない。

*OsNRAMP5* 遺伝子変異を持つイネは稲わらのカドミウム濃度も低いため、飼料用の低カドミウム品種の開発にも応用可能である。日本以外の栽培品種への導入により、コメを主食としている世界の国々でのカドミウム接種量低減に寄与し *OsNRAMP5* 遺伝子と似た構造・機能を持つ遺伝子をコメ以外の他の作物で見いだせれば、その作物を低カドミウム化する道も拓ける。

また、西澤直子らはファイトレメディエーションとして、鉄栄養制御機構の解明研究に用いた手法を駆使することで放射性セシウムの吸収・トランスポートに関わる遺伝子の迅速な取得が可能としており、放射性物質による土壤汚染や食品汚染の解決に繋がると考えている。

#### (4) その他

西澤直子は市民公開シンポジウム「農学・食料科学が創る安全・安心な社会」(2012年8月7日開催)で「食料と環境への貢献を目指した作物の創出」をテーマに講演をした<sup>9)</sup>。

第14回植物における鉄栄養と相互作用に関する国際学会(2008年10月19日北京)において東京大学農学生命科学研究科西澤研究室の特任助教である小林高範がポスター賞金賞を受賞した<sup>10)</sup>。

## 4.2 外部有識者コメント

西澤直子らは、鉄欠乏応答発現制御に関わるシスエレメントおよびトランス転写因子、鉄・ニコチアナミンの体内移送に関わるトランスポーター遺伝子、二価鉄吸収に関わるトランスポーター遺伝子、鉄・ムギネ酸吸収に関わるトランスポーター遺伝子、ムギネ酸を根から分泌するトランスポーター遺伝子、ミトコンドリアに鉄を運び込むタンパク質、フェノール性酸を分泌するトランスポーター遺伝子を発見し、イネ科植物の鉄栄養制御の全容をほぼ解明した。これらの業績は鉄栄養制御研究において世界的な評価を得ている。実際、西澤直子は世界の先導的な植物研究者として、Nature 誌の世界の食糧増産に向けた作物改良に関する総説の 12 人の執筆者の一人に選ばれた<sup>6)</sup>。

また、西澤直子らは本 CREST 期間中に既に石灰質アルカリ土壌耐性イネの隔離圃場試験に成功していたが、その後も鉄栄養制御に関わる遺伝子群を増強することで更に高性能なアルカリ土壌耐性イネを作出している。さらに NAS 遺伝子の増強により鉄強化米の作出にも成功しており、実用化の取り組みにおいても着実に成果をあげている。

ただし GMO に対する拒否反応は日本国内のみならず開発途上国を含む全世界で依然として厳しいものがある。フィリピンではビタミン A 強化米(ゴールデンライス)の試験圃場が破壊されたり<sup>11)</sup>、インドでは組換えナス、中国では組換えイネの圃場試験がそれぞれ中断されているのが実情であり、西澤直子らの石灰質アルカリ土壌耐性イネや鉄強化米が実用化されるには、GMO に対するパブリックアクセプタンスの醸成を待たねばならない。

一方、次世代シーケンサーの普及により高等動植物のゲノム情報が迅速に得られることを考えると、西澤直子らが集積してきた鉄栄養制御に関わる遺伝子情報は DNA マーカーによる育種技術の進歩のための基礎データとして重用されることは間違いない。また、近年になり従来の遺伝子組換え技術の範疇に当てはまらない新しい植物育種技術(New plant Breeding Techniques (NBT))が進展している。NBT は基本的には遺伝子の構造あるいは機能を制御する技術だが、収穫物に遺伝子組換え技術に由来する外来の遺伝子や異種タンパク質が残らないことも可能であり、いわゆる GMO の枠に入らない可能性がある。まだ議論の最中であるが、今後、NBT の社会的受容が進み技術開発が進展すると西澤直子らの石灰質アルカリ土壌耐性イネや鉄強化米の実用化がより現実的になると期待される。

## 4.3 まとめ

西澤直子らの鉄栄養制御に関する研究成果は、世界的なエネルギー問題や食糧問題、環境問題の解決のための新しい知的・文化的価値の創造に向けて、バイオ燃料用作物やイネ科植物以外の作物へも展開され始めている。既にその科学技術的成果の一部は迅速な DNA マーカー育種を可能とし、低カドミウムコシヒカリの実用化という経済的、社会的、公共的価値の創造に結び付いている。今後 GMO に対するパブリックアクセプタンスの確立あるいは NBT の伸展により、「植物の鉄栄養制御」研究成果は石灰質アルカリ土壌に耐性な多くの食用作物やバイオ燃料用作物、あるいは鉄強化作物の作出と実用化に繋がる革新性を持つことが窺える。

[引用文献等]

- 1)2012年03月12日、東京大学農学生命科学研究科プレスリリース 「カドミウムをほとんど含まないコシヒカリ、イオンビーム照射で作出に成功」  
<http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/press/120307/press120307.html>
- 2)2012年11月06日、東京大学農学生命科学研究科プレスリリース 「コメのカドミウム汚染をなくす遺伝子を発見」  
<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2012/20121106-1.html>
- 3)Ishikawa S, Ishimaru Y, Igura M, Kuramata M, Abe T, Senoura T, Hase Y, Arao T, Nishizawa N.K, Nakanishi H, “Iron-beam irradiation, gene identification, and marker-assisted breeding in the development of low cadmium rice.” , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 19166-19171 (2012)
- 4)2013年05月09日、東京大学農学生命科学研究科プレスリリース 「土壌中の鉄を利用できないトウモロコシ変異体の原因を解明」  
<http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2013/20130509-3.html>
- 5)Nozoye T, Nakanishi H, Nishizawa N.K, “Characterizing the Crucial Components of iron Homeostasis in the Maize Mutants *ys1* and *ys3*” , *PLOS ONE*, 8, e62567 (2013)
- 6)Schroeder J.I, Delhaize E, Frommer W.B, Guerinot M.L, Harrison M.J, Herrera-Estrella L, Horie T, Kochian L.V, Munns R, Nishizawa N.K, Tsay Y.F, Sanders D, “Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production.” , *Nature*, 497, 60-66 (2013)
- 7)HarvestPlus 基金 <http://www.harvestplus.org/>
- 8)Scientists unveil iron-enriched super-rice  
[http://www.swissinfo.ch/eng/archive/Scientists\\_unveil\\_iron-enriched\\_super-rice.html?cid=656318](http://www.swissinfo.ch/eng/archive/Scientists_unveil_iron-enriched_super-rice.html?cid=656318)
- 9)市民公開シンポジウム「農学・食糧科学が作る安全・安心な社会」  
<http://scjfood2012.bpe.agr.hokudai.ac.jp/wp-content/uploads/2012/08/abstracts.pdf>
- 10)植物鉄栄養研究会 HP <http://www.winep.jp/news/89.html>
- 11)*Science* 134, 699 (2013); Activists Destroy Golden Rice Field Trail