

領域評価用資料 添付資料 (C R E S T タイプ)  
研究領域「植物の機能と制御」

1. 応募件数・採択件数

採択年度	応募件数	面接件数	採択件数
平成 12 年度	8 0	1 2	7
平成 13 年度	5 4	1 0	5
平成 14 年度	4 4	9	5
採択数 計			1 7

2. 主要業績

2-1. 主要成果

2-1-1. 平成12年度採択

研究課題名:植物の重力感知の分子機構

研究代表者:飯田秀利

研究目的:

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。我々は重力センサーの分子的実体と役割を明らかにする目的で、細胞膜に存在するCa<sup>2+</sup>透過性伸展活性陽イオンチャネル(以下、SA チャネルと略記)に着目して研究を行なった。SA チャネルとは、細胞に加わった物理的な力によって細胞膜が伸展したときに開口し、Ca<sup>2+</sup>などの陽イオンを透過させるイオンチャネルのことである。これまで、種々の生理学的研究から重力屈性にはCa<sup>2+</sup>が重要な役割を担っていることが指摘されている。しかし、植物において、そのCa<sup>2+</sup>を透過させるイオンチャネル分子の遺伝子の特定や重力に応答したイオンチャネルの開口機構は明らかされていない。

主要業績:

○我々は世界で初めてそれをコードするシロイヌナズナの遺伝子(AtMID1Aと命名)を特定することに成功した。すなわち、次の4つの実験により、AtMid1Aタンパク質が伸展活性化Ca<sup>2+</sup>チャネルであることを証明した。(1) AtMid1Aを高発現する酵母はCa<sup>2+</sup>を取り込む活性が高い。(2) AtMid1Aを高発現するシロイヌナズナの葉肉細胞は膜の伸展に伴うCa<sup>2+</sup>電流を多く流す。(3) AtMid1Aを発現している動物細胞は、膜の伸展により細胞内Ca<sup>2+</sup>を流入させる。(4) AtMid1Aをもたない変異株では、低浸透圧刺激による細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇が十分ではない。

○また、AtMid1A-GFP融合タンパク質は細胞膜に局在すること、AtMid1Aを高発現する植物は高濃度のCa<sup>2+</sup>を含む培地では生育できず、逆に低濃度Ca<sup>2+</sup>を含む培地では野生株と同様に正常に生育できることなどを明らかにした。

○さらに特筆すべきことに、AtMid1Aをもたない変異株では、柔らかい培地から固い培地に根を侵入させることができないことを発見した。それと相まって、AtMid1A-GUSは根の感覚に重要な根端(特にコルメラ細胞)で発現していた。これらの発見は、AtMid1Aが根の接触感知とその後の応答反応に重要であることを示唆するものである。一方、AtMID1A遺伝子に類似の遺伝子をシロイヌナズナゲノムに見付け、AtMID1Bと名付けてその遺伝子の単離と遺伝子欠損株の樹立を行なった。さらにイネとタバコにも類似遺伝子を見付け、それぞれOsMID1とNtMID1AおよびNtMID1Bと名付け、解析中である。上記の伸展活性化Ca<sup>2+</sup>チャネルの機能をより良く理解する目的で、それと類似の機能をもつ酵母のMid1について構造生物学的な研究を行い、推定上の膜貫通領域の重要性を明

らかにした。また、イネにおいてOsMid1と協調的にはたらくことが予想される推定上の電位依存性Ca<sup>2+</sup>チャネルOsTpc1の単離と解析、およびシロイヌナズナの新規の機械受容陰イオンチャネルを特定することに成功した。

**研究課題名: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**

**研究代表者:経塚淳子**

**研究目的:**

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。生殖成長への移行が決定されると、茎頂分裂組織では花や花序作りのための新たな分化プログラムが開始する。本研究課題では植物が環境の変化を感じ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目的とした。さらに花や花序の形作りを決定する機構において中心的な機能を果たす遺伝子を単離しその機能を明らかにするとともに、得られた知見の産業への応用の可能性を検討した。

**主要業績:**

○花成に関してはFT遺伝子の解析を中心に進めている。FTは花成において中心的な役割を果たす遺伝子であり、花成へのさまざまな信号を統御する。FTの下流で働く遺伝子として見出したFDは転写制御因子をコードしており、花序分裂組織で発現し、花芽分裂組織遺伝子や花序分裂組織遺伝子を標的遺伝子とする。一方、FTは葉で発現する。FTとFDが直接相互作用すること、FTが細胞間を移行することから、葉で作られたFTタンパク質が分裂組織に移動し花成を開始させるという作業仮説を立て、これを証明するための解析を行っている。FTタンパク質の細胞間移行についてはFTと同じグループに属するTFL1タンパク質について詳細な解析を行い、細胞間移行が機能に必須であることを見出し、細胞間移行を決定する20アミノ酸を同定した。さらに、FTの発現を抑制するクロマチン因子、TFL2を見出し、TFL2は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コロマチン遺伝子を抑制していることを示した。

○花序形成に関しては、イネをモデル植物として研究を進めている。これまでに花芽分化運命を決定するFZP遺伝子を単離し解析した。さらに、穂の分枝形成において中心的な機能を果たすLAX遺伝子を単離し、LAXがbHLHドメインを持つ転写調節因子であることを明らかにした。現在、LAXの分子機能を解析中であり、この解析から植物の分枝形成に関する理解を深めることができると期待している。さらに、モデル植物の解析から得られた知見をもとに、ペチュニア、トレニアなどの観賞用園芸植物の分子育種にも取り組んでいる。

**研究課題名:光合成生物の生物時計:その分子機構と環境適応**

**研究代表者:近藤孝男**

**研究目的:**

地球に生息するほとんどすべての生物にとって昼夜の変化は最も重要な環境変動であろう。生命はこの変動に単に従属して生活するのではなく、環境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。概日時計の存在は、恒常条件下でも約24時間周期で生理活性が変動する概日(サークルディアン)リズムとして、単細胞生物から高等動植物に至るまで普遍的に確認

されている。我々はこの概日時計の分子機構およびその生理機能を解明することを目標とし最も分子レベルでの解析に適したシアノバクテリアで解析を行ってきた。

#### 主要業績:

- 概日時計の中心であるKaiC蛋白質がゲノム全体にわたって遺伝子発現を制御していることを発見し、さら大腸菌のプロモーターでkai遺伝子を発現させ、概日リズムの再構成に成功した。
- 一方、Kai蛋白質は夜間に大きな複合体を形成し、KaiCのリン酸化に顕著なリズムがあることを見いたした。またKaiAはKaiCのリン酸化を促進し、KaiBは脱リン酸化を促進することを確認し、24時間周期の間で3つのKai蛋白質がリン酸化サイクルを共同して起こしていることを示し、最近このKaiCのリン酸化部位も特定した。さらに特記すべきことは、最近、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、生物時計の原因是 KaiCのリン酸化サイクルであることを示すものである。この発見はシアノバクテリアのみでなく概日時計の本質を理解する点で極めてインパクトの大きなものである
- なおこのプロジェクトでは明確な光周性反応をウキクサを使って花芽誘導の為の日長測定機構の解明も試みた。すでにパーティクルガン法による遺伝子導入で、生物発光による遺伝子発現のリアルタイムモニターを可能としたので、今後様々な解析が可能となった。

**研究課題名: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**

**研究代表者:斎藤和季**

**研究概目的:**

本研究では、急速にゲノム解析が進んでいるシロイス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やプロテオミクス、メタボロミクスなどのポストゲノム科学を基盤とした炭素・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を目的とした。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対一対応させるメタボロミクス研究に重点をおき、代謝の分子ネットワーク解明を目指した。これらの研究によって、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。

#### 主要業績:

- 硫黄欠乏、窒素欠乏に対してのグローバルな応答とグルコシノレートなどの特異代謝系の応答を示すことが出来た。硫黄同化系に関する個別遺伝子については、シロイスナズナの硫酸イオントランスポーター遺伝子、セリンアセチル転移酵素遺伝子の機能解析を進めた。これらの変異体や過剰発現体のトランスクリプトーム、メタボローム解析によって遺伝子-代謝産物ネットワークの理解を進めた。
- 窒素同化代謝については、イネのインプレッドラインを用いて量的形質を決定している遺伝子座(QTL)の解析を進め、重要なQTLをマップするとともに、QTL領域から原因遺伝子の単離を目指し、第2染色体QTL領域の高密度マッピングを進めると同時にQTL領域を含む染色体置換系統を作出し、約40cMから約1.8cMまでこの領域を狭めることに成功した。また、サイトゾル型グルタミン合成酵素遺伝子欠損株の解析を進めた。
- リン酸代謝については、液胞膜リン酸輸送系同定のために進めていた液胞膜プロテオーム解析

を終え、163のタンパク質と多数の膜貫通タンパク質の同定に成功した。また、イノシトールリン酸化合物の代謝過程の解析を進めるために、複数の関連酵素のシロイヌナズナノックアウト株を作成した。さらにイオンクロマトグラムに電気化学検出法とチタニアカラムを組み合わせることで、糖リン酸の網羅的分析法を開発し、シロイヌナズナの糖リン酸分布の解析を進めた。また、遺伝子破壊株をもちいてイネの糖代謝に関する3種類のヘキソキナーゼ遺伝子の機能解析を進めた。また、タンパク質の大量蓄積系を制御する遺伝子(群)を同定するとともに、植物細胞に任意のタンパク質を大量蓄積させる方法論の開発をめざして研究を進めた。さらに、小胞体由来の特異的なタンパク輸送小胞を失った突然変異株の解析とペルオキソソームタンパク質輸送因子の網羅的in vivo機能解析を行った。

**研究課題名:オオムギゲノム機能の開発と制御**

**研究代表者:武田和義**

**研究目的:**

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。本プロジェクトでは「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た。研究代表者の所属する大麦・野生植物資源研究センターでは野生種や貴重な突然変異系統を含む1万以上のオオムギ品種を保有し、オオムギ遺伝研究の世界的な拠点の一つとして系統進化、遺伝解析などに成果を挙げている。研究の実施に当たっては以下の内容でオオムギのゲノム解析に必要となる大規模な実験系の開発を進めた。

**主要業績:**

- 遺伝子のカタログ化をするためのcDNA解析と遺伝子のマップおよび発現解析手法の開発においては、独自に開発した現在14万の遺伝子断片配列および国際コンソーシアムによって作製された配列をもとにカタログ化を進めており、イネゲノム、コムギESTとの比較ゲノム情報を含めた遺伝子配列情報を検索するためのデータベースを開発・公開した。
- また、オオムギEST配列の中で数千の一塩基多型を検出した。約1万個の非冗長的な配列を有するcDNAからプライマーを合成して約二千マーカーからなるESTマップを作成し、マップ上に数十種の有用形質を同定した。
- さらに、このマップに基づいて有用形質をゲノム全体で選抜するために、cDNAの発現およびSNPを検出するDNAアレイシステムを用いた遺伝子型選抜システムを開発している。
- また、米国を中心とする国際コンソーシアムで約2万3千個の遺伝子が検出可能なDNAオリゴアレイシステムを共同開発した。
- 独自に開発したゲノムライブラリーと遺伝子の選抜技術が完成し、高密度遺伝地図作製技術およびアグロバクテリウムを用いた形質転換技術と合わせて、いくつかの重要な遺伝子について精力的に強連鎖マーカーの検出および単離を進めている。
- 不良土壤環境に適応するためのストレス耐性に関する機能推定、産業利用上重要な醸造品質のタンパク質量分析技術を用いた遺伝子同定も進めている。

**研究課題名:デンプンメタボリックエンジニアリングの開発**

**研究代表者:中村保典**

**研究目的:**

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するために、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。

**主要業績 :**

○イネ胚乳を用いた本研究では、イネの突然変異体を単離・解析することによって、デンプンの主成分であるアミロペクチンの構造へ最も影響力を及ぼす酵素の機能や、アミロペクチン構造とデンプン物性との関連を解明することに成功した。この結果を踏まえ、2002年にアミロペクチン合成に関する新モデルを公表した。これは各アイソザイムの機能を付与した最初のモデルで、世界から広く反響が寄せられ、多くの文献に引用されている。また、本チームが使用しているジャポニカ型イネ組換え体は、デンプン合成システムの解析材料としても、新規デンプン素材を生産する生物材料としても、他の植物に比べすぐれていることを明らかにした。

○次にSSIIa遺伝子、BEIIb遺伝子、ISA1遺伝子が欠損したイネ変異体に、それぞれイネや他種の遺伝子を導入した組換え体を作成し、発現レベルを制御することによって、異なる構造と性質を有する新規デンプンを合成することに成功した。各遺伝子の制御によって生産されるデンプンの構造や物性はユニークなものであり、SSIIa遺伝子制御によって日印コメデンプンの制御、BEIIb遺伝子によって糊化特性の大幅な制御、ISA1遺伝子によってデンプン結晶性の制御が広範囲で可能になった。これらの成果は、テーラーメイドデンプンの作成への道を開くものであり、他植物ではまだこれほど体系的に作成し、成功した例は報告されていない。

**研究課題名: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****研究代表者:村田 稔****研究目的:**

植物染色体の機能要素のうち最も重要な“セントロメア(動原体)”について、その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”的機能がどのように制御されているかを解明する。さらに、これらの研究成果をもとに“人工染色体”的構築を目指した。

**主要業績 :**

○これまで、シロイヌナズナ、コムギおよびトレニアからセントロメアに局在するDNA反復配列を単離し、その一次構造を明らかにした。

○また、シロイヌナズナにおいては、ミニ染色体を発見、または創出し、それらのセントロメア構造を解析した。

○さらに、このミニ染色体にマーカー遺伝子を導入することに成功し、ミニ染色体4Sを1対余分にもつ系統を育成した。

○これら研究の過程で、外来のマーカー遺伝子をセントロメア領域に挿入し、強制的に発現させると、セントロメア領域のクロマチン構造が変化し、“分配”機能が不全となることがわかった。その結果、挿入されたセントロメア領域に起源する新たなミニ染色体が複数創出されたことから、この方法を発展させることにより、今後、人工染色体の基礎材料となるミニ染色体を数多く、容易に創出できる道が開けた。

○この方法で得られた第2染色体短腕由来のミニ染色体2S-Dは、環状染色体ながら、2 Mbのサイ

ズで、これまで知られている植物染色体のうちで最も小さい。この系統の後代では、サイズの異なる環状または直鎖状の染色体が現れると考えられ、1Mb以下のミニ染色体系統の創出が可能となった。

○さらに、シロイヌナズナやコムギのセントロメアに局在する特異的タンパク質を数種特定し、それらに対して抗体を作製することにも成功した。これらの抗体を用いた間接免疫法から、ミニ染色体上のセントロメアの機能活性の有無を決定できるようになったため、人工染色体の創出とその機能を解析するすべてのツールが揃ったことになる。

## 2-1-2. 平成13年度採択

**研究課題名:**植物発生における細胞間シグナリング

**研究代表者:**岡田 清孝

**研究目的:**

植物の成長や形態を調節し、必要に応じて改変する方法を確保しておくことを目的として、植物器官形成における細胞分化に関わる細胞間のシグナル伝達機構と雄性と雌性の配偶体の形成と相互認識における細胞間のシグナル伝達機構について、分子生物学、分子遺伝学、生化学、および細胞学的な解析をおこなった。

具体的には、(a)葉の表(向軸側)と裏(背軸側)の区別や左右の対称性など側生器官の基本的な構造を決定する細胞間シグナル機構について制御遺伝子を同定し、その働きをあきらかにすること (b) 器官の形成にともなう細胞の分化過程を制御する細胞間シグナル機構について制御遺伝子を同定し、その働きをあきらかにすること(c)受精における雌雄配偶体の間のシグナルを同定し機能を調べる実験系を開発することの3つとした。平成16年度からは、分子遺伝学および分子生物学を中心とした研究に加えて、新たに生化学およびシステム生物学の手法を新たに導入して、新規な研究分野を立ち上げることとし、(d) 茎頂分裂組織におけるペプチドリガンドの網羅的解析と(e) 植物体内外における物質移動の様相を観察するバイオイメージング系の開発を開始した。

**主要業績 :**

○植物器官の形成と成長に関わる細胞間シグナルについて解析するために、十数種の突然変異体を単離し、変異形質の解析・変異遺伝子のクローニング・発現パターンの解析・遺伝子機能の解析をおこなった。葉など側生器官の裏と表の領域化を支配する遺伝子群については、発現のパターンを詳細に解析し、発生の初期段階では表皮領域と裏側領域が周縁部で重複していること、ついで重複領域において周辺部組織の形成に必要な遺伝子が発現すること、を見いたした。さらに、領域特異的な遺伝子発現に必要なプロモーター領域を同定した。

○茎頂の分裂組織の維持や気孔の形成、および表皮細胞の分化にリガンド-レセプターの系が関わっていることをあきらかにし、関与するレセプター型タンパク質キナーゼを同定した。

○受精時の配偶体の相互認識における細胞間のシグナル伝達機構について解析するために、トレニアを用いて顕微鏡下で花粉管が胚珠に向かって花粉管を伸ばし、受精するin vitro実験系を確立した。この系を用いて、胚珠の中にある助細胞から花粉管をガイドする物質が分泌されること、花粉管が胚珠からのガイド分子に反応するためには、雌しべの組織を通過し、そこで「教育」される必要があることを見いたし、ガイド分子の同定を進めている。

**研究課題名:植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構**

**研究代表者:高林 純示**

**研究目的:**

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。この現象は植物の「誘導的間接防衛戦略」と位置づけられている。例えば、①リママメハダニ類(害虫)一ハダニ補食性天敵(チリカブリダニ、ケナガカブリダニ、補食性アザミウマ、補食性ハネカクシ等)三者系、②アブラナ科植物一アブラナ科スペシャリスト害虫(コナガ幼虫及びモンシロチョウ幼虫)一各害虫に特異的な寄生蜂(コナガコマユバチおよびアオムシコマユバチ)三者系、③イネ科植物一アワヨトウ幼虫一寄生蜂(カリヤコマユバチ)三者系などの三者間の相互作用では、複数の揮発性テルペノイド等が食害誘導的に植物から放出され、それが天敵誘引において重要な役割を果たしていることが明らかにされている。さらに植物は、食害している害虫の種によって異なったブレンドの揮発性テルペノイドを放出する。その結果、害虫種に特異的な天敵誘引を実現していることが明らかにされている。本研究はそれら現象を、①植物の害虫誘導性の間接防衛機能および②植物の誘導防衛に関わるコミュニケーションの分子メカニズムの観点から解明を試みた。

**主要業績:**

○「植物の害虫誘導性の間接防衛機能の解明」ならびに「被害植物が生産するエリシターの解明」に関しては、ハダニ由来の微生物が上記防衛の誘導に関与していることを見いたしました。間接防衛の制御機構に関与するシグナル伝達系、テルペノイド合成酵素誘導に関する知見を得た。また、植物ホルモンの一つであるABAが植物由来のエリシターとして機能することが示唆された。

○「植物間コミュニケーションの分子機構の解明」ならびに「植物の匂い応答関連遺伝子探索」では、シロイヌナズナ変異体を用いた受容体の解明と匂い応答遺伝子の解明を行い、植物間コミュニケーションの分子基盤に関する多くの新規知見を得た。また、カイコ蛾の性フェロモン受容体遺伝子を同定した。

**研究課題名:植物の鉄栄養制御**

**研究代表者:西澤 直子**

**研究目的:**

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た。同時に、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目指した。第二に、世界に37億人と推定される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。最終的に消費者の懸念を払拭するためにマーカー遺伝子を除去した、安心感のある形質転換作物を作出するために、マーカー遺伝子を除去できるベクターの構築を目指した。

**主要業績:**

○オオムギの鉄欠乏に応答する制御系の解明の一端として、鉄欠乏誘導性のハイ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。これにより、鉄欠乏を感じ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。鉄に限らず、微量必

須元素欠乏応答性のシスエレメントの同定としても初めての例であり、他国の研究グループに先がけたブレークスルーとなった。

○ 鉄の長距離輸送と種子中への蓄積に関する「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。またニコチアナミンがすべての高等植物において金属イオンの体内輸送に必須の物質であることを明らかにした。これによりイネ種子中のミネラル成分含有量の制御が可能となった。

○ 「新規大容量イネ用マーカーフリーベクター」の開発に成功し、形質転換植物からマーカー遺伝子を除去することを可能にした。

#### 研究課題名:植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用

研究代表者:森川 弘道

研究目的:

植物に吸収された窒素酸化物や硝酸由来の全窒素の約3割が、未解明の窒素代謝物(UN化合物)に変換されることを発見したことから、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、新規窒素代謝経路の提案を目指した。

主要業績 :

○これまでに、二酸化窒素を与えたシロイヌナズナの抽出液中のUN化合物画分をクロマトグラフィーで分画後、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>HCOSY、MASSなどで構造解析を試み、この植物葉に含まれるUN化合物のおおよそ50%の構造が決定された。その一つは、 $\Delta$ 2-1,2,3-チアジアゾリン化合物であった。本化合物は全く未知の新規化合物であることが分かった。今後、生理作用、薬理作用などの解明が待たれる。

○さらに、compound Bおよび4-nitro- $\beta$ -caroteneの構造が決定された。また、NO<sub>2</sub>暴露した植物ではタンパク質のニトロ化が生じることを見出した。これらUN化合物の存在は、従来知られていない新しい窒素代謝経路が植物細胞に存在することを強く示唆するものである。

○これまでに解明されたUN 化合物の構造に鑑み、UN 化合物は、食品(飼料)の安全性(safety)、品質(quality)、味(taste)に関する未知物質である可能性が高い。また、環境汚染(pollution)との関連も充分考えられる。

#### 研究課題名: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

研究代表者:若狭 晓

研究目的:

代謝系の遺伝子操作、いわゆる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目標の一つである。本チームではメタボリックエンジニアリングの可能性を実現するために、栄養価を改善した飼料作物の開発と二次代謝化合物産生への影響、また二次代謝を制御するためのネットワーク解析まで幅広い課題に取り組んだ。

主要業績 :

○アントラニル酸合成酵素(AS)はトリプトファン生合成系の鍵酵素である。AS  $\alpha$  サブユニットのアミノ酸を置換し、トリプトファンによるフィードバック阻害を受けにくくした改変型酵素のイネ遺伝子(OASA1D)をイネ、バレイショ、ダイズ、シロイヌナズナに導入し、種子、植物体で高濃度にトリプトフ

アンが蓄積することを確認した。

○トリプトファンを蓄積する穀類は飼料として重要であるため、イネについてトリプトファン蓄積の安定性と環境に対する安全性評価試験を3年間に渡って行い、トリプトファン蓄積の安定性と、農業形質への影響を評価した。その結果、親品種と異なる特性がいくつか認められたものの、1系統では親品種に匹敵する農業特性を持つことを確認し、この改変遺伝子の実用的な利用価値を示すことができた。

○このイネの芳香族化合物の代謝プロファイリングの結果、トリプトファン以外に大きく変動している化合物は認められなかったが、微量成分である植物ホルモンIAAが種子で2倍に増加していた。また、この遺伝子を導入した細胞はそのアナログである5-メチルトリプトファン(5MT)に耐性を示すことを利用して形質転換体の選抜マーカーとして利用できることを示した。

○代謝系の効率的な制御には酵素の改変が重要であることから、無細胞蛋白質合成システムを利用した改変酵素の作製とそのスクリーニング方法を開発した。その結果、イネAS $\alpha$ サブユニット遺伝子OASA2を用いて、酵素活性が高くフィードバック阻害に感受性が低下した新たな改変酵素を作製できた。

○新たな代謝ネットワークの解明のために、イネとシロイヌナズナで5MT抵抗性突然変異体の探索と解析を行なった。その結果、フェニルアラニンとトリプトファン、さらにフェニルプロパノイド生産性の高いイネ変異体の特性と原因遺伝子を明らかにした。また、シロイヌナズナの変異体は正常な形態を示しながらインドールグルコシノレートが高濃度に蓄積することを明らかにした。これらの変異遺伝子の作用はこれまで知られておらず、今後、有用な二次代謝産物生産技術開発に利用できる。

## 2-1-3. 平成14年度採択

研究課題名:タバコモザイクウイルスの増殖機構

研究代表者:石川 雅之

研究目的:

ウイルスは、ウイルスゲノムにコードされた因子のみならず細胞内の既存の分子にも依存して増殖する。従って、ウイルスの増殖機構を解明し、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目的とした。

主要業績:

○TMVの複製タンパク質翻訳から複製複合体形成に至る分子機構の解析では、本研究全体の基礎となる実験系として、タバコBY-2細胞由来脱液胞化プロトプラスト抽出液(BYL)を用いた試験管内TMV RNA翻訳・複製系を完成させた。この系を用いて、超遠心で生体膜を除去したBYL(membrane-depleted BYL: mdBYL)でTMV RNAを翻訳すると130K, 180K 複製タンパク質とTMV RNAを含む複合体(pre-membrane-targeting complex: PMTC)が形成された。精製したPMTCを生体膜(P30 BYL)と混合すると、相補鎖RNAが合成され、複製が観察された。このことから、複製複合体がPMTCを経て形成されることが明らかになった。

○さらに、PMTCの形成がTMV RNAの翻訳と共に役しており、一旦フリーになった複製タンパク質は

PMTCを形成できること;翻訳と共に130Kタンパク質がTMV RNAと結合して複合体(core PMTC)を形成すれば、その後フリーの180Kタンパク質がエントリーしてPMTCを形成しうることを明らかにした。

○TMV複製複合体の構成要素の同定と各因子の機能解析では、膜画分をLPCで可溶化し、180Kタンパク質を精製し、NtTOM1, NtTOM2A, 翻訳伸長因子eEF1A, 热ショックタンパク質HSP70および新規宿主因子(低分子量GTP結合タンパク質)を含む複数の宿主因子と130Kタンパク質を共精製した。

○複製タンパク質がRNA合成能を獲得するためには、翻訳後、PMTCの形成、膜および複数の宿主タンパク質との逐次的な結合という複数のステップを踏んで、複製複合体中の複製タンパク質にみられるコンフォメーションに至る必要があることを示唆した。

○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析では、TMVの130Kタンパク質はDicer様活性を阻害することなくsiRNAの蓄積を遅延させ、RISC形成を強く抑制することを明らかにした。

○タバコBY-2培養細胞におけるTMV誘導感染系の構築と利用では、人為的にTMV感染を誘導する方法を確立し、感染誘導細胞から複製複合体を大量に調製する方法を開発した。また、この系がタンパク質の大量発現系としても有効である可能性を示した。

#### 研究課題名:共生ネットワークの分子基盤

研究代表者:川口正代司

研究目的:

日本に自生するマメ科のモデル植物ミヤコグサ*Lotus japonicus*を用い、植物と菌根菌の共生に関す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してきた植物側遺伝子、そして両者をつなぐCommon Signaling Pathwayの遺伝子を明らかにすることを目的とした。

主要業績 :

○植物とアーバスキュラー菌根菌の共生シグナル物質として、Branching factor (BF)、5-デオキシストリゴール、の単離・同定に成功した。

○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 に関する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。それらはNod Factorと協働してカルシウムスパイキングを起動させ、それによるイオンの流出が感染の初期過程に重要な役割を果たしていることも明らかにした。

○また、ミヤコグサのゲノム情報から33種のCLE遺伝子を検出し、その発現と菌感染との関係から根粒菌の共生をシステム的に制御する因子(LjCLE1, LjCLE2)の特定に成功した。

○根粒過剰着生変異体は、根粒着生の制御が破綻した変異体であること、さらにその原因遺伝子がシロイヌナズナの茎頂分裂組織のサイズを制御するCLAVATA1(以下、CLV1)と最も高い相同性を示す受容体型キナーゼであることを明らかにした。

#### 研究課題名:植物特異的な転写因子機能ネットワーク

研究代表者:高木 優

研究目的:

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が本プロジェクトの目的である。また、応用的展開を見据えた木本植物における転写因子の操作についても研究を進めた。

主要業績:

- シロイヌナズナゲノムに存在すると考えられている2,000個転写因子の内、1800個のcDNAを入手・単離した。
- 独自に開発したキメラリプレッサー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、従来技術では解析できなかったNAC, TCP, SPL, ERF, WRKYなどの転写因子ファミリーの機能を解明した。
- つまり、NAC familyは、形態形成からストレス応答まで多様な機能を担う転写因子であることを明らかにした。特に、NAC Secondary wall Thickening promoting factor (NST)と名付けたNST1, NST2, NST3転写因子は、植物の二次木部の形成を制御するマスター因子であることを見出した。また、この転写因子を操作することにより、木質の糖化率を飛躍的に高めることができることを見出した。
- TCP familyについての機能解析でも、これに属する24個の遺伝子うち、メリistemではエクタピックな発現をして、CUC 転写因子をネガティブに制御し、植物が正常な形態を保つために必要なパターニングを制御している因子であることを発見した。
- シロイヌナズナの転写因子2,000個とキメラリプレッサーとのキメラ遺伝子導入転換体を1,500種作製した。今後ストレス耐性・有用物質生産に有効な遺伝子のスクリーニング用に利用できる。
- イネの転写因子OsPIF1の機能解析から、この因子が乾燥耐性に関っていることを示した。
- シロイヌナズナ転写因子のマイクロアレイ化をすることでターゲット遺伝子の解明につなげる新しいツールを開発した。

研究課題名:種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種

研究代表者:西村 いくこ

研究目的:

植物の特性を理解し、それを十分に生かして量的向上と質的向上の両面から種子の高付加価値化を達成するための基盤作りの一環としての研究を行った。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目指した。一方、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目標とした。

主要業績:

- 量的向上を目指した研究において、貯蔵蛋白質の細胞内輸送に関する輸送小胞(PAC小胞と命名)のプロテオームから得られた因子についてin vitroとin vivoの機能解析を行った結果、この因子が、登熟期の種子細胞内の中胞体で合成された貯蔵タンパク質の前駆体を正しくタンパク質蓄積型液胞へ選別して輸送させるためのレセプターであることが判明し、AtVSR (Vacuolar Sorting Receptor of *Arabidopsis thaliana*)と命名した。

○貯蔵タンパク質の大量輸送系に関わる分子を網羅的に単離する目的で、2つの正(順)分子遺伝学的アプローチを開発した。一つはタンパク質の輸送が異常になり、最終的な集積部位である液胞へ到達できない変異体を作出し、maigo (mag) 変異体と命名した。さらに、液胞選別輸送レセプター欠損変異体の種子に液胞型緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現させると、種子が光る変異体は green-fluorescent-seed (gfs)と命名した。

○それぞれの変異体の原因遺伝子の単離と機能解析を行った結果、GFS1は液胞選別輸送レセプターVSR1と一致した。このレセプターのリサイクルに関わるレトロマーの構成因子として、MAG1を同定した。

○質的向上を目指した研究において、シロイヌナズナは4種類のVPEのホモログを持つが、これらの遺伝子の1重、2重、3重遺伝子破壊株を作製し、この内3種類のVPE遺伝子を破壊すると、種子タンパク質の成熟化が完全に阻害されることを明らかにした。

○一方、VPEの酵素科学的解析から、VPEが、動物のプログラム細胞死(アポトーシス)の実行因子として知られるcaspaseの活性を持つことを明らかにした。

#### 研究課題名:寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構

研究代表者:原 登志彦

研究目的:

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、植物組織中に有害な活性酸素を生じさせる。この光ストレスが、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、つまり、(1)「生り年」による多量の種子の生産、(2)それらの種子から芽生えた幼木の生存戦略(生存か枯死か)、(3)フェノロジー(生物季節)の多様性(落葉樹と常緑樹の共存)を制御していると想定し、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目指した。

主要業績 :

○開花(生り年)に関わる光ストレス関連の主要因子としてリノレン酸を特定した。膜脂質のリノレン酸量はシロイヌナズナの花成指標(開花時のロゼット葉数)と高い負の相関を示し、リノレン酸はシロイヌナズナにおける花成の抑制因子であることを明らかにした。

○DNAマイクロアレイ解析によりリノレン酸量により制御される遺伝子群を探索し、シロイヌナズナの花成の抑制制御で中心的な役割を担うFLC (Flowering Locus C)遺伝子、LFY(LEAFY)遺伝子を特定した。

○FLC遺伝子のdown-regulation解析から、グルタチオンの前駆体が過剰に蓄積し、花成が遅延することを見出した。葉緑体がグルタチオン合成の主要な細胞内小器官であることも明らかにした。

○針葉樹(グイマツ、カラマツ、アカエゾマツ、トドマツ)における膜脂質のリノレン酸量と花成の決定時期との関係につき検討した結果、LGY1遺伝子がグイマツの花芽の決定に関与することを明らかにした。

○生存戦略については、特に冬季凍結温度下での光エネルギーの散逸機構解明が中核となる。すなわち、どのようにして吸収した光を熱として散逸するかである。この機構なしには、寒冷圏では常緑樹は生存できない。○冬季には、まず、葉緑体が集合し光合成活性を抑制し、休眠状態にしている。この葉緑体の集合は、捕捉する光の量を減らす役割も担っていることを明らかにした。

○光化学系に捕捉された光エネルギーは、集光装置の中で、多くは熱エネルギーに変換される。この熱エネルギー変換機構によって、反応中心まで届くエネルギーを1/10程度まで減少させていく。さらに、反応中心まで届いたエネルギーはP680を励起し、Pheに電子を渡すが、この電子が再びP680に戻ることによって、エネルギーを消費している。すなわち、P680とPhe間でエネルギーを消費しながら、電子を空回りさせている。このように、様々な機構によって、2重3重に光エネルギーを散逸する機構が発達し、冬季凍結温度下でも、光合成装置を守っていることを明らかにした。

○またクロロフィル代謝系が強光ストレスによって傷害(光傷害)を受けることを見出した。植物の細胞死に関わる光ストレス関連の重要な物質としてフェオフォルビドaオキシゲナーゼ(PAO)を同定した。

○生物多様性については、落葉樹と常緑樹の光ストレス防御応答の季節変化を、常緑針葉樹のアカエゾマツ、トドマツ、落葉針葉樹のグイマツ、カラマツ、落葉広葉樹のミズナラ、ハウチワカエデ、シラカンバの7樹種を用いて検討した結果、early light-induced proteins (ELIP)をコードする遺伝子群が関与することを見出した。ELIPはゼアキサンチン結合タンパク質として吸収した光エネルギーを熱として放出する非光化学的消光(NPQ)を通じて、冬の光ストレスを回避することが明らかとなった。

## 2-2 外部発表数及び特許出願件数

採択年度	研究代表者	論文投稿		招待：口頭ポスター発表		報道	外部発表計	特許出願件数
		国内	国際	国内	国際			
平成 12 年度	飯田 秀利	1	15	54	3	0	73	2
	経塚 淳子	7	42	116	33	0	247	9
	近藤 孝男	13	24	45	28	13	78	6
	斎藤 和季	52	221	405		10	688	13
	武田 和義	7	89	139	59	14	308	58
	中村 保典	12	38	95	8	7	160	24
	村田 稔	6	26	85	22	2	141	11
平成 13 年度	岡田 清孝	39	73	218	87	9	426	6
	高林 純示	15	27	54	29	22	147	4
	西澤 直子	15	91	112	80	6	304	11
	森川 弘道	24	34	144	21	2	108	16
	若狭 晓	2	17	59	16	1	95	11
平成 14 年度	石川 雅之	0	18	38	16	4	76	15
	川口 正代司	0	36	151	42	23	252	2
	高木 優	22	61	143	138	24	388	32
	西村 いくこ	0	39	86	69	15	209	4
	原 登志彦	2	74	163	74	10	323	11
合 計		215	851	2595		162	4023	235

## 2-3 代表的な発表論文

### ○平成 12 年度採択

研究課題：植物の重力感知の分子機構

研究代表者：飯田秀利

(1) Tada, T., Ohmori, M., and Iida, H.

Molecular dissection of the hydrophobic segments H3 and H4 of the yeast  $\text{Ca}^{2+}$  channel component Mid1.

*J. Biol. Chem.* 278, 9647-9654 (2003).

我々がAtMid1AとAtMid1Bと名付けたシロイヌナズナの伸展活性化カルシウムチャネルに類似している出芽酵母のMid1について構造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。

(2) Hashimoto, K., Saito, M., Matsuoka, H., Iida, K., and Iida, H.

Functional analysis of a rice putative voltage-dependent  $\text{Ca}^{2+}$  channel, *OsTPC1*, expressed in yeast cells lacking its homologous gene *CCH1*.

*Plant Cell Physiol.* 45, 496-500 (2004)

我々はシロイヌナズナの*AtMID1A*と*AtMID1B*遺伝子に類似の遺伝子をイネにおいても発見し、*OsMID1*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ネルであることが予想され、その機能を解析中である。その解析の一環として、*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的および生化学的に解析する道が開かれた。

(3) Qi, Z., Kishigami, A., Nakagawa, Y., Iida, H., and Sokabe, M.

A mechanosensitive anion channel in *Arabidopsis thaliana* mesophyll cells.

*Plant Cell Physiol.* 45, 1704-1708 (2004)

植物が発生や形態形成を行なうとき、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ネル (別名機械受容チャネル) であると予想されてきた。今回我々はそのチャネルの一種である機械受容陰イオンチャネルをシロイヌナズナの葉肉細胞に発見した。このチャ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はたらくものと予想される。したがって、植物の形作りにこの機械受容陰イオンチャネルは関与しているものと考えられる。

### 研究課題：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

研究代表者：経塚淳子

(1) eisuke Komatsu, Masahiko Maekawa, Shin Ujiie, Yuzuki Satake, Hironobu

Okamoto, Ikuyo Furutani, Ko Shimamoto and Junko Kyozuka

*LAX* and *SPA* – major regulators of shoot branching in rice.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 11765-11770 (2003)

*LAX*はイネの分枝形成に必須の遺伝子である。*LAX*はbHLHドメインを持つ転写調節因子をコードしており、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。

(2) Mai Komatsu, Atsushi Chujo, Ko Shimamoto and Junko Kyozuka

*FRIZZY PANICLE* is required to prevent the formation of axillary meristems and to establish floral meristem identity in rice spikelets.

*Development* 130: 3841-3850 (2003)

*fzp*変異体では花芽が形成されず分枝が繰り返される。*FZP*遺伝子を単離し、*FZP*が植物に特

異的な転写促進因子であることを明らかにした。発現パターンの解析から、FZPは腋芽形成を抑制することによりイネの花芽分化を引き起こすという可能性が示唆された。

(3) Takada, S., and 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)

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ロクロマチン遺伝子を抑制していることを示した。

**研究課題 光合成生物の生物時計：その分子機構と環境適応**

**研究代表者 近藤孝男**

(1) Kitayama Y., H. Iwasaki, T. Nishiwaki and T. Kondo.

KaiB functions as an attenuator of KaiC phosphorylation in the cyanobacterial circadian clock system.

*EMBO J* 22: 2127-2134, (2003)

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が明らかにした。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。

(2) Nakahira Y, Katayama M, Miyashita H, Kutsuna S, Hideo Iwasaki H, Oyama T, Kondo T.

Global gene repression by KaiC as a master process of prokaryotic circadian system.

*Proc. Natl. Acad. Sci.* (2004) 101:881-5.

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。

(3) Tomita, J, Nakajima M, Kondo T and Iwasaki H.

No transcription-translation feedback in circadian rhythm of KaiC phosphorylation. *Science* in press (2004)

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。

**研究課題：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**

**研究代表者：斎藤和季**

(1) Patrik Jones, Tomofumi Manabe, Motoko Awazuhara and Kazuki Saito

A new member of plant CS-lyases - A cystine lyase from *Arabidopsis thaliana*.

*J. Biol. Chem.*, 278: 10291-10296 (2003)

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。

- (2) Masami Yokota Hirai, Mitsuru Yano, Dayan B. Goodenowe, Shigehiko Kanaya, Tomoko Kimura, Motoko Awazuhara, Masanori Arita, Toru Fujiwara and Kazuki Saito  
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)  
トランスクリプトムとメタボロム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た。
- (3) Helen Jenkins, Nigel Hardy, Manfred Beckmann, John Draper, Aileen R. Smith, Janet Taylor, Oliver Fiehn, Royston Goodacre, Raoul Bino, Robert Hall, Joachim Kopka, Geoffrey A. Lane, B. Markus Lange, Jang R. Liu, Pedro Mendes, Basil J. Nikolau, Stephen G. Oliver, Norman W. Paton, Ute Roessner-Tunali, Kazuki Saito, Jorn Smedsgaard, Lloyd W. Sumner, Trevor Wang, Sean Walsh, Eve Syrkin Wurtele, and Douglas B. Kell  
A proposed framework for the description of plant metabolomics experiments and their results.  
*Nature Biotech.*, in press (2004)  
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。

#### 研究課題：オオムギゲノム機能の開発と制御

研究代表者：武田和義

- (1) K. Hori, T. Kobayashi, A. Shimizu, K. Sato, K. Takeda and S. Kawasaki.  
Efficient construction of high-density linkage map and its application to QTL analysis in barley.  
*Theor. Appl. Genet.* 107: 806-813. 2003.  
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。この手法を用いて約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することができた。さらに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。
- (2) Z. Zhao, J. Ma, K. Sato, K. Takeda.  
Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare* L.).  
*Planta* 217: 794-800. 2003.  
酸性土壤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であるものの、品種間には明確な差異が認められる。この差異を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。
- (3) Kikuchi, S., Taketa, S., Ichii, M. and 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.  
オオムギ品種の皮裸性は作物の用途あるいは栽培化の過程を知る上で重要な形質である。この形質を支配する7H染色体の劣性遺伝子nudを最終的に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、現在の裸麦は單一起源であると推定した。

## 研究課題：デンプンメタボリックエンジニアリング

研究代表者：中村 保典

(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)

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。

(2) Naoki T, Fujita N, Nishi A, Satoh H, Hosaka Y, Ugaki M, Kawasaki S and 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)

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。

(3) Kubo A, Rahman S, Utsumi Y, Li Z, Mukai Y, Yamamoto M, Ugaki M, Harada K, Satoh H, Konik-Rose C, Morell M and 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: 1-14 (2005)

イネ *sugary-1* 変異体にコムギ *ISA1* 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、*ISA1* 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、*ISA1* 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、*ISA1* の発現レベルに応じてアミロペクチンの構造が変化し、それに応じて糊化特性が異なるデンプンが合成されることから、*ISA1* 遺伝子制御によるデンプン合成バイテク技術が有効であることを明らかにした。

## 研究課題： 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

研究代表者： 村田稔

(1) A centromeric tandem repeat family originating from a part of Ty3/gypsy-retroelement in wheat and its relatives.

**Genetics** 164(2):665-72

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る。

(2) Differential localization of the centromere-specific proteins in the major centromeric satellite of *Arabidopsis thaliana*.

**Journal of Cell Science** 117: 2963-2970

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。

- (3) Tandemly repeated DNA sequences and centromeric chromosomal regions of *Arabidopsis* species.

**Chromosome Research** 11(3):241-253.

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。

#### ○平成13年度採択

**研究課題：植物発生における細胞間シグナリング**

**研究代表者：岡田清孝**

- (1) Keiro Watanabe and Kiyotaka Okada

Two discrete cis elements control the abaxial side-specific expression of the FILAMENTOUS FLOWER gene in *Arabidopsis*.

**Plant Cell** 15, 2592-2603 (2003)

本論文では、葉の裏側領域の形成に必要なFIL遺伝子が裏側組織でのみ発現する機構を解析し、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。

- (2) Elena D. Shpak, Chris T. Berthiaume, Emi J. Hill, and Keiko U. Torii

Synergistic interaction of three ERECTA-family receptor-like kinases controls *Arabidopsis* organ growth and flower.

**Development** 131: 1491-1501 (2004).

本論文では、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ていることを示した。

- (3) T. Higashiyama, S. Yabe, N. Sasaki, Y. Nishimura, S. Miyagishima, H. Kuroiwa, T. Kuroiwa

Pollen tube attraction by the synergid cell.

**Science** 293, 1480-1483 (2001)

本論文では、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。

#### 研究課題：植物の害虫に対する誘導防衛の制御機構

**研究代表者：高林純示**

- (1) Jenny Fäldt, Gen-ichiro Arimura, Jonathan Gershenzon, Junji Takabayashi and Jörg Bohlmann

Function identification of *AtTPS03* as (E)- $\beta$ -ocimene synthase: A new monoterpene synthase catalyzing jasmonate- and wound-induced volatile formation in *Arabidopsis thaliana*

**Planta** (2003 年) 216 卷: p. 745-751

本論文では、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 synthase を 94%、(Z)- $\beta$ -ocimene synthase を 4%、myrcene を 2% の比率で生産した。本酵素は機械的傷やジャスモン酸処理で誘導された。

- (2) Gen-ichiro Arimura, Rika Ozawa, Sohich Kugimiya, Junji Takabayashi and Jörg Bohlmann

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 (2004) 135 卷 : p. 1976-1983**

本論文では、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。一方、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つた。これらの結果は、(E)- $\beta$ -ocimene のナミハダニ特異的な生産、放出と一致した。

- (3) Takeshi Sakurai, Takao Nakagawa, Hidefumi Mitsuno, Hajime Mori, Yasuhisa Endo, Shintarou Tanoue, Yuji Yasukochi, Kazushige Touhara & Takaaki Nishioka  
Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*  
*Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, Vol. 101, No. 47, pp. 16653-16658, November 23, 2004.

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覚子によって受容される。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。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 蛋白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つた。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。

**研究課題：植物の鉄栄養制御**

**研究代表者：西澤直子**

- (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)

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ていた。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の蓄積に関与することが示された。OsYSL2 は、生物界において初めて同定された「金属・ニコチアナミン」のトランスポーターである。

- (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)

鉄欠乏誘導性のオオムギのハイドロキシムギ酸合成酵素遺伝子 (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。これにより、鉄欠乏を感じ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。鉄に限らず、微量必須元素欠乏応答性のシスエレメントの同定としても他国の研究グループに先がけた初めての例である。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。

- (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)

ニコチアナミンアミノ基転移酵素を過剰発現させることにより内生ニコチアナミン欠損となった形質転換タバコを用いて、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あること、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。

### 研究課題：植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用

研究代表者氏名：森川 弘道

- (1) Formation of unidentified nitrogen in plants: an implication for a novel nitrogen metabolism.

*Planta* 219, 14-22 (2004)

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。本論文において、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となることを報告した。また、UN化合物の生成メカニズムについて活性窒素(NOやペルオキシナイトライド)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。

- (2) 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)

森川らは、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。(未発表) 本論文は、このチアジアゾリン化合物が文献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結果を報告したものである。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。

- (3) Three distinct *Arabidopsis* hemoglobins exhibit peroxidase-like activity and differentially mediate nitrite-dependent protein nitration.

*FEBS Lett.* 572, 27-32 (2004)

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いる。本論文は、その内の1つ(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ものである。本論文の結果から、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。

### 研究課題：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

研究代表者：若狭 曜

- (1) Kanno, T., A. Komatsu, K. Kasai, J. G. Dubouzet, M. Sakurai, Y. Ikejiri-Kanno, K. Wakasa and Y. Tozawa

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できたことを報告。

- (2) Wakasa, K. H. Hasegawa, H. Nemoto, F. Matusda, H. Miyazawa, Y. Tozawa, K. Morino, A. Komatsu, T. Yamada, T. Terakawa, and H. Miyagawa

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)

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。

- (3) Ishihara, A., F. Matsuda, H. Miyagawa and K. Wakasa

Metabolomics for metabolically manipulated plants: effects of tryptophan overproduction.

**Metabolomics** 3: 319-334 (2007)

OASA1D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た総説。これらの結果から、トリプトファンの蓄積が下流の関連化合物の大きな変動をもたらさないことを明らかにし、その理由を推定した。

## ○平成14年度採択

研究課題：タバコモザイクウイルスの増殖機構

研究代表者：石川 雅之

- (1) Yayoi Tsujimoto, Takuro Numaga, Kiyoshi Ohshima, Masa-aki Yano, Ryuji Ohsawa, Derek B. Goto, Satoshi Naito and Masayuki Ishikawa.

*Arabidopsis TOBAMOVIRUS MULTIPLICATION (TOM) 2 locus encodes a transmembrane protein that interacts with TOM1.*

**EMBO J.** 22 (2): 335-343 (2003)

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唆された。

- (2) Yuka Hagiwara, Keisuke Komoda, Takuya Yamanaka, Atsushi Tamai, Tetsuo Meshi, Ryo Funada, Tomohiro Tsuchiya, Satoshi Naito and Masayuki Ishikawa.

Subcellular localization of host and viral proteins associated with tobamovirus RNA replication.

**EMBO J.** 22 (2): 344-353 (2003)

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。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、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することを明らかにした。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。

- (3) Keisuke Komoda, Satoshi Naito, and Masayuki Ishikawa.

Replication of plant RNA virus genomes in a cell-free extract of evacuolated plant protoplasts.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (7), 1863-1867 (2004)

TMV を含む真核生物プラス鎖 RNA ウィルスの 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。本論文で我々は、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た。この系で TMV を含む植物 RNA ウィルスゲノムを翻訳し、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ィルス RNA 合成が起きた。この系は、RNA ウィルスの複製機構を解析する上で有用と考えられる。

### 研究課題：共生ネットワークの分子基盤

研究代表者：川口正代司

- (1) Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H.

Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi

*Nature* 435, 824-827 (2005)

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。

- (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)

菌根菌、根粒菌との共生が破綻したミヤコグサ変異体から原因遺伝子 Castor を同定した。Castor はカチオンチャネルに相同的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た。CASTOR、POLLUX と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を示唆する結果となった。

- (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 JA, 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)

菌根形成と根粒形成の両者に必須な共生遺伝子の一つとして、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キングの誘導や種子形成に関与することが明らかとなった。

### 研究課題：植物転写因子機能ネットワーク

研究代表者：高木 優

- (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

植物特異的な TCP 転写因子群の機能解析を CRES-T 方を用いて行い、これらの転写因子が頂芽を含む分裂組織の形成になら 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し、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。

- (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

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或いはキメラリプレッサー発現体では、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。

- (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

EAR モチーフと名付けた短いペプチドが、付与することによって転写因子を強力な転写抑制因子に機能変換すること見いだし、また、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。

### 研究課題：種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種

研究代表者：西村いくこ

- (1) Shimada, T., Fuji, K., Tamura, K., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. Vacuolar sorting receptor for seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 16095-16100 (2003).

高等植物の種子は、私たちの食糧源ともなるタンパク質を多量に含んでいる。本研究では、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) を発見した。この成果は、「外来有用タンパク質の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。

- (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. and 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).

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。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。

- (3) Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Yamada, K., Meshi, T., Tsuda, S., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I.

A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death.

*Science* 305, 855-858 (2004).

VPE が、植物のウイルス感染による過敏感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、農作物の增收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ている。

### 研究課題： 寒冷圏における光ストレスと北方林の再生・維持機構

研究代表者： 原 登志彦

- (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).

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。

(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).

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。

(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).

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が存在するときにのみ 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示した初めての論文である。

### 3. 受賞等

平成20年1月現在

受賞者名	賞の名称	授与者名	受賞日 (時期)
荒木 崇	日本植物生理学会奨励賞	日本植物生理学会	2002. 4
後藤弘爾	日本植物生理学会論文賞	日本植物生理学会	2005. 4
近藤孝男	中日文化賞		2005.
近藤孝男	文部科学大臣表彰 科学技術賞	文部科学省	2006.
岩崎秀雄	第17回井上研究奨励賞	井上科学振興財団	2001. 2
岩崎秀雄	日本時間生物学会学術奨励賞	日本時間生物学会	2003. 9
野路征昭	日本植物細胞分子生物学会奨励賞	日本植物細胞分子生物学会	2002. 7
池田 亮	根研究会学術奨励賞	根研究会	2002. 10
高橋秀樹	日本植物生理学会奨励賞	日本植物生理学会	2005. 4
武田 真	日本育種学会奨励賞	日本育種学会	2003. 4
武田和義	日本農学賞	日本農学会	2004. 4
武田和義	読売農学賞	読売新聞社	2004. 4
杉本 学	日本農芸化学会奨励賞	日本農芸化学会	2004. 4
坂本 亘	日本遺伝学会奨励賞	日本遺伝学会	2001. 4

那須田周平	日本遺伝学会奨励賞	日本遺伝学会	2005. 4
高橋 美佐	日本植物細胞分子生物学会奨励賞	日本植物細胞分子生物学会	2003. 8
高橋美智子	日本土壤肥料学会奨励賞	日本土壤肥料学会	2005. 9
高橋美智子	日本農学会進歩賞	日本農学会	2005. 11
小林高範	日本土壤肥料学会奨励賞	日本土壤肥料学会	2006. 4
塩尻かおり	日本農学会進歩賞	日本農学会	2006. 4
鳥居啓子	第11回日本女子科学者会奨励賞	日本女子科学者会	2006. 4
石原 亨	日本農薬学会奨励賞	日本農薬学会	2004. 4
小川健一	日本生化学会優秀発表賞	日本生化学会	2006. 10
西村いくこ	中日文化賞		2006. 4
西村いくこ	文部科学大臣表彰 科学技術賞	文部科学省	2007. 4
錦織雅樹	日本植物病理学会学生 優秀発表賞	日本植物病理学会	2007. 4
高木 優	化学・バイオつくば賞	(財) 化学・バイオつくば財団	2004. 5
篠崎一雄・和子	第14回つくば賞	(財) 化学・バイオつくば財団	2003. 4
篠崎一雄	文部科学大臣表彰 科学技術賞	文部科学省	2006. 4
関原 明	日本植物学会奨励賞	日本植物学会	2005. 4
林 誠	日本植物学会奨励賞	日本植物学会	2005. 4
秋山康紀	農芸化学奨励賞	農芸化学会	2006. 4
今泉(安楽)温子	日本植物学会奨励賞	日本植物学会	2007. 4

#### 4. シンポジウム等

平成20年1月現在

シンポジウム名	日時	場所	入場者数	特記事項
領域合同会議	2001. 05. 15	岡山大学	32 (研究代表: 総括:アドバイザ ー:本部:研究事 務所)	<input type="checkbox"/> 研究課題お よび年度計画 説明会 <input type="checkbox"/> オオムギ遺 伝資源見学
領域合同会議	2002. 05. 07	秋田県立大 学	39 (研究代表: 総括:アドバイザ ー:本部:研究事 務所)	<input type="checkbox"/> 研究課題お よび年度計画 説明会 <input type="checkbox"/> CREST-秋田 植物科学サテ ライトラボラ トリー見学
研究領域「植物の機能と 制御」 第1回公開シン ポジウム	2003. 11. 5	品川コクヨ ホール	240	<input type="checkbox"/> ポスター展 示数(78) <input type="checkbox"/> 領域特許展

				示
研究領域「植物の機能と制御」 第2回公開シンポジウム	2004.10.26	品川コクヨホール	250	○ポスター展示数(113) ○領域特許展示 ○企業ブース
研究領域「植物の機能と制御」 第3回公開シンポジウム	2005.9.27	品川コクヨホール	230	○ポスター展示数(92) ○領域特許展示 ○企業ブース
研究領域「植物の機能と制御」 第4回公開シンポジウム	2006.1.23	品川コクヨホール	240	○ポスター展示数(115) ○領域特許展示 ○企業ブース
研究領域「植物の機能と制御」 第5回公開シンポジウム	2006.7.30-31	筑波大学	350	○ポスター展示数(78) ○領域特許展示 ○企業ブース

## 5. その他の重要事項（新聞・雑誌・テレビ等）

主要報道紙は以下のとおり。その他地方紙は省略。

### ○平成12年度採択

#### \*経塚チーム

- 1) 「発見 イネの花咲かす遺伝子」朝日新聞 (2003年7月7日)
- 2) 「トウモロコシの形・大きさ 決める遺伝子を発見」日経産業新聞 (2004年12月3日)

#### \*近藤チーム

- 1) 「一日周期でリズム刻む」日刊工業新聞 (2004年11月19日)
- 2) 「体内時計解明に前進」読売新聞 (2004年11月19日)
- 3) 「体内時計仕組み解明」日本経済新聞 (2004年11月19日)
- 4) 「体内時計を再現」日本経済新聞 (2005年4月15日)
- 5) 「体内時計、試験管で作れた」毎日新聞 (2005年4月15日)
- 6) 「試験管で生物時計」朝日新聞 (2005年4月15日)
- 7) 「試験管内で生物時計」日刊工業新聞 (2005年4月15日)
- 8) 「生物時計、3つのタンパク質、振り子役、時刻む」産経新聞 2005年5月16日)
- 9) 「生物時計の仕組みが見えてきた」JST-News誌 Vol2, No. 2, p12-13(2005)
- 10) 「世界初、試験管でできた生物時計」Newton, (p12-13) (2005)

#### \*斎藤チーム

- 1) 「「科学」地球を救う植物力④、“人知超えた多様性を活用 “新薬開発」朝日新聞 (平成16年3月31日)
- 2) PNAS, Selected Article Highlights, June 14, 2004. “Omics” Sciences Showcase Plant Metabolism Probing Plant Gene-to-metabolite Networks.
- 3) The Scientist, Daily News, June 15, 2004. Integrating plant “omics”

Combination of approaches allows the study of gene-to-metabolite networks in *Arabidopsis*.

- 4) 「植物の代謝物解析と遺伝子発現解析から未知遺伝子機能推定に成功」日経バイオテク・オンライン（2004年6月21日号）

\*武田チーム

- 1) 「オオムギ3品種間に遺伝子の違い1000カ所」毎日新聞（平成14年1月30日）
- 2) 「一塩基多型オオムギで1000種発見」日経産業新聞（平成14年1月30日）
- 3) 「オオムギのSNPを大量発見」日本工業新聞（平成14年1月30日）
- 4) 「オオムギのスニップ野生種で約1千個」日刊工業新聞（平成14年1月30日）
- 5) 「オオムギ遺伝子のSNPを大量検出」化学工業日報（平成14年1月30日）
- 6) 「岡山大学がオオムギのSNP分析を加速」日経バイオビジネス（平成14年3月15日）
- 7) 「オオムギ遺伝子に存在する一塩基多型を約4,000個発見」ブレインテクノニュースNo.92、生物系特定産業技術研究推進機構（平成14年7月15日）
- 8) 「サッポロビール株式会社、オオムギ・ゲノムの共同研究プロジェクトに参画、品質改良などへ」日経バイオテクオンライン（平成15年5月22日）
- 9) 「ビールの味が落ちないオオムギ」朝日新聞（平成15年4月2日）
- 10) 「ビールの鮮度長持ち」日刊工業新聞（平成15年8月20日）
- 11) 「岡山大、ムギ育種用ツールの提供でベンチャーを設立へ」日経バイオテクオンラインおよび日経バイオテク（平成16年11月）
- 12) 「より迅速で精密な品種開発へゲノム時代で変わる穀物育種」日経バイオビジネス（平成16年11月号）

\*中村チーム

- 1) 「秋田県立大学など、イネのデンプン合成変異株を単離、新機能デンプン開発へ」日経バイオテク（2001年10月15日）
- 2) 「でんぶん成分、特徴を解明、コメの食味調節可能に、秋田県立大学が129品種分析」日経産業新聞（2002年11月5日）

\*岡田チーム

- 1) 「めしへの誘惑」毎日新聞（2001年8月24日）
- 2) 「植物の受精方法を解明」読売新聞（2001年8月27日）
- 3) 「受精導く雌しへの誘惑」朝日新聞（2001年8月29日）
- 4) 「未来を創る科学者たち：神秘の瞬間に立ち会う ～世界初 植物の受精映像～」第45回科学技術映像祭 ポピュラーサイエンス部門入選（JST）
- 5) 「Trio of plant genes prevents 'too many mouth」 UW News2005.7.7.
- 6) 「植物の気孔を作り出す遺伝子を発見（作物の品種改良や環境問題の解決に期待）」科学技術振興機構報第184号（2005年7月7日）
- 7) 「植物の気孔形成解明へ前進—制御遺伝子を特定 環境保全研究ツールに活用 JST—米大」化学工業新聞（2005年7月8日）
- 8) 「植物の気孔形成にかかる遺伝子—科学技術振興機構など」日経産業新聞（2005年7月8日）
- 9) 「植物の気孔の形成支配—数を決める遺伝子を発見 米ワシントン大」日刊工業新聞（2005年7月8日）
- 10) 「CO<sub>2</sub>吸収量多い植物可能？気孔の数決める遺伝子」共同通信（オンライン版）（2005年7月8日）
- 11) 「気孔を作る遺伝子—鳥居ワシントン大助教授ら特定」毎日新聞（2005年7月20日）
- 12) 「鳥居、佐藤両氏に奨励賞を贈呈—日本女性科学者の会」日経新聞（2006年6月19日）

13) 「鳥居、佐藤両氏に日本女性科学者の会奨励賞」毎日新聞 (2006年6月21日)

\*高林チーム

- 1) 「性フェロモン受容体の遺伝子を特定した」 NHK 総合テレビ (2004年11月16日)
- 2) 「カイコ蛾性フェロモン受容体を発見」 朝日新聞 (2004年11月16日)
- 3) 「カイコ蛾性フェロモン受容体を発見」 読売新聞 (2004年11月16日)
- 4) 「カイコ蛾性フェロモン受容体を発見」 毎日新聞 (2004年11月16日)
- 5) 「カイコ蛾性フェロモン受容体を発見」 日経新聞 (2004年11月16日)
- 6) 「カイコ蛾性フェロモン受容体を発見」 産経新聞 (2004年11月16日)

\*森川チーム

- 1) 「森川チームの研究室紹介」 日刊工業新聞 (2002年10月24日)
- 2) 「大気を浄化」 TV放送 (2005年7月11日)

\*若狭チーム

- 1) 「トリプトファン高含有組み換えイネ屋外試験」 化学工業日報 (2004年4月)
- 2) 「遺伝子組み換えイネの栽培実験」 每日新聞 (2004年4月29日)
- 3) 「コムギ無細胞系タンパク質合成技術を応用した全行程 *in vitro* システムで植物酵素機能を改良、イネのTrp含有量を数百倍に向上」 日経バイオテク (2006年3月10日)

\*西澤チーム

- 1) 「アルカリ土壌でも育つイネ 東北大と東大遺伝子組み換えで来月から鳴子で実験」 読売新聞 (2005年4月10日)
- 2) 「遺伝子組み換えイネ：東北大・三枝教授、GMイネを収穫—不穏な動きなく/宮城」 每日新聞 (2005年10月20日)
- 3) 「イネ科の鉄分吸収助ける遺伝子特定 やせ地で米収量増」 每日新聞 (2005年10月25日)
- 4) 「植物の鉄分取り込み 吸収促す遺伝子発見/東大」 日刊工業新聞 (2006年10月25日)

\*石川チーム

- 1) 「植物ウイルス試験管の中で複製」 日経産業新聞 (2004年2月12日)
- 2) 「植物 RNA ウイルスゲノム試験管内で複製」 日刊工業新聞 (2004年2月12日)

\*川口チーム

- 1) 「植物と細菌の“共生”遺伝子特定」 每日新聞 (2002年11月7日)
- 2) 「菌との“共生”遺伝子を特定」 朝日新聞 (2002年11月7日)
- 3) 「共生関係築く遺伝子 肥料少なくて育つ植物」 日経産業新聞 (2002年11月7日)
- 4) 「マメ科 進化は節約？根粒のルーツは成長遺伝子」 読売新聞 (2003年2月19日)
- 5) 「やせた土壌で栽培可能—マメ科植物の遺伝子を発見」 每日新聞 (2004年12月23日)
- 6) 「2種の新タンパク質発見—植物・土壌微生物の共生に寄与」 日刊工業新聞 (2004年12月23日)
- 7) 「マメ科植物の共生菌—メカニズム関連2遺伝子を発見」 日経産業新聞 (2004年12月24日)
- 8) 「植物が共生菌呼ぶ物質発見 化学肥料減少に道 大阪府立大助手」 每日新聞

(2005年6月9日)

- 9) 「有用微生物呼ぶ物質 植物の根を調べ特定 大阪府立大学など 農作物育成に有効」日経産業新聞 (2005年6月9日)
- 10) 「植物に“もろ刃の剣”誘導物質 大阪府立大グループが発見」読売新聞 (2005年6月15日)
- 11) 「Fungi's Little Helper」米国科学サイエンスオンライン版 (2005年6月8日)
- 12) 「植物：草の根を分けて探したストリゴラクトンの役割」ネイチャージャパンオンライン (2005年6月9日)
- 13) 「5-Deoxystrigol lures fungi to plants」米国Chemical and Engineering News誌 (2005年6月13日)
- 14) 「21世紀の気鋭 植物と菌の共生解明 引き寄せる物質分離 秋山康紀氏」日経産業新聞 (2005年8月18日)

\*高木チーム

- 1) 「植物遺伝子の働き 簡単に抑制、産総研、機能解明に弾み」日本経済新聞 (2003年10月3日)
- 2) 「遺伝子発現地図 理研が高密度を作製」日刊工業新聞 (2003年10月31日)
- 3) 「高密度の遺伝子発現地図」化学工業日報 (2003年10月31日)
- 4) 「遺伝子が働く場所9割をDBで公開」日経産業新聞 (2003年10月31日)
- 5) 「化学・バイオつくば賞、産業技術総研の2人にー化学・バイオつくば財団」毎日新聞 (2004年5月19日)
- 6) 「化学・バイオつくば賞 宮岸真、高木優の両氏が受賞」読売新聞 (2004年5月19日)
- 7) 「同一機能の複数遺伝子 発現を効率抑制 産総研 植物転写因子を改変」日刊工業新聞 (2004年6月30日)
- 8) 「組み替え技術で高温・乾燥に強く」日経産業新聞 (2007年1月12日)
- 9) 「遺伝子組み換えナズナ 乾燥・高温でも生育」日経新聞 (2007年1月12日)
- 10) 「高温・乾燥に耐性」日刊工業新聞 (2007年1月12日)
- 11) 「木質形成遺伝子を発見」日経新聞 (2007年3月5日)
- 12) 「雄しべ・雌しべ形成 優良品種生産へ効率抑制」日経産業新聞 (2007年3月13日)
- 13) 「理化学研究所 植物の耐病・耐傷害メカニズムを操る新規のシグナル伝達経路を発見」日経新聞オンライン (2007年3月19日)
- 14) 「植物の耐病・耐傷害メカニズムを操る新規MAPK経路を発見」バイオテクノロジージャパン (オンライン) (2007年3月20日)
- 15) 「植物の耐病で制御経路発見」日刊工業新聞 (2007年3月20日)

\*西村チーム

- 1) 「種子貯蔵蛋白質の輸送レセプター」日経新聞 (2003年12月11日)
- 2) 「種子貯蔵タンパク質“運び屋”を特定」日刊工業新聞 (2003年12月11日)
- 3) 「種子に養分運ぶタンパク」日経産業新聞 (2003年12月12日)
- 4) 「植物細胞死の実行犯、捕まる」毎日新聞 (2004年8月6日)
- 5) 「植物細胞死、仕組み解明」朝日新聞 (2004年8月6日)
- 6) 「植物細胞死の謎の解明」産経新聞 (2004年8月6日)
- 7) 「ウィルス感染による細胞死を制御する液胞プロセシング酵素」NHK総合テレビ (2004年8月6日)
- 8) 「病原体に感染した植物の細胞死のナゾ解明」JST基礎研究最前線8号 (2004年11月4日)

- 9) 「植物の細胞死を実行する酵素」 JST News 12月号 (2004年12月1日)
- 10) 「植物の細胞死の謎」 日本テレビ (2006年9月)

\*原チーム

- 1) 「「生り年」の仕組み解明 森林計画に応用も」 日経新聞 (2004年1月9日)
- 2) 「北方林成長調査 冬に活性酸素多く生成 葉緑体も細胞中心部に移動 北大など解明 温暖化防止に効果」 毎日新聞 (2004年5月17日)
- 3) 「クローズアップ現代：ソメイヨシノを救え」 NHK 総合テレビ (2004年4月22日)