

大地環境変動に対する 植物の生存・成長突破力の 分子的統合解析

新学術領域研究 News Letter vol.6 JULY 2015

目次

ごあいさつ

研究組織

1

計画班の研究成果

4

公募班の研究成果

24

領域内共同研究

59

発表論文

61

雑誌表紙に採用された論文

79

新聞に取り上げられた記事

80

論文ハイライト

83

各賞受賞者

109

領域主催の活動

110

学会シンポジウムの共催

116

アウトリーチ活動

118

評価・助言委員から

121

ごあいさつ

平成 22 年に発足した新学術領域研究「大地環境変動に対する植物の生存・成長突破力の分子的統合解析」（略称：植物の環境突破力）は、今年 3 月をもちまして終了することになりました。このニュースレターはこれまでの 5 年間の集大成として我々の研究成果や活動を記したものです。

植物は移動できないのに、どんな環境にも巧みに適応しています。このような植物がもつ“逞しさ”を専門分野の異なる研究者によって統合的に理解しようと考えて、平成 22 年の夏にこの新学術領域「植物環境突破力」を発足させました。10 名の計画班員を中心に、2 回の公募で採択した計 35 名の公募班員とも有機的に連携しながら、この領域を運営してきました。「生存戦略研究」、「成長戦略研究」、「モデリング研究」という三つの研究班に分かれていますが、一番力を入れたのは研究班を超えた共同研究です。特に実験科学者に馴染みの薄いモデリング研究者との共同研究を促すために モデリングの講習会や「モデリング研究とのマッチング」などを企画して、本ニュースレターに記されているように多くの共同研究と優れた共同研究成果が生まれました。さらに、ストレス評価センターを設けて班員の研究活動をサポートし、班員専用のホームページを開設して研究材料や研究手法などの交流を促してきました。5 年間の研究を通して、本ニュースレターで詳しく記したようにたくさんの優れた研究成果を上げることができました。これらの一部は新聞やテレビなどにも取り上げられ、社会の注目を集めました。

若手人材育成は本領域の大きな柱の一つと位置づけて、若者の交流を深めるために、毎年各地で「若手の会」を開催してきました。毎回若手を中心に様々なユニークな企画を行い、大変好評を博しました。また若手の海外研究発表を促すために、総括班経費から延べ 14 名の若手研究者の海外渡航経費をサポートしました。

本領域の研究成果を広く知っていただくために、これまでに国際、国内シンポジウムを主催、共催を含めて 16 回開催してきました。またアウトリーチ活動として社会人や高校生向けの講演会、小学生の体験授業を日本各地で行いました。

長い年月をかけて獲得してきた植物の巧みな環境突破力をわずか 5 年間で全部解明することはできませんが、本領域で得た成果は植物科学の更なる発展に大きく貢献し、多くの新しい知見を与えたこと思います。

最後に 5 年間にわたり、本領域の発展のために常に適切なご助言をいただきました評価委員の九州大学の巖佐庸先生、東京大学の寺島一郎先生、中部大学の中村研三先生に感謝を申し上げます。



2015 年 初夏

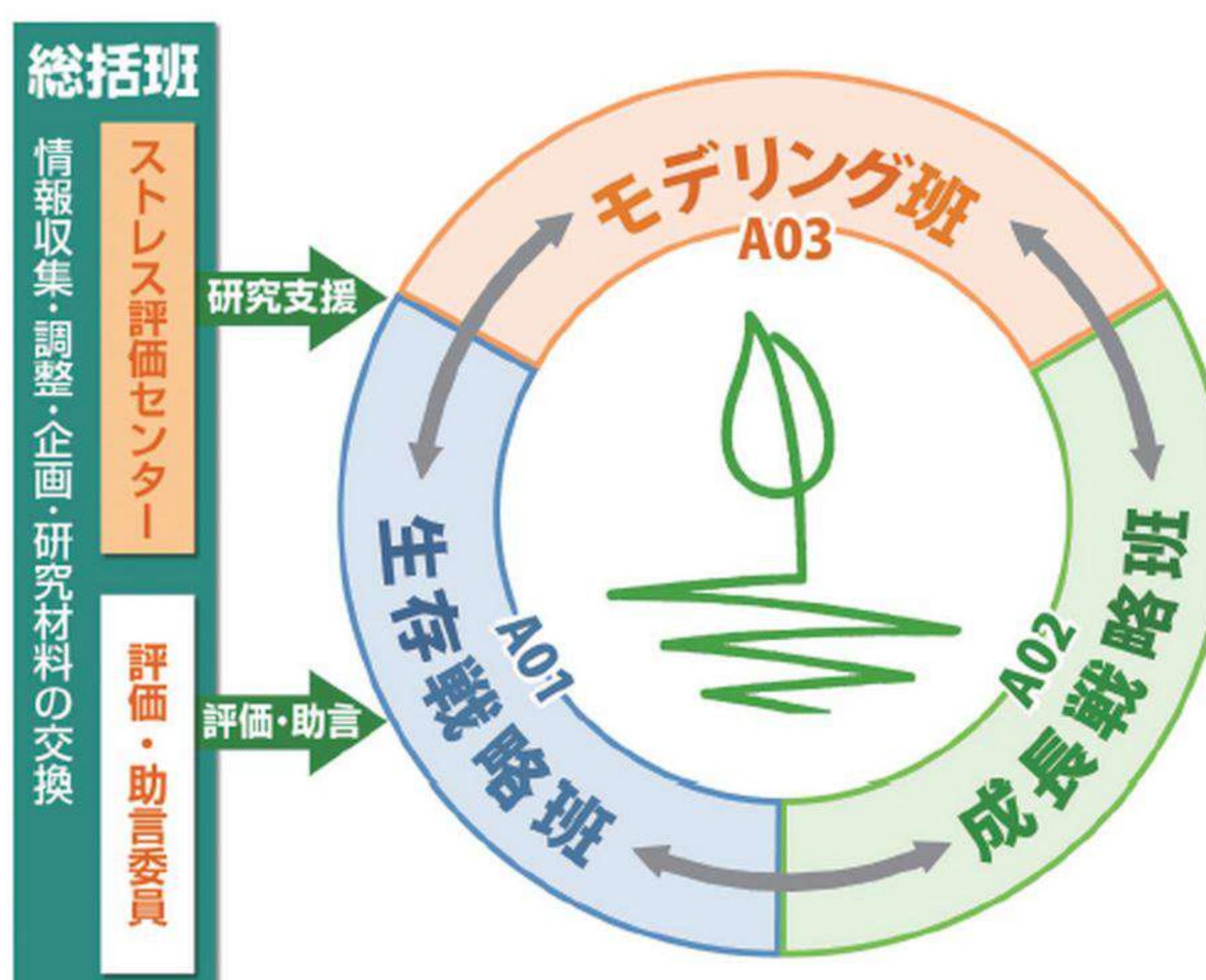
大地環境変動に対する植物の生存・成長突破力の分子的統合解析
領域代表 馬 建鋒（岡山大学資源植物科学研究所）

総括班

| | |
|-------|-----------------------------|
| 芦刈 基行 | 名古屋大学生物機能開発利用研究センター・教授 |
| 梅田 正明 | 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・教授 |
| 沖 大幹 | 東京大学生産技術研究所・教授 |
| 木下 俊則 | 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授 |
| 経塚 淳子 | 東北大学生命科学研究科・教授 |
| 佐竹 晓子 | 九州大学理学研究院・准教授 |
| 篠崎 和子 | 東京大学大学院農学生命科学研究科・教授 |
| 杉本 慶子 | 理化学研究所環境資源科学研究センター・チームリーダー |
| 内藤 哲 | 北海道大学大学院農学研究院・教授 |
| 馬 建鋒 | 岡山大学資源植物科学研究所・教授 |
| 山谷 知行 | 東北大学研究推進本部・特任教授 |

評価・助言委員

| | |
|-------|------------------|
| 巖佐 庸 | 九州大学理学研究院・教授 |
| 寺島 一郎 | 東京大学大学院理学系研究科・教授 |
| 中村 研三 | 中部大学応用生物学部・教授 |



研究項目 A01 一生存戦略研究一

計画研究班

| | |
|-------|----------------------------|
| 馬 建鋒 | 岡山大学資源植物科学研究所・教授 |
| 木下 俊則 | 名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授 |
| 篠崎 和子 | 東京大学大学院農学生命科学研究所・教授 |
| 内藤 哲 | 北海道大学大学院農学研究院・教授 |
| 山谷 知行 | 東北大学研究推進本部・特任教授 |

公募研究班

| | |
|--------------------|-----------------------------|
| 石田 喬志** | 熊本大学大学院自然科学研究科・特任助教 |
| 石田 宏幸 [†] | 東北大学大学院農学研究科・准教授 |
| 伊藤 秀臣 [†] | 北海道大学大学院理学研究院・助教 |
| 坂本 敦 [†] | 広島大学大学院理学研究科・教授 |
| 佐藤 雅彦** | 京都府立大学大学院生命環境科学研究所・准教授 |
| 下嶋 美恵 [†] | 東京工業大学大学院生命理工学研究科・准教授 |
| 関 原明 [†] | 理化学研究所環境資源科学研究所センター・チームリーダー |
| 竹澤 大輔 [†] | 埼玉大学大学院理工学研究科・准教授 |
| 太治 輝昭 [†] | 東京農業大学バイオサイエンス学科・准教授 |
| 千葉由佳子 [†] | 北海道大学大学院理学研究院・准教授 |
| 西山 佳孝** | 埼玉大学大学院理工学研究科・教授 |
| 堀江 智明 [†] | 信州大学学術研究院纖維学系・准教授 |
| 宮地 孝明** | 岡山大学自然生命科学研究支援センター・准教授 |
| 上野 大勢* | 高知大学農学部・准教授 |
| 小林 優* | 京都大学農学研究科・准教授 |
| 西村 宜之* | 農業生物資源研究所放射線育種場・主任研究員 |
| 深尾陽一朗* | 立命館大学生命科学部・准教授 |
| 丸山 明子* | 九州大学農学研究院・准教授 |

研究項目 A02 一成長戦略研究一

計画研究班

| | |
|-------|-----------------------------|
| 芦刈 基行 | 名古屋大学生物機能開発利用研究センター・教授 |
| 梅田 正明 | 奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・教授 |
| 経塚 淳子 | 東北大学生命科学研究科・教授 |
| 杉本 慶子 | 理化学研究所環境資源科学研究センター・チームリーダー |

公募研究班

| | |
|---------------------|-----------------------------|
| 石崎 公庸 [†] | 神戸大学大学院理学研究科・准教授 |
| 伊藤 正樹 [†] | 名古屋大学大学院生命農学研究科・准教授 |
| 瀬尾 光範 ^{**} | 理化学研究所環境資源科学研究センター・ユニットリーダー |
| 野口 航 ^{**} | 東京大学大学院理学系研究科・准教授 |
| 本瀬 宏康 [†] | 岡山大学大学院自然科学研究科・准教授 |
| 青山 卓史* | 京都大学化学研究所・教授 |
| 梅原三貴久* | 東洋大学生命科学部・教授 |
| 澤 進一郎* | 熊本大学大学院自然科学研究科・教授 |
| 村田 純* | サントリー生命科学財団生物有機科学研究所・研究員 |

研究項目 A03 一モデリング研究一

計画研究班

| | |
|-------|---------------|
| 佐竹 晓子 | 九州大学理学研究院・准教授 |
|-------|---------------|

公募研究班

| | |
|---------------------|----------------------------|
| 栗津 晓紀 ^{**} | 広島大学大学院理学研究科・准教授 |
| 岩元 明敏 [†] | 東京学芸大学教育学部・准教授 |
| 最相 大輔 ^{**} | 岡山大学資源植物科学研究所・助教 |
| 櫻井 玄 ^{**} | 農業環境技術研究所生態系計測研究領域・任期付研究員 |
| 白石 文秀 ^{**} | 九州大学農学研究院・教授 |
| 福田 弘和 ^{**} | 大阪府立大学大学院工学研究科・准教授 |
| 持田 恵一* | 理化学研究所環境資源科学研究センター・チームリーダー |
| 横沢 正幸* | 静岡大学大学院総合科学技術研究科・教授 |

† 平成 23 年度～平成 26 年度

* 平成 23 年度～平成 24 年度

** 平成 25 年度～平成 26 年度



劣悪化する土壤環境に適応するための植物の知恵

研究代表者：馬 建鋒（岡山大学資源植物科学研究所）
研究分担者：藤原 徹（東京大学大学院農学生命科学研究所）
山地 直樹（岡山大学資源植物科学研究所）

1. 研究のねらい

酸性土壌は世界の耕地面積の4割を占める典型的な問題土壌で、現在も窒素肥料の過剰施与や酸性雨で増え続けています。酸性土壌にはアルミニウムイオン毒性をはじめ、マンガン毒性や必須栄養素（例えばリンやカルシウムなど）の欠乏など様々な植物生育阻害要因が存在するため、作物生産性が低下します。しかし、一部の耐性植物は長い進化の過程で酸性土壌に適応する戦略を獲得してきました。本研究はこれらの植物が持つ巧みな酸性土壌突破力を分子レベルで解明することを目的としています。

2. 主な研究成果

(1) 植物のアルミニウム耐性分子機構

アルミニウム毒性に対する耐性は植物種や品種によって大きく異なります。イネはイネ科作物の中で一番アルミニウム耐性の高い種であり、その高いアルミニウム耐性は主に転写因子ART1によって制御されています。ART1はC2H2タイプのZinc-finger型転写因子で、下流の遺伝子のプロモーターのGGNVSG配列に結合して、およそ30個近くの遺伝子の発現を制御しています（図1）。ART1自身の発現はアルミニウムによって誘導されませんが、下流の遺伝子は素早く

誘導されます。下流の一部の遺伝子の機能を解析したことろ、様々な場面でアルミニウム耐性に機能していることが明らかとなりました。そのうちの二つはそれぞれ細菌型ABCトランスポーターのATP結合ドメインと膜結合ドメインをコードするSTAR1とSTAR2遺伝子です。STAR1-STAR2複合体は小胞様膜に局在し、UDP-Gluを輸送し、細胞壁の修飾を介してアルミニウム耐性に寄与します。一方、細胞膜に局在するOsFRDL4はクエン酸を根圏に分泌し、アルミニウムの無毒化に機能します。またNrat1は細胞膜に局在するアルミニウムトランスポーターで、外液から細胞内にアルミニウムを輸送します。輸送されたアルミニウムは液胞膜に局在するOsALS1によって液胞に隔離され、無毒化されます。その他に、マグネシウム輸送体OsMGT1の発現を上昇させて、細胞内のマグネシウム濃度を上昇させたり、細胞膜に局在する短いアルミニウム結合ペプチドOsCDT3を発現させて、細胞内へのアルミニウムの流入を阻止したりして、イネは多面的なアルミニウム耐性を備えていることが明らかになりました。

一方、オオムギはイネと比べ、アルミニウム耐性が弱い種ですが、大きな品種間差があることが知られています。このアルミニウム耐性の品種間差は根からクエン酸の分泌を司る遺伝子HvAACT1の発現の違いによるものです。HvAACT1の発現制御機構を調べたところ、耐性品種のHvAACT1上流にある1 kbpの挿入が発現量と組織局在に重要な役割を果たしていることを突き止めました。この挿入は東アジアに栽培されている一部の品種にしか存在せず、東アジアの酸性土壌に適応するために進化してきた仕組みだと考えられます。さらに、この遺伝子の起源を解析したところ、本来この遺伝子は必須元素である鉄を根から地上部へ輸送するために必要なもので、すべての大麦品種に存在していて、耐性品種のHvAACT1は一遺伝子で二つの役割をしていることがわかりました。

(2) 環境中のマンガン変動に対する植物の戦略

マンガンは植物の必須元素で、生育に必要な量が微量であるのに対して、土壌中の濃度は条件によって大きく変動します。特にイネの場合、畑状態の土壌溶液中のマンガン濃度と湛水条件下でのマンガン濃度は数百倍変化します。イネはマ

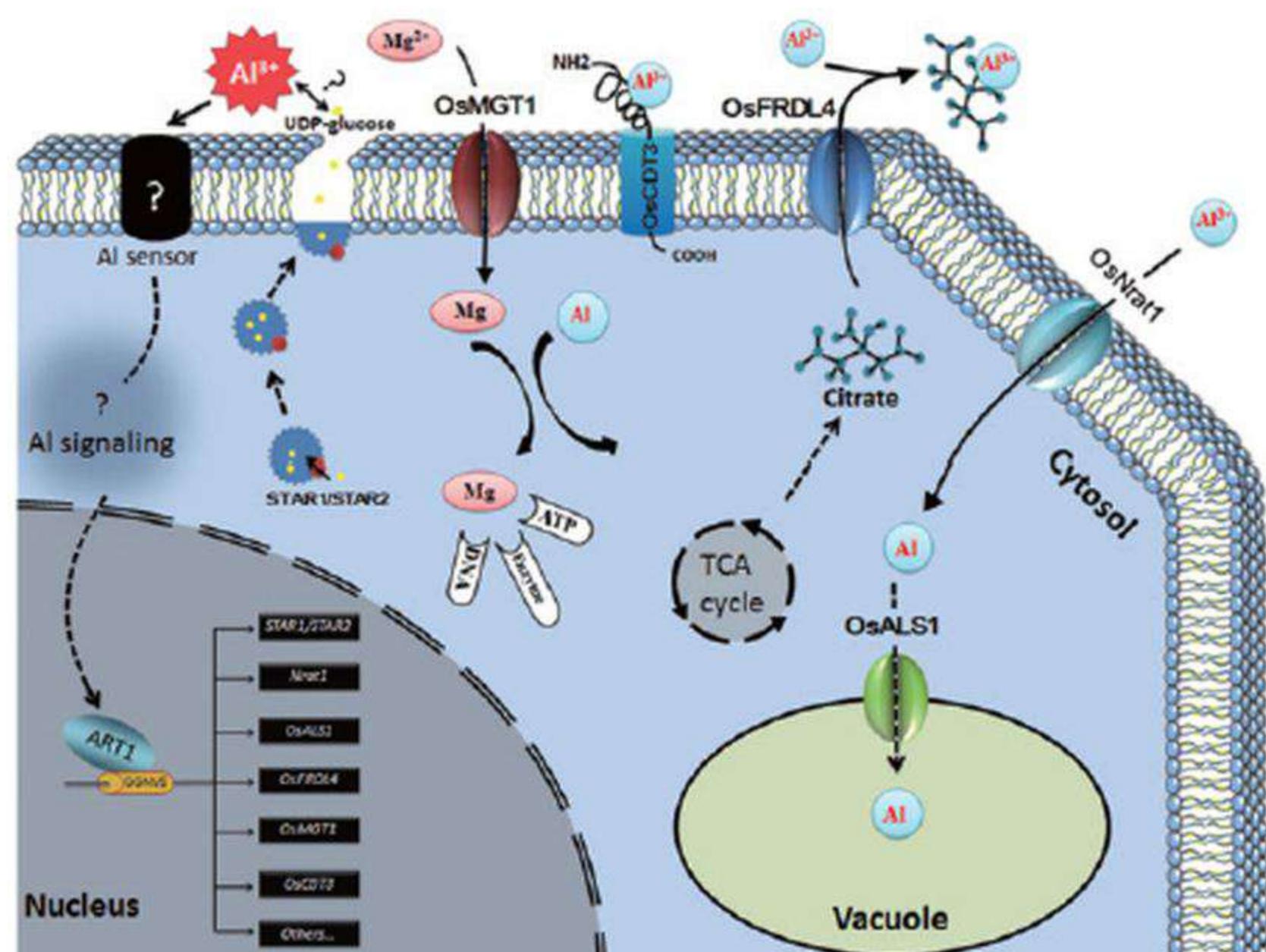


図1：イネの多重のアルミニウム耐性機構
イネの高アルミニウム耐性は転写因子ART1によって制御される。ART1は30個近くの遺伝子の発現を制御する。図は解明された下流の遺伝子の働く場所を示す。

ンガンの吸収、根から地上部への転流、地上部での分配、地上部での無毒化において巧みな機構を備えていることがわかつてきました。Nramp ファミリーに属する OsNramp5 は外液から根の細胞へのマンガンの取り込みに機能する内向き輸送体で、根の外皮細胞と内皮細胞の遠心側に偏在しています。OsNramp5 の発現レベルは環境中のマンガン濃度の変化に応答しません。しかし、節で局在する OsNramp3 は環境中のマンガン濃度にタンパク質レベルで素早く応答します。OsNramp3 はマンガンが少ない時には、節の肥大維管束の木部転送細胞と分散維管束の節部に局在して、マンガンを優先的に新葉へと分配します（図 2）。しかし、マンガンの濃度が高い時には、OsNramp3 タンパク質は素早く分解され、マンガンは蒸散流に従い、古い組織へと分配されます。従って、OsNramp3 はまるでスイッチのように環境中のマンガンの濃度を感じてマンガンの分配先を切り替える役割をしています。一方、高濃度のマンガンの無毒化に、OsYSL6 と OsMTP8.1 が必要であることを明らかにしました。OsYSL6 は葉のアポプラストからシンプラストへマンガン-ニコチニアミン錯体を輸送し、OsMTP8.1 は液胞膜に局在し、マンガンの液胞への隔離に機能しています。

(3) 他の酸性土壌耐性遺伝子の解析

ホウ素輸送体 BOR1 のホウ素条件による分解にリシン残基とユビキチン化が関与していること、ホウ素栄養条件に応じたトランスポーター遺伝子の発現制御に mRNA の分解が重要であるを見いたしました。また、ホウ素過剰が DNA 損傷を引き起こし、コンデンシン II が損傷を緩和することを明らかにしました。さらにホウ素吸収に重要な NIP5;1 mRNA の蓄積はホウ素欠乏で 5'-UTR 領域を介した制御で誘導されますが、5'-UTR 領域の uORF とリボソームの相互作用によって制御が起こっていることを突き止めました。マグネシウムに対する感受性の高まったシロイヌナズナ変異株から原因遺伝子を複数見いたしました。

その他、ケイ酸トランスポーター Lsi1 の基質選択性における ar/R selectivity filter の役割を解析しました。また Lsi1 の発現制御領域を転写開始点上流約 400 bp の範囲ま

で限定しました。さらに根のケイ酸吸収の数理モデルを構築し、Lsi1, Lsi2 の極性局在とカスパリー線の配置は他の作物に比べ輸送能力が高く、コストパフォーマンスが最も良いことを解明しました。オオムギの地上部でのケイ素の分配に、節の木部転送細胞とその隣接の柔細胞に局在する HvLsi6 と HvLsi2 による維管束間輸送が機能していることを明らかにしました。銅欠乏ストレス時に銅を古い組織から新しい組織や穂へ届けるために OsYSL16 が必要で、OsHMA2 が亜鉛を優先的に成長が活発な組織に輸送し、OsHMA5 は銅の導管へのローディングに関与していることも明らかにしました。

3. 今後の展望

植物は酸性土壌に適応するために、多様な耐性機構を持っていますが、これまでに解明されたのはまだごくわずかです。今後、酸性土壌耐性に関する遺伝子を更に同定し、その発現制御機構を明らかにしていく必要があります。特に、アルミニウム耐性分子機構の統合的解明を行うために、アルミニウムのシグナル伝達経路の同定を行うとともに、モデリングなどの手法を用いる必要があります。また引き続き、ケイ素の集積を制御する転写因子を探査し、ケイ素集積のモデリングも試みます。さらにカルシウム、マグネシウム、ホウ素欠乏耐性に関する原因遺伝子の単離や機能解析、これら養分吸収の制御機構も解明し、植物の酸性土壌耐性の統合的解明を目指します。

Fuji M, Yokosho K, Yamaji N, Saisho D, Yamane M, Takahashi H, Sato K, Nakazono M, Ma JF (2012) Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley. *Nat. Commun.* 3: 713.

Sasaki A, Yamaji N, Yokosho K, Ma JF (2012) Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *Plant Cell* 24: 2155-2167.

Xia JX, Yamaji N, Kasai T, Ma JF (2010) Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107: 18381-18385.

Yamaji N, Sasaki A, Xia JX, Yokosho K, Ma JF (2013) A node-based switch for preferential distribution of manganese in rice. *Nat. Commun.* 4: 2442.

Zheng L, Yamaji N, Yokosho K, Ma JF (2012) YSL16 is a phloem-localized transporter of the copper-nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice. *Plant Cell* 24: 3767-3782.

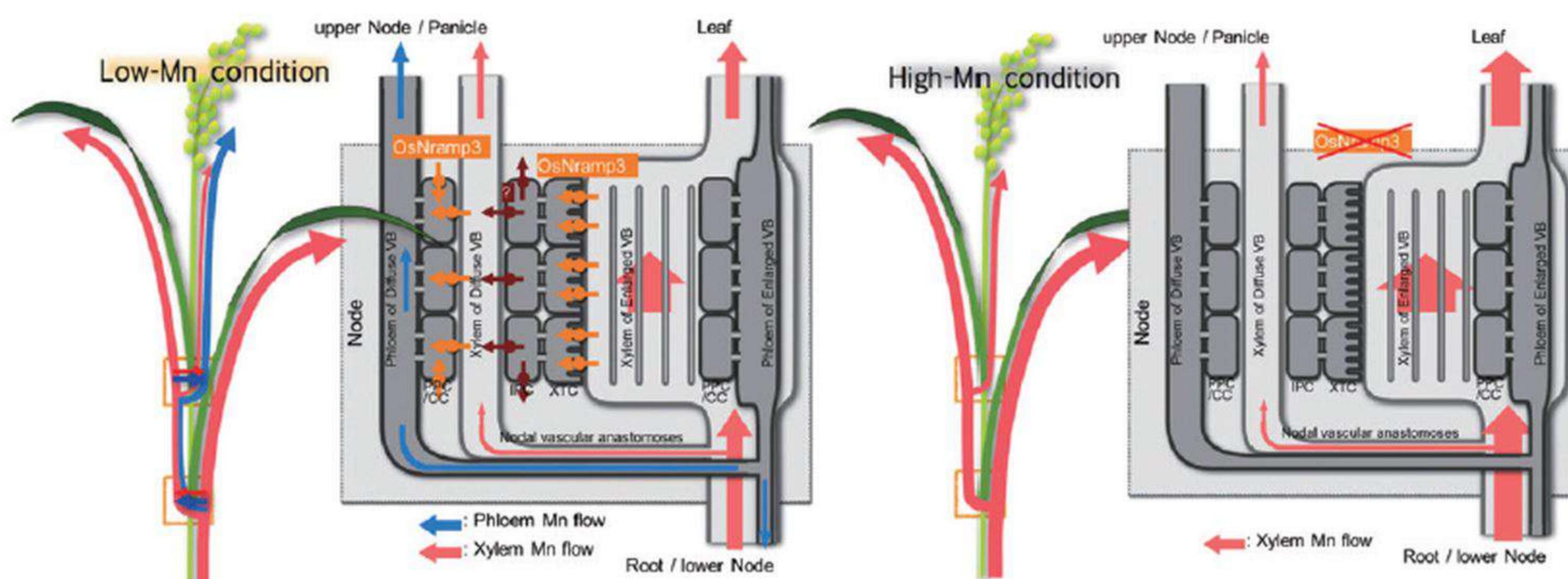


図 2：環境中のマンガン変動に対処する OsNramp3 の役割
イネの節で発現しているマンガン輸送体 OsNramp3 は環境中のマンガン濃度が低い時は、少ないマンガンを優先的に成長の活発な新葉や穂に分配する働きをする（左）。しかし、環境中の濃度が高くなると、OsNramp3 タンパク質は素早く分解され、過剰なマンガンは蒸散流に従い、古い葉に分配される（右）。

乾燥ストレスに対する植物の生存戦略の分子機構



研究代表者：篠崎 和子（東京大学大学院農学生命科学研究所）
研究分担者：溝井 順哉（東京大学大学院農学生命科学研究所）
城所 聰（東京大学大学院農学生命科学研究所）

1. 研究のねらい

移動の自由のない植物は、環境ストレスを絶えず受けその生存を脅かされています。植物は、これらの環境の変化を速やかに感じ取り適応して生存・成長する突破力を進化の過程で獲得してきました。植物がストレスを受けると、それぞれのストレスに応じた転写因子が下流の一群のストレス耐性遺伝子を誘導し、その転写産物の働きによりその環境下で生存、成長できるようになります。一方、成長に適した環境では、これらのストレス耐性遺伝子は個体の生育を妨げるため、細胞内ではこれらの転写因子が必要な時だけ機能するよう厳密に制御されていると考えられます。本課題では、モデル植物のシロイヌナズナや作物を材料に、乾燥や高温のストレスに応答して機能する転写因子とその制御機構に着目し、ストレス応答の遺伝子発現ネットワークの解明を目指しました。

2. 主な研究成果

(1) DREB2A 遺伝子の転写制御機構の解明

DREB2A は乾燥と高温のどちらの条件でも働く重要な転写因子です。DREB2A 遺伝子自身の発現も乾燥や高温ストレスによって誘導されますが、その仕組みは明らかになっていませんでした。そこで、DREB2A 遺伝子の発現を制御しているプロモーターの配列を解析し、高温、乾燥それぞれに対する誘導性に関わる DNA 配列と、それらを介して転写を誘導する転写因子を探査しました。その結果、DREB2A 遺伝子の高

温誘導性は HSE 配列を介して、HsfA1 転写因子群によって制御されていることが明らかになりました。さらに HsfA1 は、DREB2A だけではなく、多くの高温誘導性遺伝子の発現を制御するマスタースイッチとして機能することが示されました（図 1 (1) ; Yoshida et al., 2011）。一方、DREB2A 遺伝子の乾燥ストレス誘導性は、ABRE と CE3 様配列によって制御されていました。植物の細胞内で、乾燥ストレスの情報は植物ホルモンの ABA を介する経路と、介さない経路で伝わりますが、DREB2A プロモーターには、両方の経路から情報が伝えられることが示されました（図 1 (2) ; Kim et al., 2011）。

さらに興味深いことに、DREB2A プロモーターには通常の生育条件での発現を抑えている DNA 配列があり、転写抑制因子 GRF7 がこの配列に作用して発現を抑制していることが見出されました。GRF7 を欠損した植物では、通常の生育条件で DREB2A だけでなく他の多くの乾燥誘導性遺伝子の発現量が上昇し、乾燥ストレスに対する耐性も高くなっていましたが、成長は抑制していました（図 1 (3) ; Kim et al., 2012）。この研究で明らかになった転写因子のプロモーター上のストレスの情報を統合するシステムは、周辺環境の変化に応じて成長量とストレス応答を効率的かつ的確に制御するために植物が獲得してきた機構の一つではないかと考えられます。

(2) DREB2A タンパク質の翻訳後制御機構の解明

乾燥や高温のストレス下では DREB2A 遺伝子の転写が誘導されますが、それだけでは標的遺伝子の発現を活性化させるのに十分ではありません。その理由として DREB2A タンパク質はストレスのない条件では素早く分解されていて、活性化するためには翻訳後制御が必要であることが示唆されました。しかしながら、詳しいことは明らかになっていませんでした。そこで、DREB2A のタンパク質の蓄積量と下流遺伝子の発現パターンとの関係を解析しました。その結果、ストレスを受けた植物内では、DREB2A 遺伝子の発現上昇に加え DREB2A の分解が抑えられることで、DREB2A タンパク質の蓄積量が増すことが確かめられ、DREB2A タンパク質の蓄積量は標的遺伝子の発現の強さと相関することも示されました。一方、DREB2A タンパク質の分解を阻害して蓄積させるだけでは、標的遺伝子の発現は活性化しないことも明らかになりました。以上のことから、DREB2A タンパク質の蓄積は標的

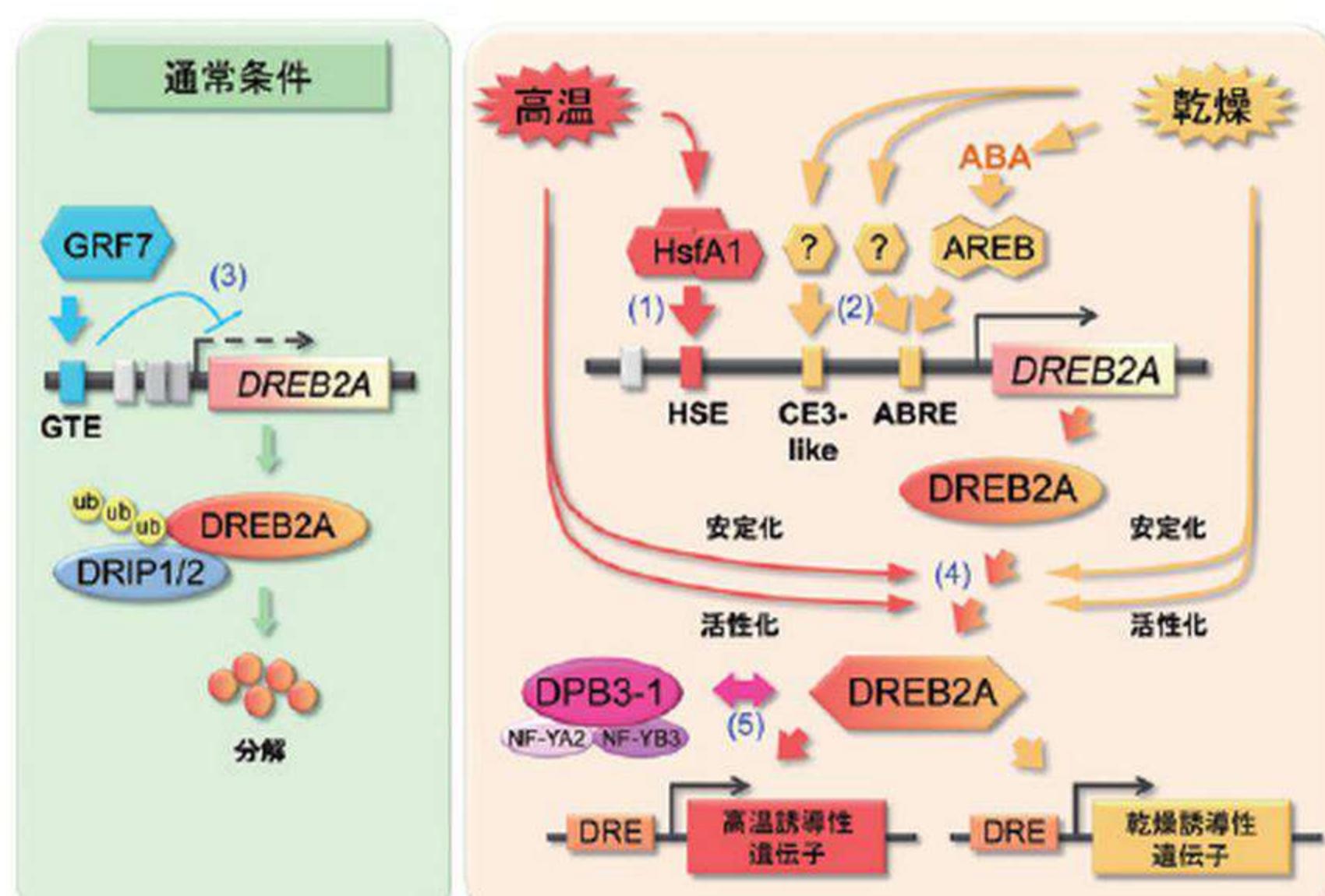


図 1 : DREB2A の多段階制御機構
乾燥や高温のストレス応答で機能する転写因子 DREB2A は、転写レベル、翻訳後レベルで多段階の制御を受ける。

遺伝子の発現誘導には十分ではないが、発現レベルの確保に必要であることが示唆されました。また、DREB2A の翻訳後制御には安定化と活性化という別々の段階の存在が考えられました (図 1 (4) ; Morimoto et al., 2013)。

DREB2A の活性化に関わるタンパク質を探索するため、新規相互作用因子としてシロイヌナズナのヒストン様タンパク質である DPB3-1 を同定しました。DPB3-1 遺伝子は高温ストレスに応答して誘導され、DPB3-1 過剰発現体では DREB2A の下流遺伝子のうち高温誘導性遺伝子の発現が増加し、高温耐性が向上しました。また、DPB3-1 は NF-Y のサブユニットとして機能し、DREB2A と DPB3-1 を含む NF-Y 複合体が協調的に働くことで下流遺伝子の発現を強めることができます (図 1 (5) ; Sato et al., 2014)。

(3) 作物を用いたストレス応答研究

本課題では、シロイヌナズナだけではなく、作物を用いた研究も行いました。ダイズにおける DREB2A の相同タンパク質として GmDREB2A;2 を同定し、転写、翻訳後レベルでの多段階の制御機構が植物間で保存されていることを明らかにしました (図 2A; Mizoi et al., 2013)。また、DPB3-1 過剰発現シロイヌナズナは高温耐性が向上した一方、生育が野生型とは変わらなかったことから、イネに DPB3-1 を導入して高温耐性を向上させる取り組みも行いました。

一方、GRF7 のように植物の生育とストレス応答のバランスをとる別の機構が、イネのストレス応答の解析から明らかになりました。転写因子のなかには、ストレスによって発現が抑制されるものがあります。その中の一つ OsPIL1 を解析した結果、細胞伸長に関わる遺伝子の発現を活性化することで伸長を促進する機能を持つことが示されました。植物の生育はストレス時に阻害されますが、このような現象の分子メカニズムとして、生育を促進する転写因子の発現抑制という積極的な機構が関わっていることが明らかになりました (図 2B; Todaka et al., 2012)。

3. 今後の展望

今後は、乾燥や高温ストレスに応答した DREB2A の安定化や活性化の分子機構の解明を糸口としてさらに解析し、ストレスの受容にいたる上流因子の探索を進めることで、ストレスの受容から耐性の獲得にいたる制御機構の全容が明らかになると期待されます。そのため、植物体内で DREB2A と相互作用するタンパク質のさらなる単離・同定を進めます。また、得られた知見を作物に生かす研究も続けて行きます。

Yoshida T, Ohama N, Nakajima J, Kidokoro S, Mizoi J, Nakashima K, Maruyama K, Kim JM, Seki M, Todaka D, Osakabe Y, Sakuma Y, Schöfl F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. (2011) *Arabidopsis* HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression. *Mol Genet Genomics* 286: 321-332.

Kim JS, Mizoi J, Kidokoro S, Maruyama K, Nakajima J, Nakashima K, Mitsuda N, Takiguchi Y, Ohme-Takagi M, Kondou Y, Yoshizumi T, Matsui M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. (2012) *Arabidopsis* GROWTH-REGULATING FACTOR 7 functions as a transcriptional repressor of ABA- and osmotic stress-responsive genes, including DREB2A. *Plant Cell* 24: 3393-3405.

Sato H, Mizoi J, Tanaka H, Maruyama K, Qin F, Osakabe Y, Morimoto K, Ohori T, Kusakabe K, Nagata M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. (2014) *Arabidopsis* DPB3-1, a DREB2A interactor, specifically enhances heat stress-induced gene expression by forming a heat stress-specific transcriptional complex with NF-Y subunits. *Plant Cell* 26: 4954-4973.

Todaka D, Nakashima K, Maruyama K, Kidokoro S, Osakabe Y, Ito Y, Matsukura S, Fujita Y, Yoshiwara K, Ohme-Takagi M, Kojima M, Sakakibara H, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. (2012) Rice phytochrome-interacting factor-like protein OsPIL1 functions as a key regulator of internode elongation and induces a morphological response to drought stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 15947-15952.

Mizoi J, Ohori T, Moriwaki T, Kidokoro S, Todaka D, Maruyama K, Kusakabe K, Osakabe Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. (2013) GmDREB2A;2, a canonical DEHYDRATION-RESPONSIVE ELEMENT-BINDING PROTEIN2-type transcription factor in soybean, is posttranslationally regulated and mediates dehydration-responsive element-dependent gene expression. *Plant Physiol.* 161: 346-361.

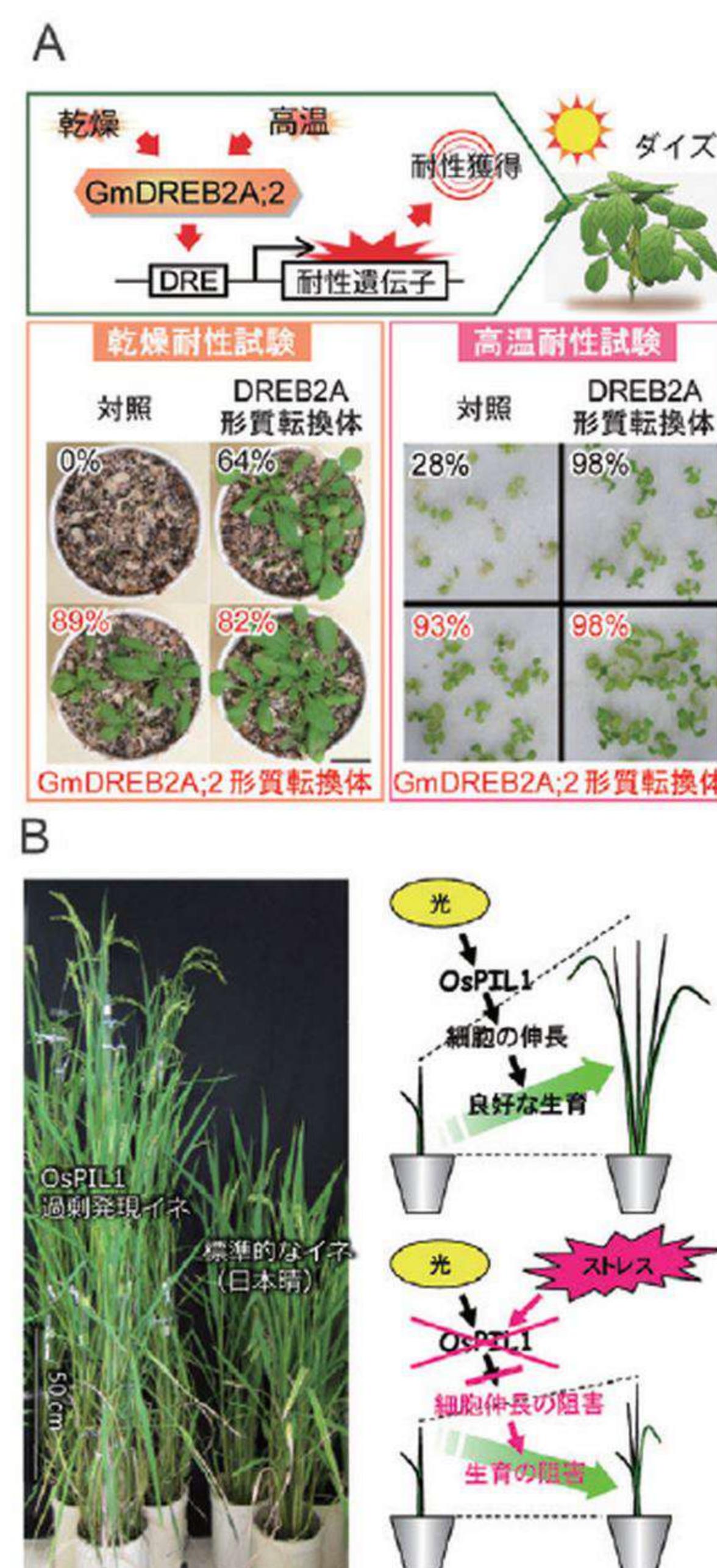


図 2：作物のストレス応答に関する研究結果
(A) ダイズの GmDREB2A;2 は、乾燥や高温ストレスに応答して耐性獲得に働く。GmDREB2A;2 を発現させることで、シロイヌナズナのストレス耐性が向上する。(B) OsPIL1 過剰発現イネと OsPIL1 の生育における役割のモデル図。(左) OsPIL1 をイネで過剰発現させると、背丈が高くなる。(右) OsPIL1 の発現変化が環境に応じたイネの生育制御に関わる。



環境変動に対する気孔開閉制御の分子機構

研究代表者：木下 俊則（名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所）

1. 研究のねらい

植物の表皮に存在する気孔は、光合成に必要な二酸化炭素の唯一の取り入れ口で、変転する環境に応答して開閉を行うことによってガス交換を調節し、植物の生存において極めて重要な働きを担っています。気孔を構成する一対の孔辺細胞は、太陽光、特にシグナルとして作用する青色光域の光に応答して気孔を開口させ、植物と大気間のガス交換を促進し、乾燥ストレスに曝されると、植物ホルモン・アブシジン酸（ABA）に応答して気孔を閉鎖し、植物体からの水分損失を防いでいます（図1）。これまでの研究により、青色光受容体フォトトロピンや細胞膜プロトンポンプなどの気孔開口に関わる主要因子が明らかになってきましたが、気孔開・閉のシグナル伝達については、未だ多くのことが不明です。本研究では、植物の環境応答のモデル細胞である気孔孔辺細胞を用いて、気孔開閉のシグナル伝達の分子機構を明らかにし、これまでの知見をもとに、気孔開度を人為的に調節した植物体の作出を進め、植物の環境突破における気孔の役割を明確にすることを目的として解析を進めました。

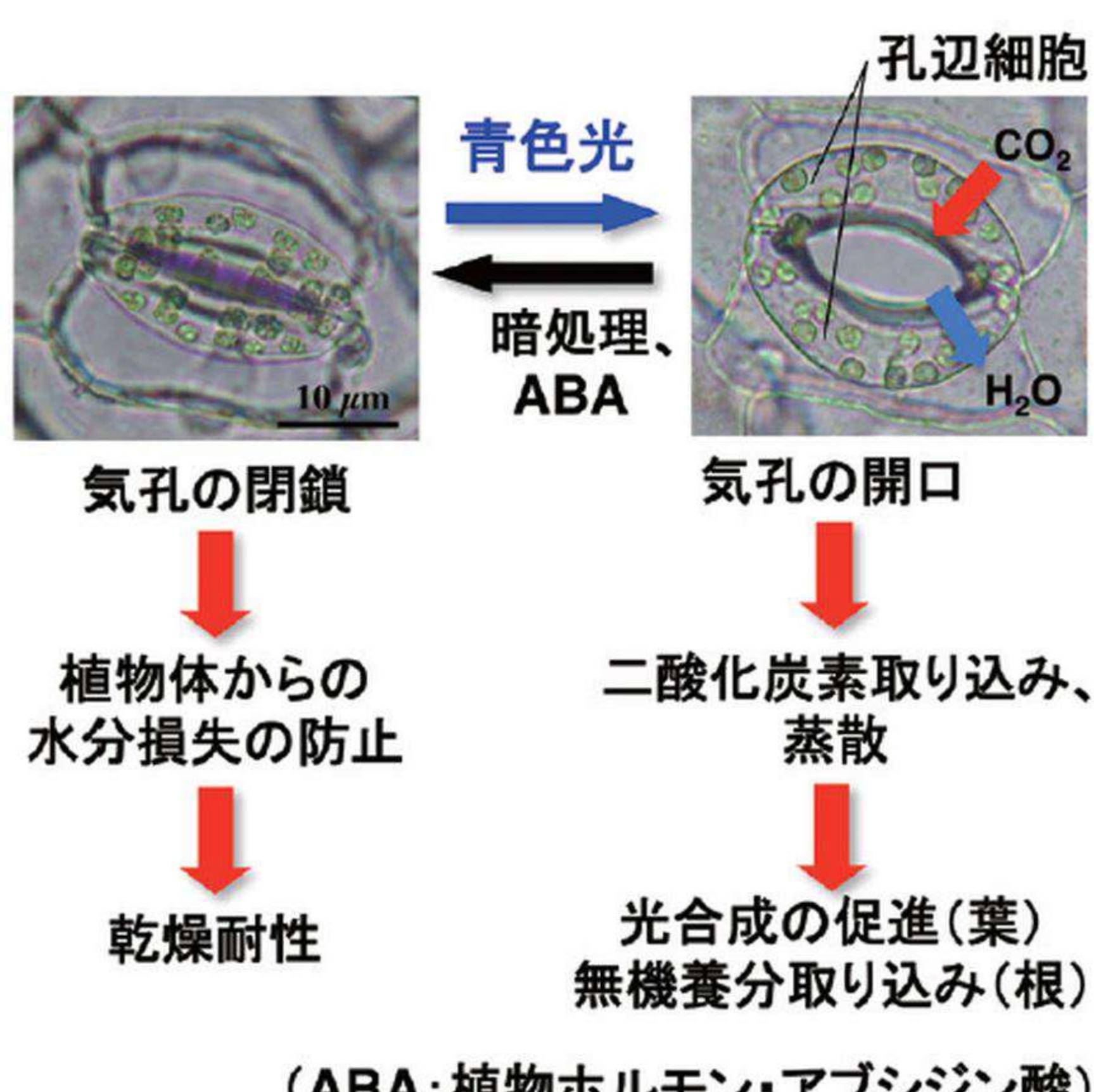


図1：気孔の動き

植物の表皮に存在する気孔は、環境刺激に応じて開度の調節を行うことで、植物のガス交換を制御している。

2. 主な研究成果

(1) 青色光による細胞膜プロトンポンプの活性化と青色光シグナル伝達の解明

気孔開口のキーエンザイムである細胞膜プロトンポンプは、青色光に依存してC末端から2番目のスレオニンがリン酸化されることにより活性化されています。これまで、プロトンポンプの活性化状態は、孔辺細胞プロトプラストを用いて調べられてきましたが、プロトプラスト調製には大量の植物体（シロイヌナズナの場合、5,000枚以上のロゼット葉）と8時間以上の調製時間が必要でした。そこで、プロトンポンプのC末端のリン酸化スレオニンに対する特異的抗体を用いた免疫組織染色法を確立し、一枚のロゼット葉由来の表皮を用いた孔辺細胞のプロトンポンプの活性化状態の可視化に成功しました（Plant Cell Physiol, 2011）。さらに、この免疫組織染色法を利用して、遺伝学的スクリーニングを開始しました。この遺伝学的スクリーニングでは、青色光に依存した孔辺細胞の細胞膜プロトンポンプのリン酸化を直接観察するため、気孔の青色光シグナル伝達に関わる因子が確実に単離できるものと期待されます。これまでに幾つかの候補変異体を単離し、今後、これら変異体の原因遺伝子同定と機能解析を進めています。

(2) 新奇気孔開度変異体の単離と機能解析

気孔開度に依存した葉の重量変動を指標に、気孔開度変異体のスクリーニングを行い、野生株と比べ重量変動の大きい新奇変異体`rtl1` (*rapid transpiration in detached leaves 1*)を単離しました。解析の結果、この変異体は気孔閉鎖を引き起こすABA存在下でも気孔が閉鎖しないABA非感受性の表現型を示し、Mg-キラターゼHサブユニット(CHLH)のミスセンス変異が原因となっていることが明らかとなりました。CHLHは、クロロフィル合成に関わるMg-キラターゼのサブユニットの一つであり、近年ABA受容体としても機能することが報告されています。しかし、本当にABA受容体として機能しているかどうか、また、ABAシグナル伝達に関与しているのかどうかについては、依然多くの議論がありました。そこで、組換えCHLHを用いた詳細なABA結合実験を行った結果、CHLHはABAと特異的に結合しないことが明らかとな

り、CHLH は気孔の ABA シグナル伝達には関与するが、ABA 受容体そのものとしては機能していないと結論し、これまで混沌としていた CHLH の ABA シグナル伝達における役割が明確となりました (J Plant Res, 2011)。加えて、赤外線サーモグラフィを用いた気孔開度変異体のスクリーニングにより単離した *lost1* (*low temperature with open-stomata 1*) は、クロロフィル合成酵素 Mg- キラターゼの 1 サブユニット 1 のミスセンス変異体であることが明らかとなり、Mg- キラターゼが複合体として気孔の ABA シグナル伝達に関与することが示されました (J Plant Res, 2013)。

また、青色光受容体フォトトロピンの制御する葉の形状を指標にした気孔開度変異体のスクリーニングで単離した変異体の一つの解析を進めていく過程で花成ホルモンとして知られる *FLOWERING LOCUS T (FT)* が孔辺細胞にも発現しており、光による気孔開口にポジティブに影響を与えることから、気孔開度が日長（光周性）によって調節される新たな調節機構と、*FT* の多様な生理機能が明らかとなりました (Curr Biol, 2011)。さらに、光周性花成誘導に関わることが知られている主要因子 (*CRY*, *GI*, *CO*, *TSF*, *SOC1* 等) の気孔開度制御への関与についても網羅的な解析を行い、これら因子も気孔開度制御に関わることがわかりました (Plant Physiol, 2013; Plant Cell Physiol, 2015)。こういった光周性因子による気孔開度制御には孔辺細胞における遺伝子発現が関与することが示唆されましたので、現在、その分子機構の解明を進めています。

(3) 気孔開度制御による植物の生育に対する影響

これまでに明らかとなっている気孔開口反応に関わる主要因子（青色光受容体フォトトロピン、細胞膜プロトンポンプ、内向き整流性 K^+ チャネル等）を孔辺細胞のみで発現量を上昇

させた植物体を作出し、表現型の観察を行ったところ、プロトンポンプ過剰発現株において、光による気孔開口が通常よりも 25% 大きくなり、光合成活性が増加し、植物の生産量が 1.4 ~ 1.6 倍増加することが明らかとなりました (図 2)。一方、プロトンポンプ過剰発現株は、野生株と同様な乾燥応答や乾燥耐性が見られました。以上の結果は、気孔開度が光合成や生産量の制限要因になっていることを初めて実証するものであり、気孔の開口を大きくすることが植物の生産量を増加させることに有用であることを示しています (PNAS, 2014)。この成果については特許申請も行いました。

また、これまでの研究により、気孔の ABA シグナル伝達に関与することが明らかとなった CHLH を孔辺細胞での発現を高めることで、ABA に対する感受性が増加することがわかりました。そこで、CHLH 過剰発現株の乾燥耐性試験を行ったところ、野生株が枯死してしまう乾燥ストレス条件においても、CHLH 過剰発現株では生存しており、気孔の ABA に対する感受性を高めることで植物に乾燥耐性を付与できることが明らかになりました (Front Plant Sci, 2013)。

3. 今後の展望

本研究により、気孔開閉に関わるシグナル伝達の一部が明らかとなりました。しかし、未だ未解明の部分も多く、より詳細な解析を引き続き進めていく予定です。また、これらの基礎的な研究結果に基づき、人為的に気孔開度を制御することにより、植物の光合成活性や乾燥耐性を向上させることができます。モデル植物であるシロイヌナズナにおいて成功しました。今後、これらの技術の農作物やバイオマス植物などの実用的な植物への適用が期待されます。

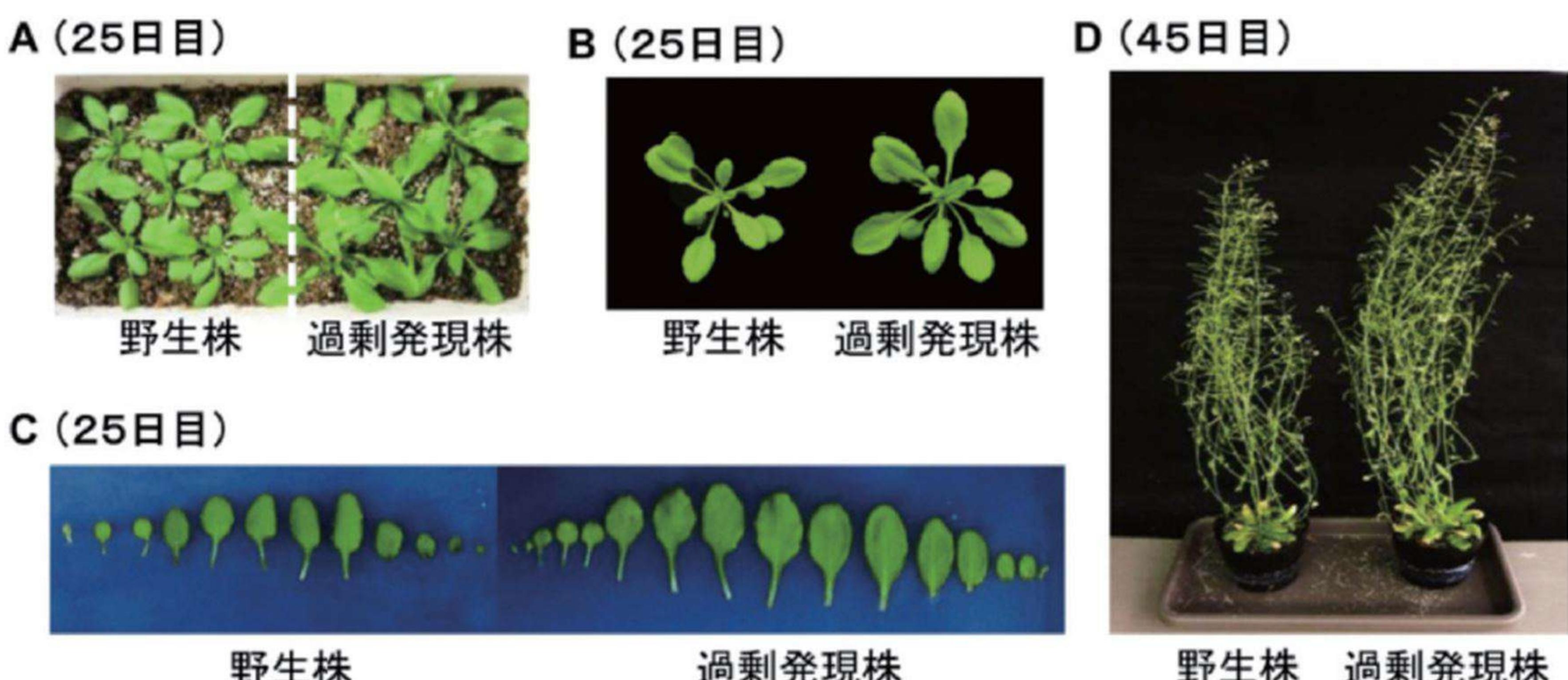


図 2：シロイヌナズナの野生株とプロトンポンプ過剰発現株の植物体の表現型の比較
細胞膜プロトンポンプ過剰発現株は、野生株と比べて、ひと回り大きく育ち (A-C)、播種後 25 日目において地上部の生重量と乾燥重量が 42 ~ 63% 増加し、播種後 45 日目においては、花茎が長くなり、多くの花をつけ、種子の収量が増加する (D)。種子や莢を含む花茎の乾燥重量は、野生株と比べて 36 ~ 41% 増加する。

栄養応答における新規転写後制御機構の解明

研究代表者：内藤 哲（北海道大学大学院農学研究院）

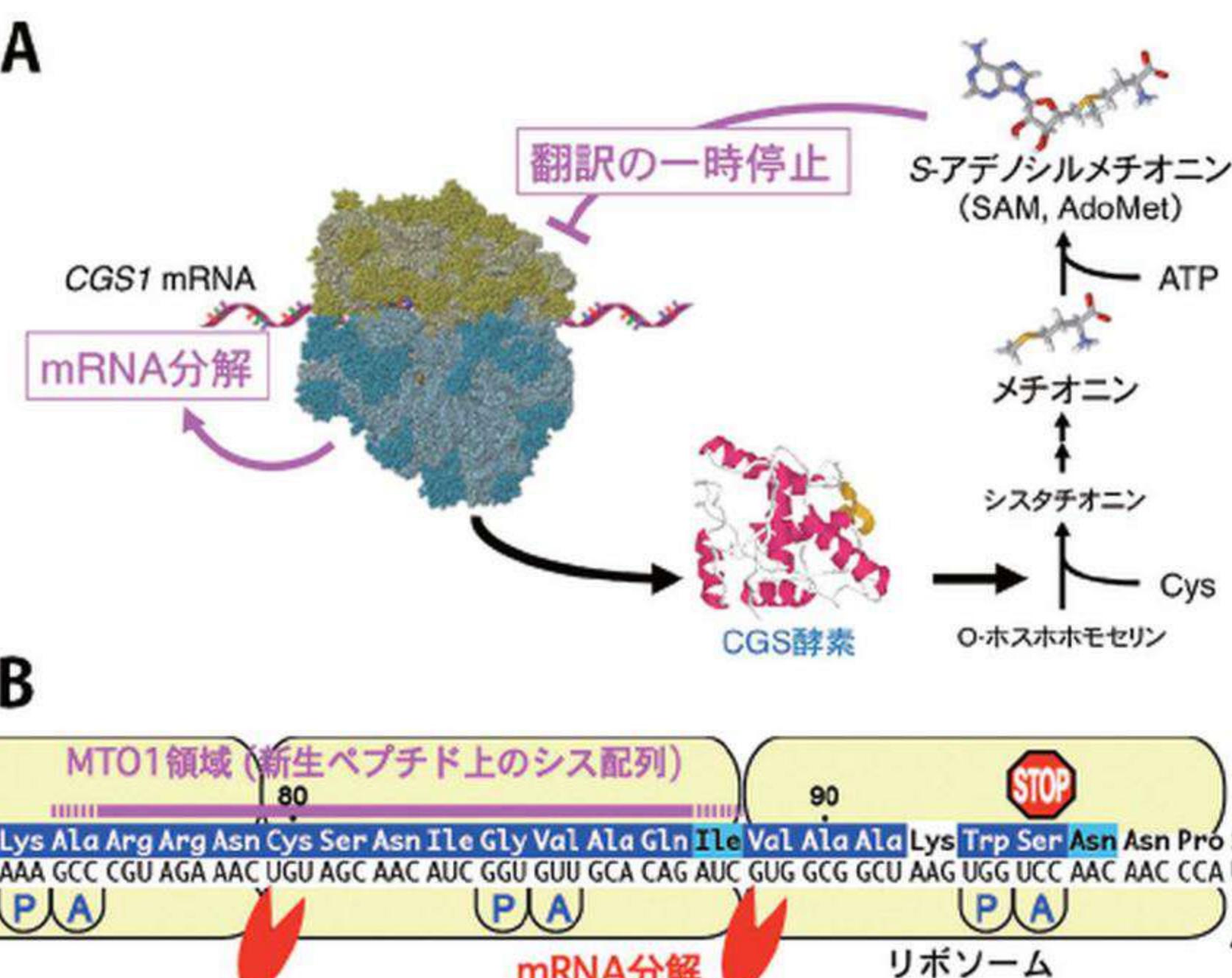


1. 研究のねらい

様々な環境条件下で植物が成長するには、環境変動に対し細胞内の恒常性を維持する機構が必要です。そのためには細胞内環境を機敏に感知して、それを即座に遺伝子発現制御に反映させる分子メカニズムがなくてはなりません。私たちは、シロイヌナズナのメチオニン生合成制御をモデル系として、「リボソームを舞台とした細胞応答」という観点からこの問題を取り組んできました。

メチオニンはタンパク質を構成するのみならず、S-アデノシルメチオニン (SAM) を経て、メチル基供与体となる他、ポリアミン合成、さらにエチレン合成にも関わる重要な化合物です。植物におけるメチオニンの生合成はシスタチオニン γ -シンターゼ (CGS) の段階でフィードバック制御されますが、CGS はアロステリック酵素ではなく、その制御機構は長らく謎でした。私たちは、CGS をコードする CGS1 遺伝子の発現が、mRNA の分解段階でフィードバック制御されており、しかもこの制御に MTO1 領域と名付けた CGS 自身のアミノ酸配列がシスに作用するというユニークな制御機構の存在を明らかにしています（図 1）。

A



B



図 1: CGS1 遺伝子発現制御と MTO1 領域

(A) メチオニンの代謝産物である SAM が過剰となると、CGS1 mRNA の翻訳中にリボソームが停止し、これと共に mRNA 分解が誘導される。(B) SAM に応答した翻訳停止には MTO1 領域のアミノ酸配列がシス因子として機能し、リボソームは Ser-94 コドンで停止する [STOP]。後続のリボソームが追突し、9 コドン間隔で数珠つなぎ状態になり、各リボソームの 5' 端近くで mRNA 分解が誘導される。

この制御はコムギ胚芽の試験管内翻訳系で再現されます。SAM に応答して MTO1 領域直後の Ser-94 コドンで一時的な翻訳伸長の停止が起こり、これと共に CGS1 mRNA が分解されます。私たちは、この一連の反応を調べることで、植物が持つ新規な遺伝子発現制御の戦略を解き明かそうと考えています。

2. 主な研究成果

(1) SAM に応答して翻訳停止したリボソームの状態

リボソームで翻訳された新生ペプチドは、大サブユニットを貫く「出口トンネル」を通って出てきます。出口トンネルには新生ペプチドの 30-40 アミノ酸残基が入ります。MTO1 領域は十数アミノ酸残基の長さですから（図 1B）、シス因子である MTO1 ペプチドは出口トンネル内で作用していることになります。ペジレーション法を用いた解析により、SAM に応答して翻訳停止したリボソームでは、MTO1 領域を含む新生ペプチドが出口トンネル内で縮んだコンフォメーションを取るとともに、rRNA の側にもコンフォメーション変化が起きていることを見いだしました。一方、MTO1 領域内にアミノ酸置換を持ち、SAM に応答した CGS1 の発現制御が起こらない *mto1* 変異を導入した mRNA では、SAM の有無にかかわらず、そのような変化は見られませんでした。CGS1 mRNA を翻訳中のリボソームが細胞内の SAM 濃度のセンサーとなることを示しました（Onoue et al., 2011）。

(2) 翻訳停止に伴うリボソームの渋滞

SAM に応答してリボソームが翻訳停止すると、後続のリボソームが追突して数珠つなぎになります。同義コドン置換によりペプチジル-tRNA の電気泳動度が変化することを指標として、追突したリボソームの位置を解析しました。その結果、追突した 1 つ目、2 つ目のリボソームの位置を、それぞれ、Val-85、Ala-76 と同定しました。追突したリボソームが 9 コドン間隔で数珠つなぎになっていることがわかりました（図 1B）。

抗生物質のピュロマイシンは、アミノアシル-tRNA のアナログとして作用し、その反応速度はリボソームのペプチジルトランスフェラーゼ活性の指標となります（ピュロマイシ

ン反応)。数珠つなぎになったリボソームについて解析した結果、Ser-94 で翻訳停止したリボソームのピュロマイシン反応は非常に遅くなっています。一方、追突したリボソームのピュロマイシン反応は遅かったものの、先頭のリボソームほどには遅くないことを明らかにしました。

CGS1 mRNA における翻訳停止と共に役割を果たす mRNA 分解では、複数の分解中間体 RNA を生じます。分解中間体の末端位置を詳細に解析した結果、数珠つなぎになったリボソームの位置と極めて良く対応していることが示されました(図 1B)。SAM に応答して翻訳停止したリボソーム、および追突したリボソームが mRNA 分解の誘導に重要な役割を演じていると考えられます(Yamashita et al., 2014; 図 2)。

リボソームは様々な要因で翻訳停止を起こすことが明らかになりましたが、翻訳停に伴って渋滞したリボソームの状態についての研究はまだ進んでいません。終止コドンでの正常な翻訳終結においてもリボソームの渋滞が起こりますが、mRNA 分解が引き起こされるという報告はありません。一方、終止コドンを持たない異常な mRNA を翻訳すると、リボソームは異常を検知してそのような mRNA を分解しますが、このときは、追突したリボソームに対応すると考えられる複数の RNA 末端が報告されています。追突したリボソームが mRNA 分解を誘導する・しないは、いかにして決まるのか。私達の得た知見は、こうした問題を解く先駆けとなるものです。

(3) *CGS1* mRNA 分解における poly (A) 鎖長の変化

一般に、mRNA の分解において poly (A) 鎖の除去が律速段階であるとされます。SAM に応答した *CGS1* mRNA 分解について解析した結果、*CGS1* mRNA 分解が誘導されない条件下では、*CGS1* mRNA の poly (A) 鎖は 50-80 塩基であったのに対し、*CGS1* mRNA 分解を誘導すると、poly (A) 鎖が 140-150 塩基のものと、10-30 塩基のものが蓄積し、前者は全長 *CGS1* mRNA、後者は mRNA 分解中間体に対応していることがわかりました。翻訳中の mRNA は、キャップ結合タンパク質と poly (A) 結合タンパク質の相互作用により環状構造をとっています。翻訳終結に伴って poly (A) 分解酵素がリクルートされると考えられています。翻訳停止した状態では、poly (A) 分解酵素がリクルートされないため、poly (A) 鎖が長いまま保たれ、いつたん *CGS1* mRNA 分解が起ると poly (A) 鎖が急速に短縮すると考えられます(Yamashita et al., 2013; 図 2)。

3. 今後の展望

リボソームを舞台とした遺伝子発現制御は、古くは大腸菌のトリプトファンオペロンのリーダー領域におけるアテニュエーションが有名ですが、近年、原核生物のリーダーペプチド、あるいは真核生物の上流 ORF による翻訳段階での制御の研究が進んできました。試験管内翻訳系は、こうした制御

を明らかにする上で有効な研究方策となります。私達は、シロイヌナズナの芽生えからカルス培養を経て試験管内で翻訳する系を確立しました(Murota et al., 2011)。これにより試験管内翻訳実験にシロイヌナズナの遺伝学を導入することが可能となり、リボソームを舞台とした細胞応答の研究で有用な実験系になると期待されます。

CGS1 を含めてリボソームを舞台とした制御では細胞内の代謝環境に応答した制御が多く見られ、リボソームが細胞内の様々な状態を検知するメカニズムが生物界に広く存在すると考えられます。真核生物においてリボソームは細胞質で翻訳を行うことから、リボソームを舞台とした細胞応答では細胞質の状態に迅速に対応した遺伝子発現制御を行うことが可能であると考えられます。

Onoue N, Yamashita Y, Nagao N, Goto DB, Onouchi H, Naito S. (2011) S-Adenosyl-L-methionine induces compaction of nascent peptide chain inside the ribosomal exit tunnel upon translation arrest in the *Arabidopsis CGS1* gene. *J. Biol. Chem.* 286: 14903-14912.

Murota K, Hagiwara-Komoda Y, Komoda K, Onouchi H, Ishikawa M, Naito S. (2011) *Arabidopsis* cell-free extract, ACE, a new in vitro translation system derived from *Arabidopsis* callus cultures. *Plant Cell Physiol.* 52: 1443-1453.

Yamashita Y, Lambein I, Kobayashi S, Onouchi H, Chiba Y, Naito S. (2013) A halt in poly (A) shortening during S-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest in *CGS1* mRNA of *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet. Syst.* 88: 241-249.

Yamashita Y, Kadokura Y, Sotta N, Fujiwara T, Takigawa I, Satake A, Onouchi H, Naito S. (2014) Ribosomes in a stacked array: Elucidation of the step in translation elongation at which they are stalled during S-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest of *CGS1* mRNA. *J. Biol. Chem.* 289: 12693-12704.

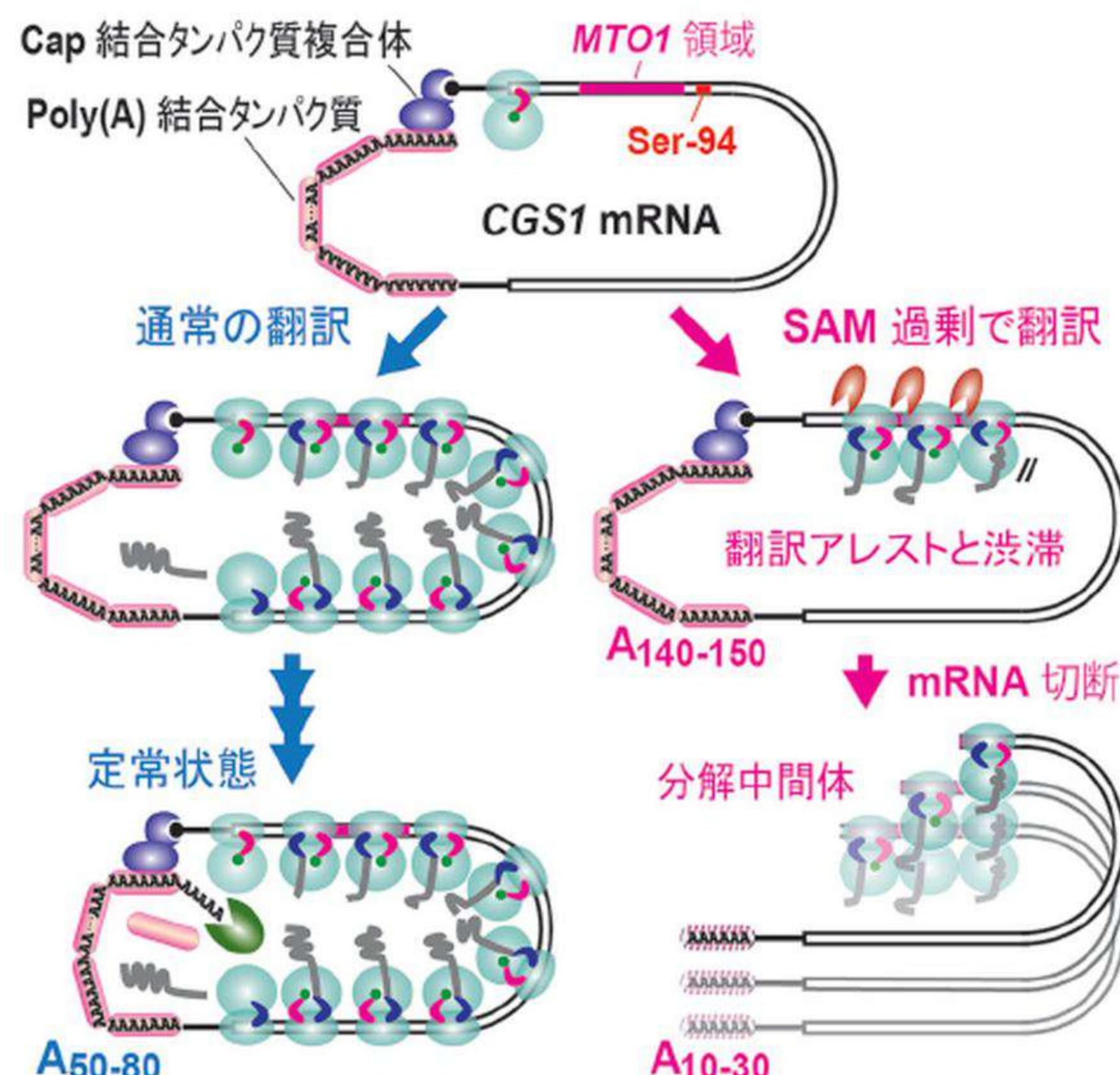


図 2 : *CGS1* mRNA 分解と poly (A) 鎖
翻訳中の mRNA は cap 結合タンパク質複合体と poly (A) 結合タンパク質を介して環状構造をとる。左の経路：通常条件では、mRNA は活発に翻訳され、ポリソームを形成する。翻訳終結すると、poly (A) 鎖分解酵素（緑の Pacman）が呼び込まれて poly (A) 鎖は徐々に短縮化され、定常状態では 50-80 塩基となる。右の経路：SAM が過剰の場合は Ser-94 コドンで翻訳停止し、後続のリボソームが渋滞を引き起こす。このときは、翻訳終結が起こらないので poly (A) 鎖の短縮化が抑制され、140-150 塩基の長い poly (A) 鎖が保持される。mRNA の切断（赤の Pacman）に伴って poly (A) 鎖は急速に短縮化される。

窒素飢餓環境に対するイネの生存戦略

研究代表者：山谷 知行（東北大学研究推進本部）

研究分担者：草野 都（筑波大学生命環境系／理化学研究所環境資源科学研究センター）



1. 研究のねらい

本研究では、窒素飢餓環境に対するイネの生存戦略を解明することを目的としています。多くの畑作物とは異なり、水田で成育するイネの主な窒素源は NH_4^+ です。また、穂に蓄積する窒素の 80% 以上は、老化器官からの転流に由来しています。このように、窒素は収量を規定する非常に重要な栄養素です。実際に、単位面積当たりの窒素吸収量が、単位面積当たりのイネの生産性を決定している結果も示されています。さて、この NH_4^+ の供給が極端に制限された環境で、例えば施肥に依存せず灌漑水や土壤溶液中の希薄な NH_4^+ に依存した場合、イネはどのような生存戦略をとり世代を完結できるのでしょうか？この窒素環境への応答機構を解明し、イネの窒素飢餓環境に対する突破力を明らかにするために、(1) NH_4^+ の過不足情報を受容する機構、(2) NH_4^+ の吸収・同化機構、(3) 窒素環境が成長や生産性に関わる機構の研究を進めてきました。窒素利用全体を律速する NH_4^+ の同化には、三種類のサイトゾル型グルタミン合成酵素 (GS1) と二種類の NADH グルタミン酸合成酵素 (GOGAT) が関わっています。イネの一生を、飢餓環境での成育を模倣できると想定されるこれらの酵素の遺伝子破壊変異体を用いて、圃場での表現型の観察やシステムズ植物学的手法もあわせ、イネのもつ環境突破力の解明を進めました。最終年度は、北大の佐竹先生との共同研究により、穎果（種子）へのショ糖の輸送に関するモデリングを行いました。将来的に、穎果への窒素輸送のモデリングを行い、他のイネ科作物の生産性への応用も視野に入れています。

2. 主な研究成果

(1) NH_4^+ の過不足情報を受容する機構

イネの根において NH_4^+ 情報の受容機構に関する候補分子の一つと考えられるのが、アミノ酸結合ドメインとタンパク質リン酸化ドメインを持つ ACTPK です。このうちの ACTPK1 は、 NH_4^+ 供給の情報に応答し、相互作用をすると思われる NH_4^+ トランスポーター (AMT) 1;2 や 1;3 のリン酸化反応を介して、 NH_4^+ 吸収を抑制する機構に寄与している可能性を示しました。しかし、 NH_4^+ の過不足情報を受

容する機構の解明には、至りませんでした。

(2) NH_4^+ の吸収・同化機構

イネ根では、 NH_4^+ の吸収に AMT1;1 から 1;3 の分子種が関わっていることは既に判明している。本研究では、吸収された NH_4^+ の初期同化に、根の表皮・外皮細胞に局在している GS1;2 が機能していることや、この遺伝子破壊変異体は穂数の抑制に結びつくことを明らかにしました (Funayama et al., 2013)。また、穂数の抑制は、リン酸欠乏で内在性ストリゴラクトン含量が増加することに起因している状況とは異なり、内在性のストリゴラクトンには依存しないことが判明しました。つまり、GS1;2 そのものの存在が関わっていて、リグニン合成や腋芽の伸長に重要な機能を担っていることを示すことができました (Ohashi et al., 2015a)。GS1;2 変異体では、イネではほとんど蓄積することが認められていないでん粉粒を、発達中の葉身に蓄積することも観察されました。トランスクリプトーム解析の結果から、窒素代謝のみならず炭素代謝なども変異体では極端に低下していることが判明しました。また、導管を介してグルタミンとともに根から地上部へ長距離輸送されるアスパラギンの合成に、根で主に発現するアスパラギン合成酵素 (AS) 1 が主要な機能を担うことも、逆遺伝学的解析から明らかにできました (Ohashi et al., 2015b)。

穂を構成する窒素の約 80% は、老化器官からの転流に由来しています。この際、篩管を介して輸送される窒素の転流形態は、グルタミンとアスパラギンであることがわかつていました。逆遺伝学的解析から、このグルタミンの合成に、GS1;1 と NADH-GOGAT2 が共役して機能していることがわかりました。さらに GS1;1 遺伝子欠損変異体を用いたメタボローム解析から、変異体では C 代謝と N 代謝が大きく乱れていることがわかり、代謝バランスの崩れが致死的な表現型の原因であることが明らかになりました (Kusano et al., 2011)。これまでの遺伝子破壊変異体を用いた研究成果を総合し、根における NH_4^+ の初期同化には GS1;2 と NADH-GOGAT1 が (図 1)、老化器官からの窒素転流と若い器官での再利用には GS1;1 と NADH-GOGAT2 が機能していること (図 2) がほぼ判明し、総説を公表しました (Yamaya and Kusano, 2014)。なお、老化葉身における

アスパラギンの合成には、AS2 が関わっている予備的な結果も得られました。

(3) 窒素環境が成長や生産性に関わる機構

イネは、窒素欠乏条件におかれると、栄養成長期では地上部の成育を抑制して根や根毛の伸長を促進することや分けつ数を減少すること、生殖成長期では一穂あたりの粒数を減少することなどが、経験的にわかっていました。しかし、その分子機構は不明でした。本研究で、GS1 や NADH-GOGAT 遺伝子変異体を用いた解析から、窒素飢餓環境でのイネは、利用する窒素の総量を、穂数や粒数を減少させることによって制御して、次世代となる正常な種子を残す努力をしていることが明らかになり、窒素代謝がその鍵を握っていることが強く示唆されました。イネは、窒素の供給量に応じて、個体の、特に分けつ数を制御することで老化器官からの窒素転流を効率よく活かし、次世代の正常な種子を確保する、いわゆる窒素欠乏環境を突破する能力を発揮しているものと推察されます。

3. 今後の展望

本研究期間内に解明できなかった窒素情報受容機構の研究を、今後とも継続します。また、まだ機能が十分にわかつていない、穎果特異的に発現する GS1;3 の解析を、登熟過程と発芽過程に焦点をあてて進める予定です。アスパラギンの代謝は、グルタミン代謝に比較してかなり遅れていますが、輸送形態としてのアスパラギンの重要性は広く認識されています。アスパラギンのシンク器官における再利用も重要な課題であり、イネに二種類存在するアスパラギナーゼの機能解

明も重要な課題になります。また、老化器官から穂への窒素転流に関するモデリングを、北大の佐竹先生との共同研究で進めたいと考えています。窒素代謝はイネの生産性を規定していることから、その制御機構の解明は極めて重要だと思われます。この 5 年間で、かなりの部分を明らかにすることができますが、まだ不明な点もたくさん残されています。筆者自身は定年退職しましたので、自分では研究できませんが、今後の研究進展に、期待しています。

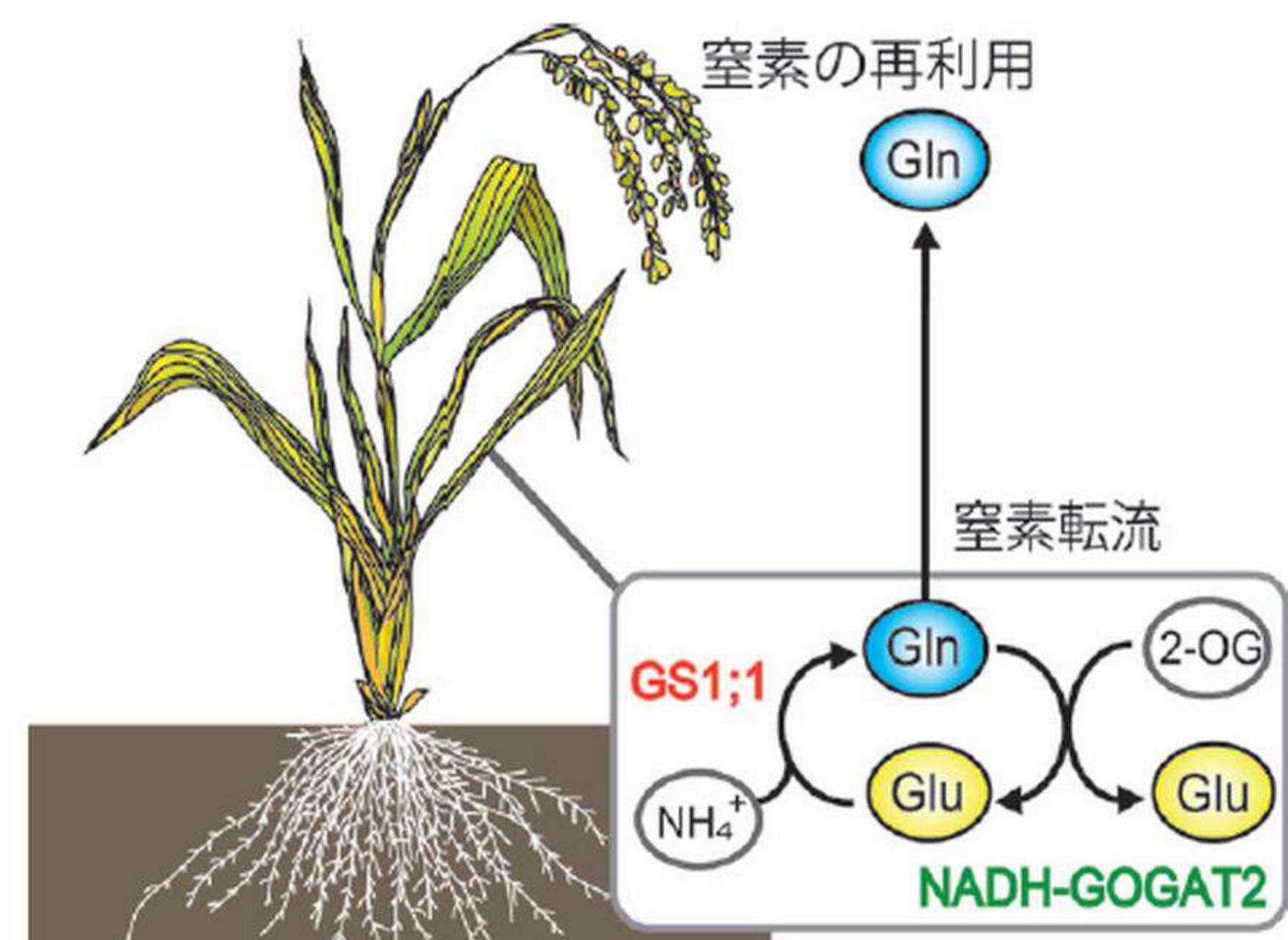
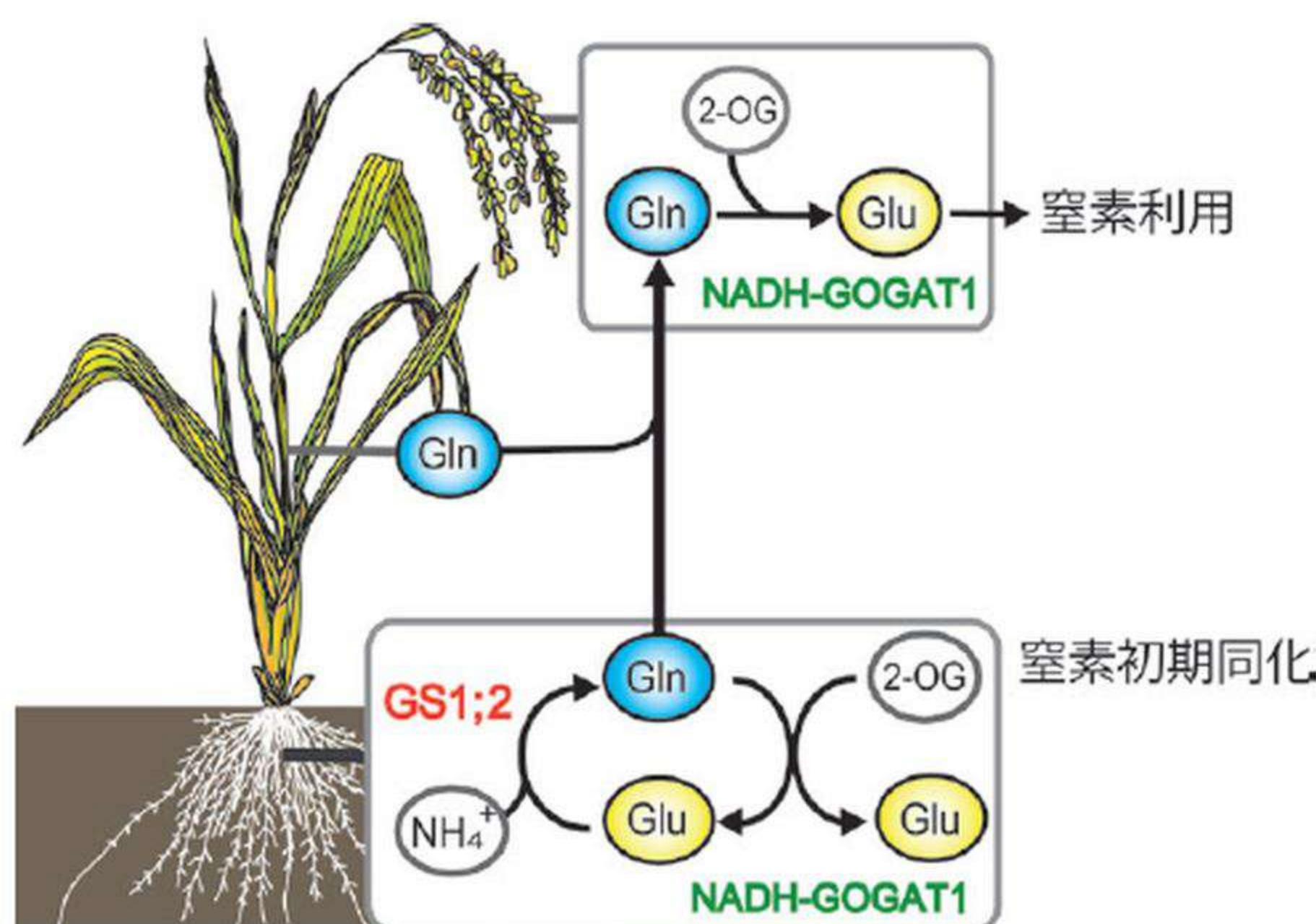
Funayama K, Kojima S, Tabuchi-Kobayashi M, Sawa Y, Nakayama Y, Hayakawa T, Yamaya T. (2013) Cytosolic glutamine synthetase1;2 is responsible for the primary assimilation of ammonium in rice roots. *Plant Cell Physiol.* 54: 934-943.

Ohashi M, Ishiyama K, Kusano M, Fukushima A, Kojima S, Hanada A, Kanno K, Hayakawa T, Seto Y, Kyozuka J, Yamaguchi S, Yamaya T. (2015a) Lack of cytosolic glutamine synthetase1;2 in vascular tissues of axillary buds causes severe reduction in their outgrowth and disorder of metabolic balance in rice seedlings. *Plant J.* 81: 347-356.

Ohashi M, Ishiyama K, Kojima S, Konishi N, Nakano K, Kanno K, Hayakawa T, Yamaya T. (2015b) Asparagine synthetase1, but not asparagine synthetase2, is responsible for the biosynthesis of asparagine following the supply of ammonium to rice roots. *Plant Cell Physiol.* 56: 769-778.

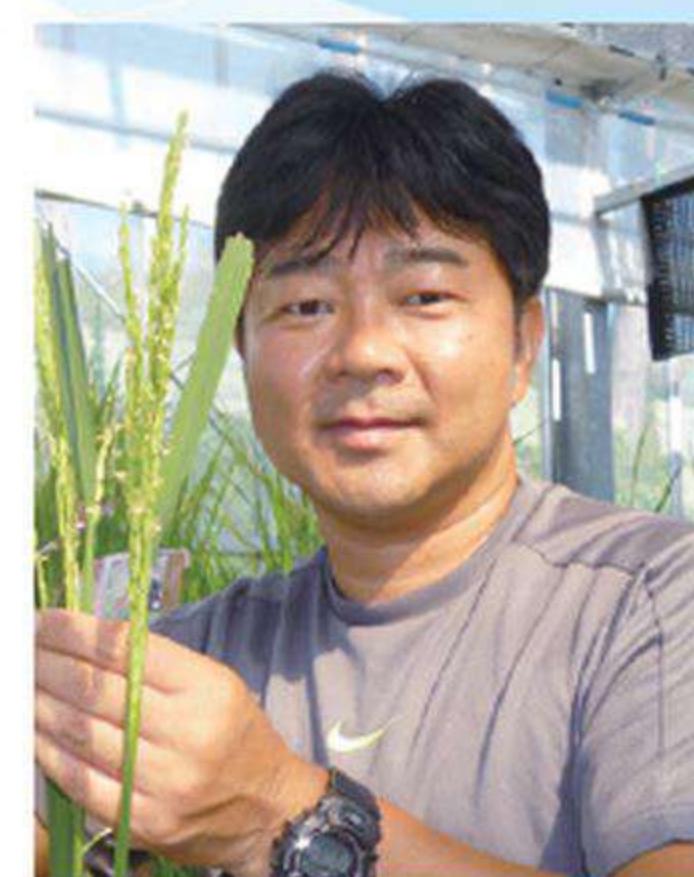
Yamaya T, Kusano M. (2014) Evidence supporting distinct functions of three cytosolic glutamine synthetases and two NADH-glutamate synthases in rice. *J. Exp. Bot.* 65: 5519-5525.

Kusano M, Tabuchi M, Fukushima A, Funayama K, Diaz C, Kobayashi M, Hayashi N, Tsuchiya YN, Takahashi H, Kamata A, Yamaya T, Saito K. (2011) Metabolomics data reveal a crucial role of cytosolic glutamine synthetase 1;1 in coordinating metabolic balance in rice. *Plant J.* 66: 456-466.



深水条件下における節間伸長の分子機構

研究代表者：芦苅 基行（名古屋大学生物機能開発利用研究センター）



1. 研究のねらい

本研究では、不良環境の中での水ストレスについて焦点を絞り、イネの多様性を用いて水ストレス耐性についての分子メカニズムを明らかにすることを目的としました。具体的にはイネ品種間の多様性や栽培種と近縁野生種との多様性を利用することにより、これまで変異体では検出・同定が困難であった水ストレス回避耐性、特に深水条件下における節間伸長性を制御する遺伝子を同定し、分子生物学的・生化学的手法を用いてその分子メカニズムを解明すると共に、それぞれの遺伝子の相互作用を明らかにすることで、植物の耐水性メカニズムを明らかにすることを目的としました。

2. 主な研究成果

(1) イネ第1染色体に座乗する浮きイネ性 QTL 同定と機能解析

第1染色体に座乗するQTLの高精度連鎖解析を行い、ジベレリン合成酵素遺伝子GA20ox2を同定しました。発現解析の結果、浮きイネでは深水依存的にGA20ox2遺伝子の発現が著しく上昇することが明らかになりました。そこで、浮きイネのGA20ox2遺伝子を浮きイネ準同質遺伝子系統(NIL12)に導入したところ、深水依存的に節間伸長したことから、GA20ox2遺伝子が第1染色体に座乗する浮きイネ性QTLであると結論づけ、SK4と命名しました。また浮きイネのGA20ox2は非浮きイネのGA20ox2に比べ触媒活性が高いことが明らかになりました。以上の結果より、浮きイネでは、深水依存的に活性の高いジベレリン合成酵素遺伝子(GA20ox2遺伝子)が節間特異的に発現することでGAが生産され、節間伸長を誘導していることが示唆されました。また、植物生理学的解析、分子生物学的解析を行い、浮きイネでは、深水依存的にエチレンが蓄積し、エチレン情報伝達因子であるイネEIN3(OsEIL1a)がGA20ox2遺伝子のプロモーターに結合し、GA20ox2遺伝子の発現を誘導することが明らかになりました(図1)。

(2) イネ第3染色体に座乗する浮きイネ性 QTL の同定と機能解析

第3番染色体上 QTL の高精度連鎖解析を行い、機能未知

の遺伝子Snorkel3(SK3)遺伝子を同定しました。SK3の塩基配列比較を行った結果、浮イネC9285型SK3(SK3-C9)と一般的なイネT65型SK3(SK3-T65)との間にはCDS内に1bpの挿入/欠失があり、異なるタンパク質が翻訳されることが予想されました。定量的PCRによる発現解析により、深水処理によってSK3遺伝子の発現が顕著に上昇することが明らかになりました。この結果はpSK3::GUS形質転換体を用いた発現調査においても支持されました。SK3-OX、SK3-RNAi形質転換体の表現型の調査によって、SK3遺伝子の発現上昇は早期節間伸長に必要であるがそれだけではなく、GAの存在下でSK3が機能することで早期節間伸長が誘導されることが明らかになりました。

(3) 深水依存的な節間伸長を制御する新規 QTL の検出

これまでの研究で浮きイネの深水依存的な節間伸長を司るQTLをイネ第1、3、12染色体の3カ所見いだし、交配と分子間カマーカー選抜を用いて非浮きイネ品種T65にこれら3つのQTL領域を導入したQTL集積系統NIL1-3-12を作出しました。このNIL1-3-12は深水依存的に節間伸長を行いますが、その効果は約70%程度で、浮きイネ系統C9285の節間伸長性には及ばない事から、この3つのQTLでは全ての浮きイネ性を説明できないことが明らかになりました。そこでNIL1-3-12と浮きイネの深水反応性の

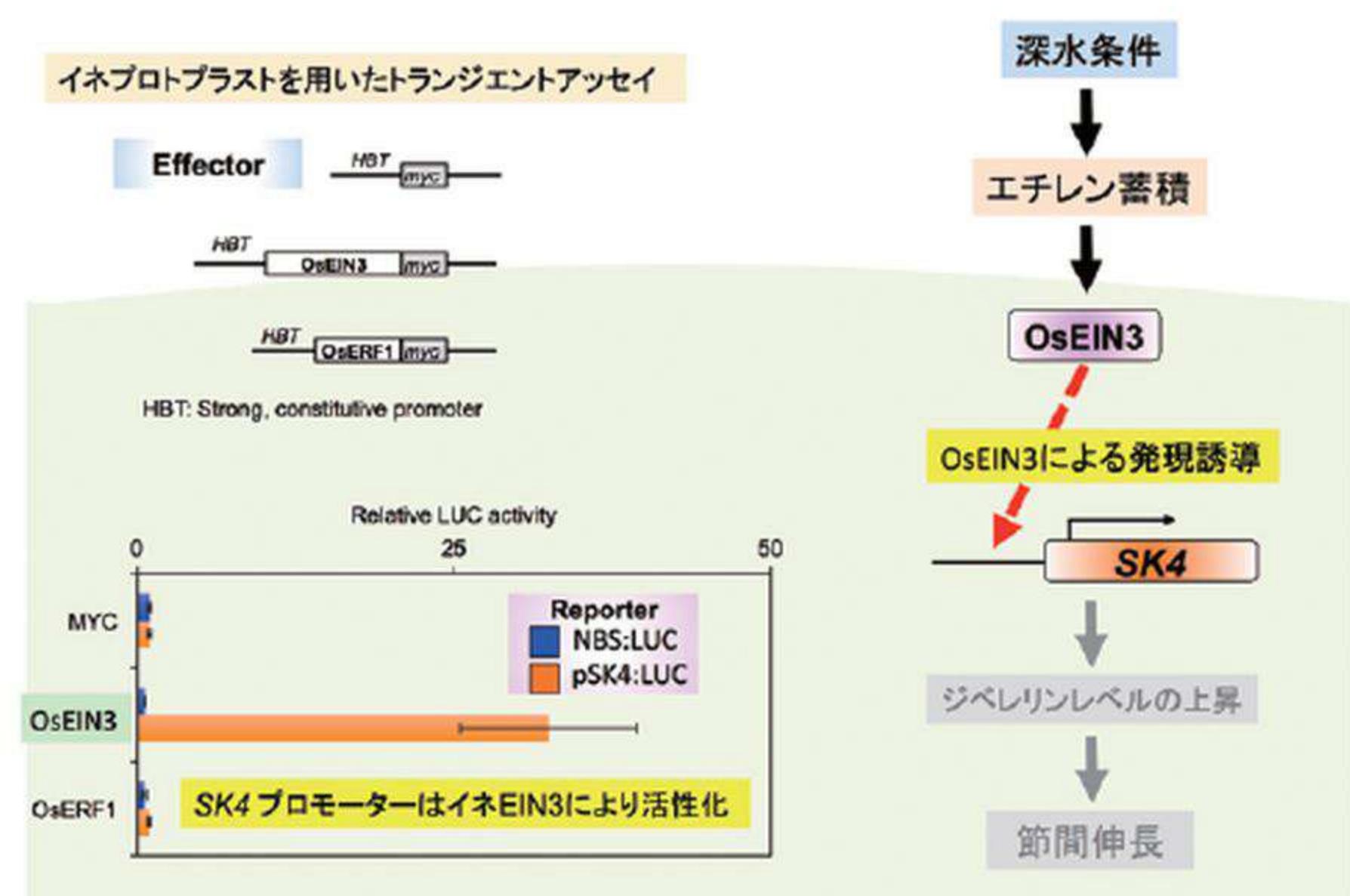


図1：浮きイネのSK4(GA20ox2)はイネEIN3によって誘導される。イネプロトプラストを用いたトランジェントアッセイ。イネEIN3がSK4(GA20ox2)のプロモーターに結合する。

違いを解析し、NIL1-3-12では浮きイネ(C9285)に比べ特に初期生育中の深水反応性が劣ることが判明しました。そこで、NIL1-3-12と浮きイネ(C9285)を交雑しF2集団を作出後、深水時の初期生育に関するQTL解析を行い、新たに第2、第4染色体に2つのQTLを検出しました。この2つのQTLを第1、3、12染色体QTLと同時に保持した個体は、深水状態でより節間伸長を誘導することが明らかになりました。

また、浮イネの実生を用いたGA処理実験によって、GAに応答して浮イネの節間特異的な伸長を制御する遺伝子の存在が示されました。一般的なイネ品種T65と浮イネ品種BhaduaのRILsを用いたQTL解析により、GAに応答した節間伸長を制御する主要なQTLを第3、9番染色体上に検出しました。さらに、two-QTLスキャンによるQTL間の相互作用解析の結果、第3染色体上のQTLはGAに応答した節間伸長の制御に中心的な役割を果たしていることが示唆されました。

(4) 浮きイネの洪水耐性とジベレリンの関係

浮きイネをGA阻害であるウニコナゾール存在下で深水処理しても節間伸長が起こりませんでした。そこで、浮きイネの深水依存的節間伸長にGAが関与しているか遺伝学的手法を用いてさらに検証を行いました。日本型イネの染色体背景に浮イネの節間伸長を制御する3つのメジャーQTLを集積したピラミディング系統(NIL1-3-12)を用いて、生理学的および遺伝学的調査を行いました。まず、NIL1-3-12を深水処理したところ、優位に節間伸長を誘導しましたが、深水条件でGA合成阻害剤を添加した場合、節間伸長の誘導は見られませんでした。また、さらに浅水条件下でGAを処理すると節間伸長が見られました。これらの結果は浮きイネの節間伸長にGAが必要であることを示唆しました。続いて、NIL1-3-12とGA合成変異体及びGA情報伝達変異体を交雑した後代より、浮イネの節間伸長に必要な3つのメジャーQTLとGA合成および情報伝達の変異遺伝子を集積した系統群を作出し深水条件での反応を観察しました。NIL1-3-12では劇的な節間伸長が観察されましたが、この遺伝的背景にGA合成もしくは情報伝達の遺伝子に変異を保持すると全く伸長が誘導されませんでした。以上の結果から、浮きイネの深水依存的節間伸長にはGAが不可欠であると結論しました。

3. 今後の展望

本研究では2つの遺伝子(SK3及びSK4)を同定することに成功しました。SK3は機能未知の遺伝子であり、深水依存的に節間の細胞分裂を行う組織で発現することが明らかになりました。SK4はジベレリン(GA)の合成酵素遺伝子で

あり、浮きイネのSK4は一般的なイネに比べ高いGA合成活性を保持すること、また深水依存的にSK4の発現が誘導されることが判明しました。浮きイネでは、深水に伴い節間伸長部位でSK3が細胞分裂を活性化し、SK4がGAを生産し細胞伸長を行うことで節間伸長を行うことが推測されました(図2)。今後、SK1～4の遺伝子発現のタイミングや場所、タンパク質の相互作用、GA合成・情報伝達との関係性を明らかにすることで、浮きイネの深水依存的節間伸長の分子メカニズムが明らかになると期待されます。

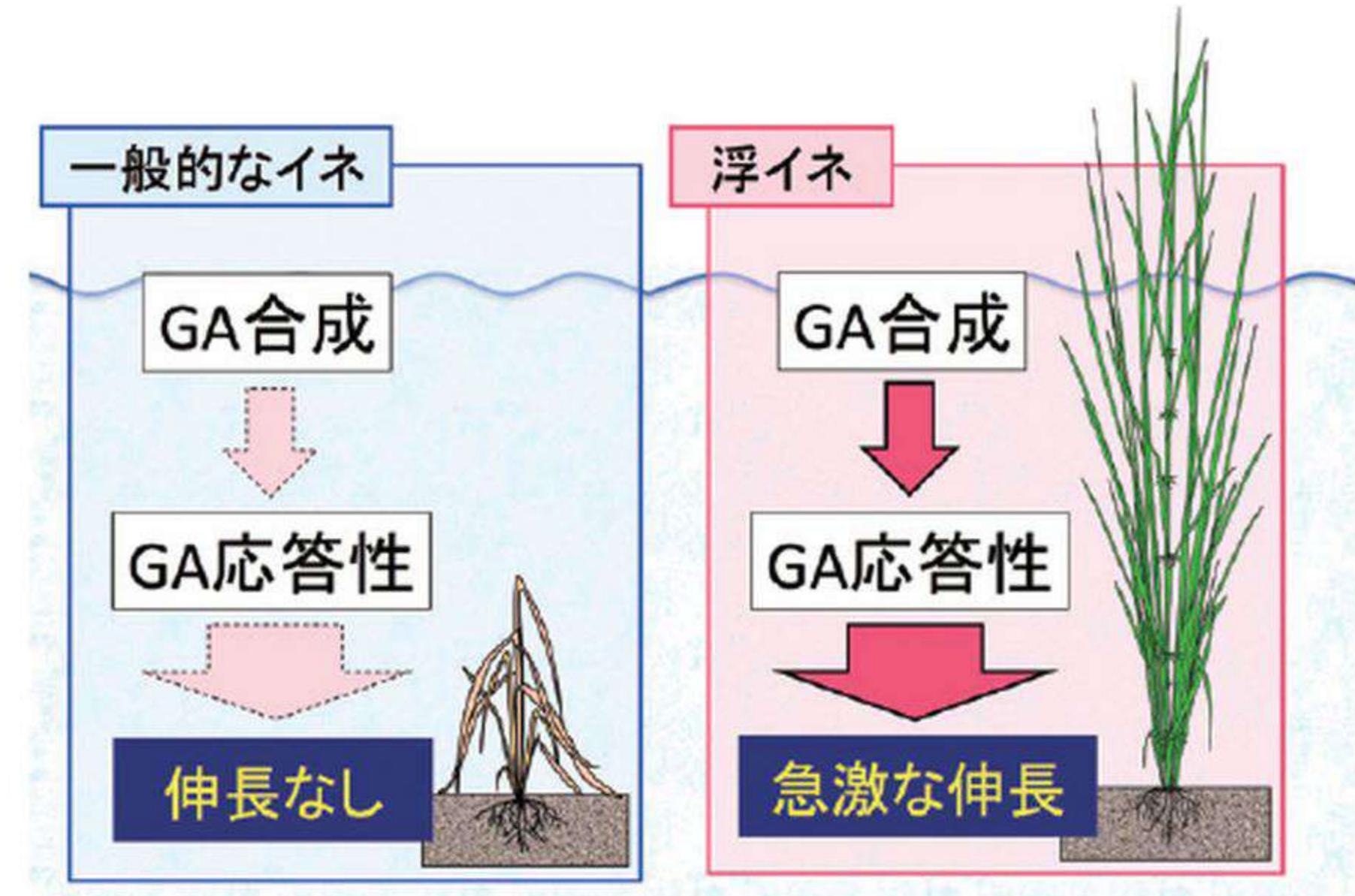


図2：浮きイネの深水依存的節間伸長を誘導する2つの要因

Asano K, Yamasaki M, Takuno S, Miura K, Katagiri S, Ito T, Doi K, Wu J, Ebana K, Matsumoto T, Innan H, Kitano H, Ashikari M, Matsuoka M. (2011) Artificial selection for a green revolution gene during *japonica* rice domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 11034-11039.

Nagai K, Kuroha T, Ayano M, Kurokawa Y, Angeles-Shim RB, Shim JH, Yasui H, Yoshimura A, Ashikari M. (2012) Two novel QTLs regulate internode elongation in deepwater rice during the early vegetative stage. *Breed. Sci.* 62: 178-185.

Nagai K, Kondo Y, Kitaoka T, Noda T, Kuroha T, Angeles-Shim RB, Yasui H, Yoshimura A, Ashikari M. (2014) QTL analysis of internode elongation in response to gibberellin in deepwater rice. *AoB Plants* 6: plu028.

Ayano M, Kani T, Kojima M, Sakakibara H, Kitaoka T, Kuroha T, Angeles-Shim RB, Kitano H, Nagai K, Ashikari M. (2014) Gibberellin biosynthesis and signal transduction is essential for internode elongation in deepwater rice. *Plant Cell Environ.* 37: 2313-2324.

Song XJ, Kuroha T, Ayano M, Furuta T, Nagai K, Komeda N, Segami S, Miura K, Ogawa D, Kamura T, Suzuki T, Higashiyama T, Yamasaki M, Mori H, Inukai Y, Wu J, Kitano H, Sakakibara H, Jacobsen SE, Ashikari M. (2015) Rare allele of a previously unidentified histone H4 acetyltransferase enhances grain weight, yield, and plant biomass in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 112: 76-81.

根の成長を支える細胞増殖の相転換機構の解明

研究代表者:梅田 正明 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)



1. 研究のねらい

植物の根の伸長は、分裂領域での細胞分裂のスピードと持続回数、および伸長領域での細胞伸長によって決まっています。しかし、これまで組織レベルで細胞分裂を定量化するツールが十分に開発されておらず、外的環境要因に応答する細胞分裂の制御系についてもほとんど解析されていない状況でした。そこで本研究では、①根端分裂領域の長さを決める分子機構を明らかにする、②環境ストレスに対する応答機構を明らかにする、③細胞分裂の解析ツールを新たに開発することにより、環境に応じた根の伸長制御の仕組みの解明を目指しました。

2. 主な研究成果

(1) 細胞分裂からエンドサイクルへの転換機構

シロイヌナズナの根では、分裂領域の細胞は数回の細胞分裂を行い、その後DNA倍加（細胞分裂を経ずにDNA複製のみが繰り返されるエンドサイクルによって起こる）を開始します。したがって、分裂領域の長さは細胞分裂からエンドサイクルへの移行のタイミングによって決まります（図1）。エンドサイクルは細胞周期のG2期からM期への進行が阻害されると誘導されることが知られていました。これを誘発するのはE3リガーゼの一つである後期促進複合体(APC)の活性化因子CCS52A1であり、シロイヌナズナの根では移行領域を中心にmRNAが発現することから、CCS52A1の転写制御因子を単離・同定することにしました。その結果、サイトカイニン情報伝達に働くB型レスポンスレギュレーターの一つであるARR2がCCS52A1プロモーターに直接結合することが明らかになりました。別のB型レスポンスレギュレーターであるARR1は結合しなかったことから、CCS52A1の発現はARR2により特異的に制御されていることがわかりました。

レポーター遺伝子や変異体を用いた遺伝学的解析の結果、サイトカイニンにより活性化されたARR2はCCS52A1の発現を誘導し、細胞分裂からエンドサイクルへの移行を促進することが明らかになりました。CCS52A1はAPCの活性化因子なので、この制御系はM期サイクリンなどのG2/M

期進行に必要な細胞周期因子を分解に導くことにより、通常の細胞周期をエンドサイクルに転換していると考えられます（図1）。一方、以前の研究で、ARR1とARR12がAux/IAAの一つであるSHY2の発現を誘導することによりオーキシンシグナルを抑制し、細胞分裂を停止させることが知られていました。私達の解析の結果、SHY2もARR2の制御下にあることがわかったので、細胞分裂からエンドサイクルへの移行は細胞周期因子の分解とオーキシンシグナルの抑制という二つの経路で協調的に制御されていることが示されました（図1）。

(2) DNA損傷ストレスに対する応答機構

DNA損傷はアルミニウムやホウ素過剰ストレス、病原菌感染によって起こることが知られていますが、各種ストレス下で発生する活性酸素種もDNAに傷をつけることが知られています。根はこれらのストレスに曝されると伸長を抑制または停止させますが、DNA損傷がいかに細胞分裂を阻害するのかは解明されていませんでした。上述のように、サイトカイニンが細胞分裂からエンドサイクルへの移行を制御することが明らかになったので、DNA損傷とサイトカイニンの関連性を検討しました。その結果、サイトカイニン合成遺伝子のいくつかがDNA損傷に応答して発現誘導されること、

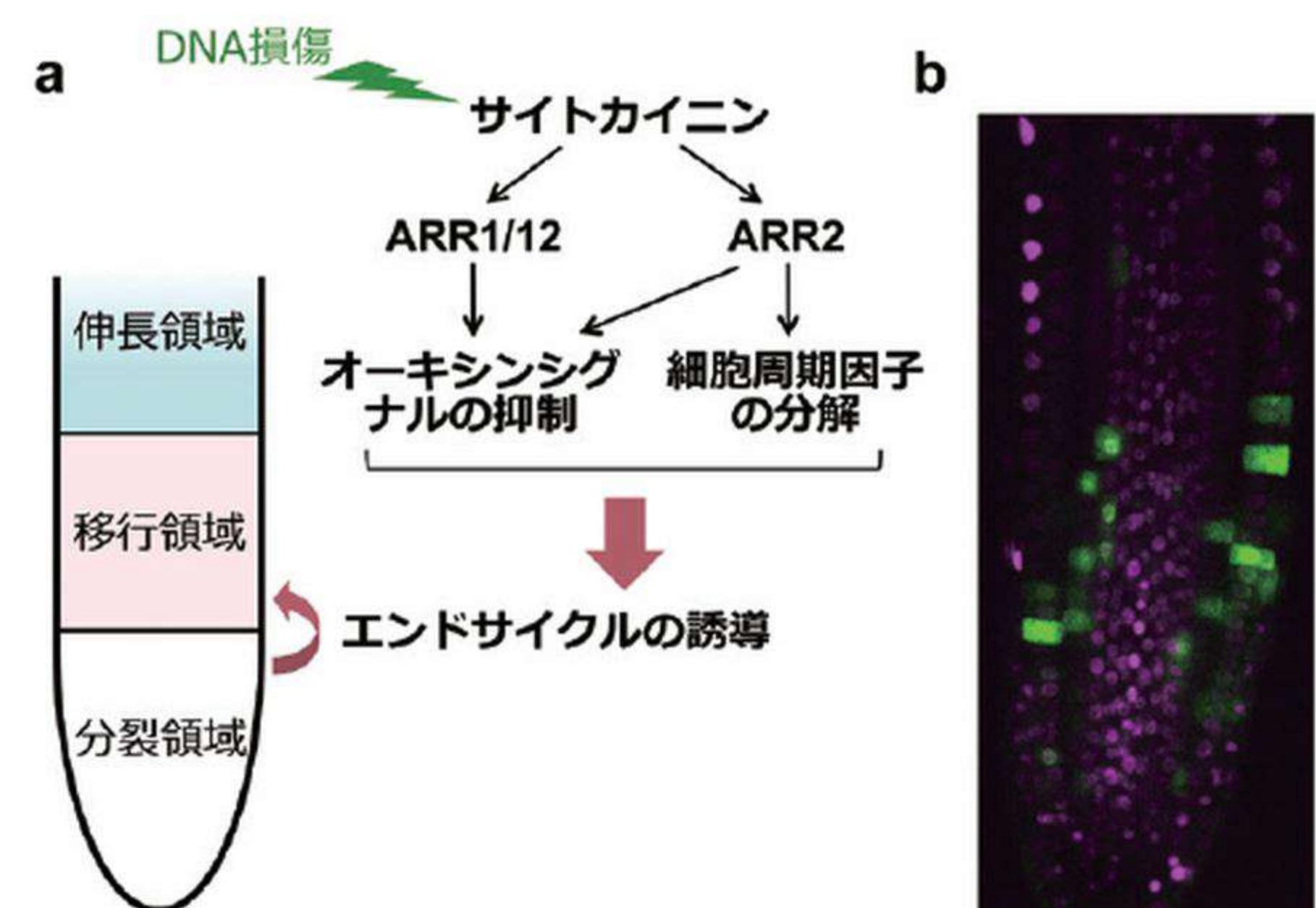


図1：シロイヌナズナ根端における細胞分裂とエンドサイクルの制御機構
(a) サイトカイニンシグナルによる細胞分裂からエンドサイクルへの転換機構。
(b) Cytrapによる細胞周期進行のモニタリング。マゼンタがS～G2期マーカーの発現を、緑色がG2～M期マーカーの発現を示す。

またこれによる *de novo* のサイトカイニン合成がエンドサイクルへの移行を促進し、分裂領域を短縮させることができ明らかになりました（図 1）。

次に、DNA 損傷が分裂領域の細胞分裂を阻害する機構について解析しました。以前の私達の研究により、DNA 損傷ストレスは CDK インヒビターの発現を上げるとともに、B 型サイクリンなどの G2/M 期遺伝子の発現を低下させることがわかつっていました。植物の G2/M 期遺伝子の発現は MYB3R 転写因子によって統御されているので、シロイヌナズナの MYB3R の機能解析を行いました。その結果、転写抑制型の MYB3R (Rep-MYB) はストレスがない条件下では CDK によりリン酸化され、プロテアソーム系による積極的な分解制御を受けていることがわかりました。一方、DNA 損傷ストレス下では CDK インヒビターが発現誘導され、CDK 活性が低下します。そのため、Rep-MYB のリン酸化と分解制御は抑えられ、安定化した Rep-MYB が G2/M 期遺伝子の発現を抑制することが明らかになりました（図 2）。逆に、転写活性化型の MYB3R (Act-MYB) は CDK によりリン酸化されると活性化することから、CDK と Act-MYB と G2/M 期遺伝子の間にはポジティブなフィードバック機構が働いています。したがって、DNA 損傷ストレス下で Rep-MYB を安定化する制御系の存在は、ストレスに応答して迅速かつ完全に G2/M 期遺伝子の発現を抑えるために重要なと考えられます（図 2）。

(3) 細胞周期モニタリングシステム Cytrap

植物組織内の細胞分裂を解析する場合、多くの研究者はサイクリン B1 の GUS/GFP マーカーを使っています。しかし、本来 1 種類の細胞周期マーカーの発現だけでは細胞分裂活性を議論することはできません。そこで、動物の Fucci と呼ばれる細胞周期インディケーターのように、細胞周期の別のステージを標識するマーカー遺伝子と組み合わせて、組織内の細胞周期進行をタイムラプス観察できるような系を構築することにしました。具体的には、*HTR2* 遺伝子のプロモーターと *CDT1a* 遺伝子のコード領域の一部を融合させたものを S～G2 期マーカーとして確立し、従来のサイクリン B1 遺伝子 (G2～M 期マーカー) と組み合わせて細胞周期モニタリングシステム Cytrap を構築しました（図 1b）。Cytrap を用いることにより、シロイヌナズナの根端分裂領域の表皮細胞では G1 期が 6 時間、S～G2 期が 8 時間、M 期が 2 時間で進んでおり、細胞周期 1 サイクルに 16 時間かかっていることがわかりました。また、細胞分裂からエンドサイクルへの移行過程の観察にも Cytrap が有効であることがわかりました。

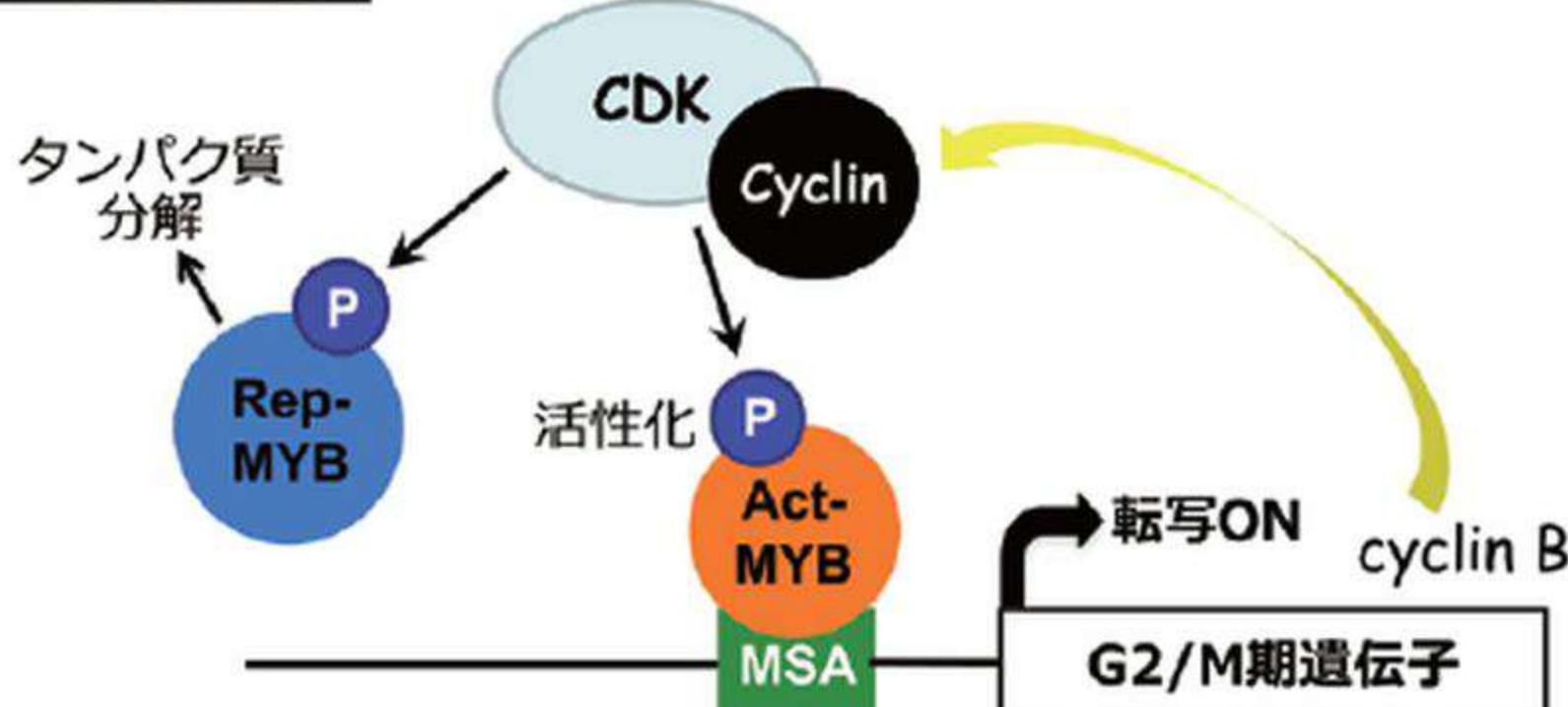
3. 今後の展望

DNA 損傷は外的ストレスがなくても、通常の DNA 複製の過程で恒常的に起きています。したがって、DNA 損傷に対する応答機構は、特に幹細胞ゲノムを安定的に保持する上で非常に大切なものです。シロイヌナズナでは、DNA 損傷に応答して静止中心の細胞分裂が誘導される一方、幹細胞は細胞死を起こすことが知られています。私達の研究でいずれの現象も同一のシグナル経路の下で制御されていることがわかつているので、これらの制御系を解明することにより、植物幹細胞のゲノム安定性制御に関わる分子機構を明らかにしていきたいと考えています。

Takahashi N, Kajihara T, Okamura C, Kim Y, Katagiri Y, Okushima Y, Matsunaga S, Hwang I, Ueda M. (2013) Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots. *Curr. Biol.* 23: 1812-1817.

Yin K, Ueda M, Takagi H, Kajihara T, Sugamata-Aki S, Nobusawa T, Ueda-Hara C, Ueda M. (2014) A dual-color marker system for *in vivo* visualization of cell cycle progression in *Arabidopsis*. *Plant J.* 80: 541-552.

ストレスがない場合



DNA損傷を受けた場合

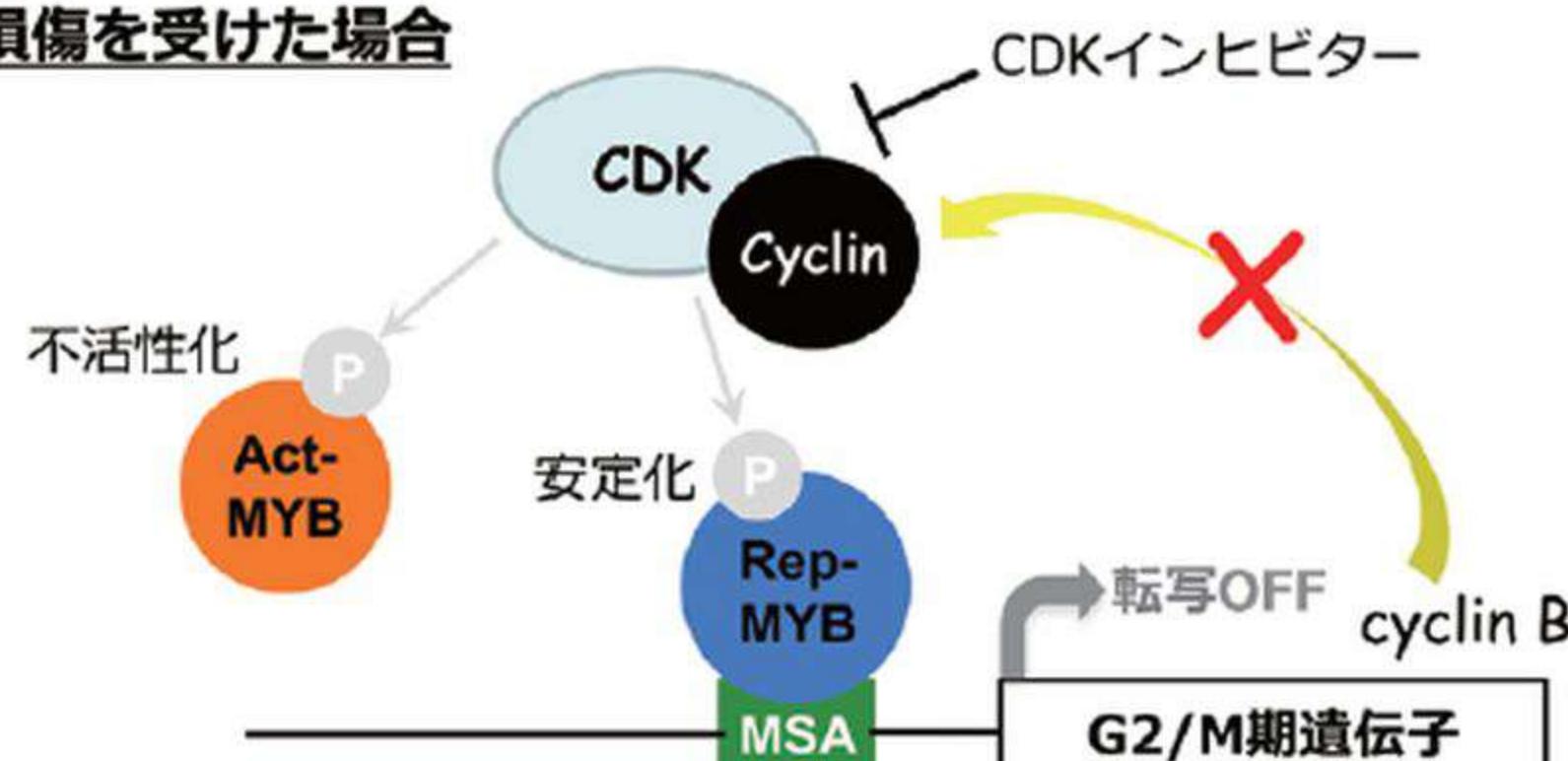
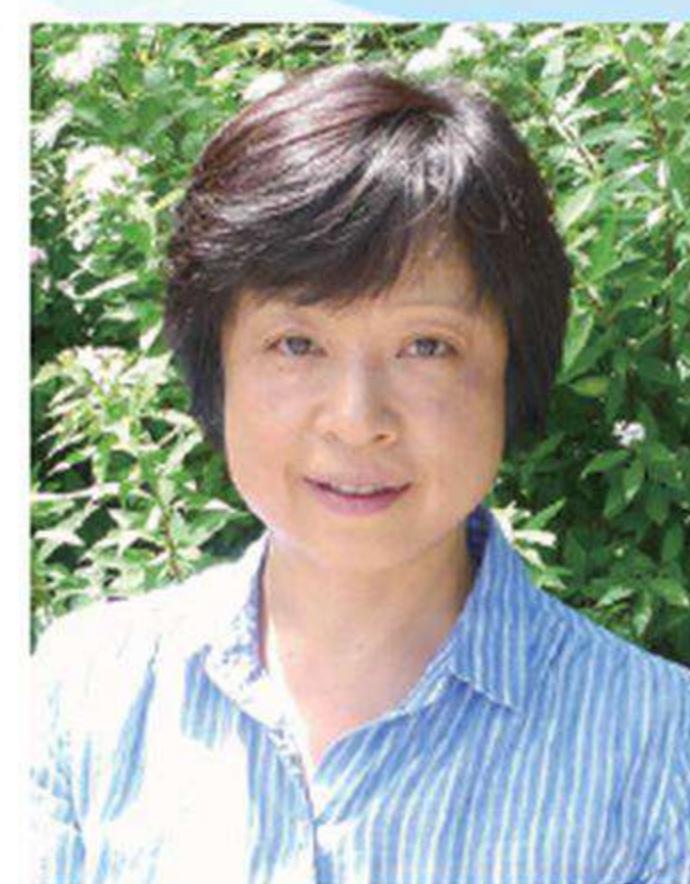


図 2 : DNA 損傷ストレス下での G2/M 期遺伝子の発現抑制機構
Act-MYB は転写活性化型の MYB3R を、Rep-MYB は転写抑制型の MYB3R を示す。MSA は G2/M 期遺伝子のプロモーターに存在する MYB3R の標的配列。



植物の分枝を制御するメカニズムの解析

研究代表者：経塚 淳子（東北大学生命科学研究科）

1. 研究のねらい

植物は成長段階や環境条件に応じてその形態や大きさを変化させます。分枝は、葉の腋に新たな分裂組織（腋生メリスム）が作られ、それが枝として成長するという植物に固有の現象であり、分枝パターンの調節は植物が環境と調和して効率よく成育するために不可欠です。

腋生メリスムが数枚の葉を形成し腋芽が完成すると、腋芽は成長を続けるか休眠するかを選択します。休眠した腋芽は、伸長のための条件が整うと休眠が解除され成長を再開します。つまり、休眠腋芽は活動を再開するポテンシャルを備えた特別な「休止」状態にあります。腋芽伸長抑制ホルモンであるストリゴラクトン発見後、腋芽休眠の決定機構の理解は進展しましたが、腋芽の休眠現象そのものの理解は必ずしも進んではいません。生殖成長に転換すると腋芽は休眠しません。新たに形成された腋芽は未分化状態を維持して枝分かれを作り続けるか、または花芽に分化してそこで成長を停止します。すなわち、生殖成長期には未分化・分化という選択の繰り返しが枝分かれパターンを決定します。

本研究では、分枝パターンを決定する要因として、腋芽の休眠と腋芽の未分化性の維持という2点に焦点を絞り、休眠と伸長という2つの状態の移行にともない腋芽で起こる現象の理解および未分化・分化の選択機構を分子レベルで明らかにすることをめざしました。

を確立し、休眠の開始／解除の過程を詳細に観察しました。この系ではイネを水耕栽培し腋芽を解析します。野生型イネをこの系で育成すると、P5.5（その葉が5.5番目に新しい段階）ステージの葉の腋芽では活発な細胞分裂が見られ、約2日後に葉のステージがP6に達すると腋芽での細胞分裂が停止し腋芽が休眠します（図2）。一方、ストリゴラクトンを合成しない変異体 *dwarf10* (*d10*) では、P6段階以降も活発な細胞分裂が続き腋芽は伸長を続けます。また、*d10*にストリゴラクトンを添加すると腋芽は休眠します。したがって、この実験系で観察される腋芽休眠はストリゴラクトンに制御されているといえます。さらに、水耕栽培された植物を土に移植すると腋芽の休眠が解除され、腋芽の成長が再開することを確認しました。

次に、腋芽の休眠開始・解除の過程を詳細に観察したところ、休眠開始時にもメリスムからの葉原基分化は引き続くこと、一方、分化した葉原基での細胞分裂が急速に低下し、そのために葉原基が成長しないこと、メリスム活性は次第に低下することがわかりました。腋芽の休眠が解除される際には、これとは逆に、まず葉原基での細胞分裂が再開し、その後、葉原基の分化が再開することもわかりました。これらの観察から、休眠開始の引き金になるのはメリスム活性の停止ではなく、分化した葉原基での細胞分裂活性の低下であると結論しました。

2. 主な研究成果

(1) ストリゴラクトン受容体 D14 の細胞間移行

ストリゴラクトンが腋芽伸長抑制ホルモンであることが報告されて以降、ストリゴラクトン信号伝達に関する研究が急速に進み、 α , β -加水分解酵素であるD14がストリゴラクトン受容体であると報告されました。興味深いことに、D14は、イネの篩管液に存在するタンパク質としても報告されていました。私たちは、GFP蛍光タンパク質を使った実験によりD14が篩管を通って植物体内を移動することを証明しました（図1）。

(2) 腋芽休眠過程の解析

イネを材料として腋芽休眠を再現性良く観察できる実験系

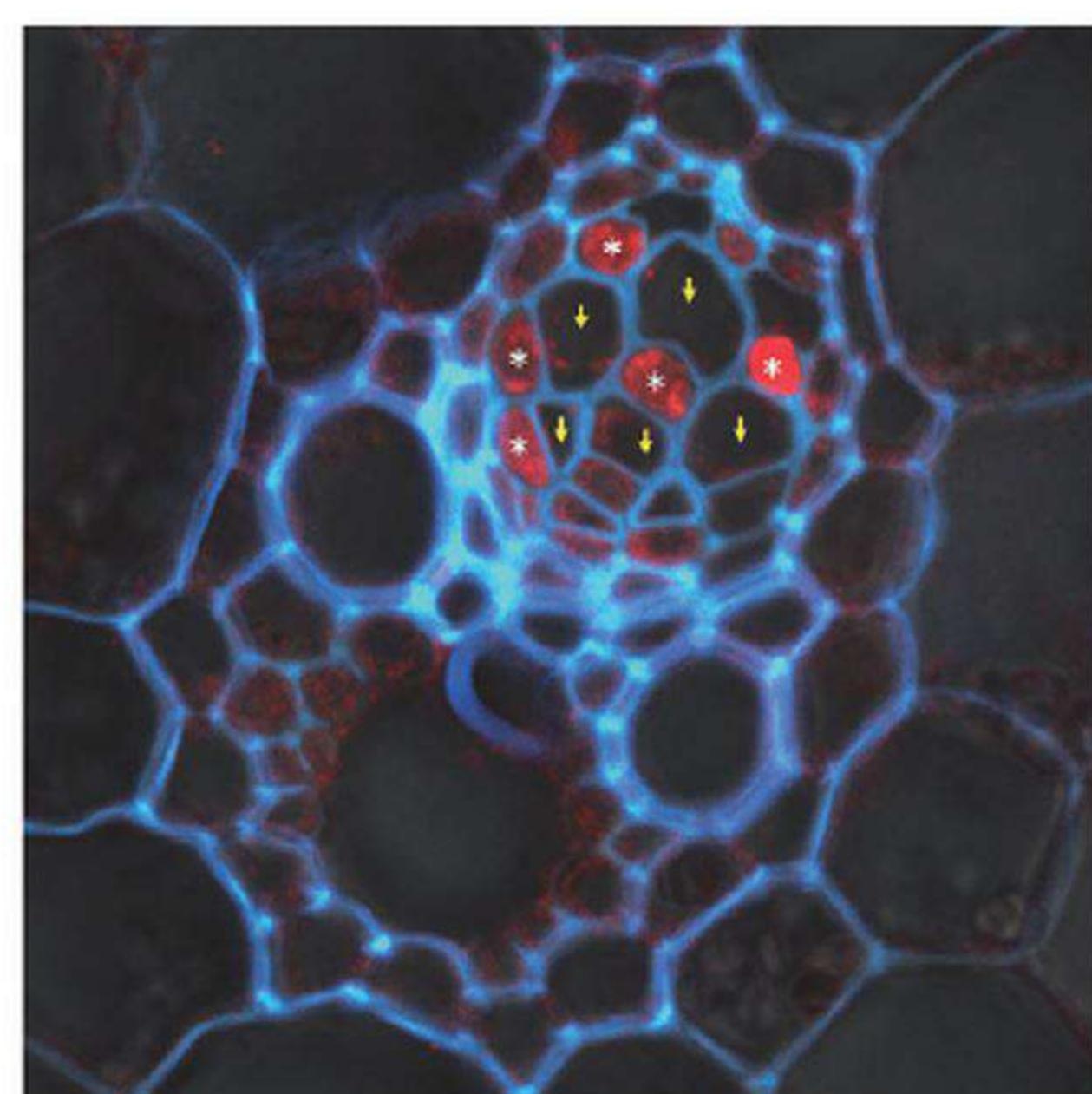


図1：篩管におけるD14:GFP蛍光

本来のD14タンパク質と同じ制御様式でD14:GFP融合タンパク質を合成すると、GFP蛍光は篩管（黄色矢印）にもみられる。これは、師部伴細胞でつくられるD14（白コメ印）が篩管へと移動していることを示す。

(3) 腋芽休眠に伴う遺伝子発現の変化

次に、この実験系を利用して、休眠開始・解除において葉原基とメリシステムで局所的に起こる遺伝子発現変化を網羅的に解析し、腋芽休眠への関与が考えられる遺伝子群を特定しました。解析には、マイクロダイセクション法でサンプリングした休眠直前と直後の腋芽を用いました。その結果、休眠開始時の腋芽では 210 の遺伝子の発現が 4 倍以上増加し、71 の遺伝子の発現が 4 倍以上減少していました。休眠腋芽で ABA、ジャスモン酸やストレス（乾燥、低温、塩）により誘導される遺伝子群の発現が増加すること、多数のリボソームタンパク質遺伝子の発現が減少することが顕著な特徴でした。最大の発現上昇を示した遺伝子は機能未知の ABA 反応性遺伝子であり、腋芽休眠への ABA の関与が示唆されました。さらに、水耕栽培された *d10* 変異体に ABA を添加すると *d10* 変異体の腋芽伸長が抑制されました。これらの結果は、ABA がストリゴラクトンの下流で腋芽の休眠を誘導することを示しています。ABA は種子休眠に必要な植物ホルモンとして知られていますが、腋芽休眠への関与は知られていませんでした。また、休眠腋芽では、CYCA/B の発現低下と植物に特有の CDK 阻害遺伝子の発現が顕著に増加する、休眠腋芽特異的遺伝子である *Dormancy Related (DR)* 遺伝子の 4 つのイネオーソログの発現が上昇するなどの興味深い結果が得られました。

(4) ストリゴラクトンによる腋芽伸長の制御

ストリゴラクトンを合成できない *d10* 変異体水耕栽培にストリゴラクトンを添加すると腋芽伸長が抑制されます。ストリゴラクトンによる遺伝子発現制御に関する情報を得るために、ストリゴラクトン添加により引き起こされる遺伝子発現変化をマイクロアレイ解析しました。しかし、腋芽伸長の抑制に十分な濃度のストリゴラクトンを添加しても有意な発現変動を示す遺伝子は検出されませんでした。

TCP ドメインをもつ転写因子である *FINE CULM1 (FC1)* は腋芽伸長抑制遺伝子であることが報告されていますが、ストリゴラクトンとの関連は知られていませんでした。私た

ちは、*fc1* 変異体の解析から、ストリゴラクトンの腋芽伸長抑制には FC1 が必須であること、すなわち FC1 がストリゴラクトンの下流で働くことを証明しました。しかしながら、FC1 の RNA 発現量はストリゴラクトンによる影響を受けないことから、ストリゴラクトンは転写制御以外のメカニズムにより FC1 を制御することが分かりました (Minakuchi et al., 2010; Luo et al., 2012)。

(5) 花序の分枝パターンを決定する *TAWAWA1 (TAW1)* 遺伝子の機能解析

TAW1 遺伝子はイネの花序（穂）の形成において、メリシステムの花への分化を抑制する（未分化性を維持する）遺伝子であり、*TAW1* の時空間的発現パターンがイネ穂の分枝パターンを決定し、さらにイネ収量に影響することを示しました (Yoshida et al., 2013)。さらに *TAW1* の分子機能の解析を進め、*TAW1* が転写調節因子であることや葉とメリシステムの境界領域で BLADE-ON-PETIOLE (BOP) と相互作用して機能することを明らかにしました。*TAW1* と BOP が標的とする遺伝子を特定し、標的遺伝子に対する *TAW1*/BOP 複合体の作用を突き止めることができ次の課題です。

3. 今後の展望

今後は、本研究で特定された遺伝子群の機能や発現制御を明らかにすることにより腋芽の休眠現象の実態が明らかになると期待できます。また、植物が積極的に活動を停止するという現象の本質的な理解につながるものと期待しています。また、メリシステムの未分化性を支える分子基盤の理解は、植物の独特の成長様式につながる重要な研究です。

Minakuchi K, Kameoka H, Yasuno N, Umehara M, Luo L, Kobayashi K, Hanada A, Ueno K, Asami T, Yamaguchi S, Kyozuka J. (2010) *FINE CULM1 (FC1)* works downstream of strigolactones to inhibit the outgrowth of axillary buds in rice. *Plant Cell Physiol* 51: 1127-1135.

Luo L, Li W, Miura K, Ashikari M, Kyozuka J. (2012) Control of tiller growth of rice by *OsSPL14* and strigolactones, which work in two independent pathways. *Plant Cell Physiol* 53: 1793-1801.

Yoshida A, Sasao M, Yasuno N, Takagi K, Daimon Y, Chen R, Yamazaki R, Tokunaga H, Kitaguchi Y, Sato Y, Nagamura Y, Usijima T, Kumamaru T, Iida S, Maekawa M, Kyozuka J. (2013) *TAWAWA1*, a novel regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 767-772.

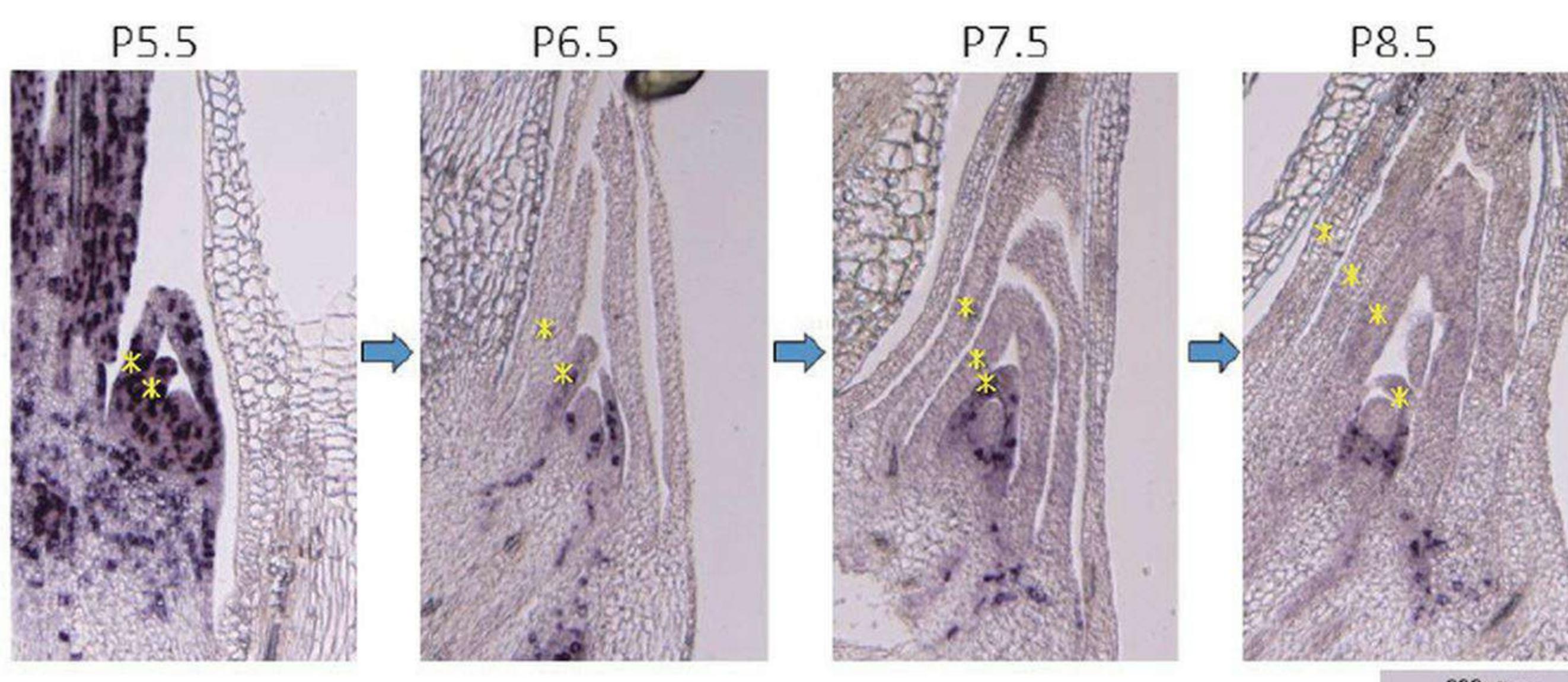


図 2：腋芽の休眠
腋芽の休眠に伴い（写真左から右）ヒストン H3 の発現は急激に低下するが (P5.5 から P6.5)、新しい葉原基の分化が続き、腋芽の葉（黄色印）の枚数は増加する。これは、休眠の引き金となるのが葉原基での細胞分裂の停止であることを示す。

環境変動に応答した植物の細胞・器官サイズ制御

研究代表者：杉本 慶子（理化学研究所環境資源科学研究中心）



1. 研究のねらい

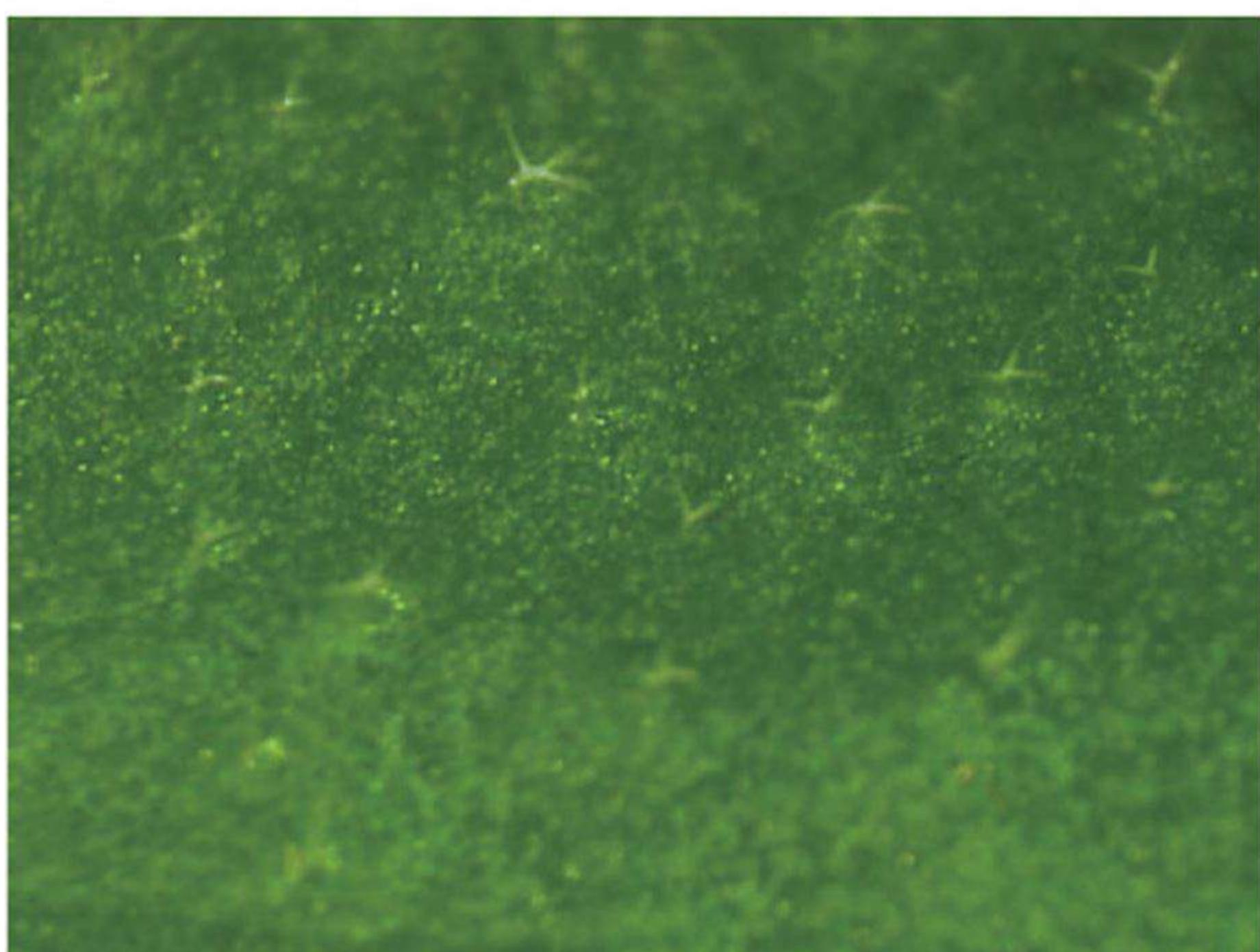
植物の成長は、光や温度、水分、栄養といった環境要因によって大きく影響を受けます。一般的に厳しい環境の下で生育する植物の成長は遅延、停滞しますが、最近の研究からこうした生育遅延が単なる成長阻害ではなく、積極的な成長戦略として起きていることが分かってきています。私たちはこれまでに細胞の伸長成長を抑制する分子機構を明らかにしてきており、こうした能動的な成長の抑制機構が環境変動下での巧みな成長戦略の一環として機能すると考えています。そこで私たちは環境変動に応答した植物の細胞・器官サイズの制御機構を明らかにすることで、植物が困難な環境を突破する秘訣に迫りました。

2. 主な研究成果

シロイヌナズナをはじめとする多くの植物では、細胞が増殖期から分化期へ移行するのに伴って、DNA複製と細胞分裂を交互に行う細胞分裂周期から、細胞分裂を伴わずDNA複製のみ行う核内倍化周期へ転換します。いったん核内倍化周期に移行した細胞は核内のDNA量を上昇させながら

分化を続け、それに伴って細胞も伸長成長します。私たちは、細胞の成長制御機構の解析を行うモデルとして、まず葉のトライコーム毛細胞に着目し、トライコームの細胞成長の制御因子として植物に特有のトライヘリックス型転写因子 GT-2 LIKE1 (GTL1) を単離しました。*gtl1*欠損変異株のトライコームは野生株と比較して大きなトライコームを形成します（図1）。一方で、*GTL1*よりも早いタイミングで発現する遺伝子である *GL2* や *ATML* のプロモーター制御下で *GTL1* を発現させると、通常よりも小さなトライコームが形成されます。これらの結果は、*GTL1*の発現するタイミングがトライコームの大きさを制御することを示しています。また、*GTL1*がどのようにしてトライコームの大きさを制御しているのかを明らかにするために *GTL1*によって直接制御される遺伝子の同定を試みたところ、*GTL1*は *CCS52A1* と呼ばれる遺伝子のプロモーター領域に直接結合し、その遺伝子発現を低下させることがわかりました。これまでの研究から *CCS52A1* はユビキチンリガーゼ anaphase-promoting complex/cyclosome (APC/C) のアクティベーターとして働くことにより、核内倍加周期を促進する事が知られています。その後の分子遺伝学的な解析から、*GTL1*は *CCS52A1* 遺伝子の発現を低下させるこ

野生型



*gtl1*欠損変異体

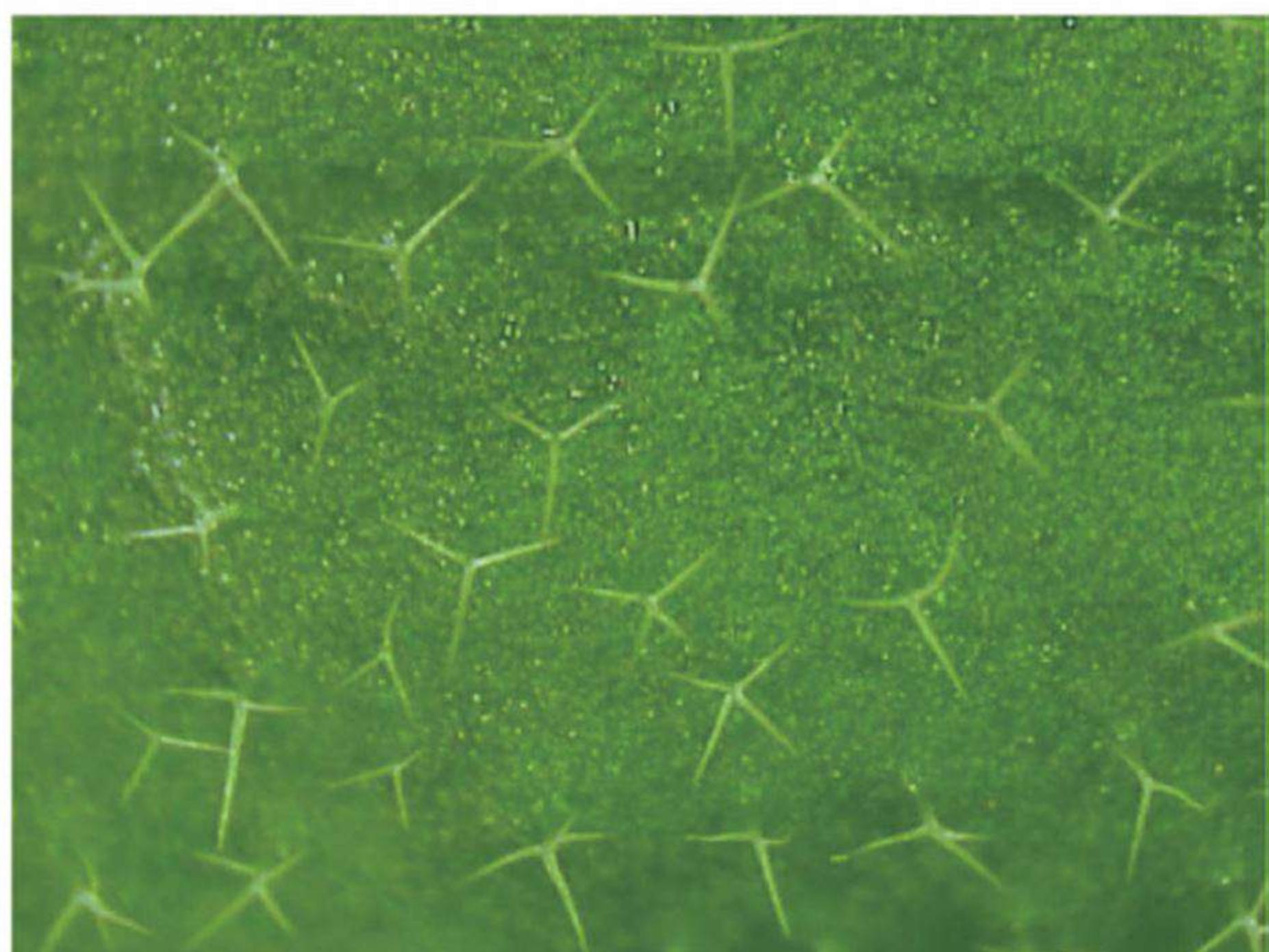


図1：*gtl1*欠損変異株のトライコーム毛細胞
細胞成長のブレーキとしてはたらく *GTL1*が欠損した変異株では、野生型と比較すると細胞成長が亢進し、大きなトライコームが形成される。

とによって核内倍加周期を終了させ、細胞成長を抑制することが明らかになりました (Breuer et al., 2012, 2014)。

GTL1 はトライコーム以外の組織でも発現が見られる一方で、*gtl1* 欠損変異株の表現型はトライコームに限定されていることから、他の組織では別の因子が冗長的に機能していることが示唆されていました。そこで、GTL1 と配列上の類似性の高い DF1 にも注目して解析を行ったところ、*gtl1 df1* の二重変異株は野生株と比較して根毛が長くなることがわかりました。さらに、EXPANSINプロモーターを用いて根の表皮細胞特異的に GTL1 および DF1 を過剰発現させると、どちらの場合も根毛の伸長成長を著しく抑制することがわかりました。これらの結果は GTL1 と DF1 が根毛細胞の成長を抑制する因子として冗長的に機能することを示しています。根毛は根の表面積を増やし土壤中の無機栄養素を効率的に吸収するための組織で、リン酸をはじめとする土壤栄養素の濃度に応答して適切な長さに制御されています。例えばリン酸の不足した土壤中では根毛の成長は促進され、リン酸を過剰に含んだ土壤では根毛の成長は抑制されます (図 2)。GTL1 と DF1 がこのような環境に応答した細胞成長を制御しているかどうかを確かめるために、リン酸濃度を変えた培地に *gtl1 df1* 二重変異株を生育させたところ、二重変異株は高リン酸条件下でも根毛の成長抑制が起こらないことを発見しました。さらに *gtl1 df1 ccs52a1* 三重変異株においてもリン酸による根毛の成長抑制が見られなかったことから、根毛の成長抑制はトライコームとは異なるメカニズムで制御されていることがわかりました。そこで新たに根毛細胞における GTL1 のターゲットの探索を行

い、根毛の成長を促進する転写因子を見出しました。この転写因子はリン酸に応答して発現調節が行われることが報告されており、GTL1 がその発現量を調節することで環境に応答した根毛の伸長成長を調節していることが明らかとなっていました。

また、GTL1 の解析と並行して根毛の成長制御に注目した解析を進め、細胞の成長を負に制御する転写因子を新たに発見しました。この転写因子の下流因子の探索を行ったところ、GTL1 と共に根毛の成長を正に制御する因子を見出したほか、根毛細胞の分化を制御する GL2 とも下流因子のオーバーラップが見られ、環境要因から根毛成長に至る過程で、細胞分化と成長が協調的に制御されている可能性が示唆されています。

3. 今後の展望

本研究から、細胞の成長制御機構として核相依存的な制御と非依存的な制御機構が見えてきました。GTL1 はその両方を制御する転写因子であり、トライコームや根毛以外の組織でも発現が見られることから、その他での組織での機能を解析することで、新たな細胞の成長制御機構が明らかになっていくと期待されます。また、環境に応答した成長制御は、葉、茎、根と植物のあらゆる組織、器官で行われている現象ですので、今後は本研究成果を礎として多細胞で構成されるより複雑な組織の成長制御機構の解明にも取り組んでいく予定です。

Ikeuchi M*, Iwase A*, Rymen B, H Harashima H, Shibata M, Ohnuma M, Breuer C, Morao AK, de Lucas M, De Veylder L, Goodrich J, Brady SM, Roudier F, and Sugimoto K. (2015) PRC2 represses dedifferentiation of mature somatic cells in *Arabidopsis*. *Nature Plants* (in press) *Co-first author

Breuer C, Braidwood L, and Sugimoto K. (2014) Endocycling in the path of plant development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 17: 78-85.

Ikeuchi M, Sugimoto K, and Iwase A. (2013) Plant callus: mechanisms of induction and repression. *Plant Cell* 25: 3159-3173.

Breuer C, Morohashi K, Kawamura A, Takahashi N, Ishida T, Umeda M, Grotewold E, and Sugimoto K. (2012) Transcriptional repression of the APC/C activator CCS52A1 promotes the active termination of cell growth. *EMBO J.* 31: 4488-4801.

Iwase A, Mitsuda N, Koyama T, Hiratsu K, Kojima M, Arai T, Inoue Y, Seki M, Sakakibara H, Sugimoto K* and Ohme-Takagi M*. (2011) The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 21: 508-514. *Co-corresponding author



図 2：異なるリン酸に対する根毛の成長制御
リン酸が不足した培地に生育する根毛の成長は促進され、過剰に供給された培地に生育する根毛の成長は抑制される。



植物システム制御の数理モデリング

研究代表者：佐竹 晓子（九州大学理学研究院）

1. 研究のねらい

固着性である植物は、移動して適した生育環境を選択することができません。その代わり、生理的活性や形態を柔軟に変化させることによって、自分を取り巻く環境に適応しています。こうした植物の挙動を、さまざまな戦略の中で生涯にわたる繁殖成功を最大にする適応戦略だとみなし、工学や経済学で用いられてきた最適制御理論・ゲーム理論を用いて、数理的に解析する研究が盛んに行われてきました。例えば、植物は光条件や土壤環境に応じて地上部／地下部バランスを変化させますが、養分の分配を考慮した最適化モデルを解析することで、最も効率よく成長し種子を生産できる地上部／地下部バランスは何か？という問い合わせることが可能になります。

しかし、こうした進化生態学的数理モデルは、根や茎の伸長、栄養素の吸収や輸送、栄養成長から繁殖成長への転換、といった成長・生存・繁殖に関わるプロセスがどのように制御されているのか、その内的メカニズムをブラックボックスとして扱ってきました。一方、モデル植物を対象として、成長生存やストレス応答、そして開花時期決定に関わる分子メカニズムに関わる知見が急速に蓄積され、細胞分裂サイクルの制御や、乾燥や高温などのストレス環境耐性に関わる遺伝子の同定や機能解析が進んできています。このように各々の部分的

なプロセスにおいて遺伝子やタンパク質の働きに関する知識が拡大してきた現在、これらの知見を結びつける数理モデルを構築し、植物がいかに個体として生産性を高め多様な環境に適応しているのか、その植物システムの論理を明らかにすることが今後の課題です。そこで本研究は、数学モデルとコンピューターシミュレーションを積極的に活用することで、植物個体の生存成長そして繁殖戦略の分子メカニズムを理論的に明らかにすることを目的としました。ここでは、以下の3つの研究テーマを紹介したいと思います。

2. 主な研究成果

(1) 篩管栄養輸送モデルの開発と収量増加が期待されるイネ穂デザイン

イネの玄米数や玄米配置を制御する遺伝子情報をもとに、収量の高い品種を作出するための育種研究が近年盛んに行われています。しかし、光合成能や成長期間は固定したまま玄米数のみを増加させていくと、各玄米の登熟度が低下し、総収量が減少することが報告されています。そこで、玄米数と玄米の登熟度の間にあるトレードオフをとらえた篩管栄養輸送モデルを開発し、イネ穂上でのショ糖転流と玄米登熟を予測することで収量の高い玄米配置を探査しました。篩部におけるショ糖転流の駆動力は、ショ糖濃度勾配によって生じる膨圧差によって生じると考える圧流説が現在

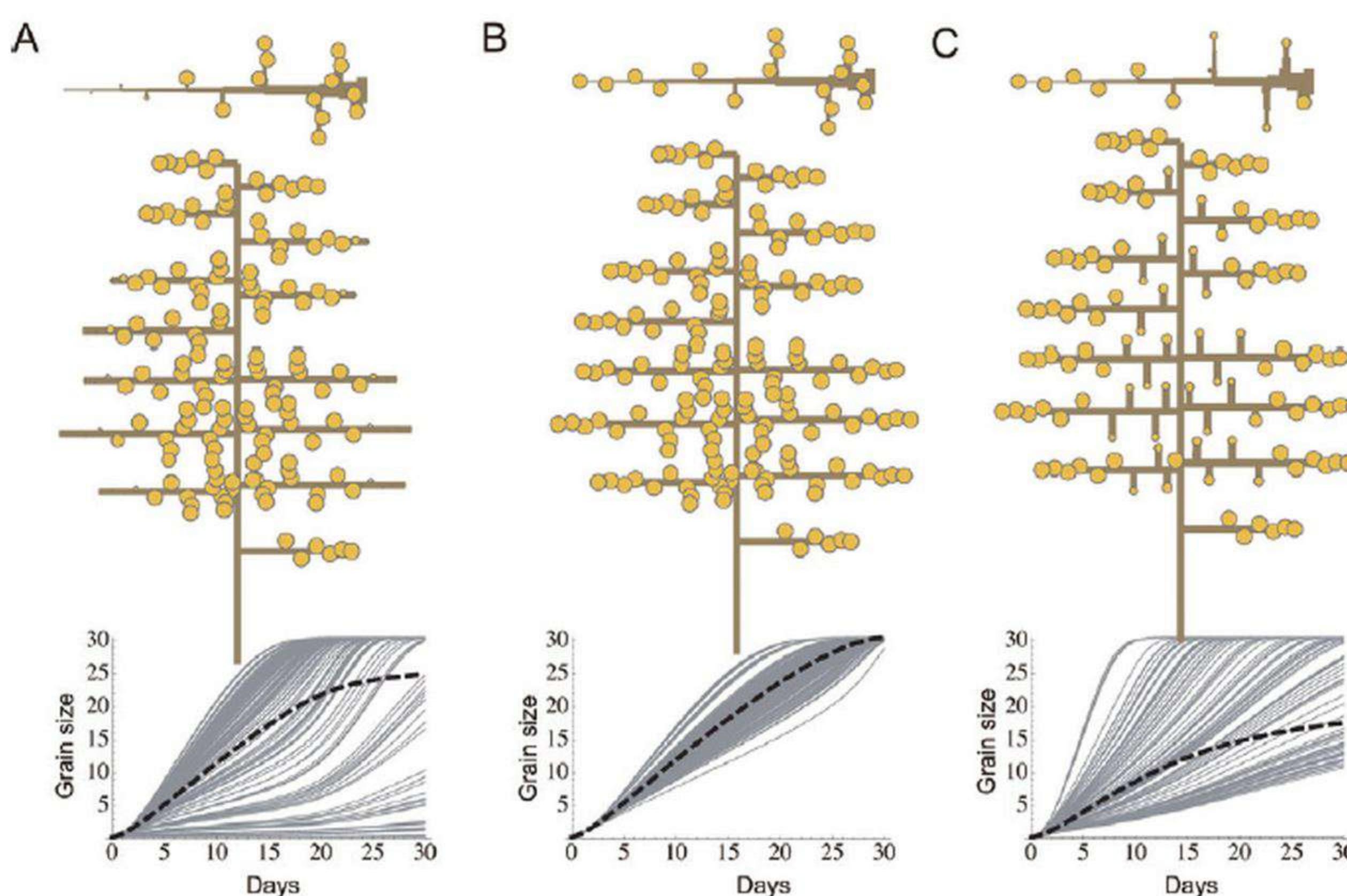


図1：3種類の篩部構造における玄米の登熟プロセス。図示された穂では軸の太さは篩管の太さを表している。AからCに変化するにつれて篩管の根元が細くなる。実線は各玄米のサイズ変化を表しており、点線はその平均値 (mg)。収量はBで最大となる。

支配的です。本研究でもこの圧流説を採用し、ソース葉と複数のシンク（玄米）が師管（エッジ）で連結されたグラフとして複合的師管ネットワークをモデル化し、各ソースとシンクにおけるショ糖ダイナミクスを離散空間常微分方程式系によって記述しました。グラフの形状はコシヒカリの穂構造をもとに算出することができました（図1）。玄米数は固定し玄米配置のみが異なるイネ穂ネットワークを仮想的に3種類作出し、ネットワーク間で収量比較を行った結果、一次枝梗のみあるいは少数の二次枝梗を発達させたネットワークにおいて高い収量が予測されたが、三次枝梗まで発達させたネットワークでは未熟な玄米が認められ収量は低いままであることが予測されました。また、高い収量が予測されたイネ穂ネットワークでは、ネットワーク上の全ての玄米が均質な登熟動態を示しました。総光合成速度を増加させた場合にも同様の結果が得られます。これらの結果は、均質なショ糖輸送が可能な玄米配置をデザインすることによって、収量増加を実現できることを示唆するものです。

(2) デンプンと概日時計の相互調節がもたらす最適成長

植物は日中生産した光合成産物の一部をデンプンとして蓄積し、それを夜間にショ糖に分解し様々な成長器官へ輸送することで昼夜問わず継続して成長しています。しかし、植物が多様な明暗サイクルにどのように応答し計画的なデンプン利用を実現しているのか、そのメカニズムはまだわかつていません。そこで私たちは、巧みなデンプン制御には体内時計とデンプン代謝の相互調節が必要であると考え、数理モデルをもとにした分析を進めてきました。デンプン代謝モデルの解析により、デンプンの日周変化にみられる線形性は、葉内のショ糖量をほぼ一定に保つホメオスタシス

の結果として実現されることが明らかとなりました。また、デンプン分解速度は夜明けにピークを持つ双曲線関数で与えられるときに、ショ糖量は昼夜問わずほぼ一定に維持され、成長組織へのショ糖輸送が可能になることがわかりました。さらに、このデンプン分解速度がショ糖量に応答した概日時計の位相変化によって制御されると考えると、多様な日長においてもショ糖量を枯渇させず成長し続けると予測されました。本研究によって、ショ糖に応答して朝には概日時計の位相が前進し夜には後退するという実証データの意義を、ショ糖ホメオスタシスの見解から説明することが可能となります。

(3) 温暖化環境下での開花時期予測

自然環境でみられる複雑な温度変化のもとで植物がどのように季節の移り変わりに応答し適切な時期に開花できるのか、そのメカニズムを明らかにするとともに、遺伝子情報に立脚した開花時期予測モデルを開発しました。シロイヌナズナの近縁種である多年生草本ハクサンハタザオを対象にして、花成に関わる温度応答性を定量化するために、様々な温度条件のもとで FLC とその上流／下流に位置する遺伝子($VIN3$ と FT)の相対発現量を長期間観測し、各遺伝子の温度応答関数を推定しました。推定された温度応答関数を実装した動力学モデルを用いることで、どのような温度環境であってもこれら遺伝子の発現動態を予測する手法を開発しました（図2）。このモデルを用いて、将来の地球温暖化によって開花時期に生じる変化を予測したところ、開花の開始および終了時期の双方が温暖化とともに早期化することが示されたましたが、開花終了時期の前進が開始時期よりも早く進むため、開花期間が温暖化とともに短縮され、最終的には約5°Cの温度上昇によって開花すらしなくなることが予測されました。

3. 今後の展望

これらの結果を検証するために、温暖化実験、時計遺伝子突然変異帯を対象にした根の成長動態の観測、篩部構造の詳細な分析を現在進めているところです。これらの研究によって、環境変動下において作物収量がどのように変化するか見積もることに役立てます。

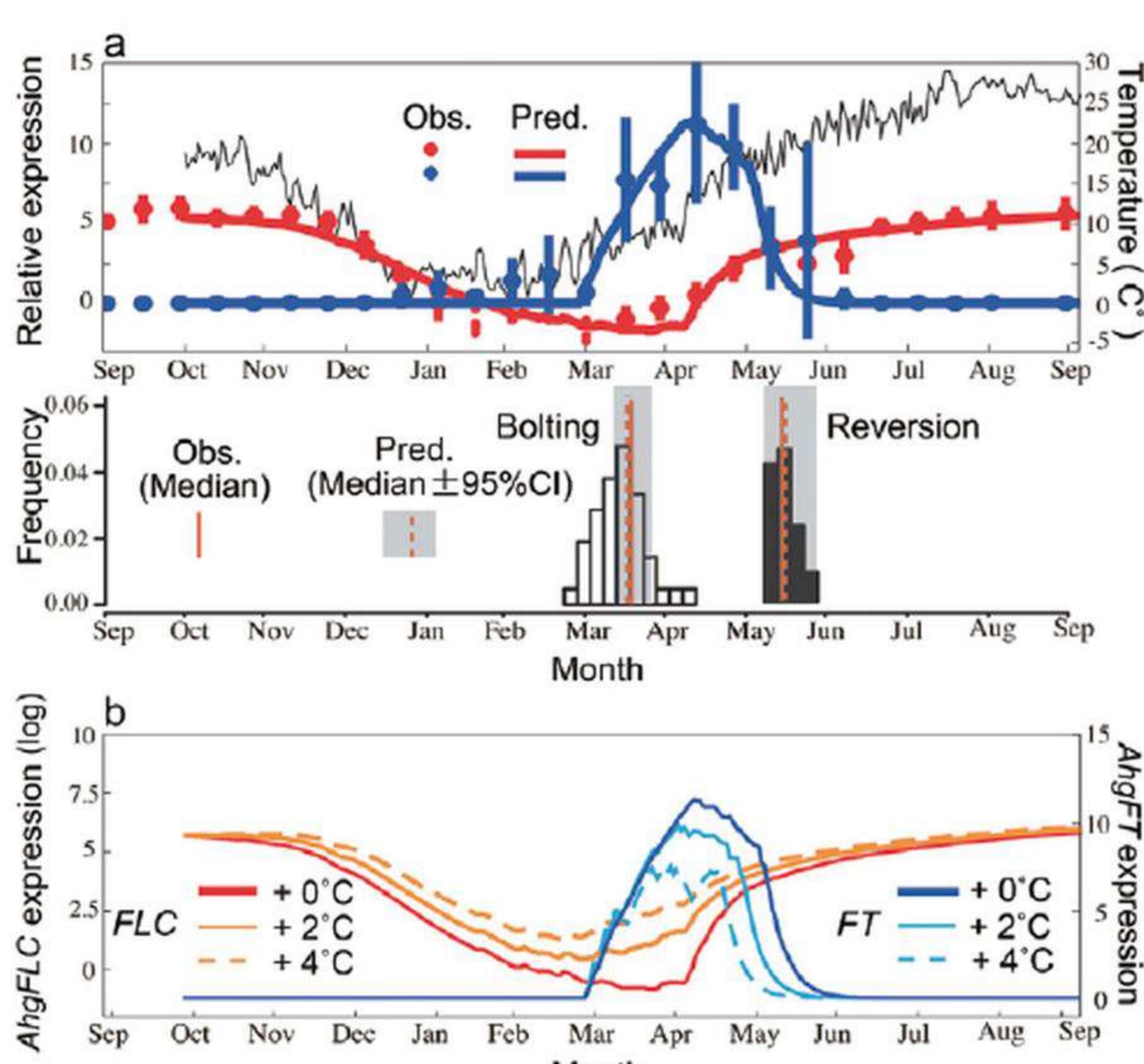


図2：環境変化への植物の開花時期応答の予測と検証。(a) *FLC* 遺伝子（赤）と *FT* 遺伝子（青）の相対発現量の季節変化と繁殖開始（抽だい、bolting）と繁殖終了（栄養成長への逆転、reversion）時期。線は予測値、点は実測値を示す。(b) 温度上昇への応答。

Seki M, Feugier FG, Song XJ, Ashikari M, Nakamura H, Ishiyama K, Yamaya T, Inari-Ikeda M, Kitano H, Satake A. (2015) A mathematical model of phloem sucrose transport as a new tool for designing rice panicle structure for high grain yield. *Plant Cell Physiol.* 56: 605-619.

Webb AA, Satake A. (2015) Understanding circadian regulation of carbohydrate metabolism in *Arabidopsis* using mathematical models. *Plant Cell Physiol.* 56: 586-593.

Satake, A, Kawagoe T, Saburi Y, Chiba Y, Sakurai G, Kudoh H (2013) Forecasting flowering phenology under climate warming by modelling the regulatory dynamics of flowering-time genes. *Nat. Commun.* 4: 2303.

プロテオームによる環境変動に応答するSUMO化タンパク質の解析

研究代表者：石田 喬志（熊本大学大学院自然科学研究科）

1. 研究のねらい

タンパク質の翻訳後修飾は細胞内の多様なイベントを制御し、細胞のふるまいを規定している重要なメカニズムです。SUMO (Small Ubiquitin-related modifier) は真核生物に広く保存された翻訳後修飾を担う分子で、基質となるタンパク質に結合すると生化学的な性質を変化させ、細胞内局在の変化やタンパク質間相互作用、転写制御活性、酵素活性など多くの面に影響を与えることが報告されています。これまでの研究からこういったSUMOによる翻訳後修飾が、個体発生プログラムの制御や種々の環境ストレス応答、土壤栄養の飢餓への適応、病原菌の感染応答などに関与し植物の安定的な生長を下支えしていることが知られています。つまり、SUMOは細胞内で複雑に交差する多様な内性・外性の刺激に応答してタンパク質を修飾し、シグナル伝達のオン／オフを切り替えて交通整理を行うことで、安定的に植物が生長できるような環境を整備する鍵分子と言うことができます。しかし、具体的にSUMOがどのようなタンパク質を修飾し機能制御を行っているかはほとんどわかっていません。

私達は本新学術領域への参画に先んじて植物からSUMO化修飾されたタンパク質を精製し、質量分析装置によって同定する手法を開発しました。類似のSUMO化タンパク質の同定方法がいくつか報告されていますが、実際には高度な実験技術を要するため実験的に行っているグループは多くありません。私達はこのSUMO化タンパク質同定技術を応用して、どのようなタンパク質がSUMOによる翻訳後修飾制御を受けるのかを解明することを目標に研究を行いました。

2. 主な研究成果

私たちは、本新学術領域の研究期間を通して、SUMO化タンパク質の精製法のさらなる改良と、その運用によって植物のSUMO化タンパク質の同定に取り組みました。タンパク質精製のためにタグ付けされたSUMOをシロイヌナズナ植物で発現させ、内性のSUMOと置き換えることで、より効率的にSUMO化タンパク質を精製できるよう工夫しました。こういった取り組みの結果、バックグラウンドノイズが少ないSUMO化タンパク質群の精製法を確立することができました。さらに、質量分析装置を用いてタンパク質の同定を行い、200以上のタンパク質を候補因子として選抜しました。その後、大腸菌と組み換えタンパク質を利用した検定法によって、今回得られた候補が本当にSUMO化されるかどうかの検証を行い、少なくとも6種類のタンパク質を、新たにSUMO化による制御を受ける因子として同定しました。

3. 今後の展望

本研究によりSUMO化タンパク質を精製するための形質転換植物体系統を作出し、質量分析装置による同定を行う手法を確立することができました。細胞内でSUMOによって制御を受けるタンパク質は非常に多く存在すると考えられており、現段階ではそのほとんどが未解明です。本研究の成果は、こういった未知の領域を切り開いてゆく際に非常に有効な手段になるものと考えています。今後はこの系統と手法を用いて、各種ストレスに対してどのようなタンパク質が応答するのかを明らかにしてゆきたいと考えています。さらに、この中から直接的に生長制御へつながるタンパク質を明らかとし、悪条件下でも安定的に生長を続けるために機能する分子メカニズムを解明することを目標としてさらに研究を発展させてゆきたいと考えています。

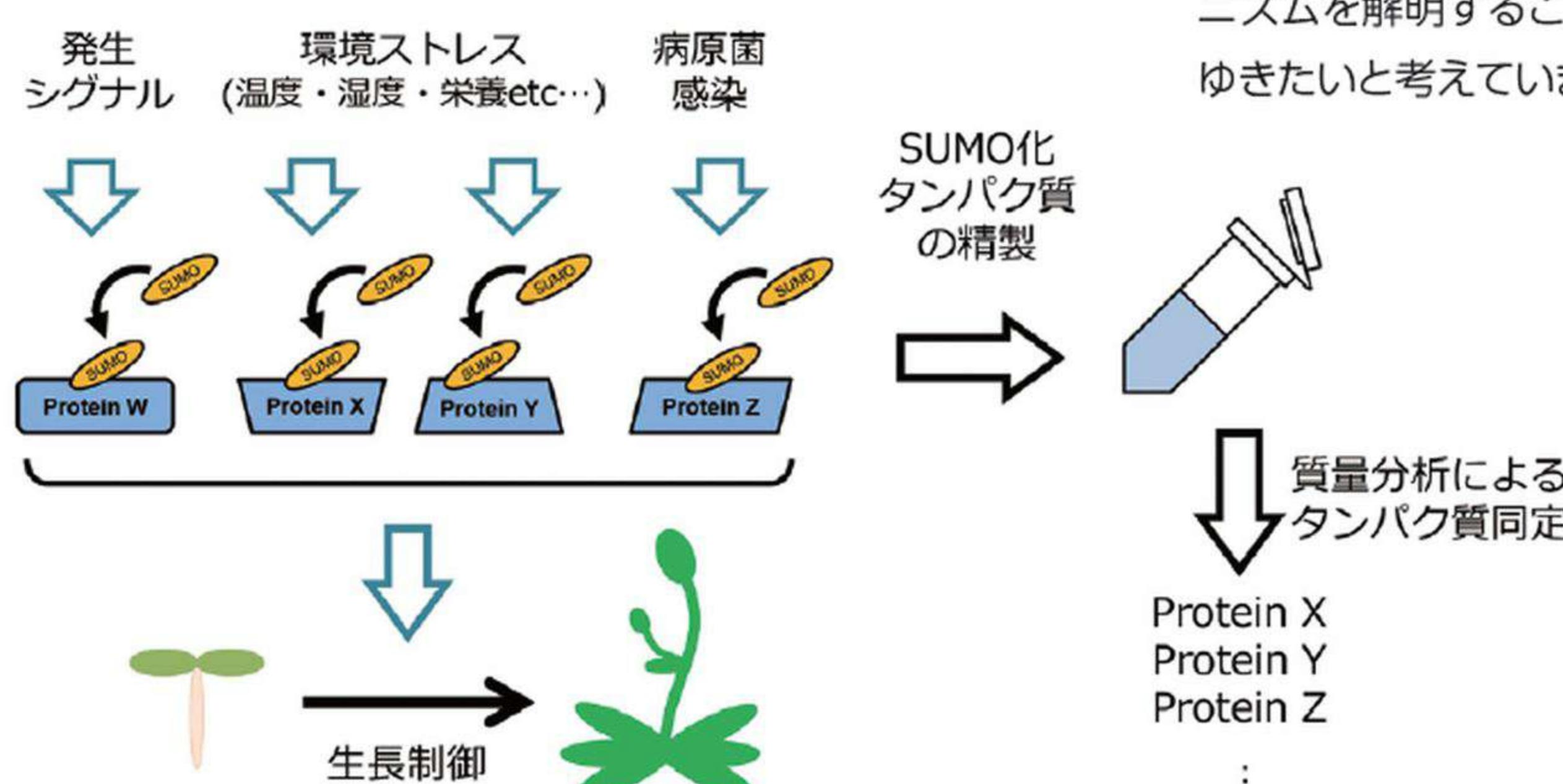


図1：SUMOによる植物の環境応答と生長制御メカニズム

SUMOは様々な外部刺激に応答してタンパク質の翻訳後修飾を行い、これによって植物は安定的な生長を遂げることができます。私たちはSUMOによって制御を受けるタンパク質の同定手法の開発・改良に取り組みました。SUMO化されるタンパク質を網羅的に同定し、詳細な解析を行うことで植物が持つ生長制御メカニズムの一端を明らかとすると考えています。

植物の栄養飢餓とオートファジー

研究代表者：石田 宏幸（東北大学大学院農学研究科）

1. 研究のねらい

独立栄養生物である植物にとって、栄養素やエネルギーの体内での効率利用・リサイクルは、栄養素や光合成が制限されるストレス環境下での生存戦略の一つとして重要です。オートファジーは、真核生物（動物・植物・酵母やカビなど）が共通して持つ、栄養飢餓などに陥った際に自らの細胞の一部を分解してリサイクルするための機構です。私たちは、オートファジーが、このようなストレス環境下での植物の突破力発現に果たす役割について明らかにすることを目的に、シロイヌナズナとイネを材料に研究を進めました。

2. 主な研究成果

窒素は、タンパク質をはじめ、DNA やクロロフィルなどの成分であることから、植物の成長を律速する重要な栄養素です。植物は、限られた窒素を使って成長を続けるために、老化葉から新しい葉に窒素を転流させることにより、体内でリサイクルしていることが知られています。植物の葉では、同化窒素の多くが葉緑体に分配され Rubisco などのタンパク質として光合成を担っています。シロイヌナズナでは、老化葉における最大のリサイクル窒素源である Rubisco の分解に、オートファジーが主要な役割を果たしていることを Rubisco と蛍光タンパク質の融合タンパク質を用いたプロセシングアッセイにより明らかにしました。

多くの植物は昼間に光合成産物の一部をデンプンとして葉緑体に蓄え、夜間にはそれを糖に分解し代謝や成長に必要なエネルギーを得ています。シロイヌナズナのオートファジー欠損変異体やデンプン代謝の多重変異体を用いた解析から、夜間や暗処理など同化炭素が不足するような状況下では、オ

トファジーが主に葉緑体タンパク質を分解し代替エネルギー源であるアミノ酸などを供給することにより、植物の成長・維持に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。

シロイヌナズナで培ってきた蛍光タンパク質を用いたイメージング技術をイネに応用することで、イネの葉や根においてオートファジーを可視化する系を確立しました。そして葉緑体の一部がちぎれて特異小胞 RCB としてオートファジーにより分解される経路が、イネでも働いていることを明らかにしました。さらに、オートファジーはイネ老化葉において各種のオルガネラやタンパク質の分解を担う主要な機構であり、オートファジー機能を欠損する変異体イネは、通常のイネと同じ量の窒素を吸収しても成長が抑制されることを明らかにしました。

3. 今後の展望

本研究により、特にオートファジーがイネの窒素転流を支える主要な機構であることが明らかになりました。よって農学的な観点からは、オートファジーの制御は、少ない肥料で効率よく成長するイネをつくるための重要な改良ターゲットの一つであるといえます。また、老化葉におけるオートファジー機能の適切な強化は、イネだけではなく、例えば窒素利用率が低い作物において、利用効率を改善し成長促進につなげができるかもしれません。今後は、これらの点に着目し、応用的な研究を展開していきたいと考えています。

Ishida H, Izumi M, Wada S, Makino A. (2014) Roles of autophagy in chloroplast recycling. *Biochim. Biophys. Acta* 1837: 512-521.

Izumi M, Hidema J, Wada S, Kondo E, Kurusu T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H. (2015) Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation. *Plant Physiol.* 167: 1307-1320.

Wada S, Hayashida Y, Izumi M, Kurusu T, Hanamata S, Kanno K, Kojima S, Yamaya T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H. (2015) Autophagy supports biomass production and nitrogen use efficiency at the vegetative stage in rice. *Plant Physiol.* 168: 60-73.

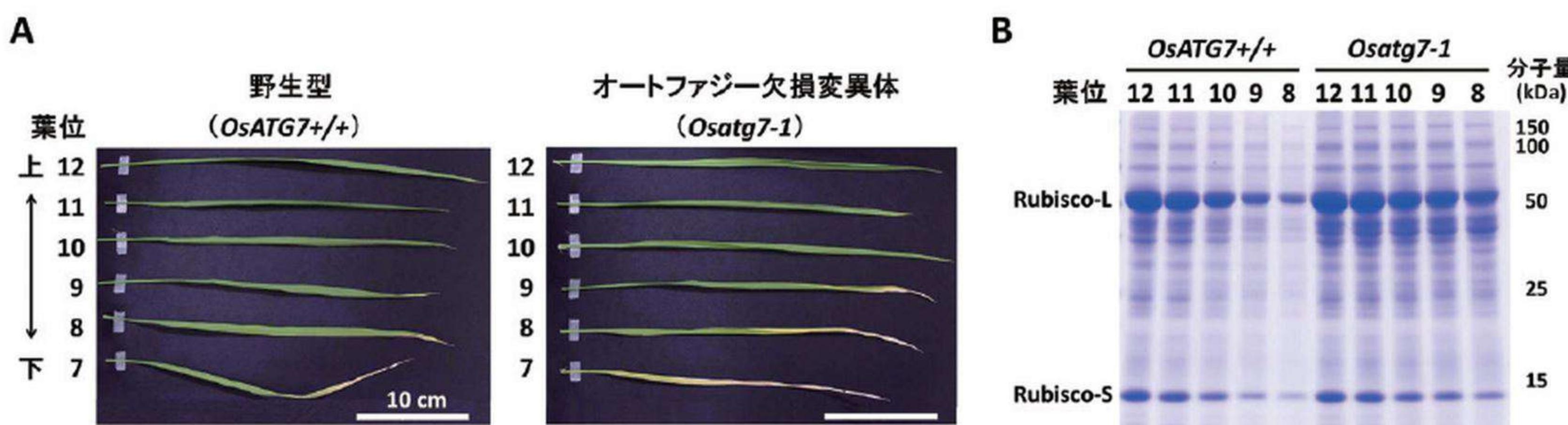


図1：イネのオートファジー欠損変異体 (*Osatg7-1*) における葉の老化

(A) 変異体 (*Osatg7-1*) では個体の成長に伴い野生型 (*OsATG7+/+*) と同様に下位の葉から順に老化する。(B) 野生型では老化の進行に伴い Rubisco が分解され減少するのに対して、変異体では Rubisco や他のタンパク質が老化葉に多く残存する。各葉位の葉の中央 10 cm 部分から可溶性タンパク質を抽出し葉面積等量で SDS-PAGE に供した。(Wada et al., 2015)

環境ストレス活性型転移因子による植物のゲノム変化と環境適応

研究代表者：伊藤 秀臣（北海道大学大学院理学研究院）

1. 研究のねらい

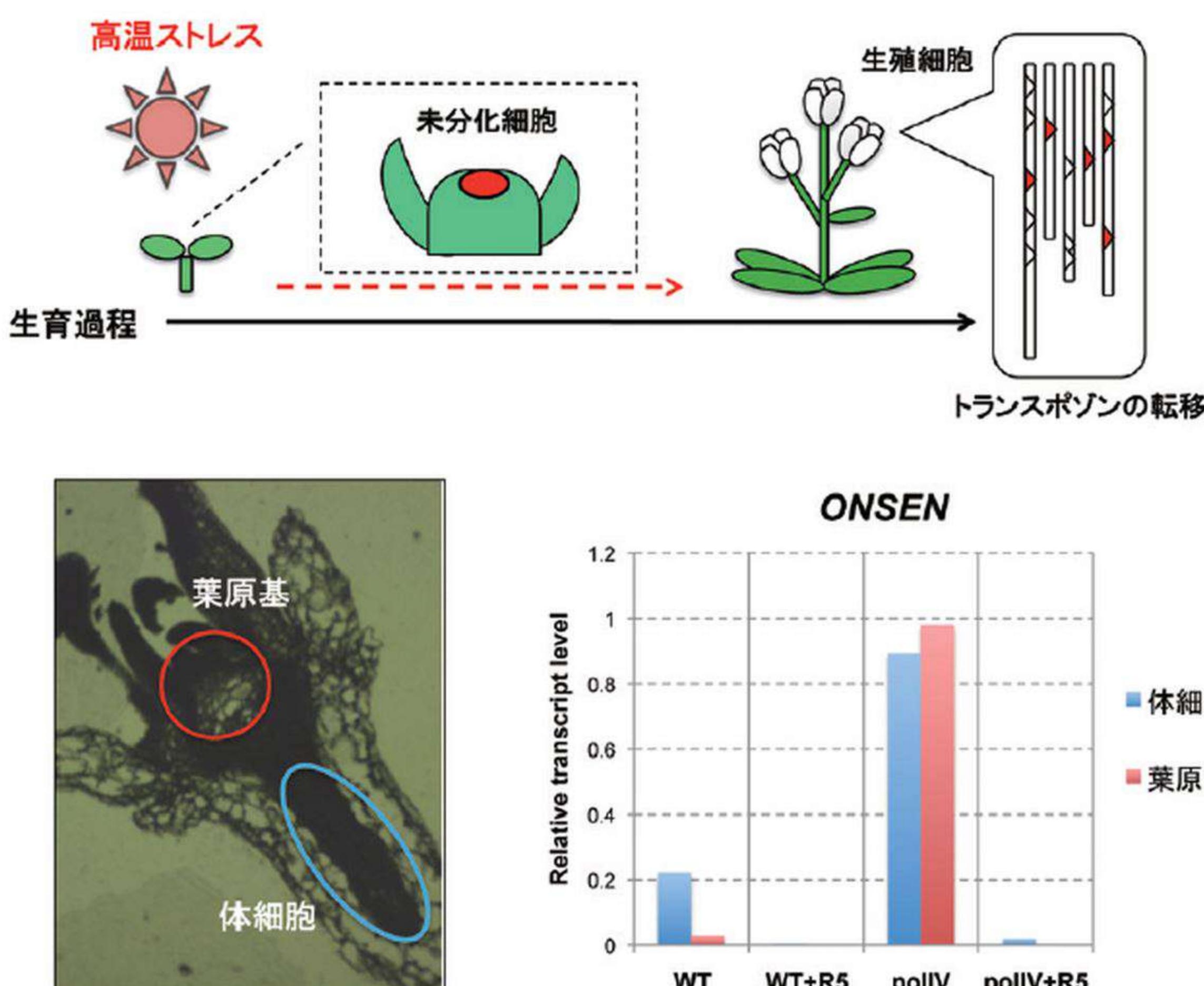
環境ストレスは遺伝子や転移因子（トランスポゾン）の発現に影響を与えることが報告されています。“動く遺伝子”トランスポゾンは様々な生物に広く存在しゲノムの主たる構成要素となっています。近年トランスポゾンがゲノムの安定化に重要な働きをしていること、近傍の遺伝子の発現を調節していることなどが報告されるにつれその重要性が明らかになってきました。このことは環境の変化に伴って活性化したトランスポゾンがゲノム構造の変化や近傍の遺伝子発現に変化をもたらし、その結果生物種に多様性を生みだす可能性を示唆しています。私たちは、環境ストレスが植物に与える影響について「ゲノム構造の変化と環境適応」という側面からアプローチし、ストレス条件下で活性化するトランスポゾンとそれを制御する宿主側の因子の解析を行うことにより大地・大気環境の変動に対処するために植物がもつ巧妙な生存戦略について理解しようと試みました。

2. 主な研究成果

本研究では、私たちが同定した“高温ストレスで活性化するトランスポゾン”を用いて環境ストレスにより活性化したトランスポゾンと宿主ゲノムにおける遺伝的なゲノム変化とエピジェネティックな変化を総合的に理解する試みを行いました。私たちが現在までにおこなった研究結果から、高温ストレスで転移したトランスポゾンは、宿主植物の子孫集団の中でストレス耐性を獲得した個体を誕生させることができました。また、高温ストレス活性型トランスポゾンの制御には組織特異性があること、その制御は、未分化状態にすると解除されることなどが新たにあきらかになりました。

3. 今後の展望

ストレス活性型のトランスポゾンは植物に広く保存されている可能性があります。モデル植物シロイヌナズナで得られた成果を育種上重要な植物に応用していくたく思います。この研究でえられた成果は、環境ストレス耐性作物作成への応用も可能な大変重要なものであったと思います。



Matsunaga W, Ohama N, Tanabe N, Masuta Y, Masuda S, Mitani-Umeno N, Yamaguchi-Shinozaki K, Ma JF, Kato A, Ito H. (2015) A small RNA mediated regulation of a stress-activated retrotransposon and the tissue specific transposition during the reproductive period in *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 6: 48.

Matsunaga W, Kobayashi A, Kato A, Ito H. (2012) The effects of heat induction and the siRNA biogenesis pathway on the transgenerational transposition of *ONSEN*, a copia-like retrotransposon in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 53: 824-833.

図1：未分化細胞における組織特異的なトランスポゾン発現制御
生育段階の初期にストレス誘導を受けたトランスポゾン *ONSEN* の転写活性は生殖細胞まで持続しないが、pol IV 変異体では世代を超えた転写が見られる。野生型の葉原基では高温ストレス後直ちに *ONSEN* の転写抑制が起きる。

核酸塩基代謝の多機能性とストレス適応戦略における代謝中間体の役割解明

研究代表者：坂本 敦（広島大学大学院理学研究科）

1. 研究のねらい

動けない植物は、厳しい自然環境を生き抜くために、動物を凌駕する多様で複雑な物質代謝系を獲得してきました。そのような代謝系には、独立栄養を営み成長を持続させるものだけでなく、変動環境に対する応答や適応の仕組みを担うものがあります。核酸の主成分で窒素に富むプリン塩基の分解は、不要になった生体高分子から生じる窒素を再利用することで、不足しがちなこの多量必須元素を確保する機構の一環と理解されてきました。しかし、私たちはこの代謝系が窒素栄養のリサイクルを通じて植物の成長を支えるだけでなく、乾燥などのストレスへの適応にも必要であることを明らかにしました。本研究では、このように複数の役割を担う代謝系に焦点をあて、生育環境の変化に応じてその役割を合目的に使い分ける、したたかな植物の環境突破戦略の実態解明を目指しました。

2. 主な研究成果

プリン塩基の分解経路の抑制は、乾燥や酸化ストレスに対するシロイヌナズナの耐性を低下させることから、ストレス適応に関わる代謝中間体の存在を想定し、アラントインを同定しました。代謝酵素の遺伝子破壊によってアラントインを蓄積するシロイヌナズナは、野生株や他のプリン代謝中間体を蓄積する変異株よりも、乾燥や浸透圧ストレスに対して高い耐性を示しました。そのメカニズムとして、この株ではストレス関連を中心に約1,000個の遺伝子の発現が誘導され、特にアブシジン酸(ABA)を介したストレス応答が惹起していること、そしてこれはアラントインがABAの生成経路を活性化し、その内生量を亢進するためであることがわかりました。また、これらのABAに関連した生理現象は、アラントインを与えた野生株でも再現されました。以上の結果から、ストレス適応における核酸塩基代謝の作用機構

にはアラントインが重要な役割を担うことが明らかとなり、この代謝系とABAの量的調節には予期せぬ生理学的な連携があることが示唆されました。さらに、アラントインはABAを介してジャスモン酸(JA)の合成やJA応答も惹起することがわかり、ストレス応答を制御する植物ホルモンとの密接な関わりが明らかになりました。アラントインは、通常の生育条件下では分解されて窒素の同化基質として再利用されますが、ストレスに曝された植物や作物では蓄積することが知られています。本研究の成果は、ストレス遭遇時における代謝中間体の蓄積という一見阻害的な生理現象に隠された、代謝の多機能性に基づく巧妙なストレス適応機構が植物に備わっていることを示唆します。生理活性な代謝中間体を一時的に蓄積し、その作用を巧みに利用するストレス適応戦略は、環境変動への迅速な適応応答を可能になると同時に、ストレス条件下で無駄な代謝コストを抑えるなどの点で重要な意義を持つと考えられます。実際に、ストレスに応答してアラントインの蓄積をさらに高める遺伝子操作が、シロイヌナズナのストレス耐性の増強に有効であることを示唆する結果が得られています。

3. 今後の展望

本研究で見出されたストレスホルモン亢進作用の分子機構をさらに詳細に解析し、信号伝達に先立ちストレス応答の初期過程で重要な役割を担うホルモン内生量の調節機構の理解に繋げたいと考えています。また、ストレス応答を惹起するアラントインの生理活性に着目し、作物のストレス耐性を高める応用研究を進めています。

Watanabe S, Matsumoto M, Hakomori Y, Takagi H, Shimada H, Sakamoto A. (2014) The purine metabolite allantoin enhances abiotic stress tolerance through synergistic activation of abscisic acid metabolism. *Plant Cell Environ.* 37: 1022-1036.

Watanabe S, Kounosu Y, Shimada H, Sakamoto A. (2014) Arabidopsis xanthine dehydrogenase mutants defective in purine degradation show a compromised protective response to drought and oxidative stress. *Plant Biotechnol.* 31: 173-178.

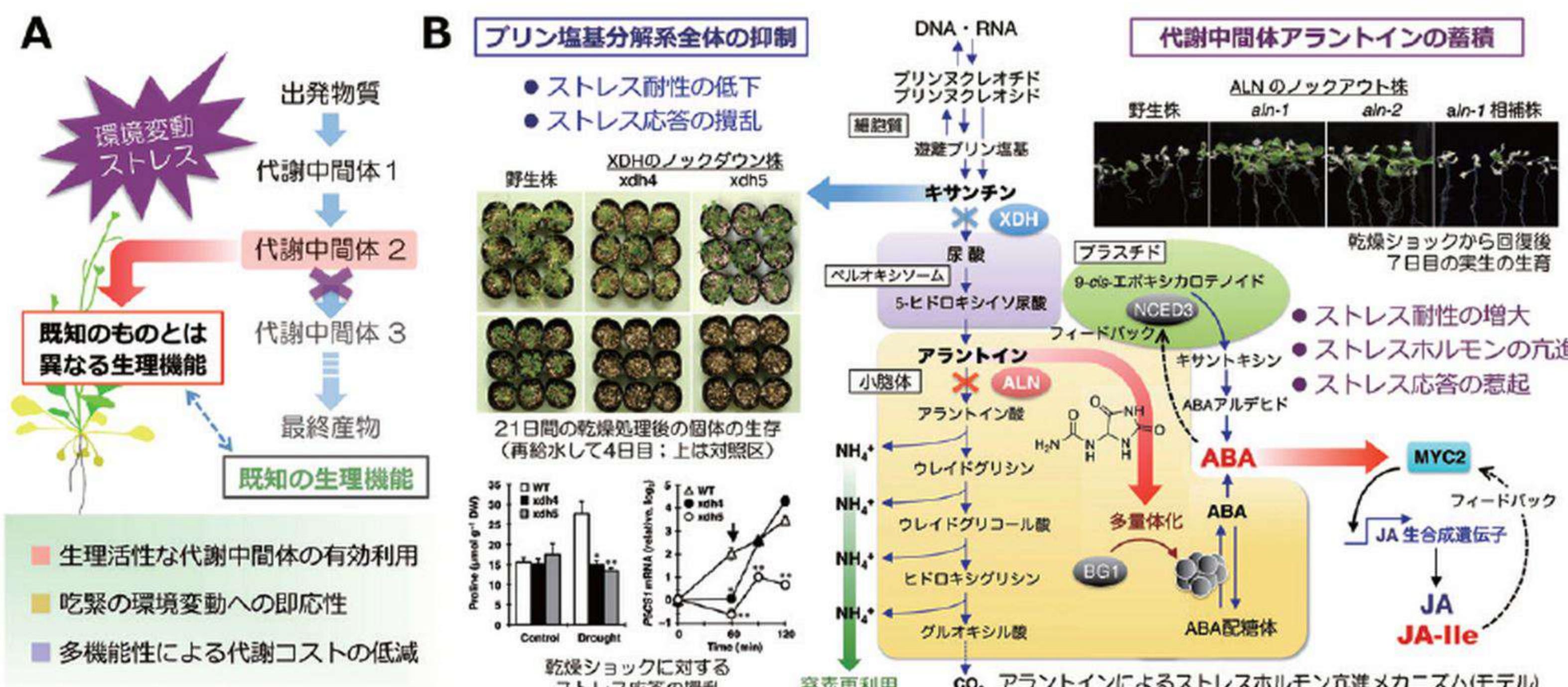


図1：代謝の多機能性(A)とストレス適応において核酸塩基の分解系にみられるその生理学的意義(B)

環境シグナルを統合制御する新規転写因子VOZに関する研究

研究代表者：佐藤 雅彦（京都府立大学大学院生命環境科学研究所）

1. 研究のねらい

大地に固着生活している植物は、環境から受ける様々なストレスから動的に逃れることができないため、環境からのストレスに対応して転写制御系や転写後制御系による調節によって細胞内の構成をダイナミックに変化させることで、様々な環境ストレスに適応しています。本研究計画の目的は、申請者らが単離し、解析を進めている新規転写因子 VOZ がどのように環境シグナルを統合し、制御しているかについて、転写のターゲットの同定、ストレス依存的な分解や細胞内局在性の変化のメカニズムの解明等を通して、分子生物学的に理解することです。

2. 主な研究成果

VOZ (VASCULAR PLANT ONE-ZINC FINGER) 1/2 は、ヒメツリガネゴケから被子植物に至る陸上植物に高度に保存されているタンパク質で、*in vitro*において GCGTNx7ACGC 配列に結合し、転写活性化能を持つことから、陸上植物の生存に非常に重要な転写因子であることが予想されていました。しかしながら、現時点では VOZ1/2 は明確な核局在が示されておらず、転写因子以外の機能も考えられる状況です。

我々は、マイクロアレイ解析によって、VOZ1、VOZ2 ともに登熟時の種子で発現が大幅に上昇していることが明らかになりました。*voz1voz2* 二重変異体の発芽率を野生型株と比較したところ、MS 培地にショ糖を添加した状態では、発芽率に差はないものの、ショ糖を添加していない MS 培地では、*voz1voz2* は、発芽直後の成長が著しく阻害されました。更に *voz1voz2* 種子では、2S アルブミン含有量が、大幅に減少しており、ショ糖がない条件での発芽直後の成長

阻害は、登熟時の種子貯蔵タンパク質の発現の減少によるものであることが示唆されました。

更に、我々は、VOZ のストレス応答時における機能を明らかにするためにストレス環境下におけるシロイヌナズナの GFP-VOZ2 の動態解析を行いました。その結果、通常条件下では細胞質に散在していた GFP-VOZ2 が、乾燥や高温ストレス条件下では細胞質内で顆粒状構造を形成している様子が観察されました。この顆粒状構造は、真核生物細胞がストレス応答時に形成するストレス顆粒マーカーである tagRFP-PABP8 (図 1) と Processing-body (P-body) マーカーである tagRFP-DCP1 (図 2) と共に局在したことから、VOZ は、乾燥や高温などの非生物ストレス時にストレス顆粒および P-body に局在することが明らかとなりました。これらのことから、VOZ はストレス時に特定の RNA の代謝に関与している可能性が示唆されました。

3. 今後の展望

今後は、VOZ が、種子登熟時に 2S アルブミンの発現を転写因子として直接的に制御しているか否かについて解析を進めてゆく予定です。更に、ストレス顆粒および P-body 形成時に VOZ タンパク質がどのような役割を果たしているかについて、様々な分子生物学的手法を用いて解析を進めていく予定です。

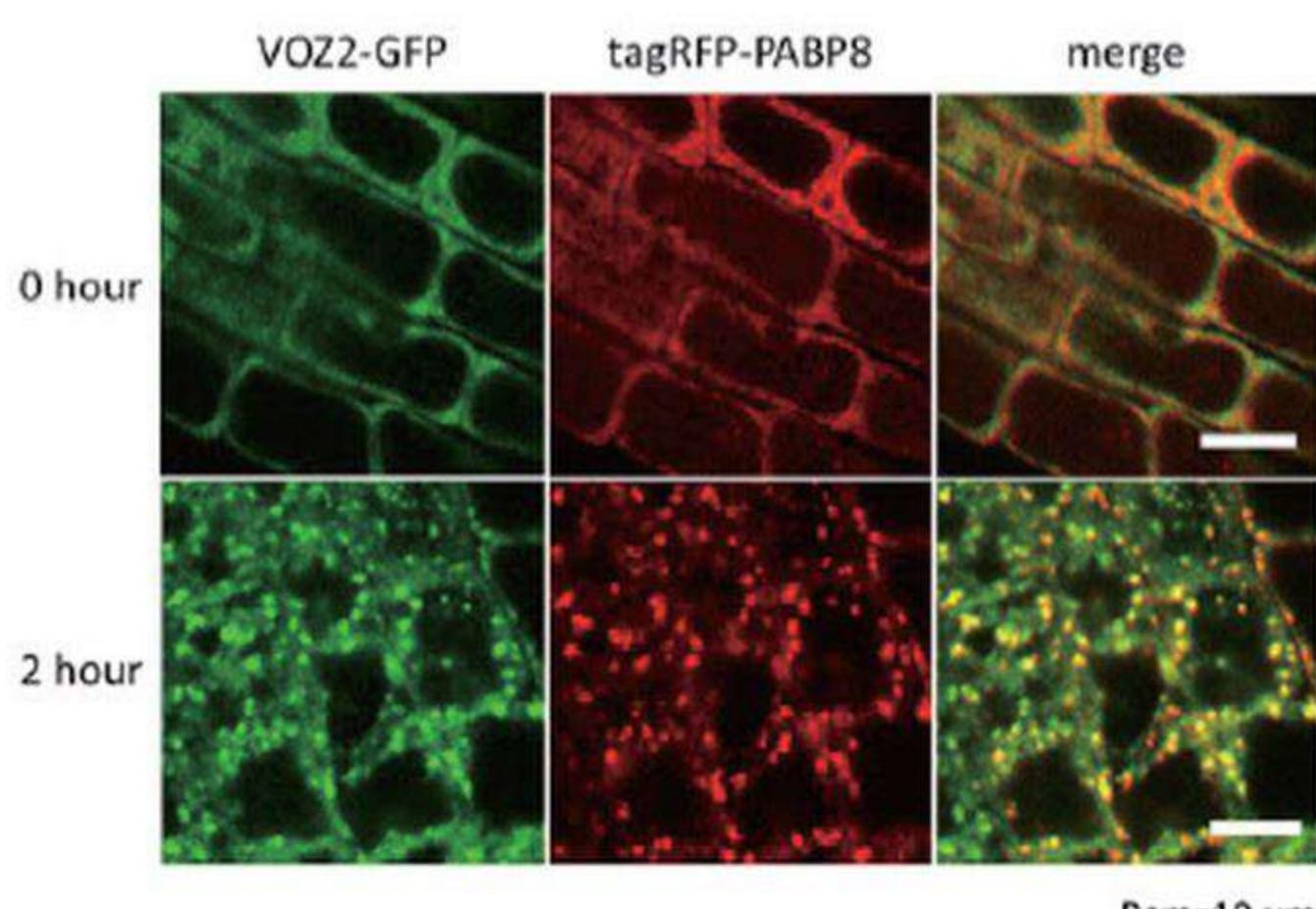


図 1: 高温ストレス時において GFP-VOZ2 は、ストレス顆粒に局在する
シロイヌナズナを 42°C で処理すると、約 3 時間後には、GFP-VOZ2 は細胞内の顆粒状構造に局在するようになる。この顆粒状構造は、ストレス顆粒マーカーである tagRFP-PABP8 と共に局在することからストレス顆粒であることが明らかとなった。

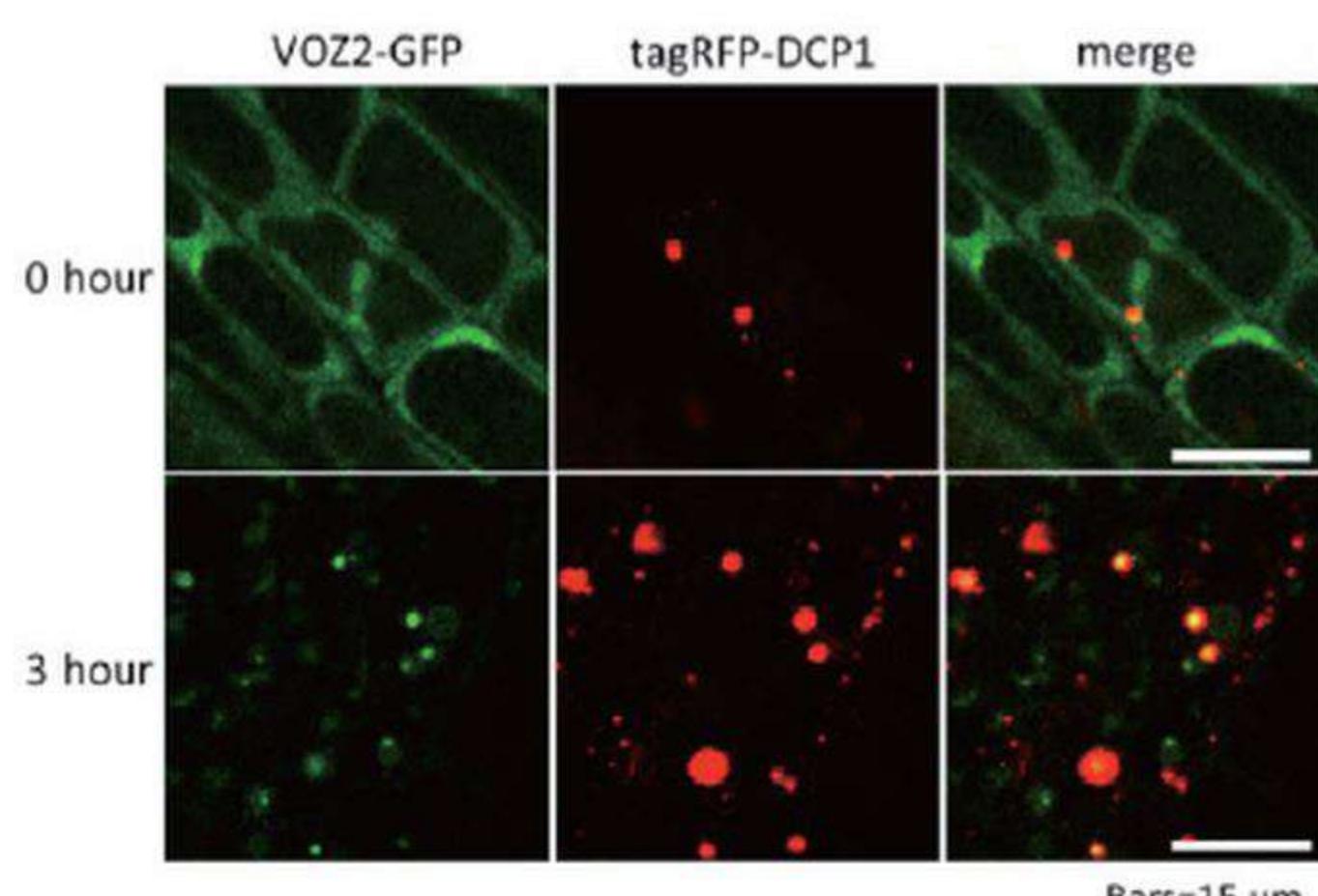


図 2: 高温ストレス時に GFP-VOZ2 は、P-body 内部に局在する。
シロイヌナズナを 42°C で処理すると、約 3 時間後には、GFP-VOZ2 は P-body 顆粒の内部に局在するようになった。

環境ストレスにおける脂質転換と環境順応力

研究代表者：下嶋 美恵（東京工業大学大学院生命理工学研究科）

1. 研究のねらい

植物は、環境変動に応じてその脂質組成を大きく変化させ、ストレスに適応しようとしています。近年、この“環境ストレスと脂質転換”はより多面的であり、植物は環境ストレスに順応するために巧妙に脂質転換を調節していることがわかつきました。本研究は、植物における環境ストレス順応のメカニズムの全容を、脂質転換に着目して解明することを目的としています。

2. 主な研究成果

リン脂質を膜の主要構成成分とする動物とは異なり、通常生育時の植物では、葉緑体外の生体膜は動物と同様リン脂質が、葉緑体膜では糖脂質が主要構成脂質です。植物はリン欠乏にさらされると、生体膜のリン脂質を分解することでリンを細胞内の他の重要な代謝系に供給しますが、その一方で、葉緑体における糖脂質合成を活性化し、生成された糖脂質を葉緑体外の膜に局在させることで膜中の失われたりん脂質を代替するという“リン欠乏時の膜脂質転換”を戦略的に行なうことがこれまでに知られています（図1）。私たちの研究グループでは、このリン欠乏時の膜脂質転換に着目し、シロイヌナズナのリン脂質分解酵素の欠損体や過剰発現体、また糖脂質合成酵素の欠損体や過剰発現体を作成し、リン欠乏以外のストレス応答について解析を進めました。リン欠乏時の膜脂質転換における糖脂質合成では、3つのモノガラクトシルジアシルグリセロール合成酵素（MGD1, MGD2, MGD3）のうち、葉緑体外包膜に局在する MGD3 が重要な役割を担っていることがすでにわかつっていましたが、MGD3 の役割がリン欠乏特異的なのかどうかはわかつていませんでした。そこで本研究では、これまでに複数の

研究グループが培地中に含まれるリンと炭素源である糖（スクロース）のバランスが植物の生長に影響を与えていたことを示唆していましたこともあり、培地中にスクロースを添加した場合と添加しない場合とで植物の生長を比較しました。シロイヌナズナ野生株ではスクロースを添加すると、添加しない場合に比べて生長が促進されますが、本研究ではその際の脂質関連遺伝子の発現量を比較しました。その結果、MGD3 を含めた葉緑体外包膜における糖脂質合成を活性化する方向に遺伝子発現量が変化することが明らかになりました。そこでさらに、*mgd3* 欠損変異体と MGD3 過剰発現体の生育を野生株と比較したところ、*mgd3* 欠損変異体ではスクロースを添加しても野生株でみられたような生長促進が起こらないこと、また MGD3 過剰発現体ではスクロースを添加した場合でのみ野生株よりも顕著な成長促進が起こることがわかりました（図2）。私たちのこれらの研究結果から、従来、リン欠乏時にのみ重要であると考えられていました葉緑体外包膜における糖脂質合成は、実は生育培地に炭素源としてスクロースを投与した際の植物の生長促進においても必須であることがわかりました。

3. 今後の展望

葉緑体外包膜における糖脂質合成は、生成された糖脂質が葉緑体外の生体膜をリン脂質に代わって構成しうるという点で、生長促進の際だけでなく、種々の環境ストレスによりダメージを受けやすい膜の再生に寄与している可能性も考えられます。今後は、さらにこの葉緑体外包膜における糖脂質合成を活性化した植物体を作成し、種々の環境ストレスに対する耐性を調べていきたいと考えています。

Murakawa M, Shimojima M, Shimomura Y, Kobayashi K, Awai K, Ohta H. (2014) Monogalactosyldiacylglycerol synthesis in the outer envelope membrane of chloroplasts is required for enhanced growth under sucrose supplementation. *Front. Plant Sci.* 5: 280.

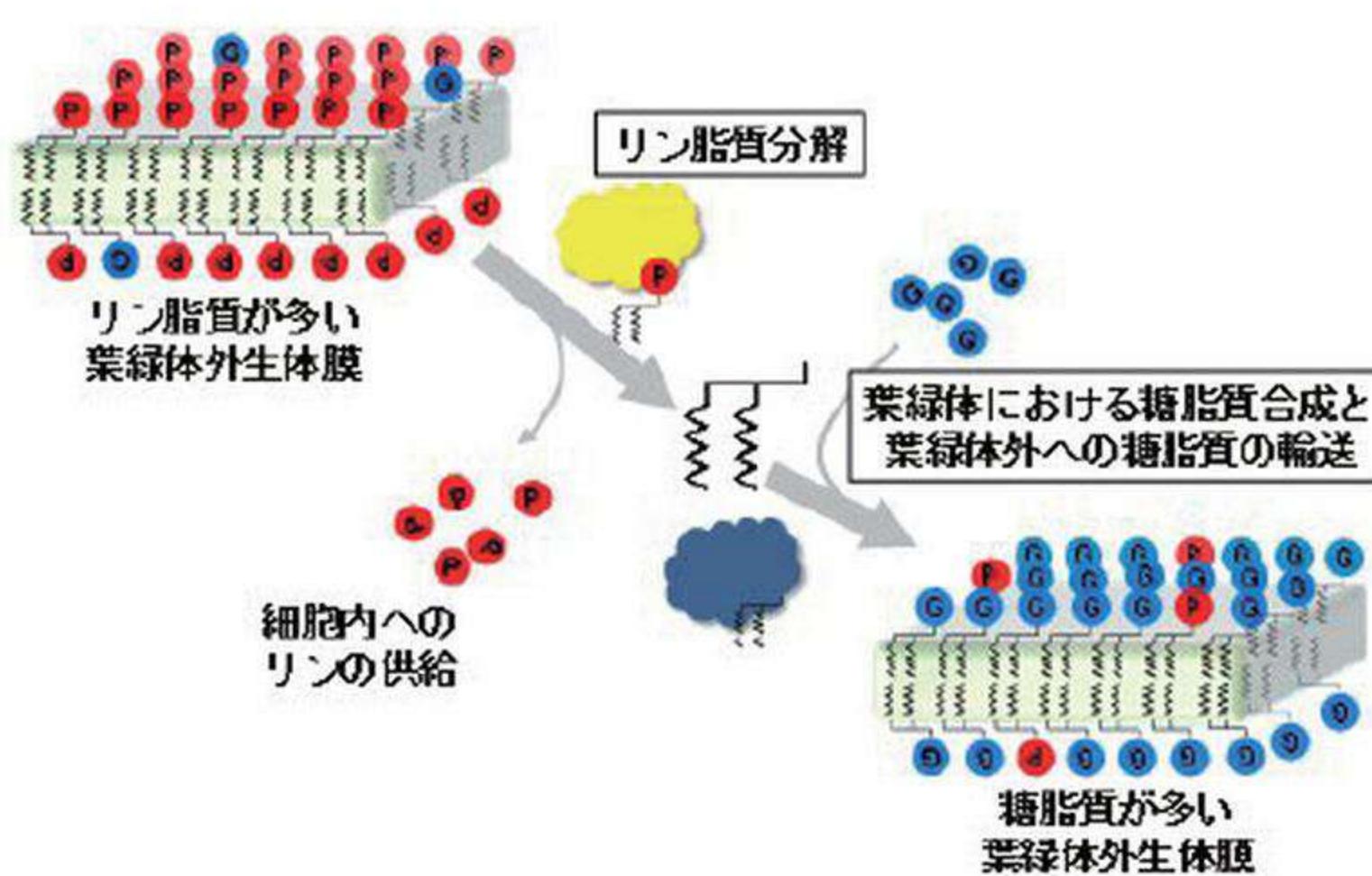


図1：植物におけるリン欠乏時の膜脂質転換機構
リン欠乏時には、葉緑体外の生体膜中のリン脂質の分解が促進され、葉緑体で生成された糖脂質により代替される。

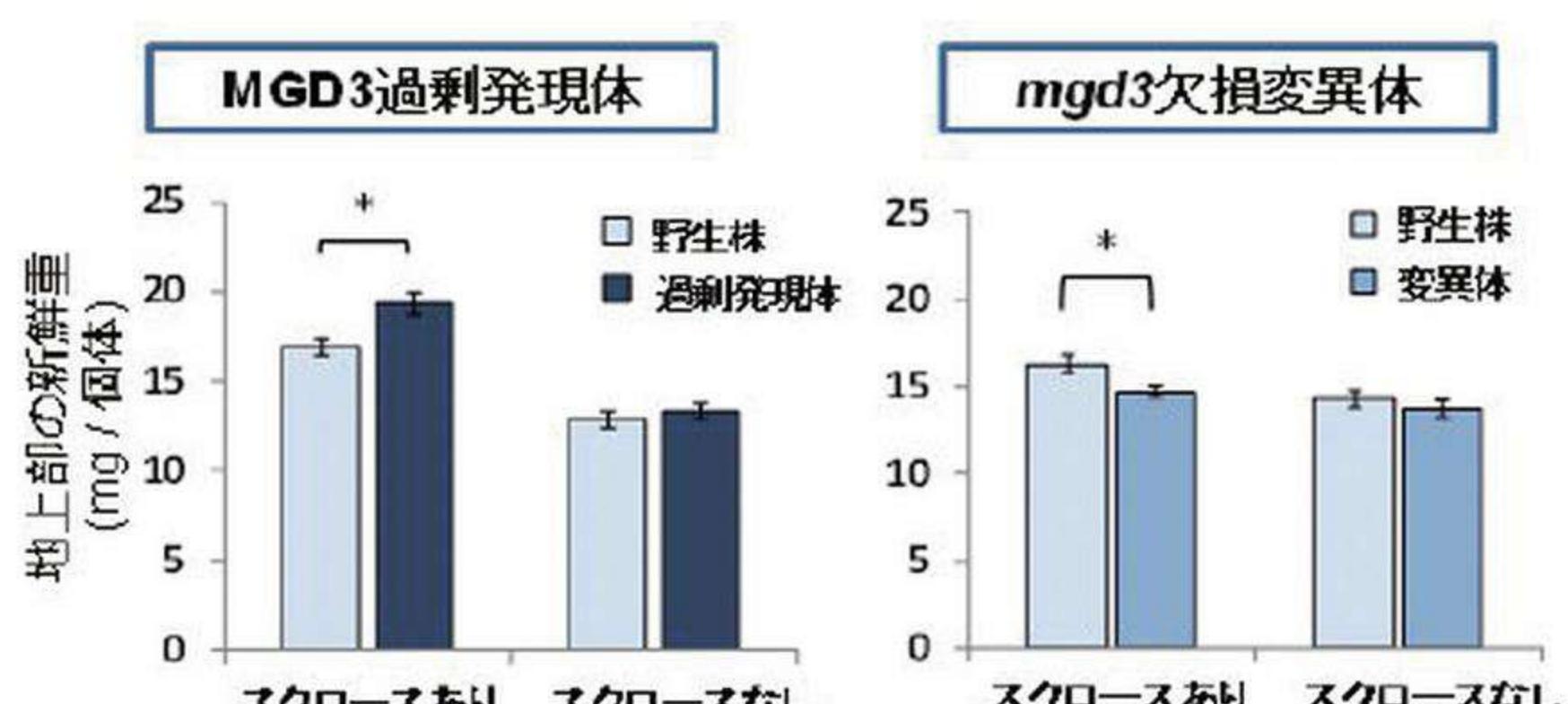


図2：シロイヌナズナ植物体地上部の新鮮重比較
スクラロース存在下では、*mgd3* 変異体は野生株よりも小さく、また過剰発現体は野生株よりも大きくなる。

ヒストン修飾を介した植物の乾燥ストレス適応機構の解析

研究代表者：関 原明（理化学研究所環境資源科学研究センター／横浜市大）
連携研究者：金 鍾明（理化学研究所環境資源科学研究センター）

1. 研究のねらい

植物は移動の自由がないため、様々な環境ストレス変化に對して適応する機構を備えています。近年の研究から、このシステムにはヒストン修飾を介したクロマチンリモデリングによる転写（後）制御機構が関与する事が示唆されてきています。本研究代表者らのグループは、シロイヌナズナヒストン脱アセチル化酵素 HDA6 の変異株が乾燥ストレスに対して耐性を示すことを見出しています。本研究では、HDA6 の乾燥ストレス耐性における機能の解明を目指します。

2. 主な研究成果

HDA6 の乾燥ストレス耐性における機能の解明を目指して研究を進め、以下の新規な知見を得ました。1) シロイヌナズナ *hda6* 変異株では、乾燥ストレス応答時に酢酸発酵経路の遺伝子が強く発現し、内在性の酢酸量が高度に蓄積していました。2) クロマチン免疫沈降実験の結果等から、シロイヌナズナの乾燥耐性付与には、HDA6 によって制御される酢酸発酵経路の活性化が必須であることがわかりました。3) 比較的高濃度の酢酸を直接シロイヌナズナに与えるだけで乾燥耐性を示すことがわかりました。さらに、酢酸処理による乾燥耐性獲得機構の解明をめざして、酢酸で前処理後乾燥ストレス処理時までの過程におけるトランスクリプトームの解析を行い以下の知見を得ました。1) 酢酸前処理した場合、水で前処理した場合（コントロール）に比べて約 2,000 個の遺伝子で発現が変動していました。2) 発現データをも

とに PCA 解析を行ったところ、酢酸で前処理 1 日目の発現プロファイルがコントロール条件と比べて大きく異なっていました。

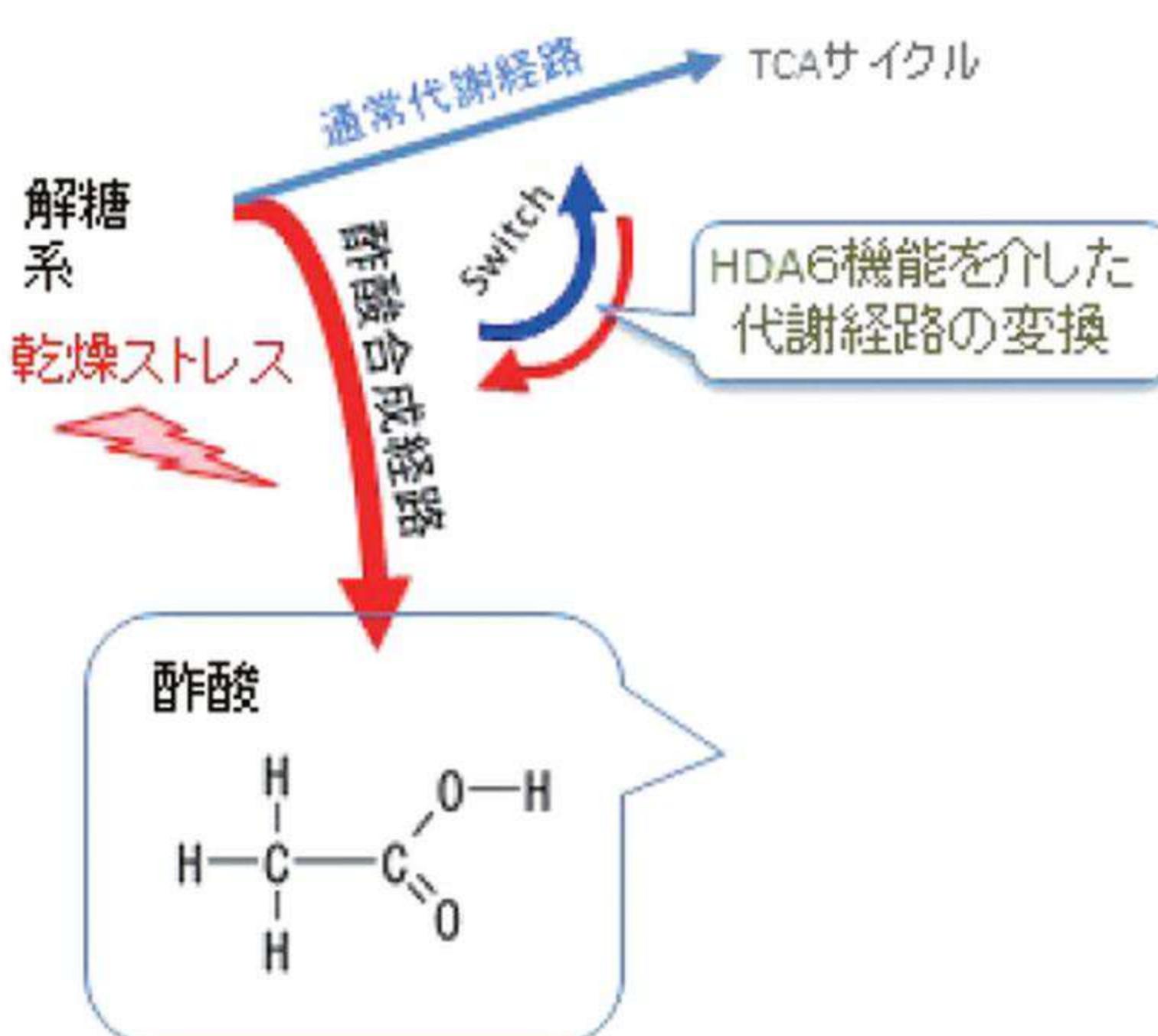
3. 今後の展望

これまでの研究により、酢酸合成経路は植物の環境ストレス耐性に関する主要な代謝パスウェイの一つであり、エピジェネティックな因子によって直接的に制御されていることを明らかにしました。また、“酢酸”という代謝産物が、植物が環境変動を乗り越え生存（環境突破）するために機能する事を初めて明らかにしました。酢酸の効果を利用した乾燥ストレス耐性植物の作出や、乾燥耐性付与法の開発につながり、低コストによる劣悪環境からの突破力の獲得が期待できます。酢酸処理による乾燥耐性獲得の分子機構の解明を目指して引き続き研究を進めていきます。

Kim JM, To T, Seki, M. (2012) An epigenetic integrator: New insights into genome regulation, environmental stress responses and developmental controls by HISTONE DEACETYLASE 6. *Plant Cell Physiol.* 53:794-800.

Kim JM, Sasaki T, Ueda M, Sako K, Seki M. (2015) Chromatin changes in response to drought, salinity, heat, and cold stresses in plants. *Front Plant Sci.* 6: 114.

環境変動時のエネルギー代謝の流れ



酢酸投与により
シロイヌナズナ野生株が
強い乾燥耐性を示す



図 1：植物の乾燥ストレス耐性獲得には HDA6 により直接制御される酢酸合成経路の活性化が重要である。

コケ植物の変水性に関する分子機構の解析

研究代表者：竹澤 大輔（埼玉大学大学院理工学研究科）

1. 研究のねらい

温暖化に起因する地球規模での環境変動により、小雨や干ばつによる作物の被害が毎年のように報告されています。多くの作物が乾燥に弱いのは、植物組織が急激な脱水を受ける過程において、組織の細胞を構成する生体膜が著しいダメージを被るからです。一般に、細胞膜や葉緑体などの小器官を構成する脂質二重膜は、急激な脱水により不可逆的に損傷し、選択透過性がなくなることで機能を失います。しかし、コケ植物など一部の生物は、乾燥下で組織の自由水がほとんどない状態にさらされたとしても傷害を受けることはありません。さらには、乾燥耐性だけでなく低温、高温や強光や放射線に対しても耐性を発揮することが知られています。そして、復水するとすぐにまたもとの代謝活動を再開することができます。コケ植物が持つこの「変水性」とよばれる能力は、陸上植物の進化の初期では備わっていましたが、その後多くの維管束植物から失われた「祖先的形質」であると考えられています。陸上植物の起源に近いとされるコケ植物には、脱水下で細胞の脂質二重膜をストレスから守るしくみが保存されています。この点に着目し、コケ植物の環境ストレス耐性のしくみを詳細に解析し、環境ストレスに強い作物を作り出すための基礎的な知見を得ることが本研究のねらいです。これまで、コケ植物の乾燥耐性を制御する分子レベルでのしくみはほとんど明らかになっていません。本研究では、コケの脱水耐性機構に関わる細胞内構造と、ストレス耐性の過程における生理学的变化の解析を行うとともに、変異株の解析から環境耐性を制御する重要な細胞内因子の同定に取り組みました。

2. 主な研究成果

コケ植物の中で、モデル系として確立されているヒメツリガネゴケとゼニゴケを用い、凍結、乾燥、浸透圧ストレス耐

性の評価系を確立しました。ストレス耐性に関するホルモンとして知られるアブシジン酸の欠損株をコケ植物で初めて作り出し、浸透圧耐性や低温応答を定量的に解析しました (New Phytol, 2015) (図 1)。ヒメツリガネゴケでは、ストレス応答に欠損のある変異株を複数単離し、mRNA レベル、タンパク質レベル、代謝産物レベルでの変化を野生株と比較解析しました (J Plant Physiol, 2012)。透過電子顕微鏡や凍結走査電子顕微鏡による微細構造の観察から、高い乾燥耐性を持つゼニゴケ無性芽の細胞内にある葉緑体などの細胞小器官が、環境に応答してダイナミックに構造変化を起こすことが明らかとなりました (J Plant Physiol, 2014)。さらに、コケ変異株のゲノム解析から、ストレス耐性の制御において中心的な役割を果たすと考えられるシグナル因子の同定に成功しました。

3. 今後の展望

これまでの研究から、乾燥に適応したコケ植物特有の細胞内構造変化や、種子植物では報告のないストレス関連因子の存在が明らかとなりました。現在、多数のコケ変異株を有していることから、今後はこれら株の変異座の解析を中心に解析を行っていく予定です。しかし、環境耐性という観点からは、モデルコケ植物（ゼニゴケ、ヒメツリガネゴケ）だけを対象とした研究は十分ではありません。コケ植物にも様々な環境に適応した種が知られており、今後は乾燥地や寒冷地、高地に適応したコケ植物の解析を、本新学術領域研究で得られた成果を生かして進めていきたいと考えています。

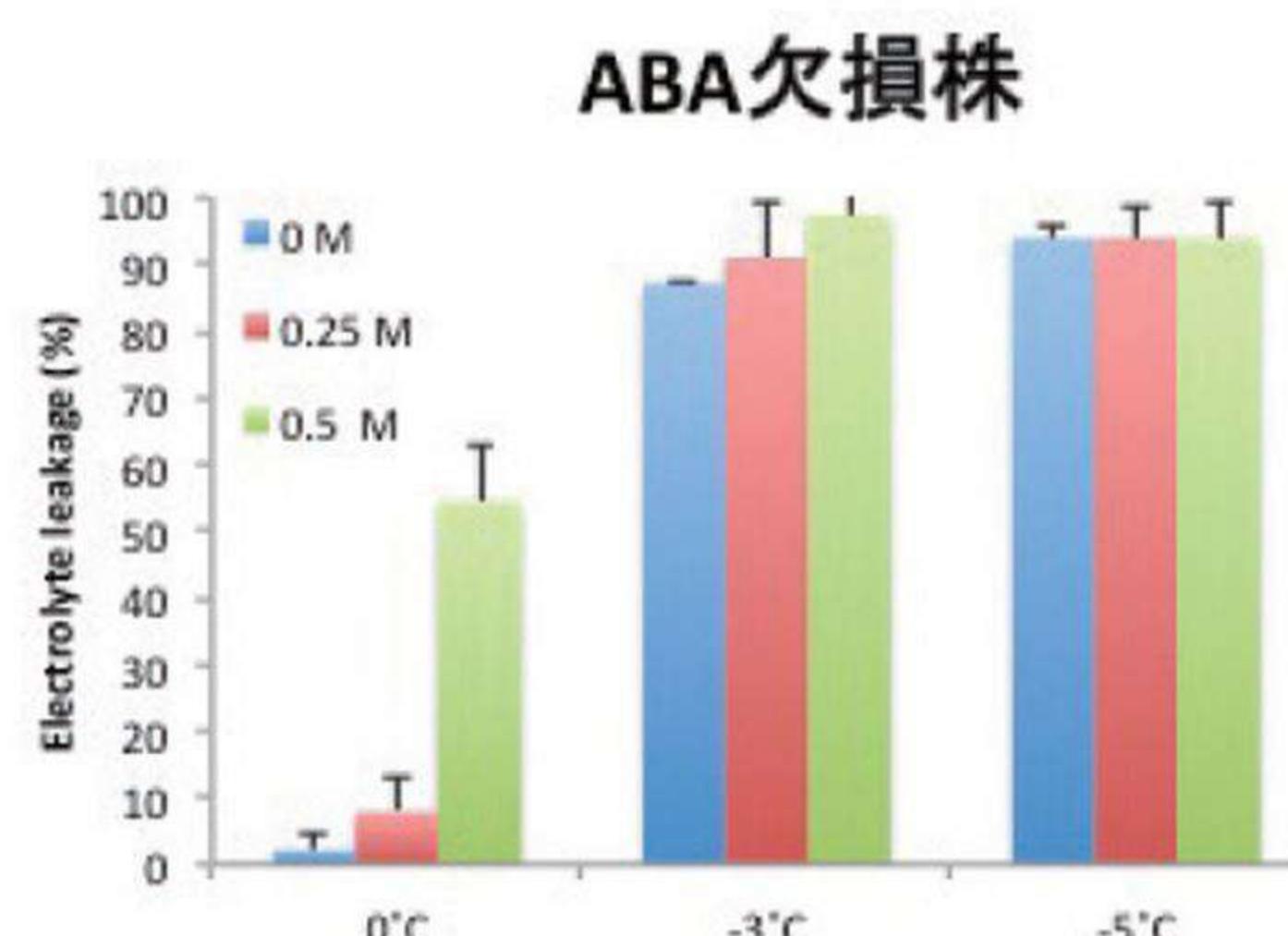
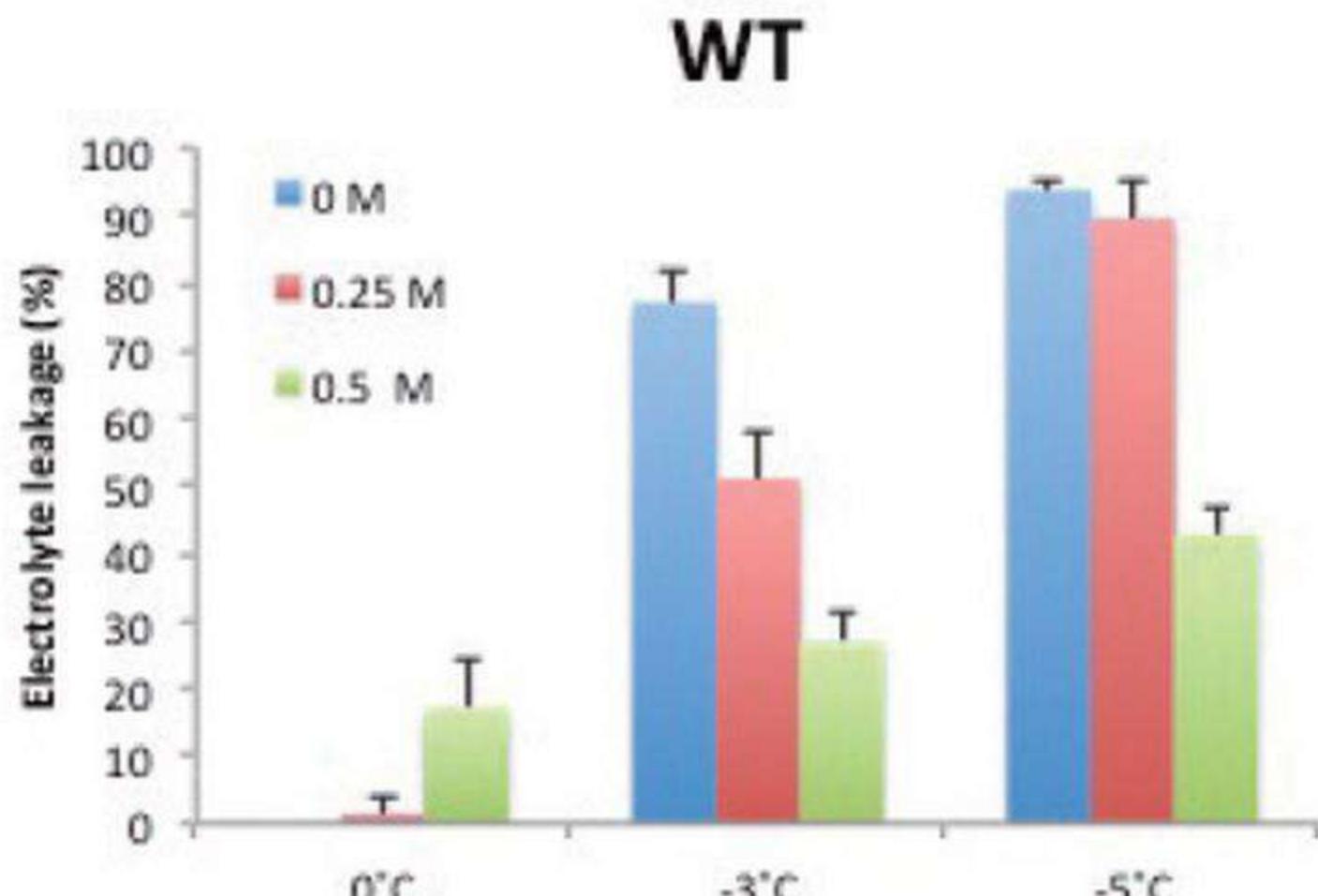


図 1：野生株とアブシジン酸欠損株のストレス耐性評価
ヒメツリガネゴケの野生株(WT)とアブシジン酸(ABA)欠損株について、マンニトールによる浸透圧処理(0 M, 0.25 M, 0.5 M) 1日後の凍結耐性の変化を比較した。凍結による傷害率は、細胞からの電解質漏出(Electrolyte leakage)を指標として表した。

耐塩性シロイヌナズナが有する塩馴化機構の解明

研究代表者：太治 輝昭（東京農業大学バイオサイエンス学科）

1. 研究のねらい

塩の集積や乾燥といった浸透圧ストレス（植物が水を吸えないストレス）は、作物の収量に大きな影響を及ぼします。一方、自然界にはこれらのストレスに対して極めて高い耐性を示す植物が存在します。ところがこれまでに、「自然界で高い耐性を示す植物は、どのようにして耐性を獲得しているのか？」という単純な疑問に答えた研究はありません。モデル植物として広く実験材料に使われるシロイヌナズナは、日本にも自生種が数種類あるように、世界中の様々な地域に生息し、そのエコタイプ（accession）は1000以上あります。世界中から集められた350種類のaccessionの耐塩性を評価したところ、耐塩性には大きなバリエーションがあり、中には海水程度の高塩濃度にも耐性を示すようなaccessionもありました。この極めて高い耐塩性を示す植物のメカニズムを調べた結果、生育に影響を及ぼさない程度の塩ストレスを一定期間経ることで、海水と同程度の塩（浸透圧）にも耐性を示す「塩馴化後浸透圧耐性」に優れていることが明らかとなりました（図1）。そこで本研究課題では、この塩馴化後浸透圧耐性を制御する遺伝子を明らかにすることを目的に研究を進めました。

2. 主な研究成果

200 accessionにおける塩馴化後浸透圧耐性の有無と、accession間に見られる250,000 SNPsとの相関関係をGenome wide association studyにより明らかにし、この耐性が1遺伝子座により制御されていることを見出しました。原因遺伝子座の絞り込みのため、塩馴化後浸透圧耐

性を有するaccessionと、欠損したaccessionの掛け合わせにより、Near isogenic lines (NILs)を作出し、原因遺伝子座を高精度に絞り込みました（図2）。塩馴化後浸透圧耐性を有するaccession由来のBACライブラリーを作成し、先の絞り込んだ領域をシークエンスしたところ、accessions間には大きな欠損を含む遺伝子多型が存在し、この多型こそが、塩馴化後浸透圧耐性の有無を決定していると示唆されました。さらに、塩馴化後浸透圧耐性に至るメカニズムを明らかにするため、塩馴化後浸透圧耐性を欠損した突然変異株、あるいは塩馴化後浸透圧耐性を獲得した突然変異株の単離に成功しました。1つの塩馴化後浸透圧耐性欠損株については、ゲノムシークエンスをはじめとする解析により、原因遺伝子の特定に成功しています。

3. 今後の展望

シロイヌナズナのナチュラルバリエーションを用いて、「自然界で高い耐性を示す植物は、どのようにして耐性を獲得しているのか？」という疑問の「鍵」を握る遺伝子の同定に成功しました。現在、この遺伝子がどのようにして浸透圧耐性をもたらすのか、この遺伝子を持つメリットとデメリットは何か、さらに、どのようにしてこの耐性・遺伝子型を有することになったのかを地理的・進化的観点から明らかにすることに取り組んでいます。また、シロイヌナズナ以外の植物にも同様なことが認められるのかを知るために、世界中にaccessionが多く見られる、イネとミナトカモジグサを対象に、塩馴化後浸透圧耐性機構の共通性を確かめています。今後、マーカー育種により、自然界で高い耐性を獲得するためのメカニズムを利用した、これまでにない、実用レベルの浸透圧耐性作物の作出が期待されます。

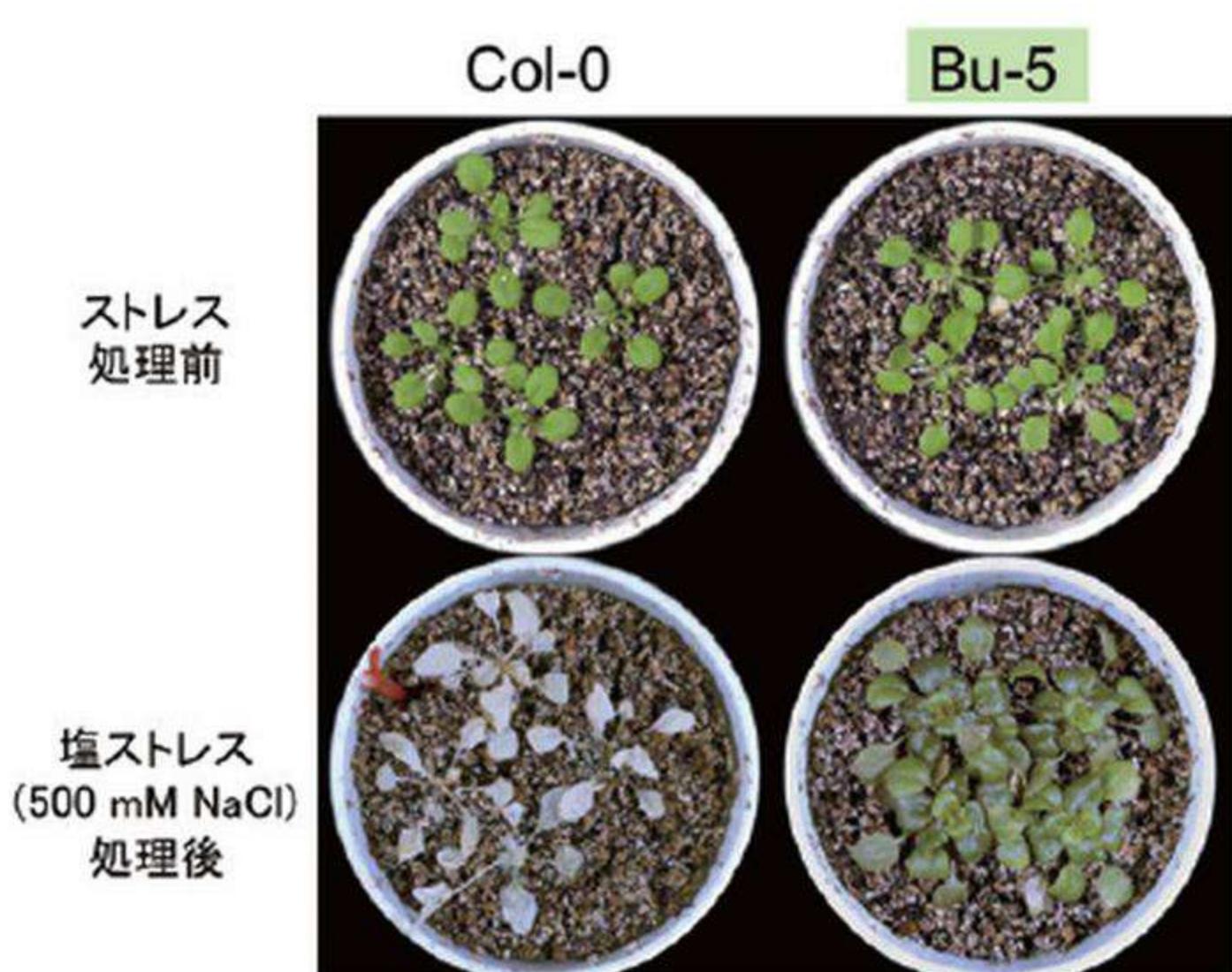


図1：耐塩性のナチュラルバリエーション
シロイヌナズナには海水と同程度の塩濃度に対して耐性を示すaccessionが存在する。実験種として広く用いられるCol-0に比べて、Bu-5は極めて高い耐塩性（浸透圧耐性）を示す。

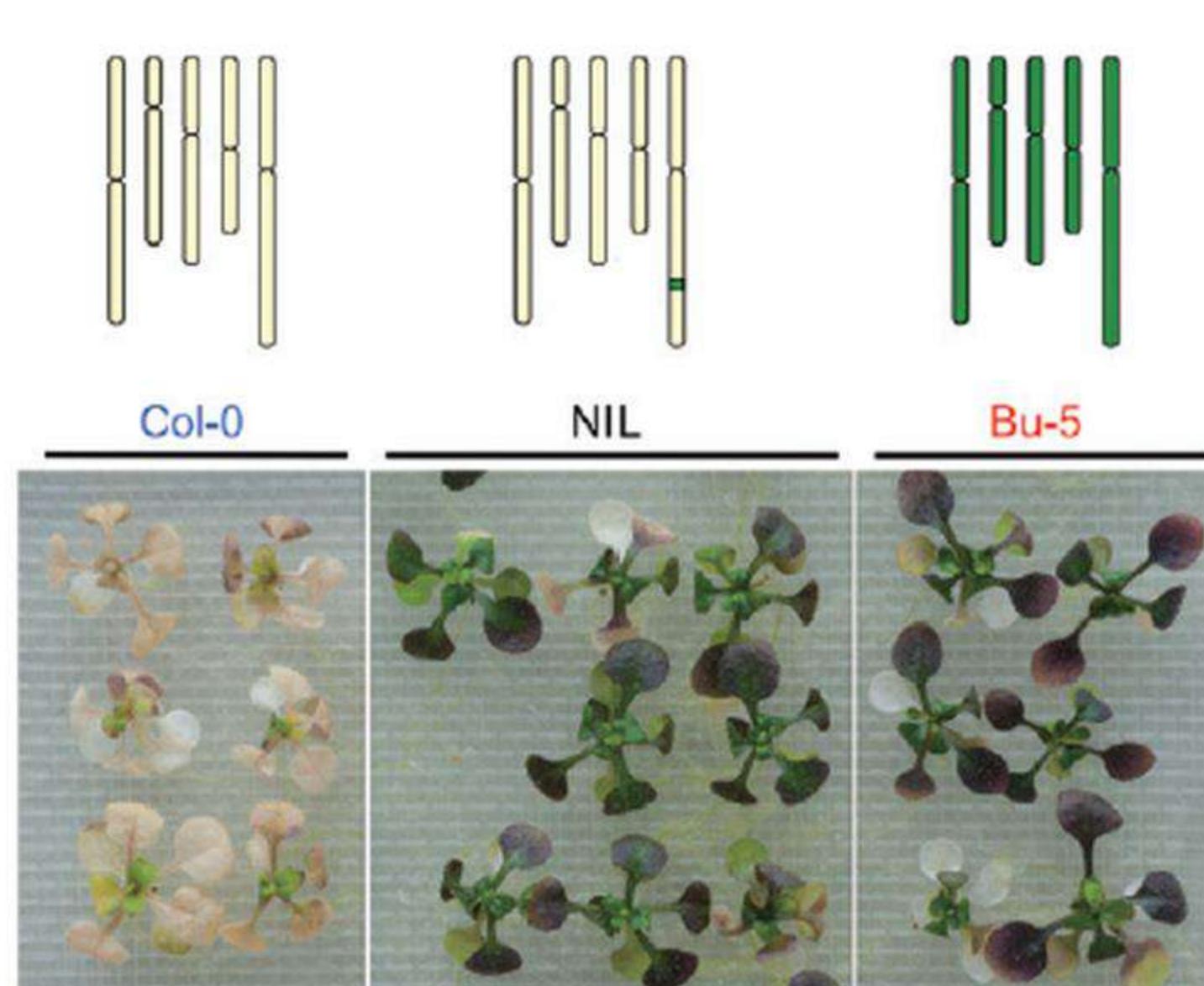


図2：塩馴化後浸透圧耐性を制御する原因遺伝子座の絞り込み
Bu-5とCol-0を掛け合わせて作成したF2植物に、5回、Col-0を掛け戻すことにより、原因遺伝子座付近のみをBu-5型に、全体的な遺伝子背景をほぼCol-0型に置換したNIL（準同一遺伝子系統）を作出。原因遺伝子座の絞り込みと同時に、極めて限られた遺伝子領域のみで親株と同等の耐性を示すことが明らかとなった。

低温ストレス応答におけるmRNA合成と分解の協調的制御システム

研究代表者：千葉 由佳子（北海道大学大学院理学研究院）

1. 研究のねらい

移動という回避手段を持たない植物にとって、急激な環境の変化は大きなストレスであり、隨時、適応していくかなくてはなりません。その中でも低温は、迅速に対応しなくてはならない主要な環境ストレスのひとつです。ストレス応答には様々な遺伝子発現制御が伴いますが、これまでの研究は mRNA の合成段階である転写制御に注目して進められてきました。しかしながら、実際の mRNA の蓄積量は合成と分解のバランスで決められていることを考えると、mRNA 分解制御を理解することの重要性が見えてきます。我々の研究の目的は、低温ストレスに応答した遺伝子発現制御に、mRNA 分解制御がどのように関わっているのかを明らかにすることです（図1）。

2. 主な研究成果

低温ストレスに応答した mRNA 分解制御を理解するために、我々は転写阻害剤とマイクロアレイを組み合わせた mRNA decay array という手法を用いて、低温ストレスに応答した mRNA 分解率と蓄積量の経時変化を網羅的に測定しました。研究の対象としてモデル植物であるシロイヌナズナの培養細胞（T87 株）を用いました。mRNA の分解率および蓄積量の変化パターンにもとづいて、遺伝子群のクラスタリングを行ったところ、低温応答に重要な転写因子である CBF の下流で制御されている遺伝子群は、いずれも低温に応答して mRNA の蓄積量を増加させますが、mRNA 分解速度に関しては促進させているクラスタと変化しないクラスタに分かれることがわかりました。さらに、分解速度を促進し

ているグループの方が、より大きな mRNA 蓄積量の増加を示すことが明らかとなりました。mRNA 代謝のキネティクスから考えると、mRNA 分解制御は mRNA 蓄積量の増減に加え、その応答時間にも関わる重要な制御段階です。つまり、mRNA 量を早く変化させたいときは、増加・減少いずれの場合にも、mRNA 分解速度を速めることが有効です。CBF 下流の遺伝子群にみられる mRNA 合成と分解の相反する協調的制御は、その mRNA 蓄積量の急激な増加の実現に適していると考えられます。

3. 今後の展望

今回の研究で、低温ストレスに応答して mRNA 分解速度を変化させている遺伝子が数多く見つかりました。今後はどのように特定の遺伝子の mRNA 分解速度を制御しているのかを明らかにすることを目指した研究を展開します。例えば、CBF 下流の遺伝子群は mRNA 分解速度を促進させるグループと変化させないグループに分かれるので、それぞれの遺伝子群に特徴的な遺伝子構造がないかどうかを調べます。また、我々は RNA 分解酵素の研究も同時に進めており、今回の研究で明らかとなった低温ストレスに応答した mRNA 分解制御に関わる酵素を見出すことも必要であると考えます。

Chiba Y, Mineta K, Hirai MY, Suzuki Y, Kanaya S, Takahashi H, Onouchi H, Yamaguchi J, Naito S. (2013) Changes in mRNA stability associated with cold stress in *Arabidopsis* cells. *Plant Cell Physiol.* 54: 180-194.

Suzuki Y, Arae T, Green PJ, Yamaguchi J, Chiba Y. (2015) AtCCR4a and AtCCR4b are involved in determining the poly (A) length of Granule-bound starch synthase 1 transcript and modulating sucrose and starch metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 56: 863-874.

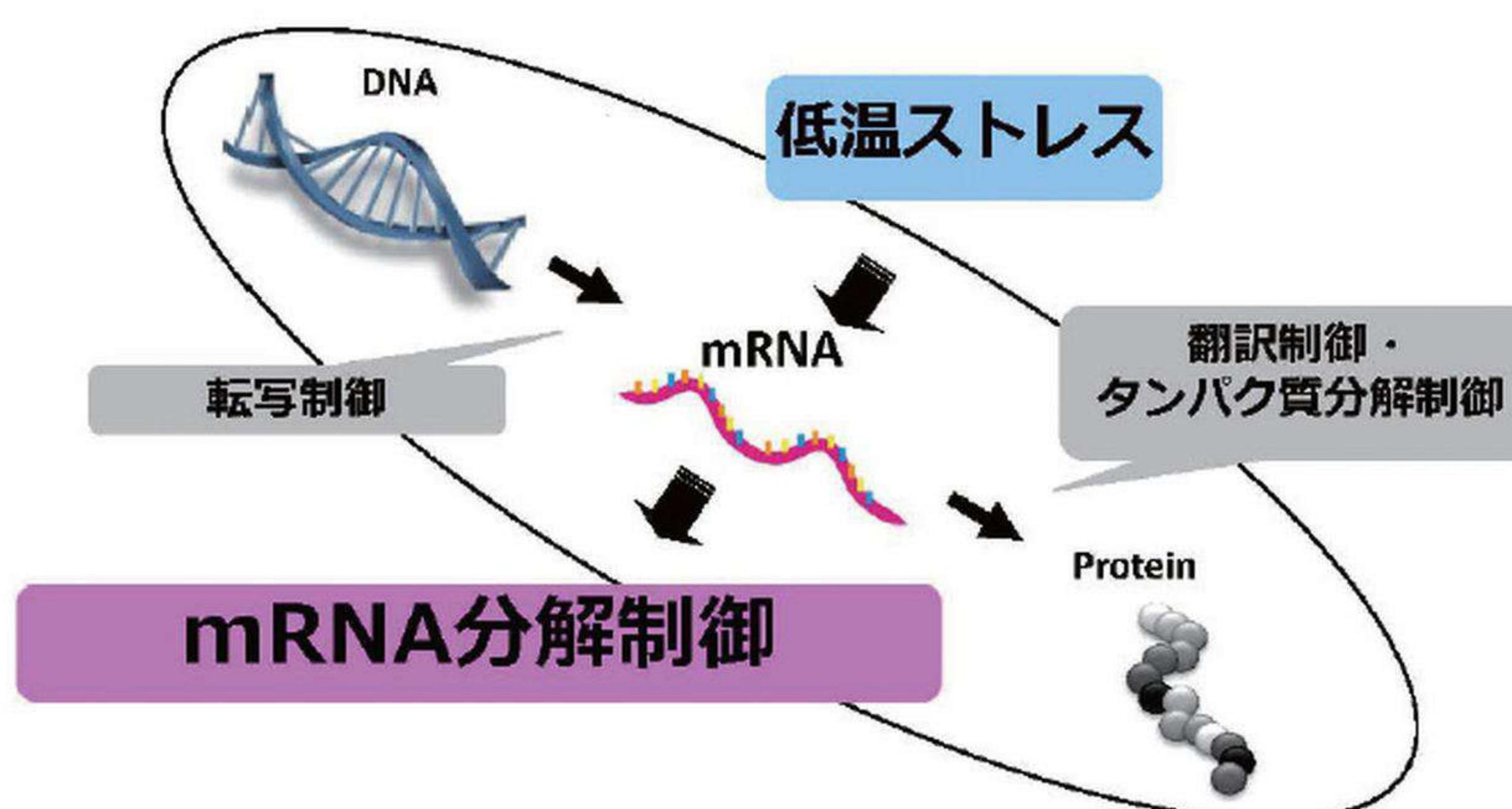


図1：低温ストレス応答と mRNA 分解制御
mRNA の蓄積量は合成段階の転写制御と分解制御によって決まる。低温ストレスに応答した遺伝子発現制御に mRNA 分解制御がどのように関わっているのかを明らかにするのが、我々の研究のねらいです。

タンパク質合成系の改変による光合成の強光ストレス耐性の向上

研究代表者：西山 佳孝（埼玉大学大学院理工学研究科）

1. 研究のねらい

光合成の光エネルギー変換や電子伝達の過程では活性酸素が不可避的に発生します。強光ストレス下では活性酸素の発生が著しく増大し、細胞内は酸化ストレス状態になります。このような酸化ストレス条件下ではタンパク質合成が阻害され、光化学系IIの光阻害が促進します。近年、シアノバクテリアでは、活性酸素により翻訳因子EF-GやEF-Tuの特定のシステイン残基が酸化され、タンパク質合成が阻害されることが明らかになりました。しかし、このような酸化傷害が植物の葉緑体で起きているかどうかは不明です。そこで本研究では、シロイヌナズナの葉緑体においてタンパク質合成の酸化傷害機構を解明し、光合成の強光ストレス耐性を向上させることを目的としました。

2. 主な研究成果

葉緑体局在型のEF-GおよびEF-Tuに関して、C末端にHisタグを付加した組換えタンパク質を調製し、酸化条件下におけるシステイン残基のレドックス変化と翻訳活性を *in vitro* で調べました。その結果、EF-G、EF-Tuの双方とも pH8 以上のアルカリ条件下では H₂O₂ によって特定のシステイン残基が酸化され、失活することがわかりました。強光条件下では、これらの翻訳因子が存在する葉緑体ストロマは弱アルカリ性となるので、酸化傷害を受けることが推測されます。次に、EF-GおよびEF-Tuの過剰発現や、標的システイン残基の改変が光合成機能に及ぼす影響を調べるために、推定プロモーター領域を含む翻訳因子のコード領域を、

アグロバクテリウム法によりシロイヌナズナ核ゲノムに導入して、トランスジェニック植物を作製しました。これまでに EF-G 過剰発現株から T3 世代のホモ個体を複数選別しました。これらの系統では EF-G タンパク質の発現量が 1.3 倍以上に増大していました。これらのトランスジェニック植物から得たリーフディスクに強光 (2,000 μmol m⁻² s⁻¹) を照射した後、クロロフィル蛍光 Fv/Fm を指標として光化学系II活性をモニターしました。その結果、光化学系IIの光阻害が緩和していることが観察されました（図1）。その際、タンパク質合成阻害剤クロラムフェニコールを共存させると、野生株との間に差が見られなかったことから、トランスジェニック植物では強光下でタンパク質合成が促進して、光化学系IIの強光耐性が増大したことが考えられます。以上の結果から、シロイヌナズナ葉緑体においても強光下で翻訳因子が酸化されることによって、タンパク質合成が抑制され、光化学系IIの光阻害が促進することが示唆されました（図2）。

3. 今後の展望

得られた成果から、シロイヌナズナにおいてもタンパク質合成系の改変により光合成の強光耐性が向上することが示唆されました。現在、EF-Tu の過剰発現株や、酸化標的のシステイン残基を改変した EF-G や EF-Tu を発現する株の作製と光化学系IIの光阻害解析を進めています。特にシステイン残基改変株では、光化学系IIの強光耐性が大きく増大することが予想されます。これらのトランスジェニック植物について、強光下での生育状態を調べ、個体レベルの強光耐性を評価していく予定です。

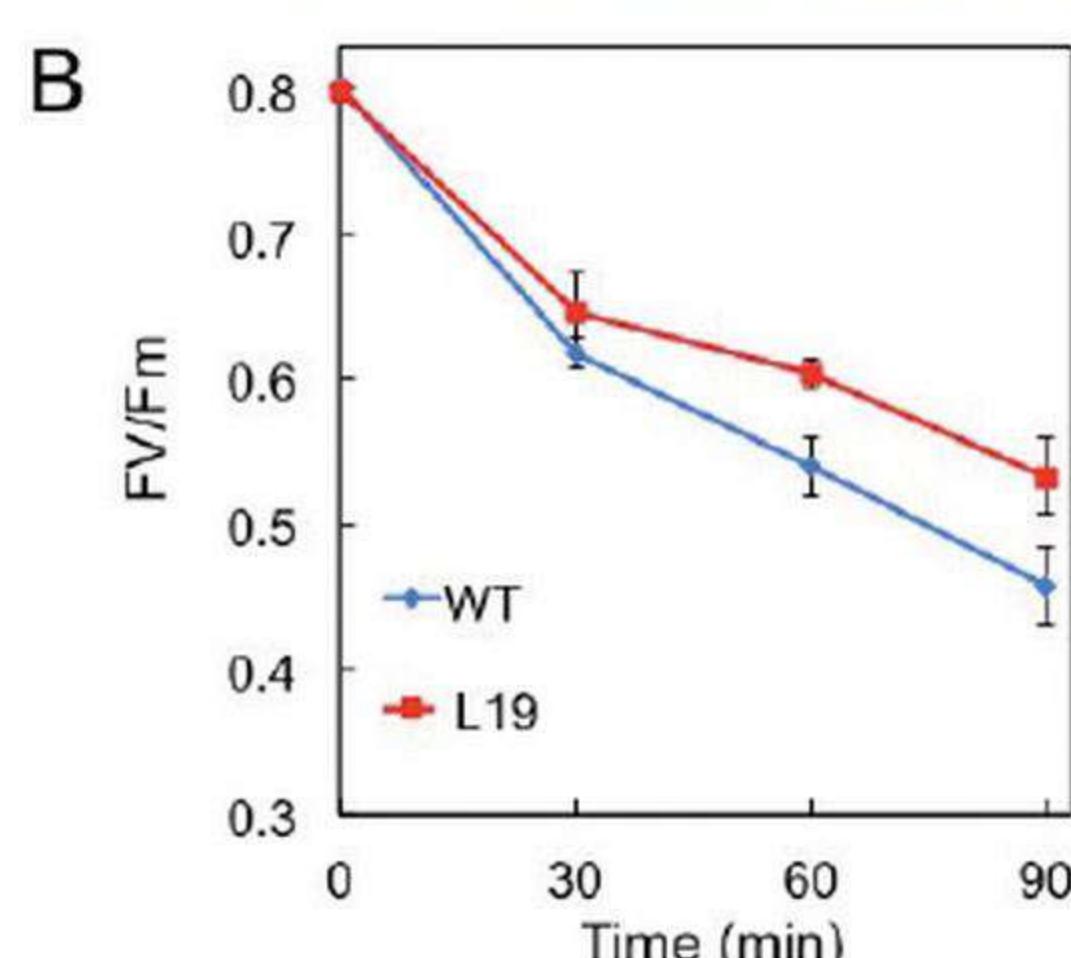


図 1 : EF-G の過剰発現による光化学系 II の強光耐性の増大
(A) 葉緑体型 EF-G を過剰発現させたトランスジェニック植物 (L19) と野生型植物 (WT)。
(B) 強光下 (2,000 μmol photons m⁻² s⁻¹) における光化学系 II 活性 (Fv/Fm) の光阻害の様子。EF-G 過剰発現株では野生型に比べ、光化学系 II の強光耐性が増大する。

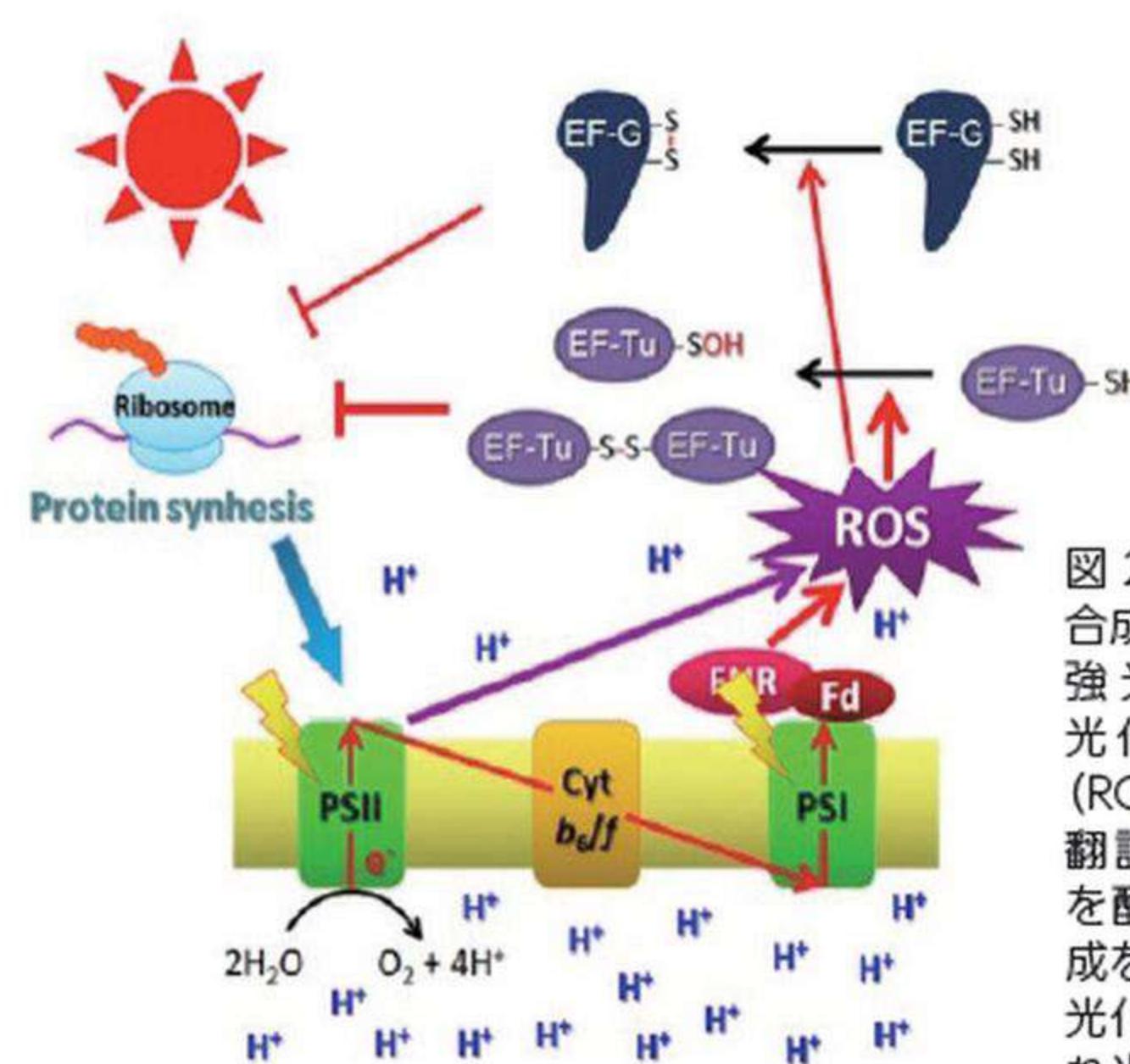


図 2 : 活性酸素による光合成の阻害機構
強光ストレス下では、光化学系から活性酸素 (ROS) が過剰に発生して、翻訳因子 EF-G や EF-Tu を酸化し、タンパク質合成を抑制する。その結果、光化学系の修復が阻害され光阻害が促進する。

イネのOsHKT1依存の葉身内Na⁺濃度制御による塩抵抗性の分子機構の解明

研究代表者：堀江 智明（信州大学学術研究院繊維学系）

1. 研究のねらい

世界人口が72億人を超える中、地球温暖化に起因する気候変動により、農業環境は劣悪さを増し近い将来の食糧不足が懸念されています。塩類が植物の根圏に過剰に蓄積すると、植物の成長・生産性は著しく低下しますが、この現象を一般に塩害とよびます。塩害は、乾燥地や半乾燥地における灌漑農業地でよく見られる問題ですが、東南・南アジアの湿潤な地域においても、沿岸部の農地では海水の影響から塩害が大きな問題となっています。世界的な食糧不足を回避するためにも、作物の耐塩性を向上させ、塩害による収量減少を抑制する事は大事な戦略の一つであると考えられます。

塩類集積土壌において、Na⁺は塩害をもたらす主要な毒性イオンの一つです。本研究においては、重要な穀類であるイネ (*Oryza sativa*) を生物材料にして、植物が体内へのNa⁺高蓄積を回避するためのメカニズムを分子レベルで解明し、将来の耐塩性作物育種に向けた基礎知見を蓄積させる事を目的としました。

2. 主な研究成果

本研究で研究対象としたHKTタンパク質は、植物の代表的なNa⁺透過性膜輸送体の一つです。イネのゲノム上には、複数のOsHKT遺伝子が存在します。本研究においては、イネの耐塩性により密接に関与すると予想されていたOsHKT1;4, OsHKT1;5の両遺伝子に関して、それらの生理機能の解明を試みました。

OsHKT1;4を変異酵母やアフリカツメガエル卵母細胞内で発現させイオン輸送特性を詳細に性格付けした結果、OsHKT1;4は、一価のアルカリ陽イオンの中で、Na⁺に対して顕著に高い選択性・透過性を示す事が明らかとなりました。興味深い事に、OsHKT1;4は、Na⁺に加えてCa²⁺に対しても堅固な透過性を示し、かつその輸送活性は、外環境のMg²⁺濃度の増加に伴って上

昇する事も判明しました。OsHKT1;4遺伝子の発現が顕著に抑制されたRNAiイネ株を解析した結果、OsHKT1;4は、生殖成長期のイネの茎や葉で働き、特に止葉葉鞘で、光合成活性の高い止葉葉身へのNa⁺の過剰蓄積を防ぐ機能がある事が強く示唆されました（図1A）。

OsHKT1;5の機能が欠失したイネ株を詳細に解析した結果、OsHKT1;5は、塩ストレス下において根の導管周辺からのNa⁺排除を司るのみならず、地上部の葉鞘の導管周辺や基部節の師管からのNa⁺除去も遂行する事で、総合的に光合成の主たる場である若い葉身へのNa⁺高蓄積を回避する役割がある事が判明しました（図1B）。

3. 今後の展望

OsHKT1;4は、塩感受性であるジャポニカ米日本晴においては、生殖成長期でのみ耐塩性機構の一環として貢献している可能性が強く示唆されました。一方で、栄養成長期のイネでは、OsHKT1;4の遺伝子発現は相対的に低く、耐塩性への寄与は認められませんでした。予備的結果ながら、OsHKT1;4は、インディカ米の耐塩性品種ノナボクラにおいては、栄養成長期においても遺伝子発現がより堅固で、かつ部位的に塩ストレスに応答して増加する事がわかりました。今後は、塩感受性と耐塩性品種間で、OsHKT1;4分子の機能や使われ方に違いがないか詳細な解析を行う予定です。

OsHKT1;5は、必須耐塩性因子として成長期を問わず葉身からのNa⁺排除に寄与する事が判明しましたが、生殖成長期においては遺伝子発現が塩ストレス下で大きく減少していく事が観察されました。OsHKT1;4を含めた他のOsHKT1との機能分担の可能性等を含め、OsHKT1を介したイネの耐塩性の分子機構の全容を解明し、育種への礎を築きたいと考えています。

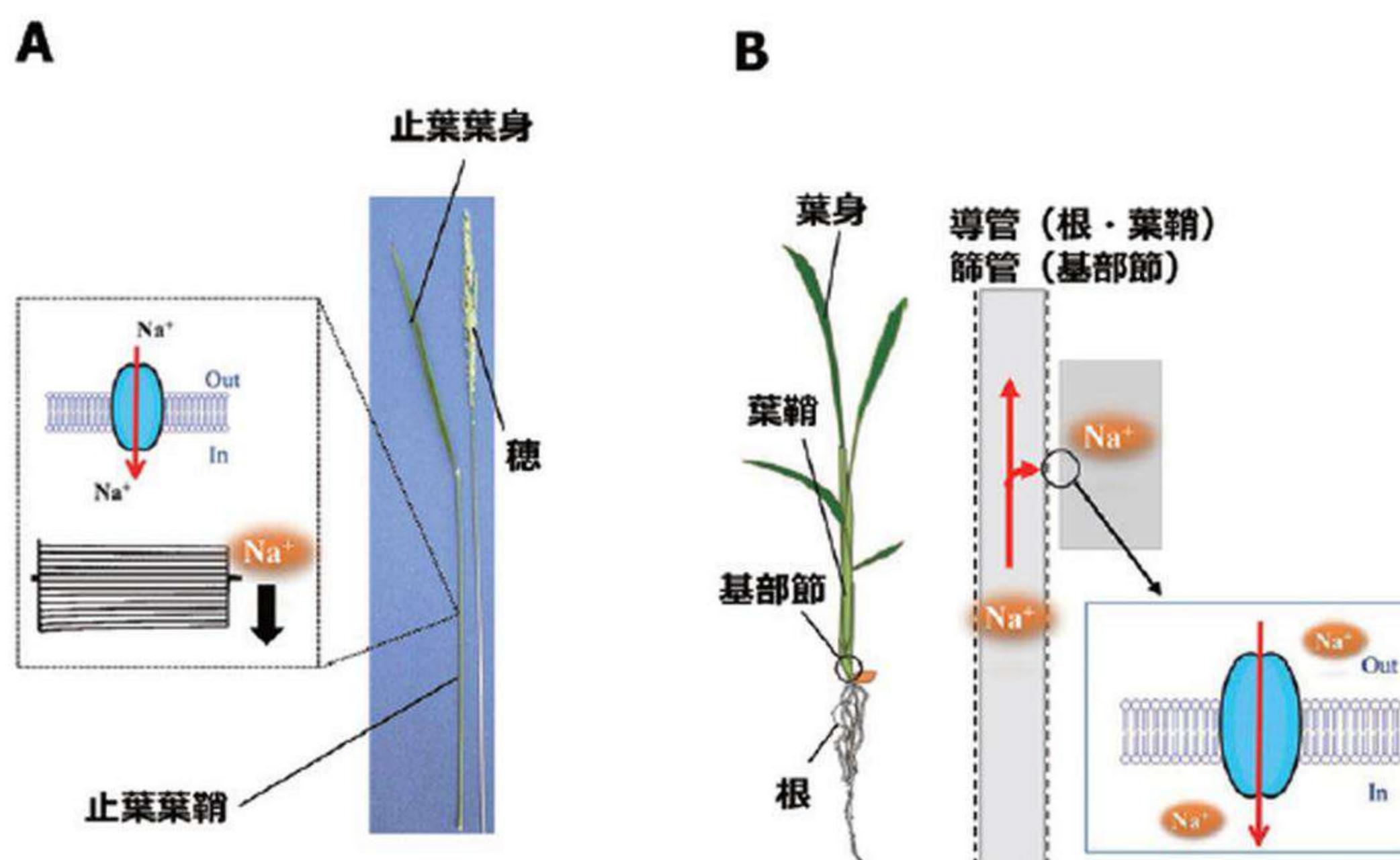


図1：二種のOsHKT1輸送体を介したイネのNa⁺毒性（塩ストレス）回避機構の概要
(A) OsHKT1;4は、生殖成長期のイネの葉鞘において主に働き、塩ストレス下での葉身へのNa⁺高蓄積を妨げる。(B) OsHKT1;5は、成長期を問わず導管（根・葉鞘）や師管（基部節）に隣接する細胞へNa⁺を吸収する事で、葉身へのNa⁺高蓄積を妨げる。

環境ストレス耐性を付与するトランスポーター・ファミリーの網羅的解析

研究代表者：宮地 孝明（岡山大学自然生命科学研究支援センター）
研究連携者：黒森 崇（理化学研究所環境資源科学研究所）

1. 研究のねらい

植物は自ら動くことができないため、強光・乾燥・酸性土壌・病原体感染など多くの環境ストレスにさらされています。これらの環境ストレス下でも適応するために、植物はアスコルビン酸（ビタミンC）やサリチル酸などのストレス耐性物質を産生し、ストレスを受けている場所に運び、環境ストレスを緩和しています。環境ストレス耐性物質を標的部位へ運ぶタンパク質（トランスポーター）は、環境ストレス耐性の仕組みに重要でありながら、良い輸送活性評価法がなかったため、その機能はほとんどわかっていませんでした。

我々は、普遍的な真核細胞のトランスポーターの輸送活性評価法を開発しました（図1）。すなわち、任意のトランスポーターを大腸菌に大量発現させ、膜画分を可溶化し、精製します。これを人工の膜小胞に再構成し、輸送活性測定するというものです。この手法は、全てのタイプのトランスポーターを定量的に測定することができる点で画期的であるといえます。この手法を用いて、新しいストレス耐性物質トランスポーターを同定し、その生理的役割を明らかにすることで、ストレス耐性の仕組みを解明しようと考えました。

2. 主な研究成果

我々はシロイヌナズナ（モデル植物）のアニオントランスポーター・ファミリーに注目し、その候補トランスポーターを精製し、環境ストレス耐性物質の輸送活性をスクリーニングしました。その結果、アスコルビン酸トランスポーターを同定することに成功しました。アスコルビン酸は光・酸化ストレスに耐性を付与する代謝産物です。ミトコンドリアで合成されたアスコルビン酸は、葉緑体に運ばれ、光合成により生じた活性酸素の除去や、過剰な光エネルギーを熱放散する酵素の

補酵素として働きます。このためには葉緑体内にアスコルビン酸を運ぶ必要がありますが、その分子実体は長らく不明なままでした。

このトランスポーター（AtPHT4;4）の輸送機能を調べると、膜電位差、塩素イオン依存的に還元型のアスコルビン酸を輸送することがわかりました。また、AtPHT4;4は、より強い光が当たる柵状組織の葉緑体に多く発現し、葉緑体の入り口にある包膜に局在していました。この遺伝子を欠損したシロイヌナズナを調べると、葉緑体のアスコルビン酸含量が低下していました。さらに、光合成への影響を調べると、この遺伝子欠損シロイヌナズナは、強光時に生じた過剰な光エネルギーを熱放散する過程（非光化学消光）が強く阻害されていました。

以上の結果より、AtPHT4;4が葉緑体内にアスコルビン酸を取り込むトランスポーターであり、光ストレス耐性化機構に重要な役割を担っていると結論しました（図2）。

3. 今後の展望

本研究成果により、植物が持つ巧妙な生存戦略の一つである光ストレス耐性メカニズムに関する重要な知見を得ることができました。アスコルビン酸トランスポーターは、シロイヌナズナだけでなくイネやトウモロコシなどの作物を含む幅広い植物種に存在しています。今後、これらの植物種の葉緑体のアスコルビン酸輸送を制御することによって、光ストレス下に適応できるストレス耐性能を備えた植物育種への応用が期待できます。

また引き続き、新しいストレス耐性物質トランスポーターを探索し、様々なストレス耐性下でも生育することができる植物の作出に貢献したいと考えています。

Miyaji T, Kuromori T, Takeuchi Y, Yamaji N, Yokosho K, Shimazawa A, Sugimoto E, Omote H, Ma JF, Shinozaki K, Moriyama Y. (2015) AtPHT4;4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in *Arabidopsis*. *Nature Commun.* 6: 5928.

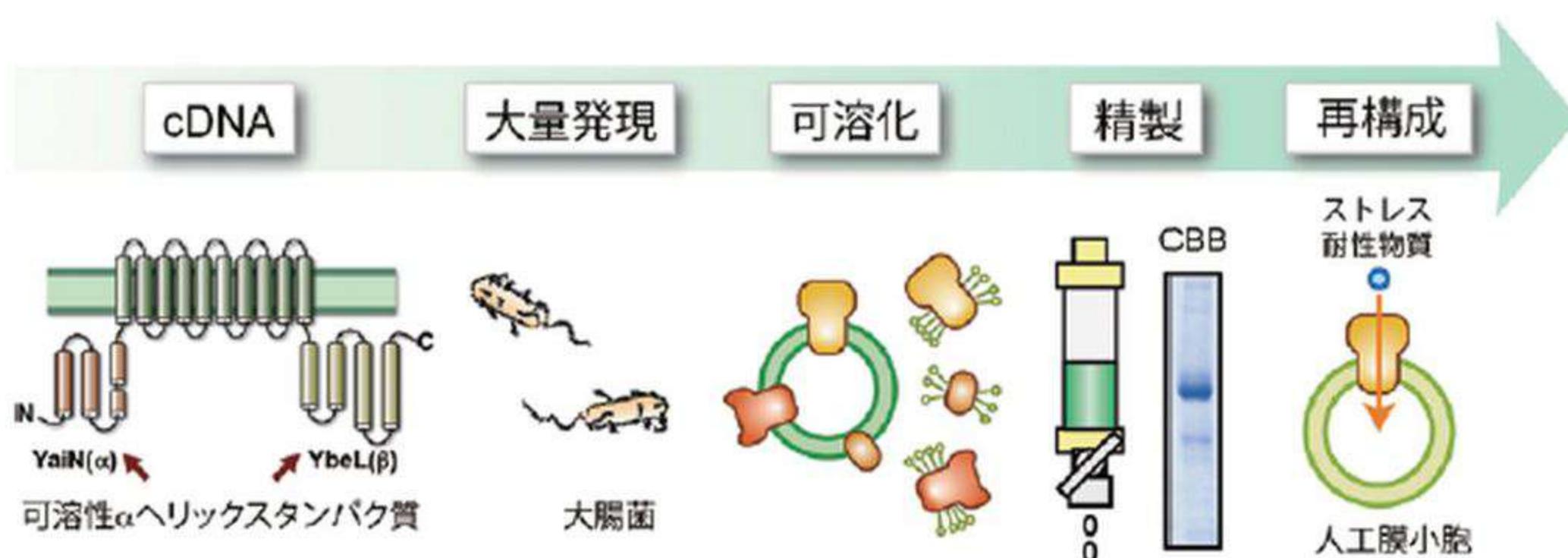


図1：普遍的なトランスポーターの輸送活性評価法
任意のトランスポーターのN末端とC末端に可溶性のαヘリックスタンパク質とヒストグローブを付加させたcDNAを大腸菌に導入し、大量発現させる。この膜画分を界面活性剤で可溶化し、アフィニティー精製する。精製タンパク質を人工膜小胞に再構成し、環境ストレス耐性物質の輸送活性を評価する。

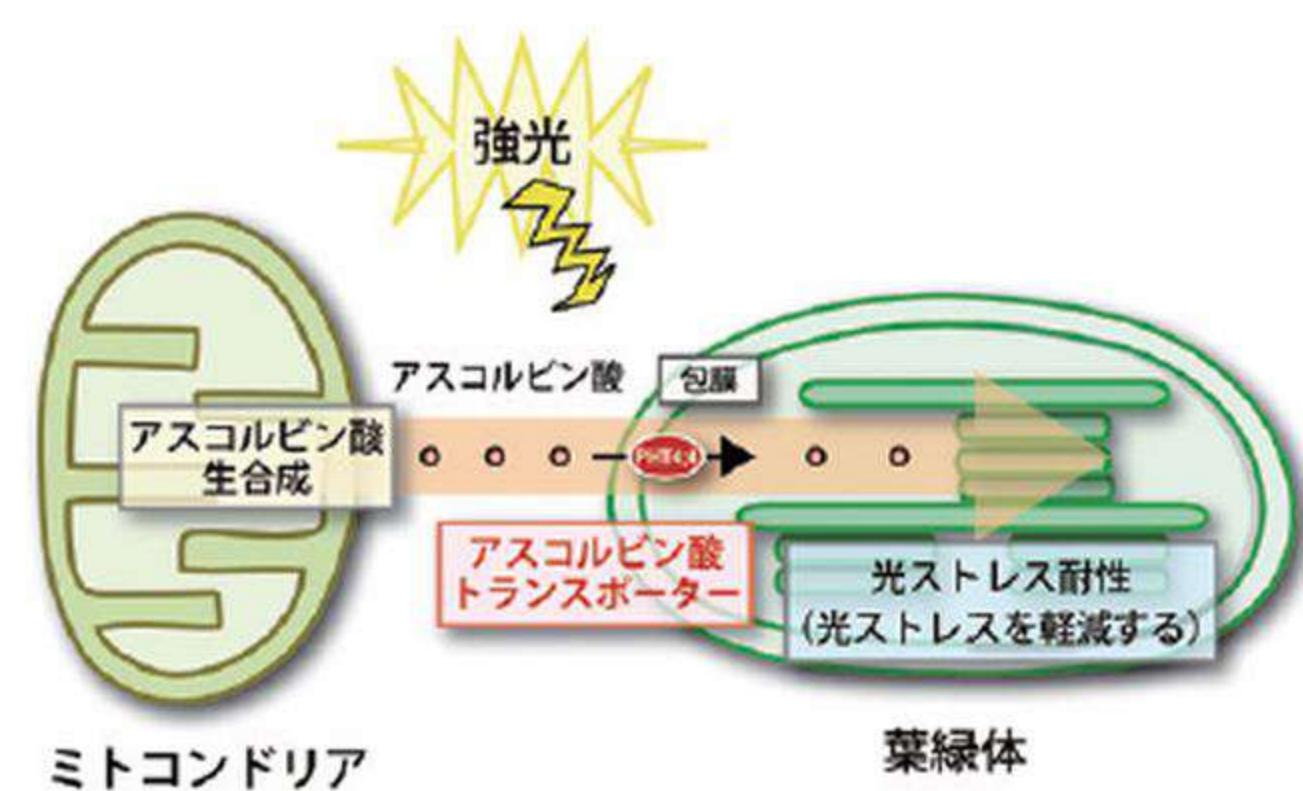


図2：葉緑体のアスコルビン酸トランスポーターの役割
強い光が植物に当たると、ミトコンドリアでアスコルビン酸が合成され、AtPHT4;4により葉緑体内に還元型のアスコルビン酸が取り込まれる。このアスコルビン酸は葉緑体の光ストレスを緩和している。

イネの高マンガン集積に関する分子機構の解明

研究代表者：上野 大勢（高知大学農学部）

1. 研究のねらい

マンガンは植物の光合成における酸素発生や、様々な酵素反応に関する必須元素ですが、その一方で、過剰に蓄積されれば酸化ストレスを引き起こしたり、他の必須重金属イオンの輸送を阻害したりします。水田では土壤の還元によりマンガンが高濃度に溶けだしていますが、イネはマンガンを地上部に集積することによりこの環境を突破しています。このイネが持つ優れたマンガン集積・耐性機構を分子レベルで解明することは、マンガン過剰が問題となる酸性土壤や、水はけの悪い土壤における健全な作物生産への基盤となると考えられます。

2. 主な研究成果

植物のマンガン過剰症は世界の耕地面積の3割を占める酸性土壤における生育阻害要因の一つです。この問題の解決には植物のマンガン恒常性を維持するメカニズムの解明が欠かせません。イネ (*Oryza sativa L.*) にはマンガン (Mn^{2+}) を積極的に地上部へ移行し、他の植物に対して著しく高い濃度で集積する特性があります。本研究ではこのイネが持つ高マンガン集積性・耐性に関する3つのトランスポーターを同定しました。初めに、イネ地上部より調整したcDNAライブラリーから、酵母発現系によりマンガン耐性に関与する輸送体遺伝子 *MTP8.1* (metal tolerance protein 8.1) を単離しました。*MTP8.1* がコードするタンパク質は CDF (cation diffusion facilitator) と呼ばれるプロトン (H^+) と重金属イオンとの対向輸送を担うトランスポーターファミリーに属していました。*MTP8.1* は主に地上部の液胞膜に局在し、マンガンを特異的に輸送しました。また *MTP8.1* 破壊株がマンガンに感受性を示したことから、同遺伝子が地上部におけるマンガン耐性に関与することが明らかになりました。一方、CDF ファミリーには *MTP8.1* と相同性の高い *MTP8* が存在します。解析の結果、*MTP8* は *MTP8.1* と同様に液胞膜型のマンガントランスポーターであることが分かりましたが、*MTP8* を単独で破壊した場合にはマンガン耐性に変化が見られませんでした。しかし、*MTP8.1* 欠損株において *MTP8* の発現を抑制した株は、*MTP8.1* 破壊株にも増して根と地上部両方に著しいマンガン感受性を示しました。これらの結果は、*MTP8.1* と *MTP8* が協調してマンガンを液胞へ隔離し無毒化することが、イネのマンガン耐性に重要であることを示しています。さらにその他の CDF ファミリータンパク質を調べ、同じくマ

ンガンの輸送活性を持つ *MTP9* の遺伝子を単離・解析しました。*MTP9* 破壊株では根から地上部へのマンガンの移行が著しく妨げられると共に、吸収量も有意に低下しました。*MTP9* タンパク質は上記2つとは異なり細胞膜に局在しました。また、主に根の基部で発現していました。抗体染色の結果、興味深いことに *MTP9* は根の外皮と内皮において、カスパリー線で隔てた向心側にのみ局在することが分かりました。根の外皮と内皮では、*Nramp5* が遠心側に局在し、マンガンの吸収を担っていることが知られています。このことから、*MTP9* は両細胞層からマンガンを中心柱側に排出することにより、*Nramp5* と共に根圈から導管への一方向の流れを持つ吸収システムを構成していると考えられます（図1）。本研究で明らかになった液胞膜型マンガントランスポーターは、例えその発現を強化することにより、また細胞膜型トランスポーターはその発現を抑制することにより、酸性土壤を始めとするマンガン濃度の高い土壤における健全な作物生産に貢献できると考えられます。

3. 今後の展望

本研究で明らかにしましたマンガンの液胞への排出、あるいは根におけるマンガン吸収過程を担うトランスポーターに関する知見は、酸性土壤におけるマンガン過剰害を回避するための技術開発に応用することが期待されます。

Chen Z, Fujii Y, Yamaji N, Masuda S, Takemoto Y, Kamiya T, Yusuyin Y, Iwasaki K, Kato S, Maeshima M, Ma JF, Ueno D. (2013) Mn tolerance in rice is mediated by *MTP8.1*, a member of the cation diffusion facilitator family. *J. Exp. Bot.* 64: 4375-4387.

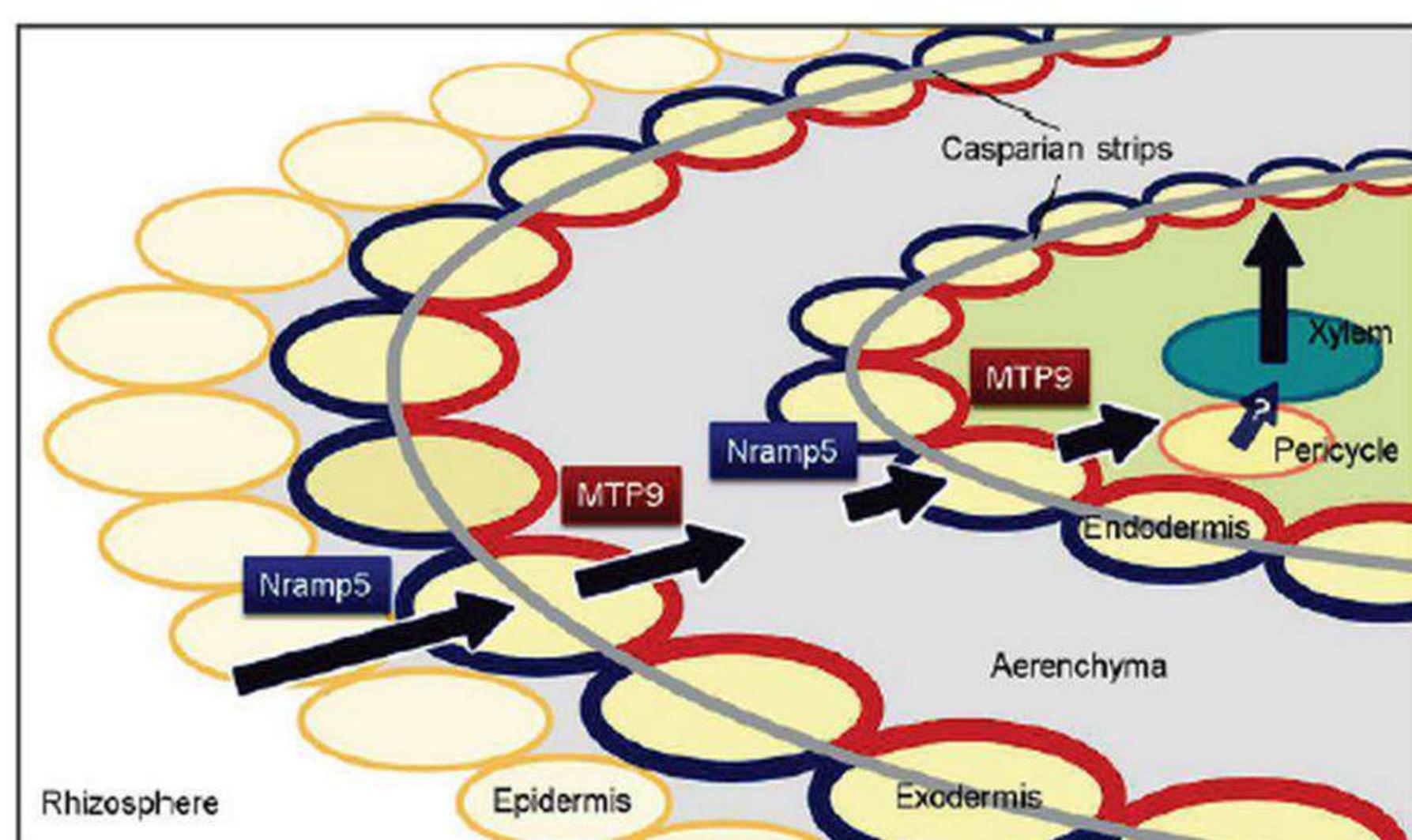


図1：イネの根におけるマンガン吸収システム
イネの根は外皮と内皮の遠心側に *Nramp5* を、向心側に *MTP9* を配置することにより、根圈から導管への方向性を持った高効率なマンガン吸収を実現している。

植物の環境応答における細胞壁ペクチンの機能解明

研究代表者：小林 優（京都大学大学院農学研究科）

1. 研究のねらい

植物の細胞壁多糖であるペクチンは、カルシウムイオンやホウ酸で架橋されたゲルとして細胞壁に存在しています。このペクチングルはセルロース纖維の間隙を充填し細胞壁の力学的強度に寄与するとともに、水分保持やpH緩衝作用、イオン吸着作用を発揮し細胞膜直近の微小環境の安定化に重要な役割を果たすと推定されています。しかしそうした推測を裏付ける直接的な証拠は未だ乏しく、ペクチングルの生理機能は十分に理解されていないのが現状です。そこで私達は、ペクチングルの形成に異常を来たした変異体植物を作出し、その生育や環境適応にどのような不具合が生じるか解析することで、ペクチングルが本来果している役割に関する手がかりを得ようと考えました。

2. 主な研究成果

ペクチンはポリガラクツロン酸、ラムノガラクツロナンI、ラムノガラクツロナンII (RG-II) の3つの主要な部分構造を持ちます。このうちRG-II領域はホウ酸とのエステル結合による架橋部位であるため、RG-II領域の構造変異はペクチンのゲル化に著しい影響を及ぼすと考えられます。そこで私達は、RG-IIの特異的構成糖である2-ケト-3-デオキシオクトン酸 (KDO)に着目し、この糖残基の形成を阻害したシロイヌナズナ変異株を作出しました。

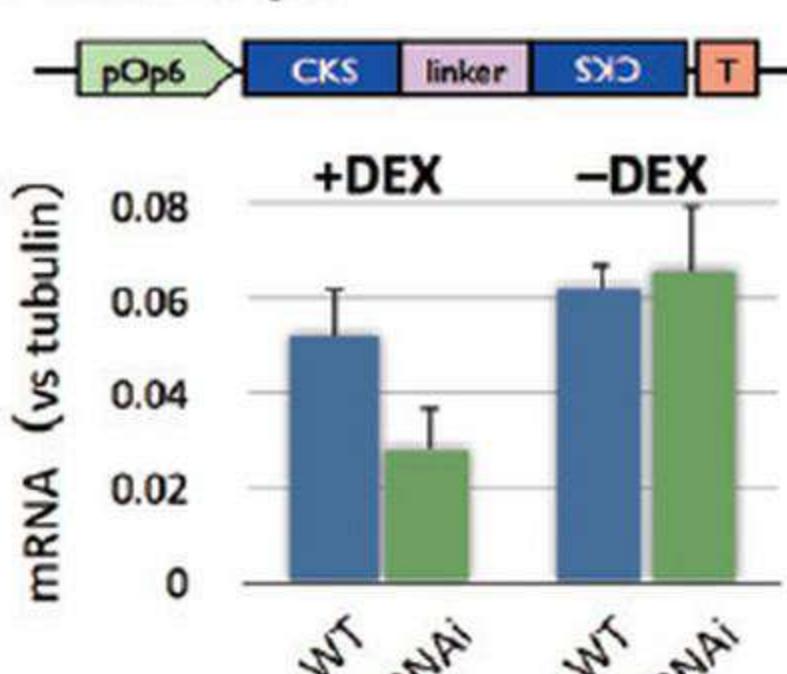
CTP:KDOシチジリルトランスフェラーゼ (CKS) はRG-II KDO残基の形成に必要な酵素のひとつです。CKSの欠失変異は花粉の機能を損なうためマル変異株は得られません。そこでRNAi法によりCKS遺伝子の発現を野生型株の1/2程度に抑制したところ、植物の生育は著しく抑制されました。この生育抑制の要因を解明するために根伸長の速度論的解析を行った結果

、CKSノックダウン株では根端における細胞の分裂、また分裂した細胞の体積増大の両方が、野生型株に比べ遅延していることが明らかになりました。一方で、細胞壁あたりのRG-II量、またRG-IIに含まれるKDO含量は野生型株と差はありませんでした。私達はこの結果を(1) CKSノックダウン株では、特異的構成糖KDOの供給低下がRG-II領域の形成を律速し、更にそのRG-IIの形成遅延が細胞壁全体の構築を遅延させた、しかし(2) KDOを持たないRG-II領域や、RG-II領域を持たないペクチンは作られないため、形成された細胞壁あたりではKDO・RG-II含量は野生型株と同等に維持された、と解釈し、細胞壁構築におけるペクチンの重要性を示すものと結論しました。CKSノックダウン株から調製したプロトプラストでは細胞壁再生が野生型より遅いことも、RG-II KDO残基の供給が新規細胞壁の形成を律速するという推定を支持すると考えられます。

3. 今後の展望

以前の研究では、ペクチンが細胞壁からキレーターあるいは熱水処理で抽出されることから、ペクチングルは細胞壁に強く保持されておらず、それゆえ構造的には重要な役割を果していないとも考えられていました。しかし本研究の結果は、正常なペクチンが合成されなければ細胞壁全体の構築が進行しないことを示唆し、細胞壁の構造形成にはセルロース骨格のみならずペクチングルも不可欠の役割を担っていると考えられます。現在、ペクチングルが新規細胞壁の構築過程で具体的にいかなる役割を果しているか明らかにするため、CKSノックダウン株プロトプラストの細胞壁再生過程の解析を進めています。またこの株のミネラルストレス応答等についても解析を進め、植物細胞の成長や環境応答にペクチングルが果す役割を明らかにしていきたいと考えています。

● CKS transcript



● Growth

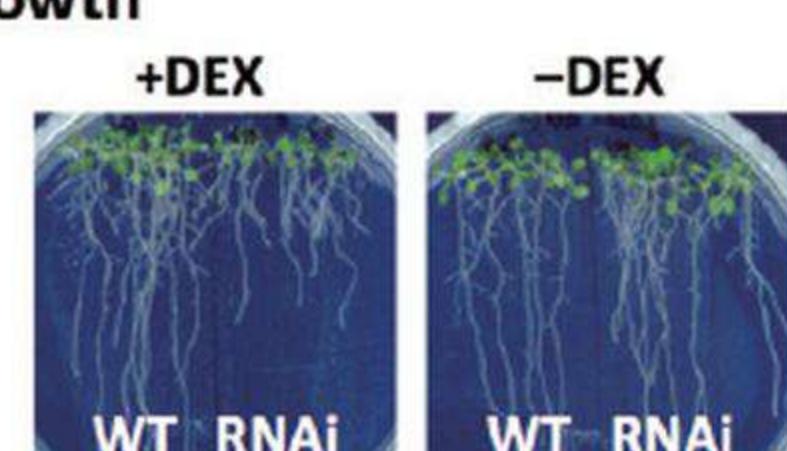
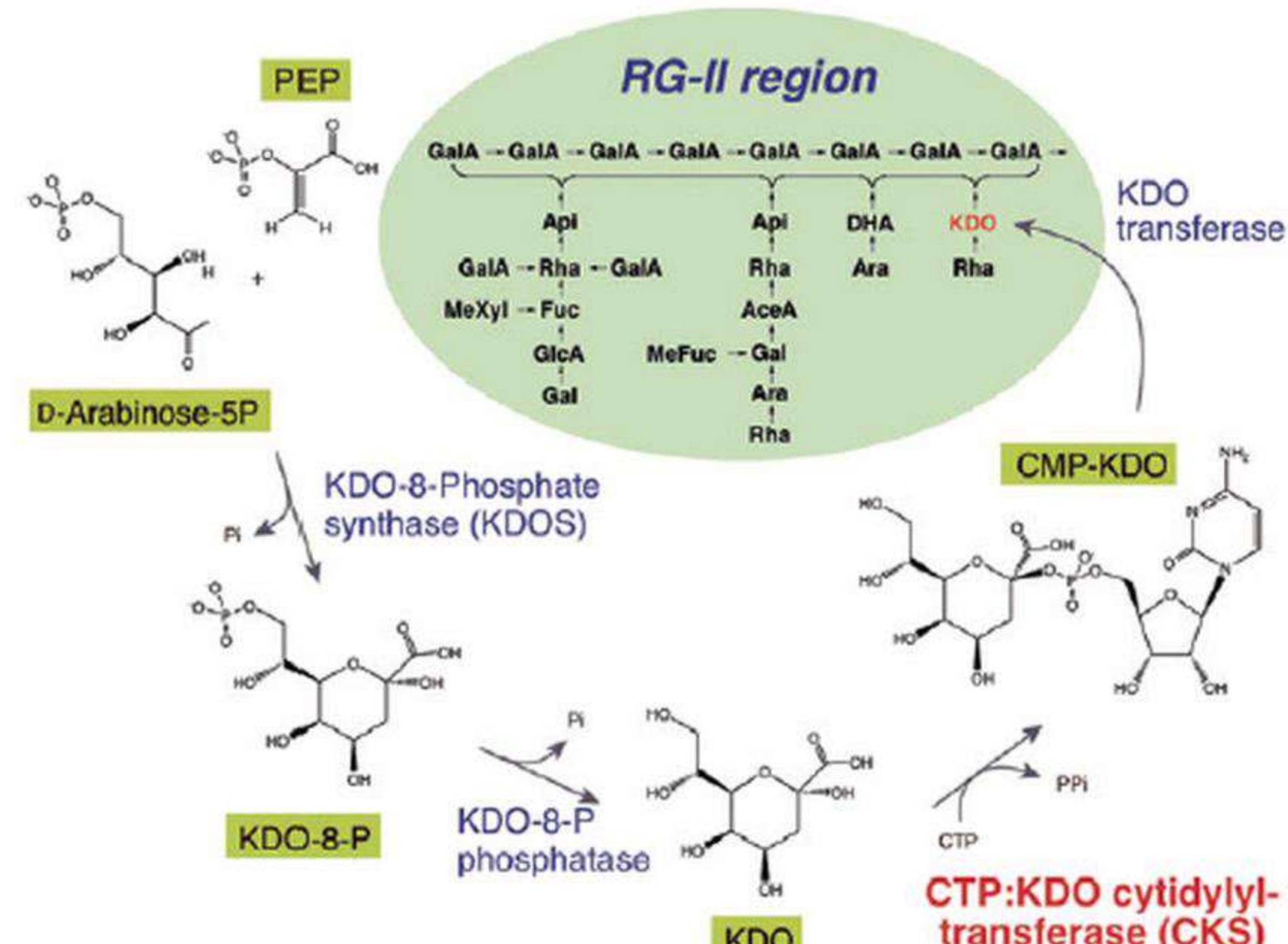


図1: KDOの合成に必要な酵素CKSの発現抑制の影響
CKSはRG-IIの特異的構成糖KDOを糖転移酵素の基質に変換する酵素です(左)。CKSの発現をデキサメタゾン(DEX)誘導型RNAiにより抑制すると、根の伸長は著しく阻害されます(+DEX)。RNAiを誘導しない場合は野生型株とRNAi株の差はありません(-DEX)。



タンパク質脱リン酸化を制御する アブシジン酸シグナルネットワークの解析

研究代表者：西村 宜之（農業生物資源研究所放射線育種場）

1. 研究のねらい

アブシジン酸（ABA）は、種子発芽の抑制から環境ストレス応答まで多岐に渡り作用します。我々は、2C型タンパク質脱リン酸化酵素（PP2C）のクラスターAに属するABI1の相互作用因子を探査し、ABA受容体であるPYR/PYL/RCARやABAにより活性化されるタンパク質リン酸化酵素であるSnRK2を独立して同定し、PYR/PYL/RCARがPP2Cの活性を調節することにより、ABA応答を制御することを明らかにしました（図1）。

本研究では、ABAによる種子発芽の抑制において重要な役割を担っているABI1と同じPP2CのクラスターAに属するAHG1に注目し、AHG1の相互作用因子を同定し、AHG1とABI1の相互作用因子を比較することにより、PP2C間での相互作用因子の共通や相違を明らかにし、ABAシグナルネットワークの全体像の解明を目指しました。

2. 主な研究成果

シロイヌナズナにYFP-AHG1を発現させた過剰発現体を作成しました。YFP-AHG1過剰発現体は、YFP-ABI1過剰発現体と同様にABAによる種子発芽の抑制やABA誘導性遺伝子の発現誘導において、非常に強いABA非感受性を示しました。一方、YFP-ABI1は細胞質と核に局在しますが、YFP-AHG1は核に強く局在し、このYFP-AHG1過剰発現体はYFP-ABI1過剰発現体が示した植物体の矮性化は見られませんでした。

YFP-AHG1過剰発現体を用い、YFP-AHG1に相互作用する候補因子をGFPアフィニティカラムで精製し、質量分析計により単離しました。複数のAHG1に相互作用する候補因子は、酵母ツーハイブリット法によりAHG1との相互作用が確認できましたので、これらAHG1と相互作用する因子をAHIP（AHG1 Interacting Protein）と名付けました。

同定したAHIPとABI1との相互作用を調べましたが、今回同定したAHIPの中にはABI1と相互作用を示すものはありませんでした。また、以前ABI1の相互作用因子として同定したPYR/PYL/RCARやSnRK2は、AHG1の候補相互作用因子として質量分析計を用いた解析では同定されませんでした。興味深いことに、AHIPの中には、既知のABAシグナルで働く因子が含まれており、AHG1はこの因子を介して、ABAシグナルを制御すると考えています（図1）。

以上より、同じPP2CのクラスターAに属するAHG1と

ABI1は異なるABAシグナルで働く因子を制御することから、ABAシグナルは単純な直鎖上ではなく、複雑なシグナルネットワークを形成すると考えています。

3. 今後の展望

現在、本研究で見出したAHIPとAHG1の機能解析を行っており、この複雑なABAシグナルネットワークの全体像の解明に取り組んでいます。また、今回得られた知見を利用し、イネなどの重要作物で環境ストレスに強い作物の作出など応用研究の展開を目指しています。

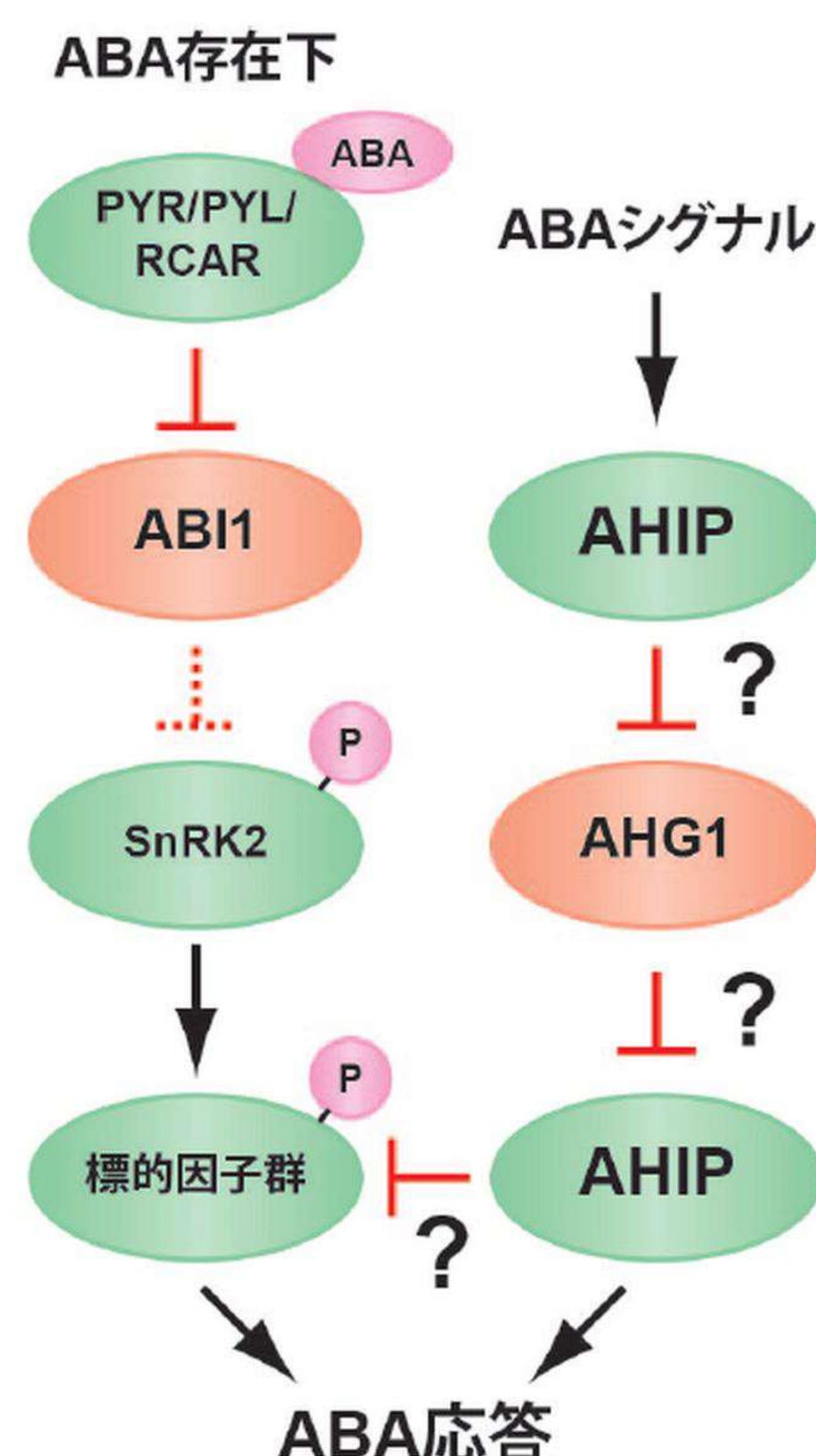


図1：本研究から明らかになってきたABAシグナル伝達経路
PYR/PYL/RCARはABAが結合するとABI1の活性を抑制し、SnRK2は脱抑制（活性化）され、標的である転写因子や陰イオンチャネルなどが活性化され、植物はABA応答する。AHG1はPYR/PYL/RCARによる制御を受けず、AHIPの制御に関わることで、ABA応答に働いていると考えられる。

ミネラル欠乏ストレス時に根で機能する輸送体の包括的解析

研究代表者：深尾 陽一朗（立命館大学生命科学部）

1. 研究のねらい

植物は栄養飢餓に曝されると必要なミネラルを土壤から吸収して体内に分配します。このミネラルの吸収や分配は、一つの輸送体ではなく、複数の輸送体が協調的に機能することで達成されます。本研究では、植物がミネラル欠乏に陥ったときに、根が土壤からミネラルを取り込み導管へ排出するまでの過程で機能する輸送体タンパク質情報を細胞層ごとに取得し、その機能を理解することを目指します。このために、シロイヌナズナの根における各細胞層特異的に GFP を発現するシロイヌナズナ形質転換体からプロトプラストを調製し、蛍光活性化セルソーティング (FACS) 法により GFP 蛍光を発するプロトプラストのみを回収します。得られたプロトプラストからタンパク質を調製し、ミネラル欠乏 (亜鉛、マグネシウム、カルシウム) ストレスに曝された根において発現変動するタンパク質を探査し、特に輸送体に着目します。個々の輸送体機能を解析した結果を統合し、複数の輸送体が協調して環境変化に適応する機構を明らかにします。

2. 主な研究成果

FACS 法により回収した表皮細胞のプロトプラストから抽出したタンパク質をトリプシン消化後、以下の3つの方法にてペプチド分離し、質量分析にて同定しました。(1) ペプチドを溶液中で等電点電気泳動により分画する OFFGEL 法 (2) アルカリ溶液によるペプチド分画と酸性溶液によるペプチド分画を組み合わせた 2DLC 法 (3) 2m 長の分離カラムを用いた Long column 法。これらの方針により合計 1493 タンパク質 (重複なし) を同定することに成功しました (Fukao et al., 2013)。

次に Fukao et al. (2013) で確立した OFFGEL 法とタンパク質の相対定量解析法である iTRAQ 解析法を組み合わせた解析法を確立し (Zargar et al., 2015)、これを本解析に応用しました。通常培地および亜鉛、マグネシウム、カルシウムがそれぞれ欠乏した培地で生育した根の表皮細胞から単離したプロトプラストを用いて iTRAQ 法により相対定量解析を行いました。この解析は内鞘細胞を中心とした根の内側に位置する細胞層についても行いました (図 1)。この結果、根全体では変動が見られなかったタンパク質のうち、複数のタンパク質が細胞層特異的 iTRAQ 解析ではミネラルストレスに応答していることが示されました。しかし細胞層ごとの iTRAQ 解析では、2 回以上膜貫通領域を持つと推定される膜タンパク質が少なく (表皮細胞: 8.9%、内鞘細胞: 9.5%、根全体: 26.0%) ミネラル欠乏に応答するタンパク質が得られませんでした。ミネラル応答したタンパク質のうち 14-3-3 タンパク質など複数の mRNA の発現量を、各細胞層のプロトプラストを用いて qRT-PCR により調べたところ、タンパク質の変動レベル

ルと同様の結果が得られました (論文投稿中)。

また以上の解析とは別に、iTRAQ 解析によって得られる包括的なプロテオームデータから機能的関連が深い一群のタンパク質を抽出するための相関解析法を確立しました (Zargar et al., 2014)。

3. 今後の展望

細胞層ごとの iTRAQ 解析データを用いた論文を投稿中のため、この論文が受理されることを目指し、研究を終了します。

Fukao Y, Yoshida M, Kurata R, Kobayashi M, Nakanishi M, Fujiwara M, Nakajima K, Ferjani A. (2013) Peptide separation methodologies for in-depth proteomics in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 54: 808-815.

Zargar SM, Kurata R, Inaba S, Oikawa A, Fukui R, Ogata Y, Agrawal GK, Rakwal R, Fukao Y. (2015) Quantitative proteomics of *Arabidopsis* shoot microsomal proteins reveals a cross-talk between excess zinc and iron deficiency. *Proteomics.* 15: 1196-1201.

Zargar SM, Fujiwara M, Inaba S, Kobayashi M, Kurata R, Ogata Y and Fukao Y. (2014) Correlation analysis of proteins responsive to Zn, Mn, or Fe deficiency in *Arabidopsis* roots based on iTRAQ analysis. *Plant Cell Rep.* 34: 157-166.

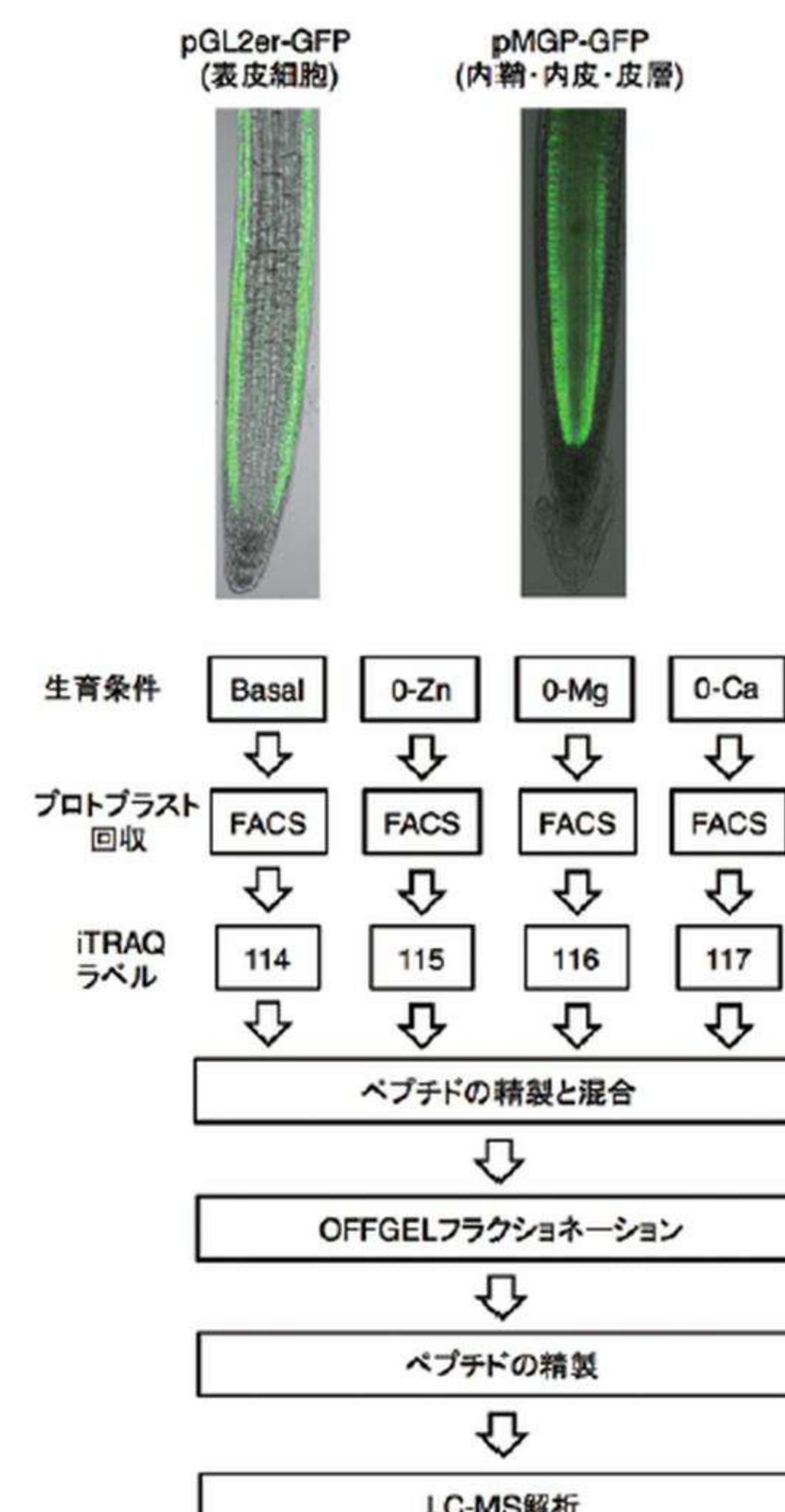


図 1：ミネラル欠乏に応答した根の細胞層ごとの定量プロテオーム解析
表皮細胞でのみ GFP 蛍光で標識されている pGL2-GFP、および内鞘・内皮・皮層細胞が GFP で標識されている pMGP-GFP シロイヌナズナ形質転換体を通常の生育培地 (Basal)、亜鉛欠乏 (0-Zn)、マグネシウム欠乏 (0-Mg)、カルシウム欠乏 (0-Ca) の各培地で 5 日間生育し、FACS 法により GFP 蛍光を発する細胞のみを回収した。この細胞を用いて OFFGEL 法と iTRAQ 法を組み合わせた iTRAQ-OFFGEL 法によりタンパク質の定量解析を行った。なお、Basal、0-Zn、0-Mg、0-Ca から調製したタンパク質は、それぞれ iTRAQ 試薬 114、115、116、117 により標識した。

硫酸イオントランスポーター遺伝子下流域によるゲノム機能および成長制御の分子機構

研究代表者：丸山 明子（九州大学大学院農学研究院）

1. 研究のねらい

硫酸イオントランスポーター *SULTR2;1* は維管束系で発現し、根から地上部への硫酸イオンの輸送および地上部での硫酸イオン転流に働きます。*SULTR2;1* の根における遺伝子発現は、植物体外部の硫酸イオン量が減少する時に上昇します。当研究グループでは、この *SULTR2;1* の発現上昇を遺伝子下流域が担うことを見出し、遺伝子下流域に存在する硫黄欠乏 (-S) 応答領域 (SURE21) を同定しました（図1, 発表論文）。SURE21 は 3' 非翻訳領域の外側に存在し、その有無は 3' 非翻訳領域の長さに影響を及ぼしません。また、SURE21 は他の上流域と組み合わせた場合、遺伝子上流域に置かれた場合でも -S に応じた発現上昇を引き起こします（発表論文）。これらの結果は、SURE21 が基本転写因子複合体に作用する事で *SULTR2;1* の転写を誘導することを示唆しています（図2）。

この応答領域に T-DNA が挿入された変異株 (tKO) では、硫酸イオン量が減少した時でも *SULTR2;1* の発現上昇が起こらないだけでなく、周辺遺伝子の -S に応じた発現上昇、植物の成長がともに阻害されました。いずれの現象も *SULTR2;1* コード領域への T-DNA 挿入株 (KO) では認められないので、SURE21 の効果が失われたことが原因と考えられます。

本研究では、この応答領域による遺伝子発現及び成長制御の分子機構を明らかにすることを目的として、遺伝子発現の巨視的な解析を行うとともに、応答領域依存的な発現誘導機構を遺伝学的・分子生物学的な解析により明らかにすることを試みました。

2. 主な研究成果

SURE21 と成長制御との関連を明らかにするため、これまで作製した SURE21 を持つ形質転換植物について、硫黄十分 (+S) ・ -S 下における成長、T-DNA 挿入部位の決定と挿入部位近傍に存在する遺伝子の硫黄栄養条件による発現変動を解析しました。しかし、成長促進や -S に応じた発現促進はともに認められませんでした。SURE21 が遺伝子発現や成長促進に働くためには、ゲノム上の位置や近傍遺伝子ま

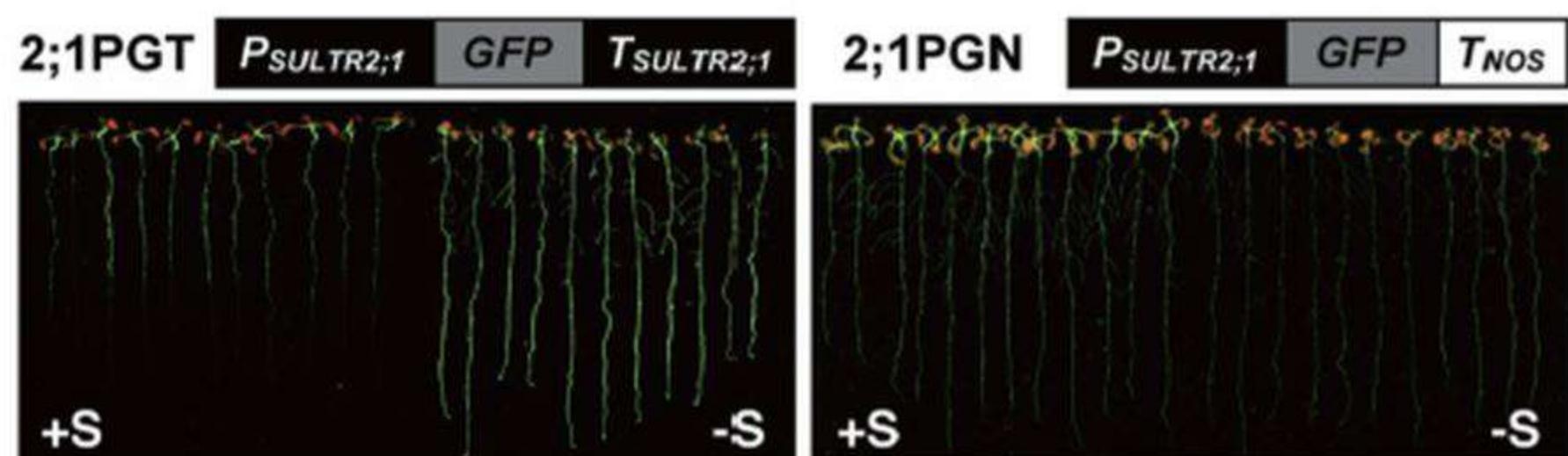


図1：硫酸イオン量の減少に応じた *SULTR2;1* の発現上昇は遺伝子下流域が担う *SULTR2;1* 上流域 (*P_{SULTR2;1}*) と GFP、*SULTR2;1* 下流域 (*T_{SULTR2;1}*, 左) または NOS ターミネーター (*T_{NOS}*, 右) を導入した植物を硫酸イオン十分 (+S)、不十分 (-S) の条件で育成し、GFP 蛍光を観察した。*SULTR2;1* 下流域が存在する時に GFP 蛍光が強くなっているのが分かる。

での距離が適切であることが必要なのではないかと推定しています。

SURE21 による発現誘導機構を明らかにするため、野生型株、KO、tKO について、+S・-S 下におけるマイクロアレイ解析を行うとともに、SURE21 による発現誘導を欠損した変異株の単離を試みました。マイクロアレイ解析から、tKO でのみ顕著に発現の変化する複数の遺伝子を同定しました。変異株の探索には、355 minimal プロモーター : GFP:*SULTR2;1* 下流域を持つ形質転換植物を親株として用いました。この植物は、SURE21 依存的に -S 下で GFP を蓄積します。-S 下で GFP の蓄積が起こらない植物を変異株候補として選抜しました。得られた変異株の戻し交雑第3世代 (*F₃*) では、-S による *SULTR2;1* の発現誘導が失われていました（図2）。また、マイクロアレイ解析から見出された「tKO で -S による発現誘導が失われる遺伝子」についても同様にその発現誘導が失われていました。これらの結果から、今回得られた変異株の原因遺伝子が、SURE21 による発現誘導に重要な役割を持つと考えています。

3. 今後の展望

得られた変異株の原因遺伝子の同定と機能解析を行うことで、*SULTR2;1* の -S による発現誘導を制御する因子を単離し、発現誘導の分子機構を明らかにします。また、tKO で -S による発現誘導が失われる遺伝子について、その機能やそれらが関わる代謝系について解析することで、SURE21 と成長との関連を明らかにします。これらの研究を発展させることで、一つの遺伝子の発現調節機構が他の遺伝子の発現調節や成長調節に関わるというユニークな仕組みを明らかにできると考えています。

Maruyama-Nakashita A, Watanabe-Takahashi A, Inoue E, Yamaya T, Saito K, Takahashi H. (2015) Sulfur-Responsive elements in the 3'-non-transcribed intergenic region are essential for the induction of *SULFATE TRANSPORTER 2;1* gene expression in *Arabidopsis* roots under sulfur deficiency. *Plant Cell* 27: 1279-1296.

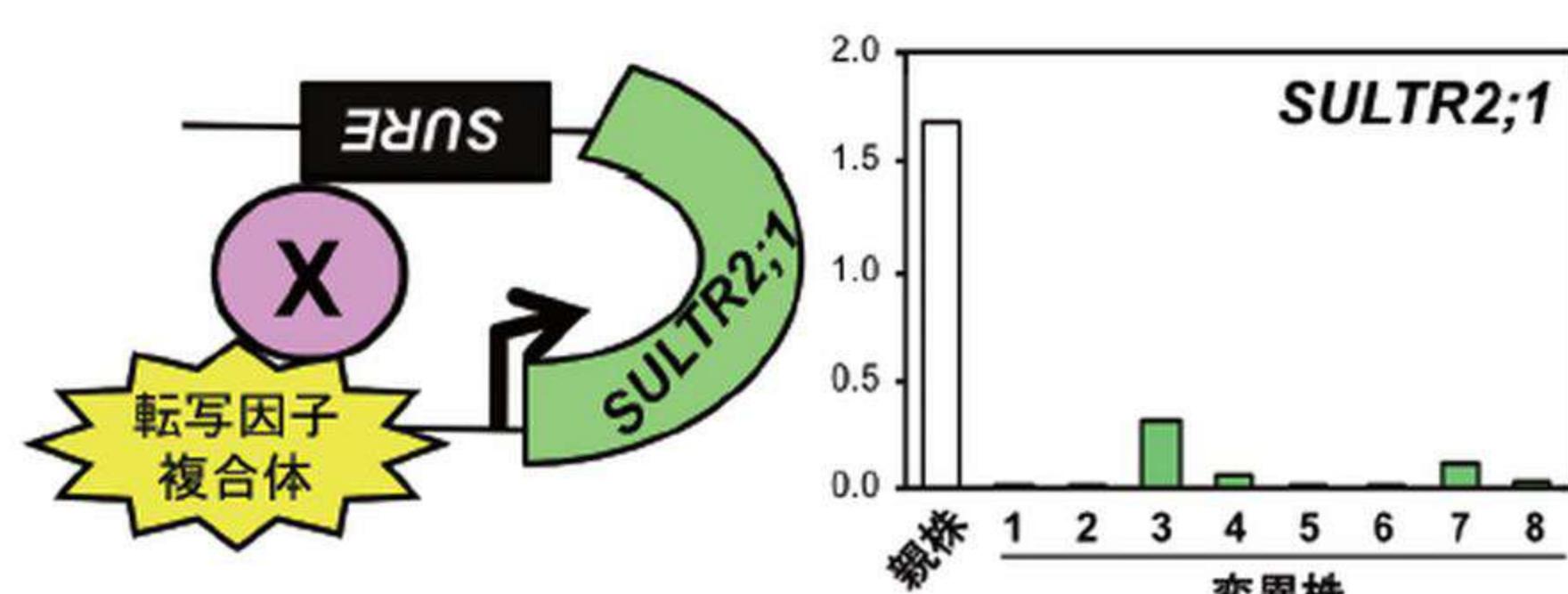


図2：*SULTR2;1* の発現上昇を担う情報伝達因子の同定を目指した変異株の単離（左）硫酸イオン量の減少に応じた *SULTR2;1* 発現上昇の推定分子機構。*SULTR2;1* 遺伝子下流域に存在する応答領域 (SURE) が、なんらかのタンパク質因子 (X) を介して基本転写因子複合体の働きを促進すると推定している。（右）単離した変異株候補 8 系統における *SULTR2;1* の転写産物量。親株および変異株候補の *F₃* を -S 条件で 10 日間育成し、根を用いて定量 RT-PCR をおこなった。変異株候補では、*SULTR2;1* の転写産物量が減少している。

環境変動下における生存戦略としての栄養繁殖機構の解析

研究代表者：石崎 公庸（神戸大学大学院理学研究科）
連携研究者：河内 孝之（京都大学大学院生命科学研究科）
西浜 竜一（京都大学大学院生命科学研究科）

1. 研究のねらい

植物には、配偶子の受精による有性生殖による繁殖の他に、栄養器官に分化した細胞からクローン個体を形成し散布する栄養繁殖を行うものが多く存在します。陸上植物進化の基部に位置するゼニゴケは受精による有性生殖に加え、栄養成長期に杯状体という器官を分化し、内部に多数の独立したクローン個体（無性芽）を形成する栄養繁殖を行うことで、環境変化に際しても巧みに生存し旺盛に増殖します。本研究では、植物における栄養繁殖器官の発生メカニズムの解明を目的とし、ゼニゴケの栄養繁殖をモデルに解析しました。

2. 主な研究成果

まず、無性芽発生の場である杯状体の底部でオーキシンの生合成と応答が上昇することを示唆する結果を得ました。さらにオーキシンのシグナル伝達に関わるゼニゴケ *AUXIN RESPONSE FACTOR1 (MpARF1)* の変異体において無性芽の発生が異常となることが明らかとなりました。これらの結果から、杯状体の底部におけるオーキシン応答が無性芽の正常な発生に重要な役割をもつことが示唆されました。さらにゼニゴケの全ゲノム配列情報を活かし、次世代DNAシークエンサーによるトランスクリプトーム解析を行いました。その結果、杯状体および無性芽を含む組織で特異的に発現上昇する制御因子候補 *GCAM1* と *GCAM2* を見出し、ゼニゴケでその遺伝子を欠損させると杯状体が全く形成されなくなることから、*GCAM1* および *GCAM2* が、それぞれゼニゴケの栄養繁殖器

官の発生制御に重要な役割を持つことが明らかとなりました。興味深いことに *GCAM1* と *GCAM2* の相同遺伝子は、それぞれ陸上植物に広く保存される R2R3-MYB 型転写因子をコードし、被子植物では茎と葉の間に形成される芽（腋芽）の形成に重要であることが複数の植物種で示されています。これらの結果から、栄養繁殖と腋芽形成には共通する制御メカニズムが存在すると考えられます。また杯状体内部での無性芽発生の初期段階が異常となり杯状体内部に無性芽が全く形成されない *karappo2 (kar2)* 変異体（図1）について、RAC/ROP型低分子量 G タンパク質の活性を制御する PRONE 型グアニンヌクレオチド交換因子（GEF）をコードする遺伝子 *KARAPPO2 (KAR2)* を原因遺伝子として同定しました。*KAR2* の相同遺伝子は、被子植物では花粉管や根毛細胞の伸長成長や、細胞分裂を制御することが知られています。この結果より、無性芽の発生開始には、ROP型 G タンパク質のシグナル伝達経路を介した細胞形態形成もしくは細胞分裂の制御が重要であることが示唆されました（図2）。

3. 今後の展望

本新学術領域の研究活動を通じて、ゲノム解析が進展とともに、相同組換による遺伝子破壊法や T-DNA タギング法による順遺伝学的アプローチ等、ゼニゴケにおいて実用的かつ強力な遺伝子機能解析系が確立しました。領域内外で、ゼニゴケを材料とした様々な共同研究が成果を挙げつつあります。そして、これらの研究基盤を活用することで、ゼニゴケの栄養繁殖制御の分子機構の一端を捉えることに成功しました。今後、ゼニゴケ研究の基盤技術を軸に、これらの研究成果を発展させることで、陸上植物に共通する栄養繁殖の仕組みとその進化について理解が進むと期待されます。

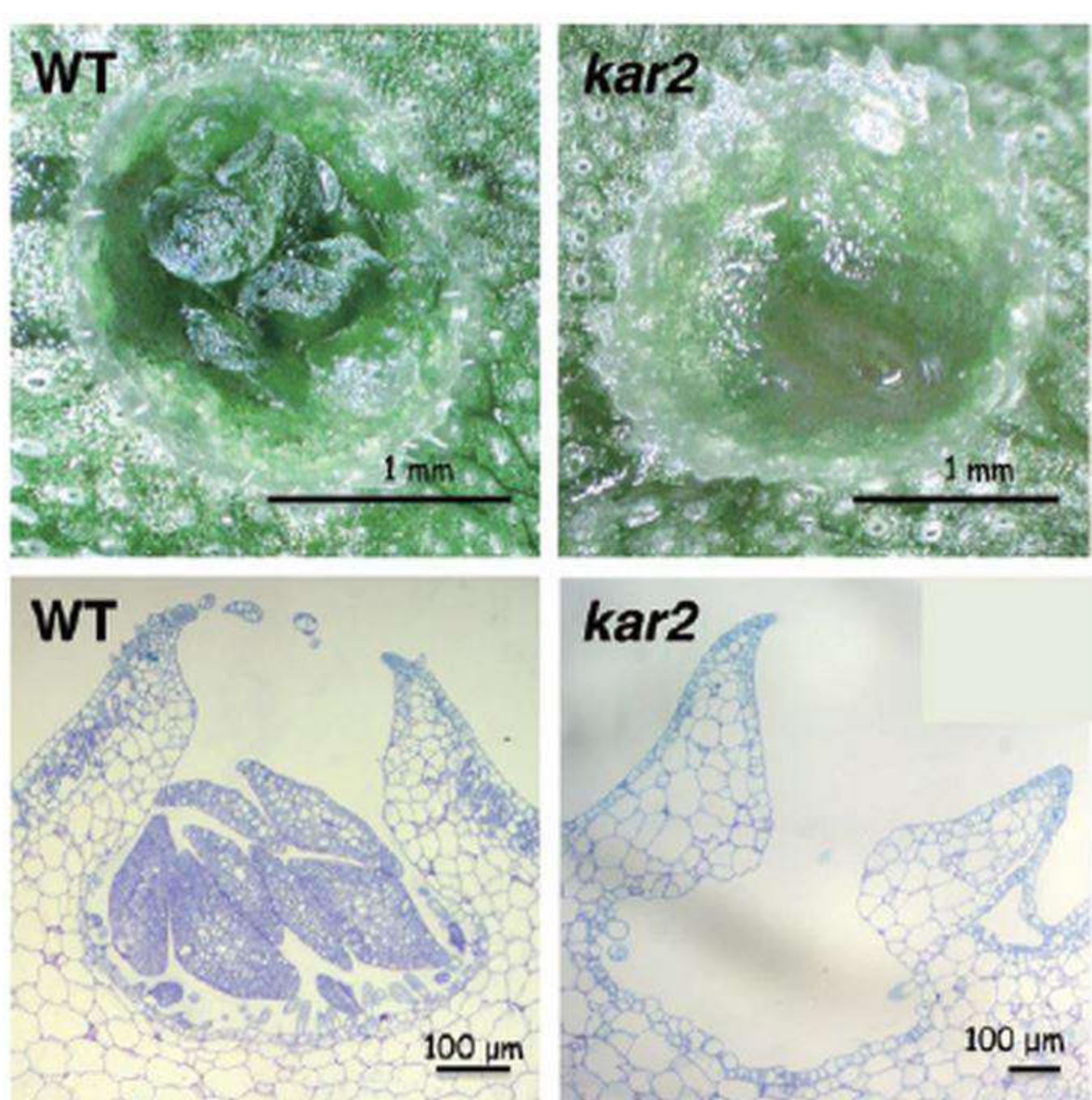


図1：無性芽形成欠損変異体 *karappo2 (kar2)* の表現型
野生株および *kar2* 変異体の杯状体の拡大写真（上段）および切片画像（下段）。*kar2* 変異体では、無性芽形成が完全に欠損している。

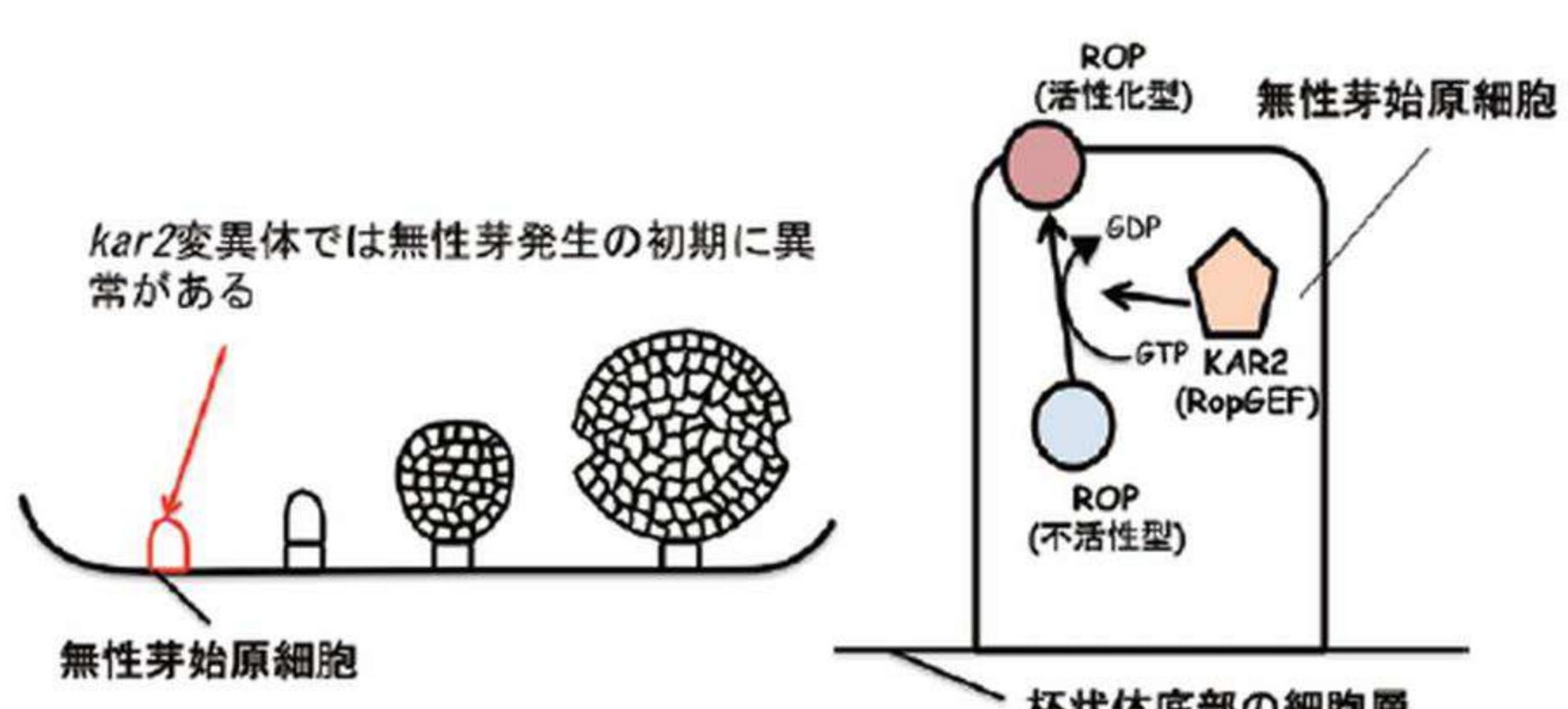


図2：*kar2* による無性芽形成開始の制御モデル
kar2 の原因遺伝子は低分子量 G 蛋白質 ROP の活性化を制御する PRONE 型グアニンヌクレオチド交換因子（GEF）をコードしており、ROP の活性化を介して無性芽始原細胞の形態形成もしくは不等分裂を制御する可能性が考えられる。

植物における細胞周期制御とストレス応答のクロストーク

研究代表者：伊藤 正樹（名古屋大学大学院生命農学研究科）

1. 研究のねらい

植物は環境ストレスに曝されると、遺伝子発現を変化させ、ストレスに対する抵抗性を獲得する一方、自らの成長を積極的に抑制することが知られています。このような環境に応答した成長抑制はストレス下での生存を高めために重要であると考えられていますが、そのメカニズムについては多くの部分が未解明です。私たちは、これまでに植物の細胞分裂を制御するR1R2R3型 Myb 転写因子 (MYB3R) の研究を進めてきており、これらが共通のシス配列を通じて、G2/M期制御に関わる多くの遺伝子の転写をコントロールすることを見いだしてきました。本研究では、この因子を出発点として、ストレスに応答した植物の積極的な成長抑制におけるG2/M期制御の意義、およびその背景にある分子メカニズムについて研究を行いました。

2. 主な研究成果

G2/M期遺伝子の転写を制御するMYB3Rには、転写活性化因子として働くものと、抑制因子として働くものの両方が存在します。抑制型 MYB3Rは、器官発生の進行に伴う細胞分裂の停止に重要な働きをしていることが明らかになりました。抑制型 MYB3Rの変異体では、器官の発生が進んで分裂を停止した細胞でも、G2/M期遺伝子が発現し続け、その結果、細胞分裂の亢進が原因と考えられる成長の促進や種々の発生異常が観察されます (Kobayashi et al. in press)。一方、この変異体は塩ストレス下における成長抑制が緩和されていることが明らかになりました (図1)。通常は塩ストレスに曝されるとG2/M期遺伝子の発現が大きく低下しますが、抑制型 MYB3R変異体ではこのような発現の低下が緩和されます。また、ジベレリン合成阻害剤による成長抑制には抑制型 MYB3Rの作用が必要であること、ジベレリン信号伝達因子 DELLAは MYB3Rと同様に塩ストレスによる成長抑制に寄与していることなどが分かってきました。これらの結果は、塩ストレス下に置かれた植物がジベレ

リン情報伝達系を通じて、MYB3Rの働きを制御することにより、細胞周期を負に制御している可能性を示唆しています (図1)。

G2/M期制御には転写レベルでの制御に加え、タンパク質分解制御も重要な役割を果します。進化的に保存されたE3ユビキチンリガーゼ複合体 APC/CはM期サイクリンの分解などを通じて、G2/M期制御に重要な役割を果します。このAPC/Cの活性を阻害する新奇な抑制タンパク質 GIG1を同定しました。GIG1とそのパラログ UVI4は異なる APC/C活性化因子を阻害することにより、異なる標的タンパク質のユビキチン化に影響を与え、その結果、異なる様式のDNA倍加を抑制していることが明らかになりました (図2) (Iwata et al., 2011)。

3. 今後の展望

抑制型 MYB3Rの機能は、細胞分裂の停止後にG2/M期遺伝子を抑制状態に保つことです。このように遺伝子発現抑制を長期にわたり（おそらく植物の一生を通じて）維持するメカニズムについて、エピジェネティックな機構を視野に研究していく予定です。また抑制型 MYB3Rの働きがジベレリン信号伝達系、とりわけ DELLAと関連している可能性が見えてきました。今後 DELLAと MYB3Rが機能的に、また生化学的に相互作用しているかどうか調べ、塩ストレス下での成長抑制の仕組みにアプローチしていきます。

Iwata E, Ikeda S, Matsunaga S, Kurata M, Yoshioka Y, Criqui MC, Genschik P, Ito M. (2011) GIGAS CELL1, a novel negative regulator of the anaphase-promoting complex/cyclosome, is required for proper mitotic progression and cell fate determination in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23: 4382-4393.

Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, Chen P, Ohtani M, Ishida T, Hosoya H, Müller S, Levczky T, Pettkó-Szandtner A, Darula Z, Iwamoto A, Nomoto M, Tada Y, Higashiyama T, Demura T, Doonan JH, Hauser MT, Sugimoto K, Umeda M, Magyar Z, Bögrel L, Ito M. (2015) Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J.* (in press)

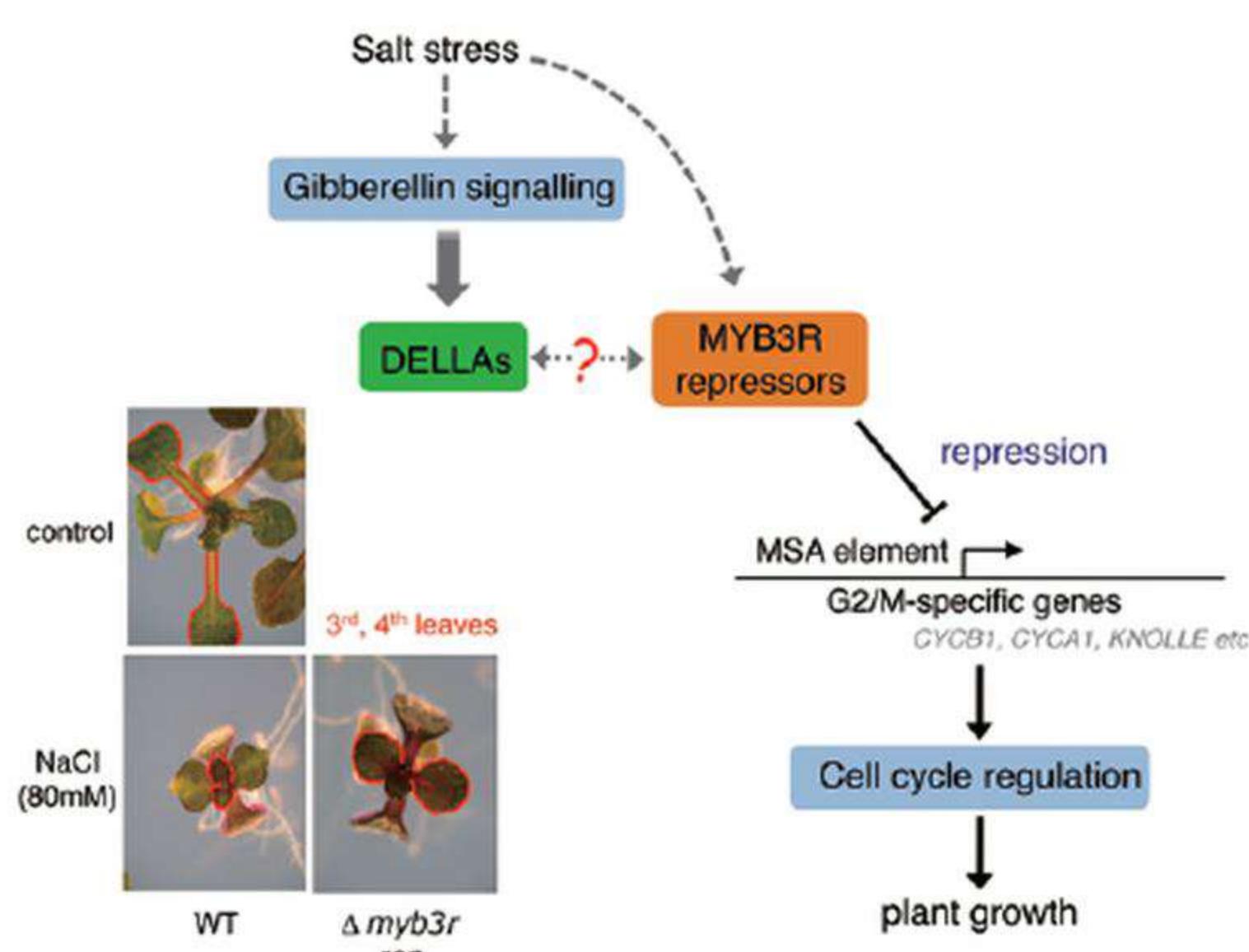


図1：塩ストレス下での成長抑制における抑制型 MYB3Rの働き
抑制型 MYB3Rは、MSAエレメントを通じて多くのG2/M期特異的遺伝子の転写を抑制し、器官発生における細胞周期を負に制御する。一方、抑制型 MYB3Rを欠くシロイヌナズナ変異体では、塩ストレス下での成長抑制が顕著に緩和されることから(写真)、抑制型 MYB3Rはストレスと成長抑制の間をつなぐ重要な細胞周期因子であると予想される。これまでの種々の解析から、ジベレリン伝達因子DELLAが抑制型 MYB3Rの機能に関連していることが示唆されており、それらの相互作用がストレス下での成長抑制に寄与している可能性が考えられる。

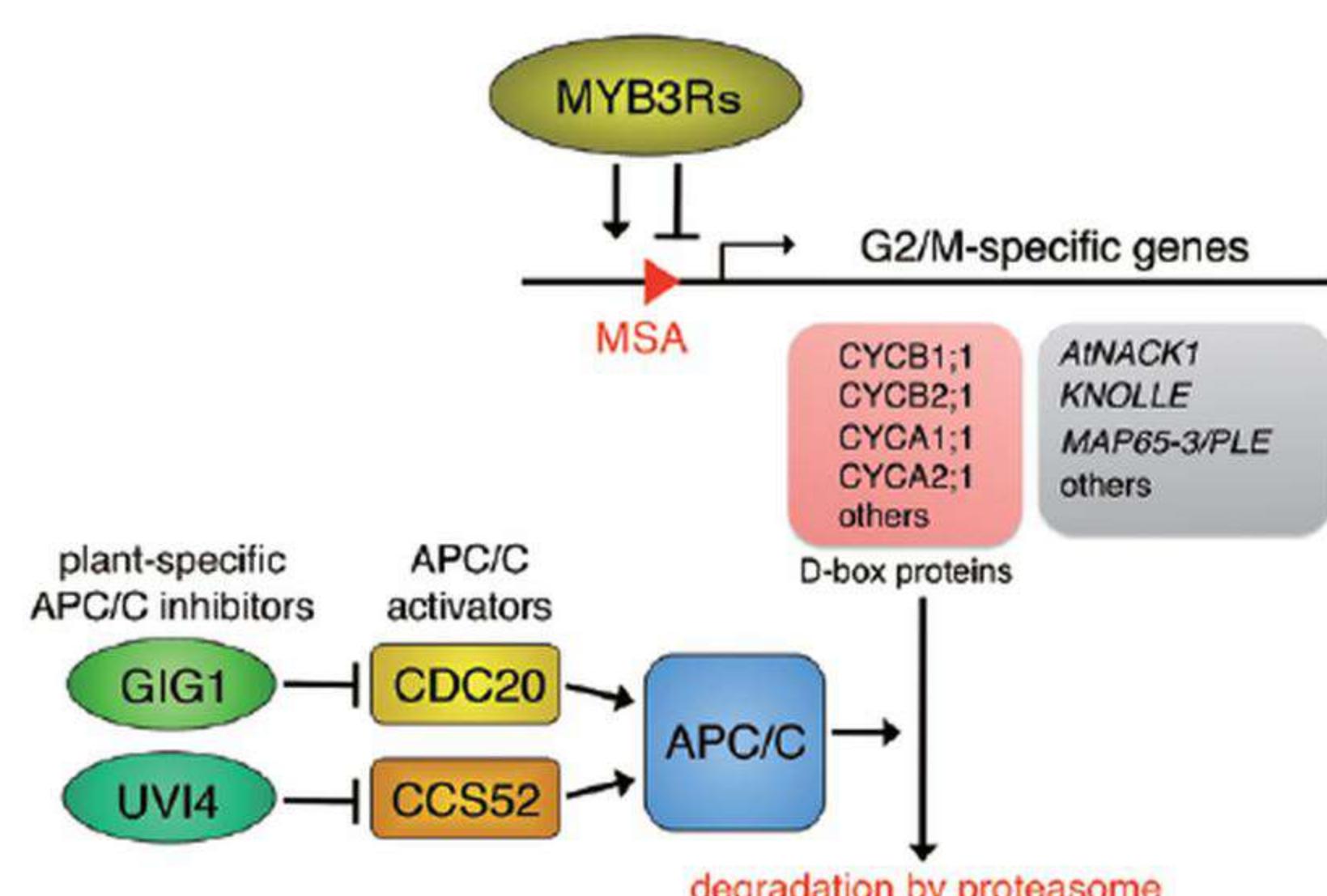


図2：細胞周期G2/M期における転写制御とタンパク質分解制御のメカニズム
細胞周期のM期の開始や進行など、細胞分裂に必要な実行因子の多くは、共通にMSAエレメントを持ち、そこに結合する一群のMyb転写因子(MYB3R)により制御される。また、MYB3Rの下流遺伝子がコードするタンパク質には、APC/Cユビキチンリガーゼの標的配列D-boxを持ち、APC/Cによる分解制御を受けるタンパク質が多く知られている。本研究によりAPC/Cを負に制御する植物特異的な阻害タンパク質GIG1とそのパラログUVI4を同定した。GIG1とUVI4は異なるAPC/C活性化因子(CDC20とCCS52)の阻害を通じてAPC/Cを抑制していることがわかった。

ジベレリン輸送を介した植物の生長制御機構の解析

研究代表者：瀬尾 光範（理化学研究所環境資源科学研究中心）

植物ホルモンは生体内に非常に低濃度で存在し、発生、成長、分化、環境応答など、生活環の様々な場面において多岐にわたる生理作用を示す化合物です。これまでに多くの植物ホルモンについて、合成、分解、受容、情報伝達に関与する主要な因子が特定され、それらを介した植物の生長制御機構が明らかになってきました。しかしながら、合成と分解による「内生ホルモン量の調節」と受容体によるホルモン認識以降の「情報伝達」を結びつける重要な要因である「輸送」に関しては、その制御機構のみならず生理的な意味もほとんど明らかになっていません。私たちは、種子発芽、伸長生長、花成、生殖などの生理過程を促進的に制御する植物ホルモンであるジベレリン（GA）に着目し、その輸送制御機構の解明に取り組みました。

GA受容体と、DELLAタンパク質と呼ばれる情報伝達制御因子は、GA依存的にタンパク質複合体を形成することが明らかになっていました。私たちはこのGA依存的な受容体複合体の形成をモニターする酵母two-hybrid系を利用したスクリーニング法を開発し、GA輸送活性を持つタンパク質を見つけることに成功しました。仮にGA-IMPORTING TRANSPORTER (GIT) 1、2と名付けた2つの類似したタンパク質に関しては植物体内では細胞膜に局在し、酵母および昆虫細胞において発現させた場合に細胞内にGAを取り込む活性を示すことが確認されました。プロモーター・レポーター系を用いた解析から、*GIT1*および*GIT2*遺伝子は、薬、

発達種子、根や葉の維管束組織などで発現していることが分かりました。*GIT1*および*GIT2*の機能を失った二重変異体*git1 git2*では、GAの合成に異常を持つ変異体で見られる様な薬の解裂異常を伴う稔性の低下が観察されました。一方で、*git1 git2*の種子および芽生えはGA欠損変異体とは逆に、野生型にくらべて大きいことが分かりました。このことから、*GIT1*および*GIT2*は、GA輸送を介して薬の発達過程を正に制御し、種子発達から芽生えの初期生長にかけての過程を負に制御する機能を持つことが考えられました。

以上のことから、GAの細胞膜を介した輸送が植物の適切な生長制御に重要な役割を果たしていることが明らかになりました。しかしながら、植物体内の何処で作られたGAが、何処へ、どのように輸送されるかについては、まだまだ分からぬことがあります。これまでに知られているGAの合成や情報伝達に欠陥を持つ変異体の表現型に比べると、*git1 git2*変異体の表現型は穏やかであることから、*GIT1*、*GIT2*以外にもGAの輸送体として機能するタンパク質が複数存在すると考えられます。そのようなタンパク質を同定し、機能解析を続けていくことが今後の重要な課題です。また、GAの植物体内での局在的な分布を明らかにするための技術開発等が、今後必要になると考えます。

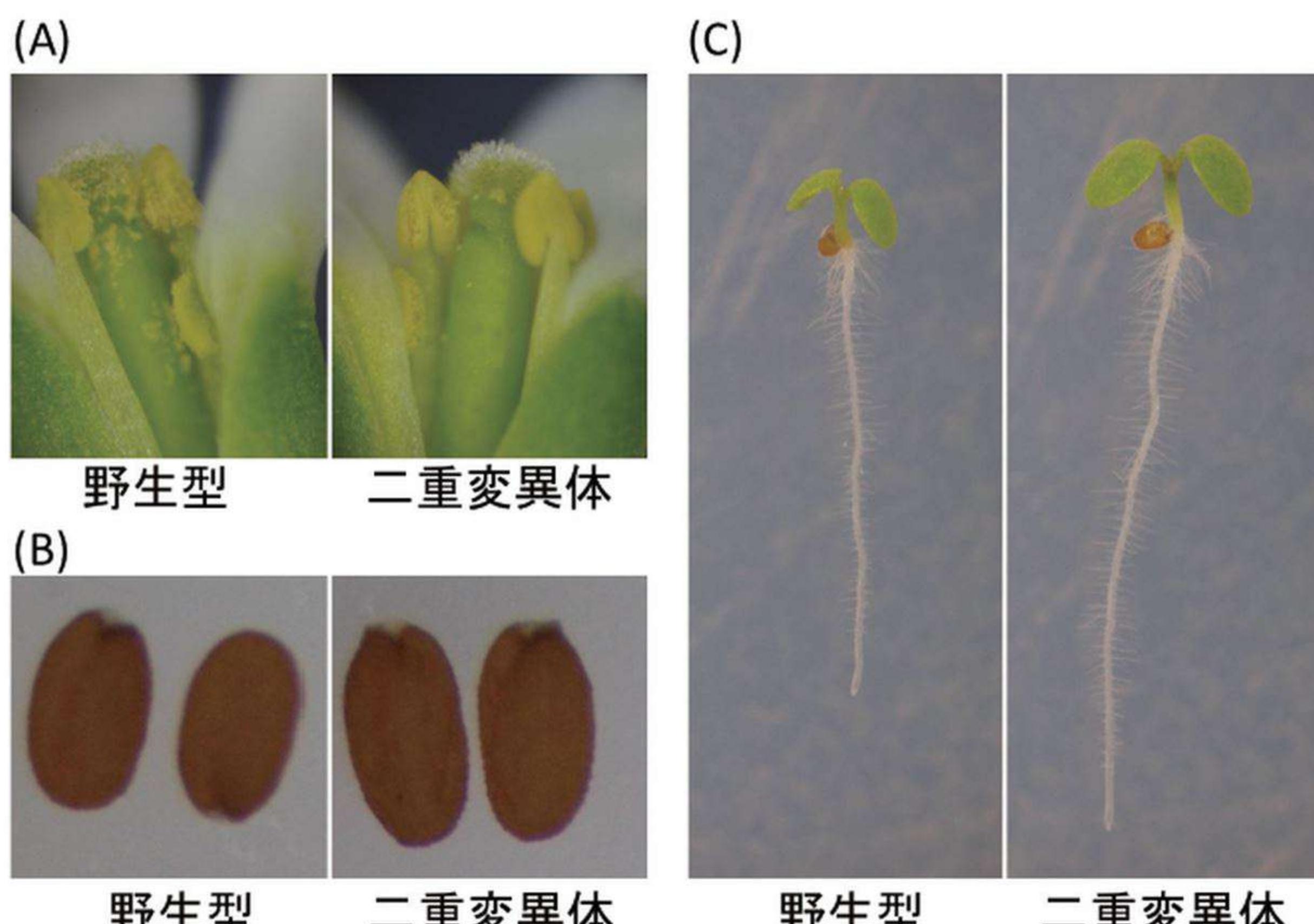


図1：*git1 git2*二重変異体の表現型
(A) *git1 git2*二重変異体では薬の解裂のタイミングが野生型と比べて遅い。
(B) *git1 git2*二重変異体の種子は野生型と比べて大きい。
(C) *git1 git2*二重変異体の芽生えは野生型と比べて大きい。

低リンストレスに対する呼吸系応答戦略機構の解明

研究代表者：野口 航（東京大学大学院理学系研究科）

1. 研究のねらい

リンは、植物の成長にとって必須な無機栄養です。植物の低リンストレスに対する応答戦略として、有機酸などを分泌して根の近傍にある不溶態リンを溶かして利用するタイプと、根の量を増やして利用可能な形のリンを探すタイプの2つに分けることができます。前者では有機酸を多量に合成・分泌するために、呼吸系の活性、特にATP合成と共に役しない呼吸系バイパス経路の活性が高くなることが予想されます。一方、後者は多量の根を維持するために、呼吸活性を低く、かつ効率よくATPを合成する経路が必要となります。本研究では、低リンストレスに対する植物の応答機構について、呼吸系、根からの有機酸分泌、成長の関連性を明らかにすることを目的としました。

2. 主な研究成果

低リン環境に適応している植物には、図1のシロバナルピナスのように、クラスター根（側根が密になる構造をもつ根）をもつ種があります。クラスター根では、有機酸が大量に分泌され、局所的に有機酸濃度を高まっていると考えられています。本研究では、クラスター根をもつマメ科ルピナス属シロバナルピナスとクラスター根をもたない近縁種のホソバルピナスを用いて、低リン応答を比べました。低リン下では、シロバナルピナスはクラスター根をつくり、ホソバルピナスは根への分配を増加していました。ホソバルピナスでは、重さあたりの呼吸速度が低く、呼吸系バイパス経路の最大活性も低い値でした。ホソバルピナスは、根の呼吸消費を抑え、かつ効率の高い呼吸を行っていることを示します。有機窒素量や炭素量などから、根の構成コスト（1 gの根を作るのに必要なグルコース量）を推定できます。根の構成コストを求めてみると、シロバナルピナスのクラスター根が最も構成コストが高く、ホソバルピナスの根の構成コストは低い値でした。低リン下では、ホソバルピナスはコストの低い根を多くつくることでリンを獲得する戦略をとり、シロバナルピナスでは、リン獲得能力の高いクラスター根をつくることでリンを獲得する戦略をとっていることが示唆されました。

次にモデル植物のシロイヌナズナを用いて、低リン下における呼吸系バイパス経路AOXについて詳しく解析しました。リン充足条件で栽培した野生株(WT)とAOX1a欠損変異株(aox1a)を低リン条件に移行して、比較しました。低リン下のWTでは地上部・根の両方でAOX1a遺伝子が

誘導され、AOX最大活性の指標であるシアン耐性呼吸速度が増加しました。一方、低リン下のaox1aでは、シアン耐性呼吸速度は増加しませんでした。低リン下の生重量は、地上部も根でもaox1aの方が高い傾向である一方、根からの有機酸の含量や分泌量はWTの方が多い値でした。低リン下のシロイヌナズナでは、呼吸系バイパス経路であるAOXが誘導され、有機酸合成時の還元力酸化にはたらくことにより、成長よりもリン獲得のための有機酸合成・分泌が優先されていると考えられます。

3. 今後の展望

シロバナルピナスとホソバルピナスの有機酸合成・分泌量を比較し、シロバナルピナスがクラスター根をもつ生理的な意義を明らかにする予定です。また、シロイヌナズナを用いた研究では、低リン下でWTとaox1aの競争実験を行い、aox1aで少なくなった有機酸分泌量が生態的には不利であるかどうかを調べたいと思っています。

Funayama-Noguchi S, Noguchi K, Terashima I. (2015) Comparison of the response to phosphorus deficiency in two lupin species, *Lupinus albus* and *L. angustifolius*, with contrasting root morphology. *Plant Cell Environ.* 38: 399-410.

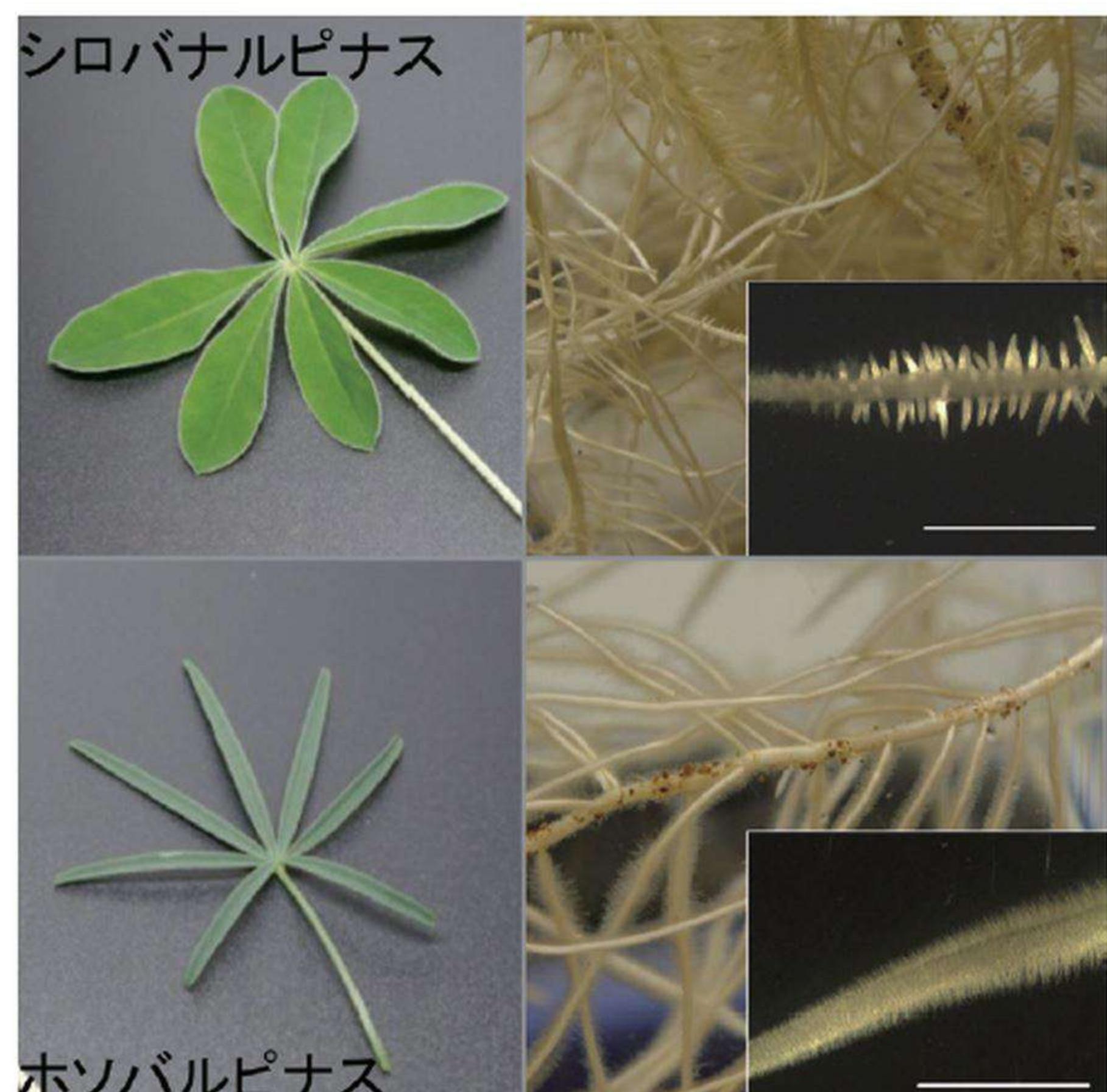


図1：低リン下でクラスター根をもつシロバナルピナスと近縁種でクラスター根をもたないホソバルピナス
図の左側は展開葉の写真で、図の右側の根の写真は低リン下での根の形態を示す。

NIMA 関連キナーゼによる形態形成と環境応答の協調機構の解析

研究代表者：本瀬 宏康（岡山大学大学院自然科学研究科）

1. 研究のねらい

植物は生育環境の変化を敏感に感じ、形態を柔軟に変化させますが、細胞レベルでの環境適応の仕組みはあまりわかつていません。本研究では、形態形成と環境応答の協調機構を細胞レベルで明らかにするため、NIMA 関連キナーゼ (NEK) ファミリーに着目し、その機能解析を行いました。NEK は真核生物に共通するタンパク質リン酸化酵素で、菌類や動物の NEK は主に細胞分裂を制御しています。一方で、私達の研究から、シロイヌナズナの NEK6 が間期における細胞伸長を制御していることが明らかになりました。また、植物 NEK が転写制御補因子と結合して、環境適応に関わることが示唆されています。そこで、シロイヌナズナ NEK ファミリーが、環境変動に応答した細胞成長や遺伝子発現に関わる可能性を検討しました。

2. 主な研究成果

シロイヌナズナには7つのNEK 遺伝子がありますが、その内でも NEK6 が中心的な機能を果たすことがわかりました。NEK6 は微小管に直接結合してチューブリンをリン酸化し、微小管を不安定化すると考えられます (Motose et al. 2011)。また、NEK6 は NEK4,5 と相互作用して働くこと、NEK4,5 も微小管を介して細胞伸長に関わることが示唆されました (Motose et al. 2011, 2012)。更に NEK の発現パターンと NEK 多重変異体の解析から、NEK ファミリーが葉や根などの器官伸長を制御することがわかりました (論文準備中)。

nek6 変異体の表現型を再検討したところ、NEK6 が細胞伸長の方 向制御と伸長促進の両方に関わること、根・葉柄・果実などの様々な 器官の伸長に必要なことが明らかになりました。NEK6 の発現誘導株 や細胞内動態の解析から、NEK6 が微小管の脱重合を引き起こすこと、 NEK6 は退縮して短くなる微小管末端に局在することがわかりました。更に、 β -チューブリンのリン酸化部位を同定し、これらの部位のリン

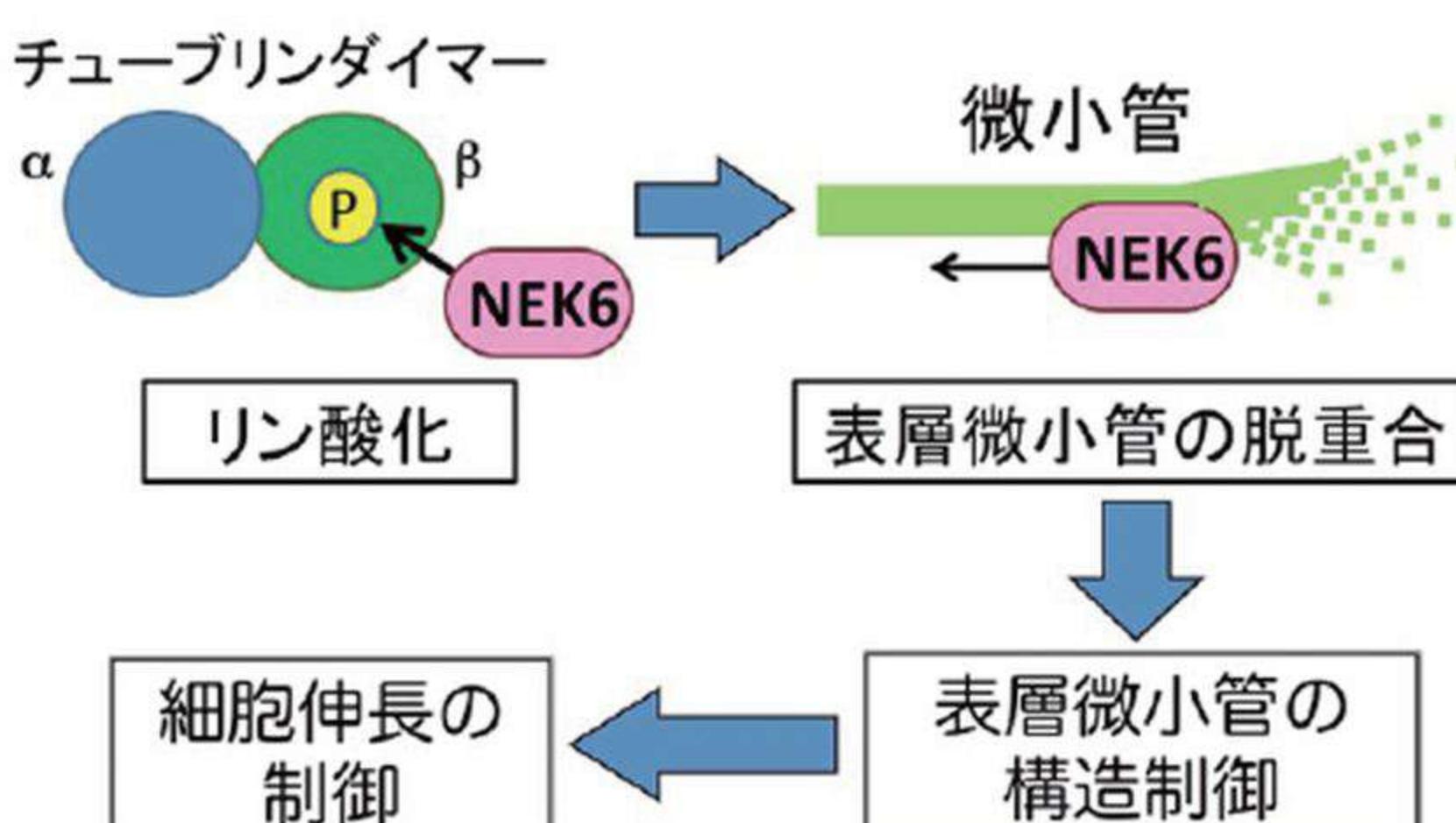


図1：NIMA 関連キナーゼによる微小管制御機構

NIMA 関連キナーゼはチューブリンをリン酸化することで、微小管を脱重合し、表層微小管を一定の方向に配向させて、規則正しい細胞伸長を可能にしている。

酸化が脱重合に関わることが示されました。以上のことから、NEK6 はチューブリンリン酸化を介して余分な微小管を脱重合し、規則正しい微小管配向を形成させると考えられます (図1、論文準備中)。

次に、NEK ファミリーのストレス応答における機能を解析しました。nek6 や nek 多重変異体ではストレス応答遺伝子の発現が変化し、ストレス耐性が低下していることを明らかにしました (論文準備中)。また、ストレス応答を仲介するアブシジン酸が nek6 変異体に類似した突起形成を引き起こし、この過程に微小管の脱重合が関わることが示されました (図2、Takatani et al. 2015)。

コケには NEK が1つしかいため機能解析が容易で、NEK の進化を考える上でも重要です。私達は、ゼニゴケとヒメツリガネゴケから NEK 遺伝子を単離し、それぞれ MpNEK1, PpNEK1 と名付けて機能解析を進めています。これまでに、MpNEK1 の発現パターンと遺伝子破壊株の表現型から、MpNEK1 の機能が明らかになりつつあります (論文準備中)。

3. 今後の展望

今後は、NEK がどのように微小管を脱重合させ、規則正しい細胞伸長を可能にしているのかを、微小管付随タンパク質との関係も含めて明らかにする予定です。また、私達の研究から、植物の NEK が細胞伸長を制御することで、陸上で植物の生存と進化に不可欠な機能を果たしたと考えられます。今後はシロイヌナズナ NEK ファミリーと共に、コケやイネなどにおける NEK の機能を解析し、細胞成長の普遍的な制御機構を明らかにしたいと考えています。

Motose H, Hamada T, Yoshimoto K, Murata T, Hasebe M, Watanabe Y, Hashimoto T, Sakai T, Takahashi T. (2011) NIMA-related kinases 6, 4, and 5 interact with each other to regulate microtubule organization during epidermal cell expansion in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 67: 993-1005.

Takatani S, Hirayama T, Hashimoto T, Takahashi T, Motose H. (2015) Abscisic acid induces ectopic outgrowth in epidermal cells through cortical microtubule reorganization in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* 5: 11364.

Takatani S, Otani K, Kanazawa M, Motose H. (2015) Structure, function and evolution of plant NIMA-related kinases: Implication for the phosphorylation-dependent microtubule regulation. *J. Plant Research* (in press)

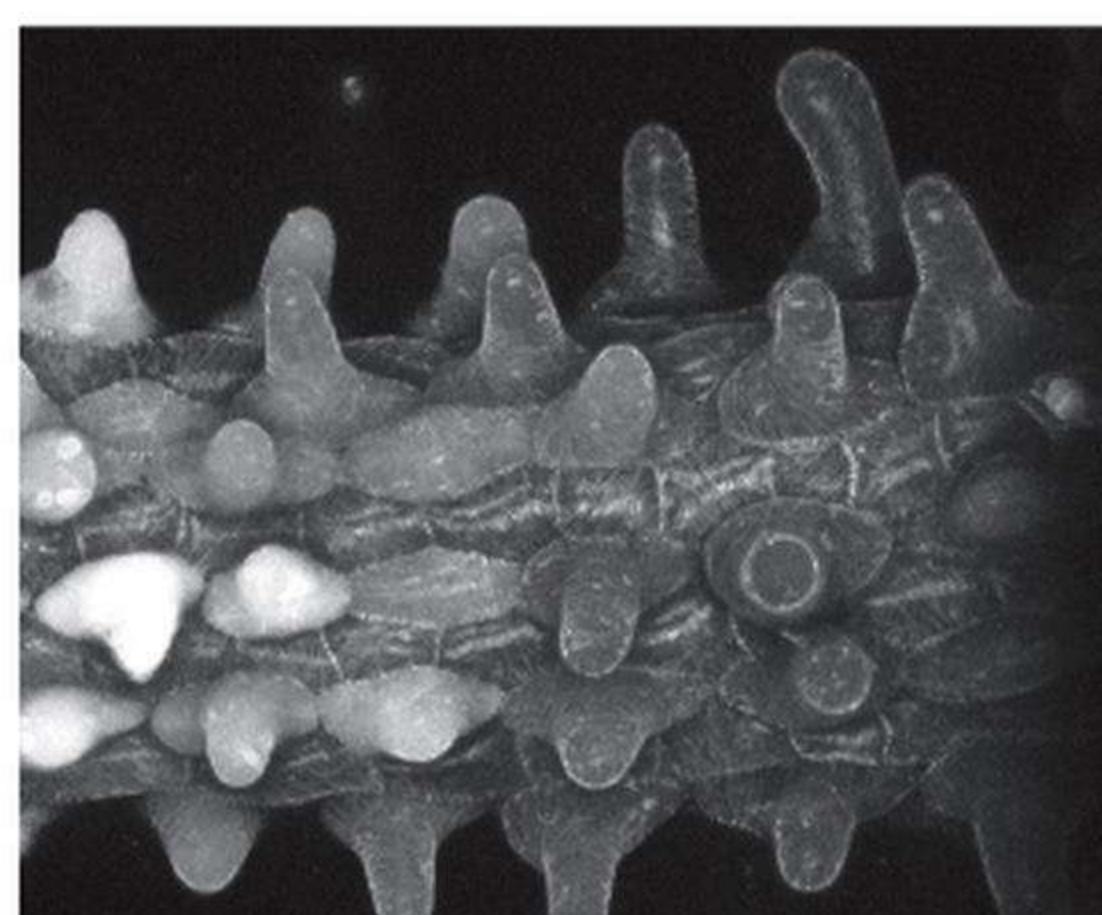


図2：アブシジン酸による突起形成
シロイヌナズナをアブシジン酸存在下で生育すると胚軸や子葉の表皮細胞に突起が形成される。写真は GFP- チューブリン発現株をアブシジン酸存在下で育て、表層微小管を観察したものである。表層微小管は脱重合して減少しており、残存する表層微小管は突起の伸長方向に対して垂直に配向している。

根の形態変化を介した植物の成長戦略

研究代表者：青山 卓史（京都大学化学研究所）

1. 研究のねらい

根系の形態は地中環境条件により大きく影響を受けます。根系形態の環境応答は根の機能面での環境適応を反映したものと考えられます、その可塑的な形態形成における制御機構や形態変化がもつ生理学的意味については不明な点が多く残されています。本研究では、根毛など根の表皮の形態に焦点を当て、それらの形態形成の制御機構を明らかにするとともに、植物の生き残り戦略における根の形態変化の生理学的意味を理解しようと試みます。根毛に関しては、様々な環境シグナルに対する根毛伸長応答におけるホスファチジルイノシトール-4,5-二リン酸を生成するホスファチジルイノシトール-4-リン酸 5-キナーゼ (*PIP5K*) 遺伝子の量的制御因子としての働きを検証します。また、環境シグナルから *PIP5K* 遺伝子の発現制御へつながるシグナル伝達経路を解明するとともに、様々な環境シグナルに応答した根毛伸長についてそれぞれの生理学的意味を明らかにしようと試みます。

2. 主な研究成果

リン酸は、植物にとって不可欠な無機栄養素の一つです。しかし、植物が利用できる形態のリン酸は土壤中において欠乏しやすいことが知られています。植物のリン酸欠乏応答で最も顕著なものは根系の形態変化であり、特に根毛の発生および伸長が促進されます。シロイヌナズナの根毛伸長は一細胞系での先端成長のモデルとして精力的に研究されてきた結果、シロイヌナズナの *PIP5K* 遺伝子の一つである *PIP5K3* が根毛伸長を正に制御する因子であることなどがこれまでに明らかされています。

本研究では、*PIP5K3* はパラログの *PIP5K4*とともにリン酸欠乏に応答し転写産物のレベルが上昇すること、また、それらの転写応答には転写因子をコードする *PHR1* 遺伝子の機能が関与し、*PIP5K3* および *PIP5K4* のプロモーター領域に存在する *PHR1* の認識配列 P1BS が必要であることを見出しました。幼苗期において *pip5k3* 変異体および *pip5k4* 変異体では根毛伸長のリン酸欠乏応答性が低下し、*pip5k3 pip5k4* 二重変異体では応答性は完全に消

失します（図 1）。しかし、二重変異体では高リン酸濃度条件下においても根毛伸長は著しく抑制されました（図 1）。そこで、P1BS に変異を入れた変異遺伝子 *pip5k3g^{mp}* と *pip5k4g^{mp}* を作製し、両者を *pip5k3 pip5k4* 二重変異体に導入しました。この二重部分相補体は高リン酸濃度条件下においては野生型と同様の根毛伸長を示しますが、幼苗期において根毛伸長のリン酸欠乏応答性を完全に消失しました（図 1）。このことにより、シロイヌナズナの幼苗期においてリン酸欠乏シグナルは転写因子 *PHR1* および *PIP5K* 遺伝子を介して根毛伸長の促進へと伝えられることが証明されました（Wada et al., 2015）。

この研究と時期を同じくして、シロイヌナズナの *PHR1* およびそのイネのオルソログによるリン酸欠乏応答機構が明らかにされました。それによると、*PHR1* は細胞内に存在するリン酸濃度センサータンパク質 *SPX1* と結合することにより不活化されており、低リン酸濃度下で *SPX1* から解離することにより転写活性化因子として機能するとされています。このことと本研究の結果を併せると、リン酸濃度の感知から根毛伸長促進の制御までの情報伝達経路が *SPX1-PHR1-PIP5K* と分子レベルで辿れることになりました。

3. 今後の展望

本研究では、*PIP5K3* 遺伝子プロモーター中に存在する P1BS がアブラナ科全体で完全に保存されていることを見出しています（図 2）。シロイヌナズナを含むアブラナ科の植物は菌根菌などの共生菌類を持たないとされています。また、幼植物体期では根系全体が未発達であり、リン酸吸収における根毛の役割は重要であると考えられます。これらのこととは、アブラナ科植物では *PIP5K3* 遺伝子を介した根毛伸長を幼植物体期におけるリン酸応答戦略として発達させていることを示唆しています。今後、アブラナ科植物のリン酸欠乏応答における根毛の役割、およびその根毛伸長における *PIP5K3* 遺伝子の役割を検証していきたいと考えています。

Wada Y, Kusano H, Tsuge T, Aoyama T. (2015) Phosphatidylinositol phosphate 5-kinase genes respond to phosphate deficiency for root hair elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 81: 426-437.

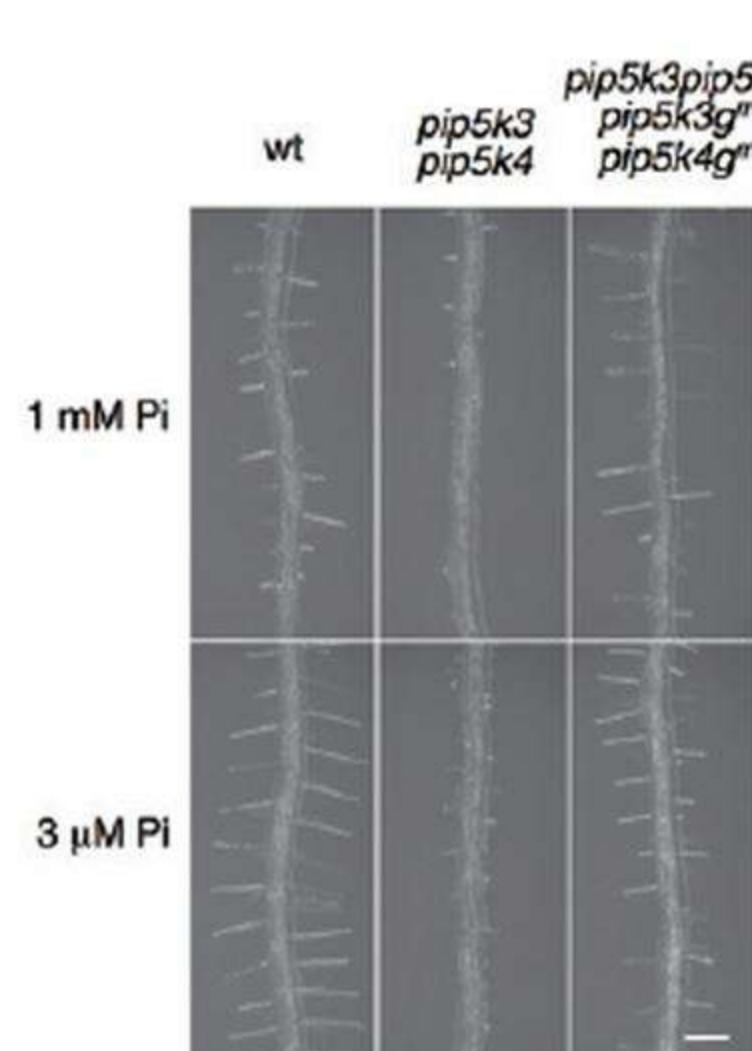


図 1：二重部分相補体 *pip5k3 pip5k4/pip5k3g^{mp}*, *pip5k4g^{mp}* 根毛のリン酸欠乏応答
高 (1 mM Pi) および低 (3 μM Pi) リン酸濃度培地条件における野生型 (wt)、二重変異体 (*pip5k3 pip5k4*) および二重部分相補体 (*pip5k3 pip5k4/pip5k3g^{mp}*, *pip5k4g^{mp}*) の幼苗の根毛を示す。

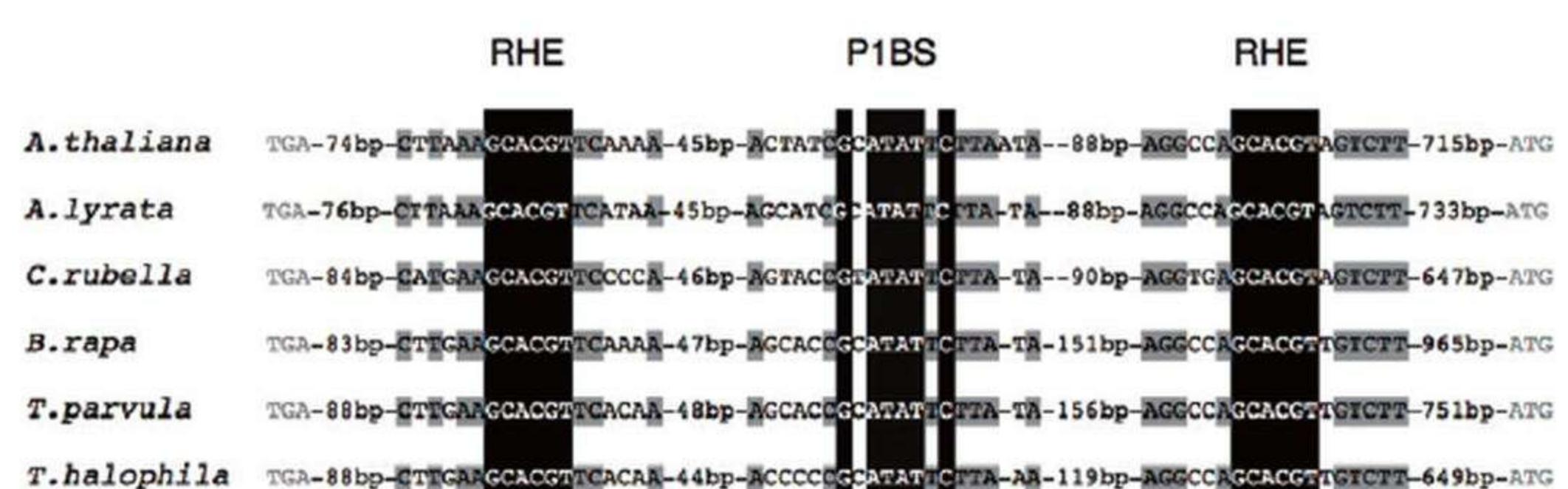


図 2：アブラナ科 *PIP5K3* 遺伝子プロモーターにおける P1BS の保存性
アブラナ科植物の *PIP5K3* 遺伝子プロモーターにおけるリン酸欠乏応答に関するシス配列 (P1BS) および根毛特異的発現に関するシス配列 (RHE) の保存性を示す。

リン酸欠乏に応答した葉の老化制御機構の解明

研究代表者：梅原 三貴久（東洋大学生命科学部）

1. 研究のねらい

一部の植物は、秋になると葉を赤色あるいは黄色に染めて落葉します。植物の葉の老化は動物のように時間とともに訪れる単なるエイジングではなく、古い葉に含まれる栄養素を回収して若い組織や種子などに転流する極めて能動的な生理過程です。これまで、葉の老化をコントロールする植物ホルモンとしてアブシシン酸、サイトカイン、ジャスモン酸、エチレンなどが知られていました。この他に、最近発見された新しいホルモンであるストリゴラクトン（SL）が減少すると葉の老化が遅延することから、SLも葉の老化の制御に関わっていると考えられます。リン酸欠乏下で栽培された植物はSLを活発に産生することから、リン酸欠乏環境への適応にSLが深く関与していると考えられます。そこで、植物がSLシグナルを利用してリン酸欠乏ストレスにどのように適応しているのかを調べました。

2. 主な研究成果

イネの野生型およびSL関連突然変異体をそれぞれ水耕栽培し、第3葉を2cmずつ切り出して老化の程度を比較しました。その結果、SL関連突然変異体はいずれも野生型に比べて葉の老化が遅延していました。このとき、SLを添加すると、SL合成欠損変異体の葉の老化遅延が回復したのに対し、SL情報伝達欠損変異体では葉の老化の程度に変化は認められませんでした。また、SL関連突然変異体におけるSLの効果は、リン酸が豊富な条件で生育した葉よりもリン酸欠乏条件下で生育させた葉の方が、SLに対して強く応答していました。この結果は、植物がリン酸欠乏に応答してSL産生を行うだけでなく、応答性も上げてストレスに適応しようとしていると考えられます。残念ながら、葉の内生SLについては内生量が極めて低かったため、検出できませ

んでしたが、他の植物ホルモンについては、リン酸欠乏条件下でIAAやABAは増加し、リン酸が豊富な条件ではサイトカインのtZが多くなる傾向がSL関連突然変異体で認められました。

イネの葉の一次代謝産物をCE/MSを用いて網羅的に解析を行ったところ、SL変異体で転流アミノ酸のAsnやGlnの量が低下していました。この結果から、イネの収量に影響があると考え、リン酸濃度を変えて2ヶ月水耕栽培すると、野生型では分けつ数が減少したが、1穂当たりの収量はほとんど変わりませんでした。SL関連突然変異体のd3とd10も、リン酸を減らして栽培すると、分けつの数が減少しましたが、面白いことに1穂当たりの収量は増加していました。

3. 今後の展望

これまでの研究により、SLが植物の枝分かれだけでなく、葉の老化の制御にも関与することが明らかになりました。また、リン酸欠乏に応答して感受性が増加することがわかりました。SL変異体における収量が減少するのは、転流アミノ酸のAsnやGlnの量が低下していることによると考えられます。おそらく、窒素代謝がSLシグナルによる制御を受けていると予想されます。今後、窒素代謝がSLを介してどのように制御を受けているのか、SLが欠損すると植物にとって不利なのかについて追求したいと考えています。

Umeshara M. (2011) Strigolactone, a key regulator of nutrient allocation in plants. *Plant Biotech.* 28: 429-437.

Yamada Y, Furusawa S, Nagasaka S, Shimomura K, Yamaguchi S, Umehara M. (2014) Strigolactone signaling regulates rice leaf senescence in response to a phosphate deficiency. *Planta* 240: 399-408.

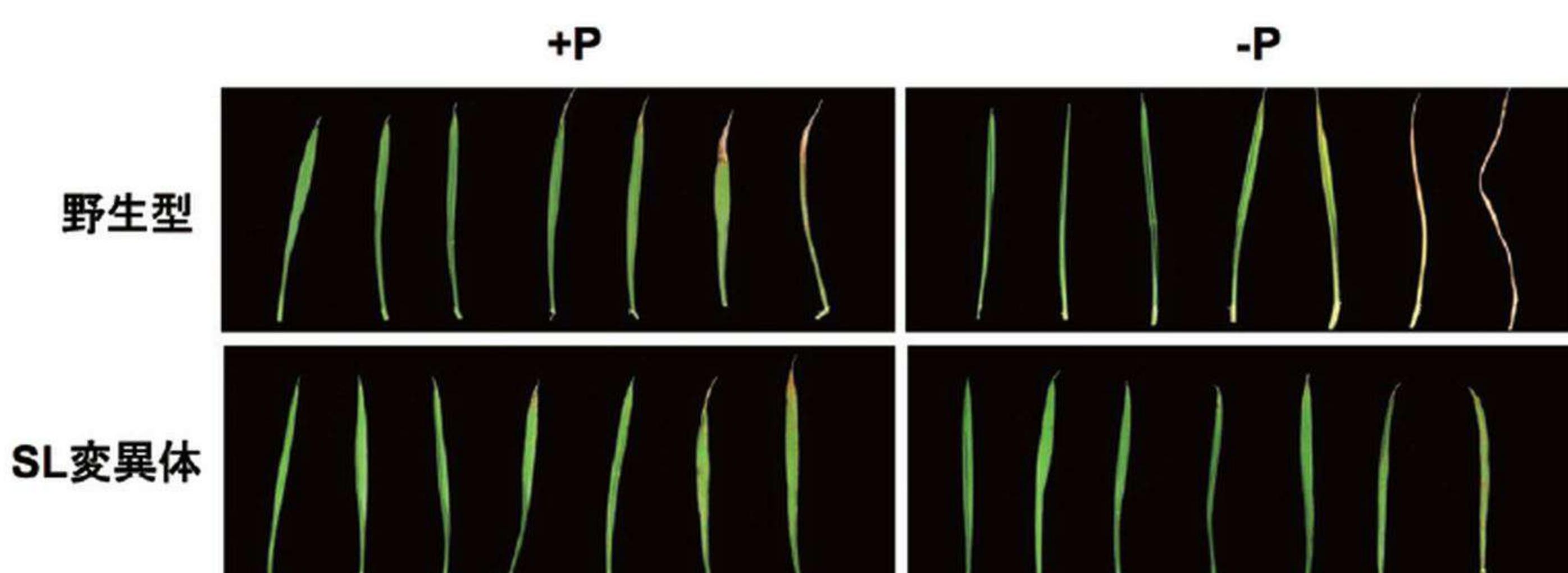


図1：リン酸欠乏条件に応答した葉の老化
写真はイネの第3葉を示しています。植物はリン酸欠乏条件下では早く葉の老化を進行させるが、SLシグナルが欠損するとリン酸欠乏に応答できなくなり、葉の老化が遅延する。

CLVシグナル系に注目した、光ストレスによる植物生長制御機構の解明

研究代表者：澤 進一郎（熊本大学大学院自然科学研究科）

1. 研究のねらい

植物の体は分裂組織により形作られ、そのサイズ調節により、植物体全体の成長が制御されています。分裂組織のサイズは光環境により大きく制御されることが知られています。一般的に、光環境ストレスを受けると、暗所では分裂組織が縮小し、植物が“もやし”状態になることもよくしられています。我々は、光ストレスによる植物の生長制御に関して最も重要な中心的組織である分裂組織の活性制御という観点から、その分子機構の解明を目指しました。なかでも、本研究では、CLAVATAシグナル伝達系に関する遺伝子群の単離・解析を主な目的としました。

2. 主な研究成果

我々は、これまでに、シロイヌナズナを用いて、42の`clv2`エンハンサー突然変異体を単離しました。本研究では、これら全ての候補突然変異体のゲノムシーケンスを解読しました。その結果、46の候補のうち、14突然変異体において、三量体G-proteinタンパク質のβサブユニット、`AGB1`の遺伝子内に変異を検出しました。また、γサブユニットの二重突然変異体、`agg1 agg2`も`clv2`の表現型を助長する事を示しました。一方、`agb1`、`agg1 agg2`だけでなく、αサブユニットの突然変異体`gpa1`も、CLEペプチド耐性を示しました。さらに、生化学的実験により、`AGB1`が`CLV2`と相互作用することを明らかにしました。これらのことから、Gタンパク質が`CLV2`を介してCLVシグナルを伝達していることを示唆しました。

また、42の`clv2`エンハンサー突然変異体のうち、3つの候補について、LRR-RLKをコードする`BAM1`遺伝子内に変異が生じていることを明らかにしました。`bam1`は単独の突

然変異体でもペプチド耐性を示したが、`bam2`、`bam3`突然変異体は、野生型同様ペプチド感受性でした。`clv2 bam1`は、強いペプチド耐性を示すが、`rpk2 bam1`二重突然変異体も同様に強いペプチド耐性を示しました。これらのことから、`BAM1`は、根端分裂組織において、`CLV2`や`RPK2`と独立の経路によりCLEシグナル伝達系の受容体として機能することが示唆されました。地上部で機能すると考えられている`CLV1`は、根端分裂組織では機能していないと考えられており、`CLV1`に最も高い相同性を示す`BAM1`が、根端部において、`CLV1`の代わりにCLEペプチド受容体として機能し、根端分裂組織の活性制御を担っていると考えられます。

さらに、CLE19の過剰発現効果を抑圧する`sol3`突然変異体と、CLEペプチドに耐性を示す`cli2`突然変異体の解析を行いました。これらの原因遺伝子は同一の遺伝子で有り、`AtPUB4`をコードすることが明らかになりました。

3. 今後の展望

これまでの研究により、多くのCLVシグナル伝達因子が明らかになってきました。今後も詳細な分子遺伝学的解析を進め、CLVシグナル伝達系の全体像を明らかにしたいと考えています。

Kinoshita A, ten Hove CA, Tabata R, Yamada M, Shimizu N, Ishida T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Takebayashi Y, Iuchi S, Kobayashi M, Kurata T, Wada T, Seo M, Hasebe M, Bilou I, Fukuda H, Scheres B, Heidstra R, Kamiya Y, Sawa S. (2015) A plant U-box protein, PUB4, regulates asymmetric cell division and cell proliferation in the root meristem. *Development* 142: 444-453.

Ishida T, Tabata R, Yamada M, Aida M, Mitsumasu K, Fujiwara M, Yamaguchi K, Shigenobu S, Higuchi M, Tsuji H, Shimamoto K, Hasebe M, Fukuda H, Sawa S. (2014) Heterotrimeric G proteins control stem cell proliferation through CLAVATA signaling in *Arabidopsis*. *EMBO rep.* 15: 1202-1209.

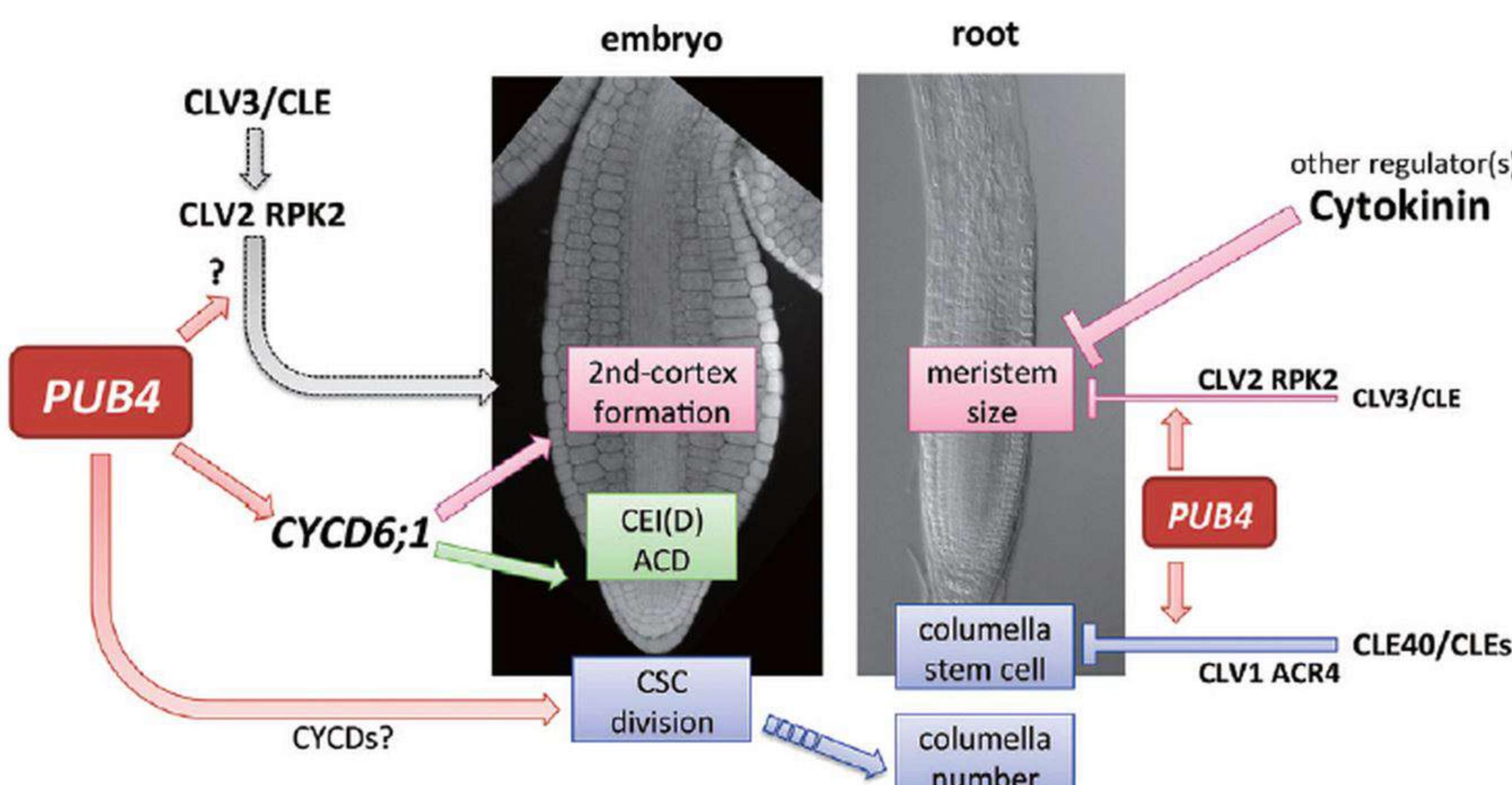


図1：PUB4は、分裂組織の活性を制御している
PUB4は、CYCD6を介して、二次皮層幹細胞、皮層-内鞘幹細胞、及び、コルメラ幹細胞の不等分裂のタイミングを調節し、根端領域の発生を調節している。

土壤微生物由来の新規シグナル因子による植物生長制御機構の解明

研究代表者：村田 純（サントリー生命科学財団生物有機科学研究所）

1. 研究のねらい

植物にとって根圏は、生長に必要な無機栄養を吸収する場であると同時に、多様な土壤微生物と不可避的に遭遇する場でもあります。従って現在の植物が示す環境適応能力の成立時に、土壤微生物が進化上大きく関係していると考えられます。しかし根粒菌や菌根菌など限定された例を除き、大半の土壤微生物と植物との相関関係を支える分子基盤はよくわかつていません。近年、土壤微生物由来の揮発性化合物 (bacterial volatile organic compounds; BVOC) が植物の生長を促進あるいは抑制する現象について報告例がありますが、微生物種としては植物生長を促進するとされる特定種 (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPRs) に限られており、また植物生長の変化を引き起こす微生物由来の原因物質・シグナル分子の同定例はほとんどありません。以上の背景から、BVOC による植物生長制御機構が、特定の植物—微生物の組合せにおいてのみ観察される現象なのか、あるいは多くの植物—微生物種間で観察される、ある程度一般性のある現象なのか不明でした。そこで本研究では、BVOC による新規な植物生長制御機構の解明を目指し、まず植物生長を制御する BVOC の同定を試みました。

2. 主な研究成果

まず植物—微生物の組合せのモデルとしてシロイヌナズナ幼植物—枯草菌を選び、BVOC による植物生長制御活性を非接触的に評価する *in vitro* 実験系を確立しました。その結果、BVOC 発生源である枯草菌からの距離依存的にシロイヌナズナの生長が昂進あるいは抑制される現象を見出しました（図 1）。同様の現象はシロイヌナズナの代わりにイネ、ニチニチソウなど複数の单子葉、双子葉植物を用いた場合、また枯草菌以外にアグロバクテリウムや大腸菌を用いた場合にも確認されました。従って、本研究で観察された BVOC による植物生長抑制は、多くの植物—微生物種間に共通する機構により引き起こされると考えられました。そこでシロイヌナズナ主根の伸長抑制を指標に、種々の担体を用いた 4 段階の精製を経て BVOC から植物生長抑制活性を同定することを試みました。最終段階の活性画分を GC-MS 解析した結果、活性の消長と一致する化合物ピークを見出し、当該活性の実体がイソ吉草酸 (IVA) であると同定しました。IVA 標品を滴下したろ紙をシロイヌナズナ幼植物近くに非接触的に設置した結果、枯草菌を共培養した場合と同様に、ろ紙か

らの距離に依存してシロイヌナズナ幼植物の生長が抑制あるいは促進されることを確認しました。一方、IVA と構造的に類似していても、植物抑制活性を示さない化合物も見つかりました。

3. 今後の展望

以上の結果より、IVA を認識する植物側の機構の存在が想定されました。そこで IVA 固定したアフィニティナノビーズを作成し、シロイヌナズナタンパク質抽出液から IVA 結合因子の精製を試みる予定です。今後は同タンパク質の生理機能、発現時期・局在特異性、および植物生長と関連する既知遺伝子との相関について検討を重ね、BVOC による新規植物生長制御活性機構の解明を目指します。

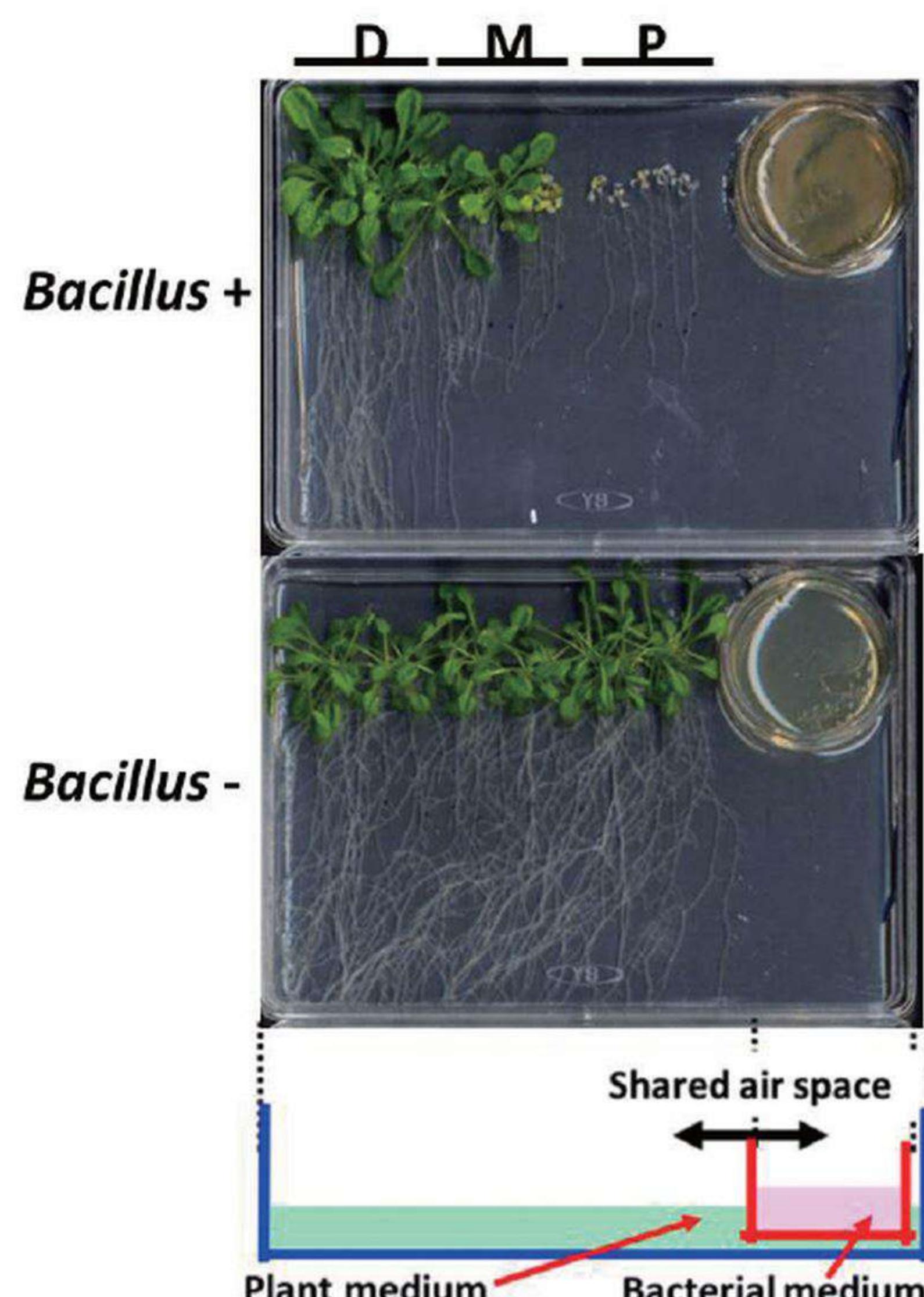


図 1：BVOC による植物生長制御活性を検出する *in vitro* 実験系
微生物と植物とを非接触的に共培養する *in vitro* 実験系を確立し、これを枯草菌およびシロイヌナズナの組合せに適用した例を示す。5 日間前培養したシロイヌナズナ幼植物体を移植し、枯草菌との共培養を行った結果、枯草菌からの距離が近い (Proximal) シロイヌナズナ個体は生長抑制を示す一方、枯草菌からの距離が遠い (Distal) シロイヌナズナ個体の地上部はバイオマスが増進し、生長促進を示した。この実験系で枯草菌とシロイヌナズナは直接的には接觸していないことから、枯草菌からの揮発性化合物 (BVOC) によりシロイヌナズナの生長が影響を受けること、さらにその影響は距離依存的であることが明らかになった。

植物の代謝・シグナル伝達における植物ホルモン間クロストークの数理モデル化

研究代表者：栗津 晓紀（広島大学大学院理学研究科）

1. 研究のねらい

本研究では通常生育環境下及びストレス環境下における、植物の遺伝子発現挙動に潜む法則性を明らかにするために、網羅的な遺伝子発現データの数理的な解析を進めました。特に、近年様々な生物で注目されつつある、通常の生育環境における個体間の各遺伝子発現の「ばらつき (noise)」と、ストレス負荷等の環境変化における各遺伝子の平均的な変動の強さ（「応答 (plasticity)」）の関係に着目し、シロイヌナズナ遺伝子発現データの解析を行いました。

近年酵母や大腸菌を中心に、遺伝子発現の noise-plasticity 間の関係が議論されています。そして様々な遺伝子グループにおける発現の noise-plasticity 相関の強弱が、各遺伝子グループの機能や遺伝子発現制御機構に依存し、その生物の生存戦略に影響を及ぼしている可能性が示唆されています。例えば大腸菌や酵母では、遺伝子全体を見渡すとその発現の noise-plasticity 間に正の相関があるように見られますが、成長や薬剤応答等に不可欠な遺伝子のグループは、その相関が著しく弱い事が見出されています。更に酵母では、TATA 型プロモーターを持つ遺伝子グループ、及びヌクレオソーム占有率の高いプロモーターをもつ遺伝子グループにおいて、noise-plasticity 相関が顕著に高くなる事が知られています。

しかし上記の考察は、主に大腸菌や酵母等の単細胞生物において行われたものであり、細胞同士が密に相互作用する多細胞生物においても同様の性質が見られるのかは、不明であります。そこでシロイヌナズナ遺伝子発現動態について同様の視点から解析を試みました。

2. 主な研究成果

まず植物ホルモン関連遺伝子、及び様々なグループの遺伝子について、AtGenExpress より公開されている、非生物的ストレス、病原性ストレス、及び栄養ストレス負荷時における遺伝子発現変動のマイクロアレイデータを用い、発現の noise-plasticity 関係を考察しました。その結果シロイヌナズナでは、各種ホルモンや薬剤投与に対し敏感な応答を示す遺伝子のグループ及びその他各種機能に関わる遺伝子のグループ何れにおいても、酵母や大腸菌と比べ高い noise-plasticity 相関が見出されました。また酵母同様シロイヌナズナにおいても、TATA プロモーターを持つ遺伝子グループは non-TATA プロモーターの遺伝子と比べ強い noise-plasticity 相関が得られます。その差は小さいことが見出されました。このようにシロイヌナズナの遺伝子発現における noise-plasticity 関係は、酵母や大腸菌のものと大きく異なる事が見出されました。

3. 今後の展望

シロイヌナズナの遺伝子発現の特徴と酵母や大腸菌の遺伝子発現の特徴の違いは、どのような原因が考えられるのでしょうか。一つの候補として、シロイヌナズナのような多細胞生物と酵母等の単細胞生物の間における、染色体構造の複雑さの違いというものが考えられます。そこで今後は、例えば核内での染色体の折り畳みにより物理的に近接する遺伝子群の noise-plasticity 関係に注目する事等を通じて、遺伝子制御における染色体空間構造の役割について、研究を進めていく予定です。

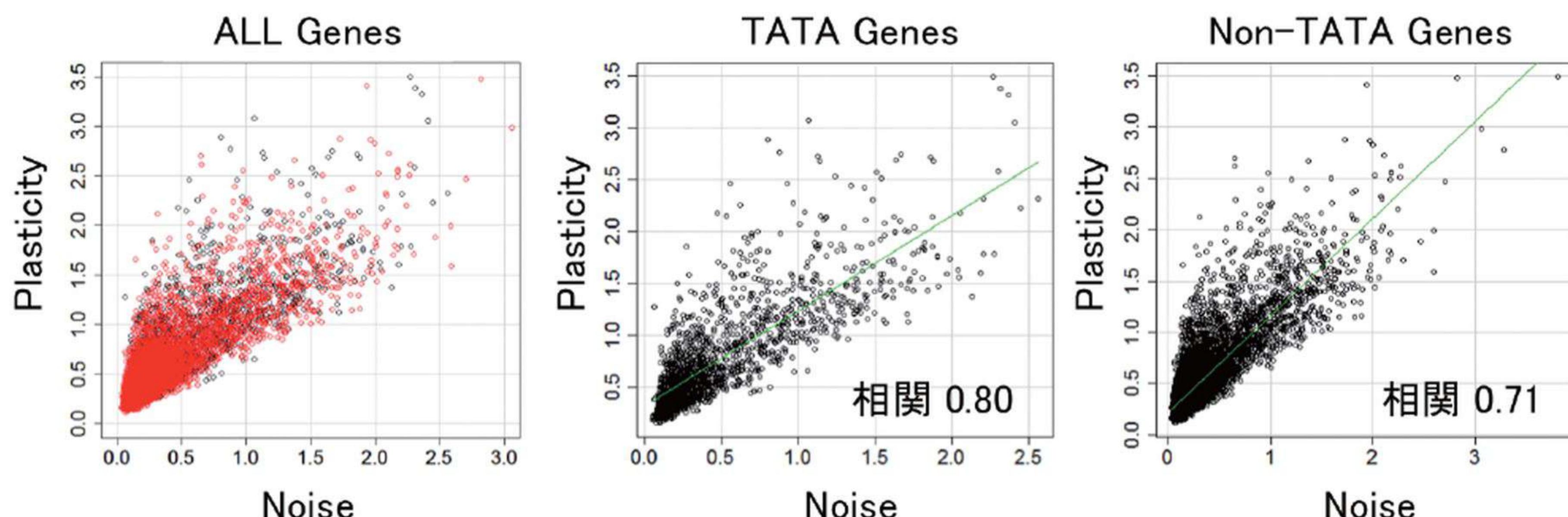


図 1：シロイヌナズナ遺伝子の揺らぎー応答関係
(左) 全遺伝子 (中、右) プロモーター依存性。

ストレス環境が根端成長に及ぼす影響の数理モデル解析

研究代表者：岩元 明敏（東京学芸大学教育学部）

連携研究者：朽名 夏磨（東京大学新領域創成科学研究所）

1. 研究のねらい

私達はシロイヌナズナの根端成長を解析対象として、器官成長におけるゲノム複製（細胞増殖と核内倍加）、体積増大、そして器官維持の複合的な関係性を独自の数理モデル (Iwamoto et al., 2006 を改訂) を用いて定量的に明らかにすることを目指しています。

本新学術領域では、様々なストレス環境因子およびストレス環境応答に関連する遺伝子群の変異が根端成長に及ぼす影響の数理モデル解析を行ってきました。そして、この解析結果を分析することで、各ストレス環境因子および関連遺伝子がゲノム複製、体積増大、器官維持の各側面にどのように影響を与えていているのか（各側面のコストがどのように変化しているのか）を理論的に明らかにすることを研究のねらいとしました。

2. 主な研究成果

この2年間の新学術領域における研究では、重要な環境ストレス因子としてアルミニウムが根端成長に及ぼす影響についての数理モデル解析を主に進めてきました。その結果、アルミニウムを含む培地の根端は含まない培地の根端に比べて、ゲノム複製のためのコストが低下しているものの、体積増大と器官維持のためのコストが大きく増加していることが明らかとなりました。この解析結果と実際の体積増大速度、細胞サイズ、細胞増殖率などの成長パラメータから、アルミニウムを含む培地上で育成したシロイヌナズナ根端では、体積増大コストが上昇しているにもかかわらず、アルミニウムを加えない場合とほぼ同じ体積増大速度を維持していることで負担の大きい成長となり、最終的な成長阻害が生じていることが示唆されました。

また、数理モデル解析を行うために不可欠な、根端の伸長速度を自動的に測定するプログラム (Neo Measure) を新たに開発しました。私達はこれまでにも自動測定のプログラム (GrowthTracer) を開発していましたが (Iwamoto et al., 2013)、操作性、精度及び計算時間の点から改善が必要でした。本学術領域研究ではこの改善に取り組み、撮影した2枚の画像から、これまでよりも簡単に根端の各位置における伸長速度を高精度かつ短時間で算出できるプログラムの開発に成功しました。このプログラムは今年中にインターネット上で無償公開する予定となっており、本研究以外の様々な目的にも利用が可能です。

さらに、数理モデル解析を根端成長以外に適用する取り組みも開始しました。特にこの2年間では、花の成長解析のため、前段階として花における器官形成と構造の記述の定式化に取り組み、伝統的な花式の改良を行って、より効率的で詳細な花の構造記載を可能としました (Ronse De Craene and Iwamoto, 2014)。

3. 今後の展望

今後は、本研究の数理モデルを用いて新規の環境ストレス耐性植物の作出に取り組みたいと考えています。環境ストレスによる根端成長阻害を受けない耐性植物の作出に関しては、従来は環境ストレス耐性となっている変異体を選抜し、その原因遺伝子を突き止め、その組み換え体等を用いる方法が主にとられてきました。

しかし、環境ストレスによる根端成長阻害には多くの遺伝子が関与していることから、従来の方法では阻害を根本的に解消する植物体の作出は困難です。これに対して、本研究で確立した数理モデル解析の手法を用いれば、環境ストレスが引き起こす成長阻害そのものを理論的に定量化することができ、最適な遺伝子群を探して阻害を直接相補する耐性植物を確立することが可能です（図1）。これにより、植物の持つ環境突破力を最大限活用した、新しいタイプの環境ストレス耐性植物を作出できると考えています。

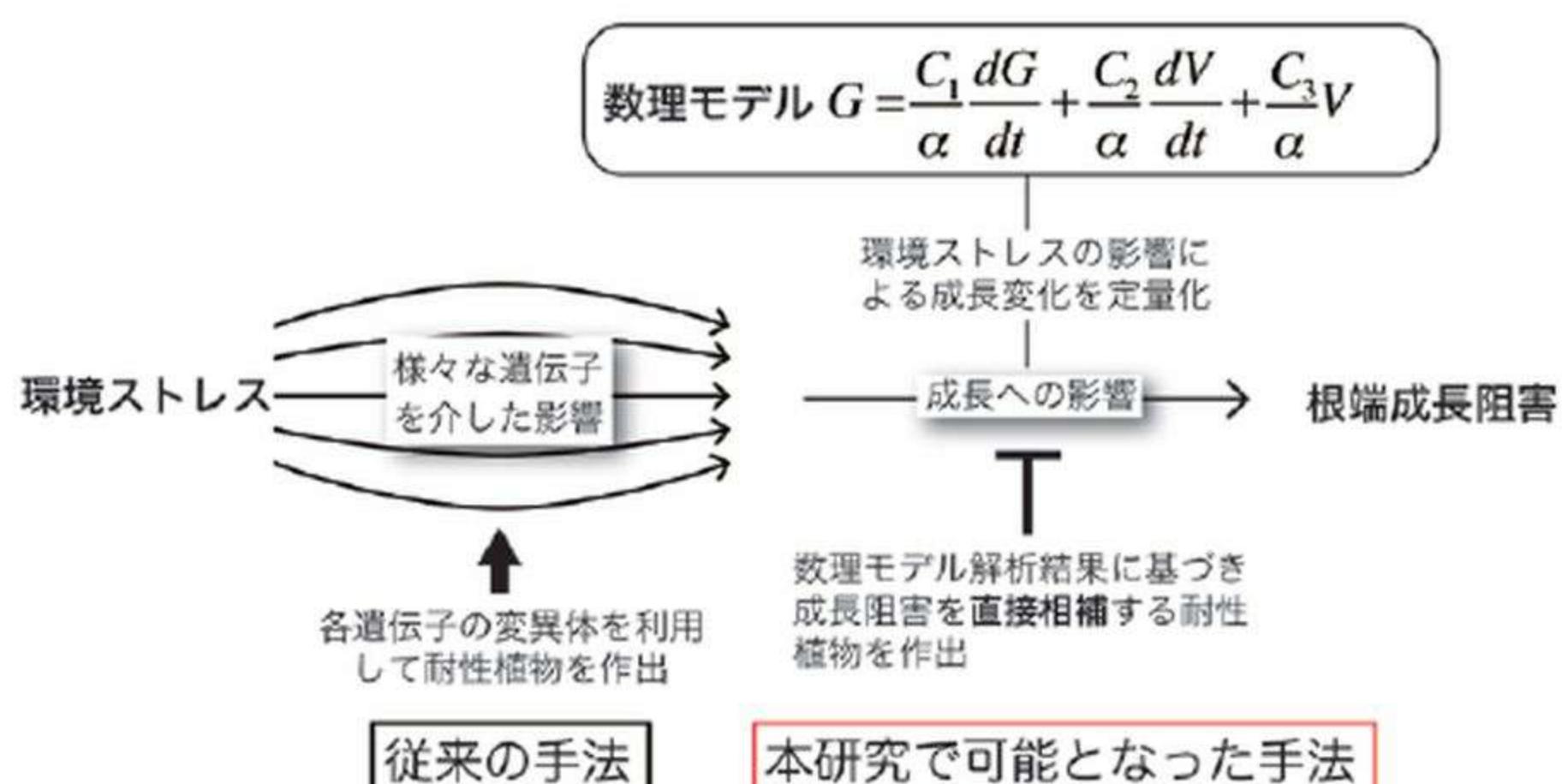


図1:本研究の成果を用いた新規の環境ストレス耐性植物の作出(今後の展望)
本学術領域での研究成果を活用することにより、環境ストレスが根端成長に及ぼす影響(阻害)を直接相補する新しいタイプの耐性植物の作出が可能となった。

栽培オオムギの地域適応を紐解く数理モデルの構築

研究代表者：最相 大輔（岡山大学資源植物科学研究所）

1. 研究のねらい

世界的人口爆発と地球温暖化が進行する中、将来の安定的な食料生産に育種的に対応する上で、植物の環境応答機構の理解とそれに基づく収量予測の実現は重要な課題です。開花時期（出穂期）は作物の収量を考える上で最も重要な事象で、主に気温と日長の変化に大きく影響されることが知られています。オオムギは中東から西南アジア一帯に自生する野生オオムギから栽培化され、世界中で栽培されています。世界中から収集したオオムギの低温の感受性（春化要求性）は、質的（要求性か非要求性か）にも量的（春化の程度）にも栽培地域毎に大きく異なっています。本課題では、栽培進化によって広域適応的に分化した栽培オオムギの品種群毎の開花時期制御の変異を、数理モデルによる温度閾値と暴露期間の推定、QTL解析による「秋播性」自然変異の遺伝解析を通して明らかにすることを目的としました。

2. 主な研究成果

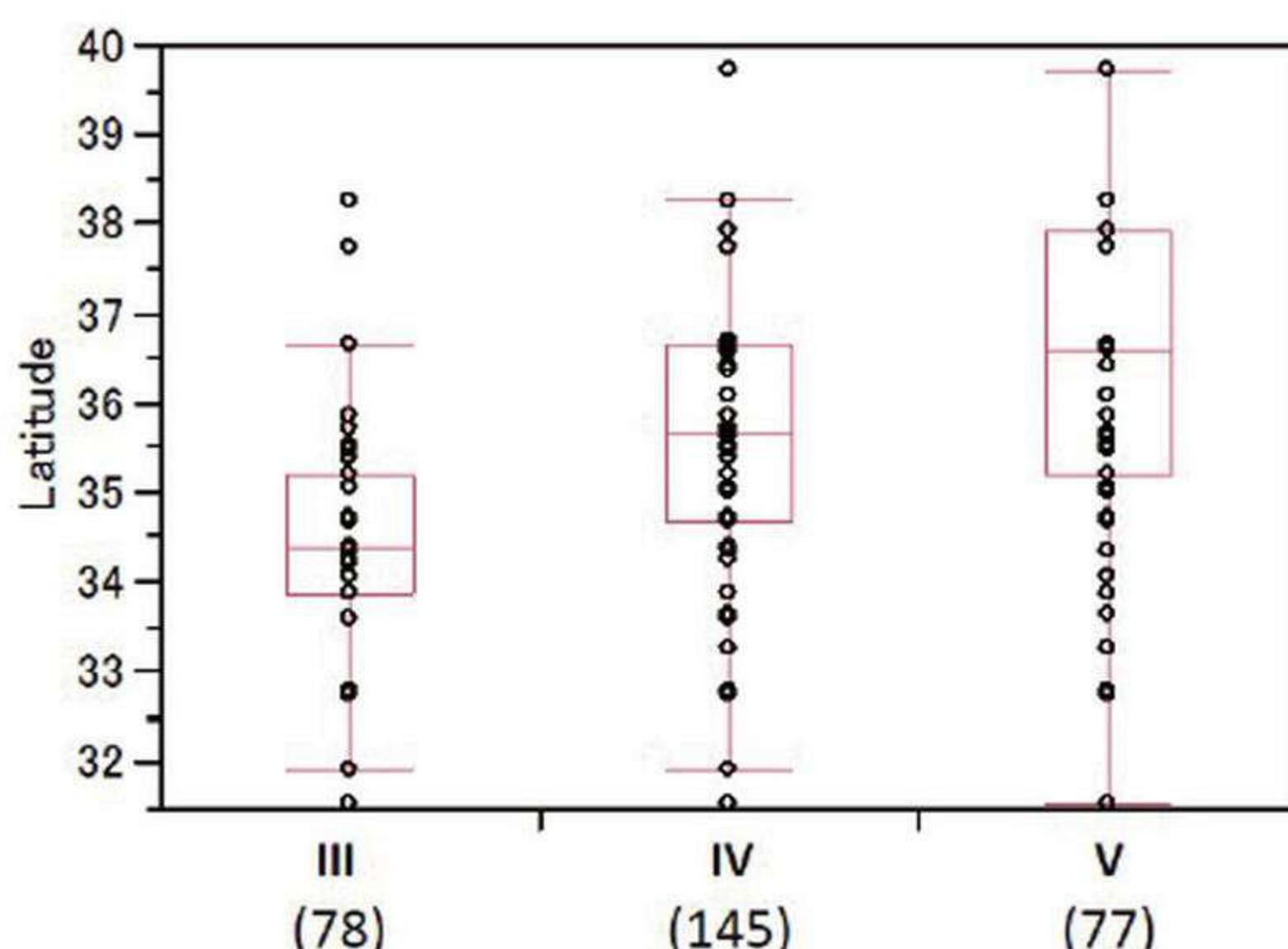
オオムギは、春化要求性の量的な違い（播性程度）により5段階（I: 春化非要求性～V: 高度秋播性）に分類されます。一定期間の低温（越冬）が開花に必要な性質を「秋播性」と言います。「秋播性」に分類される播性程度の異なる6系統（III～V、各2系統ずつ）の過去6年分の圃場栽培データと栽培期間中の日平均気温データから、数理モデルを使って各系統の温度閾値および暴露期間を推定したところ、播性程度IIIでは15°C程度が閾値であるのに対して、IVおよびVでは10°C前後であり、オオムギが低温と感じる閾値温度が異

なることが明らかとなりました。IVとVとの間では必要な暴露期間に違いがあることも判明し、「秋播性」の変異を数理的な手法により記載することに成功しました。次に、「秋播性」同士の交配由来の分離集団を用いたQTL解析を実施して「秋播性」の量的変異を説明する4つの染色体領域を見出しました。これらのうち3つの領域には、春化反応を制御する3つの遺伝子（VRN1, VRN2, VRN3）を含んでおり、これらの遺伝子の関与が強く示唆されました。一方、3H染色体に見出されたQTL領域には既知の春化或いは開花制御に関わる遺伝子は報告されておらず、「秋播性」の量的変異を支配する新たな遺伝子座と考えられました。日本の在来オオムギのうち播性程度III～Vに分類される300系統を材料に、播性程度毎に緯度および経度を比較したところ明瞭な傾向が見られ、長期間の低温を要する系統（高度秋播性）がより寒い地域に分布しており、播性程度の違いは栽培地域の気候に適応的に分化していることが示されました（図1）。

3. 今後の展望

「秋播性」の量的変異を説明する4つの染色体領域のうち3HのQTLは、倉敷市での圃場秋播栽培での圃場出穂日QTLとしても検出されました。今後、栽培地毎に正しく収量を予測し育種に利用していくためには、この新規QTLの原因遺伝子を特定すると共に、変動環境下における発現パターンの解析などを通してその機能を明らかにする必要があります。こうした知見を将来の気候変動に対して環境な品種育成に役立てて行きたいと考えています。

A



B

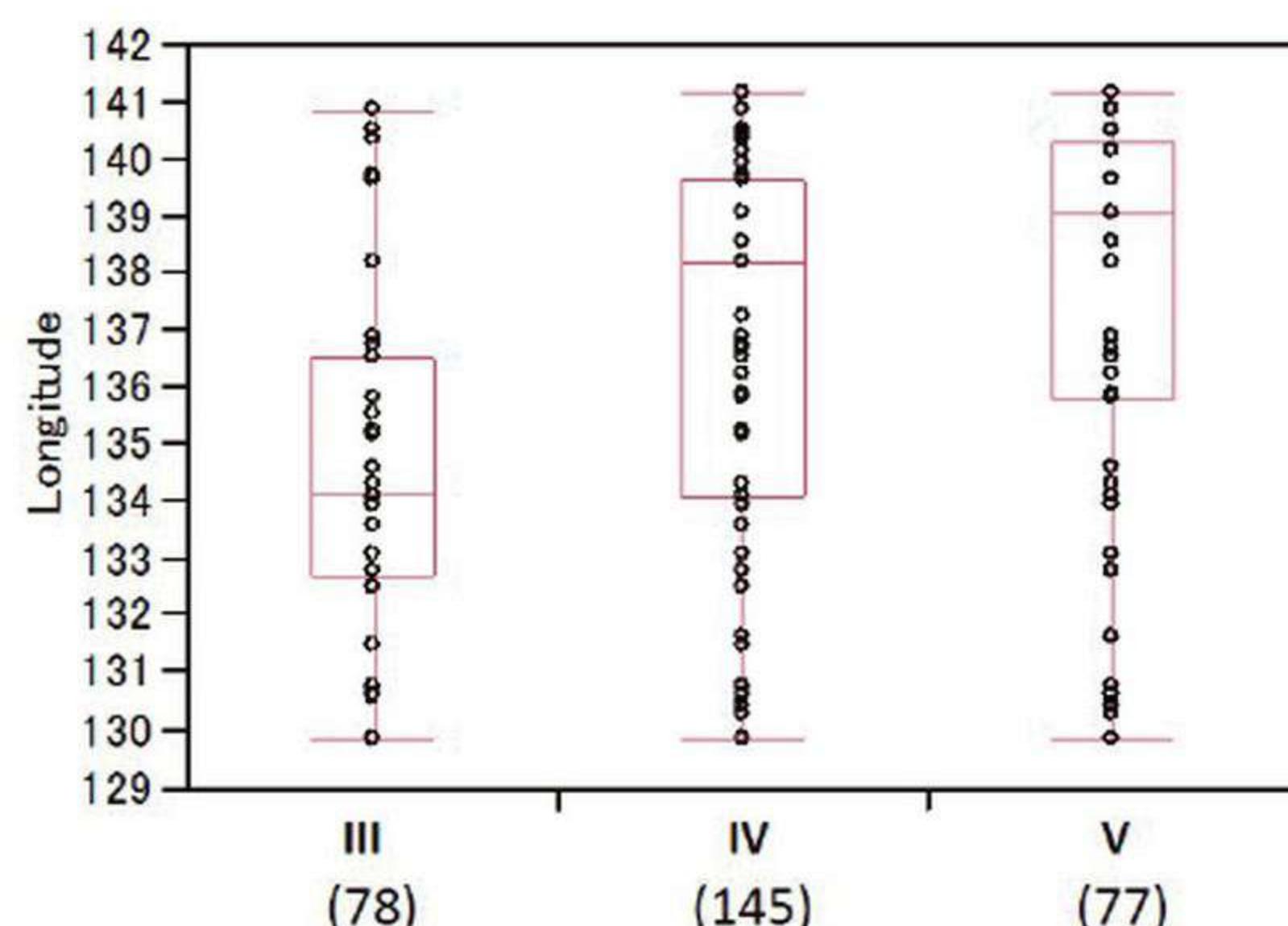


図1：日本の在来系統における各播性程度（III～V）の緯度（A）および経度（B）の比較

各系統の収集地の緯度、経度を播性程度毎にボックスプロットで示す。図下の括弧は、それぞれの播性程度に分類される系統数を示す。
p<0.0001 (Latitude), p<0.0001 (Longitude), Kruskal-Wallis test.

植物体内におけるケイ素吸収・輸送・集積過程のモデル解析

研究代表者：櫻井 玄（農業環境技術研究所生態系計測研究領域）

1. 研究のねらい

作物の成長には、窒素やリンなど、さまざまな栄養物質が関わっていますが、近年、ケイ素が作物の病害虫からの防御、及び、倒伏率の低下などに重要な役割を果たしていることが明らかになり、その重要性が注目されるようになってきました。さらに、ケイ素の植物体内での輸送に関わるトランスポーターの発見とともに、その特性や植物体内での配置についての膨大な知見も蓄積されつつあります。それに伴い、次の段階として、植物体内でのケイ素の吸収・輸送の処過程を数理的にモデル化し、そのメカニズムを定量的に理解することが求められています。

本研究では、特にイネにおいて、これまでのケイ素の吸収・輸送に関わる分子生物学的な知見をもとに数理モデルを作成し、さらに実験から得られた定量的なデータを統計的な手法により数理モデルと融合させることにより、植物におけるケイ素の吸収・輸送過程を定量的に再現することができるモデルを作成します。そのことを通じて、植物体におけるケイ素の輸送メカニズムを定量的に理解することを目指します。

2. 主な研究成果

イネの根には、主に2種類のケイ素輸送体がケイ素の輸送に関わっていることがすでに分かっていました。本研究ではその知見をもとに、まず、イネの根が、根の表面から土壤のケイ素を吸収し、2種類のケイ素輸送体を通して、イネの上方に輸送される様子を模した数理モデルを作成しました。次に、より定量的な予測を行えるようにするために、岡山大学の馬建峰教授と山地直樹准教授が測定した実験データから、統計的な手法を用いて、数理モデルのパラメータを逆推定しました。その結果、イネの根におけるケイ素輸送過程を定量

的に評価できるモデルができました。

そのモデルを用いて、様々なシミュレーション実験を行ったところ、主に次の2つことが分かりました。一つは、イネの根に存在するカスパリー線という、根と土壤の間のいわばバリア的な2重構造が、ケイ素の輸送において、非常に重要な役割を果たしているということ、もう一つは、イネにおけるケイ素輸送体の配置が、あらゆる配置パターンの中で、もっとも効率の良い配置を実現していたということです。このことから、イネの非常に高いケイ素輸送能力の理由を解明することができたと同時に、イネは最も効率の良い輸送メカニズムを進化させていることが示唆されました。

次に、本研究では、イネの節におけるケイ素輸送・分配の数理モデル化も行いました。根の場合と同様に、馬教授と山地准教授によって測定されたケイ素濃度の実測値を用いて、モデルのパラメータの逆推定を行い、イネの節におけるケイ素の輸送・分配を定量的に評価できるモデルを作成しました。本研究では、このモデルを用いて、様々なシミュレーション実験を行い、イネの節における複数のケイ素輸送体と節特有の構造の組み合わせが、節における強力な輸送・分配能力を実現していることを支持する結果を得ることができました。

3. 今後の展望

本研究では、イネにのみ着目しましたが、今後は他の作物にもモデル拡張し、様々な作物におけるケイ素の輸送メカニズムの解明を行うことが次のステップです。また、本研究の枠組みをベースとして、他のミネラルに対してモデルを拡張することによって、様々なミネラル特有の輸送メカニズムの解明を定量的に行っていくことが今後の目標です。作物におけるミネラルの輸送の数理モデル研究は始まったばかりであり、今後、様々な知見を生み出していくことが期待されます。

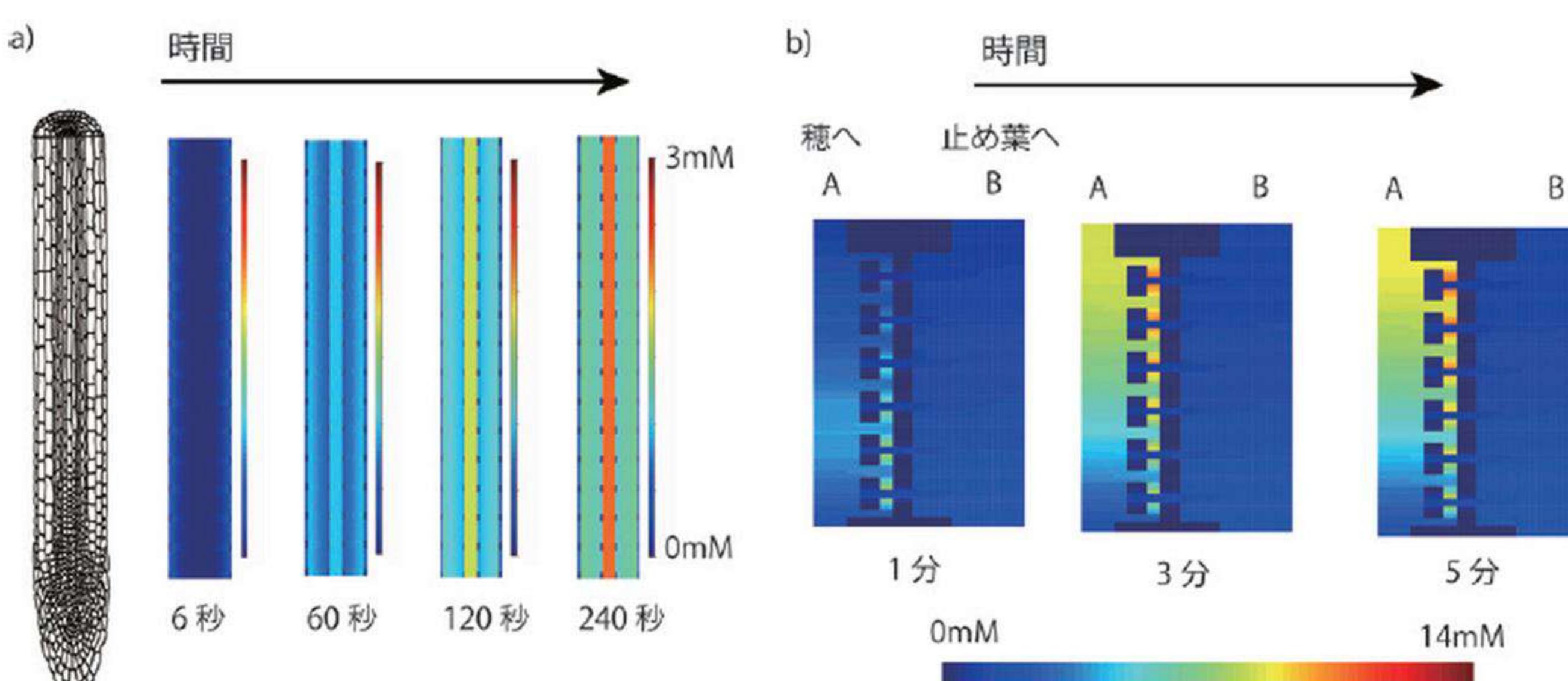


図1：根(a)と節(b)におけるシミュレーションの模式図
(a) は根の表面からケイ素を徐々に吸収し、中心の導管まで輸送する様子を模した数理モデルの模式図である。数理モデル内のパラメータは実験データを用いて逆推定しているため、定量的に精度高くケイ素の輸送動態を再現する。(b) は節間のケイ素輸送を模した数理モデルの模式図である。節において、下部の導管(この例では止め葉に続く導管:B)から上部の導管(この例では穂に続く導管:A)へケイ素が輸送される。節におけるケイ素輸送体とその特徴的な配置によって、穂につづく導管(A)へ効率良くケイ素を輸送する様子がシミュレートされている。

環境変動に伴う大規模代謝反応システムの応答を効率よく解析するための手法開発と応用

研究代表者：白石 文秀（九州大学大学院農学研究院）

1. 研究のねらい

植物の代謝は大規模な酵素反応ネットワークによって構成されています。代謝反応システムの特徴を明らかにするにはその数式モデルを構築し、コンピューターシミュレーションを行うのが効率的です。一方、分析機器の高性能化により、細胞内代謝物濃度の時間変化を網羅的に測定することが可能となっています。しかし、実測値にはまだ大きな測定誤差を含むものがあり、またシステムの規模が大きくなると考慮すべき式の数が増えるので、数式モデルの構築は容易ではありません。そこで本研究では、データが大きな誤差を含んでいたり、経路の途中に測定できない代謝物が存在したりしても数式モデルを作成できる大規模システムをターゲットとした数式モデル構築法の開発とその応用を行いました。

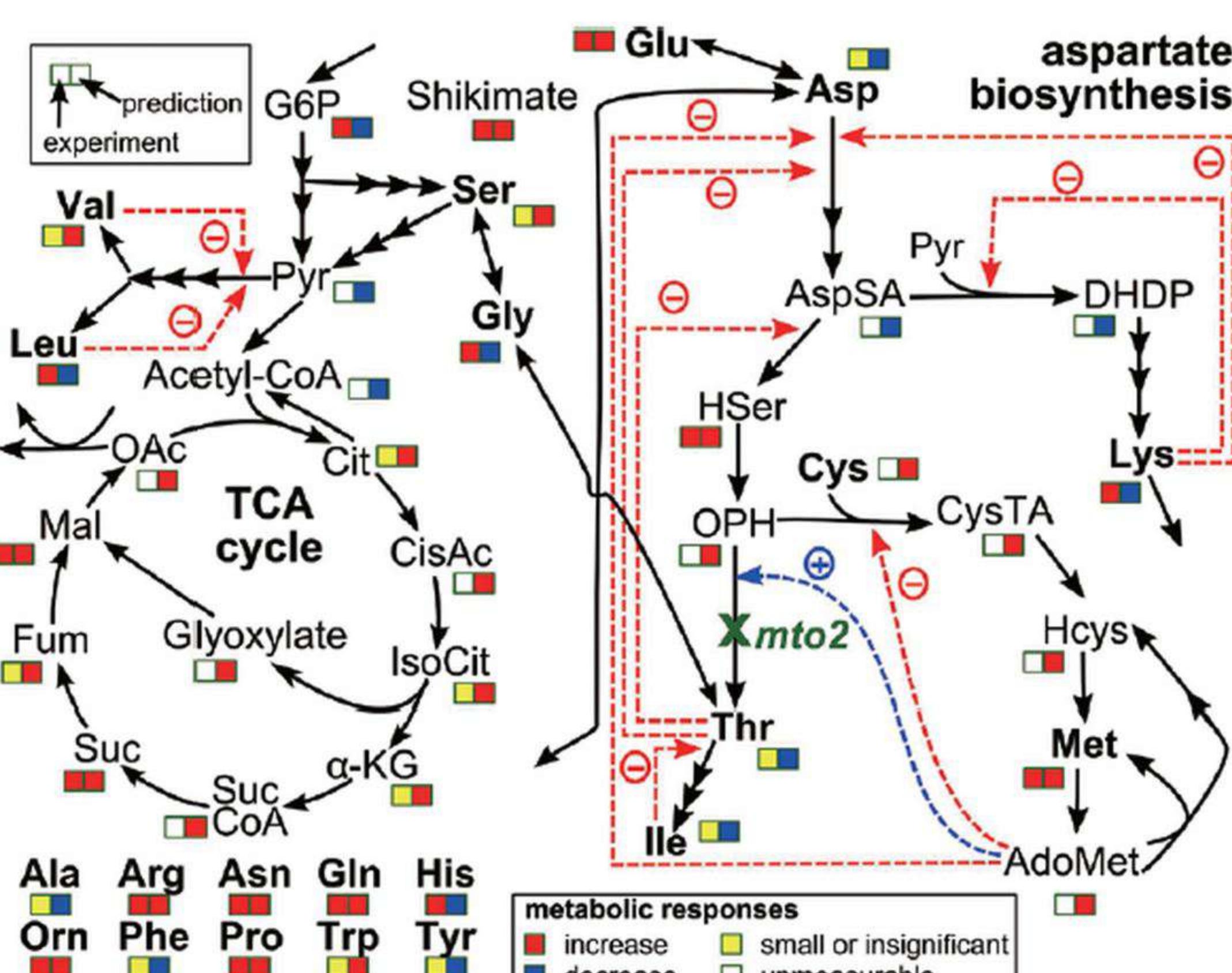
2. 主な研究成果

大規模システムでの数式モデル構築を円滑に行うため、PENDISC (Parameter Estimation in a Non-Dimensionalized S-system with Constraints) 法 (Sriyudthsak et al., 2014a)、U-system モデリング法 (Sriyudthsak et al., 2014b) を開発しました。これらの方では、微分方程式の基本的形をバイオケミカルシステム理論 (BST) の S-system 型とし、式の無次元化を行ったり反応次数に対して 1.0 または 0.5 のような値を使ったりして速度定数のみを未知の操作変数として、パラメーター推定が容易となっています。束縛条件を適用すればパラメーターの推定量が大きく減ることも明らかにな

りました。また、代謝反応ネットワークが大規模であっても定常状態感度と固有値を正しく計算できるようにするために、COSMOS (Computation of Sensitivities in Model ODE Systems) と名づけたソフトウェアを開発しました (Shiraishi et al., 2014)。本ソフトでは、定常状態値を簡単に探し出すための工夫や、数値微分を超高精度で行うことができる Complex-step 法の導入により、上記計算値を機械精度と同等の超高精度でかつ迅速に得ることができます (Shiraishi et al., 2014)。本ソフトは github (<https://github.com/BioprocessdesignLab/COSMOS>) からダウンロードできます。以上の開発した手法を LC/MS により測定したシロイヌナズナの時系列メタボロームデータへ適用し、351 個の代謝物濃度と 441 個の流束からなる数式モデルを構築しました。シミュレーションにより式中の速度定数、反応次数の代謝物濃度の時間変化への役割を示すとともに、本システムにおけるアミノ酸代謝反応の特徴を明らかにしました (図 1) (Shiraishi et al., 2014)。

3. 今後の展望

本研究で構築した数式モデルは簡略化モデルですが、それでも今後コンピューターシミュレーションを行うことにより、シロイヌナズナ代謝システムの様々な特徴が明らかになると考えられます。また、開発した数式モデル構築法は他の生物の代謝反応システムへの応用も可能ですので、今後このような研究も行う予定です。さらに、本法を進化させ、シロイヌナズナに対して、より厳密な数式モデルを構築する予定です。



Sriyudthsak K, Iwata M, Hirai MY, Shiraishi F. (2014a) PENDISC: A simple method for constructing a mathematical model from time-series data of metabolite concentrations. *Bull Math. Biol.* 76: 1333-1351.

Sriyudthsak K, Sawada Y, Chiba Y, Yamashita Y, Kanaya S, Onouchi H, Fujiwara T, Naito S, Voit EO, Shiraishi F, Hirai MY. (2014b) A U-system approach for predicting metabolic behaviors and responses based on an alleged metabolic reaction network. *BMC Syst. Biol.* 8 (Suppl 5) : S4.

Shiraishi F, Yoshida E, Voit EO. (2014) An efficient and very accurate method for calculating steady-state sensitivities in metabolic reaction systems. *IEEE/ACM Trans. Comput. Biol. Bioinform.* 11: 1077-1086.

図 1：シロイヌナズナ代謝の変化の予測
構築した数式モデルを使い、遺伝子 *MTO2* をノックアウトしたときの定常状態代謝物濃度の増減の予測を行った。各代謝物の近くにある 2 つの四角のうち左は実験データ (Kusano et al. (2010) *Amino Acids*, 39: 1013-1021) を、右はモデルによる予測の結果を示す。両者の一致は 73% であった。また、他のデータ (Barlem et al. (2000) *Plant Physiol.*, 123: 101-110) とは 85% の一致があった。

体内時計の同調臨界点における代謝不安定化機構のオミクス解析と数理モデル

研究代表者：福田 弘和（大阪府立大学大学院工学研究科）

1. 研究のねらい

明暗サイクルに対する概日時計の同期状態は、植物の成長に大きな影響を与えます。例えば、概日時計は周期 20 時間や周期 28 時間といった明暗サイクルにも同期できますが、周期 24 時間の条件と比べ明らかな成長量の減少が見られます。このため、概日時計の研究は植物生産における基礎として注目されつつあります (Higashi et al., 2014, Higashi et al., 2015)。また、本研究室では非線形動力学の知見を活かし、暗期パルスなどのパルス摂動による概日時計の同期現象の研究を行い、位相振動子モデルによって植物の概日時計の同期現象を記述できることを実験と理論の双方から明らかにしてきました。そこで本研究では、パルス摂動による同期制御モデルを基礎に、成長量も評価できる数理モデルの開発と、非同期条件における生理状態の解析を試みました。

2. 主な研究成果

現在のところ、概日時計の非同期状態によって成長不良が引き起こされるメカニズムは不明です。そこで本研究では、成長不良が何らかのストレスに起因すると仮定し、そのストレスの値を評価関数として用いた数理モデルの構築を試みました。まず、同期現象とストレスを関連付けるために、本研究では糖代謝に着目しました。最近、概日時計が光サイクルへ同期する機構として、光合成産物のグルコースによる時計遺伝子 *PRR7* の発現抑制が注目されています。そこで、光同期のストレスに関するデンプンマネジメントモデル (Feugier and Satake, *Front. Plant Sci.* (2013)) と弱パルス入力による概日時計の位相制御モデル (Fukuda, et al., *Sci. Rep.* (2013)) を融合させ、非同期ストレスの数理モデルを提案しました。ストレスの指標として、葉内におけるショ糖飢餓かつショ糖過剰を、弱パルス入力としては連続照

明下における暗期 2 時間の暗期パルスを用いました。シミュレーションの結果、非同調条件下ではストレス指標が増大し、非同期現象が糖代謝モデルによって説明できる可能性が示唆されました。

次に、遺伝子組換えシロイヌナズナ *CCA1::LUC* を用いて、非同期条件下における時計遺伝子 *CCA1* の発現リズムを精密に計測し、かつ実験終了時のサンプルに対して RNA-seq 解析を試みました。得られたトランスクリプトームデータを分子時刻表によって解析した結果、非同期条件下において時刻表示遺伝子群 (151 個) が示すべき概日リズムパターンに大きな乱れが確認されました。つまり、概日時計によるトランスクリプトームの調節機能が正常に働いていないことが判明しました。

本研究により、位相方程式が適応できる弱パルス入力の非同期に対する数理モデルを提案でき、またトランスクリプトーム解析によってストレス状態の定量化と、ストレス発生機構の解明について手がかりを得ることができました。

3. 今後の展望

成長不良を引き起こすストレスの実態についてはまだ不明ですが、本研究で進めているトランスクリプトーム解析によって少しずつ明らかになりつつあります。また、本研究では暗期パルスに対する同期制御を中心に研究しましたが、赤色や青色 LED の光パルスによる同期制御も今後可能になると期待されます (Ohara et al., 2015)。

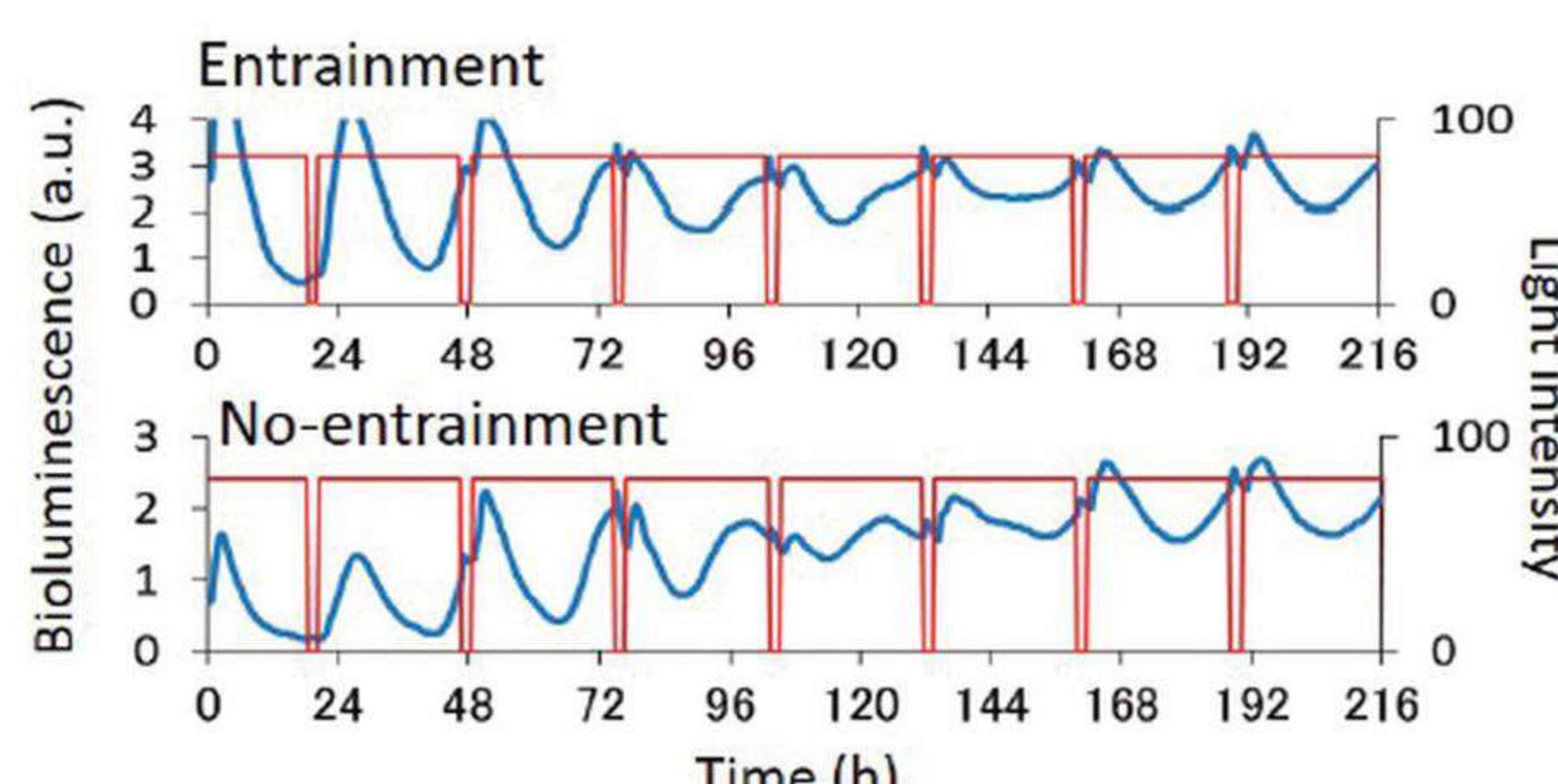
非同期などのダイナミックな生物現象や最適化設計などは、数理モデル無くしては研究が困難です。植物工場などの先端農学技術開発において、植物生理代謝のダイナミクス制御が重視される傾向にある近年、農学における数理モデル研究の重要性がますます高まっています。

Higashi T, Kamitamari A, Okamura N, Ukai K, Okamura K, Tezuka T, Fukuda H. Characterization of circadian rhythms through a bioluminescence reporter assay in *Lactuca sativa* L. (2014) *Environ. Control Biol.* 52: 21-27.

Higashi T, Nishikawa S, Okamura N, Fukuda H. (2015) Evaluation of Growth under Non-24 h Period Lighting Conditions in *Lactuca sativa* L. *Environ. Control Biol.* 53: 7 -12.

Ohara T, Fukuda H, Tokuda IT. (2015) Phase response of the *Arabidopsis thaliana* circadian clock to light pulses of different wavelengths. *J. Biol Rhythms.* 30: 95-103

図 1 : 非同期条件下における時計遺伝子 *CCA1* の発現リズム
周期 28.3 h の暗期パルス列を与えた場合における *CCA1* の発現リズム。シロイヌナズナ *CCA1::LUC* を用いてルシフェラーゼ発光により時計遺伝子の発現量を計測した。上段の個体は同期状態、下段の個体は非同期状態を示している。



植物ストレス応答に対応した細胞「域」：細胞応答から器官形態をつなぐ数理モデル

研究代表者：持田 恵一（理化学研究所環境資源科学研究センター）

連携研究者：豊岡 公徳（理化学研究所環境資源科学研究センター）

佐藤 蘭子（理化学研究所環境資源科学研究センター）

1. 研究のねらい

植物は環境刺激を受けると器官や組織ごとに細胞小器官を分化させ、環境に適応します。近年、植物個体としての環境ストレス応答機構の理解が分子レベルで進みつつありますが、一方で、環境ストレス応答という個体スケールのイベントが植物細胞やその細胞小器官の動態という顕微スケールでの現象とどのように連関するのかは明らかではありません。そこで、私達は、植物の細胞から器官レベルでの環境ストレス応答の理解を目的として、情報科学とバイオイメージングが融合した研究を進めました。高倍率・広領域・高精細な透過電子顕微鏡（TEM）像の超微細形態学と計算機による情報学的な解析を組み合わせることにより、環境ストレスに応答して変化する細胞小器官の分化や形態の変化を広域計測・定量し、数理モデルを構築するための基盤技術の構築を目指します。

2. 主な研究成果

環境ストレスの細胞応答を捉えるための高倍率・広領域・高精細な透過電子顕微鏡像取得技術を開発するために、シロイヌナズナの芽生え根端を用いて、根端全域に渡り超微細構造が保持されるよう高圧凍結技法および超薄切片作製法を改良しました。また、網羅性とスループットの向上を目指し、イメージング情報解析を専門とする研究者との共同研究を進めました。これにより数万枚を超えるTEM像の精密な合成、広域画像からのオルガネラ自動認識を初めて可能にしました。

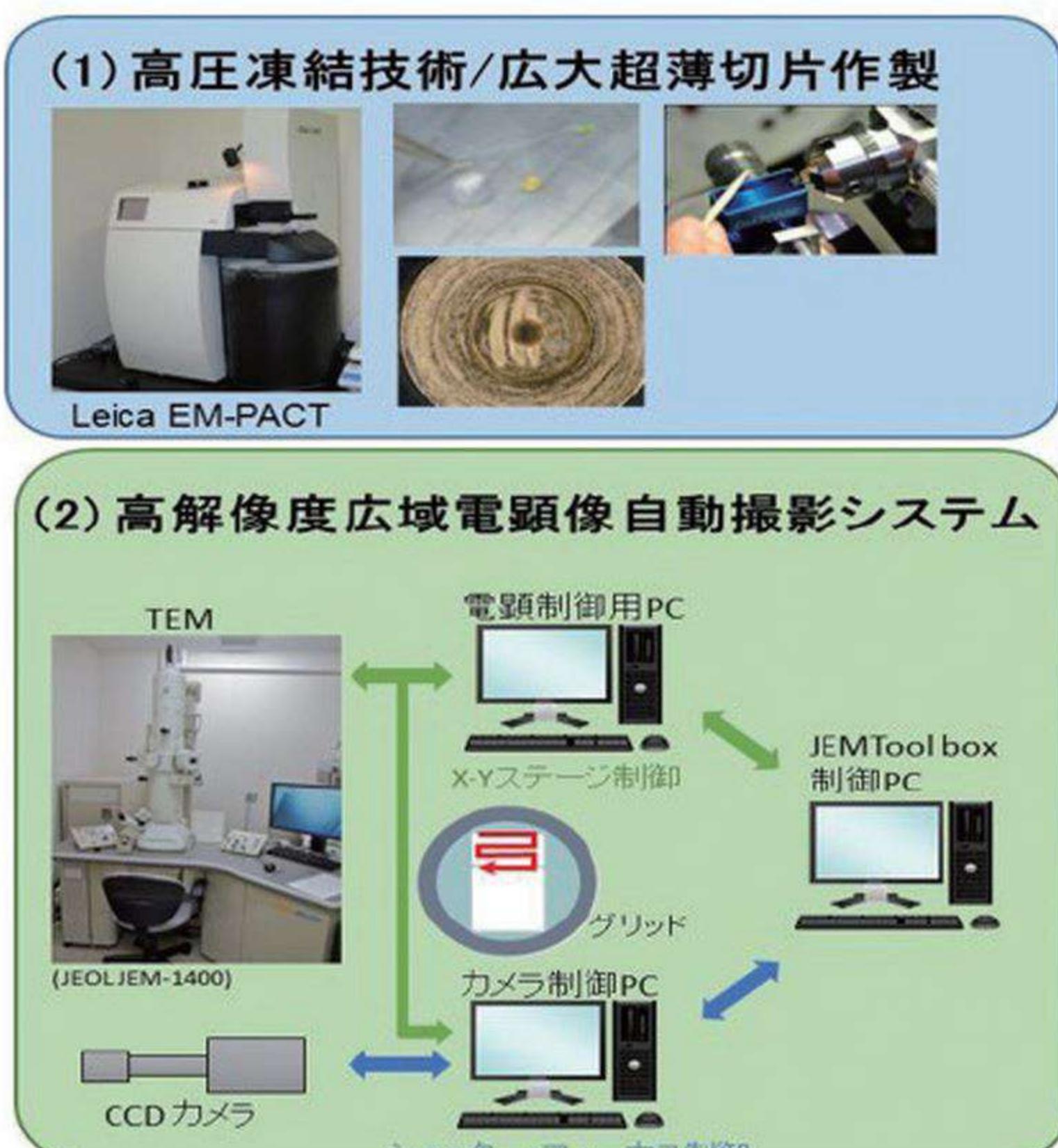


図1：生体顕微マルチスケールマッピングシステム「電顕アトラス」の構築

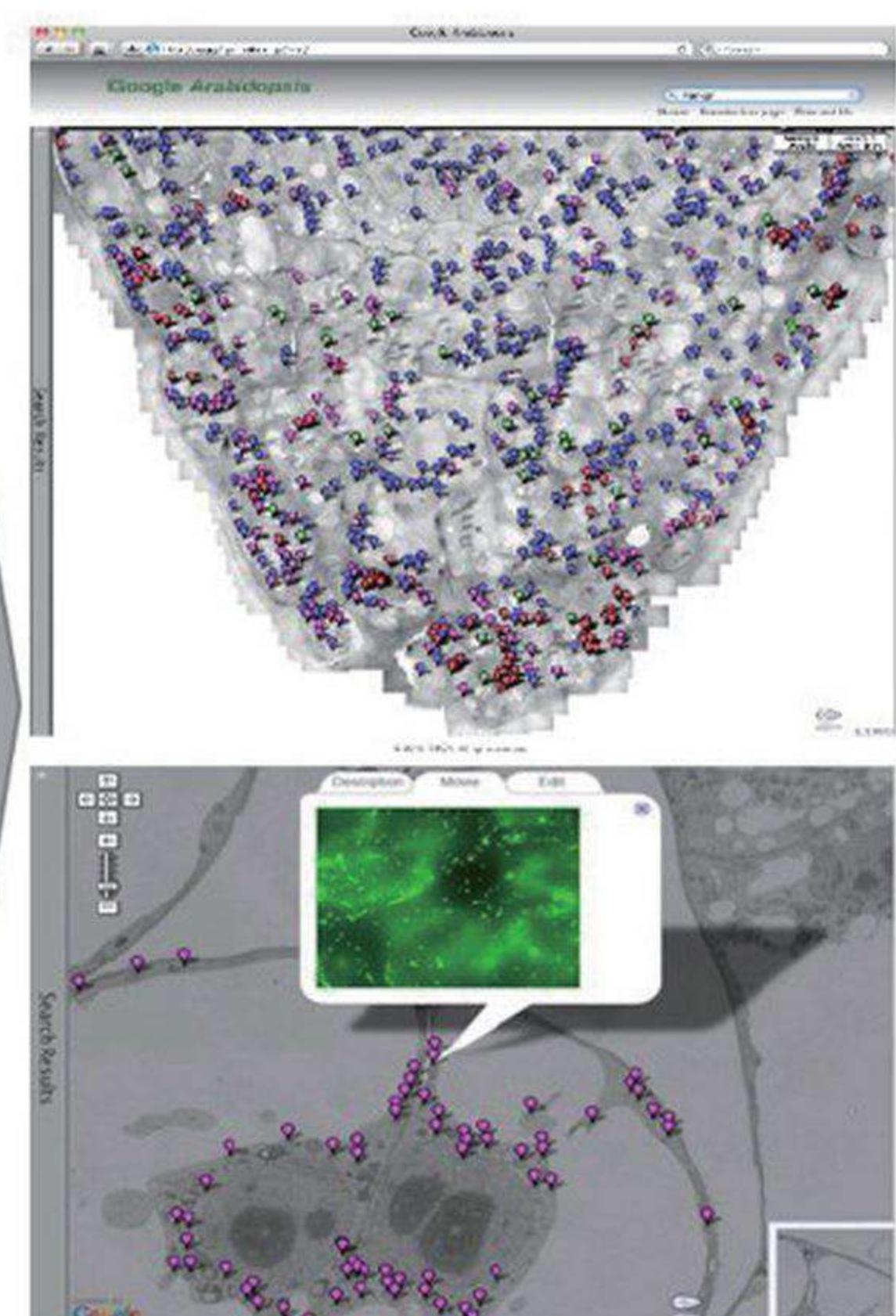
高圧凍結技法および超薄切片作製法の改良(1)、TEM像の自動取得と精密な合成方法の開発(2)、取得した広域TEM画像のWebデータベース化技術の開発(3)を行い、電顕アトラスを開発した。

次に、取得した広域TEM画像をGoogle Map APIにより変換し、データベース化するために必用なアプリケーションの開発および実装を行いました。広域TEM像上の細胞小器官にアノテーションを加え細胞や組織ごとに分布定量化するための解析基盤「電顕アトラス」を整備し、シロイヌナズナの芽生え根端の広域超微細形態をデジタル化しました(図1)。

さらに、塩ストレス条件を例に、シロイヌナズナ根端を用いて、オルガネラの広域超微細形態解析を行いました。電顕アトラスを用いて塩ストレス下でのオルガネラの変化を精密に観察したところ、一部の細胞域で液胞の変形等が観られ、オルガネラスケールでの環境ストレス応答の基礎的データを得ることができました。

3. 今後の展望

本研究で構築した「電顕アトラス」を用いて、さまざまな環境ストレス下でのオルガネラ動態をデジタル化することが可能になりました。これを基盤として、環境変化にともなうオルガネラ形態や分布の変動に関するデータの収集と統合も、さらにはそれらを用いたオルガネラ形態の環境応答モデルの構築が可能になると考えられます。また、レーザーキャプチャーマイクロダイセクションによって取得した局所組織のRNAを用いたトランスクリプトーム解析等と組み合わせることで、転写ネットワークと環境変動に対するオルガネラ応答モデルとを統合して解析し、環境変動を突破するために必用なオルガネラの応答や細胞の状態と、その背景の転写ネットワークの理解につながると期待されます。



データ同化手法を用いた作物の環境ストレス応答の解明

研究代表者：横沢 正幸（静岡大学大学院総合科学技術研究科）

1. 研究のねらい

ダイズの生産はその約70%がアメリカ合衆国、中華人民共和国、ブラジルの3カ国で行われています。ダイズはほとんどが食用油として、そしてその絞りかすは良質の飼料として利用されます。ダイズは、世界の食料供給システムにおいて重要ですが、生産地域がきわめて局在しており、将来の気候変化および異常気象が生産の安定性に及ぼす影響に関する解析ならびに評価は重要な課題となっています。このような背景から本研究では、アメリカ合衆国、中華人民共和国、ならびにブラジルの3カ国に対象地域を絞って、過去の統計資料、気象環境データおよび作物の生育・収量の環境応答を記述する数理モデルを用いて、データ同化手法を援用して、環境変動に対する収量の応答に関する解析を行いました。

2. 主な研究成果

大気CO₂濃度の上昇は、ダイズなどのC3植物にとっては光合成が活発になるプラスの効果があります。これをCO₂施肥効果(CO₂fertilization effect)と呼びます。実際の植物生長や作物収量は、CO₂施肥効果によるプラスの影響と気温上昇や降水量変動によるマイナスの影響の差し引きによって決まります。プラスとマイナスのそれぞれの効果を調べることは、将来の作物生産ひいては食料生産を予測する上できわめて重要です。しかし、作物の生産は気象以外の物理的環境、品種改良や技術進歩によっても変化します。したがって、相関関係にのみに着目する統計モデルによっては、それらの影響を分離することは不可能です。そこで本研究では、世界のダイズ主要生産地域の農業統計データと過去の気象データを収集・整理するとともに、広い地域に適用できる作物の生長・収量の環境応答(因果関係)を記述する数理モデルを作成して、データ同化手法を援用することにより、過去の大気CO₂濃度、気温、日射量、降水量および技術進展の変化に対する要因別影響を推計しました。図1は過去の大気CO₂濃度の変化が収量に及ぼした影響を取り出してその空間分布を図示したものです。その結果、過去25年間(1980年から2006年)に実際に起きた大気CO₂濃度の上昇に対して、世界の主要生産地におけるダイズの収量は、アメリカ合衆国では4.34%、ブラジルでは7.57%、中国では5.10%増加したと推計されました(3国平均では約5.8%増加)。

3. 今後の展望

本研究で得られた知見とともに野外・室内における実験結果に基づいて、作物の生育・収量の環境応答を記述する数理モデルをさらに改良することが可能です。それにより、環境変化に対する作物生産性の変化をより精度よく推計できます。また、対象作物や対象地域をさらに拡張することによって、将来予想される気候変化が世界の作物生産量に及ぼす影響の予測ひいては食料供給力の変化を予測することができ、その対策を立てる際の重要な知見を提供します。

Sakurai G, Iizumi T, Nishimori M, Yokozawa M. (2014) How much has the increase in atmospheric CO₂ directly affected past soybean production? *Sci. Rep.* 4: 4978.

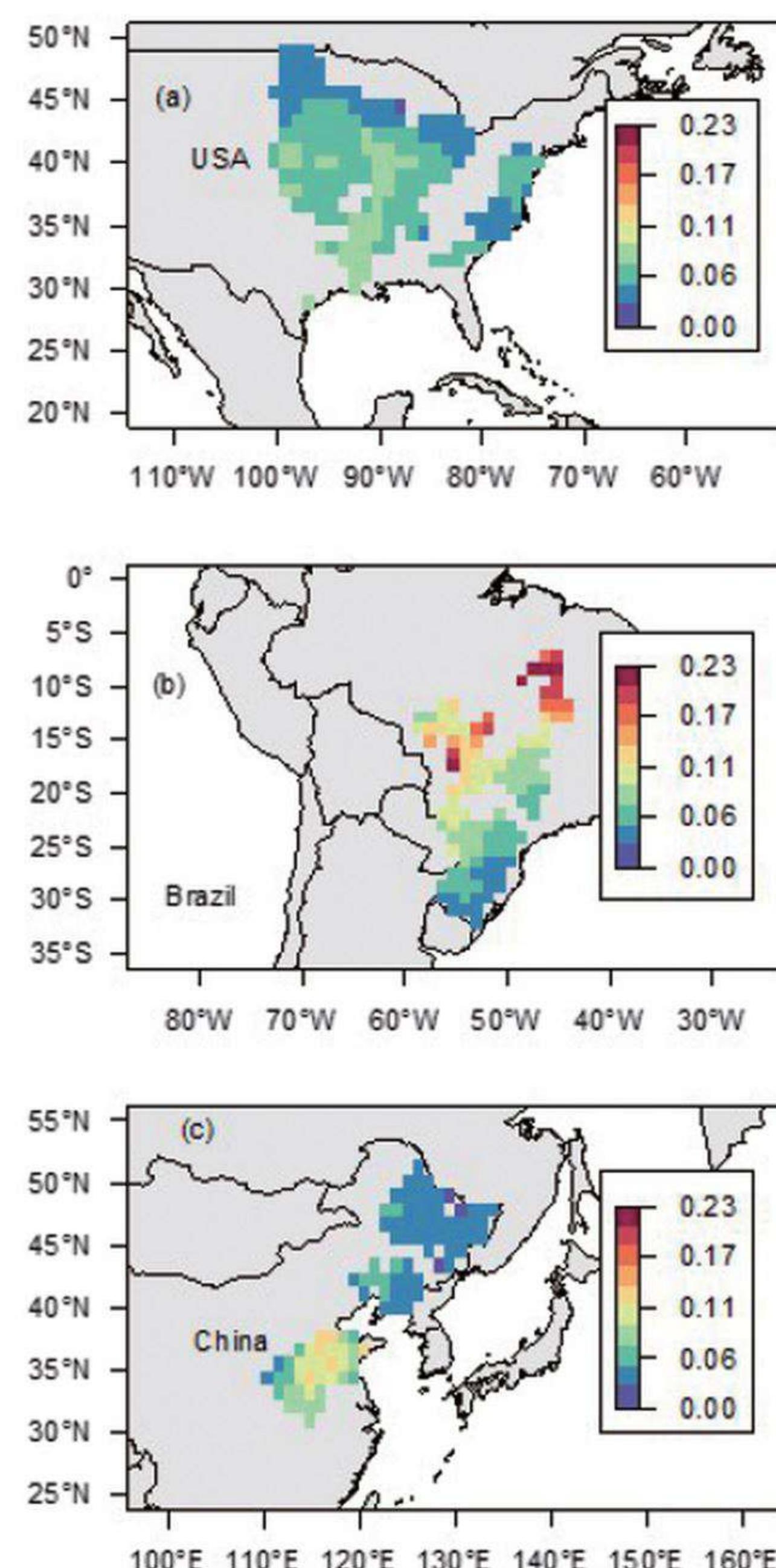


図1：ダイズに対するCO₂の施肥効果(%)

ダイズの主要生産国であるアメリカ(a)、ブラジル(b)、中国(c)における大気CO₂濃度の上昇による収量の増加率を示す。増加率は1980年の収量と2002年～2006年の平均収量の比として1.125°(約100 km)のグリッドごとに計算されている。アメリカ南部、中国南部、ブラジル北部で増加率が高いことが分かる。

領域内共同研究 — 研究連携の状況 —

本領域では、班会議やホームページを通じた情報交換により、班員間で共同研究の機会を見つける場を数多く提供してきました。特に、研究項目間や、計画班員と公募班員との有機的連携を意識して共同研究を推進してきました。領域内の共同研究は計画班・公募班合わせて136件に上りました。

共同研究の内訳

| | |
|------------------------------|-----|
| ①生存戦略研究 & ②成長戦略研究 | 47件 |
| ①生存戦略研究 & ③モデリング研究 | 27件 |
| ②成長戦略研究 & ③モデリング研究 | 12件 |
| ①生存戦略研究 & ②成長戦略研究 & ③モデリング研究 | 2件 |
| ①生存戦略研究 & ①生存戦略研究 | 30件 |
| ②成長戦略研究 & ②成長戦略研究 | 18件 |
| 計画班員 & 計画班員 | 30件 |
| 計画班員 & 公募班員 | 65件 |
| 公募班員 & 公募班員 | 56件 |

共同研究の課題 (赤は計画班員、緑は公募班員を示す。)

- ①馬 & ②梅田：アルミニウムが細胞周期進行に与える影響のイメージング解析
- ①馬 & ②経塚：ストリゴラクトンの師管移動
- ①馬 & ①木下：気孔孔辺細胞における遺伝子発現法の開発 (*Plant Physiol* 発表)
- ①馬 & ①上野：マンガン輸送体の機能解析 (*J Exp Bot* 発表)
- ①馬 & ①堀江：イネのナトリウム輸送体 OsHKT1 の免疫染色法を用いた局在解析
- ①馬 & ②石崎：ゼニゴケを用いた植物トランスポーター発現系の開発
- ①馬 & ②本瀬：イネにおける Nim-related kinase (NEK) の機能解析
- ①馬 & ③岩元：アルミニウムが根端成長に及ぼす影響の数理モデル解析
- ①馬 & ①関：酢酸処理によるイネの乾燥ストレス耐性付与の解析
- ①馬 & ①宮地：葉緑体に存在するアスコルビン酸輸送体の解析 (*Nature Commun* 発表)
- ①馬 & ③櫻井：カスパリー線を介したシリコン取り込みの数理学的解析 (*Plant Cell Physiol* 発表)
- ①藤原 & ①内藤 & ③岩元：bor3 変異体の根端成長に関する細胞動力学解析と数理モデル解析
- ①藤原 & ②芦刈：栄養欠乏耐性を付与するイネ野生系統の解析
- ①藤原 & ②梅田：ホウ素が細胞周期進行に与える影響のイメージング解析 (*Plant Cell* 発表)
- ①藤原 & ②経塚：イネの栄養輸送体の発現解析
- ①藤原 & ①深尾：ホウ素輸送体の相互作用タンパク解析
- ①藤原 & ②澤：シロイヌナズナ変異株のゲノム解析
- ①藤原 & ③岩元：根の成長のモデリング
- ①木下 & ①下嶋：シロイヌナズナのホスファチジン酸ホスファターゼ変異体の気孔応答
- ①木下 & ①西村：シロイヌナズナ PP2C 過剰発現体の気孔開閉応答の解析
- ①木下 & ②石崎：ゼニゴケを用いた細胞膜プロトンポンプの進化的解析 (*Plant Physiol* 発表)
- ①木下 & ①下嶋：シロイヌナズナ pah1pah2 変異体における乾燥ストレス耐性機構の解析
- ①木下 & ②本瀬：NimA-related kinases の気孔開閉応答における機能解析
- ①木下 & ③持田：桑の葉における孔辺細胞のSEM観察
- ①篠崎 & ①太治 & ①関：植物の高温耐性を強化する遺伝子の発見 (*Mol Plant* 発表)

- ①篠崎 & ①深尾：DREB2 の相互作用タンパク解析
- ①篠崎 & ③持田：シロイヌナズナ低温感受性変異体の葉緑体の電顕解析
- ①篠崎 & ①藤原 & ①石田（喬）：植物の乾燥と高温ストレスに応答する制御ネットワーク
- ①内藤 & ①千葉：シロイヌナズナ CGS1 遺伝子 mRNA のポリ A の長さの制御機構
- ①内藤 & ①千葉：低温応答における転写後制御機構および翻訳停止と共に mRNA 分解におけるポリ A 鎖長の解析
(*Plant Cell Physiol, Genes Genet Syst* 発表)
- ①内藤 & ①藤原 & ①千葉：ホウ素応答における転写後制御機構 (*Plant Cell* 発表)
- ①内藤 & ①藤原 & ①千葉 & ③白石：メチオニン生合成制御の数理解析 (*Plant Cell Physiol, BMC Syst Biol* 発表)
- ①山谷 & ②芦刈：浮き稻の代謝物プロファイリング
- ①山谷 & ①石田：葉の老化時における窒素、炭素の転流とオートファジー安定同位体とオートファジー不能変異体を用いた解析－ (*Plant J* 発表)
- ①山谷 & ①丸山：硫黄欠乏による硫酸イオントランスポーター SULTR2;1 の発現誘導機構の解析 (*Plant Cell* 発表)
- ①山谷 & ③佐竹：イネ穎果へのショ糖転流のモデリング (*Plant Cell Physiol* 発表)
- ①山谷 & ②経塚：イネの腋芽伸長と GS1;2 の機能 (*Plant J* 発表)
- ②芦刈 & ①藤原：栄養欠乏耐性を付与するイネ野生系統の解析
- ②芦刈 & ③佐竹：イネの穂への転流モデルについて (*Plant Cell Physiol* 発表)
- ②芦刈 & ①下嶋：イネ耐水性遺伝子の同定
- ②梅田 & ②杉本：核内倍加を制御する因子の発現制御機構の解析
- ②梅田 & ①深尾：タンパク質リン酸化部位の同定
- ②梅田 & ②伊藤（正）：DNA 損傷応答における MYB 転写因子の機能解析
- ②梅田 & ②澤：線虫の植物感染時における細胞分裂の影響に関する解析
- ②梅田 & ②村田：微生物揮発物質に暴露した植物根の細胞周期
- ②梅田 & ②本瀬：NimA-related kinases の DNA 損傷における機能解析
- ②梅田 & ③岩元：DNA 倍加に関わるシロイヌナズナ変異体の根端成長に関する数理モデル解析
- ②経塚 & ①深尾：腋芽伸長に関わるタンパク質の相互作用タンパク質解析
- ②経塚 & ②澤：イネのストリゴラクトンシグナルに関する突然変異体の単離
- ②経塚 & ①藤原：カドミウム輸送体の調節機構
- ②経塚 & ②芦刈：イネの分けつ機構の解析
- ②杉本 & ②石崎：基部陸上植物における脱分化制御因子 WIND1 の解析
- ②杉本 & ②伊藤（正）：後期促進複合体 (APC/C) による核内倍加制御
- ②杉本 & ②澤：線虫の植物感染時における多核化に関する解析
- ②杉本 & ②本瀬：NimA-related kinases の核内倍加における機能解析
- ②杉本 & ②本瀬：微小管と細胞周期
- ②杉本 & ③持田：根における葉緑体発達制御機構に関する TEM 構造観察
- ②杉本 & ③持田：シロイヌナズナ遺伝子変異体のトランスクリプトーム解析 (*Plant Cell* 発表)
- ②杉本 & ①馬：植物細胞リプログラミングを引き起こす栄養ストレス
- ②杉本 & ③岩元：GTL1、DF1 の根のメリシステム成長制御
- ③佐竹 & ①山谷 & ②芦刈：イネの登熟過程における穎果への窒素流入に関するモデリング研究
- ③佐竹 & ①馬 & ③櫻井：ケイ素輸送モデルの開発とトランスポーターの最適配置に関する数理的解析 (*Plant Cell Physiol* 発表)
- ③佐竹 & ①藤原：シロイヌナズナにおけるケイ素輸送の数理モデル
- ③佐竹 & ①木下：師部転流への FT の関与とモデリング
- ③佐竹 & ①篠崎：ストレス応答に関する転写因子ネットワークダイナミクス
- ③佐竹 & ①内藤：リボソーム翻訳停止プロセスの解明 (*J Biol Chem* 発表)
- ③佐竹 & ①千葉 & ③櫻井：遺伝子情報に立脚した開花予測モデルを開発 (*Nat Commun* 発表)
- ③佐竹 & ①千葉 & ③持田：豊凶現象を引き起こす窒素の役割を開花遺伝子発現解析から解明 (*Ecol Lett* 発表)
- ③佐竹 & ②澤：維管束パターン形成のオーキシンの関与に関するモデリング
- ③佐竹 & ②村田：微生物揮発成分のプレート内拡散に関するモデリング
- その他、65 件

[発表論文リスト]

以下のリストは、謝辞に本新学術領域の支援を記載している論文のみです。

研究項目 A01 －生存戦略研究－

計画研究代表者 馬 建鋒 (岡山大学資源植物科学研究所・教授)

研究分担者：藤原 徹 (東京大学大学院農学生命科学研究科・教授)

山地 直樹 (岡山大学資源植物科学研究所・准教授)

1. Ma JF and Yamaji N (2015) A cooperative system of silicon transport in plants. *Trends Plant Sci.* in press.
2. Miyaji T, Kuromori T, Takeuchi Y, Yamaji N, Yokosho K, Shimazawa A, Sugimoto E, Omote H, Ma JF, Shinozaki K, Moriyama Y* (2015) AtPHT4; 4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 6, 5928. 宮地班員との共同研究
3. Sakurai G*, Satake A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Yokozawa M, Feugier FG, Ma JF (2015) In silico simulation modeling reveals the importance of the Caspian strip for efficient silicon uptake in rice roots. *Plant Cell Physiol* 56, 631–639. 櫻井班員との共同研究
4. Ashikari M, Ma JF* (2015) Exploring the power of plants to overcome environmental stresses. *Rice* 8,10.
5. Chen J, Wang Y, Wang F, Yang J, Gao M, Li C, Liu Y, Liu Y, Yamaji N, Ma JF, Paz-Ares J, Nussaume L, Zhang S, Yi K, Wu Z, Wu P* (2015) The rice CK2 kinase regulates trafficking of phosphate transporters in response to phosphate levels. *Plant Cell* 27, 711–723.
6. Matsunaga W, Ohama N, Tanabe N, Masuta Y, Masuda S, Mitani N, Yamaguchi-Shinozaki K, Ma JF, Kato A, Ito H* (2015) A small RNA mediated regulation of a stress-activated retrotransposon and the tissue specific transposition during the reproductive period in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 6, 48. 伊藤班員との共同研究
7. Wang H, Chen RF, Iwashita T, Shen RF, Ma JF* (2015) Physiological characterization of aluminum tolerance and accumulation in tartary and wild buckwheat. *New Phytol* 205, 273–279.
8. Song WY, Yamaki T, Yamaji N, Ko D, Jung KH, Fujii-Kashino M, An G, Martinoia E, Lee Y, Ma JF* (2014) A rice ABC transporter, OsABCC1, reduces arsenic accumulation in the grain. *Proc Natl Acad Sci USA* 111, 15699–15704. 朝日新聞、山陽新聞、英字新聞などに掲載、NHKと民放テレビに放映
9. Yokosho K, Yamaji N, Ma JF* (2014) Global transcriptome analysis of Al-induced genes in an Al-accumulating species, common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Plant Cell Physiol* 55, 2077–2091.
10. Sasaki A, Yamaji N, Ma JF* (2014) Overexpression of *OshMA3* enhances Cd tolerance and expression of Zn transporter genes in rice. *J Exp Bot* 65, 6013–6021.
11. Yamaji N, Ma JF* (2014) The node, a hub for nutrient distribution in gramineous plants. *Trends Plant Sci* 19, 556–563. 表紙に採用
12. Xia J, Yamaji N, Che J, Shen RF, Ma JF* (2014) Differential expression of *Nrat1* is responsible for Al-tolerance QTL on chromosome 2 in rice. *J Exp Bot* 65, 4297–4304.
13. Ma JF*, Chen ZC, Shen RF (2014) Molecular mechanisms of Al tolerance in gramineous plants. *Plant Soil* 381, 1–12.
14. Xia J, Yamaji N, Ma JF* (2014) An appropriate concentration of arginine is required for normal root growth in rice. *Plant Signal Behav* 9, e28717.
15. Milner M, Mitani-Ueno N, Yamaji N, Yokosho K, Craft E, Fei Z, Ebbs S, Zambrano M, Ma JF*, Kochian L* (2014) Root and shoot transcriptome analysis of two ecotypes of *Nothocalais caerulescens* uncovers the role of *NcNramp1* in Cd hyperaccumulation. *Plant J* 78, 398–410.
16. Xia JX, Yamaji N, Che J, Shen R, Ma JF* (2014) Normal root elongation requires arginine produced by arginosuccinate lyase in rice. *Plant J* 78, 215–226.
17. Yamaji N, Sasaki A, Xia JX, Yokosho K, Ma JF* (2013) A node-based switch for preferential distribution of manganese in rice. *Nature Commun* 4, 2442. 山陽新聞、日刊工業新聞などに掲載
18. Mitani-Ueno N, Ogai H, Yamaji N, Ma JF* (2013) Physiological and molecular characterization of Si uptake

- in wild rice species. *Physiol Plant* 151, 200-207.
19. Deng FL, Yamaji N, Xia JX, Ma JF* (2013) A member of heavy metal P-type ATPase OsHMA5 is involved in xylem loading of copper in rice. *Plant Physiol* 163, 1353-1362.
20. Chen ZC, Fujii Y, Yamaji N, Masuda S, Takemoto Y, Kamiya T, Yusuyin Y, Iwasaki K, Kato S, Maeshima M, Ma JF, Ueno D (2013) Mn tolerance in rice is mediated by MTP8.1, a member of the cation diffusion facilitator family. *J Exp Bot* 64, 4375-4387.
21. Chen ZC, Ma JF* (2013) Magnesium transporters and their role in Al tolerance in plants. *Plant Soil* 368, 51-56.
22. Xia JX, Yamaji N, Ma JF* (2013) A plasma membrane-localized small peptide is involved in rice aluminum tolerance. *Plant J* 76, 345-355.
23. Chen ZC, Yokosho K, Kashino M, Zhao FJ, Yamaji N, Ma JF* (2013) Adaptation to acidic soil is achieved by increased numbers of cis-acting elements regulating ALMT1 expression in *Holcus lanatus*. *Plant J* 76, 10-23.
24. Ando E, Ohnishi M, Wang Y, Matsushita T, Watanabe A, Hayashi Y, Fujii M, Ma JF, Inoue S, Kinoshita T* (2013) TWIN SISTER OF FT, GIGANTEA, and CONSTANS have a positive but indirect effect on blue light-induced stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 162, 1529-1538. 木下班員との共同研究
25. Yamaji N, Xia JX, Mitani-Ueno N, Yokosho K, Ma JF* (2013) Preferential delivery of Zn to developing tissues in rice is mediated by P-type heavy metal ATPases OsHMA2. *Plant Physiol* 162, 927-939. 山陽新聞、日経新聞などに掲載
26. Tsutsui T, Yamaji N, Huang CH, Motoyama R, Nagamura Y, Ma JF* (2012) Comparative genome-wide transcriptional analysis of Al-responsive genes reveals novel Al tolerance mechanisms in rice. *PLoS ONE* 7, e48197.
27. Perez-Castro R*, Kasai K, Gainza-Cortes F, Ruiz-Lara S, Casaretto JA, Pena-Cortes H, Tapia J, Fujiwara T, Gonzalez E (2012) VvBOR1, the grapevine ortholog of AtBOR1 encodes an efflux boron transporter that is differentially expressed through reproductive development of *Vitis vinifera* L. *Plant Cell Physiol* 53, 485-494.
28. Delhaize E, Ma JF, Ryan PR (2012) Transcriptional regulation of aluminium tolerance genes. *Trends Plant Sci* 17, 341-348.
29. Yamaji N, Chiba Y, Mitani-Ueno N, Ma JF* (2012) Functional characterization of a silicon transporter gene implicated in silicon distribution in barley. *Plant Physiol* 160, 1491-1497.
30. Zheng LQ, Yamaji N, Yokosho K, Ma JF* (2012) YSL16 is a phloem-localized transporter of the copper-nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice. *Plant Cell* 24, 3767-3782.
31. Sasaki A, Yamaji N, Yokosho K, Ma JF* (2012) Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *Plant Cell* 24, 2155-2167. 朝日新聞、読売新聞、山陽新聞、山陽放送などに記事掲載
32. Fujii M, Yokosho K, Yamaji N, Saisho D, Yamane M, Takahashi H, Sato K, Nakazono M, Ma JF* (2012) Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley. *Nat Commun* 3, 713. 朝日新聞、山陽新聞、産経新聞、中国新聞などに記事掲載
33. Chen ZC, Yamaji N, Motoyama R, Nagamura Y, Ma JF* (2012) Up-regulation of a magnesium transporter gene OsMGT1 is required for conferring aluminum tolerance in rice. *Plant Physiol* 159, 1624-1633.
34. Montpetit J, Vivancos J, Mitani-Ueno N, Yamaji N, Rémus-Borel W, Belzile F, Ma JF, Bélanger RR* (2012) Cloning, functional characterization and heterologous expression of *TaLsi1*, a wheat silicon transporter gene. *Plant Mol Biol* 79, 35-46.
35. Huang CF, Yamaji N, Chen Z, Ma JF* (2012) A tonoplast-localized half-size ABC transporter is required for internal detoxification of aluminum in rice. *Plant J* 69, 857-867.
36. Huang CF, Yamaji N, Ono K, Ma JF* (2012) A leucine-rich repeat receptor-like kinase gene is involved in the specification of outer cell layers in rice roots. *Plant J* 69, 565-576. 表紙に採用, Featured paper
37. Sasaki A, Yamaji N, Xia JX, Ma JF* (2011) OsYSL6 is involved in the detoxification of excess manganese in rice. *Plant Physiol* 157, 1832-1840.
38. Yokosho K, Yamaji N, Ma JF* (2011) An Al-inducible MATE gene is involved in external detoxification of Al in rice. *Plant J* 68, 1061-1069.
39. Ma JF*, Yamaji N, Mitani-Ueno N (2011) Transport of silicon from roots to panicles in plants. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 87, 377-385. 表紙に採用

40. Tsutsui T, Yamaji N, Ma JF* (2011) Identification of a cis-acting element of ART1, a C2H2-type zinc finger transcription factor for aluminum tolerance in rice. *Plant Physiol* 156, 925-931.
41. Mitani-Ueno N, Yamaji N, Zhao FJ, Ma JF* (2011) Aromatic/arginine selectivity filter of NIP aquaporins plays a critical role in substrate selectivity for silicon, boron and arsenic. *J Exp Bot* 62, 4391-4398.
42. Yamaji N, Ma JF* (2011) Further characterization of a rice Si efflux transporter, Lsi2. *Soil Sci Plant Nutr* 57, 259-264.
43. Ueno D, Milner M, Yamaji N, Yokosho K, Koyama E, Zambrano C, Kaskie M, Ebbs S, Kochian L, Ma JF* (2011) Elevated expression of *TcHMA3* plays a key role in the extreme Cd tolerance in a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens*. *Plant J* 66, 852-862. 山陽新聞、産経新聞などに記事掲載
44. Mitani N, Yamaji N, Ago Y, Iwasaki K, Ma JF* (2011) Isolation and functional characterization of an influx silicon transporter in two pumpkin cultivars contrasting in Si accumulation. *Plant J* 66, 231-240. 表紙に採用、Featured paper
45. Kasai K, Takano J, Miwa K, Toyoda A, Fujiwara T* (2011) High boron-induced ubiquitination regulates vacuolar sorting of the BOR1 borate transporter in *Arabidopsis thaliana*. *J Biol Chem* 286, 6175-6183.
46. Tanaka M, Takano J, Chiba Y, Lombardo F, Ogasawara Y, Onouchi H, Naito S, Fujiwara T* (2011) Boron dependent degradation of *NIP5;1* mRNA for acclimation to excess boron conditions. *Plant Cell* 23, 3547-3559. 内藤班員、千葉班員との共同研究
47. Sakamoto T, Tsujimoto-Inui Y, Uraguchi S, Yoshizumi T, Matsunaga S, Mastui M, Umeda M, Fukui K, Fujiwara T* (2011) Condensin II alleviates DNA damage and is essential for tolerance of B overload stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23, 3533-3546. 梅田班員との共同研究
48. Xia JX, Yamaji N, Kasai T, Ma JF* (2010) Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 107, 18381-18385. 朝日新聞、山陽新聞などに記事掲載

計画研究代表者 木下 俊則（名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授）

1. Satake A*, Sakurai G, Kinoshita T* (2015) Modeling Strategies for Plant Survival, Growth and Reproduction. *Plant Cell Physiol* 56, 583-585.
2. Kimura Y, Aoki S, Ando E, Kitatsuji A, Watanabe A, Ohnishi M, Takahashi K, Inoue S, Nakamichi N, Tamada Y, Kinoshita T* (2015) A flowering integrator, *SOC1*, affects stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 56, 640-649. Editor's Choice
3. Wang Y, Shimazaki K, Kinoshita T* (2014) Multiple roles of the plasma membrane H⁺-ATPase and its regulation. *Enzymes* 35, 191-211.
4. Tomiyama M, Inoue S, Tsuzuki T, Soda M, Morimoto S, Okigaki Y, Ohishi T, Mochizuki N, Takahashi K, Kinoshita T* (2014) Mg-chelatase I subunit 1 and Mg-Protoporphyrin IX methyltransferase affect the stomatal aperture in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res* 127, 553-563. 2015年日本植物学会Best Paper賞
5. Hayashi Y, Takahashi K, Inoue S, Kinoshita T* (2014) Abscisic acid suppresses hypocotyl elongation by dephosphorylating plasma membrane H⁺-ATPase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 55, 845-853.
6. Wang Y, Noguchi K, Ono N, Inoue S, Terashima I, Kinoshita T* (2014) Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 111, 533-538. 朝日新聞、読売新聞、毎日新聞、日本経済新聞、信濃毎日新聞などに記事掲載、Faculty of 1000に選出、野口班員との共同研究
7. Tsuzuki T, Takahashi K, Tomiyama M, Inoue S, Kinoshita T* (2013) Overexpression of the Mg-chelatase H subunit in guard cells confers drought tolerance via promotion of stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci* 4, 440.
8. Ando E, Ohnishi M, Wang Y, Matsushita T, Watanabe A, Hayashi Y, Fujii M, Ma JF, Inoue S, Kinoshita T* (2013) *TWIN SISTER OF FT*, *GIGANTEA*, and *CONSTANS* have a positive but indirect effect on blue light-induced stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 162, 1529-1538. 馬班員との共同研究
9. Takahashi K, Hayashi K, Kinoshita T* (2012) Auxin activates the plasma membrane H⁺-ATPase by phosphorylation during hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 159, 632-641. 中日新聞などに記事

10. Okumura M, Inoue S, Takahashi K, Ishizaki K, Kohchi T, Kinoshita T* (2012) Characterization of the plasma membrane H⁺-ATPase in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Physiol* 159, 826-834. 石崎班員との共同研究
11. Okumura M, Takahashi K, Inoue S, Kinoshita T* (2012) Evolutionary appearance of the plasma membrane H⁺-ATPase containing a penultimate threonine in the bryophyte. *Plant Sig Behav* 7, 979-982.
12. Kinoshita T*, Ono N, Hayashi Y, Morimoto S, Nakamura S, Soda M, Kato Y, Ohnishi M, Nakano T, Inoue S, Shimazaki K (2011) FLOWERING LOCUS T regulates stomatal opening. *Curr Biol* 21, 1232-1238. 読売新聞、中日新聞、日刊工業新聞、Nature web Japan などに記事掲載、NHK ニュースで内容紹介、Faculty of 1000 に選出
13. Hayashi M, Inoue S, Takahashi K, Kinoshita T* (2011) Immunohistochemical detection of blue light-induced phosphorylation of the plasma membrane H⁺-ATPase in stomatal guard cells. *Plant Cell Physiol* 52, 1238-1248. 表紙に採用、Faculty of 1000 に選出
14. Tsuzuki T, Takahashi K, Inoue S, Okigaki Y, Tomiyama M, Hossain MA, Shimazaki K, Murata Y, Kinoshita T* (2011) Mg-chelatase H subunit affects ABA signaling in stomatal guard cells, but is not an ABA receptor in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res* 124, 527-538. 表紙に採用

計画研究代表者 篠崎 和子 (東京大学大学院農学生命科学研究科・教授)

研究分担者：溝井 順哉 (東京大学大学院農学生命科学研究科・講師)

城所 聰 (東京大学大学院農学生命科学研究科・助教)

1. Yoshida T, Mogami J, Yamaguchi-Shinozaki K* (2015) Omics approaches toward defining the comprehensive abscisic acid signaling network in plants. *Plant Cell Physiol* 56, 1043-1052.
2. Todaka D, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2015) Recent advances in the dissection of drought-stress regulatory networks and strategies for development of drought-tolerant transgenic rice plants. *Front Plant Sci* 6, 84.
3. Yoshida T, Fujita Y, Maruyama K, Mogami J, Todaka D, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2015) Four *Arabidopsis* AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic-acid signaling in response to osmotic stress. *Plant Cell Environ* 38, 35-49.
4. Kidokoro S, Watanabe K, Ohori T, Moriwaki T, Maruyama K, Mizoi J, Myint Phyu Sin Htwe N, Fujita Y, Sekita S, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2015) Soybean DREB1/CBF-type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expression. *Plant J* 81, 505-18.
5. Mogami J, Fujita Y, Yoshida T, Tsukiori Y, Nakagami H, Nomura Y, Fujiwara T, Nishida S, Yanagisawa S, Ishida T, Takahashi F, Morimoto K, Kidokoro S, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2015) Two distinct families of protein kinases are required for plant growth under high external Mg²⁺ concentrations in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 167, 1039-57. 藤原班員との共同研究
6. Matsunaga W, Ohama N, Tanabe N, Masuta Y, Masuda S, Mitani N, Yamaguchi-Shinozaki K, Ma JF, Kato A, Ito H* (2015) A small RNA mediated regulation of a stress-activated retrotransposon and the tissue specific transposition during the reproductive period in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 6, 48. 伊藤班員との共同研究
7. Yoshida T, Mogami J and Yamaguchi-Shinozaki K* (2014) ABA-dependent and ABA-independent signaling in response to osmotic stress in plants. *Curr Opin Plant Biol* 21C, 133-139.
8. Koizumi S, Ohama N, Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2014) Functional analysis of the Hikeshi-like protein that interacts with HSP70 in *Arabidopsis*. *Biochem Biophys Res Commu* 450, 396-400.
9. Sato H, Mizoi J, Tanaka H, Maruyama K, Qin F, Osakabe Y, Morimoto K, Ohori T, Kusakabe K, Nagata M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2014) *Arabidopsis* Dpb3-1, a DREB2A interactor, specifically enhances heat stress-induced gene expression by forming a heat stress-specific transcriptional complex with NF-Y subunits. *Plant Cell* 26, 4954-4973. 化学工業日報、読売新聞に掲載
10. Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K* (2014) The transcriptional regulatory network in the drought response and its crosstalk in abiotic stress responses including drought, cold, and heat. *Front Plant Sci* 5, 170.

11. Nakashima K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2013) ABA signaling in stress-response and seed development. *Plant Cell Rep* 32, 959-70.
12. Morimoto K, Mizoi J, Qin F, Kim JS, Osakabe Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2013) Stabilization of Arabidopsis DREB2A is required but not sufficient for the induction of target genes under conditions of stress. *PloS One* 8, e80457.
13. Osakabe Y, Arinaga N, Umezawa T, Katsura S, Nagamachi K, Tanaka H, Ohiraki H, Yamada K, Seo S, Abo M, Yoshimura E, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2013) Osmotic stress responses and plant growth controlled by potassium transporters in Arabidopsis. *Plant Cell* 25, 609-624.
14. Mizoi J, Ohori T, Moriwaki T, Kidokoro S, Todaka D, Maruyama K, Kusakabe K, Osakabe Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2012) GmDREB2A;2, a canonical DREB2-type transcription factor in soybean, is post-translationally regulated and mediates DRE-dependent gene expression. *Plant Physiol* 161, 346-361.
15. Kim JS, Mizoi J, Kidokoro S, Maruyama K, Nakajima J, Nakashima K, Mitsuda N, Takiguchi Y, Ohme-Takagi M, Kondou Y, Yoshizumi T, Matsui M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2012) Arabidopsis GROWTH-REGULATING FACTOR 7 functions as a transcriptional repressor of ABA- and osmotic stress-responsive genes including DREB2A. *Plant Cell* 24, 3393-3405. **化学工業日報に掲載**
16. Fujita Y, Yoshida T, Yamaguchi-Shinozaki K* (2012) Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants. *Physiol Plant* 147, 15-27.
17. Maruyama K, Todaka D, Mizoi J, Yoshida T, Kidokoro S, Matsukura S, Takasaki H, Sakurai T, Yamamoto YY, Yoshiwara K, Kojima M, Sakakibara H, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2012) Identification of cis-acting promoter elements in cold- and dehydration-induced transcriptional pathways in Arabidopsis, rice and soybean. *DNA Res* 9, 37-49.
18. Mizoi J, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) AP2/ERF family transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim Biophys Acta* 1819, 86-96.
19. Qin F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance. *Plant Cell Physiol* 52, 1569-1582.
20. Fujita Y, Fujita M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. *J Plant Res* 124, 509-525. **Most-cited paper 賞を受賞**
21. Kodaira KS, Qin F, Tran LS, Maruyama K, Kidokoro S, Fujita Y, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) Arabidopsis Cys2/His2 zinc-finger proteins AZF1 and AZF2 negatively regulate abscisic acid-repressive and auxin-inducible genes under abiotic stress conditions. *Plant Physiol* 157, 742-756.
22. Yamada K, Kanai M, Osakabe Y, Ohiraki H, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) The monosaccharide absorption activity of *Arabidopsis* roots depends on the expression profiles of transporter genes under high salinity conditions. *J Biol Chem* 286, 43577-43586.
23. Kim JS, Mizoi J, Yoshida T, Fujita Y, Nakajima J, Ohori T, Todaka D, Nakashima K, Hirayama T, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) An ABRE promoter sequence is involved in osmotic stress-responsive expression of the DREB2A gene, which encodes a transcription factor regulating drought-inducible genes in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol* 52, 2136-2146.
24. Yoshida T, Ohama N, Nakajima J, Kidokoro S, Mizoi J, Nakashima K, Maruyama K, Kim JM, Seki M, Todaka D, Osakabe Y, Sakuma Y, Schöfl F, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K* (2011) *Arabidopsis* HsfA1 transcription factors function as the main positive regulators in heat shock-responsive gene expression. *Mol Genet Genomics* 286, 321-332.

計画研究代表者 内藤 哲（北海道大学大学院農学研究院・教授）

1. Ebina I, Takemoto-Tsutsumi M, Watanabe S, Koyama H, Endo Y, Kimata K, Igarashi T, Murakami K, Kudo R, Ohsumi A, Noh AL, Takahashi H, Naito S, Onouchi H* (2015) Identification of novel *Arabidopsis thaliana* upstream open reading frames that control expression of the main coding sequences in a peptide sequence-dependent manner. *Nucl Acids Res* 43, 1562-1576.
2. Sriyudthsak K, Sawada Y, Chiba Y, Yamashita Y, Kanaya S, Onouchi H, Fujiwara T, Naito S, Voit EO, Shiraishi F*, Hirai MY* (2014) A U-system approach for predicting metabolic behaviors and responses based on an alleged metabolic reaction network. *BMC Syst Biol Suppl.* 5, S4. **白石班員、千葉班員、藤原班員との共同研究**

3. Hagiwara-Komoda Y, Sugiyama T, Yamashita Y, Onouchi H, Naito S* (2014) The N-terminal cleavable pre-sequence encoded in the first exon of cystathionine γ -synthase contains two different functional domains for chloroplast targeting and regulation of gene expression. *Plant Cell Physiol* 55, 1779-1792.
4. Uchiyama-Kadokura N, Murakami K, Takemoto M, Koyanagi N, Murota K, Naito S, Onouchi H* (2014) Polyamine-responsive ribosomal arrest at the stop codon of an upstream open reading frame of the *AdoMet-DC1* gene triggers nonsense-mediated mRNA decay in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 55, 1556-1567.
5. Yamashita Y, Kadokura Y, Sotta N, Fujiwara T, Takigawa I, Satake A, Onouchi H, Naito S* (2014) Ribosomes in a stacked array: elucidation of the step in translation elongation at which they are stalled during *S*-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest of *CGS1* mRNA. *J Biol Chem* 289, 12693-12704. **佐竹班員、藤原班員との共同研究**
6. Yamashita Y, Onoue N, Murota K, Onouchi H, Naito S* (2014) Translation elongation arrest induced by *S*-adenosyl-L-methionine-senseing nascent peptide. In "Regulatory Nascent Polypeptides", Ed. Ito K, p.187-201. Springer, Tokyo.
7. Yamashita Y, Lambein I, Kobayashi S, Onouchi H, Chiba Y, Naito S* (2013) A halt in poly(A) shortening during *S*-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest in *CGS1* mRNA of *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet Syst* 88, 241-249. **千葉班員との共同研究**
8. Choi SH, Hagiwara-Komoda Y, Nakahara KS*, Atsumi G, Shimada R, Hisa Y, Naito S, Uyeda I (2013) Quantitative and qualitative involvement of P3N-PIPO in overcoming recessive resistance against *Clover yellow vein virus* in pea carrying the *cyy1* gene. *J Virol* 87, 7326-7337.
9. Chiba Y*, Mineta K, Hirai MY, Suzuki Y, Kanaya S, Takahashi H, Onouchi H, Yamaguchi J, Naito S (2013) Changes in mRNA stability associated with cold stress in *Arabidopsis* cells. *Plant Cell Physiol* 54, 180-194. **千葉班員との共同研究**
10. Tanaka M, Takano J, Chiba Y, Lombardo F, Ogasawara Y, Onouchi H, Naito S, Fujiwara T* (2011) Boron-dependent degradation of *NIP5;1* mRNA for acclimation to excess boron conditions in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23, 3547-3559. **藤原班員、千葉班員との共同研究**
11. Murota K, Hagiwara-Komoda Y, Komoda K, Onouchi H, Ishikawa M, Naito S* (2011) Arabidopsis cell-free extract, ACE, a new in vitro translation system derived from *Arabidopsis* callus cultures. *Plant Cell Physiol* 52, 1443-1453. [Erratum in: Plant Cell Physiol. 2012 53, 602] **表紙に採用**
12. Onoue N, Yamashita Y, Nagao N, Goto DB, Onouchi H, Naito S* (2011) *S*-Adenosyl-L-methionine induces compaction of nascent peptide chain inside the ribosomal exit tunnel upon translation arrest in the *Arabidopsis CGS1* gene. *J Biol Chem* 286, 14903-14912. **同誌の Papers of the Week に採択**

計画研究代表者 山谷 知行 (東北大学研究推進本部・特任教授)

研究分担者：草野 都 (筑波大学生命環境科学研究所・教授)

- Maruyama-Nakashita A*, Watanabe-Takahashi A, Inoue E, Yamaya T, Saito K, Takahashi H (2015) Sulfur-responsive elements in the 3'-non-transcribed intergenic region are essential for the induction of *SULFATE TRANSPORTER 2;1* gene expression in *Arabidopsis* roots under sulfur deficiency. *Plant Cell* (in press) **丸山班員との共同研究**
- Wada S, Hayashida Y, Izumi M, Kurusu T, Hanamata S, Kanno K, Kojima S, Yamaya T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H* (2015) Autophagy supports biomass production and nitrogen use efficiency at the vegetative stage in rice. *Plant Physiol* (in press) **石田班員との共同研究**
- Ohashi M, Ishiyama K, Kojima S, Nakano K, Kanno K, Hayakawa T, Yamaya T* (2015) Asparagine synthetase1, but not asparagine synthetase2, is responsible for the biosynthesis of asparagine following the supply of ammonium to rice roots. *Plant Cell Physiol* 56, 769-778. **Selected a highlight paper**
- Seki M, Feugier FG, Song XJ, Ashikari M, Nakamura H, Ishiyama K, Yamaya Y, Ikeda M, Kitano H, Satake A* (2015) A mathematical model of phloem sucrose transport as a new tool for designing rice panicle structure for high grain yield. *Plant Cell Physiol* 56, 605-619. **佐竹班員との共同研究**
- Ohashi M, Ishiyama K, Kusano M, Fukushima A, Kojima S, Hanada A, Kanno K, Hayakawa T, Seto Y, Kyozuka

- J, Yamaguchi S, Yamaya T* (2015) Lack of cytosolic glutamine synthetase1;2 in vascular tissues of axillary buds caused severe reduction in their outgrowth and disorder of metabolic balance in rice seedlings. *Plant J* 81, 347-356. 経塚班員との共同研究
6. Kojima S*, Konishi N, Beier MP, Ishiyama K, Maru I, Hayakawa T, Yamaya T (2014) NADH-dependent glutamate synthase assimilates ammonium in Arabidopsis roots. *Plant Sig Behav* 9, e29402.
 7. Yamaya T*, Kusano M (2014) Evidences supporting distinct functions of three cytosolic glutamine synthetases and two NADH-glutamate synthases in rice. *J Exp Bot* 65, 5519-5525.
 8. Konishi N, Ishiyama K, Matsuoka K, Maru I, Hayakawa T, Yamaya T, Kojima S* (2014) NADH-dependent glutamate synthase plays a crucial role in assimilating ammonium in Arabidopsis root. *Physiol Plant* 152, 138-151.
 9. Funayama K, Kojima S, Tabuchi-Kobayashi M, Sawa Y, Nakayama Y, Hayakawa T, Yamaya T* (2013) Cytosolic glutamine synthetase1;2 is responsible for the primary assimilation of ammonium in rice roots. *Plant Cell Physiol* 54, 934-943. Selected a highlight paper
 10. Tamura W, Kojima S, Toyokawa A, Watanabe H, Tabuchi-Kobayashi M, Hayakawa T, Yamaya T* (2011) Disruption of a novel NADH-glutamate synthase2 gene caused marked reduction in spikelet number of rice. *Front Plant Sci* 2, 57.
 11. Kusano M, Tabuchi M, Fukushima A, Funayama K, Diaz C, Kobayashi M, Hayashi N, Tsuchiya NY, Takahashi H, Kamata A, Yamaya T*, Saito K* (2011) Metabolomics data reveal a crucial role of cytosolic glutamine synthetase 1;1 in coordinating metabolic balance in rice. *Plant J* 66, 456-466.

公募研究代表者 石田 喬志（熊本大学大学院自然科学研究科・特任助教）

1. Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, Chen P, Ohtani M, Ishida T, Hosoya H, Müller S, Levczky T, Pettkó-Szandtner A, Darula Z, Iwamoto A, Nomoto M, Tada Y, Higashiyama T, Demura T, Doonan JH, Hauser MT, Sugimoto K, Umeda M, Magyar Z, Bögre L, Ito M* (2015) Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J* (in press) 伊藤（正）班員、梅田班員、杉本班員、岩元班員との共同研究
2. Shimizu N, Ishida T*, Yamada M, Shigenobu S, Tabata R, Kinoshita A, Yamaguchi K, Hasebe M, Mitsumasu K, Sawa S (2015) BAM 1 and RECEPTOR-LIKE PROTEIN KINASE 2 constitute a signaling pathway and modulate CLE peptide triggered growth inhibition in Arabidopsis root. *New Phytol* (in press)
3. Ishida T, Tabata R, Yamada M, Aida M, Mitsumasu K, Fujiwara M, Yamaguchi K, Shigenobu S, Higuchi M, Tsuji H, Shimoamoto K, Hasebe M, Fukuda H, Sawa S* (2014) Heterotrimeric G proteins control stem cell proliferation through CLAVATA signaling in Arabidopsis. *EMBO Rep* 15, 1202-1209. 熊本日日新聞に掲載

公募研究代表者 石田 宏幸（東北大学大学院農学研究科・准教授）

1. Wada S, Hayashida Y, Izumi M, Kurusu T, Hanamata S, Kanno K, Kojima S, Yamaya T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H* (2015) Autophagy supports biomass production and nitrogen use efficiency at the vegetative stage in rice. *Plant Physiol* 168, 60-73. 山谷班員との共同研究
2. Izumi M, Hidema J, Wada S, Kondo E, Kurusu T, Kuchitsu K, Makino A, Ishida H* (2015) Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation. *Plant Physiol* 167, 1307-1320. 日本農業新聞、日経バイオテクに掲載
3. Ishida H*, Izumi M, Wada S, Makino A (2014) Roles of autophagy in chloroplast recycling. *Biochim Biophys Acta-Bioenerg* 1837, 512-521.
4. Izumi M, Hidema J, Ishida H* (2013) Deficiency of autophagy leads to significant changes of metabolic profiles in Arabidopsis. *Plant Signal Behav* 8, e25023.
5. Izumi M, Hidema J, Makino A, Ishida H* (2013) Autophagy contributes to nighttime energy availability for growth in Arabidopsis. *Plant Physiol* 161, 1682-1693.
6. Ono Y, Wada S, Izumi M, Makino A, Ishida H* (2013) Evidence for contribution of autophagy to the Rubisco degradation during leaf senescence in Arabidopsis. *Plant Cell Environ* 36, 1147-1159.

7. Izumi M, Tsunoda H, Suzuki Y, Makino A, Ishida H* (2012) *RBCS1A* and *RBCS3B*, two major members within the *Arabidopsis* RBCS multigene family, function to yield sufficient Rubisco content for leaf photosynthetic capacity. *J Exp Bot* 63, 2159-2170.

公募研究代表者 伊藤 秀臣（北海道大学大学院理学研究院・助教）

1. Matsunaga W, Ohama N, Tanabe N, Masuta Y, Masuda S, Mitani-Umeno N, Yamaguchi-Shinozaki K, Ma JF, Kato A, Ito H* (2015) A small RNA mediated regulation of a stress-activated retrotransposon and the tissue specific transposition during the reproductive period in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 6, 48. 馬班員、篠崎班員との共同研究
2. Ito H* (2013) Small RNAs and regulation of transposons in plants. *Genes Genet Syst* 88, 3-7.
3. Ito H, Yoshida T, Tsukahara S, Kawabe A* (2013) Evolution of the ONSEN retrotransposon family activated upon heat stress in Brassicaceae. *Gene* 518, 256-261.
4. Matsunaga W, Kobayashi A, Kato A, Ito H* (2012) The effects of heat induction and the siRNA biogenesis pathway on the transgenerational transposition of ONSEN, a copia-like retratransposon in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 53, 824-833.
5. Ito H* (2012) Small RNAs and transposon silencing in plants. *Develop Growth Differ* 54, 100-107.

公募研究代表者 坂本 敦（広島大学大学院理学研究科・教授）

1. Sakamoto A*, Nishimura T, Miyaki Y, Watanabe S, Takagi H, Izumi S, Shimada H (2015) *In vitro* and *in vivo* evidence for oxalate oxidase activity of a germin-like protein from azalea. *Biochem Biophys Res Commun* 458, 536-542.
2. Watanabe S, Kounosu Y, Shimada H, Sakamoto A* (2014) *Arabidopsis xanthine dehydrogenase* mutants defective in purine degradation show a compromised protective response to drought and oxidative stress. *Plant Biotechnol* 31, 173-178.
3. Watanabe S, Matsumoto M, Hakomori Y, Takagi H, Shimada H, Sakamoto A* (2014) The purine metabolite allantoin enhances abiotic stress tolerance through synergistic activation of abscisic acid metabolism. *Plant Cell Environ* 37, 1022-1036.

公募研究代表者 佐藤 雅彦（京都府立大学大学院生命環境科学研究所・准教授）

1. Ichikawa M, Nakai Y, Arima K, Nishiyama S, Hirano T, Sato MH* (2015) A VAMP-associated protein, PVA31 is involved in leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* 10, e990847.
2. Kolb C, Nagel MK, Kalinowska K, Hagmann J, Ichikawa M, Anzenberger F, Alkofer A, Sato MH, Braun P, Isono E (2015) FYVE1 is essential for vacuole biogenesis and intracellular trafficking in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 167, 1361-1373.
3. Ichikawa M, Hirano T, Enami K, Fuselier T, Kato N, Kwon C, Voigt B, Schulze-Lefert P, Baluška F, Sato MH* (2014) Syntaxin of plant proteins SYP123 and SYP132 mediate root hair tip growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 55, 790-800.

公募研究代表者 下嶋 美恵（東京工業大学大学院生命理工学研究科・准教授）

1. Murakawa M⁺, Shimojima M⁺, Shimomura Y, Kobayashi K, Awai K, Ohta H* (2014) Monogalactosyldiacylglycerol synthesis in the outer envelope membrane of chloroplasts is required for enhanced growth under sucrose supplementation. *Front Plant Sci* 23, 280. (+: equally contribution)
2. Iwai M, Ikeda K, Shimojima M and Ohta H* (2014) Enhancement of extraplastidic oil synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* using a type-2 diacylglycerol acyltransferase with a phosphorus starvation-inducible promoter. *Plant Biotechnol J* 12, 808-819. 日経産業新聞、科学新聞に掲載

3. Shimojima M, Watanabe T, Madoka Y, Koizumi R, Yamamoto MP, Masuda K, Yamada K, Masuda S, Ohta H* (2013) Differential regulation of two types of monogalactosyldiacylglycerol synthase in membrane lipid remodeling under phosphate-limited conditions in sesame plants. *Front Plant Sci* 4, 469.
4. Yuzawa Y, Shimojima M*, Sato R, Mizusawa N, Ikeda K, Suzuki M, Iwai M, Hori K, Wada H, Masuda S, Ohta H (2013) Cyanobacterial monogalactosyldiacylglycerol-synthesis pathway is involved in normal unsaturation of galactolipids and low-temperature adaptation of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim Biophys Acta* 1841, 475-483.

公募研究代表者 関 原明 (理化学研究所環境資源科学研究センター・チームリーダー)

1. Kim JM, Sasaki T, Ueda M, Sako K, Seki M* (2015) Chromatin changes in response to drought, salinity, heat, and cold stresses in plants. *Front Plant Sci* 6, 114.
2. Kim JM, To TK, Tanaka M, Endo TA, Matsui A, Ishida J, Robertson FC, Toyoda T, Seki M* (2014) Highly-reproducible ChIP-on-chip analysis to identify genome-wide protein binding and chromatin status in Arabidopsis. In "Methods in Molecular Biology- A third edition of the Arabidopsis Protocols" (Edited by Drs. Jose J. Sanchez-Serrano and Julio Salinas)". Humana Press Inc, NJ.Humana Press Inc., NJ, 1062, 405-426.
3. Kim JM, To TK, Seki M* (2012) An epigenetic integrator: New insights into genome regulation, environmental stress responses and developmental controls by HISTONE DEACETYLASE 6. *Plant Cell Physiol* 53, 794-800. 表紙に採用
4. 金 鍾明・遠藤高帆・石田順子・豊田哲郎・関 原明* (2011) 「高速シーケンサーを用いたシロイヌナズナにおけるエピゲノム解析の実際」 *植物の生長調節* 46, 142-148.

公募研究代表者 竹澤 大輔 (埼玉大学大学院理工学研究科・准教授)

1. Takezawa D, Watanabe N, Ghosh TK, Saruhashi M, Suzuki A, Ishiyama K, Somemiya S, Kobayashi M, Sakata Y* (2015) Epoxyxcarotenoid-mediated synthesis of abscisic acid in *Physcomitrella patens* implicating conserved mechanisms for acclimation to hyperosmosis in embryophytes. *New Phytol* 206, 209-219.
2. Akter K, Kato M, Sato Y, Kaneko Y, Takezawa D* (2014) Abscisic acid-induced rearrangement of intracellular structures associated with freezing and desiccation stress tolerance in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *J Plant Physiol* 171, 1334-1343.
3. Sakata Y*, Komatsu K, Takezawa D (2014) ABA as a universal plant hormone. *Prog Bot* 75, 58-96.
4. Bhyan SB, Minami A, Kaneko Y, Suzuki S, Arakawa K, Sakata Y, Takezawa D* (2012) Cold acclimation in the moss *Physcomitrella patens* involves abscisic acid-dependent signaling. *J Plant Physiol* 169, 137-145.

公募研究代表者 太治 輝昭 (東京農業大学バイオサイエンス学科・准教授)

1. Ariga H, Katori T, Yoshihara R, Hase Y, Nozawa S, Narumi I, Sakata Y, Hayashi T, Taji T* (2013) *Arabidopsis sos1* mutant in a salt-tolerant accession revealed an importance of salt acclimation ability in plant salt tolerance. *Plant Signal Behav* 8, e24779.
2. Higashi Y, Ohhama N, Ishikawa T, Shimura A, Katori T, Kusakabe K, Yamaguchi-Shinozaki K, Ishida J, Tanaka M, Seki M, Shinozaki K, Sakata Y, Hayashi T, Taji T* (2013) *Thellungiella salsuginea* HsfA1d, a protein identified via FOX hunting, functions as a major positive regulator in heat stress response. *Mol Plant* 6, 411-422.

公募研究代表者 千葉 由佳子 (北海道大学大学院理学研究院・准教授)

1. Suzuki Y, Arae T, Green PJ, Yamaguchi J, Chiba Y* (2015) AtCCR4a and AtCCR4b are involved in determining the poly(A) length of Granule-bound starch synthase 1 transcript and modulating sucrose and starch metabolism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* (in press)
2. Yamashita Y, Lambein I, Kobayashi S, Onouchi H, Chiba Y, Naito S* (2013) A halt in poly(A) shortening

during S-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest in CGS1 mRNA of *Arabidopsis thaliana*. *Genes Gen Sys* 88, 241-249. 内藤班員との共同研究

3. Chiba Y*, Mineta K, Hirai YM, Suzuki Y, Kanaya S, Takahashi H, Onouchi H, Yamaguchi J, Naito S (2013) Changes in mRNA stability associated with cold stress in *Arabidopsis* cells. *Plant Cell Physiol* 54, 180-194. 内藤班員との共同研究

公募研究代表者 西山 佳孝 (埼玉大学大学院理工学研究科・教授)

1. Nagano T, Yutthanasirikul R, Hihara Y, Hisabori T, Kanamori T, Takeuchi N, Ueda T, Nishiyama Y* (2015) Oxidation of translation factor EF-G transiently retards the translational elongation cycle in *Escherichia coli*. *J Biochem* (in press)
2. Kusama Y, Inoue S, Jimbo H, Takaichi S, Sonoike K, Hihara Y, Nishiyama Y* (2015) Zeaxanthin and echinenone protect the repair of photosystem II from inhibition by singlet oxygen in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Cell Physiol* 56, 906-916.
3. Nishiyama Y*, Murata N (2014) Revised scheme for the mechanism of photoinhibition and its application to enhance the abiotic stress tolerance of the photosynthetic machinery. *Appl Microbiol Biotechnol* 98, 8777-8796.

公募研究代表者 堀江 智明 (信州大学学術研究院纖維学系・准教授)

1. Schroeder JI*, Delhaize E, Frommer WB, Guerinot ML, Harrison MJ, Herrera-Estrella L, Horie T, Kochian LV, Munns R, Nishizawa NK, Tsay YF, Sanders D* (2013) Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. *Nature* 497, 60-66.
2. Horie T*, Karahara I, Katsuhara M (2012) Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice* 5, 11.
3. Horie T, Brodsky DE, Costa A, Kaneko T, Schiavo FL, Katsuhara M, Schroeder JI* (2011) K⁺ transport by the OsHKT2;4 transporter from rice with a typical Na⁺ transport properties and competition in permeation of K⁺ over Mg²⁺ and Ca²⁺ ions. *Plant Physiol* 156, 1493-1507.

公募研究代表者 宮地 孝明 (岡山大学自然生命科学研究支援センター・准教授)

1. Miyaji T*, Kuromori T, Takeuchi Y, Yamaji N, Yokosho K, Shimazawa A, Sugimoto E, Omote H, Ma JF, Shinozaki K, Moriyama Y* (2015) AtPHT4;4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 6, 5928. 馬班員との共同研究. NHK 等報道、山陽新聞など掲載、Nature Plants, Molecular Plant の News & View に取り上げられた
2. Hiasa M*, Togawa N, Miyaji T, Omote H, Yamamoto A, Moriyama Y* (2014) Essential role of vesicular nucleotide transporter in vesicular storage and release of nucleotides in platelets. *Physiol Rep* 2, e12034. 山陽新聞掲載

公募研究代表者 上野 大勢 (高知大学教育研究部・准教授)

1. Chen Z, Fujii Y, Yamaji N, Masuda S, Takemoto Y, Kamiya T, Yusuyin Y, Iwasaki K, Kato S, Maeshima M, Ma JF, Ueno D* (2013) Mn tolerance in rice is mediated by MTP8.1, a member of the cation diffusion facilitator family. *J Exp Bot* 64, 4375-4387. 馬班員との共同研究

公募研究代表者 小林 優 (京都大学大学院農学研究科・准教授)

1. Oiwa T, Kitayama K, Kobayashi M*, Matoh T (2013) Boron deprivation immediately causes cell death in growing roots of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Soil Sci Plant Nutr* 59, 621-627.

1. Fukao Y*, Yoshida M, Kurata R, Kobayashi M, Nakanishi M, Fujiwara M, Nakajima K, Ferjani A (2013) Peptide separation methodologies for in-depth proteomics in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol* 54, 808-815.
2. Zargar SM, Fujiwara M, Inaba S, Kobayashi M, Kurata R, Ogata Y, Fukao Y* (2014) Correlation analysis of proteins responsive to Zn, Mn, or Fe deficiency in *Arabidopsis* roots based on iTRAQ analysis. *Plant Cell Rep* 34, 157-166.

1. Maruyama-Nakashita A*, Watanabe-Takahashi A, Inoue E, Yamaya T, Saito K, Takahashi H (2015) Sulfur-responsive elements in the 3'-non-transcribed intergenic region are essential for the induction of SULFATE TRANSPORTER 2;1 gene expression in *arabidopsis* roots under sulfur deficiency. *Plant Cell* 27, 1279-1296. 山谷班員との共同研究

研究項目 A02 －成長戦略研究－

1. Seki M, Feugier FG, Song XJ, Ashikari M, Nakamura H, Ishiyama K, Yamaya T, Inari-Ikeda M, Kitano H, Satoh A* (2015) A mathematical model of phloem sucrose transport as a new tool for designing rice panicle structure for high grain yield. *Plant Cell Physiol* 56, 605-619. 佐竹班員、山谷班員との共同研究
2. Song XJ, Kuroha T, Ayano M, Furuta T, Nagai K, Komeda N, Segami S, Miura K, Ogawa D, Kamura T, Suzuki T, Higashiyama T, Yamasaki M, Mori H, Inukai Y, Wu J, Kitano H, Sakakibara H, Jacobsen SE, Ashikari M* (2015) Rare allele of a previously unidentified histone H4 acetyltransferase enhances grain weight, yield, and plant biomass in rice. *Proc Natl Acad Sci USA* 112, 76-81.
3. Ayano M, Kani T, Kojima M, Sakakibara H, Kitaoka T, Kuroha T, Shim RA, Kitano H, Nagai K, Ashikari M* (2014) Gibberellin biosynthesis and signal transduction is essential for internode elongation in deepwater rice. *Plant Cell Environ* 37, 2313-2324.
4. Nagai K, Kondo Y, Kitaoka T, Noda T, Kuroha T, Shim RA, Yasui H, Yoshimura A, Ashikari M (2014) QTL analysis of internode elongation in response to gibberellin in deepwater rice. *AOB Plant* 6, plu.028.
5. Furuta T, Uehara K, Shim R, Shim J, Ashikari M, Takashi T* (2014) Development and evaluation of chromosome segment substitution lines (CSSLs) carrying chromosome segments derived from *Oryza rufipogon* in the genetic background of *Oryza sativa* L. *Breed Sci* 63, 468-475.
6. Nagai K, Kuroha T, Ayano M, Kurokawa Y, Angeles-Shim R, Shim JH, Yasui H, Yoshimura A, Ashikari M* (2012) Two novel QTLs regulate internode elongation in deepwater rice during the early vegetative stage. *Breed Sci* 62, 178-185.

1. Chen P, Umeda M* (2015) DNA double-strand breaks induce the expression of flavin-containing monooxygenase and reduce root meristem size in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Cells* (in press)
2. Takatsuka H, Umeda-Hara C, Umeda M* (2015) Cyclin-dependent kinase-activating kinases CDKD;1 and CDKD;3 are essential for preserving mitotic activity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 82, 1004-1017.
3. Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, Chen P, Ohtani M, Ishida T, Hosoya H, Müller S, Levczky T, Pettkó-Szandtner A, Darula Z, Iwamoto A, Nomoto M, Tada Y, Higashiyama T, Demura T, Doonan JH, Hauser MT, Sugimoto K, Umeda M, Magyar Z, Bögre L, Ito M* (2015) Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J* (in press) 伊藤 (正) 班員、杉本班員、岩元班員との共同研究

4. Yin K, Ueda M, Takagi H, Kajihara T, Sugamata Aki S, Nobusawa T, Umeda-Hara C, Umeda M* (2014) A dual-color marker system for *in vivo* visualization of cell cycle progression in *Arabidopsis*. *Plant J* 80, 541-552.
5. Yoshiyama KO*, Kimura S, Maki H, Britt AB, Umeda M (2014) The role of SOG1, a plant-specific transcriptional regulator, in the DNA damage response. *Plant Signal Behav* 9, e28889.
6. Takahashi N, Umeda M* (2014) Cytokinins promote onset of endoreplication by controlling cell cycle machinery. *Plant Signal Behav* 9, e29396.
7. Okushima Y, Shimizu K, Ishida T, Sugimoto K, Umeda M* (2014) Differential regulation of B2-type CDK accumulation in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell Rep* 33, 1033-1040. 杉本班員との共同研究
8. Takatsuka H, Umeda M* (2014) Hormonal control of cell division and elongation along differentiation trajectories in roots. *J Exp Bot* 65, 2633-2643.
9. Yi D, Kamei CLA, Cools T, Vanderauwera S, Takahashi N, Okushima Y, Eekhout T, Yoshiyama KO, Larkin J, Van den Daele H, Conklin P, Britt A, Umeda M, De Veylder L* (2014) The *Arabidopsis thaliana* SIAMESE-RELATED cyclin-dependent kinase inhibitors SMR5 and SMR7 control the DNA damage checkpoint in response to reactive oxygen species. *Plant Cell* 26, 296-309.
10. Takahashi N, Kajihara T, Okamura C, Kim Y, Katagiri Y, Okushima Y, Matsunaga S, Hwang I, Umeda M* (2013) Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots. *Curr Biol* 23, 1812-1817. 産経新聞、奈良新聞、化学工業日報に掲載
11. Yoshiyama KO*, Kobayashi J, Ogita N, Ueda M, Kimura S, Maki H, Umeda M* (2013) ATM-mediated phosphorylation of SOG1 is essential for the DNA damage response in *Arabidopsis*. *EMBO Rep* 14, 817-822.
12. Nobusawa T, Okushima Y, Nagata N, Kojima M, Sakakibara H, Umeda M* (2013) Synthesis of very-long-chain fatty acids in the epidermis controls plant organ growth by restricting cell proliferation. *PLoS Biol* 11, e1001531. 毎日新聞、朝日新聞、奈良新聞、読売新聞、日本経済新聞、日経産業新聞に掲載
13. Nobusawa T, Okushima Y, Nagata N, Kojima M, Sakakibara H, Umeda M* (2013) Restriction of cell proliferation in internal tissues via the synthesis of very-long-chain fatty acids in the epidermis. *Plant Signal Behav* 8, e25232.
14. Takahashi N, Kong S, Umeda M* (2013) Dof transcription factors control the expression of the anaphase promoting complex/cyclosome activator CCS52A1. *Plant Biotechnol* 30, 407-410.
15. Breuer C, Morohashi K, Kawamura A, Takahashi N, Ishida T, Umeda M, Grotewold E, Sugimoto K* (2012) Transcriptional repression of the APC/C activator CCS52A1 contributes to the active termination of cell growth. *EMBO J* 31, 4488-4501. 杉本班員との共同研究
16. Nobusawa T, Umeda M* (2012) Very-long-chain fatty acids have an essential role in plastid division by controlling Z-ring formation in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Cells* 17, 709-719.
17. Sakamoto T, Tsujimoto-Inui Y, Uraguchi S, Yoshizumi T, Matsunaga S, Matsui M, Umeda M, Fukui K, Fujiwara T* (2011) Condensin II alleviates DNA damage and is essential for tolerance of B overload stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23, 3533-3546. 藤原班員との共同研究
18. Endo M, Nakayama S, Umeda-Hara C, Ohtsuki N, Saika H, Umeda M, Toki S* (2011) CDKB2 is involved in mitosis and DNA damage response in rice. *Plant J* 69, 967-977.
19. Adachi S, Minamisawa K, Okushima Y, Inagaki S, Yoshiyama K, Kondou Y, Kaminuma E, Kawashima M, Toyota T, Matsui M, Kurihara D, Matsunaga S, Umeda M* (2011) Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 108, 10004-10009. 朝日新聞、産経新聞、日刊工業新聞、日経産業新聞などに掲載、Faculty of 1000 に選出
20. Okushima Y, Inamoto H, Umeda M* (2011) A high concentration of nitrate causes temporal inhibition of lateral root growth by suppressing cell proliferation. *Plant Biotechnol* 28, 413-416.
21. Inagaki S, Umeda M* (2011) Cell-cycle control and plant development. *Int Rev Cell Mol Biol* 291, 227-261.

計画研究代表者 経塚 淳子（東北大学生命科学研究科・教授）

- Kameoka H, Kyozuka J* (2015) Downregulation of rice DWARF 14 LIKE suppress mesocotyl elongation via a strigolactone independent pathway in the dark. *J Genet Genomics* 20, 119-124.
- Ohashi M, Ishiyama K, Kusano M, Fukushima A, Kojima S, Hanada A, Kanno K, Hayakawa T, Seto Y, Kyozuka

- Yamaguchi S, Yamaya T* (2015) Lack of cytosolic glutamine synthetase1;2 in vascular tissues of axillary buds caused severe reduction in their outgrowth and disorder of metabolic balance in rice seedlings. *Plant J* 81, 347-356. 山谷班員との共同研究
3. Li W, Yoshida A, Takahashi M, Maekawa M, Kojima M, Sakakibara, H, Kyozuka J* (2015) SAD1, an RNA polymerase I subunit A34.5 of rice, interacts with Mediator and controls various aspects of plant development. *Plant J* 81, 282-291.
 4. Kyozuka J*, Tokunaga H, Yoshida A (2014) Control of grass inflorescence form by the fine-tuning of meristem phase change. *Curr Opin Plant Biol* 17, 110-115.
 5. Yoshida A, Sasao M, Yasuno N, Takagi K, Daimon Y, Chen R, Yamazaki R, Tokunaga H, Kitaguchi Y, Sato Y, Nagamura Y, Usijima T, Kumamaru T, Iida S, Maekawa M, Kyozuka J* (2012) TAWAWA1, a novel regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition. *Proc Natl Acad Sci USA* 110, 767-772.
 6. Seto Y, Kameoka H, Yamaguchi S, Kyozuka J* (2012) Recent advances in strigolactone research: chemical and biological aspects. *Plant Cell Physiol* 53, 1843-1853.
 7. Luo L, Li W, Miura K, Ashikari M, Kyozuka J* (2012) Control of tiller growth of rice by *OsSPL14* and strigolactones, which work in two independent pathways. *Plant Cell Physiol* 53, 1793-1801. 芦刈班員との共同研究
 8. Kobayashi K, Yasuno N, Sato Y, Yoda M, Yamazaki R, Kimizu M, Yoshida H, Nagamura Y, Kyozuka J* (2012) Inflorescence meristem identity in rice is specified by overlapping functions of three AP1/FUL-like MADS box genes and *PAP2*, a *SEP* MADS box gene. *Plant Cell* 24, 1848-1859.

計画研究代表者 杉本 慶子（理化学研究所環境資源科学研究センター・チームリーダー）

1. Ikeuchi M⁺, Iwase A⁺, Rymen B, Harashima H, Shibata M, Ohnuma M, Breuer C, Morao AK, de Lucas M, De Veylder L, Goodrich J, Brady SM, Roudier F, Sugimoto K (2015) PRC2 represses dedifferentiation of mature somatic cells in Arabidopsis. *Nature Plants* (in press) (⁺: equally contributed)
2. Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, Chen P, Ohtani M, Ishida T, Hosoya H, Müller S, Levczky T, Pettkó-Szandtner A, Darula Z, Iwamoto A, Nomoto M, Tada Y, Higashiyama T, Demura T, Doonan JH, Hauser MT, Sugimoto K, Umeda M, Magyar Z, Bögre L, Ito M* (2015) Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J* (in press) 伊藤（正）班員、梅田班員、岩元班員、石田班員との共同研究
3. Sugimoto K* (2015) Plant cell reprogramming as an adaptive strategy. *J Plant Res* 128, 345-347.
4. Iwase A*, Mita K, Nonaka S, Ikeuchi M, Koizuka K, Ohnuma M, Ezura H, Imamura J, Sugimoto K* (2015) WIND1-based acquisition of regeneration competency in Arabidopsis and rapeseed. *J Plant Res* 128, 389-397.
5. 岩瀬哲・池内桃子・杉本慶子 (2015) カルス形成の分子メカニズム～アクセル因子とブレーキ因子～ BSJ-review http://bsj.or.jp/jpn/general/BSJ-Review_6A_2-22.pdf
6. 池内桃子・岩瀬哲・杉本慶子 (2015) 傷付いた植物はどのように修復・再生するのか BSJ-review http://bsj.or.jp/jpn/general/BSJ-Review_6A_23-30.pdf
7. Breuer C, Braidwood L, Sugimoto K* (2014) Endocycling in the path of plant development. *Curr Opin Plant Biol* 17, 78-85.
8. Braidwood L, Breuer C, Sugimoto K* (2014) My body is a cage: Mechanisms and modulation of plant cell growth. *New Phytol* 201, 388-402.
9. Ikeuchi M, Sugimoto K, Iwase A* (2013) Plant callus: mechanisms of induction and repression. *Plant Cell* 25, 3159-3173.
10. Schneider K, Breuer C, Kawamura A, Jikumaru Y, Hanada A, Fujioka S, Ichikawa T, Kondou Y, Minami M, Kamiya Y, Yamaguchi S, Sugimoto K* (2012) Arabidopsis PIZZA has the capacity to acylate brassinosteroids. *PLoS ONE* 7, e46805.
11. Komaki S, Sugimoto K* (2012) Control of the plant cell cycle by developmental and environmental cues. *Plant Cell Physiol* 53, 953-964.
12. Rymen B, Sugimoto K* (2012) Tuning growth to the environmental demands. *Curr Opin Plant Biol* 15, 683-

13. Breuer C, Morohashi K, Kawamura A, Takahashi N, Ishida T, Umeda M, Grotewold E, Sugimoto K* (2012) Transcriptional repression of the APC/C activator CCS52A1 promotes the active termination of cell growth. *EMBO J* 31, 4488-4501. 梅田班員との共同研究、日刊工業新聞、日経BPオンラインなどに掲載
14. Komaki S, Sugimoto K* (2012) Control of the plant cell cycle by developmental and environmental cues. *Plant Cell Physiol* 53, 953-964.
15. Kobayashi K*, Baba S, Obayashi T, Sato M, Toyooka K, Keränen M, Eva-Mari A, Fukaki H, Ohta H, Sugimoto K, Masuda T (2012) Regulation of root greening by light and auxin/cytokinin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 24, 1081-1095. 持田班員の連携研究者豊岡との共同研究、Nature web Japan などに掲載
16. Iwase A, Ohme-Takagi M, Sugimoto K* (2011) WIND1: A key molecular switch for plant cell dedifferentiation. *Plant Signal Behav* 6, 1943-1945.

公募研究代表者 石崎 公庸 (神戸大学大学院理学研究科・准教授)

1. Eklund DM, Ishizaki K, Flores-Sandoval E, Kikuchi S, Takebayashi Y, Tsukamoto S, Hirakawa Y, Nonomura M, Kato H, Kouno M, Bhalerao RP, Lagercrants U, Kasahara H, Kohchi T, Bowman JL* (2015) Auxin produced by IPyA pathway regulates development and gemma dormancy in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell* (in press)
2. Kato H, Ishizaki K, Kouno M, Shirakawa M, Bowman JL, Nishihama R, Kohchi T* (2015) Auxin-mediated transcriptional system with a minimal set of components is critical for morphogenesis through the life cycle in *Marchantia polymorpha*. *PLoS Genet* 11, e1005084.
3. Kubota A, Kita S, Ishizaki K, Nishihama R, Yamato KT, Kohchi T* (2014) Co-option of a photoperiodic growth phase transition system during land plant evolution. *Nature Commun* 5, 3668. 京都新聞、日刊工業新聞に掲載
4. Ishizaki K, Mizutani M, Shimamura M, Masuda A, Nishihama R, Kohchi T* (2013) Essential role of the E3 ubiquitin ligase NOPPERABO1 in schizogenous intercellular space formation in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Cell* 25, 4075-4084.
5. Kanazawa T, Ishizaki K, Kohchi T, Hanaoka M, Tanaka K* (2013) Characterization of four nuclear-encoded plastid RNA polymerase sigma factor genes in the liverwort *Marchantia polymorpha*: blue-light and multiple-stress responsive SIG5 was acquired early in the emergence of terrestrial plants. *Plant Cell Physiol* 54, 1736-1748.
6. Ogasawara Y, Ishizaki K, Kohchi T, Kodama Y* (2013) Cold-induced organelle relocation in the liverwort *Marchantia polymorpha* L. *Plant Cell Environ* 36, 1520-1528.
7. Ishizaki K, Johzuka-Hisatomi Y, Ishida S, Iida S, Kohchi T* (2013) Homologous recombination-mediated gene targeting in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Sci Rep* 3, 1532.
8. Kubota A, Ishizaki K, Hosaka M, Kohchi T* (2012) Efficient Agrobacterium-mediated transformation of the liverwort *Marchantia polymorpha* using regenerating thalli. *Biosci Biotechnol Biochem* 77, 167-172. BBB論文賞受賞
9. Ishizaki K, Nonomura M, Kato H, Yamato KT, Kohchi T* (2012) Visualization of auxin-mediated transcriptional activation using a common auxin-responsive reporter system in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *J Plant Res* 125, 826-834. JPR論文賞 Best Paper Award 受賞
10. Okumura M, Inoue S, Takahashi K, Ishizaki K, Kohchi T, Kinoshita T* (2012) Characterization of the plasma membrane H⁺-ATPase in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *Plant Physiol* 159, 826-834. 木下班員との共同研究

公募研究代表者 伊藤 正樹 (名古屋大学大学院生命農学研究科・准教授)

1. Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, Chen P, Ohtani M, Ishida T, Hosoya H, Müller S, Leviszky T, Pettkó-Szandtner A, Darula Z, Iwamoto A, Nomoto M, Tada Y, Higashiyama T, Demura T, Doonan JH, Hauser MT, Sugimoto K, Umeda M, Magyar Z, Bögör L, Ito M* (2015) Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J* (in press) 梅田班員、杉本班員、岩元班員、石田班員との共同研究

2. Saito T, Fujikawa H, Haga N, Suzuki T, Machida Y, Ito M* (2015) Genetic interaction between G2/M phase-specific transcription factor MYB3R4 and MAPKKK ANP3 for execution of cytokinesis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav* 10, e990817.
3. Araki S, Machida Y, Ito M* (2012) Virus-induced gene silencing of *NtmybA1* and *NtmybA2* causes incomplete cytokinesis and reduced shoot elongation in *Nicotiana benthamiana*. *Plant Biotechnol* 29, 483-487.
4. Iwata E, Ikeda S, Abe, N, Kobayashi, A, Matsunaga S, Kurata M, Yoshioka Y, Criqui MC, Genschik P, Ito M*. (2012) Roles of GIG1 and UVI4 in genome duplication in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav* 7, 1079 -1081.
5. Iwata E, Ikeda S, Matsunaga S, Kurata M, Yoshioka Y, Criqui MC, Genschik P, Ito M* (2011) GIGAS CELL1, a novel negative regulator of the anaphase-promoting complex/cyclosome, is required for proper mitotic progression and cell fate determination in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 23, 4382-4393. 朝日新聞、中日新聞に掲載
6. Haga N, Kobayashi K, Suzuki T, Maeo K, Kubo M, Ohtani M, Mitsuda N, Demura T, Nakamura K, Jürgens G, Ito M* (2011) Mutations in *MYB3R1* and *MYB3R4* cause pleiotropic developmental defects and preferential down-regulation of multiple G2/M-specific genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 157, 706-717.

公募研究代表者 瀬尾 光範（理化学研究所環境資源科学研究センター・ユニットリーダー）

1. Saito H, Oikawa T, Hamamoto S, Ishimaru Y, Kanamori-Sato M, Sasaki-Sekimoto Y, Utsumi T, Chen J, Kanno Y, Masuda S, Kamiya Y, Seo M, Uozumi N, Ueda M, Ohta H* (2015) The jasmonate-responsive GTR1 transporter is required for gibberellin-mediated stamen development in *Arabidopsis*. *Nat Commun* 6, 6095.
2. 清水崇史・瀬尾光範* (2014) 「輸送体研究における新たなアプローチ」 *植物の生長調節* 49, 74-80.

公募研究代表者 野口 航（東京大学大学院理学系研究科・准教授）

1. Funayama-Noguchi S*, Noguchi K, Terashima I (2015) Comparison of the response to phosphorus deficiency in two lupin species, *Lupinus albus* and *L. angustifolius*, with contrasting root morphology. *Plant Cell Environ* 38, 399-410.
2. Wang Y, Noguchi K, Ono N, Inoue S, Terashima I, Kinoshita T* (2014) Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 111, 533-538. 木下班員との共同研究

公募研究代表者 本瀬 宏康（岡山大学大学院自然科学研究科・准教授）

1. Tong W, Yoshimoto K, Kakehi J, Motose H, Niitsu M, Takahashi T* (2014) Thermospermine modulates expression of auxin-related genes in *Arabidopsis*. *Front Plant Sci* 5: 94.
2. Takatani S, Ikeda T, Takahashi T, Motose H* (2012) NIMA-related kinases regulate directional cell growth and organ development through microtubule function in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav* 7, 1552-1555.
3. Yoshimoto K, Noutoshi Y, Hayashi K, Shirasu K, Takahashi T, Motose H* (2012) Thermospermine suppresses auxin-inducible xylem differentiation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signal Behav* 7, 937-939.
4. Yoshimoto K, Noutoshi Y, Hayashi K, Shirasu K, Takahashi T, Motose H* (2012) A chemical biology approach reveals an opposite action between thermospermine and auxin in xylem development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 53, 635-645.
5. Motose H*, Hamada T, Yoshimoto K, Murata T, Hasebe M, Watanabe Y, Hashimoto T, Sakai T, Takahashi T (2011) NIMA-related kinases 6, 4, and 5 interact with each other to regulate microtubule organization during epidermal cell expansion in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 67, 993-1005.

公募研究代表者 青山 卓史（京都大学化学研究所・教授）

1. Wada Y, Kusano H, Tsuge T, Aoyama T* (2015) Phosphatidylinositol phosphate 5-kinase genes respond to phosphate deficiency for root hair elongation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 81, 426-437.

- Yamada Y, Furusawa S, Nagasaka S, Shimomura K, Yamaguchi S, Umehara M* (2014) Strigolactone signaling regulates rice leaf senescence in response to a phosphate deficiency. *Planta* 240, 399-408.
- 山田雄介・梅原三貴久・瀬戸義哉 (2013) 「ストリゴラクトンの多様な生理作用と生合成」 *植物の生長調節* 48, 148-153.

- Motomitsu A, Sawa S*, Ishida T (2015) Plant peptide hormone signaling. *Essays Biochem* (in press)
- Kinoshita A, Seo M, Kamiya Y, Sawa S* (2015) Mystery in genetics: PUB4 gives a clue to the complex mechanism of CLV signaling pathway in the shoot apical meristem. *Plant Signal Behav* (in press) 熊本日日新聞、西日本新聞に掲載
- Nishiyama H, Ngan BT, Nagakami S, Ejima C, Ishida T, Sawa S* (2015) Protocol of root-knot nematode culture by hydroponic system and nematode inoculation to *Arabidopsis*. *Nematological Res* (in press)
- Kinoshita A, Hove CA, Tabata R, Yamada M, Shimizu N, Ishida T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Takebayashi Y, Iuchi S, Kobayashi M, Kurata T, Wada T, Seo M, Hasebe M, Bilou I, Fukuda H, Scheres B, Heidstra R, Sawa S* (2015) A plant U-box protein, PUB4, regulates asymmetric cell division and cell proliferation in the root meristem. *Development* (in press)
- Ishida T, Tabata R, Yamada M, Aida M, Mitsumasu K, Fujiwara M, Yamaguchi K, Shigenobu S, Higuchi M, Tsuji H, Shimamoto K, Hasebe M, Fukuda H, Sawa S* (2014) Heterotrimeric G proteins control stem cell proliferation through CLAVATA signaling in *Arabidopsis*. *EMBO Rep* 15, 1202-1209. 熊本日日新聞に掲載
- Nishiyama H, Nakagami S, Todaka A, Arita T, Ishida T, Sawa S* (2014) Light-dependent green gall formation induced by *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 16, 889-893.
- Tabata R, Sawa S* (2014) Maturation processes and structures of small secreted peptides in plants. *Front Plant Sci* 5, 311.
- Miyawaki K, Tabata R, Sawa S* (2013) Evolutionarily conserved CLE peptide signaling in plant development, symbiosis, and parasitism. *Curr Opin Plant Biol* 16, 598-606.
- Tamaki T, Betsuyaku S, Hamasaki R, Fujiwara M, Fukao Y, Fukuda H, Sawa S* (2013) SUPPRESSOR OF LLP1 1-mediated C-terminal processing is critical for CLE19 peptide activity. *Plant J* 76, 970-981.
- Tabata R, Kamiya T, Shigenobu S, Yamaguchi K, Yamada M, Hasebe M, Fujiwara T, Sawa S* (2013) Identification of an EMS-induced causal mutation in a gene required for boron-mediated root development by low-coverage genome re-sequencing in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* 8, e22534.
- Kiyohara S, Honda H, Shimizu N, Ejima C, Hamasaki R, Sawa S* (2011) Tryptophan auxotroph mutants suppress the superroot2 phenotypes, modulating IAA biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* 6, 1351-1355.
- Ejima C, Kobayashi Y, Honda H, Shimizu N, Kiyohara S, Hamasaki R, Sawa S* (2011) A Phalaenopsis variety with floral organs showing C class homeotic transformation and its revertant may enable Phalaenopsis as a potential molecular genetic material. *Gene Genet Sys* 86, 93-95.

研究項目 A03 ー モデリング研究ー

- Tachiki Y*, Makita A, Suyama Y, Satake A (2015) Spatially explicit model for flowering time in bamboos: long rhizomes drive the evolution of delayed flowering. *J Ecol* (in press)
- Webb AAR, Satake A* (2015) Understanding circadian regulation of carbohydrate metabolism in *Arabidopsis* using mathematical models. *Plant Cell Physiol* 56, 586-593.

3. Sakurai G*, Satake A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Yokozawa M, Feugier FG, Ma JF (2015) In silico simulation modeling reveals the importance of the Caspian strip for efficient silicon uptake in rice roots. *Plant Cell Physiol* 56, 631-639. 馬班員、佐竹班員との共同研究
4. Seki M*, Feugier FG, Song X, Ashikari M, Nakamura H, Ishiyama K, Yamaya T, Ikeda M, Kitano H, Satake A (2015) A mathematical model of phloem sucrose transport as a new tool for designing rice panicle structure for high grain yield. *Plant Cell Physiol* 56, 605-619. 芦刈班員、山谷班員との共同研究
5. Miyazaki Y, Maruyama Y, Chiba Y, Kobayashi MJ, Joseph B, Shimizu KK, Mochida K, Hiura T, Kon H, Satake A* (2014) Nitrogen as a key regulator of flowering in *Fagus crenata*: understanding the physiological mechanism of masting by gene expression analysis. *Ecol Lett* 17, 1299-1309.
6. Yamashita Y, Kadokura Y, Sotta N, Fujiwara T, Takigawa I, Satake A, Onouchi H, Naito S* (2014) Ribosomes in a stacked array. Elucidation of the step in translation elongation at which they are stalled during S-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest of CGS1 mRNA. *J Biol Chem* 289, 12693-12704. 研究分担者 藤原、内藤班員との共同研究
7. Feugier, GF, Satake A (2013) Hyperbolic features of the circadian clock oscillations can explain linearity in leaf starch dynamics and adaptation of plants to diverse light and dark cycles. *Ecol Modelling* 290, 110-120.
8. Satake A*, Kawagoe T, Saburi Y, Chiba Y, Sakurai G, Kudoh H (2013) Forecasting flowering phenology under climate warming by regulatory dynamics of flowering-time genes. *Nature Commun* 4, 2303. 千葉班員、櫻井班員との共同研究、北海道新聞 毎日新聞 日本経済新聞などに掲載
9. Francois GF*, Satake A* (2013) Dynamical feedback between circadian clock and sucrose availability explains adaptive response of starch metabolism to various photoperiods. *Front Plant Sci* 3, 1-11.

総括班研究分担者 沖 大幹（東京大学生産技術研究所・教授）

1. Cho J*, Kim W, Miyazaki S, Komori D, Kim H, Han K-S, Kanae S, Oki T (2013) Difference in the Priestley-Taylor coefficients at two different heights of a tall micrometeorological tower. *Agric For Meteorol* 180, 97-101.
2. Pokhrel YN*, Hanasaki N, Yeh P JF, Yamada TJ, Kanae S, Oki T (2012) Model estimates of sea-level change due to anthropogenic impacts on terrestrial water storage. *Nature Geosci* 5, 389-392.

公募研究代表者 岩元 明敏（東京学芸大学教育学部・准教授）

1. Kobayashi K, Suzuki T, Iwata E, Nakamichi N, Suzuki T, Chen P, Ohtani M, Ishida T, Hosoya H, Müller S, Levczky T, Pettkó-Szandtner A, Darula Z, Iwamoto A, Nomoto M, Tada Y, Higashiyama T, Demura T, Doonan JH, Hauser MT, Sugimoto K, Umeda M, Magyar Z, Bögre L, Ito M* (2015) Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth. *EMBO J* (in press) 伊藤（正）班員、梅田班員、杉本班員、石田班員との共同研究
2. Iwamoto A*, Kondo E, Fujihashi H, Sugiyama M (2013) Kinematic study of root elongation in *Arabidopsis thaliana* with a novel image-analysis program. *J Plant Res* 126, 187-192.
3. Iwamoto A*, Inoue T (2013) Variation in shoot organization of *Cynodon dactylon*: is it the grass with an opposite phyllotaxy? *Plant Morphol* 25, 101-103.
4. 岩元 明敏 *・杉山 宗隆 (2013) 「顕微鏡画像を用いた根端成長の数理モデル解析」 *Plant Morphol* 25, 67-71.

公募研究代表者 櫻井 玄（農業環境技術研究所生態系計測研究領域・任期付研究員）

1. Sakurai G*, Yonemura S, Kishimoto-Mo AW, Murayama S, Ohtsuka T, Yokozawa M (2015) Inversely estimating the vertical profile of the soil CO₂ production rate in a deciduous broadleaf forest using a particle filtering method. *PLoS One* 10, e0119001.
2. Sakurai G*, Satake A, Yamaji N, Mitani-Ueno N, Yokozawa M, Feugier FG, Ma JF (2015) In silico simulation modeling reveals the importance of the Caspian strip for efficient silicon uptake in rice roots. *Plant Cell Physiol* 56, 631-639.

3. Sakurai G*, Izumi T, Nishimori M, Yokozawa M* (2014) How much has the increase in atmospheric CO₂ directly affected past soybean production? *Sci Rep* 4, 4978.

公募研究代表者 白石 文秀 (九州大学農学研究院・教授)

- 吉田恵梨歌・白石文秀* (2015) 「大規模ネットワークシステムにおける固有値の効率的かつ信頼性の高い計算」 *Eco-Engineering* 27, 35-42.
- Shiraishi F*, Yoshida E, Voit EO (2014) An efficient and very accurate method for calculating steady-state sensitivities in metabolic reaction systems. *IEEE/ACM Transactions Comput Biol Bioinform* 11, 1077-1086.
- Sriyudthsak K, Sawada Y, Chiba Y, Yamashita Y, Kanaya S, Onouchi H, Fujiwara T, Naito S, Voit EO, Shiraishi F, Hirai MY* (2014) A U-system approach for predicting metabolic behaviors and responses based on an alleged metabolic reaction network. *BMC Systems Biol* 8, S4.
- Sriyudthsak K, Iwata M, Hirai MY*, Shiraishi F* (2014) PENDISC: A simple method for constructing a mathematical model from time-series data of metabolite concentrations. *Bull Math Biol* 76, 1333-1351.
- Iwata M, Sriyudthsak K, Hirai MY, Shiraishi F* (2014) Estimation of kinetic parameters in an S-system equation model for a metabolic reaction system using the Newton-Raphson method. *Math Biosci* 248, 11-21.
- Iwata M, Shiraishi F, Voit EO* (2013) Coarse but efficient identification of metabolic pathway systems. *Int J Systems Biol* 4, 57-72.

公募研究代表者 福田 弘和 (大阪府立大学大学院工学研究科・准教授)

- Ohara T, Fukuda H*, Tokuda IT (2015) Phase response of the *Arabidopsis thaliana* circadian clock to light pulses of different wavelengths. *J Biol Rhythms* 30, 95-103.
- Higashi T, Nishikawa S, Okamura N, Fukuda H* (2015) Evaluation of growth under non-24 h period lighting conditions in *Lactuca sativa* L. *Environ Control Biol* 53, 7-12.
- Udo R, Moriyuki S, Ukai K, Fukuda H* (2014) Collective synchronization of circadian rhythms in germinating plants by temperature fluctuations. *Transactions Jap Soc Refrig Air Cond Eng* doi: 10.11322/tjsrae.14-26PF_OA
- Higashi T, Kamitamari A, Okamura N, Ukai K, Okamura K, Tezuka T, Fukuda H* (2014) Characterization of circadian rhythms through a bioluminescence reporter assay in *Lactuca sativa* L. *Environ Control Biol* 52, 21-27.

公募研究代表者 持田 恵一 (理化学研究所環境資源科学研究センター・チームリーダー)

- Sakurai T⁺, Mochida K⁺, Yoshida T, Akiyama K, Ishitani M, Seki M, Shinozaki K (2013) Genome-wide discovery and information resource development of DNA polymorphisms in cassava. *PLoS One* 3, e74056. (+: equally contributied)
- Mochida K*, Yoshida T, Sakurai T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, Tran LS (2013) TreeTFDB: An integrative database of the transcription factors from six economically important tree crops for functional predictions and comparative and functional genomics. *DNA Res* 20, 151-162.
- Mochida K*, Shinozaki K (2011) Advances in omics and bioinformatics tools for systems analyses of plant functions. *Plant Cell Physiol* 52, 2017-2038.

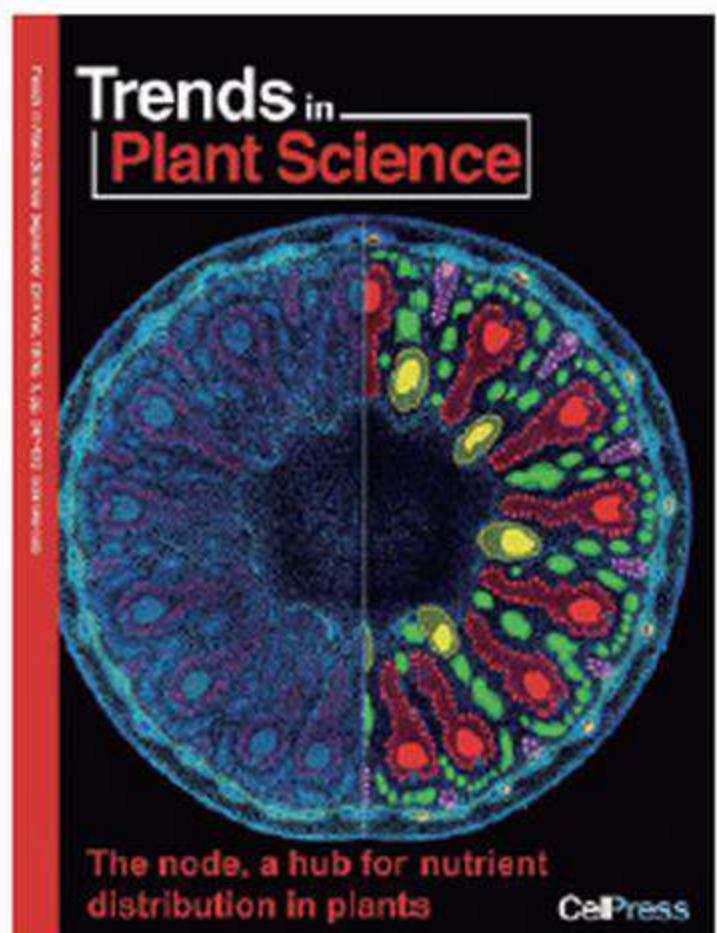
公募研究代表者 横沢 正幸 (静岡大学大学院総合科学技術研究科・教授)

- Sakurai G, Izumi T, Nishimori M, Yokozawa M* (2014) How much has the increase in atmospheric CO₂ directly affected past crop production? *Sci Rep* 4, 4978. 静岡新聞、中日新聞、日本経済新聞に掲載

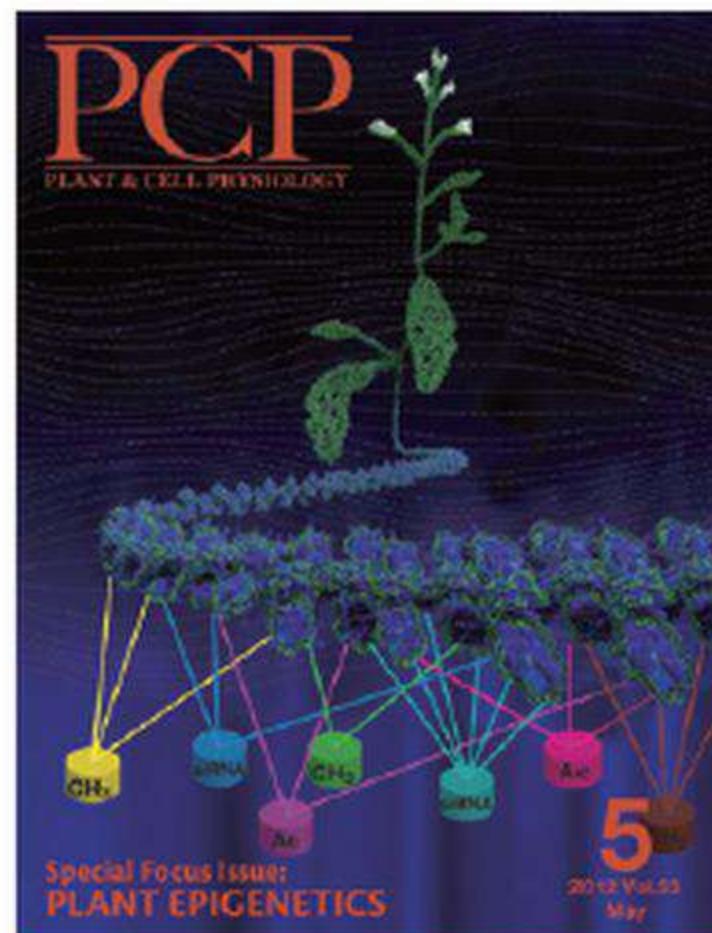
雑誌表紙に採用された論文



Plant Cell Physiol.
Vol. 56, Apr., 2015,
藤原 徹



Trends Plant Sci.
Vol. 19, Sep., 2014,
馬 建鋒



Plant Cell Physiol.
Vol. 53, May, 2012,
関 原明



Plant J.
Vol. 69, Feb., 2012,
馬 建鋒



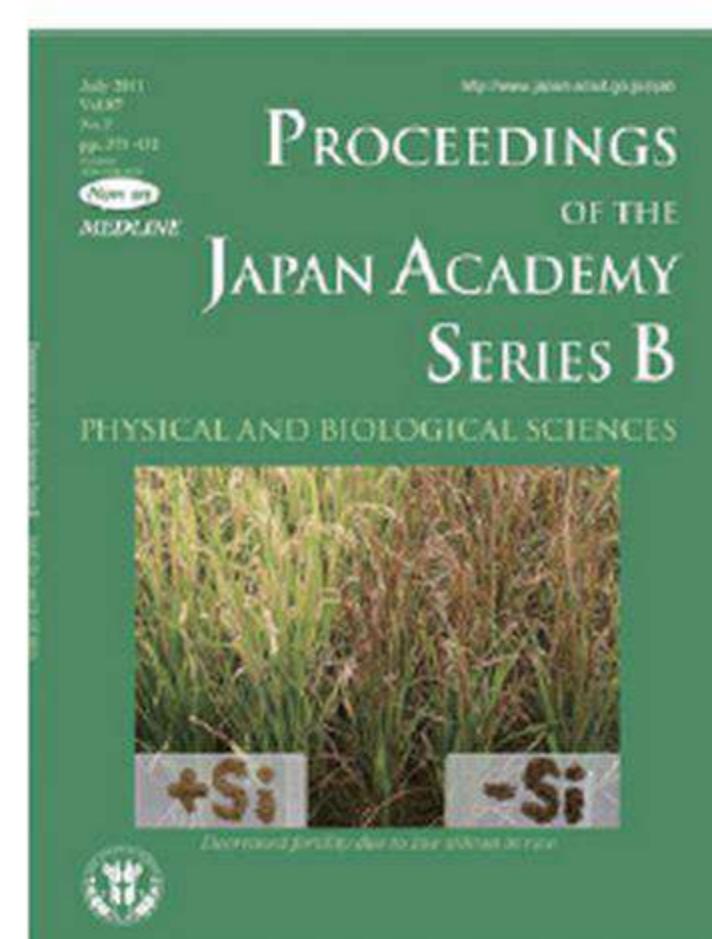
Plant Cell Physiol.
Vol. 52, Oct., 2011,
小林 優



Plant Cell Physiol.
Vol. 52, Aug., 2011,
内藤 哲



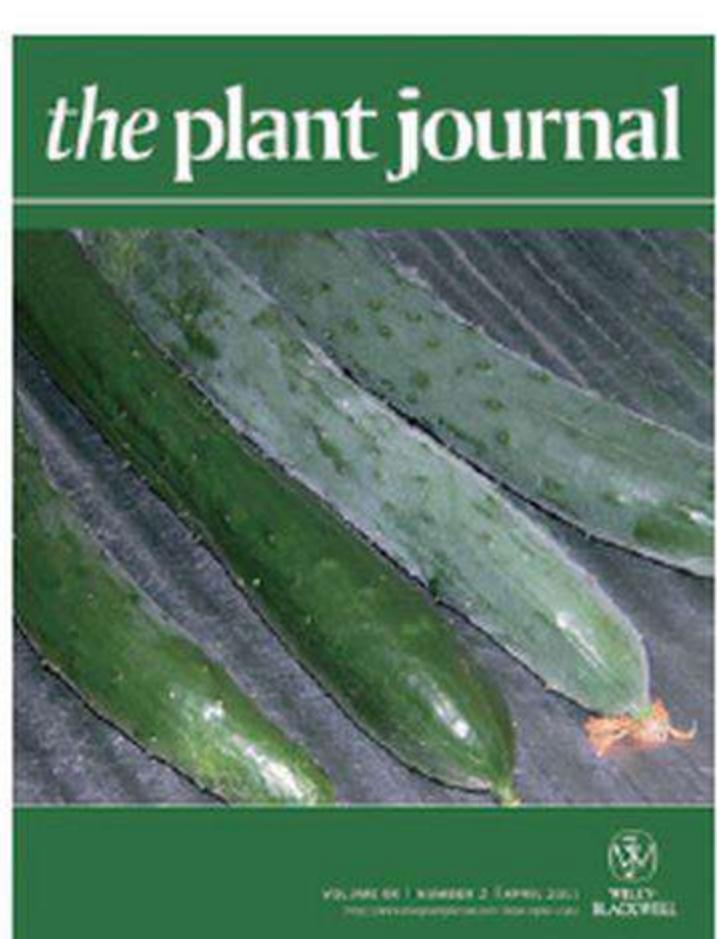
Plant Cell Physiol.
Vol. 52, Jul., 2011,
木下俊則



Proc. Jpn. Acad. Ser. B
Phys. Biol. Sci.
Vol. 87, Jul., 2011,
馬 建鋒



J. Plant Res.
Vol. 124, Jul., 2011,
木下俊則



Plant J.
Vol. 66, Apr., 2011,
馬 建鋒



J. Biol. Chem.
Vol. 286 Feb., 2011,
藤原 徹

新聞に取り上げられた記事

馬 建鋒

| | |
|--------------------|----------------------------------|
| 朝日新聞：2014年10月30日 | 『イネ ヒ素から「護身」』 |
| 山陽新聞：2014年10月27日 | 『イネにヒ素蓄積抑制遺伝子』 |
| 山陽新聞：2013年10月27日 | 『植物生育へマンガン供給 調節タンパク質発見』 |
| 読売新聞：2013年9月24日 | 『植物の栄養分分配の仕組み 岡山大が一端解明』 |
| 山陽新聞：2013年5月16日 | 『植物成長促す遺伝子 働き高め収量拡大も』 |
| 日本経済新聞：2013年5月15日 | 『イネのたんぱく質 亜鉛を振り分け』 |
| 朝日新聞：2012年5月24日 | 『イネ含有カドミウム関与の遺伝子を特定』 |
| 山陽新聞：2012年5月17日 | 『カドミウムの少ないコメに 吸収関与の遺伝子特定』 |
| 読売新聞：2012年5月17日 | 『土壤中のカドミウム吸収時働く 岡大、イネ遺伝子を究明』 |
| 山陽新聞：2012年3月7日 | 『生育阻害するアルミニウム無毒化 耐性大麦 仕組み解明』 |
| 朝日新聞：2012年3月7日 | 『酸性土に強い大麦 岡山大等が新品種』 |
| 産経新聞：2012年3月7日 | 『大麦「進化」酸性土壤に耐性』 |
| 中国新聞：2012年3月7日 | 『大麦酸性土壤を無毒化 岡山大解明 適応のため進化か』 |
| 産経新聞：2011年7月9日 | 『カドミウム汚染土壤浄化に光』 |
| 山陽新聞：2011年6月16日 | 『植物カドミウム効率的集積関与の遺伝子発見』 |
| 山陽新聞：2010年11月16日 | 『作物の生育阻害するアルミニウムイオン「輸送体」タンパク質発見』 |
| 朝日新聞：2010年10月19日 | 『アルミ無毒化イネの謎に光 岡山大「運び屋」たんぱく質発見』 |
| 岡山日日新聞：2010年10月12日 | 『イネから新遺伝子 アルミニウムを細胞に吸収』 |
| 読売新聞：2010年9月7日 | 『カドミウム阻止稻遺伝子』 |
| 毎日新聞：2010年9月7日 | 『カドミ蓄えないコメ 岡山大など イネ制御遺伝子特定』 |
| 日経新聞：2010年9月7日 | 『カドミウム蓄積防ぐ遺伝子』 |
| 山陽新聞：2010年9月7日 | 『コメのカドミウム蓄積 抑制遺伝子を発見』 |

木下 俊則

| | |
|--------------------|---------------------------------------|
| 科学新聞：2014年1月17日 | 『気孔拡大で植物の生産量増加』 |
| 毎日新聞：2013年12月28日 | 『植物の気孔広げ光合成促進』 |
| 信濃毎日新聞：2013年12月24日 | 『植物の光合成 気孔広げ促進』 |
| 日本経済新聞：2013年12月24日 | 『「気孔」広げて光合成を促進』 |
| 朝日新聞：2013年12月24日 | 『気孔ガバッ 収量アップ』 |
| 中日新聞：2012年5月1日 | 『細胞の体積を増やす作用－収穫増へ農作物巨大化も－』 |
| 読売新聞：2011年7月8日 | 『開花たんぱく質気孔も開かせた』 |
| 中日新聞：2011年7月8日 | 『“花咲かタンパク” 光合成も促す』 |
| 日刊工業新聞：2011年7月8日 | 『たんぱく質フロリゲン植物のCO ₂ 取り込み調節』 |

篠崎 和子

| | |
|-------------------|-------------------------------|
| 読売新聞：2014年3月2日 | 『暑さに強い植物開発』 |
| 化学工業日報：2014年2月6日 | 『植物の高温ストレス耐性高める新規たん白質』 |
| 日本農業新聞：2012年9月25日 | 『乾燥下の水稻の草丈抑制の仕組み解明』 |
| 日経産業新聞：2012年9月12日 | 『イネ、乾燥地域は伸び悪く一生長促す遺伝子を抑制』 |
| 化学工業日報：2012年9月11日 | 『植物の環境ストレス応答制御-生長促進作用持ったん白発見』 |

山谷 知行

読売新聞：2015年4月2日 『第52回読売農学賞受賞者7名の業績「イネの栄養 窒素の働き」』

芦刈 基行

- 朝日新聞：2014年12月23日 『コメ粒大きくする遺伝子』
- 読売新聞：2014年12月23日 『コメ大きく 遺伝子特定』
- 中日新聞：2014年12月23日 『コメ大きくする遺伝子』
- 日本経済新聞：2014年12月23日 『コメ大きくする遺伝子を発見』
- 西日本新聞：2014年12月23日 『コメ粒を大きく 食糧難を救え』
- 日本経済新聞：2012年9月27日 『途上国に合う品種作り』
- 中国新聞：2011年6月15日 『品種改良にゲノムの力』
- 信濃毎日新聞：2011年6月15日 『ゲノムで品種改良』

梅田 正明

- 読売新聞：2014年8月8日 『植物サイズ—脂肪酸が調整、ドキ・ワク先端科学』
- 化学工業日報：2013年9月24日 『植物根の成長で新発見』
- 奈良新聞：2013年9月13日 『根の成長 調節可能に』
- 産経新聞：2013年9月13日 『根の成長スピード調整 新たなタンパク質発見』
- 日経産業新聞：2013年4月11日 『微量の除草剤 雜草に逆効果?』
- 奈良新聞：2013年4月11日 『大きさ一定に保つ新たな仕組み解明』
- 日本経済新聞：2013年4月11日 『微量の除草剤、逆効果』
- 読売新聞：2013年4月11日 『薄めた除草剤 成長促進』
- 毎日新聞：2013年4月11日 『植物の生長機構解明 シグナルで細胞増殖調節?』
- 朝日新聞：2013年4月10日 『除草剤、1000倍に薄めたら「成長剤」』
- 読売新聞：2011年12月19日 『世にも不思議な植物細胞』
- 日経産業新聞：2011年6月2日 『DNA損傷の細胞を処理 植物の仕組み解明』
- 日刊工業新聞：2011年5月25日 『植物の致命的なDNA損傷 克服の仕組み解明』
- 産経新聞：2011年5月24日 『損傷DNAもつ植物 細胞を肥大化』
- 朝日新聞：2011年5月24日 『ジャンボ米 夢じゃない!? 植物細胞、DNA傷つくと巨大化』

杉本 慶子

- 科学新聞：2012年11月16日 『植物細胞の大きさ 決定する仕組み解明』
- 日刊工業新聞：2012年11月5日 『植物細胞の成長自在に調整』
- 科学新聞：2011年3月18日 『植物細胞の脱分化を促進 スイッチタンパク質判明』
- 化学工業日報：2011年3月11日 『植物の細胞塊形成促す転写因子発見』

佐竹 晓子

- 北海道新聞：2013年8月14日 『農作物の開花期間 遺伝子の動きで予測』
- 日本経済新聞：2013年8月14日 『温暖化の開花への影響、遺伝子の働きで予測』

藤原 敬

- 日本農業新聞：2011年12月13日 『カドミ吸收半減 イネの関連遺伝子発見 東大大学院』

石田 宏幸

- 科学新聞：2015年4月24日 『オートファジーを可視化 イネ葉緑体の分解過程解明』
- 日経産業新聞：2015年4月16日 『イネの葉緑体分解 追跡 東北大など 自食作用が関与』
- 化学工業日報：2015年4月16日 『東北大など 葉緑体の再利用過程を解明』
- 曙バイオテクノロジー：2015年4月14日 『東北大など、イネもオートファジーで葉緑体を再利用、ライブセルイメージングで観察』
- 日本農業新聞：2015年4月10日 『稻の葉緑体再利用を可視化』

佐藤 雅彦

京都新聞：2013年1月12日 『植物「スイッチ」遺伝子～環境適応か感染防止か』

下嶋 美恵

科学新聞：2014年6月27日 『油脂蓄積と細胞増殖両立』

日経産業新聞：2014年6月16日 『藻類 油脂ためやすく』

関 原明

科学新聞：2012年5月24日 『植物が有害DNAからゲノムを保護するメカニズム
－理研 シロイヌナズナ使って解明－』

宮地 孝明

産経新聞：2015年4月19日 『枯れ防ぐ『運び屋』、特定 岡山大など 日差しに強い植物開発へ』

毎日新聞：2015年4月16日 『ビタミンC運び枯れ防止 岡大 タンパク質を特定』

日本経済新聞：2015年4月6日 『枯れ防ぐ「運び屋」特定 日差しに強い植物開発へ』

科学新聞：2015年1月26日 『植物のビタミンC輸送体を世界で初めて同定』

朝日新聞：2015年1月16日 『植物のビタミンC輸送体発見 光に弱い植物改良も』

日刊工業新聞：2015年1月9日 『ビタミンC輸送体特定 日射耐性植物育種に一役』

毎日新聞：2015年1月7日 『ビタミンC輸送 タンパク質を特定』

山陽新聞：2015年1月6日 『ビタミンC『運び屋』、特定 光合成関与の葉緑体へ』

丸山 明子

財経新聞：2015年4月14日 『九大、植物が硫黄の少ない環境で吸収量を増加させる仕組みを明らかに』

伊藤 正樹

朝日新聞：2011年12月14日 『果実巨大化、鍵の遺伝子発見 食糧問題の解決に期待』

中日新聞：2011年12月14日 『植物巨大化可能に 食料生産に応用期待』

澤 進一郎

熊本日日新聞：2015年1月28日 『根の太さ、長さを制御』

西日本新聞：2015年1月21日 『植物の根肥大化に成功』

熊本日日新聞：2014年10月8日 『病気に関与Gタンパク質』

科学新聞：2011年5月13日 『植物の幹細胞活性を規定するペプチドホルモンと受容体及びシグナル伝達因子の同定と解析』

福田 弘和

産経新聞：2013年8月1日 『「時計遺伝子」効率よく野菜量産』

横沢 正幸

中日新聞：2014年9月10日 『光合成促進でCO₂施肥効果』

静岡新聞：2014年8月25日 『大豆収量増にCO₂効果』

日本経済新聞：2014年8月5日 『CO₂増え光合成活性化 過去26年間で』

アルミニウムトランスポーターの同定

Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice

Jixing Xia, Naoki Yamaji, Tomonari Kasai, Jian Feng Ma
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 107: 18381-18385, 2010.

アルミニウム (Al) は地殻中にもっとも豊富に存在する金属です。しかし、酸性条件下ではアルミニウムはイオンとして溶出され、動物や植物、微生物を含むすべての生物に毒性を示します。

アルミニウムイオンは素早く細胞の中に取り込まれることがわかっています。しかし、長い間アルミニウムがどのように細胞の中に取り込まれるのかについて、その分子機構は明らかではありませんでした。本研究で我々はイネからアルミニウムトランスポーター *Nrat1* (Nramp Al transporter1) を同定しました。*Nrat1* は 2 値の金属の輸送体として知られている Nramp (natural resistance-associated macrophage protein) ファミリーに属しています。しかし、他のメンバーとは異なり、2 値の金属（例えばカドミウムや鉄）を輸送せず、3 値のアルミニウムを特異的に輸送します（図 1）。またアルミニウムークエン酸錯体や 2 値と 1 値のアルミニウム (Al(OH)^{2+} , Al(OH)_2^{1+}) も輸送しませんでした。

Nrat1 は地上部では発現せず、根で発現しており、その発現はアルミニウムによって素早く誘導されました。カドミウムやランタン、低 pH には応答しませんでした。また根の先端と基部の両方で発現しており、その発現はアルミニウム耐性転写調節因子 ART1 によって制御されるため、ART1 の破壊株では、アルミニウムによる *Nrat1* の発現誘導は見られませんでした。*Nrat1* の細胞内局在を調べたところ、細胞膜に局在していました（図 2）。また根の全ての細胞に局在することがわかりました。

Nrat1 遺伝子を破壊すると、細胞内へのアルミニウムの取り込みが低下したにもかかわらず、アルミニウム感受性が増加しました。これは一見矛盾した結果ですが、最近、我々が同定した OsALS1 というトランスポーターにより説明することが可能となりました (Huang et al., 2012)。OsALS1 は液胞膜に局在するハーフサイズの ABC トランスポーターであり、*Nrat1* 同様、ART1 の制御下にあります。その役割は *Nrat1* によって取り込まれたアルミニウムを液胞に隔離し、無毒化することです。したがって、*Nrat1* によるアルミニウムの取り込みは最終的に液胞へ隔離して無毒化するための第一段階です。細胞へのアルミニウムの取り込みは細胞壁への結合を減らし、アルミニウム毒性が軽減します。実際、*Nrat1* 遺伝子を破壊すると、細胞壁へのアルミニウムの結合が増加しました。

Nrat1 は生物界で初めて同定されたアルミニウムトランスポーターです。今後他の生物やイネ以外の植物種に同様なトランスポーターが存在するか検討していく必要があります。

す。特にアルミニウムを集積する植物（例えばソバ、チャ、アジサイなど）でどのようにアルミニウムを吸収して、地上部へ集積するのかについて、その分子機構は全く明らかにされていません。今後、これらの植物からもアルミニウムトランスポーターが同定されることが期待されます。

参考論文

Huang CF, Yamaji N, Chen Z, Ma JF. (2012) A tonoplast-localized half-size ABC transporter is required for internal detoxification of aluminum in rice. *Plant J.* 69: 857-867.

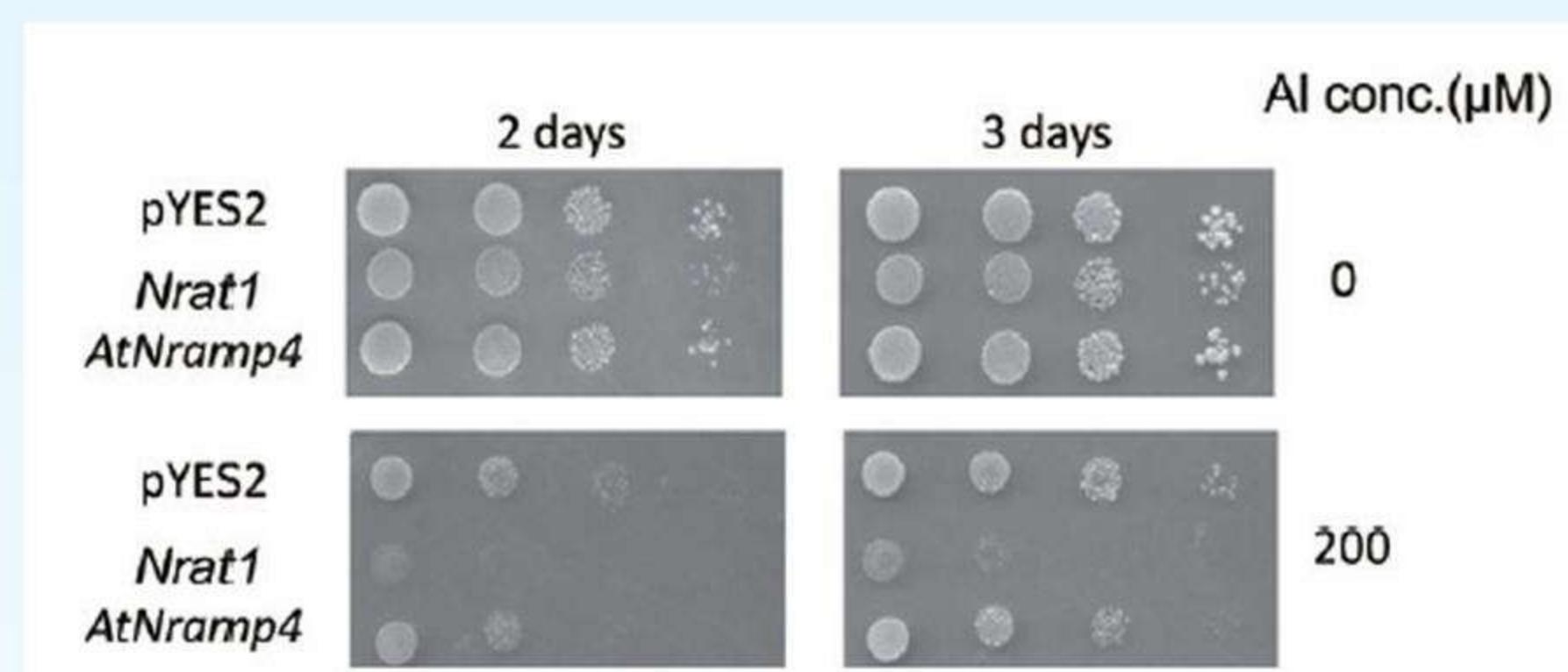


図 1：酵母における *Nrat1* のアルミニウムイオン取り込み活性

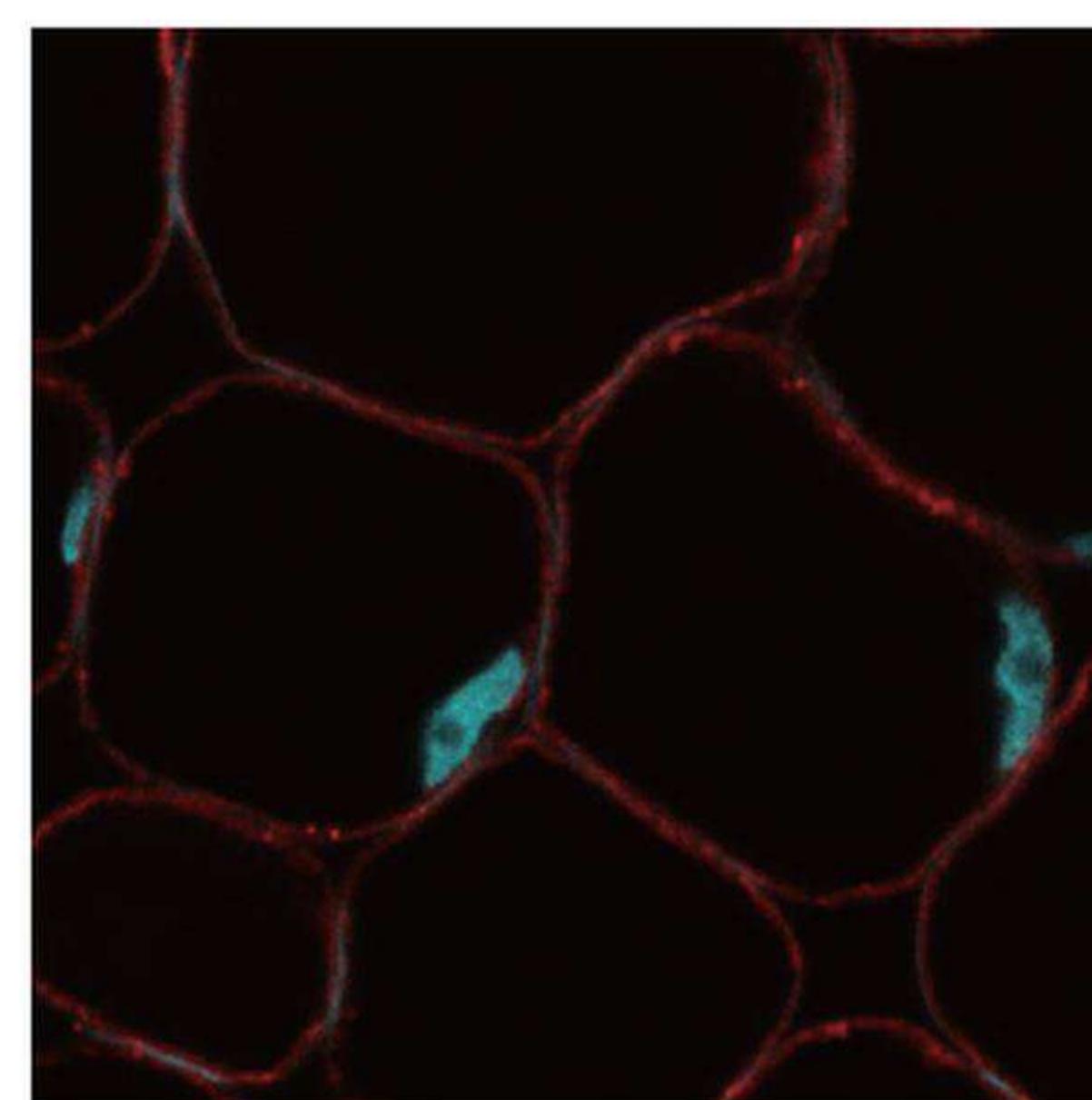


図 2：Nrat1 の細胞内局在（赤）。シアン色は核を示す

環境突破力としての分化全能性～その分子メカニズムに迫る

The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*

Akira Iwase, Nobutaka Mitsuda, Tomotsugu Koyama, Keiichiro Hiratsu, Mikiko Kojima, Takashi Arai, Yasunori Inoue, Motoaki Seki, Hitoshi Sakakibara, Keiko Sugimoto, Masaru Ohme-Takagi
Current Biology 21: 508-514, 2011.

植物細胞は、一度分化した一つの細胞からでも新しく個体を再生させる潜在的な能力、すなわち分化全能性を有していることが半世紀以上前から実験的に知られています。挿し木法による有用品種のクローン増殖に代表されるように、この植物の高い再生能力は特に農業、園芸分野で古くから利用されてきました。これらの再生現象は、他の多細胞生物の再生現象と同様に、多くの場合傷害ストレスがその引き金となります。しかし、傷害のみならず他の非生物的なストレス、例えば熱ショックや浸透圧ストレス、重金属によるストレスも植物細胞の分化全能性発揮を促進することが分かっています。これらの現象は、植物細胞そのものが様々な環境変化によって分化の可塑性を高め、状況に応じてその場にふさわしい組織や器官を作り出そうとする、まさに環境突破力を備えていることの一つの好例です。オーキシン、サイトカイニンを中心とした植物ホルモンが、全能性発揮に重要な脱分化および再分化という二つのステップに深く関わることはよく知られていますが、全能性発揮を規定する分子メカニズムはこれまでほとんど明らかにされていませんでした。シロイヌナズナのゲノムプロジェクトが植物細胞の分化の分子基盤解明を加速させ、様々な地平が見えて来た現在、分化の逆とも言える脱分化現象を明らかにする好機が訪れています。

私たちは、この古くて新しい植物科学の謎に挑み、植物の分化細胞と脱分化細胞の遺伝子発現比較解析を皮切りに AP2/ERF 転写因子 WOUND-INDUCED DEDIFFERENTIATION 1 (WIND1) が、シロイヌナズナの脱分化に関与していることを発見しました。WIND1 は傷害部位において発現が促進し(図1)、不定形の細胞塊であるカルスの形成を促進します。WIND1 過剰発現体は培地に外生の植物ホルモンを添加しなくてもカルスを形成する上に(図2)、生じた細胞は脱分化状態を維持したまま継代培養が可能です。培地に添加する薬剤によって WIND1 の発現を誘発できる系を用いてカルスを誘導した後に、培地から薬剤を除き WIND1 の発現を止めることでカルスから根や茎葉のみならず体細胞胚を再分化させることができました。また種々の解析から、WIND1 は傷口でサイトカイニンへの応答性を高めていることが明らかになりました。私たちの研究の成果は、植物が傷ストレスに応じて細胞を脱分化させる制御機構の一端を分子レベルで解明し、WIND1 タンパク質がそのスイッチとして働く転写因子の一つであることを世界に先駆けて明らかにしたことです。私たちは、この WIND1 の発現を促進する環境要因について既にいくつかの興味深い結果を得ており、引き続き研

究を進めていくことで、植物の環境突破力としての分化全能性の分子メカニズムに迫っていきたいと考えています。

参考論文

Iwase A, Ohme-Takagi M, Sugimoto K. (2011) WIND1: A key molecular switch for plant cell dedifferentiation. *Plant Signal. Behav.* 6: 1943-1945.

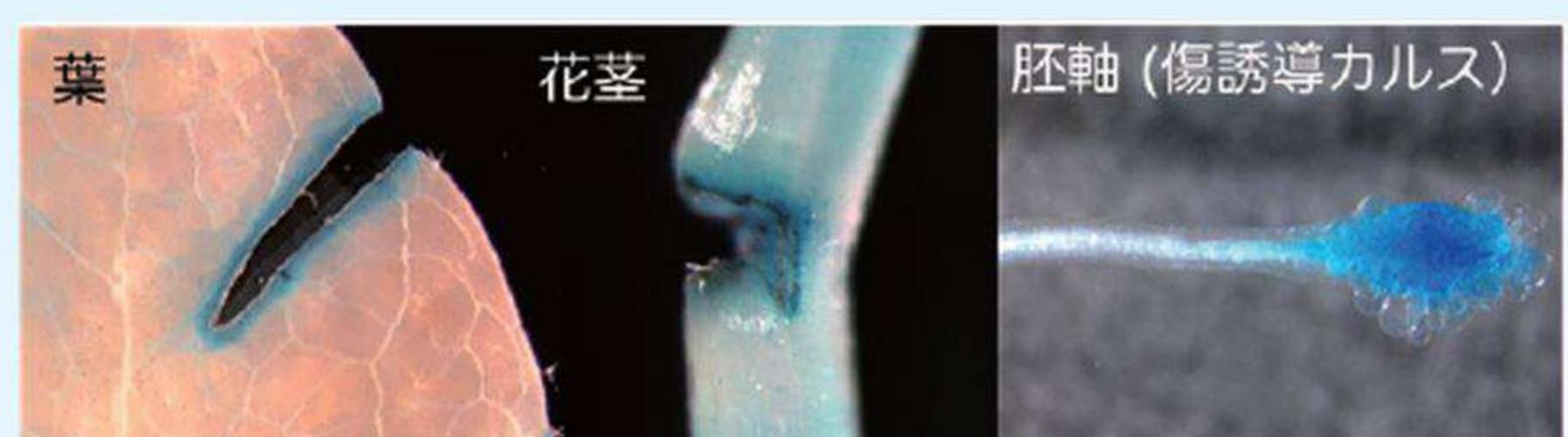


図1:WIND1 遺伝子のプロモーターレポーター解析から、WIND1 遺伝子は、傷口周辺の細胞とそこから生じるカルス(写真右)で特異的に発現が促進することが分かった。



図2: WIND1 遺伝子をシロイヌナズナ植物体で過剰に発現させると、高発現の植物体ではカルスを形成した。

DNA損傷ストレスはチェックポイント機構を介してDNA倍加を誘導する

Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*

Sumiko Adachi, Kazunori Minamisawa, Yoko Okushima, Soichi Inagaki, Kaoru Yoshiyama, Youichi Kondou, Eli Kaminuma, Mika Kawashima, Tetsuro Toyoda, Minami Matsui, Daisuke Kurihara, Sachihiro Matsunaga, Masaaki Umeda
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 108: 10004-10009, 2011.

DNA損傷は通常のDNA複製の過程で常時生じていますが、環境ストレスを受けると活性酸素の産生などが引き金となり、さらに多くのDNA損傷が生じます。動物においては、修復可能なDNA損傷の場合はチェックポイント機構が発動し、細胞分裂を停止している間に損傷が修復されます。また、修復不可能な致命的なDNA損傷の場合は細胞死が誘導され、損傷細胞を積極的に死滅させる選択をしています。一方、植物におけるDNA損傷応答については、これまで組織・細胞レベルの解析があまり多く行われてきませんでした。

私達は、シロイヌナズナの根を使ってDNA二本鎖切断に対する応答性を観察しました。DNA二本鎖切断はゼオシン処理、または γ 線照射により誘導しました。その結果、根端の分裂細胞が急激に伸長し、核内DNA量が倍々に増加することが明らかになりました(図1)。同様なDNA倍加現象は、萼片の表皮細胞や未分化な培養細胞でも観察されました。一方、DNA複製阻害を引き起こす紫外線照射や、ヒドロキシウレア・MMS・シスプラチンなどの薬剤処理では、ゼオシン処理ほどのDNA倍加は見られませんでした。このことから、DNA二本鎖切断のような致命的なDNA損傷に応答してDNA倍加が誘導されることが示されました。

次に、DNA損傷のセンサーキナーゼとして働くATMやATR、またそれらの下流で働く転写因子SOG1の関与について、各変異体を用いた解析を行いました。その結果、*atm* *atr*二重変異体および*sog1*変異体では、ゼオシン処理によるDNA倍加が抑圧されることが明らかになりました。このことから、DNA二本鎖切断によるDNA倍加の誘導には、DNA損傷チェックポイントに関わるATM, ATR, SOG1といった因子が必要不可欠であることが示唆されました。つまり、シロイヌナズナは遺伝的にプログラム化されたチェックポイント機構を利用して、能動的にDNA倍加を誘導していると考えられます。

そこで、そのメカニズムに迫るために、ゼオシン処理時の細胞周期制御因子の遺伝子発現変動について解析しました。その結果、ATM, SOG1依存的に細胞周期の負の制御因子(CDKインヒビター、APC/C活性化因子など)の発現が誘導されることが明らかになりました。また、ATR, SOG1依存的にB2型CDKのタンパク質分解が起こることも明らかになりました。B2型CDKはG2/M期移行を促進する考えられるので、その分解制御はエンドサイクルを誘導し、DNA倍加をもたらすと考えられます。以上の結果から、DNA二本鎖切断はATM-SOG1経路またはATR-SOG1経路を使って様々な細胞周期因子の発現を制御し、DNA倍加

を誘導することが示されました(図2)。

植物細胞は固い細胞壁で囲まれています。したがって、仮にDNA損傷により動物細胞のような自律的な細胞死が起きると、周囲の細胞が移動することができないため、組織に空隙を生むことになります。これは植物にとって成長を著しく阻害することになるので、植物はこのようなリスクを回避する機構としてDNA倍加を誘導すると考えられます。つまり、DNA倍加の誘導は損傷細胞を保持したまま肥大化させる(分裂は停止させる)ので、DNA損傷ストレス下で器官成長を保証する、優れた生存戦略と言えます(図2)。今後は、DNA損傷シグナルがエンドサイクルを誘導する分子機構の解明が重要であると考えられます。

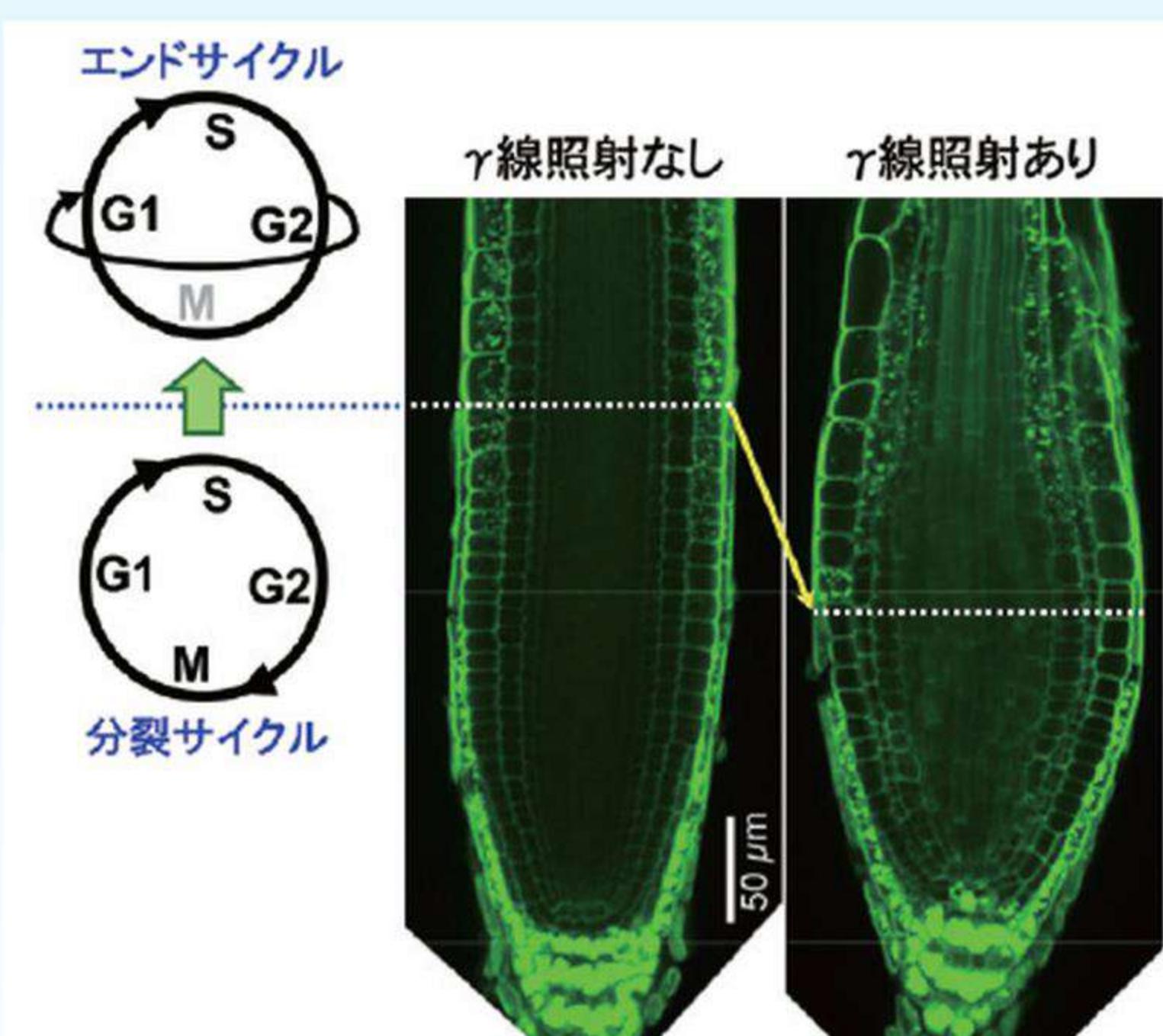


図1： γ 線照射によるDNA倍加の誘導
エンドサイクルによる細胞の肥大化が、 γ 線照射を行うとより根端側で見られるようになる。

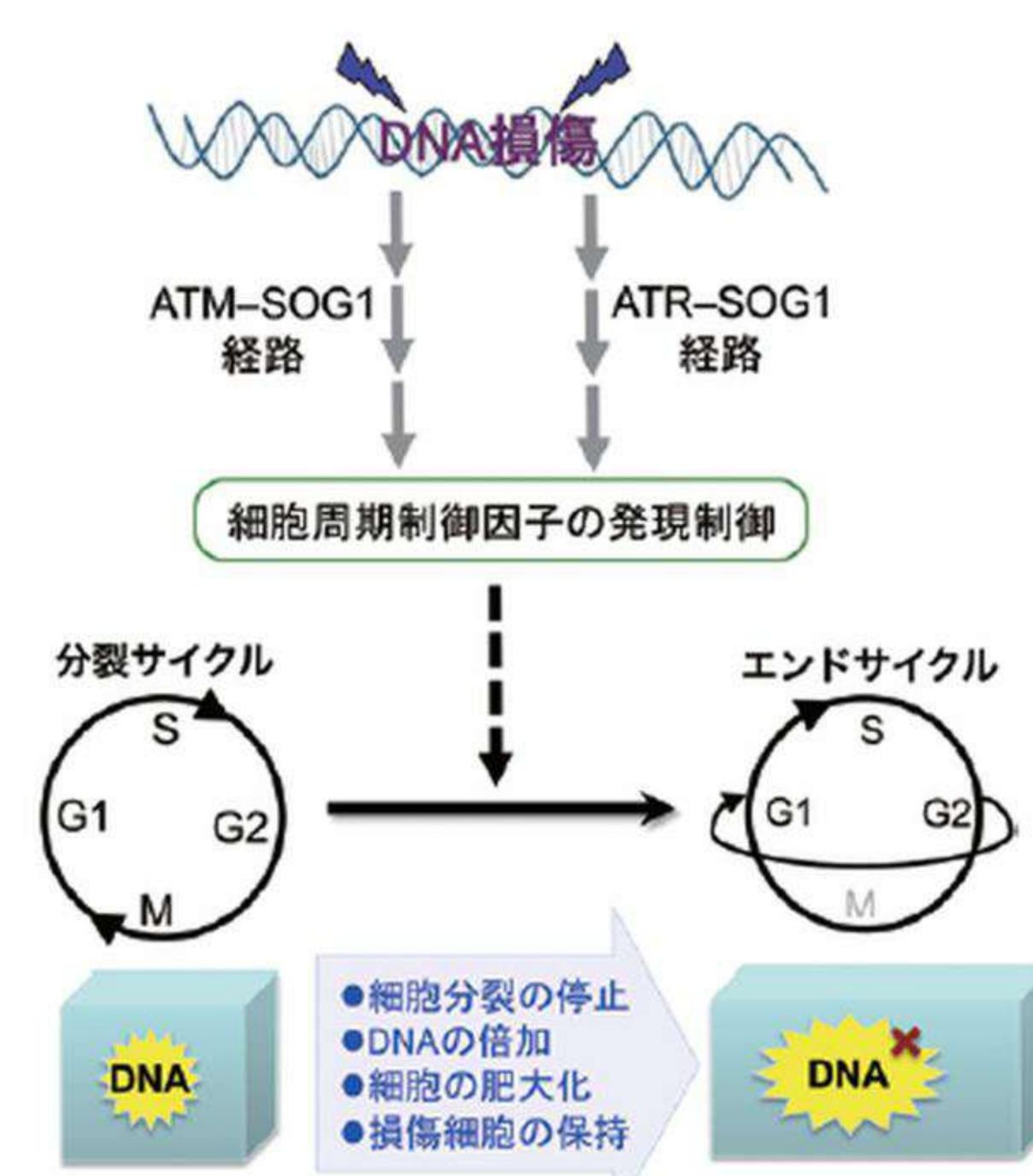


図2：DNA二本鎖切断によるエンドサイクルの誘導

FLOWERING LOCUS Tによる気孔開口の制御

FLOWERING LOCUS T regulates stomatal opening

Toshinori Kinoshita, Natsuko Ono, Yuki Hayashi, Sayuri Morimoto, Suguru Nakamura, Midori Soda, Yuma Kato, Masato Ohnishi, Takeshi Nakano, Shin-ichiro Inoue, Ken-ichiro Shimazaki
Current Biology 21: 1232-1238, 2011.

植物の多くは日の長さ（日長）に応じて花を咲かせます。たとえば、菜の花は、春に日長が長くなるのに応答して花芽を付け、開花します。また、アサガオやイネは、夏至を過ぎ、日長が短くなるのに応答して開花します。前者を長日植物、後者を短日植物と呼び、植物は生活環の中でその植物にとって最適な時期に開花し、種子を実らせるように進化してきました。これまでの研究により、日長は植物の葉で計測され、葉で作られた未知の物質が植物の茎頂にある分裂組織に移動し、花芽を付けさせていることがわかり、70年以上前にその物質はフロリゲン（日本語では花成ホルモン）と名付けられました。2007年になって、FLOWERING LOCUS T (FT)タンパク質が日長に応じて葉で作られ、葉脈（維管束）を通して茎頂に移動することで花芽形成を誘導していることが明らかになり、FTが長年探し求められてきたフロリゲンの正体であると考えられています（Turck et al., 2007）。しかし、花芽誘導は植物にとって栄養成長から生殖成長に切り替わる非常に大きなイベントであるにも関わらず、FTの花芽誘導以外の機能は知られていませんでした。

私たちは、植物の表皮に存在し、植物と大気間のガス交換を調節する気孔を主な実験材料として研究を進めています。気孔は、植物が光合成を盛んに行う太陽光下に開口して二酸化炭素の取り込み、蒸散や酸素の放出を促進し、一方、植物が乾燥ストレスに曝されると、植物ホルモンであるアブシジン酸に応答して閉鎖し、植物体からの水分損失を防いでいます（Kinoshita and Hayashi, 2011）（図1）。本論文では、気孔が異常に開いた突然変異体の解析により、気孔を構成する孔辺細胞に、上述したFTが多量に含まれていることが判明しました。そこで、孔辺細胞に人为的にFTタンパク質を過剰発現させたところ、気孔は大きく開き、FTの機能欠損変異体では気孔開口が抑制されていることが分かり、FTは気孔開口を促進する役割も持つことが明らかとなりました（図1）。このことは、植物は花を咲かせる時、同時に気孔開口を促進し、光合成活性を高めることによって、花芽誘導や種子の成熟を促進していると考えられ、植物の花成時におけるFTの新たな生理機能の発見となりました。現在は、どのようにしてFTが気孔開口を誘導しているのか、その分子メカニズムの解析を進めています。

動物とは異なり、植物は中枢神経を持たず、各々の細胞や組織が自律的に機能している場合が多いのですが、花成誘導は、葉から茎頂へ師管を介した長距離シグナル伝達を行っている珍しい例の一つです。花芽を作る茎頂の分裂組織においても、日長を感じる光受容体は発現していますので、茎頂

でFTを発現すればいいと思われますが、どうしてわざわざ葉でFTを発現し、茎頂まで運んでいるのか、その理由については明確な説明ができていません。これまでFTについては、花芽誘導に関してのみ研究が進められてきましたが、今回の発見をきっかけとして、FTの植物における多様な生理機能が明らかになるのではないかと考えています。最近、ジャガイモのFT様タンパク質が日長に応じて塊茎形成を誘導していることが報告され、この結果もFTが多様な機能を担っていることを強く示唆しています（Navarro et al., 2011）。

参考論文

- Turck F, Fornara F, Coupland G. (2008) Regulation and identity of florigen: FLOWERING LOCUS T moves center stage. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 573-594.
Kinoshita T, Hayashi Y. (2011) New insights into the regulation of stomatal opening by blue light and plasma membrane H⁺-ATPase. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 289: 89-115.
Navarro C, Abelenda JA, Cruz-Oró E, Cuéllar CA, Tamaki S, Silva J, Shimamoto K, Prat S. (2011) Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. *Nature* 478: 119-122.

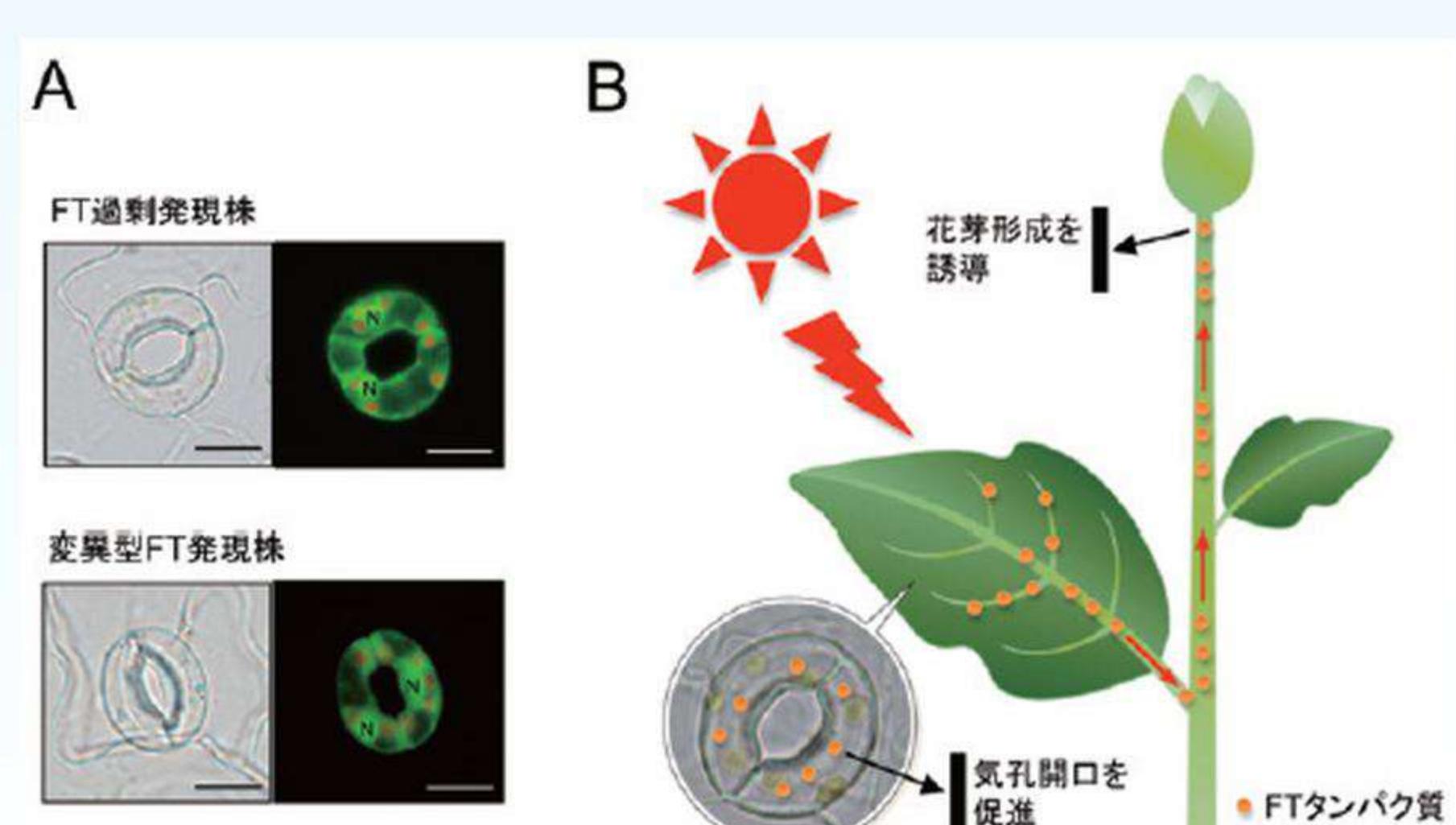


図1：FTによる気孔開口の促進

(A) モデル植物シロイヌナズナの気孔孔辺細胞に緑色蛍光タンパク質 (GFP) との融合タンパク質としてFTを過剰発現させると気孔は異常に開口するが、機能を欠損した変異型FTを過剰発現させても気孔開口は誘導されない。左は明視野像、右は蛍光像 (緑: GFP 蛍光、赤: クロロフィル 蛍光)。バーは 5 μm、Nは核を示す。(B) 植物におけるFTの働きの概念図。FTは、日長に応じて葉の維管束で発現し、師管を通して茎頂に移動し、花芽形成を誘導するのみならず、気孔孔辺細胞においても発現し、気孔開口を促進する働きを持つ。

植物ホウ素輸送体 NIP5;1 の mRNA の蓄積量はホウ素栄養に応じた mRNA 安定性を通じて制御されている

Boron-dependent degradation of NIP5;1 mRNA for acclimation to excess boron conditions in *Arabidopsis*

Mayuki Tanaka, Junpei Takano, Yukako Chiba, Fabien Lombardo, Yuki Ogasawara, Hitoshi Onouchi, Satoshi Naito, Toru Fujiwara
The Plant Cell 23: 3547–3559, 2011.

シロイヌナズナのホウ素吸収を担うホウ酸トランスポーター NIP5;1 の転写産物 (mRNA) はホウ素欠乏条件で多く蓄積し、この蓄積が植物のホウ素欠乏という劣悪条件での生育に必須であることが知られています。本研究ではホウ素栄養条件に応じた *NIP5;1* mRNA の蓄積量の変動が、*NIP5;1* mRNA の分解の制御によって起こっていることを明らかにしました。

ホウ素は植物の生育に必須な微量元素であり、細胞壁のペクチンを架橋し細胞壁の構造維持に重要な役割を果たしていることが知られています。私たちは、2006 年にシロイヌナズナの根において、ホウ素の吸収に重要なホウ酸チャンネル NIP5;1 を発見しました。*NIP5;1* はホウ素欠乏条件においてホウ素を土壤から吸収するために必須な遺伝子であり、ホウ素欠乏条件で育てると、ホウ素十分条件で育てた時に比べて *NIP5;1* の mRNA の蓄積量は約 10 倍上昇することが明らかとなっています。*NIP5;1* 遺伝子を欠損する植物はホウ素を十分与えると通常に生育しますが、ホウ素欠乏では生育することができません。*NIP5;1* の発現制御はホウ素欠乏という環境を突破するために不可欠です。

本研究では、ホウ素に応答した *NIP5;1* の発現制御機構を明らかにすること目的とし実験を進めました。その結果、*NIP5;1* のプロモータ領域を欠損させてもホウ素欠乏応答に違いが無かったのですが、5'UTR 領域を欠損させるとホウ素が十分あっても欠乏でも mRNA の蓄積量が変化しなくなることを見いだしました。さらに、転写阻害剤を用いた実験によってホウ素に応答した *NIP5;1* の mRNA の蓄積は、mRNA の分解によって制御されていることを発見しました。つまり、ホウ素が十分に存在する条件では、mRNA が素早く分解され、ホウ素が低濃度に存在する条件では、mRNA は分解速度が遅くなっていることを明らかにしました（図 1）。この mRNA の分解を制御している領域は 5' 非翻訳領域内の uORF を含む短い塩基配列に存在していることも明らかにしました。*NIP5;1* の 5' 非翻訳領域を持たない形質転換植物はホウ素過剰条件でも、mRNA が分解されず蓄積し続けるため、植物はホウ素を過剰に取り込み、結果としてホウ素過剰条件での成長が抑制されることが示されました（図 2）。

植物は動くことができないため、その土地の環境に適応していくしかなければなりません。土壤中のホウ素濃度は概して均一ではなく、土壤中のホウ素濃度の変化に対応し、植物はホウ素を効率的に吸収、あるいは抑制するように調節しなければなりません。様々な土壤中のホウ素濃度環境に適応するた

め、mRNA 分解による制御が行われていると推察されます。この実験により、植物の栄養輸送体における 5' 非翻訳領域を介した mRNA 分解の制御メカニズムを初めて示しました。この制御機構を応用することで、様々な不良土壤でも効率的にホウ素を吸収、あるいは抑制できる作物を作出することに大きく貢献できると考えています。また、植物の栄養という環境を突破する新しい戦略を提示することができたと考えています。

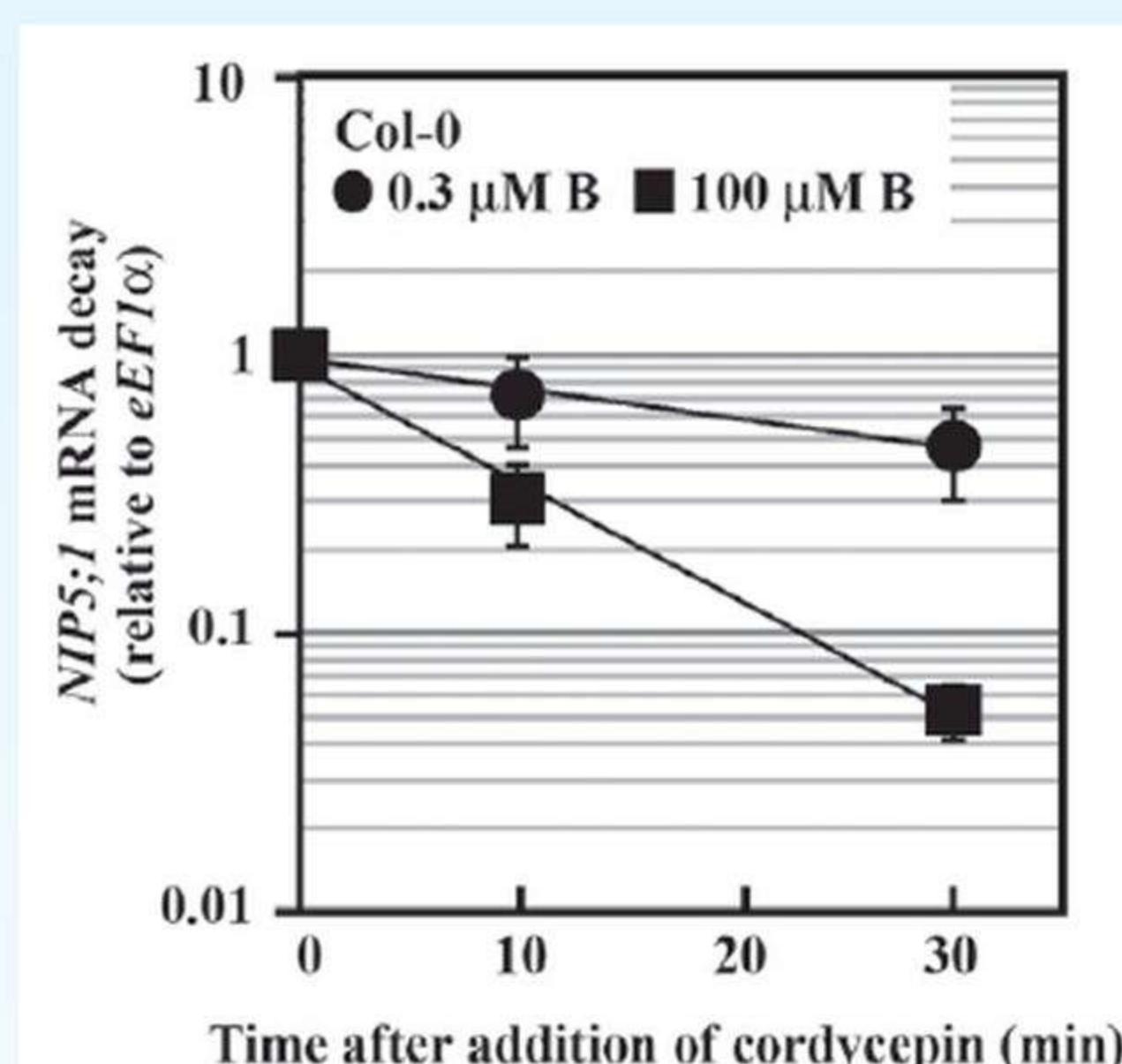


図 1: ホウ素栄養条件による *NIP5;1* mRNA の蓄積制御
シロイヌナズナをホウ素欠乏 (0.3 μM) で育て、転写阻害剤の cordycepin で処理するとともにホウ素欠乏 (0.3 μM) とホウ素十分 (100 μM) 条件にさらし、mRNA の蓄積量を経時的にみたもの。ホウ素十分条件では分解速度が速くなっている。

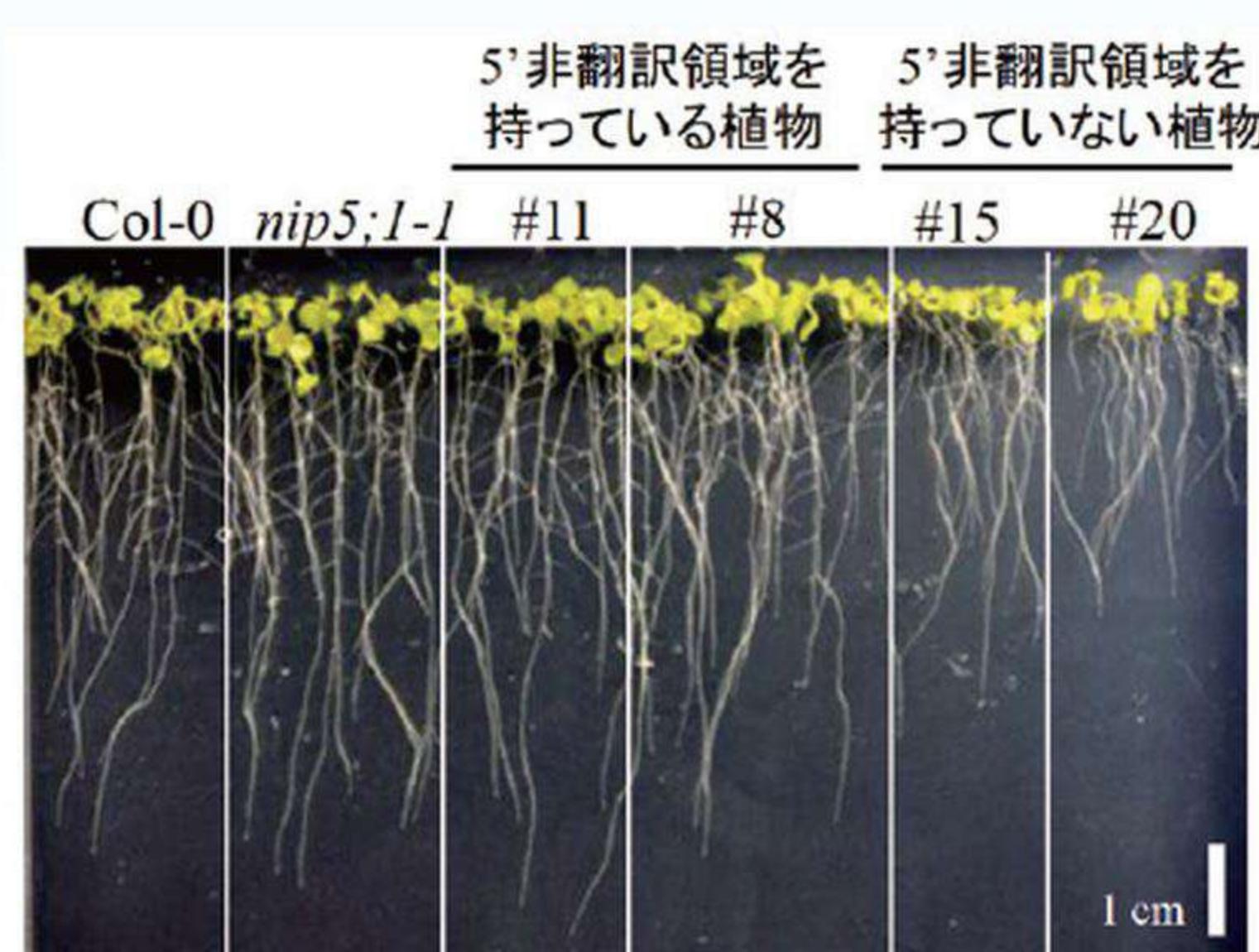


図 2 : 5' 非翻訳領域が欠損するとホウ素過剰に感受性になる。
5' 非翻訳領域を欠損した *NIP5;1* 遺伝子を *nip5;1* 変異株に導入して過剰ホウ素条件 (3000 μM B) における成長を観察したもの。対照として作出した *NIP5;1* 5' UTR を持った形質転換植物は、野生型や、*NIP5;1* の欠損株 (*nip5;1-1*) と比較して、その成長に違いは見られない。一方、*NIP5;1* 5' UTR を持たない形質転換植物は、野生型、*NIP5;1* の欠損株と比較して、成長が抑制されていた。

大麦の酸性土壌環境適応力

Acquisition of aluminium tolerance by modification of a single gene in barley

Miho Fujii, Kengo Yokosho, Naoki Yamaji, Daisuke Saisho, Miki Yamane, Hirokazu Takahashi, Kazuhiro Sato, Mikio Nakazono, Jian Feng Ma
Nature Communications 3: 713. doi:10.1038/ncomms1726, 2012.

pHが5.5以下の酸性土壌は、世界の耕地面積の3-4割を占める代表的な問題土壌です。そこには様々な生育阻害因子が存在しますが、主なものはアルミニウムイオン毒性です。アルミニウムは酸性条件下でイオンとして溶出され、根の伸長を素早く阻害し、養分や水分の吸収を低下させます。しかし、一部の植物は長い進化の過程でアルミニウムを無毒化して、酸性土壌環境を突破する戦略を獲得してきました。

イネ科の作物の中では、イネがアルミニウム毒性に一番強く、オオムギが一番弱い種です。しかし、オオムギの中でもアルミニウム耐性に大きな品種間差があります（図1）。これまでの生理学的な解析から、この品種間差は根からのクエン酸の分泌量に起因することがわかりました（Zhao et al., 2003）。アルミニウム耐性品種は根からより多くのクエン酸を分泌し、クエン酸が根圏においてアルミニウムとキレートすることでアルミニウムを無毒化することができます。

2007年当時は難しかったオオムギの遺伝子マッピングですが、マイクロアレイとの組み合わせで、クエン酸の分泌に関与する遺伝子 HvAACT1 (Aluminum Activated Citrate Transporter) を同定することができました（Furukawa et al., 2007）。HvAACT1 は multi drug and toxin extrusion (MATE) ファミリーに属し、クエン酸を輸送基質とします。HvAACT1 の発現はアルミニウムによって誘導されませんが、アルミニウム耐性品種では恒常に高くなっています。

今回、このHvAACT1の発現制御機構を明らかにするために、ゲノム配列をアルミニウム耐性品種と感受性品種間で比較しました。その結果、アルミニウム耐性品種ではHvAACT1遺伝子の上流に約1kbの挿入があることを突き止めました。この挿入はプロモーターの役割を果たし、HvAACT1の発現量を増加させるだけでなく、発現部位を根の中心柱から根端へ変化させました（図2）。その結果、根の先端から多くのクエン酸を分泌し、アルミニウムの無毒化に機能することがわかりました。世界各国の栽培大麦265品種及び野生大麦154種類を調べたところ、この挿入は酸性土壌が広く分布する東アジアに栽培されている20品種にしか存在せず、酸性土壌に適応するために進化してきた仕組みだと考えられます。また、この遺伝子の起源を解析したところ、本来HvAACT1は根の基部の内鞘細胞に局在し、導管へクエン酸を輸送することで、必須元素である鉄をクエン酸-鉄錯体として根から地上部へ輸送するために必要な遺伝子であることがわかりました（図2）。

栽培オオムギは約1万年前の近東を起源とします。その後、

人間の活動によって栽培域が広がり、現在は熱帯を除く世界中で栽培されるようになりました。オオムギが起源とする環境は乾燥した気候で、主にアルカリ土壌です。したがって、栽培域が拡大していく中で、オオムギはそれぞれの環境に適応する能力を獲得しなければなりませんでした。今回、本研究では、たった一つの遺伝子の変化で大麦が酸性土壌適応力を獲得したことを解明しました。

今後この仕組みを酸性土壌適応力の弱い大麦品種や他の作物に導入することにより、酸性土壌でも栽培可能な作物の作出が期待されます。

参考論文

- Furukawa J, Yamaji N, Wang H, Mitani N, Murata Y, Sato K, Katsuhara M, Takeda K, Ma JF. (2007) An aluminum-activated citrate transporter in barley. *Plant Cell Physiol* 48: 1081-1091.
Zhao Z, Ma JF, Sato K, Takeda K. (2003) Differential Al resistance and citrate secretion in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Planta* 217: 794-800.

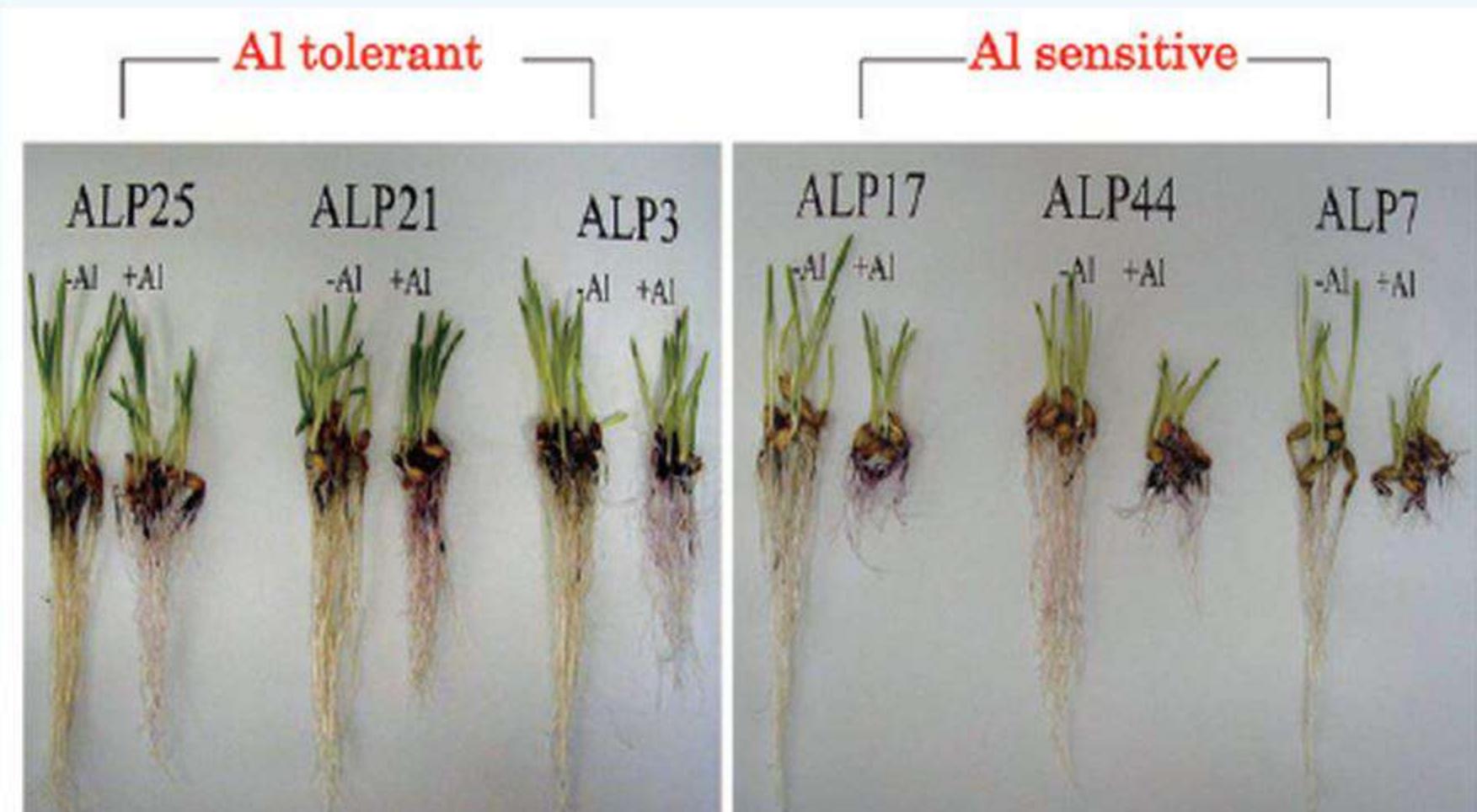


図1：オオムギのアルミニウム耐性の品種間差

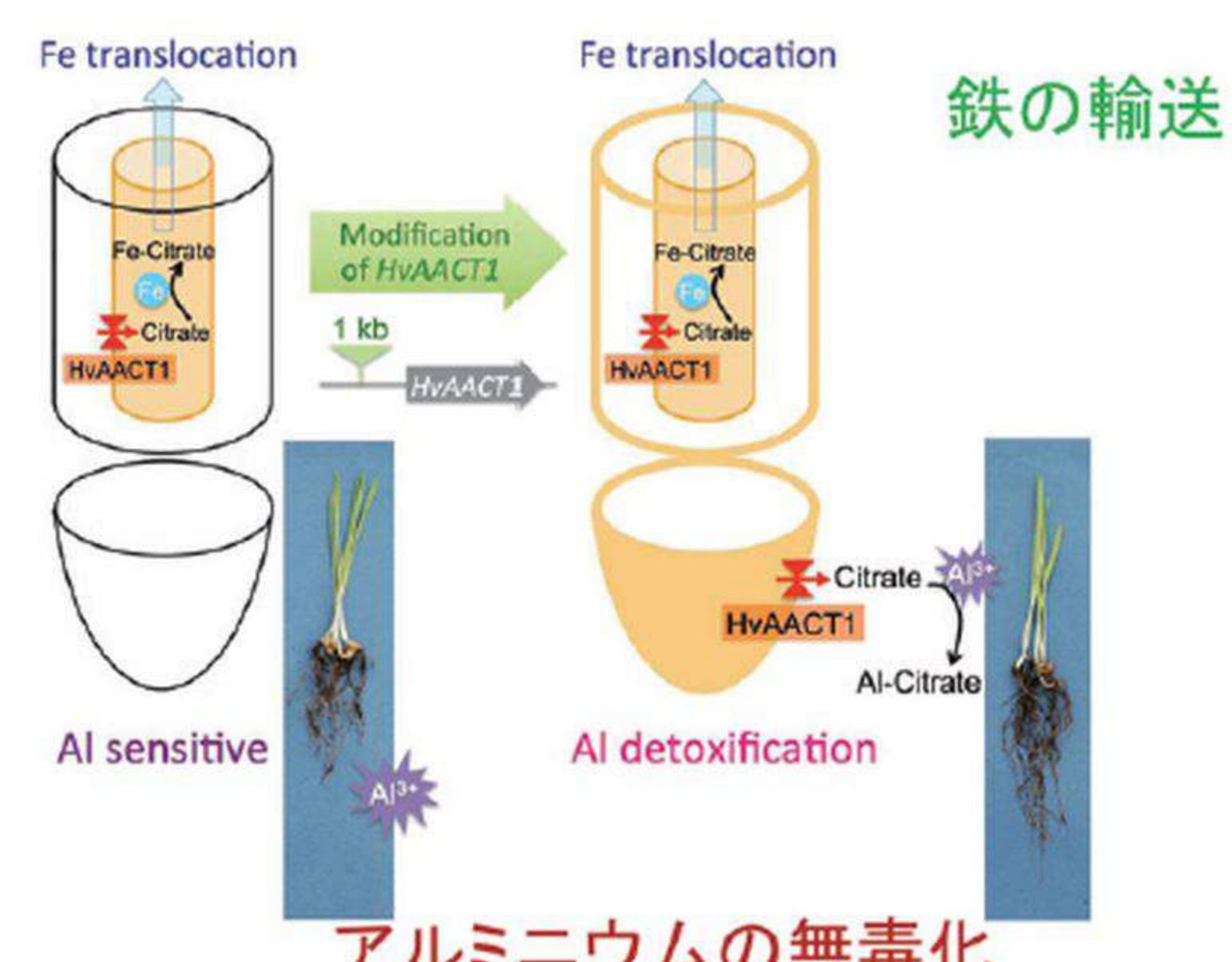


図2：HvAACT1上流への1 kbの挿入による役割の変化

イネのマンガンとカドミウム吸収に関する主要な輸送体

Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice

Akimasa Sasaki, Naoki Yamaji, Kengo Yokosho, Jian Feng Ma
The Plant Cell 24: 2155-2167, 2012.

マンガン (Mn) は植物の生育にとって欠かせない必須金属です。マンガンは酵素タンパク質の構成成分としてだけではなく、 Mn^{2+} の形で多くの酵素反応の活性剤として作用します。特に光合成系 II 複合体を構成するマンガンタンパク質とスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) がよく知られています。植物の生育に必要なマンガンの量は乾物重あたり数十～数百 mg/kg ですが、マンガン欠乏になると、葉にクロロシスが生じます。逆に過剰になると、葉に褐色斑点が現れます。

イネは畑状態でも湛水状態でも生育することができます。したがって栽培環境によって土壤溶液中のマンガン濃度は大きく変動します。イネは栽培環境に応じてマンガンを蓄積し、生育に必要な量以上に地上部に高濃度で蓄積しても、毒性を示さないことが知られています。地上部のマンガンの無毒化には OsYSL6 が関与していることが明らかにされています (Sasaki et al., 2011)。OsYSL6 はマンガン - ニコチアナミン複合体をアポプラストからシンプラストへ輸送し、マンガンが最終的に液胞へ隔離される最初の段階において重要です。しかし、イネがどのようにマンガンを吸収するのかについてはこれまで明らかではありませんでした。我々は 2010 年にイネのアルミニウムトランスポーター Nrat1 を同定しました (Xia et al., 2010)。Nrat1 は Nramp (Natural Resistance-Associated Macrophage Proteins) ファミリーに属しており、イネのゲノム上に 7 つのメンバーがあります。我々は他の Nramp メンバーの機能を解析している過程で、OsNramp5 がマンガン吸収に関わる主な輸送体であることを明らかにしました。

OsNramp5 は全生育期間を通して主に根で発現しており、また根の先端部より基部側で高発現します。各種必須金属欠乏に対する OsNramp5 の発現応答を調べた結果、マンガン、鉄、銅、亜鉛のいずれの欠乏によっても発現が変動せず、恒常に発現していました。抗体染色で OsNramp5 の組織・細胞局在性を調べた結果、OsNramp5 は根の内皮と外皮細胞に局在し、興味深いことにいずれの細胞でも遠心側に極性局在を示していました (図 1)。また GFP との融合遺伝子をタマネギの表皮細胞に発現させて細胞内局在を観察したところ、細胞膜に局在していました。この遺伝子の役割を明らかにするために T-DNA 挿入による遺伝子破壊株を取得し、生理的な解析を行ったところ、普通のマンガン濃度下で栽培すると、根と地上部の生育が破壊株で大幅に低下していました。ミネラルの分析をすると、地上部のマンガン、鉄とカドミウムの濃度が野生型と比べ、破壊株で低くなっていました。培

養液中のマンガン濃度を増やすと、生育が徐々に回復しました。しかし、鉄濃度を増やしても生育の改善は見られませんでした。これらのことから破壊株の生育低下はマンガン吸収の低下によるものと考えられます。吸収のキネティクスを調べた結果、OsNramp5 が破壊されると、根によるマンガンとカドミウムの吸収がほとんど失われました (図 2)。さらに土耕栽培すると、破壊株のわら及び玄米中のマンガンとカドミウムの濃度は大幅に低下しており、粒収量も低下していました。これらの結果は OsNramp5 がイネにおいてマンガンとカドミウムの吸収に必要な主要な輸送体であることを示しています。

参考論文

Sasaki A, Yamaji N, Xia JX, Ma JF. (2011) OsYSL6 is involved in the detoxification of excess manganese in rice. *Plant Physiol* 157:1832-1840.

Xia JX, Yamaji N, Kasai T, Ma JF. (2010) Plasma membrane-localized transporter for aluminum in rice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:18381-18385.

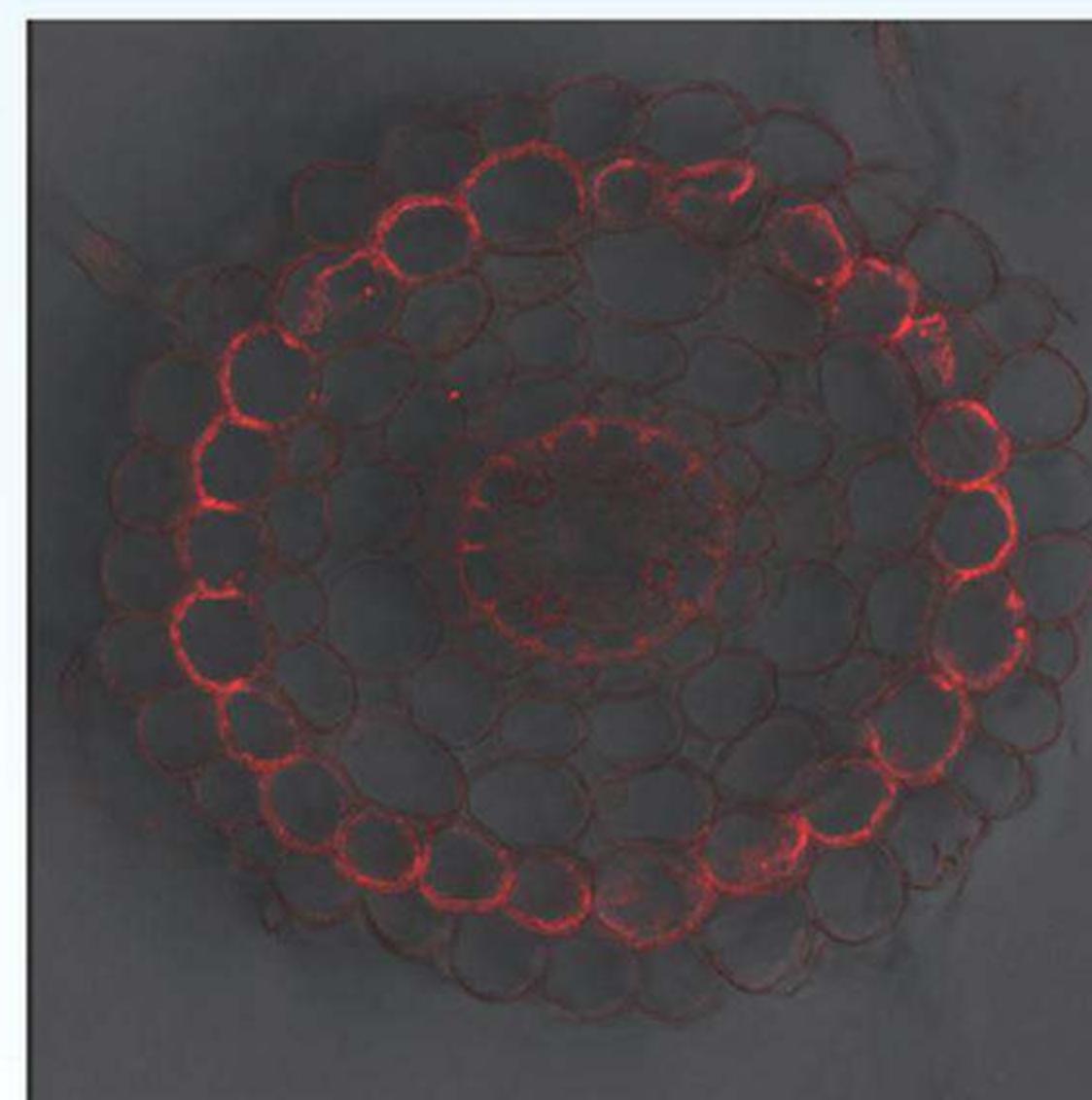


図 1 : OsNramp5 の局在
抗体染色による OsNramp5 の根での局在を示す。OsNramp 5 は根の外皮と内皮細胞の遠心側に偏在している。

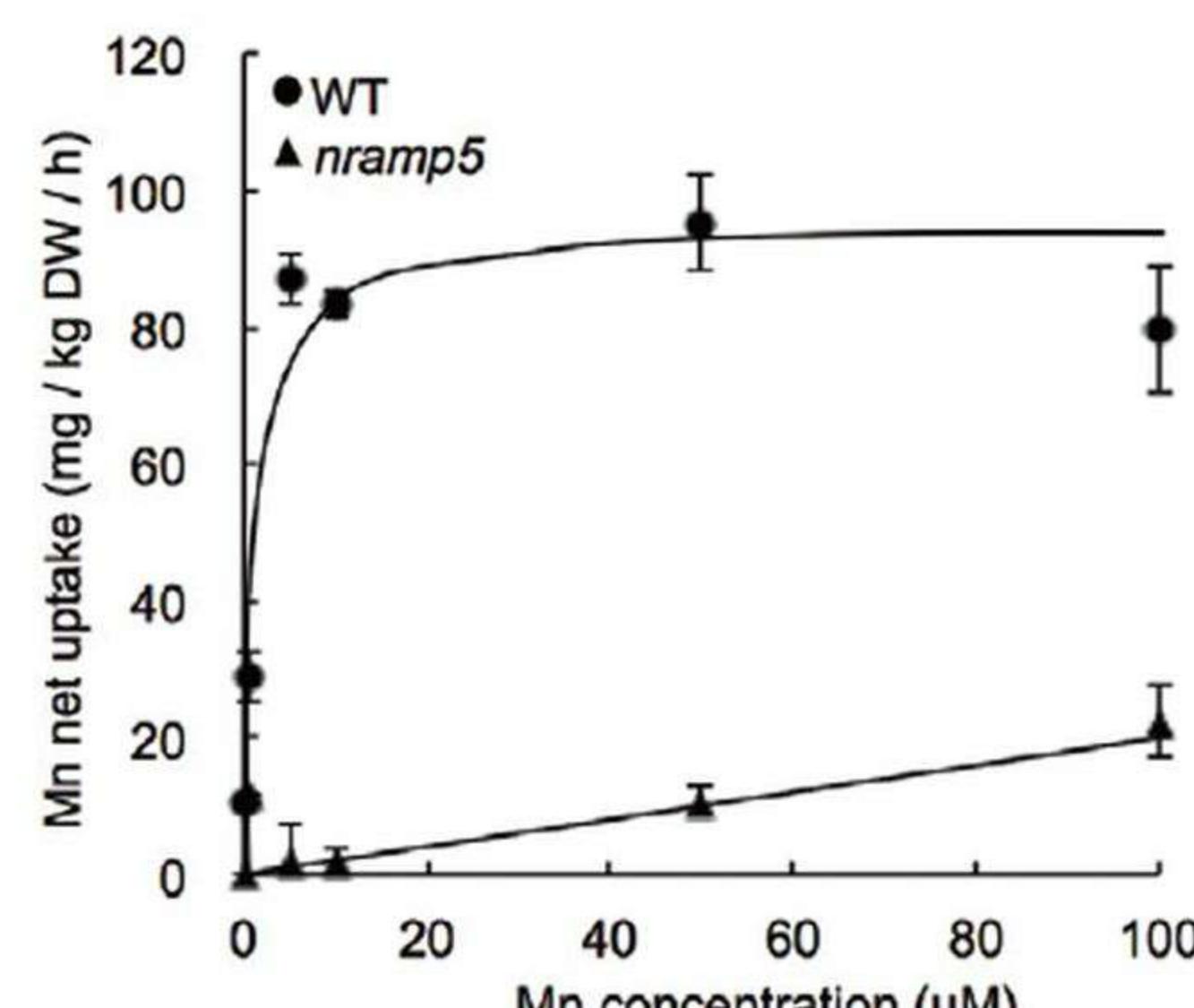


図 2 : マンガン吸収のキネティクス
異なるマンガン濃度における野生型イネ (WT) と OsNramp5 破壊株の吸収。破壊株のマンガン吸収能力はほとんど失われていた。

シロイヌナズナのGROWTH-REGULATING FACTOR7 (GRF7) はDREB2AをはじめとするABAおよび浸透圧ストレス応答性遺伝子の転写抑制因子として機能する

Arabidopsis growth-regulating factor7 functions as a transcriptional repressor of abscisic acid- and osmotic stress-responsive genes, including DREB2A
June-Sik Kim, Junya Mizoi, Satoshi Kidokoro, Kyonoshin Maruyama, Jun Nakajima, Kazuo Nakashima, Nobutaka Mitsuda, Yuko Takiguchi,
Masaru Ohme-Takagi, Youichi Kondou, Takeshi Yoshizumi, Minami Matsui, Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki
The Plant Cell 24: 3393-3405, 2012.

自然界では、環境条件が常に変化し続けています。動物と違つて、根を下ろした場所から動けない植物は、環境条件に合わせて自らを絶えず変化させることにより、生長・生存を図っています。植物は、理想的な環境では最大限に生長しますが、周辺環境が悪化してくると、ストレスの種類に応じた耐性機構を発動させ、そのストレスに耐えられるようになります。しかし、速い生長と強いストレス耐性は、両立できません。そこで、周辺環境の変化に応じて、生長とストレス耐性の二つのモードを厳密に制御することが、植物の生存戦略にとって重要であると考えられます。

モデル植物シロイヌナズナの転写活性化因子（注1）DREB2Aは、乾燥や高温といった環境ストレスに応答し、これらのストレスへの耐性に関わる多数の遺伝子を活性化することで、耐性獲得メカニズムで中心的な役割を果たしています。そこで、*DREB2A* 遺伝子の働きを制御しているプロモーター領域のDNA配列を解析したところ、環境ストレスに応答して*DREB2A* 遺伝子の働きを活性化する領域に加えて、ストレスのない条件で*DREB2A* 遺伝子の働きを抑制するS (Suppression、抑制) 領域と名付けた領域が発見されました。さらに、S領域にある7塩基対のDNA配列 (TGTCAGG; GTE, GRF7-Targeting Element) にGRF7という転写抑制因子が結合して、*DREB2A* の発現を抑制していることが明らかになりました（図1）。

一方、GRF7が植物体の生育やストレス応答で果たしている役割を調べるために、GRF7を作れない $grf7-1$ 変異体植物を取得して解析しました。 $grf7-1$ 変異体は、ストレスがない条件でも*DREB2A* 遺伝子が活性化していました。さらに、マイクロアレイ（注2）を用いて、遺伝子発現の変化を網羅的に調べた結果、 $grf7-1$ 変異体では*DREB2A*以外にも多くのストレス耐性遺伝子が、ストレスがない条件でも働いていることが明らかになりました。このような遺伝子発現の変化に対応して、 $grf7-1$ 変異体は乾燥や高塩濃度のストレスに対する耐性が向上していましたが、一方で、通常の条件で生育させたときに、野生型の植物に比べて植物体のサイズが小さくなりました（図2）。

以上の結果から、次のようなモデルが考えられます（図2）。理想的な生育条件では、GRF7がストレス耐性遺伝子のプロモーター上のGTE配列に結合し、働きを抑制します。植物の生育を抑制するストレス耐性遺伝子の発現が起きないから、植物は順調に生育します。環境ストレスにさらされると、GRF7の機能が失われ、かわりにストレス環境下で機能する転写活性化因子が、耐性遺伝子の働きを活性化します。

耐性遺伝子の働きにより、植物体のストレスに対する耐性が向上しますが、生長は抑制されます。つまり、植物は生育に適した条件下で最大限に生長するために、生育の妨げとなる環境ストレス応答を積極的に抑制しているという、これまで知られていなかった機構が明らかになりました。

（注1）転写活性化因子、転写抑制因子：遺伝子近傍の特定のDNA配列に結合し、転写を制御するタンパク質。転写活性化因子が遺伝子の転写を活性化するのに対し、転写抑制因子は遺伝子の転写を抑制するように働く。

（注2）マイクロアレイ：多数の遺伝子の発現を一度に調べる手法。シロイヌナズナの全27,000遺伝子の95%以上について発現量の変動が解析できる。

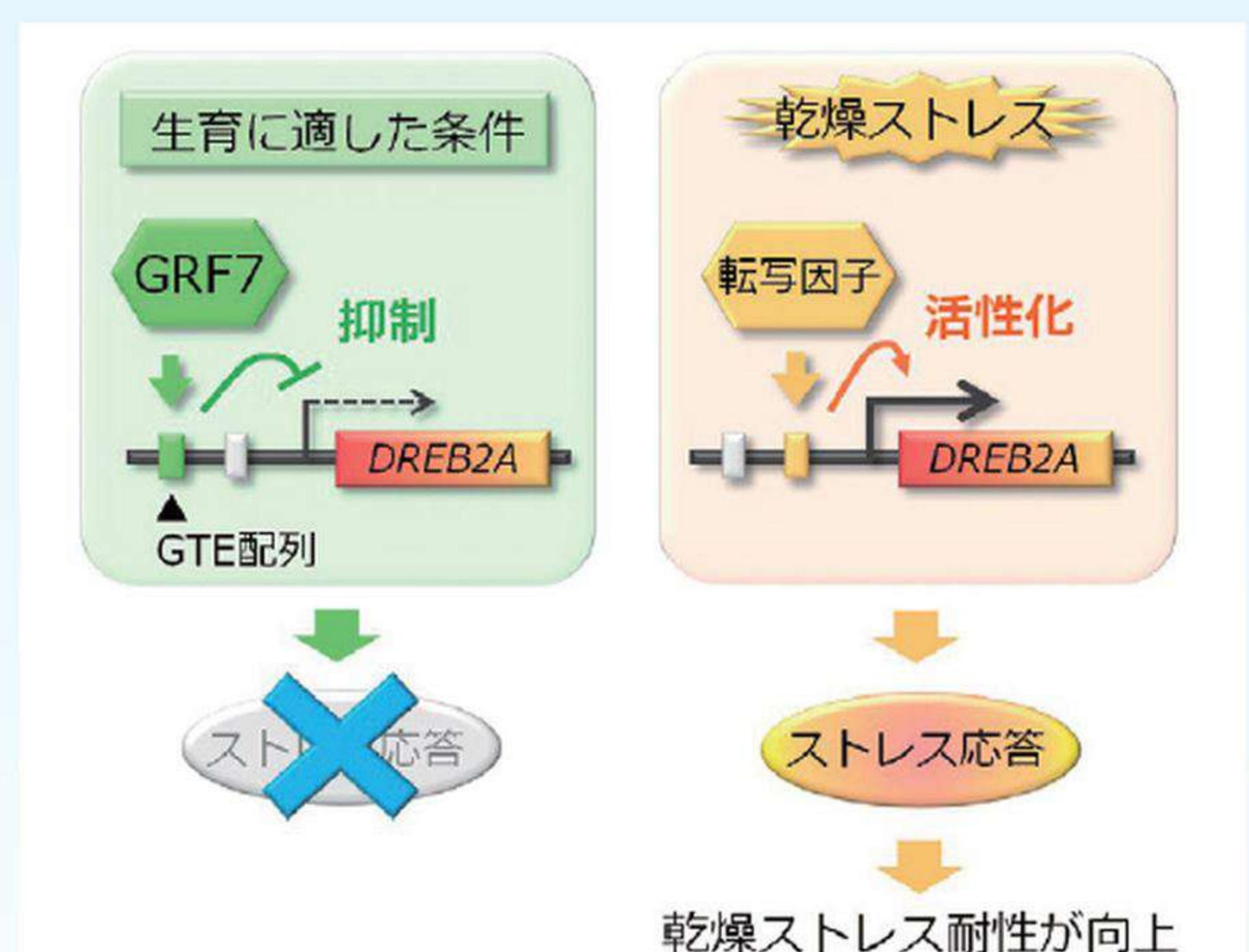


図1：GRF7は生育に適した条件で*DREB2A*遺伝子の発現を抑制する。乾燥ストレス下では*DREB2A*遺伝子の発現が活性化し、ストレス耐性が向上する。一方、生育に適した条件では、GRF7が*DREB2A*遺伝子のプロモーター領域にあるGTE配列に結合して、*DREB2A*遺伝子の発現を抑制することで、ストレス応答を抑える。

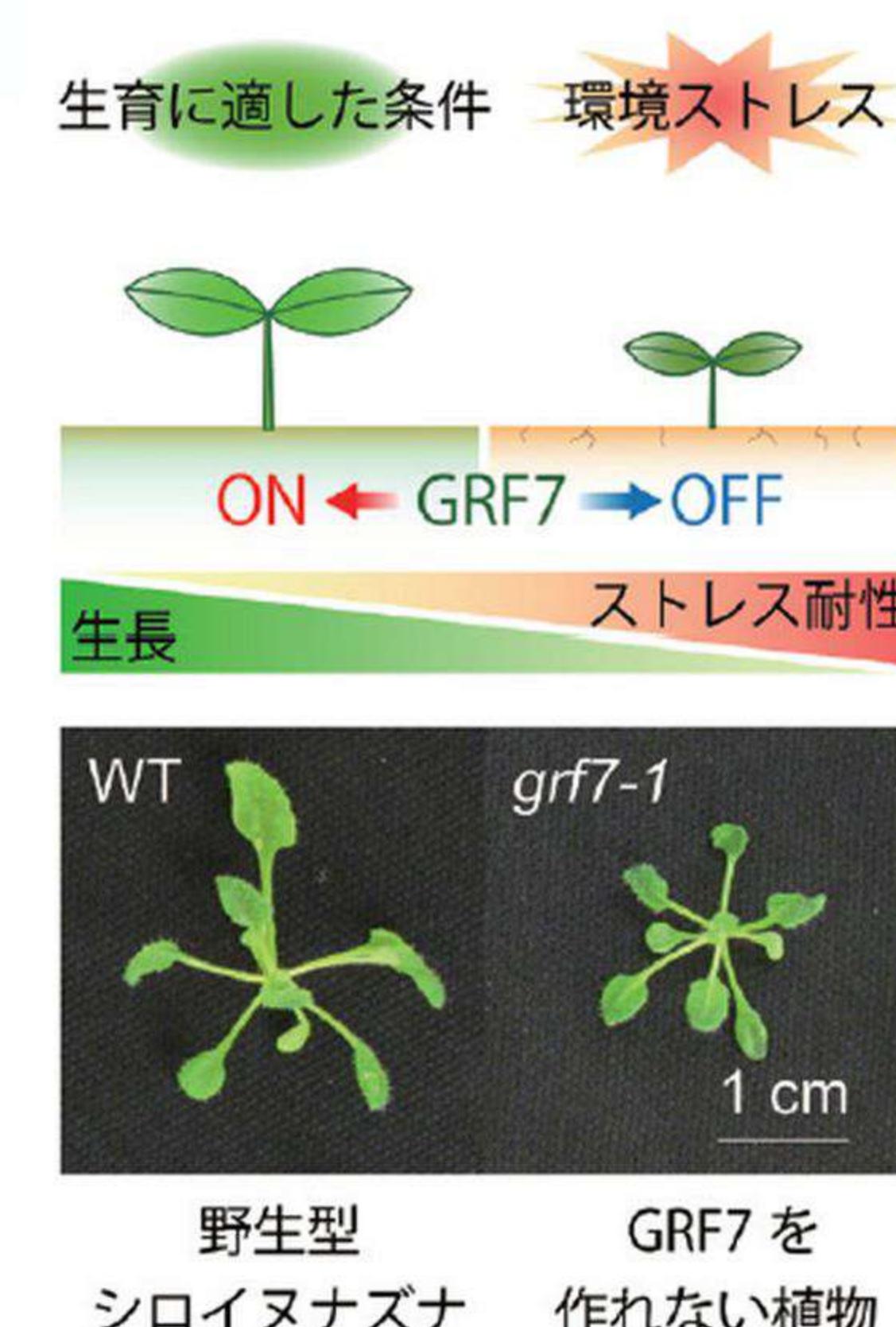


図2：環境ストレス応答を抑えて生育を促進する転写抑制因子GRF7の役割。GRF7を作れない植物では、生育に適した条件下でもストレス耐性遺伝子が働くので、耐性は向上するが、生育が抑制されてしまう。従って、GRF7は生育に適した条件で不必要的ストレス応答を抑制し、順調な生育を支える機能を持つていると考えられる。

イネの銅再転流に関する輸送体 OsYSL16

YSL16 is a phloem-localized transporter of the copper-nicotianamine complex that is responsible for copper distribution in rice

Luqing Zheng, Naoki Yamaji, Kengo Yokosho, Jian Feng Ma
The Plant Cell 24: 3767-3782, 2012.

銅 (Cu) は植物の必須元素で、健全な生育のために必要な量は乾物重あたり僅か 10mg/kg 程度ですが、有機質の多い土壌では、有機物が銅と強く結合するため、銅の有効性が低くなり、しばしば銅欠乏が起こります。銅欠乏時には銅を古い組織から新しい組織へ転流させることが銅の体内の有効利用に非常に重要であることが知られていましたが、その分子機構についてはほとんど明らかにされていませんでした。我々はイネの OsYSL16 が銅の再転流に必要な輸送体であることを突き止めました。

OsYSL16 は Yellow Stripe-Like (YSL) ファミリーに属します。YSL は最初にイネ科植物の鉄 - ムギネ酸錯体輸送体として同定されました。イネには 18 個の相同遺伝子があり、いくつかのメンバーが解析された結果、リガンドとしてムギネ酸だけでなく、ニコチアナミンも、また金属として鉄だけではなく、亜鉛やマンガンとの錯体も輸送することが報告されています。OsYSL16 を酵母に発現させて、輸送活性を測定したところ、ニコチアナミン - 銅複合体を輸送する活性を示し、ニコチアナミン - 亜鉛、ニコチアナミン - 鉄、ムギネ酸 - 銅複合体に対する輸送活性は見られませんでした。

OsYSL16 の発現パターンを調べたところ、栄養成長期では、根、葉と基部節で発現し、その発現量は金属（亜鉛、鉄、マンガン、銅）の欠乏によって影響を受けませんでした。また根では先端より基部でより高発現していました。生殖成長期では、根と葉以外に、節で高い発現を示します。OsYSL16 のプロモーターに GFP を連結させた形質転換植物を作成して、組織・細胞レベルでの発現を調べると、根では外皮細胞で発現し、葉では、維管束付近で発現していま

した。また節では節部に局在していました（図 1）。さらに OsYSL16 は細胞膜に局在することが分かりました。

OsYSL16 遺伝子を破壊すると、地上部の銅の濃度が少し低下しましたが、他の金属濃度はほとんど変わりませんでした。しかし、葉位別に分析すると、野生株と比べ、破壊株は古い葉の銅の濃度が高く、逆に新葉の銅の濃度が低い傾向を示し、他の金属の濃度は変わりませんでした。登熟期まで栽培すると、培養液中の銅の濃度が低い場合は、破壊株は稔実歩合が低く（図 2）、玄米中の銅の濃度も低下していました。しかし、培養液中の銅の濃度を増やすと、破壊株でも稔実歩合が改善されました。これらのこととは破壊株では銅の体内移行が滞っていることを示しています。

これを証明するために、銅の安定同位体 ^{65}Cu を用いて、体内の転流実験を行いました。栄養成長期の中位葉に ^{65}Cu -ニコチアナミン錯体を与えると、野生型イネでは新葉への移動が見られましたが、破壊株ではほとんど移動が起こりませんでした。また生殖成長期の止葉に ^{65}Cu -ニコチアナミン錯体を与えると、種子への ^{65}Cu の転流が見られましたが、破壊株では見られませんでした。したがって、OsYSL16 は節部輸送を介して、銅を銅 - ニコチアナミン錯体の形態で新しい組織や穂へ届けるために必要な輸送体であることがわかりました。

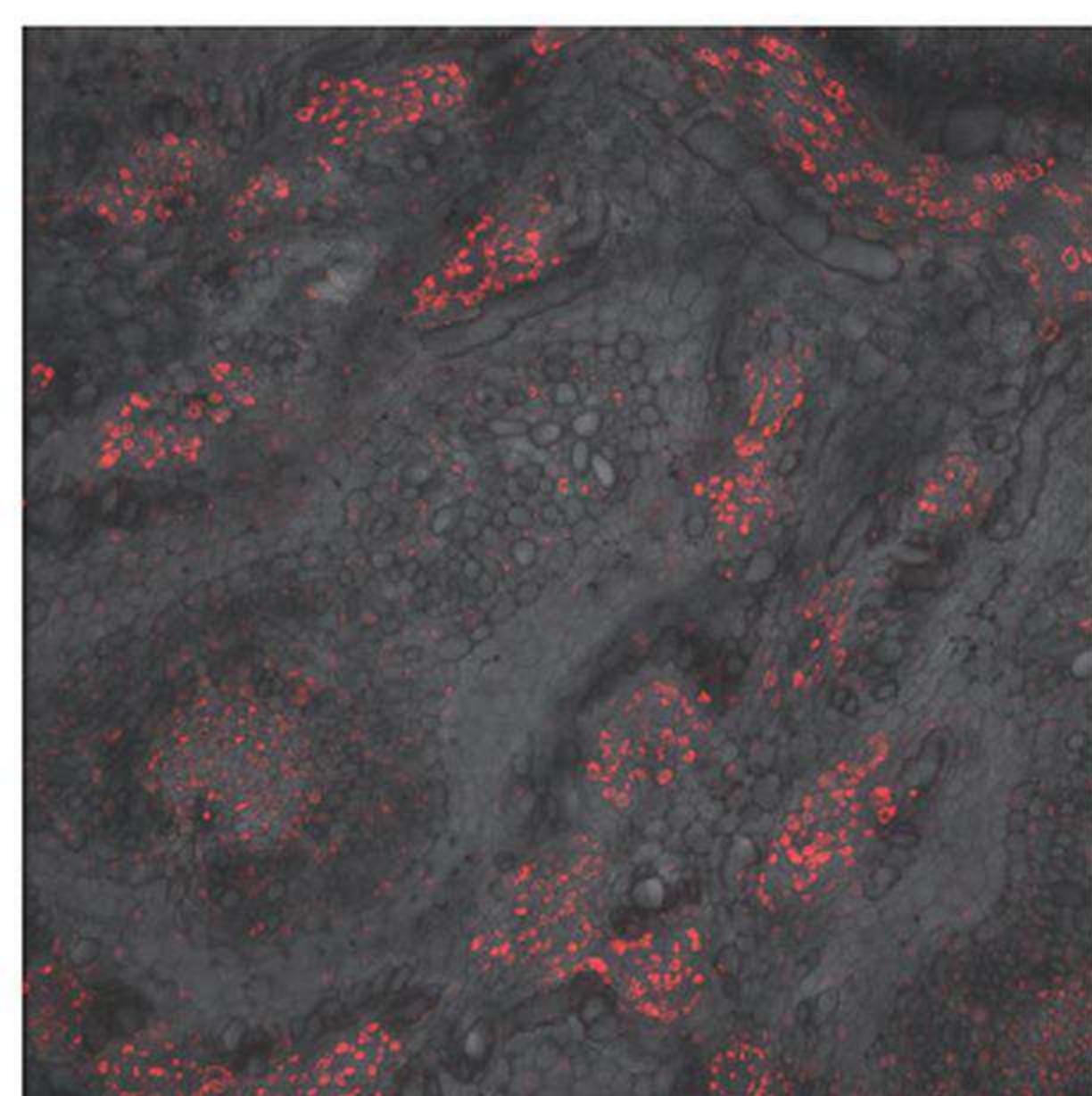


図 1：節における OsYSL16 の発現
OsYSL16 は節の節部で発現している。



図 2：登熟期における OsYSL16 破壊株
OsYSL16 破壊株（下）では、稔実歩合が野生型株（上）と比べ低下していた。

植物の細胞成長は APC/C 活性化因子の発現抑制によって終了する

Transcriptional repression of the APC/C activator CCS52A1 promotes active termination of cell growth

Christian Breuer, Kengo Morohashi, Ayako Kawamura, Naoki Takahashi, Takashi Ishida, Masaaki Umeda, Erich Grotewold, Keiko Sugimoto
The EMBO Journal 31: 4488-4501, 2012.

動物や植物をはじめとする多細胞生物の器官は多くの細胞から成り立っています。こうした器官の成長は、その構成細胞が分裂して数が増えたり、分裂を終了した細胞がさらに伸長成長し、体積を増大させたりすることで起きています。このような細胞成長は特に植物で頻繁に起き、葉や花、実などの器官成長の重要な原動力となっています。一つ一つの細胞はある程度の大きさに達すると成長を止めるため、例えばシロイヌナズナの葉の毛細胞であるトライコームのように、元の数百倍にまで体積が大きくなる細胞でも、最終的な細胞の大きさはほぼ一定です（図1）。これまでに細胞の成長を促進する仕組みについてはかなり理解が深まってきたが、最終的な細胞の大きさがどのように決まるかについてはよく分かっていません。

成長過程のなかで、多くの細胞が分裂を終えて細胞成長を始めるのと同時に、細胞分裂周期から核内倍加周期へと移行します。核内倍加周期に入った細胞では細胞の分裂を経ずに染色体の複製が繰り返されるため、細胞内のDNA量が倍加していきます。多くの細胞種で染色体の倍加に依存した細胞成長が起きることが知られていますが、実際にどのような仕組みでこうした成長が起きるのかはまだ分かっていません。また染色体倍加に依存しない細胞成長の例も数多く報告され、染色体倍加依存的、非依存的な成長がそれぞれどの程度全体の細胞成長に寄与するのか、またどのような仕組みになっているのかについては未だに議論が続いています。

私達は以前の研究からシロイヌナズナのトライヘリックス型転写因子 GTL1 が細胞成長を抑制することを見出していましたが、その作用機構はこれまで不明でした。そこで今回の研究では、全ゲノムクロマチン免疫沈降解析及び遺伝子発現解析を行い、GTL1 が直接転写制御する 182 個の遺伝子を同定しました。さらにこのなかから特に核内倍加への関与が示唆されているユビキチンリガーゼ APC/C のアクティベーター CCS52A1 に注目し、さらに分子遺伝学的な解析を行いました。この結果、GTL1 が CCS52A1 のプロモーター領域に直接結合しその発現を抑制すること、またこの発現制御機構が能動的な細胞成長抑制を司る主要経路として機能することを解明しました（図2）。

これまで CCS52A1 や他の動物種に保存されている CCS52A1 のホモログである CDH1/FZR が細胞分裂周期から核内倍加周期への移行を促進することは知られていましたが、その発現を積極的に止めないと核内倍加の進行やそれに伴った細胞成長が終了しないことが分かったのは初めてです。今回は細胞成長のモデル系として葉のトライコーム細胞

を用いましたが、他の細胞でも同様の成長抑制機構が働く可能性は十分考えられます。今後、GTL1 や CCS52A1 の関連因子の機能をさらに解明することで、植物の成長が正と負の制御バランスによって厳密に調節される仕組みが見えてくることが期待できます。また私たちはこうした積極的な細胞成長制御が環境変動下での成長戦略として重要なのではないかと考えています。今後は様々な環境ストレス下で GTL1 の発現や機能が調節され、細胞、器官成長が制御されるメカニズムについても明らかにしていく予定です。

参考論文

- Breuer C, Kawamura A, Ichikawa T, Tominaga-Wada R, Wada T, Kondou Y, Muto Y, Matsui M, Sugimoto K. (2009) The trihelix transcription factor AtGTL1 controls ploidy-dependent cell growth in the *Arabidopsis* trichome. *Plant Cell* 21: 2307-2322.
Cano E, Desvoyes B, Gutierrez C. (2012) GTL1 keeps cell growth and nuclear ploidy under control. *EMBO J.* 31: 4483-4485.



図1：シロイヌナズナの葉の表面にみられるトライコームと呼ばれる毛細胞 単一の細胞から出来ており、もとの大きさの数百倍にまで成長するが、最終的な細胞の大きさはほぼ一定になっている。

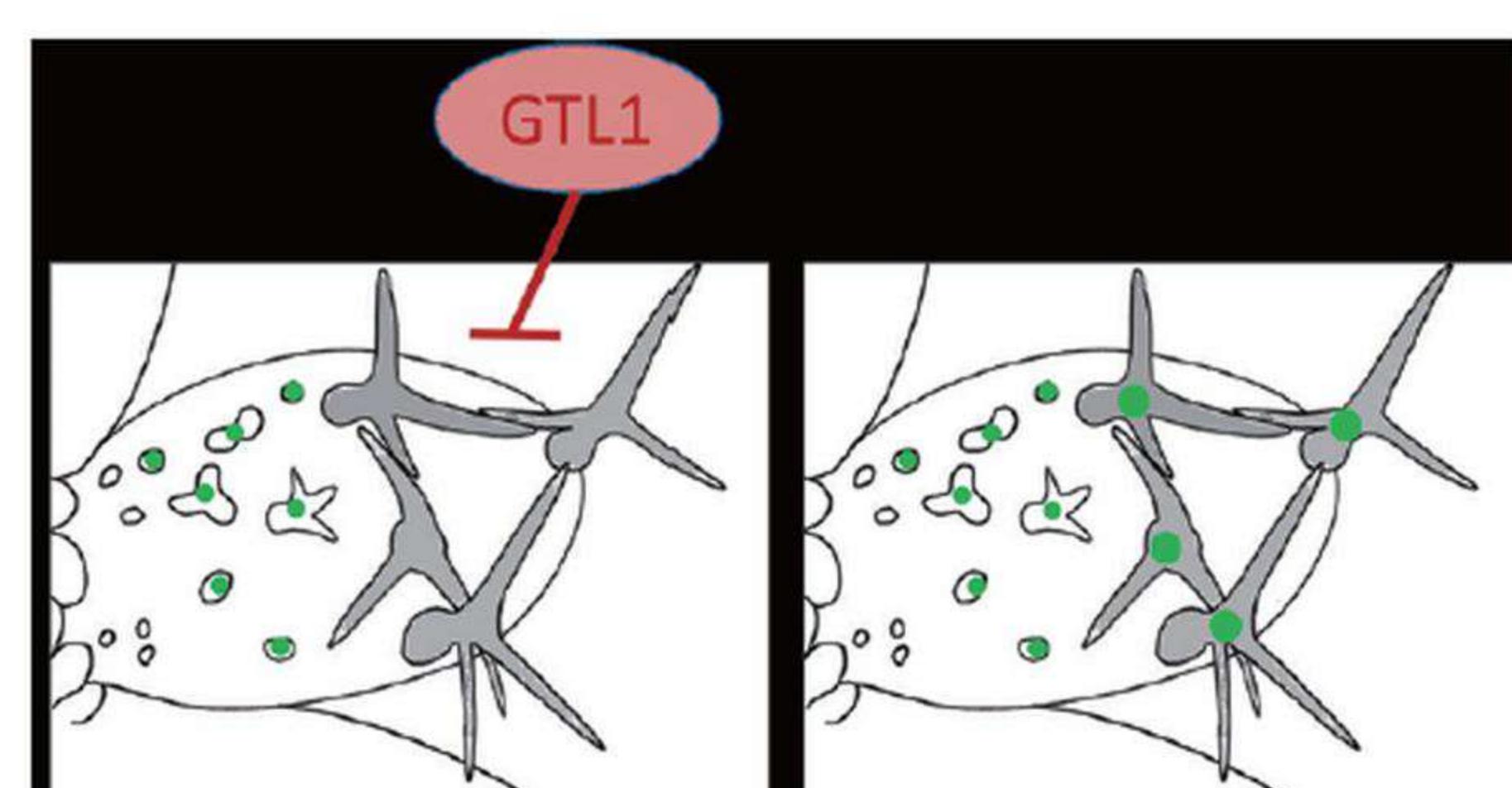


図2：GTL1 は細胞成長の終了時に発現し、CCS52A1 遺伝子の発現を抑制することによって細胞成長を停止させる
若いシロイヌナズナの葉のトライコーム細胞を示す。左側には細胞成長を開始したばかりの小さなトライコーム細胞（白色の細胞）、右側には細胞成長終了間近の大きな細胞（灰色の細胞）が見える。CCS52A1（緑の丸印）は細胞成長の開始時期から発現しているが、成長の終了間近になると GTL1 によってその発現を抑制され、細胞成長が停止する。GTL1 の機能を欠失させた *gtl1* 変異体では CCS52A1 の発現が抑制されないため、細胞が成長し続ける。

おコメの数を増やす遺伝子 TAWAWA1 の発見

TAWAWA1, a novel regulator of rice inflorescence architecture, functions through the suppression of meristem phase transition

Akiko Yoshida, Masafumi Sasao, Naoko Yasuno, Kyoko Takagi, Yasufumi Daimon, Ruihong Chen, Ryo Yamazaki, Hiroki Tokunaga, Yoshinori Kitaguchi, Yutaka Sato, Yoshiaki Nagamura, Tomokazu Ushijima, Toshihiro Kumamaru, Shigeru Iida, Masahiko Maekawa, Junko Kyozuka
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 110: 767-772, 2013.

私たちは作物の収量増につながる新規遺伝子 TAWAWA1 (*TAW1*) をイネから発見しました。*TAW1* は、穂の発生過程が進行するタイミングを微調整する遺伝子です。*TAW1* の働きが高まると穂につく花（コメになる）の数が増加し、働きが低下するとコメ数が減少します。本研究で発見したイネ変異体では、*TAW1* 遺伝子の働きの絶妙な高まりにより穂の成長が悪影響を受けることなく、穂につく粒数が増加しました。この変異体との交配で、食味を損なわれることなくコシヒカリの収量を増加させることができました。*TAW1* 遺伝子はイネ以外の植物にも存在しており、今後、種子や果実を収穫する作物の収量増に広く利用できると期待されます。

イネ穂の発生では、まず、枝梗（しこう）とよばれる枝分かれがつくられ、その後にすべての枝に花がつき、それぞれの花が1粒のコメになります。したがって、枝分かれが多く形成されるとひとつの穂につくコメの数も増加することになります。生物の発生過程の進行は、多数の遺伝子の協調的作用により厳密に制御されています。イネ穂の発生における、枝つくりから花つくりへのプログラムの切り換えも遺伝子によって精巧に制御されているはずですが、その制御の実態はわかつていません。また、前述のように、このプログラム進行のタイミングは収量に直接的に影響します。これまで、花序の発生は基礎研究の観点から多くの研究が行われてきました。また、近年、作物の収量に関する分子レベルの研究が発展し、収量を左右する遺伝子も単離されるようになってきました。しかしながら、花序の発生メカニズムの解明という基礎研究と収量を直接つなぐ遺伝子レベルでの知見はほとんどありませんでした。

本研究では、まず、岡山大学資源植物科学研究所の前川雅彦教授のグループの協力を得てイネ変異体の探索から始めました。その結果、ふたつの突然変異体を発見しました。これらの変異体では同一の遺伝子に突然変異が起こり、どちらも優性に遺伝しました。これら変異体では、枝つくりが過剰になっていました。弱い異常を示す変異体 (*taw1-D2*) ではコメの数が増加し、異常が強い変異体 (*taw1-D1*) では枝つくりが無限に繰り返していました。この突然変異の原因となっている遺伝子を *TAWAWA1* と命名しました。

これらの変異体はイネにもともと存在するトランスポゾンにより引き起こされている可能性が予測されたので、トランスポゾンの転移を指標に *TAW1* 遺伝子を特定しました。*TAW1* 遺伝子からは機能未知のタンパク質がつくられ、イネゲノムには、*TAW1* 類似遺伝子が *TAW1* 以外に9個存在し、*TAW1* 遺伝子はイネ以外の植物にも広く存在するこ

とが明らかになりました。突然変異体では *TAW1* 遺伝子の働きを制御する領域にトランスポゾンが挿入されたために *TAW1* 遺伝子の働きが高まっていました。さらに、九州大学農学研究院熊丸敏博准教授らのグループとの共同研究により見出した *TAW1* のはたらきが低下した変異体 (*taw1-3*) では、枝分かれが少なく、コメ数が少ない小さな穂がつくられました。*TAW1* mRNA はイネの成長初期から穂の発生過程の初期まで茎頂分裂組織でつくられ、枝つくりから花つくりに転換する時点で mRNA がつくられなくなることも明らかにしました。これらの結果を総合して、*TAW1* はイネの花つくりへのプログラム切り換えを抑える遺伝子であるという結論しました。

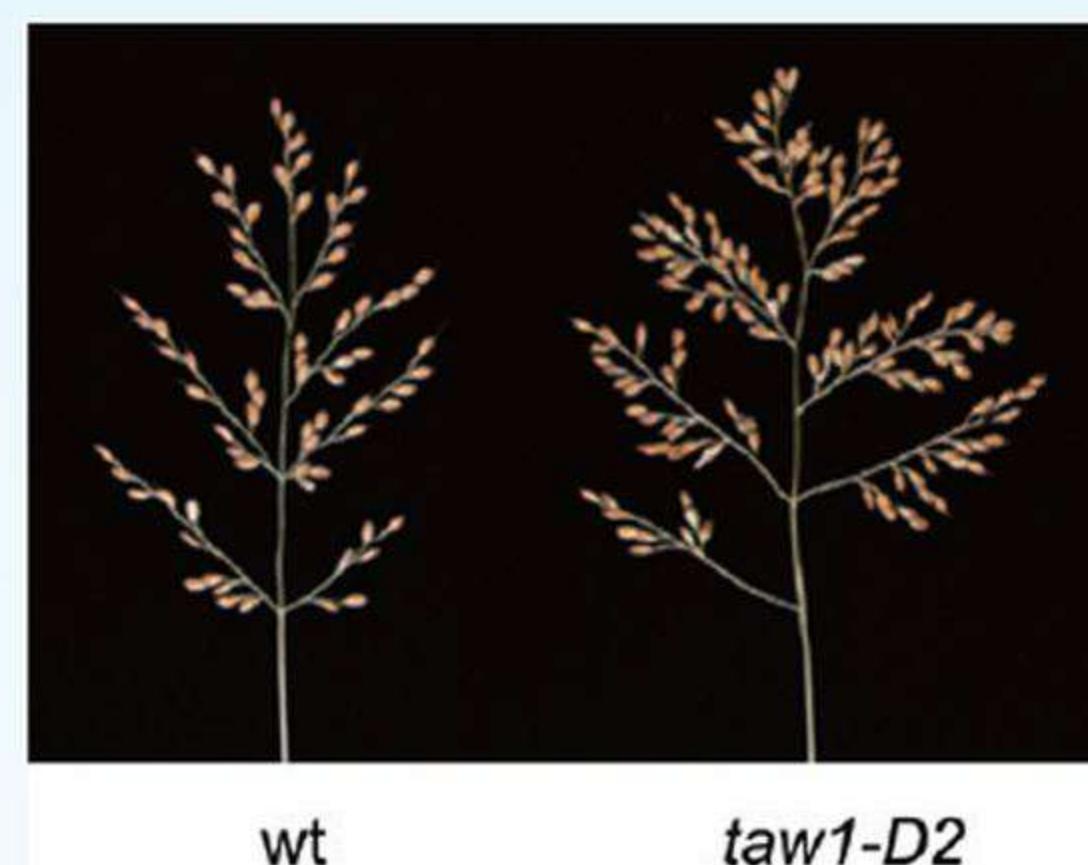


図 1 : *TAW1* は穂の分枝を制御する
野生型（左）と *taw1-D2* 变異体の穂（右）。变異体では、*TAW1* 遺伝子の発現が上昇し、その結果穂の枝分かれが増加する。

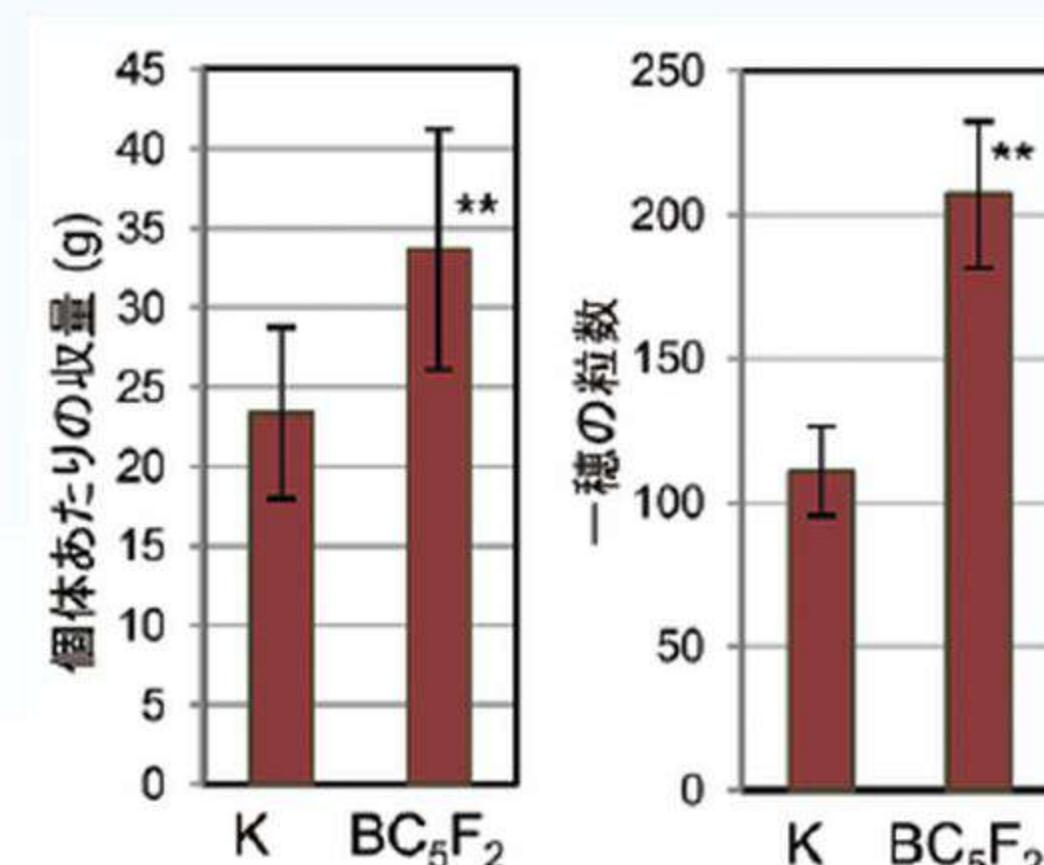


図 2 : *taw1* 变異体での収量
taw1-D2 变異体では個体あたりの収量が増加した（左）。収量増加は一穂あたりの粒数増加（右）によりもたらされた。

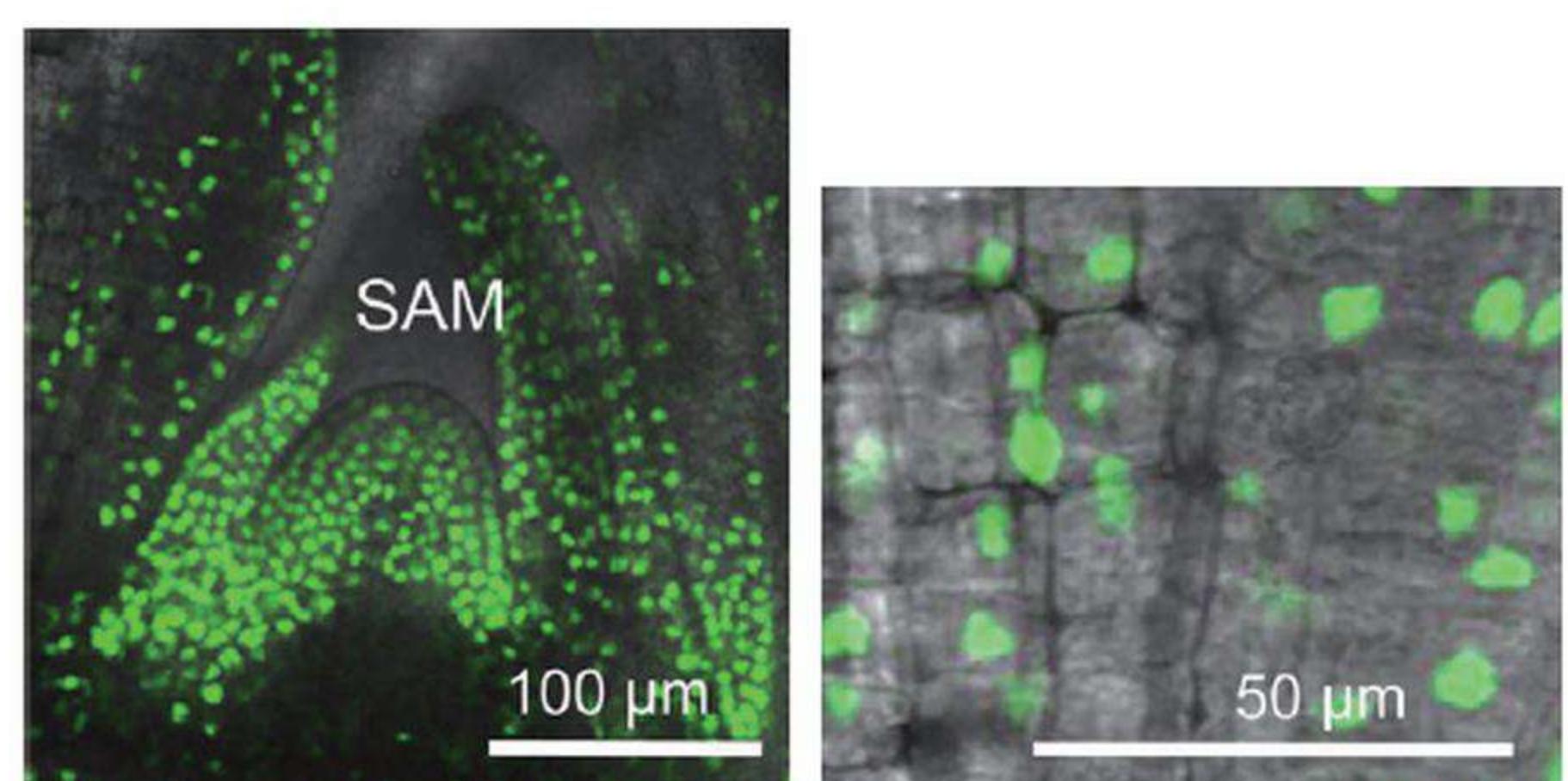


図 3 : *TAW1* タンパク質の局在
TAW1 は機能未知の核タンパク質をコードする。GFP と *TAW1* の融合タンパク質を *TAW1* の制御領域で発現することにより *TAW1* 遺伝子の発現部位と細胞内局在を調べた。その結果、*TAW1*-GFP は核に局在し、若い葉とメリスムで発現していた。

シロイヌナズナのカリウムイオン輸送体による乾燥ストレス応答と植物体の生長の調節

Osmotic stress responses and plant growth controlled by potassium transporters in *Arabidopsis*

Yuriko Osakabe, Naoko Arinaga, Taishi Umezawa, Shogo Katsura, Keita Nagamachi, Hidenori Tanaka, Haruka Ohiraki, Kohji Yamada, So-Uk Seo, Mitsuhiro Abo, Etsuro Yoshimura, Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki
The Plant Cell 25: 609-624, 2013.

いったん根付くとその場所を動くことのできない植物は、外界の環境変化に応じて様々な応答反応を行っています。特に、土壤の水分条件をどのように感知して応答するかは、植物の生存や生産性に大きく影響するために、その機構を明らかにすることは、農業への応用においても重要な課題です。本論文において私たちは、細胞の膨圧の制御を行うカリウムイオンに着目し、カリウムイオン輸送体によって乾燥ストレス下の植物細胞の水分状態がどのように調節されているのか調べました。

私たちは、シロイヌナズナのカリウムイオン輸送体をコードする *KUP6*、およびその相同遺伝子からなるファミリー遺伝子群と、植物の蒸散作用を調節することが示されているカリウムチャネルをコードする *GORK* 遺伝子について、これらの遺伝子を重複して破壊した多重変異植物体を作出し、その水分応答性を解析しました。多重変異体は細胞が大きく肥大し、植物体も大きくなりました。これは細胞にカリウムイオンがより多く取り込まれ、細胞の膨圧が高まったためと考えされました（図1）。また、変異体を用いて解析することで、植物の水分吸収に重要な根では、*KUP6* ファミリー遺伝子群は生長に重要な植物ホルモンであるオーキシンのシグナルを抑えることで、側根の発達を抑制していることが示されました。これらの結果から、乾燥ストレス下では *KUP6* ファミリー遺伝子群の発現やトランスポーターとしての機能が高まり、カリウムイオン輸送が調節されることで植物の生長が制御されていることが明らかになりました。

さらに、*KUP6* ファミリー遺伝子の多重変異体は、気孔開閉等の水分を効率よく利用するための制御ができないために乾燥ストレスに弱く、一方で *KUP6* 遺伝子の過剰発現植物体は水分損失の速度がゆるやかなため、ストレス耐性能が向上していることが示されました（図2）。これらのことから、カリウムイオン輸送体 *KUP6* ファミリー遺伝子は、乾燥ストレス下で根における水分状態や気孔の開閉を制御する新規の因子であることが明らかになりました。

さらに、*KUP6* ファミリーの多重変異体は、乾燥ストレス応答に重要な機能を果たしている植物ホルモンであるアブシジン酸（ABA）への感受性が低下していることが示されました。そこで、私たちは ABA のシグナル伝達経路を介して *KUP6* の機能制御が行われている可能性を考え、さらに研究を進めました。その結果、ABA のシグナル伝達経路でメインスイッチとして働くことが明らかにされているタンパク質リン酸化酵素 SnRK2 の一つである SRK2E が、*KUP6* タンパク質の細胞内ドメインをリン酸化することを突き止めまし

た。これにより *KUP6* の機能がストレス時に ABA によって制御されている可能性が示唆されました。

本論文では、植物ホルモン ABA のシグナル伝達経路を介して制御されていると考えられるカリウムイオン輸送体 *KUP6* ファミリーが、植物の乾燥ストレス耐性や生長をコントロールしていることを初めて明らかにしました。また、カリウムイオン輸送体の遺伝子が、乾燥地域などの劣悪環境に対応した作物の育種に利用できる可能性を示唆しました。

浸透圧ストレスまたはアブシジン酸(ABA)

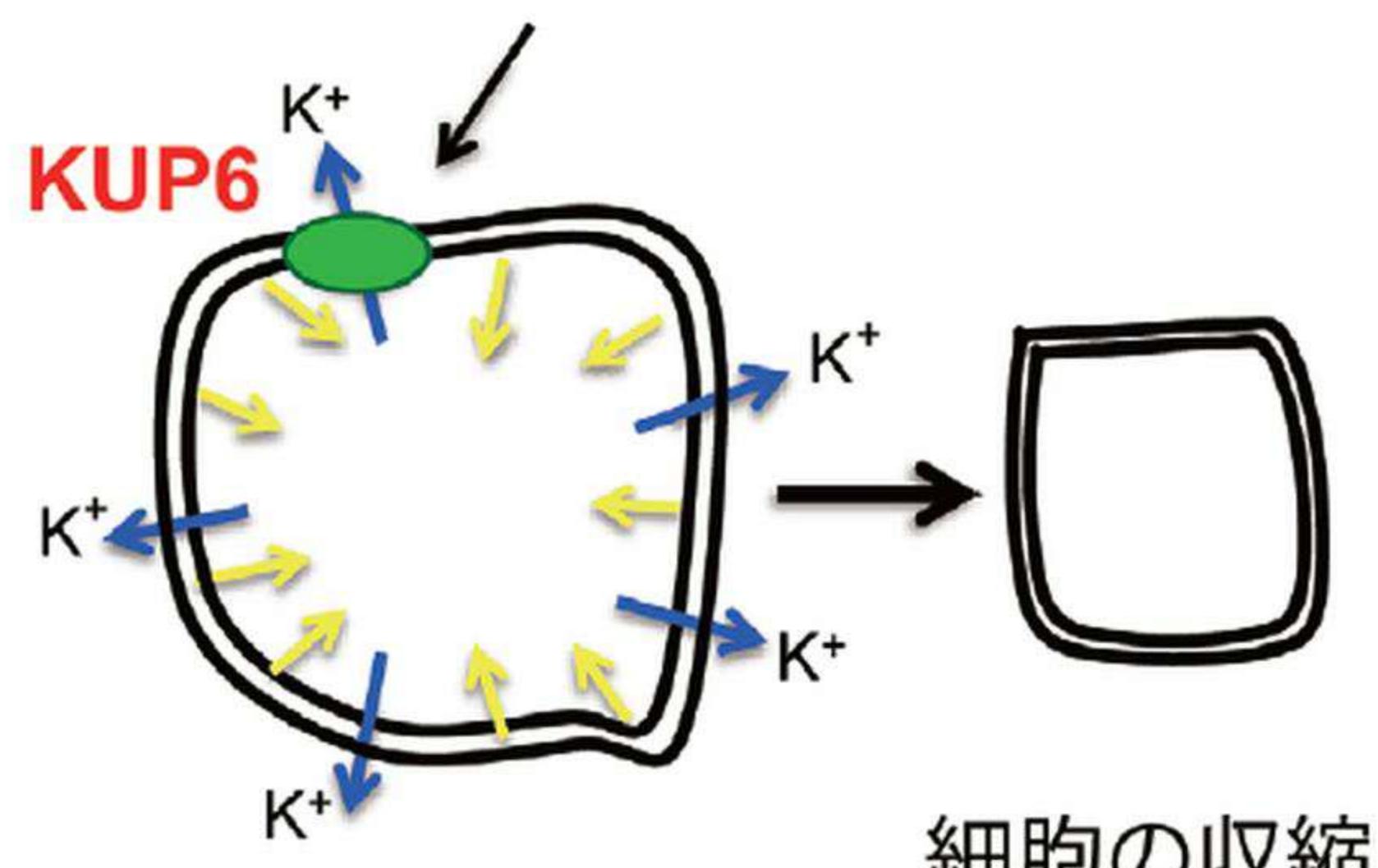


図1：KUP6 カリウム輸送体による細胞の膨圧調節

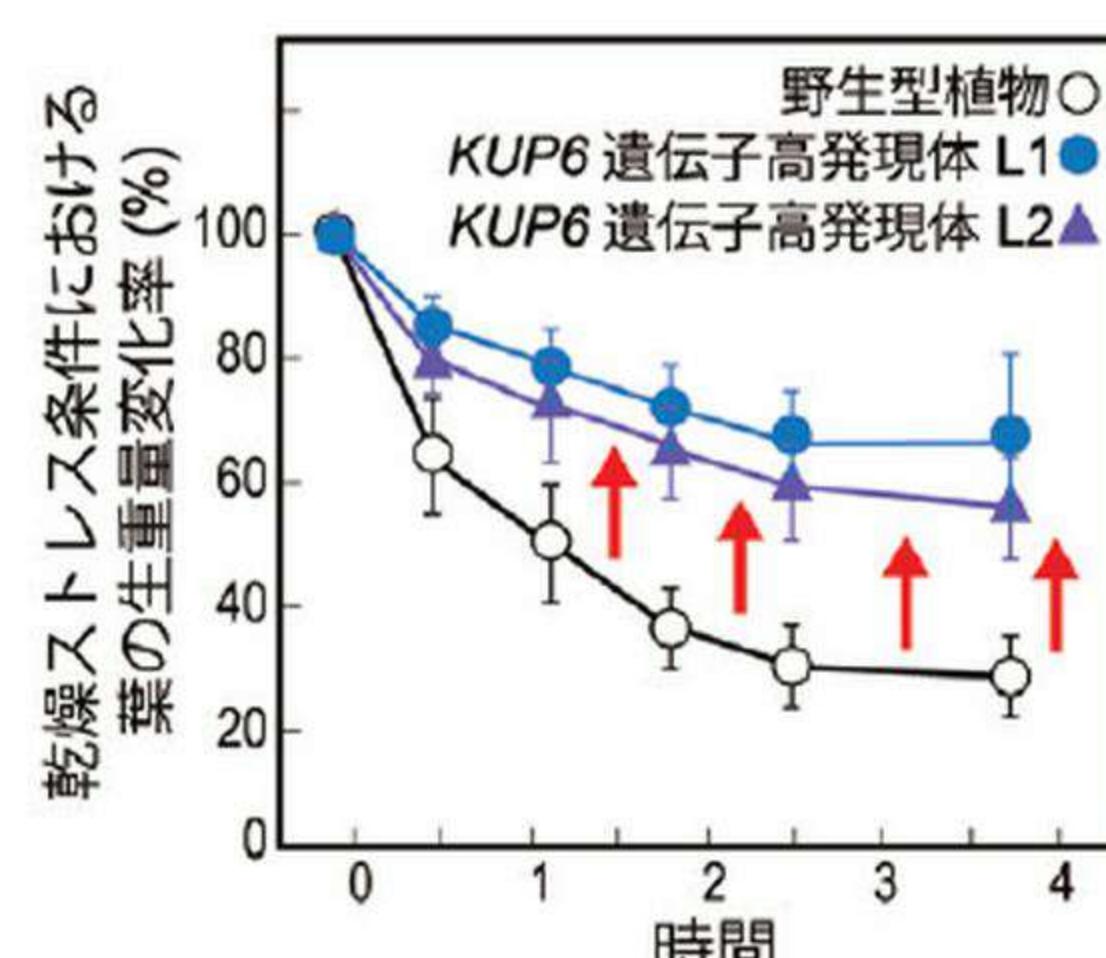
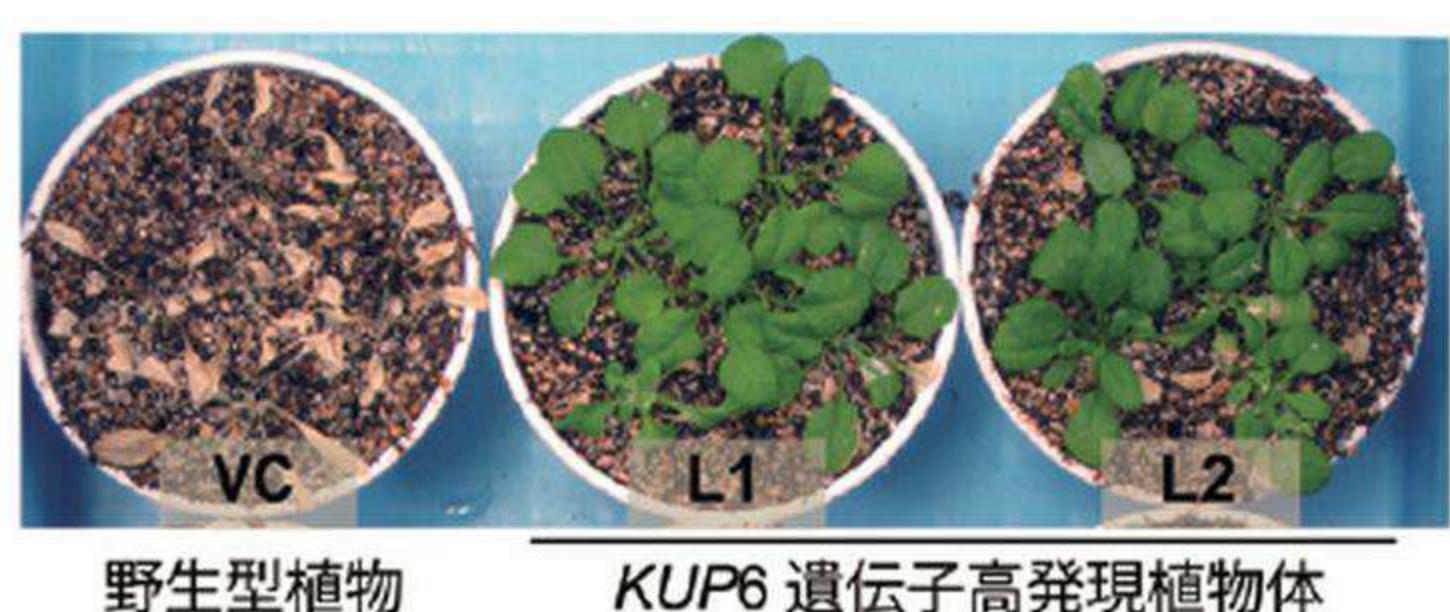


図2：KUP6 遺伝子の高発現による乾燥ストレス耐性能の向上
上は乾燥ストレス処理後の野生型植物と *KUP6* 遺伝子高発現植物を示す。下はそれぞれの植物の葉の水分の損失速度を示す。*KUP6* 遺伝子高発現植物は乾燥ストレス下での水分の損失速度が遅い。

表皮における極長鎖脂肪酸合成は細胞増殖を抑制することで器官成長を調節する

Synthesis of very-long-chain fatty acids in the epidermis controls plant organ growth by restricting cell proliferation

Takashi Nobusawa, Yoko Okushima, Noriko Nagata, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Masaaki Umeda
PLOS Biology 11: e1001531, 2013.

変動する外部環境の変化に応じて器官成長を制御する仕組みは、植物の生存戦略にとって欠かせません。器官成長は細胞増殖と細胞伸長により支えられていますが、その制御機構については不明な点が多く残されています。加えて、植物組織を構成する細胞層間におけるシグナル伝達についても、ごく限られた知見しか得られていませんでした。今回、我々は本論文において、植物の表皮細胞における極長鎖脂肪酸の合成が、細胞増殖の制御を介して器官成長を調節していることを明らかにしました。

極長鎖脂肪酸 (very-long-chain fatty acid; VLCFA) は炭素数 20 以上の脂肪酸として定義されており、色素体で合成される炭素数 16 もしくは 18 の脂肪酸を最初の基質として、小胞体において炭素鎖の伸長反応を経て合成されます。シロイヌナズナにおいて、VLCFA の合成に不可欠な生合成酵素として PATICCINO2 (PAS2) がこれまでに報告されていました。PAS2 を部分的に欠損した *pas2* 変異体では VLCFA 合成が顕著に低下し、細胞増殖の異常な活性化をはじめとした種々の形態異常を組織全体的に示します。その一方で、我々は PAS2 が表皮細胞特異的に発現していることを見つけました。さらに、表皮特異的発現を誘導するプロモーターを用いた解析から、この表皮特異的な PAS2 の発現が、正常な形態形成にとって必要かつ十分であることを突き止めました。続いて、VLCFA 合成を軽度に低下させた場合の表現型を観察するために、VLCFA 合成の阻害剤を用いた検討を加えました。その結果、VLCFA 合成の低下は細胞増殖の活性化を介して器官成長を促進することを明らかにしました（図 1）。

そこで、地上部において細胞増殖を活性化させる植物ホルモン、サイトカインに着目した解析を行いました。その結果、VLCFA 合成の低下に伴い、維管束特異的に発現するサイトカイン合成系遺伝子の発現が上昇するとともに、内生サイトカイン量が増加することがわかりました。そこで、サイトカインの合成酵素を欠損する変異体や、維管束特異的にサイトカインの分解酵素を発現させる植物体を用いた解析を行いました。その結果、これらの植物体では、VLCFA 合成の低下による細胞増殖の活性化ならびに器官成長の促進が引き起こされなくなることがわかりました。したがって、表皮における VLCFA に由来するシグナルが、維管束におけるサイトカイン合成を細胞非自立的に抑圧することで、器官成長を調節しているというモデルが導き出されました（図 2）。これは、表皮と維管束（軸）という二つの対をなす組織間におけるシグナル伝達が存在するという、これ

までに報告のない制御機構の存在を唆しています。

VLCFA はリン脂質やスフィンゴ脂質の原材料となる他、陸上植物の地上部表面を覆う細胞外バリアである、クチクラ層を形成する上で欠かせない脂肪酸であることが知られています。加えて、VLCFA 合成は環境ストレスにより誘導されることが報告されており、耐病性の発揮にも寄与していることが明らかになってきています。したがって、植物は VLCFA 合成を介して、生育環境の変化に応じた防御策を講じながら器官成長の度合いを調節するという戦略をとっていると考えられます。現在、表皮における VLCFA 合成がどのように維管束におけるサイトカイン合成の制御を行っているのかについて、その仕組みを解明しようとしています。

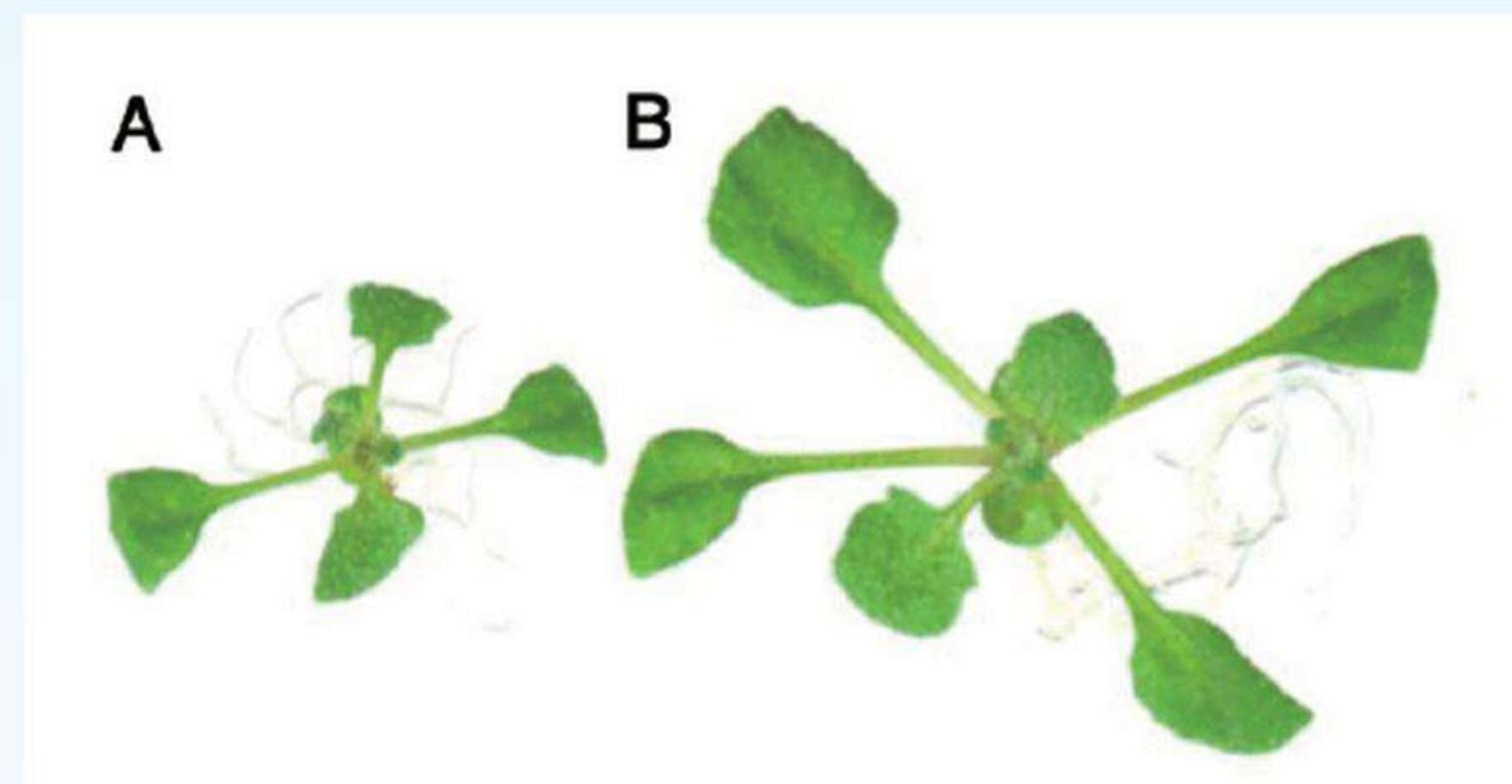


図 1 : VLCFA 合成の低下は器官成長を促進させる
低濃度の VLCFA 合成阻害剤処理を行った植物体 (B) は無処理の植物体 (A) に比べて器官サイズが増大する。このとき、細胞増殖のみが活性化しており、細胞伸長は影響を受けない。

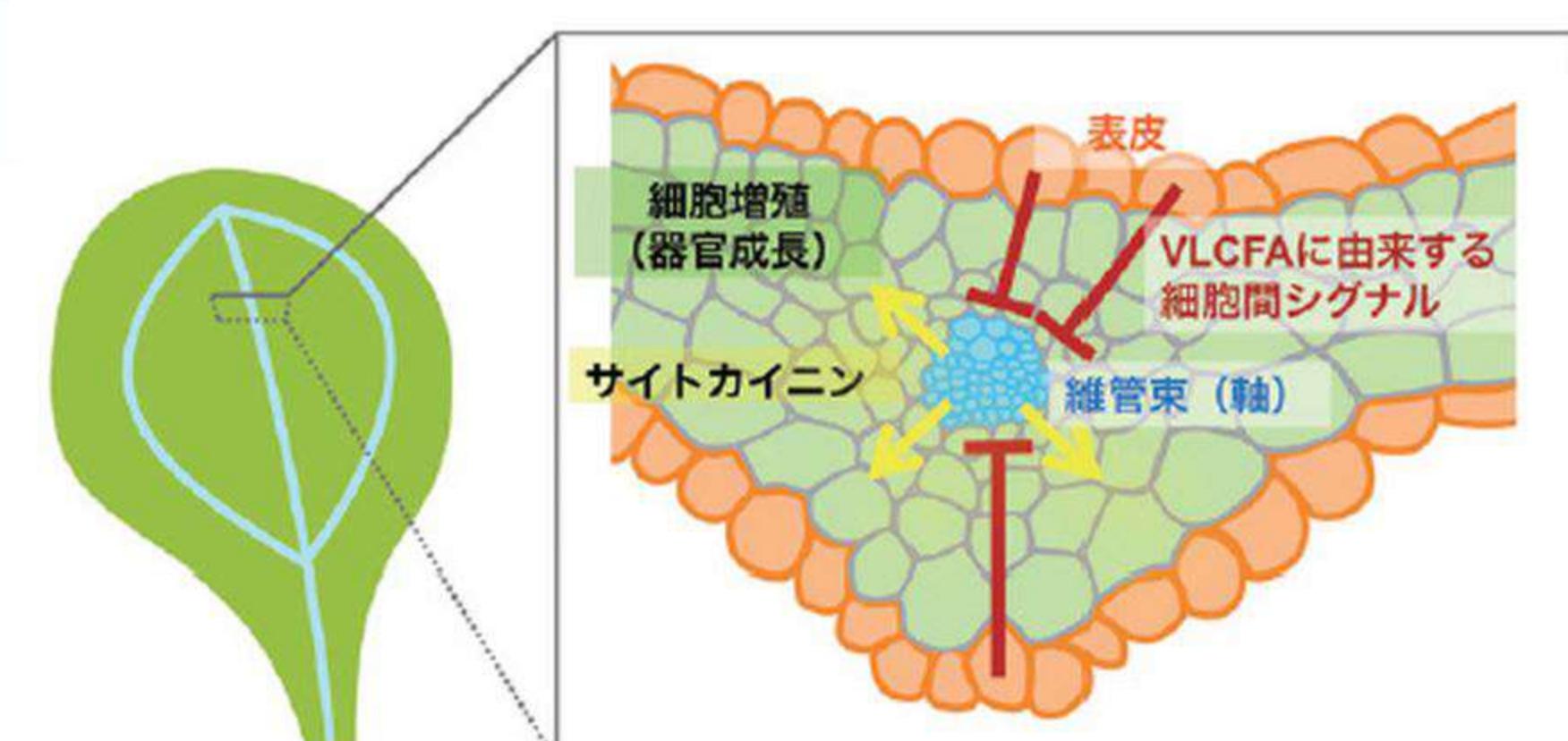


図 2 : 表皮における VLCFA 合成を介した器官成長の制御モデル
表皮で合成される VLCFA 由来の細胞間シグナルを介して、維管束（軸）におけるサイトカイン合成が抑制される。これにより、細胞増殖ならびに器官成長が過度に進行しないよう調節していると考えられる。

地球温暖化世界で生じる開花フェノロジー変化を開花遺伝子発現量から予測する

Forecasting flowering phenology under climate warming by modelling the regulatory dynamics of flowering-time genes

Akiko Satake, Tetsuhiro Kawagoe, Yukari Saburi, Yukako Chiba, Gen Sakurai, Hiroshi Kudoh
Nature Communications 4: 2303, 2013.

植物にとって花成は、種子を実らせて次世代を残すために重要なイベントです。植物が生き延びるために獲得したさまざまな環境ストレス耐性も、適切な時期に開花し、健全な種子が作られることによって次世代へと伝えられます。また、固着性の植物にとって、高い移動性を備えた種子を作ることは、不適な環境から逃れ、より適した生息地に分布を拡大するためにも、重要な意義を持っています。植物の生活環を考えたとき、いつ栄養成長から生殖成長へ転換するかは、植物環境突破力の集大成といつても良いほど重大で慎重に検討すべき意志決定問題です。

越冬の後、春に開花する植物では、長期間の低温を経験して初めて花芽形成が誘導されます。このことは春化と呼ばれ、春まきと秋まき小麦の違いに代表されるように古くから知られていた現象です。近年、春化の分子メカニズムが解明されたことによって、植物の温度応答の仕組みが分子レベルで次々とわかつてきたにも関わらず、自然環境でみられる複雑な温度変化のもとで植物がどのように季節の移り変わりに応答し適切な時期に開花できるのかは、未解明のままでした。

本研究では、春化に依存して開花時期が決まるアブラナ科植物ハクサンハタザオを用いて、室内実験・数理モデル・野外実験という異なるアプローチを統合し、遺伝子発現量に立脚した開花時期予測モデルの開発に成功しました。まず、温度操作実験を行い様々な温度環境下で長期間開花遺伝子の発

現量を追跡しました。得られたデータを用いて、開花遺伝子制御の数理モデルを構築しパラメータを推定することで、野外の複雑な変動温度環境のもとでも遺伝子発現量の季節変化を精度良く予測する手法を確立しました（図1）。

新しく開発されたモデルは、春化において重要な開花調節遺伝子 *FLC* 遺伝子とフロリゲンとして知られる *FT* 遺伝子という、たった二つの遺伝子で構成されたシンプルなモデルであるにも関わらず、複雑な自然条件で観察された遺伝子発現量の季節変化と、開花の開始および終了時期を精度良く再現することができました。将来の地球温暖化によって開花時期に生じる変化を予測したところ、開花の開始および終了時期の双方が温暖化とともに早期化することが示されました。開花終了時期の前進が開始時期よりも早く進むため、開花期間が温暖化とともに短縮され、最終的には約 5°C の温度上昇によって開花すらしなくなることが予測されました（図1）。

ブロッコリーや大麦など、我々の身近な作物は類似した開花遺伝子の制御関係を保存しているため、本研究で開発した手法を直接応用することができます。このことは、地球温暖化に対して、自然生態系だけでなく、農業生態系がどのように応答するかを予測する技術を提供できることを意味しており、生物多様性の維持や安定した食料生産に貢献するグリーンイノベーションに幅広く役立てることができます。

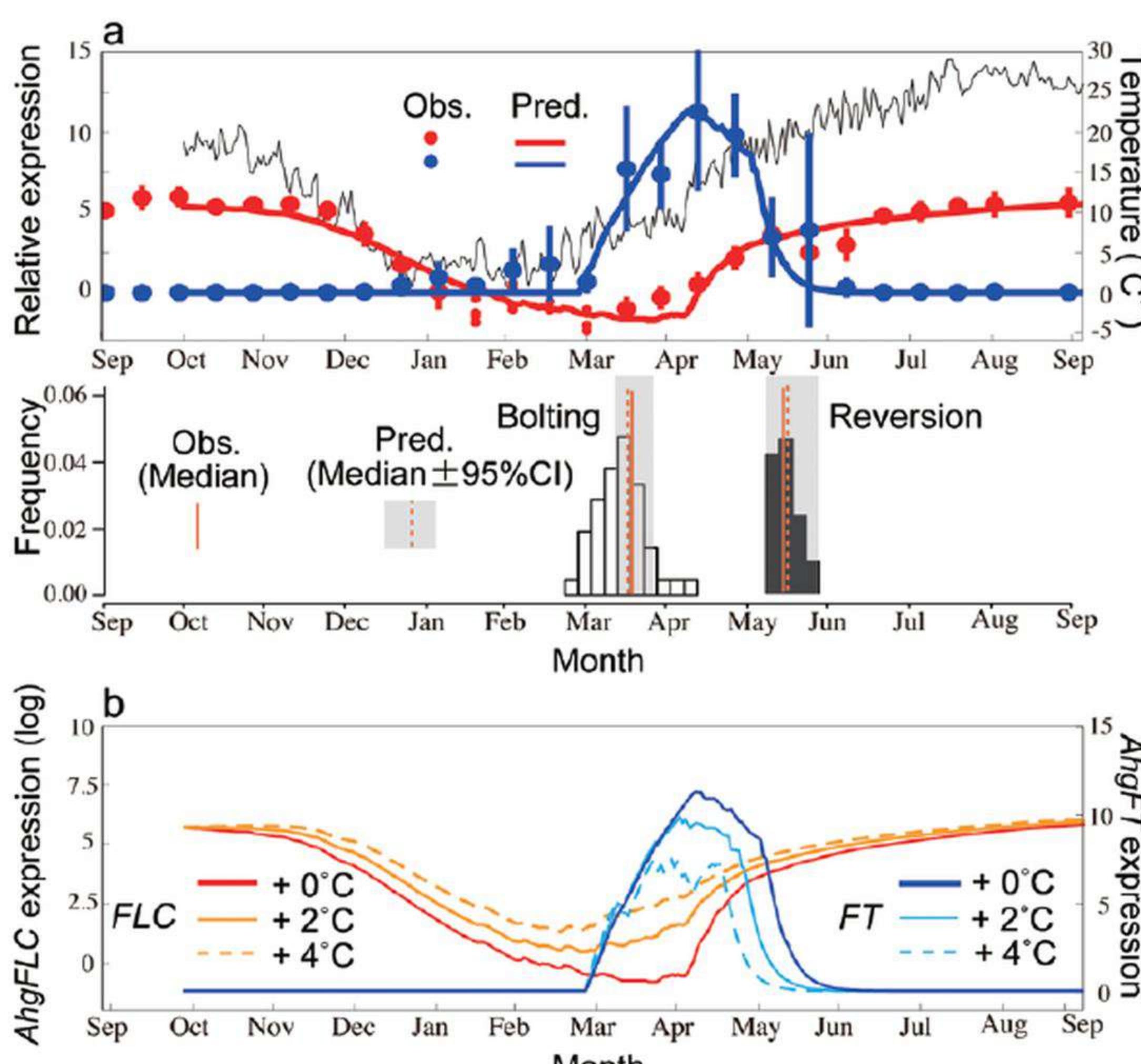


図 1：環境変化への植物の開花時期応答の予測と検証。(a) *FLC* 遺伝子（赤）と *FT* 遺伝子（青）の相対発現量の季節変化と繁殖開始（抽だい、 bolting）と繁殖終了（栄養成長への逆転、 reversion）時期。線は予測値、点は実測値を示す。(b) 温度上昇への応答。

環境中のマンガン変動に対処するイネの仕組み

A node-based switch for preferential distribution of manganese in rice

Naoki Yamaji, Akimasa Sasaki, Ji Xing Xia, Kengo Yokosho, Jian Feng Ma
Nature Communications 4 :2442, 2013.

マンガン (Mn) は光合成や様々な酵素の活性などに必要な金属で、植物の生育に欠かせない必須元素ですが、過剰に蓄積しても生育障害を引き起こします。植物の正常な生育に必要なマンガンの量は乾物重あたり僅か 50-100mg/kg です。しかし、土壤中の可溶性マンガン濃度は大きく変動します。特にイネが栽培される水田環境では、水を張っていない状態では土壤溶液中のマンガン濃度は 1 μ M 以下で、湛水状態では 200 μ M 以上になります。植物は移動できないため、健全な生育のためにこのような大きな変動に対処しなければなりません。今回、我々はイネが節 (せつ) に存在するマンガンの輸送体 OsNramp3 によって、その変動するマンガン濃度に対処している仕組みを突き止めました。

イネのマンガンの吸収は細菌から動植物まで広く存在する Nramp 輸送体ファミリーに属する OsNramp5 が担っています (Sasaki et al., 2012)。OsNramp5 は根の外皮と内皮細胞の遠心側に偏在しています。OsNramp5 は恒常に発現しており、環境中のマンガンに応答しません。吸収されたマンガンは節で各器官への配分を行いますが、節で高く発現している OsNramp3 がその役割を果たしています。OsNramp3 は OsNramp5 と同じく、Nramp ファミリーに属しています。OsNramp3 を酵母変異体 *smf1* に発現させたところ、*smf1* のマンガン吸収を相補したことから、マンガンの輸送体であることが確認されました。GFP 融合遺伝子を一週的に導入したタマネギ表皮細胞では細胞膜への局在が観察されました。節の免疫組織染色では OsNramp3 タンパク質は肥大維管束周縁部の木部転送細胞に局在していました。また分散維管束の節部での局在も観察されました。OsNramp3 の発現は培地の Mn 濃度や他の必須ミネラルの欠乏に対する応答性は見られませんでしたが、培地の Mn 濃度に応答してタンパク質は素早く応答しました。すなわち、Mn 欠乏条件で最も強いシグナルが検出されましたが、Mn 過剰条件ではわずか 4 時間でタンパク質が消失しました (図 1)。T-DNA 插入による遺伝子破壊株では Mn 欠乏条件下において葉身の黄化と根端の壞死が観察されました。また Mn の分配様式を葉位別に詳しく分析した結果、マンガン欠乏条件下では、野生型イネの場合、吸収したマンガンが優先的に新葉に配分されるのに対して、破壊株では新葉への Mn 分配が減少し、古い葉への配分が増加しました。一方、マンガン過剰条件下では、野生型と破壊株との間にマンガンの分配の違いは見られず、いずれも蒸散量に応じた分配が観察されました。これらのこととは OsNramp3 が環境中のマンガン濃度の変化を感じて、まるでスイッチのように機能している

ことを示しています。すなわち環境中のマンガン濃度が低い時には、OsNramp3 は少ないマンガンを優先的に成長の活発な新葉や穂に分配する働きをします (図 2)。しかし、環境中の濃度が高くなると、OsNramp3 タンパク質は素早く分解され (図 2)、その結果、過剰なマンガンは古い葉に分配されます。

なお、古い葉に蓄積する高濃度のマンガンの無毒化に OsYSL6 と OsMTP8.1 が関与していることが明らかになっています (Sasaki et al., 2011; Chen et al., 2013)。OsYSL6 はニコチアナミン - マンガン複合体をアポプラストからシンポプラストへ輸送させ、OsMTP8.1 はそれに続き、マンガンを液胞に隔離して、無毒化を行います。

参考論文

- Chen Z, Fujii Y, Yamaji N, Masuda S, Takemoto Y, Kamiya T, Yusuyin Y, Iwasaki K, Kato S, Maeshima M, Ma JF, Ueno D. (2013) Mn tolerance in rice is mediated by MTP8.1, a member of the cation diffusion facilitator family. *J. Exp. Bot.* 64: 4375-4387.
Sasaki A, Yamaji N, Yokosho K, Ma JF. (2012) Nramp5 is a major transporter responsible for manganese and cadmium uptake in rice. *Plant Cell* 24: 2155-2167.
Sasaki A, Yamaji N, Xia JX, Ma JF. (2011) OsYSL6 is involved in the detoxification of excess manganese in rice. *Plant Physiol.* 157: 1832-1840.

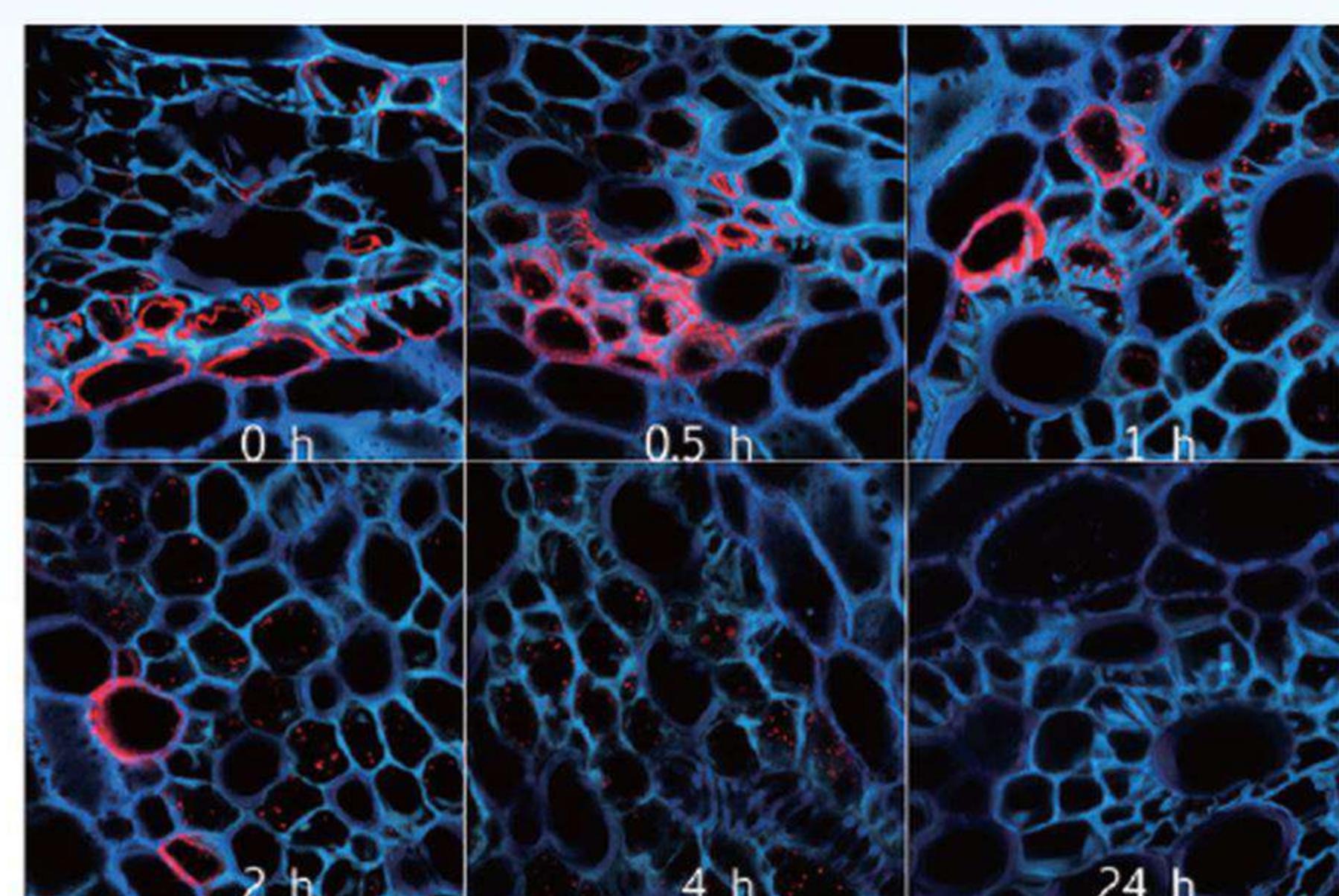


図 1：環境中のマンガン濃度に応答してマンガン輸送体 OsNramp3 が分解する様子。

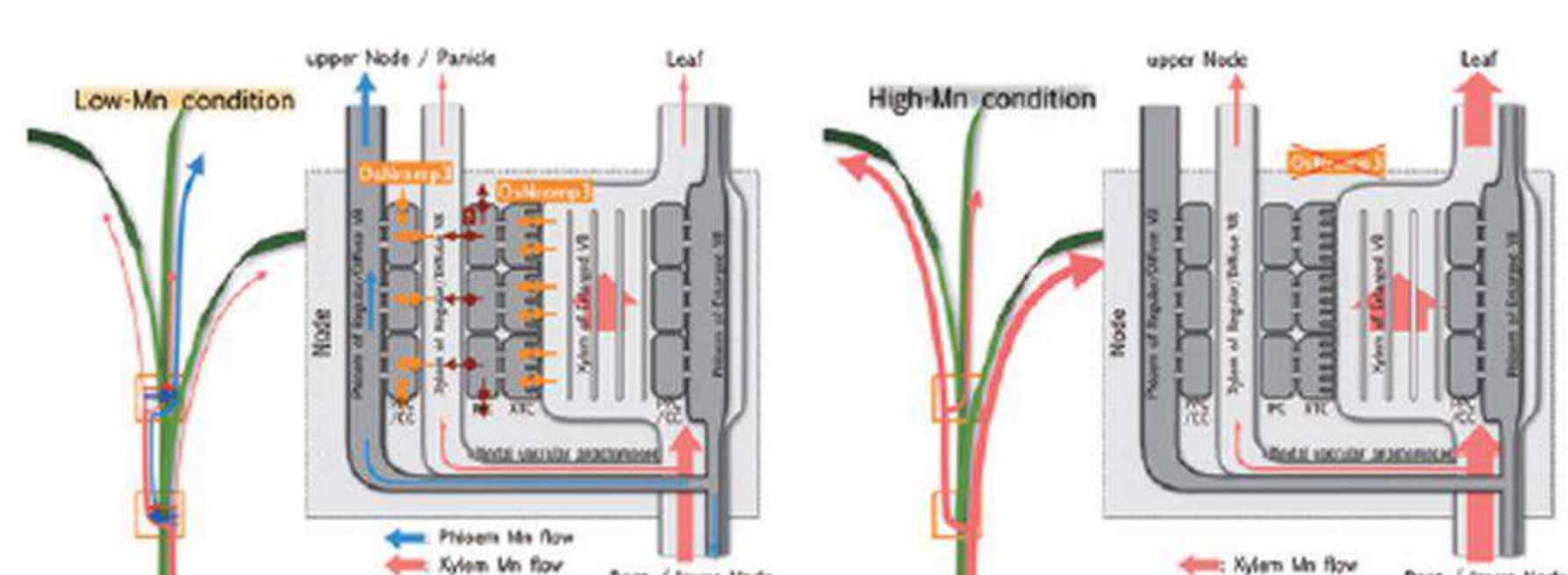


図 2：節に局在する OsNramp3 がマンガンの分配における役割。左はマンガン欠乏時、右はマンガン過剰時の役割を示してます。

サイトカイニンはAPC/C活性化因子の発現を活性化することにより細胞分裂から核内倍加への移行を制御する

Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots

Naoki Takahashi, Takehiro Kajihara, Chieko Okamura, Yoonhee Kim, Youhei Katagiri, Yoko Okushima, Sachihiro Matsunaga, Ildoo Hwang, Masaaki Umeda
Current Biology 23: 1812-1817, 2013.

植物は動物と異なり、移動しながら栄養分を探すことができないため、地中に根を張り巡らすことで成長に必要な物質を取り込んでいます。こうしたことから、植物の根は地中で驚くべき長さにまで成長します。また、植物の根は水分や栄養分を吸収するとともに、植物体を支える重要な器官があるので、その成長は植物体全体の成長を大きく左右することになります。

植物の根は先端部分に根端分裂組織と呼ばれる組織を持っている、細胞はそこで盛んに分裂を行っています。そして、根端分裂組織から出て分裂を停止すると、今度は核内倍加を行うことにより細胞を肥大化させます。核内倍加とは、一つの細胞内で染色体が複製を繰り返す現象で、細胞の成長（肥大化）をもたらすことが知られています。根の成長は、根端分裂組織での細胞分裂と核内倍加への移行のタイミングによって決まるので、細胞分裂から核内倍加へ移行するタイミングが根の成長スピードに大きく影響を与えることになります。しかしながら、細胞分裂から核内倍加への移行を制御するメカニズムについての知見はありませんでした。

本研究では、核内倍加の制御機構を明らかにするために、シロイヌナズナにおいて核内倍加を促進する因子であるCCS52A1に注目し、その制御について解析を行いました。CCS52A1はE3リガーゼであるAPC/Cの活性化サブユニットとして働き、G2/M期特異的なサイクリンをユビキチン化し、タンパク質分解を促進します。興味深いことに、CCS52A1遺伝子は根端分裂組織では発現せず、核内倍加が引き起こされる移行領域で強く発現しています（図1）。CCS52A1を欠損した植物では核内倍加への移行が遅延することでDNA量の増加が阻害され、その結果、根端分裂領域が拡大することから、CCS52A1遺伝子の転写量が核内倍加制御に重要であると考えられます。そこで、CCS52A1の転写を制御する因子を探したところ、サイトカイニンシグナルの下流で働くARR2転写因子が、CCS52A1遺伝子の発現を直接活性化することが明らかになりました。ARR2タンパク質はCCS52A1遺伝子と同様に根の移行領域で蓄積していたことから、サイトカイニンがARR2タンパク質を介して、移行領域での核内倍加を促進していることが示されました。

これまでの研究で、根端分裂組織の大きさはサイトカイニンとオーキシンという2つの植物ホルモン間の拮抗的作用により制御されることが知られていました。すなわち、サイトカイニンシグナルの下流でARR1/12転写因子が活性化され、オーキシンシグナルの負の制御因子であるSHY2

遺伝子の転写を誘導することでオーキシンの活性が抑制され、結果として根端分裂組織での分裂活性が低下し、核内倍加への移行が促進されることが報告されていました。そこで、ARR2-CCS52A1とARR1/12-SHY2の2つの経路の関係を遺伝学的に調べたところ、2つの経路は独立に働くことで根端分裂組織の大きさをコントロールしていることが明らかになりました。ARR2およびARR1/12タンパク質は根の移行領域で主に蓄積しますが、ARR2は核内倍加の促進、ARR1/12はオーキシンシグナルの抑制というそれぞれ別々の経路を制御することから、両者がバランスよく機能することで根端分裂組織の大きさを決めていることを突き止めました（図2）。本研究の結果から、根端分裂組織の大きさと根の成長を調節する全く新奇な機構が明らかになりました。

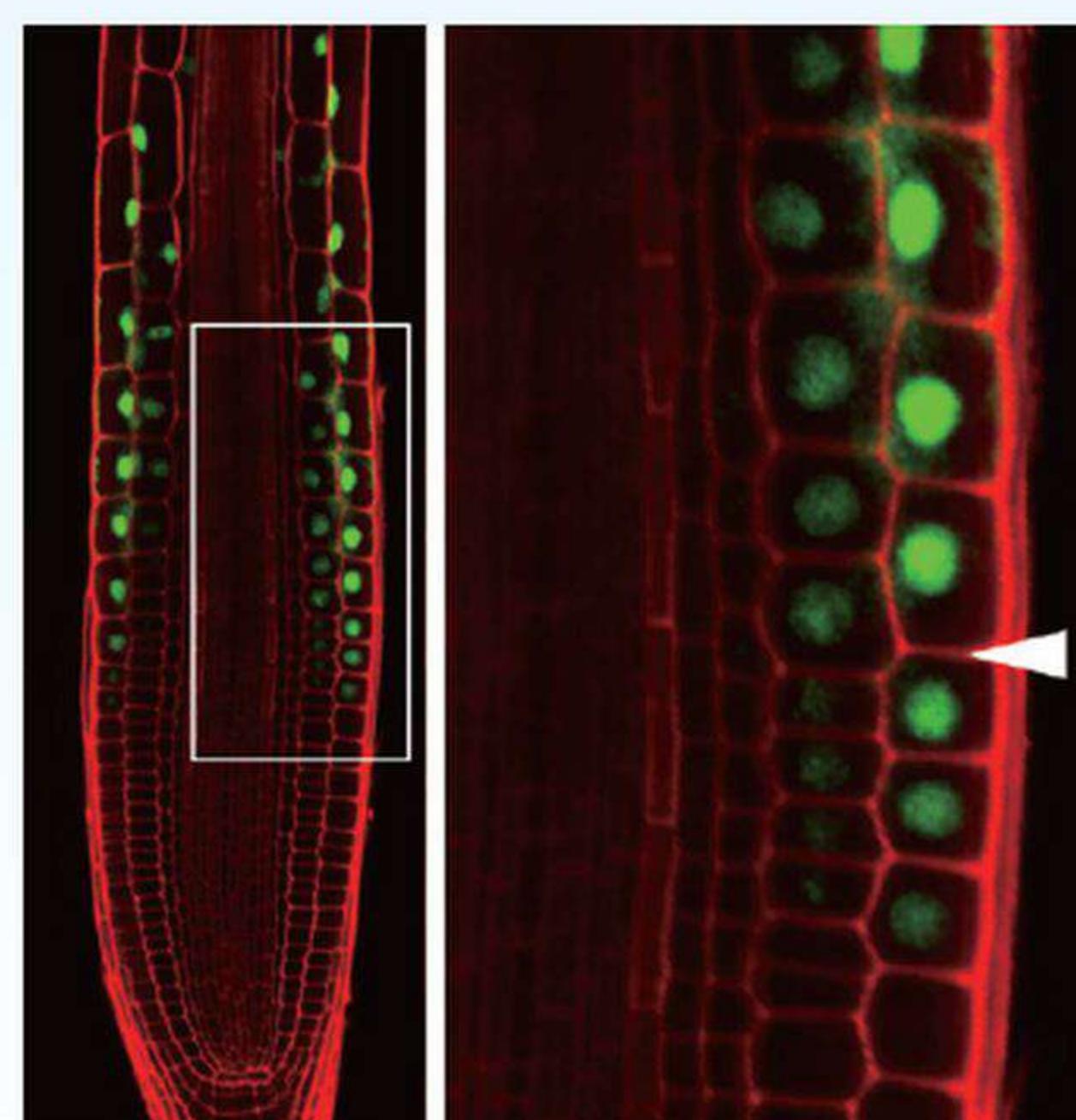


図1: CCS52A1遺伝子の発現様式
CCS52A1遺伝子のプロモーター制御下でヒストンH2B:GFPタンパク質を発現させることにより、CCS52A1遺伝子の発現場所を調べた。CCS52A1遺伝子は根端分裂領域と細胞伸長領域の境界（矢頭）付近で発現し始める。

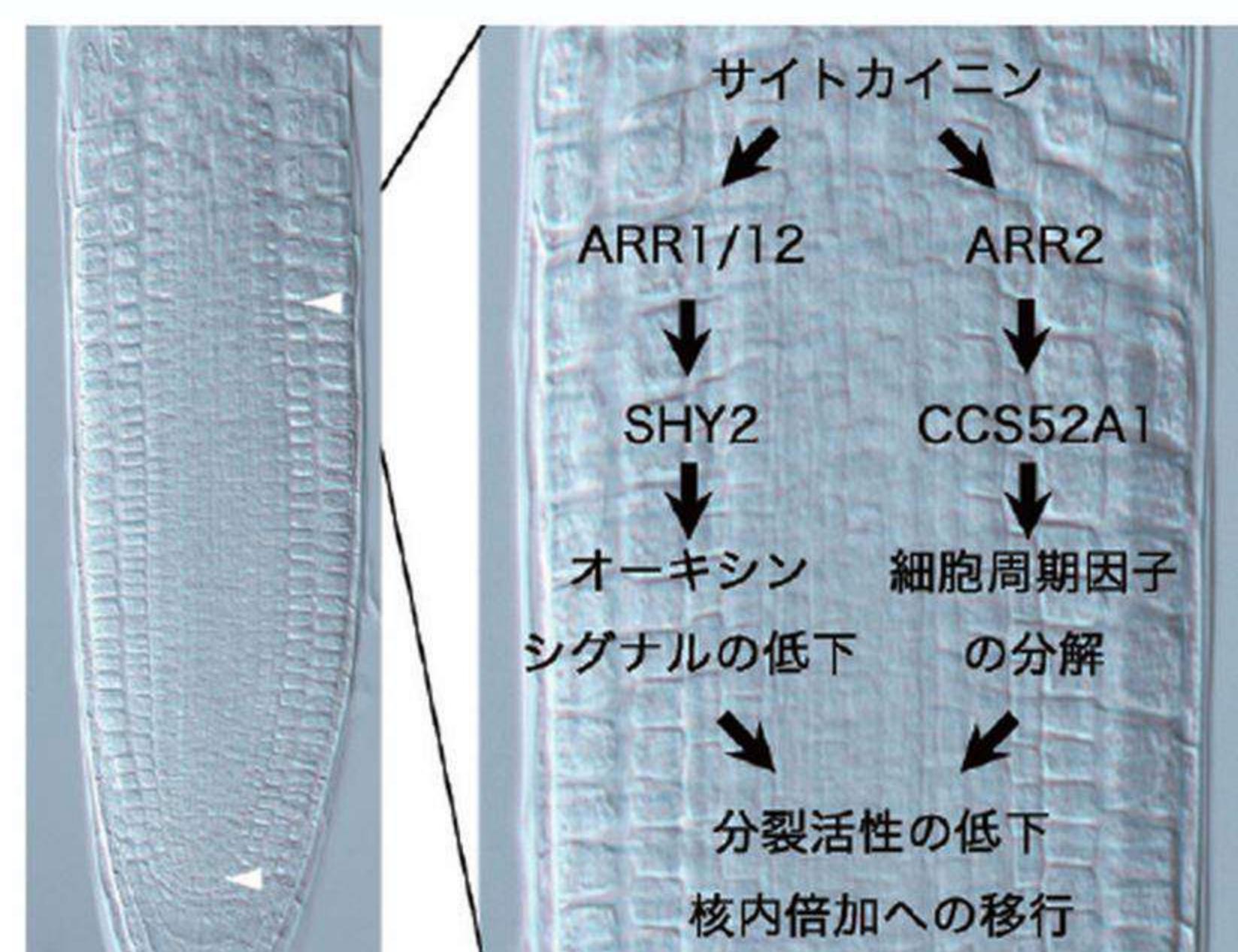


図2: サイトカイニンによる細胞分裂および核内倍加の制御
サイトカイニンはARR1/12およびARR2転写因子を活性化することにより、SHY2、CCS52A1という異なる因子の転写を活性化する。それにより、オーキシンシグナルの低下および細胞周期因子の分解が促進され、核内倍加への移行が引き起こされる。

離生細胞間隙形成を制御する E3 ユビキチンリガーゼ NOPPERABO1

Essential role of the E3 ubiquitin ligase NOPPERABO1 in schizogenous intercellular space formation in the liverwort *Marchantia polymorpha*

Kimitsune Ishizaki, Miya Mizutani, Masaki Shimamura, Akihide Masuda, Ryuichi Nishihama, Takayuki Kohchi
The Plant Cell 25: 4075-4084, 2013.

植物では、細胞と細胞の間が気体で満たされた細胞間隙をもつ組織（通気組織）が多く見られます。体液の循環によるガス交換の仕組みをもたない植物にとって、根や葉の組織内部に張り巡らされた細胞間隙は、呼吸や光合成の基質である酸素 (O_2) や二酸化炭素 (CO_2) を植物体内に行き渡させる上で重要な組織構造です。接着している細胞同士が乖離することで形成される細胞間隙は離生細胞間隙と呼ばれますが、その発生の分子メカニズムについてはほとんど知見がありませんでした。本論文では、新興モデル生物である苔類ゼニゴケの突然変異体を利用して離生細胞間隙形成制御の仕組みの一端を明らかにしました。

ゼニゴケとその近縁種は、葉状体の上側に、巨大な細胞間隙をもつ光合成同化組織である気室を形成します。ゼニゴケ属の気室については 100 年以上も前から解剖学的な研究の蓄積があり、葉状体先端部に近い領域の表皮細胞間に離生細胞間隙が形成されることから、その発生が始まるとされています。我々は、まず約 10,000 株の T-DNA タグラインのスクリーニングから、葉状体の背側に気室が全く形成されない *nopperabo1* (*nop1*) 変異体を単離しました（図 1）。*nop1* 変異体の表現型を詳細に解析すると、葉状体先端部において離生細胞間隙の形成が全く観察されないことが分かりました。次に *nop1* の原因遺伝子を単離するため、野生型株との交配による連鎖解析を行ったところ、挿入された 1 コピーの T-DNA が表現型と連鎖していることが明らかと

なり、TAIL-PCR 法により挿入された T-DNA タグ近傍のゲノム断片を単離することに成功しました。得られたゲノム断片の領域にコードされていた野生型の遺伝子を、*nop1* 変異体に導入すると気室形成を回復したことから、この遺伝子を *nop1* 変異体の原因遺伝子 *NOPPERABO1* (*NOP1*) と同定しました。

NOP1 がコードするタンパク質は、E3 ユビキチンリガーゼとして機能することが知られている U-box ドメインを N 末端側にもち、C 末端側にタンパク質相互作用に寄与すると考えられているアルマジロ (Armadillo : ARM) リピートモチーフをもつ PUB-ARM ファミリーに属することが分かりました。そこで、大腸菌を使って *NOP1* 組換えタンパク質を発現・精製し、*in vitro* アッセイで E3 ユビキチンリガーゼ活性を調べました。その結果、*NOP1* が U-box ドメイン依存的に E3 ユビキチンリガーゼとして機能しうることを確認することができました。また C 末端に蛍光タンパク質遺伝子を融合した *NOP1* 遺伝子を *nop1* 変異体に導入しした形質転換体を作製し、*NOP1* が細胞膜に局在することを明らかにしました。

以上の結果から、細胞膜に局在する E3 ユビキチンリガーゼを介した特異的タンパク質分解（ユビキチン - プロテアソーム系）が、ゼニゴケにおける離生細胞間隙の形成を促進することが示唆されました。今回、ゼニゴケから発見した *NOP1* に近い PUB-ARM 型の E3 ユビキチンリガーゼは、

陸上植物に広く保存されています。今後、この仕組みを更に深く解明することにより、細胞間隙の形成頻度や大きさを制御して、光合成能力が改良できる可能性があります。また、この研究は新興モデル生物の苔類ゼニゴケにおいて変異体から原因遺伝子を同定した順遺伝学研究の初めての報告例としても評価されました。

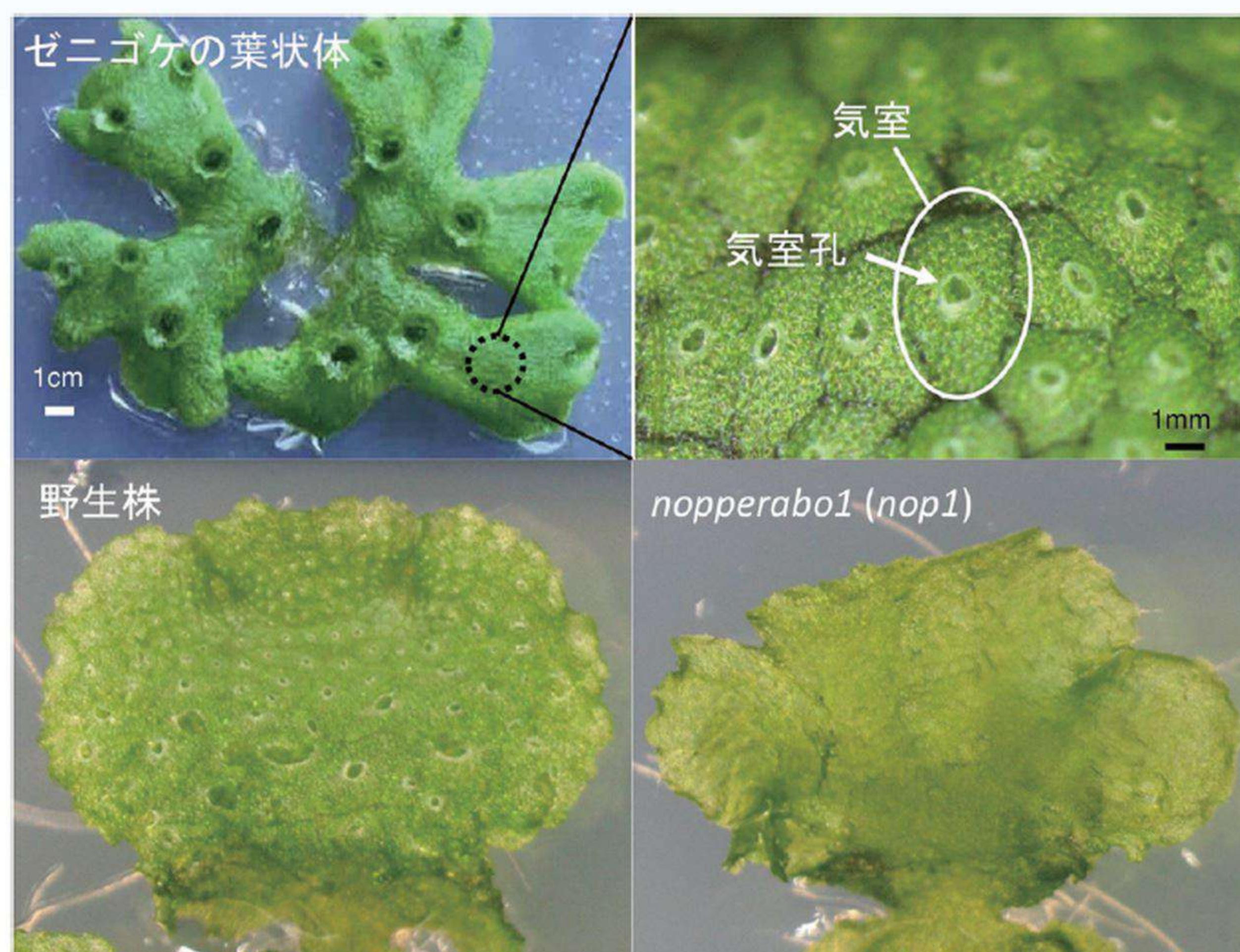


図 1：ゼニゴケの気室と *nop1* の表現型
(上段) ゼニゴケは葉状体の背側（上面）に形成される気室、その中央に気室孔をもつ。
(下段) *nopperabo1* (*nop1*) 変異体の表現型（右）。野生型に見られる気室がまったく形成されない。

気孔開口促進による植物の光合成活性と生産量の増加

Overexpression of plasma membrane H⁺-ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth

Yin Wang, Ko Noguchi, Natsuko Ono, Shin-ichiro Inoue, Ichiro Terashima, Toshinori Kinoshita
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 111: 533-538, 2014.

植物は光合成を行うことで自らの成長・繁殖のエネルギーを得るとともに、二酸化炭素の吸収、蒸散や酸素の放出を行うことで地球の大気環境を整えています。植物における二酸化炭素の唯一の取り込み口となっているのが、植物の表面に存在する気孔とよばれる微細な孔（あな）です。気孔は、一对の孔辺細胞により構成され、葉の表面に 1mm² 当たり約 50 個～数百個存在しており、太陽光下で開口します。これまでの研究により、光による気孔開口には、青色光受容体フォトトロピン、気孔開口の駆動力を形成する細胞膜プロトンポンプや内向き整流性カリウムチャネルが主要な働きを担っていることが明らかとなっていました（図 1）。

植物が太陽光のもとで盛んに光合成を行っているとき、多くの二酸化炭素を必要としますが、気孔の孔を通る際に生じる抵抗（気孔抵抗）が二酸化炭素取り込みの主要な制限要因となっており、光合成が制限されていると考えられています。しかしながら、気孔開度が本当に植物の光合成や生産量の制限要因となっていることは明確に実証されていませんでした。また、植物の光合成活性をより向上させるためには、気孔の開き具合を大きくし、気孔抵抗を低下させることが解決法として考えらますが、これまで人為的に気孔の開口のみを大きくする技術は報告されていませんでした。

本研究では、光による気孔開口反応に関わる上記の主要因子を、気孔を構成する孔辺細胞のみで発現を誘導する GC1 プロモーターを用いて、モデル植物シロイヌナズナの孔辺細胞だけで発現量を上昇させ、気孔開口を促進させることができるかどうかを調べました。その結果、気孔開口の駆動力を形成する細胞膜プロトンポンプの孔辺細胞での発現量を約 1.5 倍増加させることで、光による気孔の開口が野生株よりも約 25% 大きくなることを発見しました。一方、プロトンポンプ過剰発現株は、光刺激のない状態や気孔を閉じさせる植物ホルモン・アブシジン酸存在下では、野生株と同様に気孔が閉鎖しており、光刺激により気孔開口が促進されたときのみ、気孔が大きく開口することがわかりました。

次に、光合成蒸散測定装置を用いて詳細な解析を進めたところ、プロトンポンプ過剰発現株では、二酸化炭素吸收量（光合成活性）が約 15% 増加していることを見出しました。そこで、植物の生産量について調べた結果、播種後 25 日目の栄養成長期の植物において、地上部の重量が野生株と比べ 1.4～1.6 倍増加しており、播種後 45 日目の種子を付けた状態の植物の種子や莢を含む花茎の乾燥重量は、約 1.4 倍増加していました（図 2）。また、過剰発現株では、野生株と同様な乾燥応答や乾燥耐性が見られることもわかり、過剰発現株が野生株と同様の

水分環境で生育可能であることが示唆されました。一方で、その他の因子（青色光受容体フォトトロピンと内向き整流性カリウムチャネル）の場合は、気孔の開口促進や植物の生産量増加を引き起こしませんでした。

当初は、ともかく気孔を大きく開かせればいいと考え、恒常活性化型のプロトンポンプを用いて、常に大きく気孔が開いた植物体の解析も進めていましたが、水不足の状況でないにも関わらず、この植物体の生産量は野生株と同じかそれ以下になることがわかり、夜など光合成を行っていない時は気孔を閉じさせることが生産量増加に必要であることが示唆されました。

以上の結果は、細胞膜プロトンポンプが気孔開口の制限因子であり、気孔開度が光合成と生産量の制限要因であることを実証する初めての成果となりました。さらに、本研究により、人為的に気孔の開口を大きくすることで植物の生産量を増加させることに世界で初めて成功しました。本技術は、植物に普遍的な気孔開口のメカニズムを利用しているため、応用範囲が広いと考えられ、今後、バイオ燃料用植物や農作物にこの技術を適用することで有用植物の生産量（収量）や二酸化炭素吸収量の増加に貢献したいと考えています。

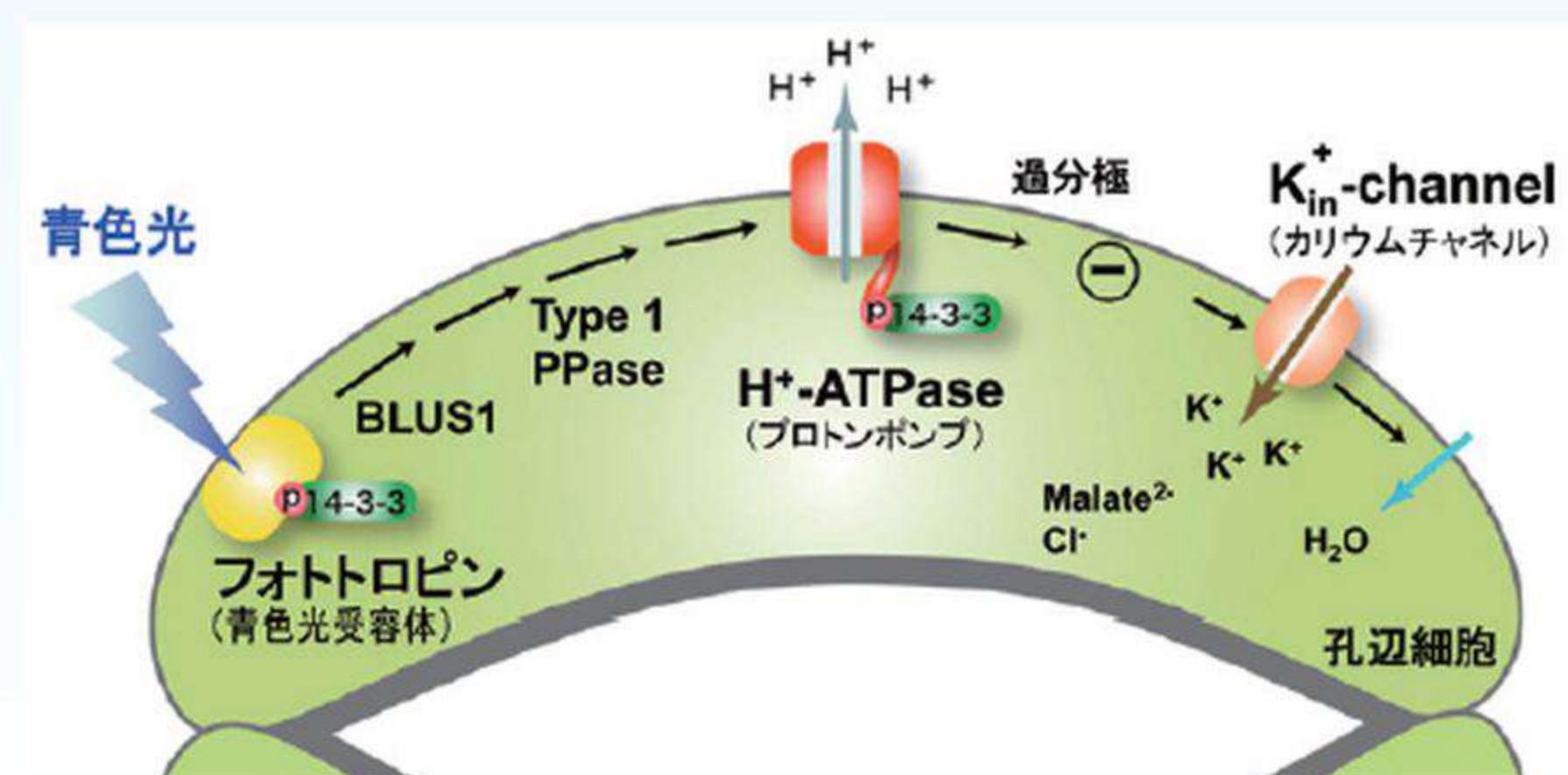


図 1：光による気孔開口の分子メカニズムモデル
太陽光に含まれる青色光は、フォトトロピンに受容され、細胞膜プロトンポンプを活性化し、カリウム取り込みの駆動力を形成する。細胞内に大量に取り込まれたカリウムは、浸透圧を上昇させ、水が取り込まれ、孔辺細胞の体積が増加することで気孔が開口する。

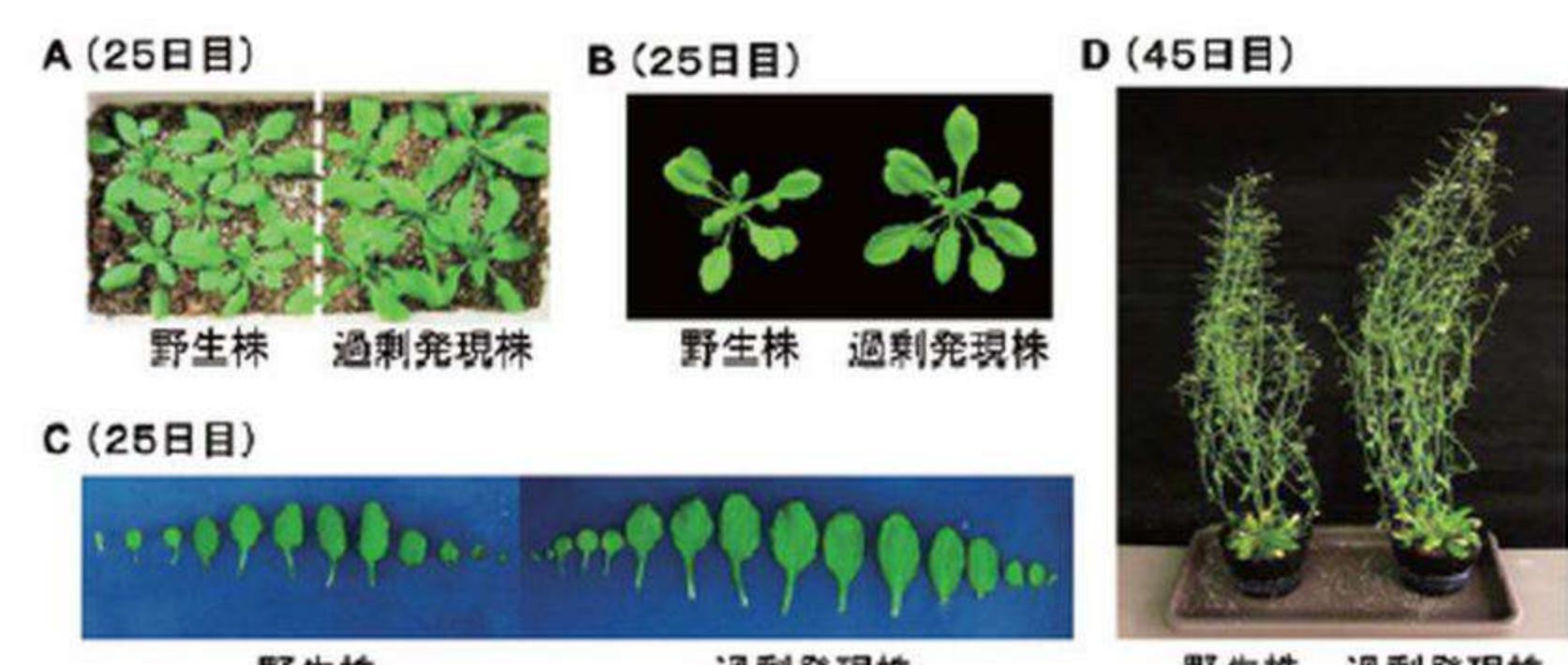


図 2：シロイヌナズナの野生株とプロトンポンプ過剰発現株の植物体の表現型の比較
プロトンポンプ過剰発現株は、野生株と比べて、ひとまわり大きく育ち、播種後 25 日目において地上部の生重量と乾燥重量が 42～63% 増加していた（A～C）。播種後 45 日目においては、花茎が長くなり、多くの花をつけ、種子の収量が増加した。種子や莢を含む花茎の乾燥重量は、野生株と比べて 36～41% 増加していた（D）。

渋滞したリボソームの数珠つなぎ：シロイヌナズナ *CGS1* mRNA における S-アデノシルメチオニンに応答した翻訳停止によって渋滞したリボソームは翻訳伸長サイクルのどの段階で停止しているのか

Ribosome in a stacked array: Elucidation of the step in translation elongation at which they are stalled during S-adenosyl-L-methionine-induced translation arrest of *CGS1* mRNA

Yui Yamashita, Yoshitomo Kadokura, Naoyuki Sotta, Toru Fujiwara, Ichigaku Takigawa, Akiko Satake, Hitoshi Onouchi, Satoshi Naito
Journal of Biological Chemistry 289: 12693-12704, 2014.

遺伝子発現の転写後制御は、細胞内外の環境に敏感に応答する方策です。高等植物におけるメチオニン生合成の鍵段階を触媒するシスタチオニンγ-シンターゼをコードする *CGS1* 遺伝子の発現は mRNA 分解によって調節されます。この制御機構では、メチオニンの代謝産物である S-アデノシルメチオニン (SAM) がエフェクターとして働きます。また、*CGS1* mRNA にコードされる「MTO1 領域」と名付けた、十数アミノ酸からなる配列がシス配列として機能します。コムギ胚芽の試験管内翻訳系を用いた研究によって、SAM は *CGS1* mRNA を翻訳中のリボソームを Ser-94 コドンで一時停止させることができます。また、*CGS1* mRNA の分解には SAM によって一時停止したリボソームが引き起こす、リボソームの渋滞が関係することが示唆されています。本研究では、リボソームの一時停止がいかにして mRNA の分解を引き起こすのか、その機構を探るために、試験管内翻訳系を用いた解析を行いました。

本論文では、翻訳の一時停止とともに渋滞した後続のリボソームがどのコドンで停止しているのか、また、渋滞したリボソームが翻訳伸長サイクルのどの段階で停止しているのかを調べました。リボソームでの翻訳伸長反応は、(1) デコーディング、(2) ペプチド転移反応、(3) リボソームの転座からなります (図 1)。以前の研究で、SAM に応答して Ser-94 コドンで停止したリボソームは、転座前の段階で停止していることを明らかにしています (Onouchi et al., 2005)。

リボソームによる翻訳途上のペプチドを「同義コドン置換法」と名付けた方法で同定することによって、2 つ目、3 つ目のリボソームは、それぞれ Val-95、Ala-76 で停止している、つまり、リボソームが 9 コドン間隔で数珠つなぎになっていることが明らかになりました。プライマー伸長法で mRNA 分解中間体の 5' 末端を詳細に解析した結果から、リボソームの停止位置と *CGS1* mRNA の切断位置が非常によく対応していることが示され、渋滞したリボソームに挟まれた位置で mRNA の切断が起こると考えられます (図 2)。

また、アミノアシル-tRNA のアナログであるピューロマ

イシンとの反応速度は、翻訳伸長の各段階で変化します。そこで、ピューロマイシンとの反応速度を測定することによってリボソームの状態を解析しました。その結果、渋滞したリボソームのピューロマイシン反応は、強く抑えられており、リボソームが転座の段階で停止していると考えされました。ただし、SAM によって一時停止した先頭のリボソームよりは有意に反応が早いことも示されました。これらの結果から、先頭のリボソームが転座前の段階で停止しているのに対して、これに追突したリボソームは転座途上の「ハイブリッド状態」と呼ばれる段階で停止していると考えられました (図 2)。

近年、リボソームの渋滞が mRNA 分解の標的となる例が *CGS1* mRNA 以外でも知られるようになってきました。本論文は、渋滞したリボソームの状態を明らかにした最初の報告であり、リボソームが追突によって数珠つなぎ状態で渋滞することが遺伝子発現の調節に関する先駆的な研究です。

参考論文

Onouchi H, Nagami Y, Haraguchi Y, Nakamoto M, Nishimura Y, Sakurai R, Nagao N, Kawasaki D, Kadokura Y, Naito S. (2005) Nascent peptide-mediated translation elongation arrest coupled with mRNA degradation in the *CGS1* gene of *Arabidopsis*. *Genes Dev.* 19: 1799-1810.

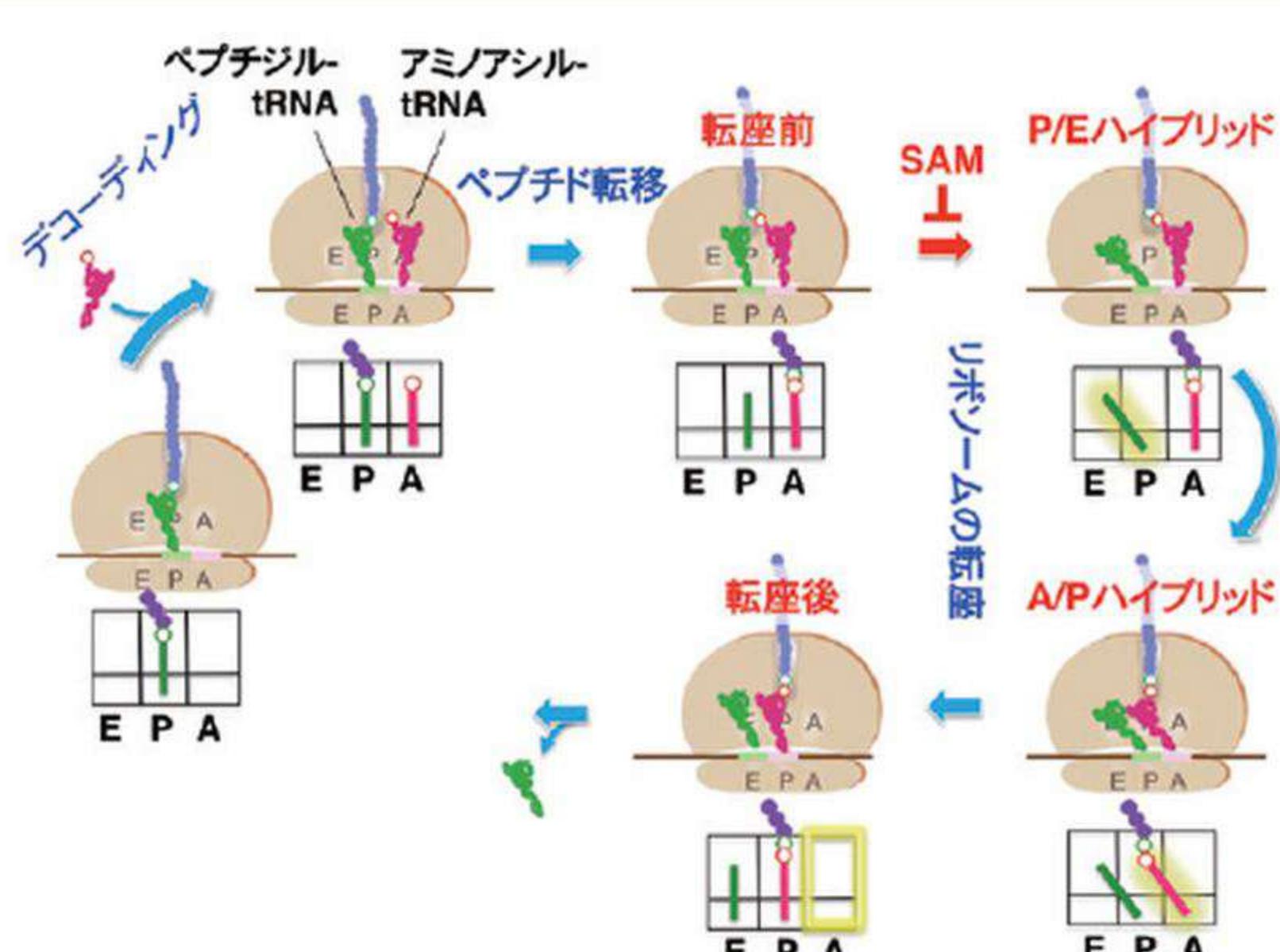


図 1：リボソームにおける翻訳伸長反応。mRNA のコドンに対応するアミノ酸を付けたアミノアシル-tRNA がリボソームの A 部位に入るデコーディング、P 部位に位置する翻訳途上のペプチドを付けたペプチジル-tRNA との間にペプチド結合を形成して A 部位の tRNA にペプチドが転移するペプチド転移、リボソームが次のコドンに移る転座の各段階からなる。転座段階は、さらに大・小サブユニットで tRNA の位置が異なる「ハイブリッド状態」を経て進行する。



図 2 : SAM によって引き起こされる *CGS1* mRNA 上で渋滞したリボソームの状態。Ser-94 で一時停止したリボソームの後ろに、9 コドン間隔で後続のリボソームが数珠つなぎになる。先頭のリボソームの 90% は転座前の段階で停止しており、渋滞したリボソームの大半は転座途上のハイブリッド状態で停止していると考えられる。*CGS1* mRNA の分解中間体の 5' 末端位置 (赤丸) は、渋滞したリボソームに挟まれた位置に対応する。

ブナの開花を制御する窒素：開花遺伝子発現解析をもとに豊凶の生理メカニズムを解明する

Nitrogen as a key regulator of flowering in *Fagus crenata*: understanding the physiological mechanism of masting by gene expression analysis

Yuko Miyazaki, Yosuke Maruyama, Yukako Chiba, Masaki J. Kobayashi, Benesh Joseph, Kentaro K. Shimizu, Keiichi Mochida, Tsutomu Hiura, Hirokazu Kon, Akiko Satake
Ecology Letters 17: 1299-1309, 2014.

私たちの住む地球は、地軸が傾いた状態で太陽の周りを1年で1周のスピードで回っています。こうした地球の公転によって、北半球の中緯度に位置する日本では、温度と日長が一年の間に周期的に変化し、季節が生まれます。多くの植物の開花時期はこの季節変化に強く制約を受けています。しかし、天体の運行によってもたらされる1年周期のリズムとは異なる繁殖リズムも存在します。それはなり年や豊凶(あるいは英語名をもとにマスティング)と呼ばれ、開花や結実の季節は固定されていますが、その量が大きく年変動し森林全体で豊作と凶作の超年周期的リズムが生まれることを指します。たとえば温帯のブナ林では5~7年に一回の豊作年が訪れるといわれてきました。また、私達の生活に身近なミカンやカキ、アボガドなどの果樹においても、果実のなり年と不なり年が交互に現れる隔年結果が頻繁にみられます。こうした花や種子量の豊凶がなぜ生じるのか、その生理的仕組みについてこれまで多くの説が提案されてきました。私たちはこれまで、多くの説のなかでも植物の栄養資源の年変動にフォーカスした資源収支モデルをもとに研究を進めてきました。資源収支モデルでは、植物は毎年資源を蓄積しますが、それが閾値を超えると開花、引き続き結実し、繁殖のため資源が枯渇すると考えます (Isagi et al., 1997; Satake & Iwasa, 2000; Satake & Iwasa, 2002)。この繁殖後の資源枯渇によって繁殖量の年変動が生じることになります。また、開花から結実へ至る際に、他の樹木の開花量が十分であるときにのみ受粉が成功し結実するという花粉制限を考慮すると、異なる植物個体間で繁殖リズムが引き込み合い、集団レベルで新しいリズムが生じることが予測されます。このモデルは豊凶のメカニズムを見通し良く説明するものとして受け入れられてきましたが、どういった栄養資源に花芽形成が制御されているのか、本当に栄養資源が変動するのかについ

てはわかつていませんでした。そこで私たちは、当モデルの妥当性を検討するために、花芽形成に関わる遺伝子の発現量を長期間野外でモニタリングし、その変化と栄養資源量を分析することによって、花芽形成を制御する因子の特定を試みました。まずブナにおいて、花成に関わる主要な遺伝子である *FLOWERING LOCUS T (FT)*, *LEAFY (LFY)*, そして *APETALA1 (AP1)* を同定し、各遺伝子がシロイヌナズナと同様に花成促進の機能を持つことをシロイヌナズナにブナ遺伝子を導入した形質転換体を用いて確認しました。そして、北海道の北限にある黒松内ブナ林と羊ヶ丘の植栽ブナを対象に、5年間にわたりこれらの遺伝子の発現量をモニタリングしたところ、発現が高い年と低い年が2年周期で生じることがわかりました(図1)。このことは、日長など毎年決まった季節変化をみせる因子だけでは、遺伝子発現の年変動は説明できないことを意味しています。枝における栄養資源量を測定した結果、*FT* 遺伝子と窒素資源量の間に高い相関が見いだされたため、窒素施肥実験によって実際に花成が誘導されるか確認したところ、窒素量が十分であればどの遺伝子も顕著に発現が上昇し、その結果2年間連続で開花することが証明されました(図1)。近年、豊凶様式が著しく変化していることが指摘され多くは温暖化にその原因を求めていましたが、私たちの研究は人間活動に伴う窒素負荷の増大と豊凶の関連を示唆する新しい視点を提供するものだと考えています。

参考論文

- Isagi Y, Sugimura K, Sumida A, Ito H. (1997) How does masting happen and synchronized? *J. Theor. Biol.* 187: 231-239.
Satake A, Iwasa Y. (2000) Pollen coupling of forest trees: forming synchronized and periodic reproduction out of chaos. *J. Theor. Biol.* 203: 63-84.
Satake A, Iwasa Y. (2002) The synchronized and intermittent reproduction of forest trees is mediated by the Moran effect, only in association with pollen coupling. *J. Ecol.* 90: 830-838.

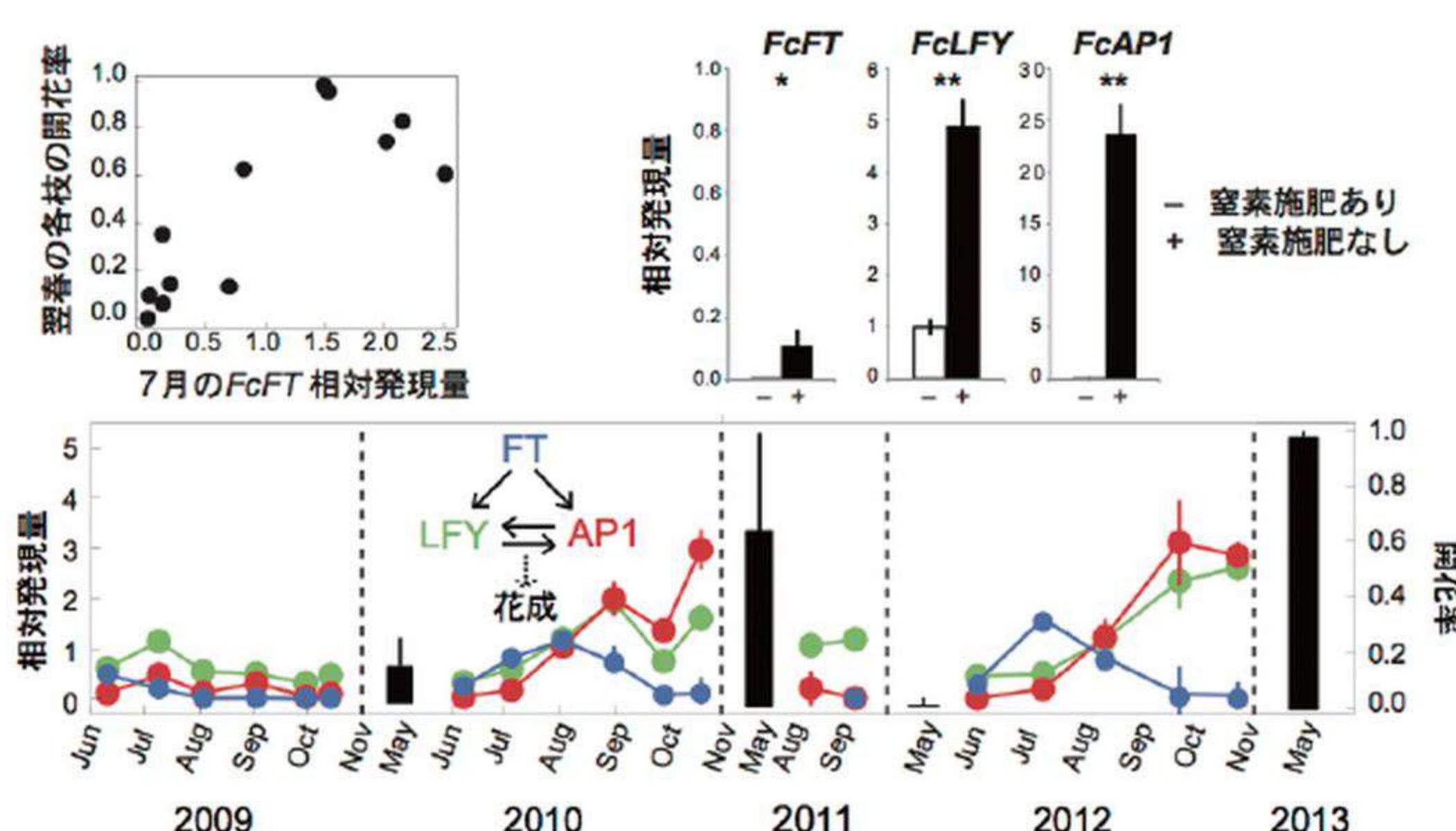


図1: ブナ開花遺伝子の発現量変化と窒素との関係。上左図: 7月の *FcFT* 発現量と翌年の開花率との関係。上右図: 窒素施肥実験の結果。下図: 青: *FcFT*, 緑: *FcLFY*, 赤: *FcAP1* の発現量変化。下図の黒棒は開花率を示す。遺伝子間制御関係はシロイヌナズナのものを参考にした。

イネ種子中のヒ素集積を低減させるABC輸送体,OsABCC1

A rice ABC transporter, OsABCC1, reduces arsenic accumulation in the grain

Won-Yong Songa, Tomohiro Yamaki, Naoki Yamaji, Donghwi Ko, Ki-Hong Jung, Miho Fujii-Kashino, Gynheung An, Enrico Martinoia, Youngsook Lee, Jian Feng Ma
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 111: 15699-15704, 2014.

ヒ素(As)は極めて毒性の強い元素で、急性毒性だけでなく、微量でも継続的に摂取することによって皮膚がんや奇形などの慢性毒性を生じます。イネは他の穀物に比べヒ素を蓄積しやすい性質があり、また日本を始めアジア各国の主食でもあることから、コメからのヒ素摂取が総摂取量の多くの割合を占めています。また、バングラデシュやインド西ベンガル地方など世界の一部の地域では地下水中に比較的高濃度のヒ素が含まれており、その地下水を灌漑に用いたことで、コメをはじめとする農作物のヒ素汚染が非常に大きな問題となっています。世界でヒ素の慢性中毒者は4000万人以上いると言われています。従って、コメ中のヒ素を低減させることは健康上非常に重要な課題です。

水田では、ヒ素は主に亜ヒ酸の形態で存在しています。これまでに我々はイネが土壤中の亜ヒ酸をケイ酸輸送体Lsi1とLsi2を介して吸収することを明らかにしました(Ma et al., 2008)。イネの根のLsi1とLsi2の働きはとても強いので、これがイネが他の作物よりヒ素を高く蓄積してしまう一因です。今回、我々はイネの節で発現するOsABCC1輸送体タンパク質がコメ穀粒へのヒ素の蓄積を抑制する働きがあることを突き止めました。

イネ科植物では、吸収されたミネラルの種子への分配は節で調節されています。節は高度に発達した維管束からなり、維管束間輸送を通じてミネラルの分配に重要な役割をしています(Yamaji and Ma, 2014)。OsABCC1はABC輸送体のCサブグループの一員で、液胞膜に局在する輸送体です。OsABCC1はイネの様々な組織(根、葉、節、穂軸など)で発現していますが、特に節で高発現しています。OsABCC1の発現は低濃度のヒ素では変動しませんが、高濃度のヒ素によって少し増加します。また抗体染色でOsABCC1の組織・細胞局在性を調べたところ、OsABCC1は根、基部節、葉鞘などの各組織の節部に局在し、最上位の第I節では分散維管束の節部伴細胞に局在していました(図1)。OsABCC1を酵母に発現させると、ファイトケラチン合成酵素遺伝子との共発現の場合、ヒ素耐性を付与することから、OsABCC1はヒ素-ファイトケラチンとの複合体が輸送することが示唆されました。またOsABCC1遺伝子を破壊すると、イネのヒ素耐性が大幅に低下しましたが、カドミウム耐性はほとんど変わりませんでした。さらに、ヒ素汚染土壤で栽培した場合、破壊株の節ではヒ素濃度が著しく減少し、逆にもみ殻と玄米では13~18倍に大幅に増加しました。切り取った節間(第III節間)からヒ素を与えると、破壊株では穂への分配が増加し、節での蓄積が減少しました。

他のミネラル(SrとRb)の分配においては破壊株と野生株との間に差は認められませんでした。

従いまして、OsABCC1は根ではヒ素を液胞へ隔離することでイネにヒ素耐性を付与し、また節ではヒ素を節部伴細胞の液胞へ隔離することによってコメへのヒ素蓄積を抑える役割をしています(図2)。今後、この仕組みを応用し、より働きを高めることで、ヒ素蓄積の少ないより安全なイネ品種の開発につながると期待されます。

参考論文

- Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Xu XY, Su YH, McGrath S, Zhao FJ. (2008) Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 9931-9935.
Yamaji N, Ma JF. (2014) The node, a hub for nutrient distribution in graminaceous plants. *Trends Plant Sci.* 19: 556-563.

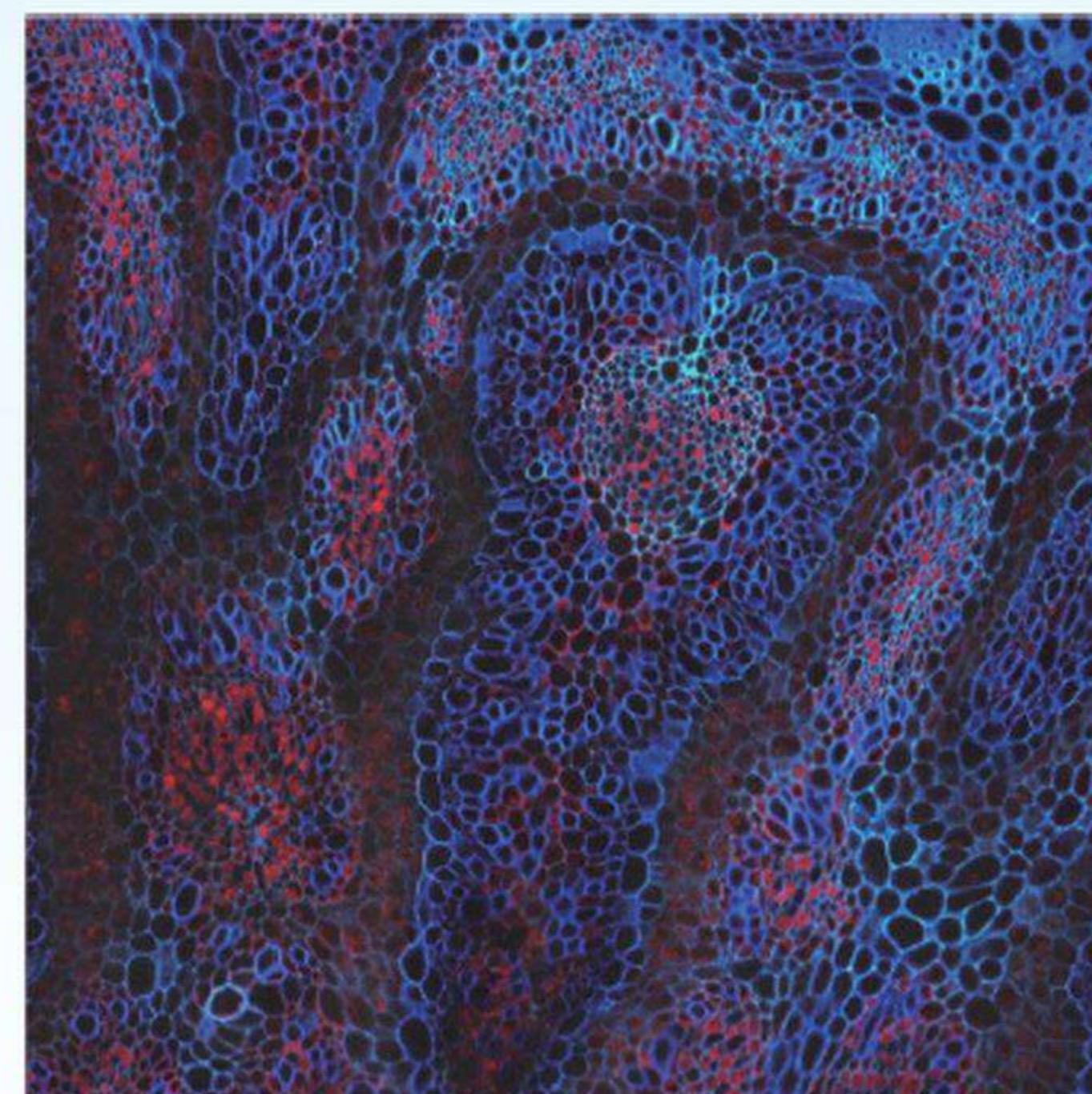


図1：OsABCC1の節Iでの局在。OsABCC1は維管束の節部伴細胞に局在している。

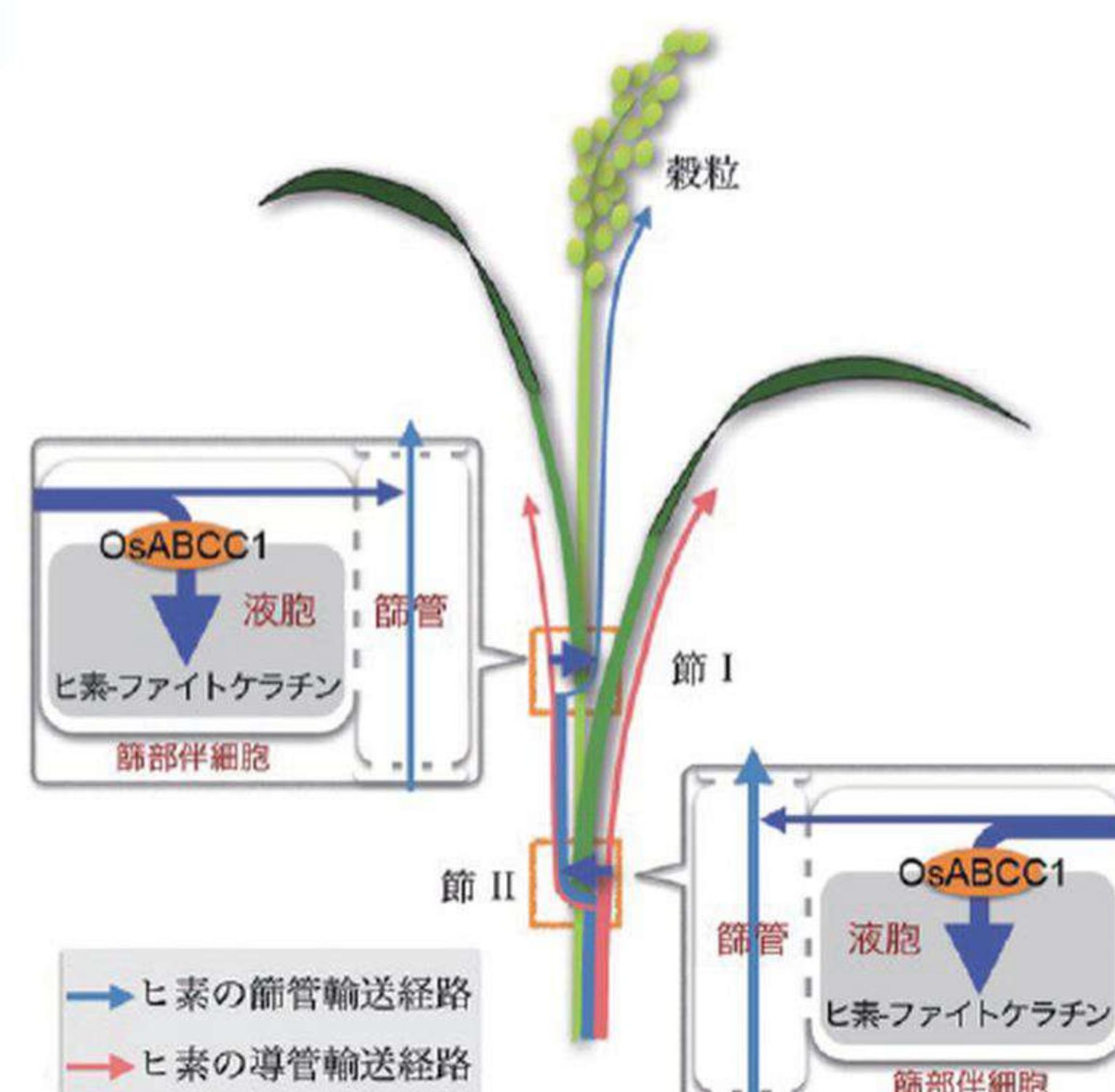


図2：イネ種子のヒ素集積におけるOsABCC1輸送体の役割の模式図

DREB2A の相互作用因子である DPB3-1 は NF-Y サブユニットと転写複合体を形成して高温ストレス誘導性遺伝子群の発現を特異的に誘導する

Arabidopsis DPB3-1, a DREB2A interactor, specifically enhances heat stress-induced gene expression by forming a heat stress-specific transcriptional complex with NF-Y subunits

Hikaru Sato, Junya Mizoi, Hidenori Tanaka, Kyonosin Maruyama, Feng Qin, Yuriko Osakabe, Kyoko Morimoto, Teppei Ohori, Kazuya Kusakabe, Maika Nagata, Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki
The Plant Cell 26: 4954-4973, 2014.

一度根付いた場所から動くことのできない植物は、巧みな応答機構によって環境の変化に対抗していると考えられます。これまでの研究から、植物では乾燥や高温や低温といったストレス環境下において多数の遺伝子の発現が誘導され、これらの遺伝子産物によって耐性が獲得されていることが示されてきました。シロイヌナズナの転写因子である DREB2A は、高温や乾燥ストレス環境下で活性化され、ストレスに対する耐性を獲得するために機能する多くの遺伝子群の発現を誘導します。この活性型の *DREB2A* 遺伝子を、構成的に植物中で過剰発現すると、常にストレス誘導性遺伝子群が発現して、高温や乾燥ストレスに対して強い耐性を示すようになります。しかしその一方で、ストレスのない環境において植物の生育が阻害されることが示され、環境耐性作物開発への応用には困難があると考えられてきました。

本論文では *DREB2A* の活性を制御するタンパク質の探索を試み、*DREB2A* と相互作用する DPB3-1 と名付けられた新規のタンパク質を同定しました。*DPB3-1* 遺伝子を構成的に過剰発現したシロイヌナズナでは、対照の野生型植物と比べて高温ストレスに対する耐性が向上していることが示されました（図1）。また、マイクロアレイを用いてこの過剰発現植物を解析したところ、*DREB2A* が発現を制御している高温ストレス耐性の向上に機能する多くの遺伝子の発現が増加していました。反対に、*DPB3-1* の T-DNA 挿入変異シロイヌナズナでは、野生型のシロイヌナズナと比べると、高温ストレスに対する耐性は低下しており、これらの耐性遺伝子の発現も低くなっていることが確かめられました。これらの結果から、DPB3-1 は高温ストレス条件下で *DREB2A* と相互作用して、高温ストレス誘導性遺伝子の発現を高める役割を果たしていることが明らかになりました。

DPB3-1 はヒストン H2A-like タンパク質に分類されるタンパク質で、ヒトやマウスなどにも存在しておりその機能が解析されていますが、植物ではあまり研究されていませんでした。ヒトやマウスではこのタンパク質は、同じファミリーのタンパク質とヘテロ二量体を形成することが報告されています。シロイヌナズナでも DPB3-1 が類似のタンパク質と結合するかを調べてみました。その結果、NF-YA2、NF-YB3 と名付けられた二つのタンパク質が DPB3-1 と結合して三量体を形成して働き、高温ストレス時に *DREB2A* の機能を活性化することが明らかになりました。

DPB3-1 の過剰発現植物では、高温ストレスに対する耐性が向上していましたが、植物の生育に対しては影響しないことが観察されました（図1）。これは、DPB3-1 の役割はあくま

で *DREB2A* の働きを強化することであり、ストレスがない条件では遺伝子の発現を活性化しないためと考えられました（図2）。様々な植物の遺伝情報を調べた結果、ほとんど全ての作物で DPB3-1 の相同タンパク質が存在することが明らかになつたことから、作物においても同様の仕組みを利用することによって、生育に悪影響を与えることなく、高温ストレス耐性が高められると考えられました。

本研究によって、高温ストレス条件下で働く転写因子の機能を強化する新たな仕組みが明らかにされました。また、この仕組みを利用して高温ストレス耐性を向上した品種改良を行うことができる可能性が示されました。

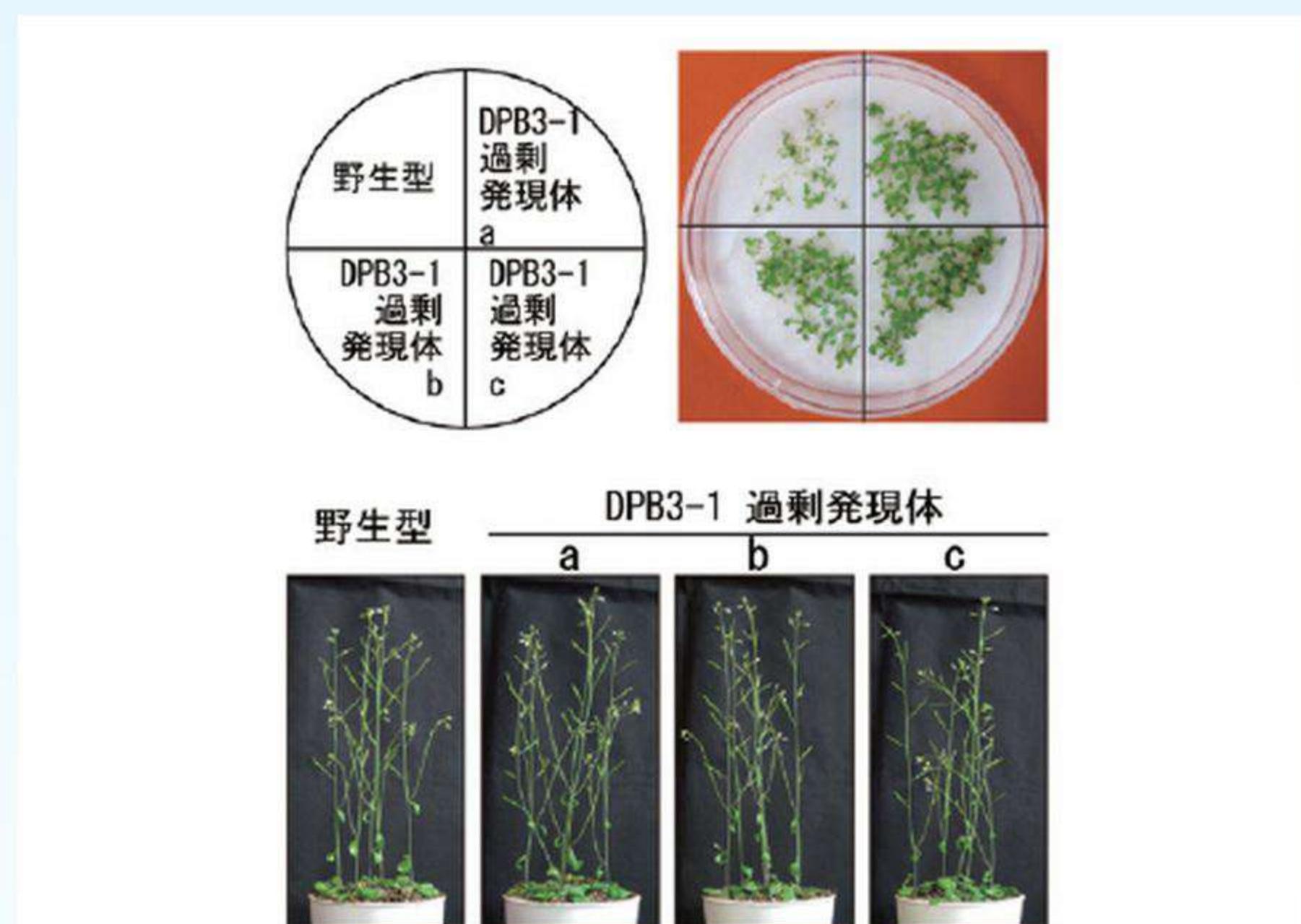


図1：DPB3-1 過剰発現シロイヌナズナの高温ストレス耐性と通常時の生育
(上) 45°C 50分の高温ストレス処理を行った後、22°Cで7日間生育した3ラインの DPB3-1 過剰発現シロイヌナズナと野生型のシロイヌナズナを示している。野生型の多くが枯死するような高温ストレス処理でも DPB3-1 過剰発現体は生存できる。

(下) それぞれ2週間生育した植物体を示しており、通常の条件では DPB3-1 過剰発現体は野生型の植物と同様に生育する。

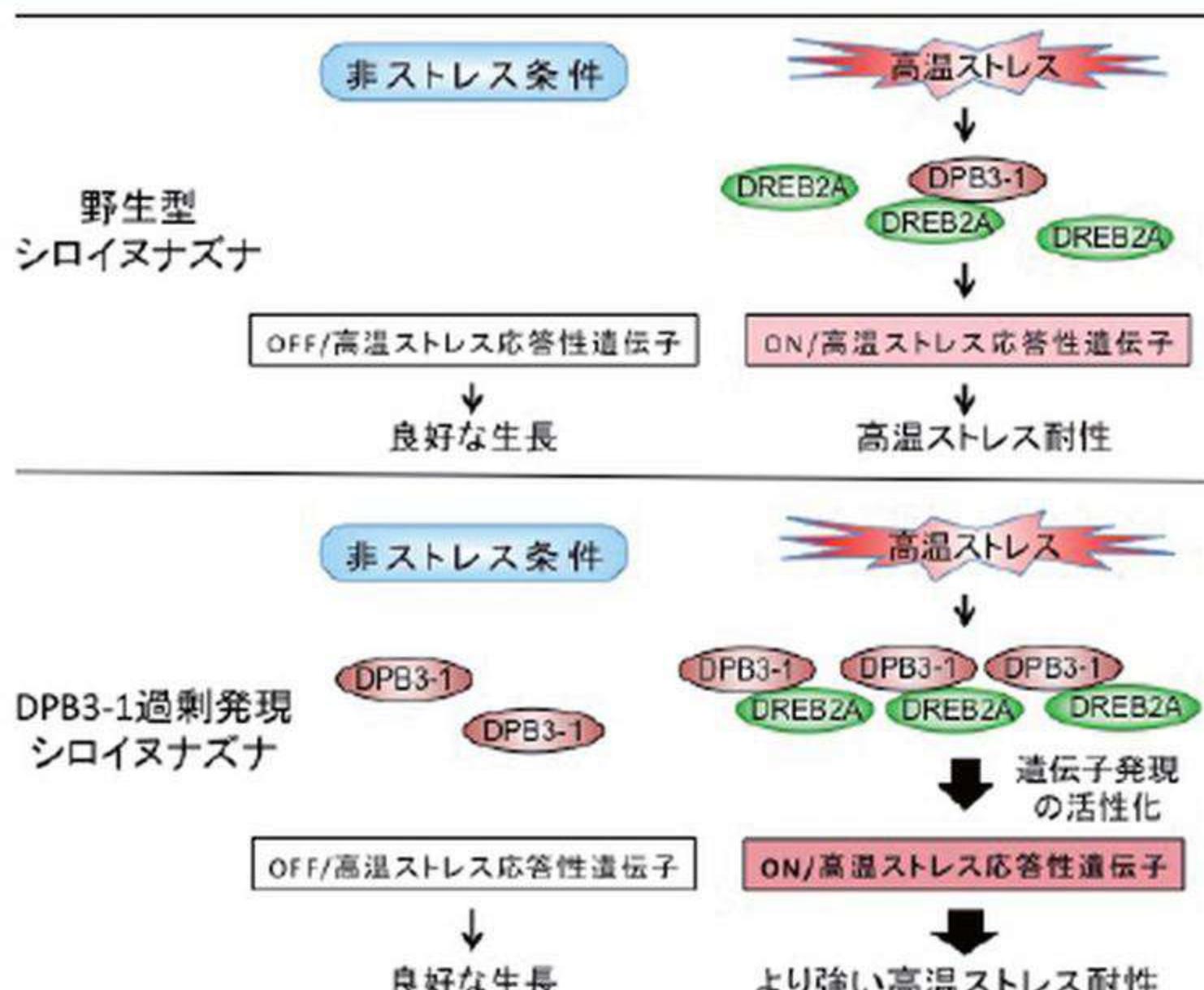


図2：高温ストレス耐性の獲得における DPB3-1 と DREB2A の役割のモデル図
DPB3-1 過剰発現シロイヌナズナはストレスのない通常の条件では、悪影響を与えることなく野生型と同様に生育するが、高温ストレス条件下ではより多く存在する DPB3-1 が相互作用することにより DREB2A の働きが強化され、高温ストレス耐性が向上する。

イネヒストンアセチルトランスフェラーゼは種子のサイズ、収量、バイオマスを増大させる

Rare allele of a previously unidentified histone H4 acetyltransferase enhances grain weight, yield, and plant biomass in rice

Xian Jun Song, Takeshi Kuroha, Madoka Ayano, Tomoyuki Furuta, Keisuke Nagai, Norio Komeda, Shuhei Segami, Kotaro Miura, Daisuke Ogawa, Takumi Kamura, Takamasa Suzuki, Tetsuya Higashiyama, Masanori Yamasaki, Hitoshi Mori, Yoshiaki Inukai, Jianzhong Wu, Hidemi Kitano, Hitoshi Sakakibara, Steven E. Jacobsen, Motoyuki Ashikari
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 112: 76-81, 2015.

イネの多様性を利用して、節間伸長性を制御する遺伝子および種子のサイズを制御する遺伝子の同定と機能を明らかにすることを研究の目的としました。まず、イネ日本型品種「日本晴」とインド型品種「Kasalath」の戻し交雑集団(Backcross Inbred Lines: BILs)を用いて量的形質遺伝子座(QTL)解析を行い、第6染色体長腕に草丈および種子サイズを制御するQTL(Kasalathアリルが草丈及び種子サイズを増大する)を見いだしました。また、日本晴の染色体背景にKasalathの第6染色体の一部分が導入された染色体部分置換系統を観察したところ、日本晴に比べ草丈及び種子サイズが増大していたことから、Kasalathの第6染色体領域に草丈および種子サイズを制御するQTLが存在することが確認できGW6aと名付けました。ポジショナルクローニング法を用いてGW6a遺伝子の同定を行い、ヒストンアセチルトランスフェラーゼに相同性を有する遺伝子を見いだしました。KasalathアリルのGW6a遺伝子を日本晴に導入したところ、草丈及び種子サイズが増大しました。また、アンチセンス法を用いてGW6aの発現を抑制したところ、草丈と種子サイズが減少しました。以上の結果より、GW6a遺伝子が草丈および種子サイズの両方を制御していることが明らかになりました。Kasalathと日本晴のGW6aタンパク質には数個のアミノ酸変異が存在していました。そこで、この変異が機能の差を生み出しているか確認するため、KasalathアリルのGW6a遺伝子と日本晴アリルのGW6a遺伝子の過剰発現体を作成したところ、共に草丈および種子のサイズが増大しました。続いてGW6a発現量を比較したところ、KasalathのGW6a遺伝子の発現が日本晴に比べ高いことが明らかになり、GW6a遺伝子のアミノ酸変異ではなく、発現量の差が草丈および種子サイズの違いを導いていると結論づけました(図1)。また、イネのGW6a遺伝子をシロイヌナズナで過剰発現したところ、シロイヌナズナの種子サイズが増加し、単子葉植物のみならず、双子葉植物においても種子サイズに影響を与えることが明らかになりました。

GW6a遺伝子はGNAT(Gcn5-related N-acetyltransferase)ドメインを保持したことから、アセチルトランスフェラーゼをコードしている可能性があると考え、アセチルトランスフェラーゼ活性があるか生化学的な手法を用いて解析を行いました。大腸菌を用いて日本晴およびKasalathの組換えGW6aタンパク質を生産し、アセチル基のドナーとなるアセチルCoAとヒストンH3およびヒストンH4のペプチドとインキュベートしたところ、ヒストンH3とH4にアセチ

ル基の転移が観察され、日本晴およびKasalathのGW6a遺伝子はアセチルトランスフェラーゼ活性を保持することが判明しました。

本実験で見いだしたGW6a遺伝子を日本晴に導入した系統では、草丈や種子サイズのみならずバイオマス(乾燥重量)も上昇しており、GW6a遺伝子がバイオマスを増大させることも判明しました。植物のバイオマス増加は、食糧生産やバイオエタノール生産に関わる形質であり、現在、バイオマスを増加させる植物の育種が望まれています。今回の研究で見いだされたGW6a遺伝子は、今後植物のバイオマス生産に寄与するかもしれません。

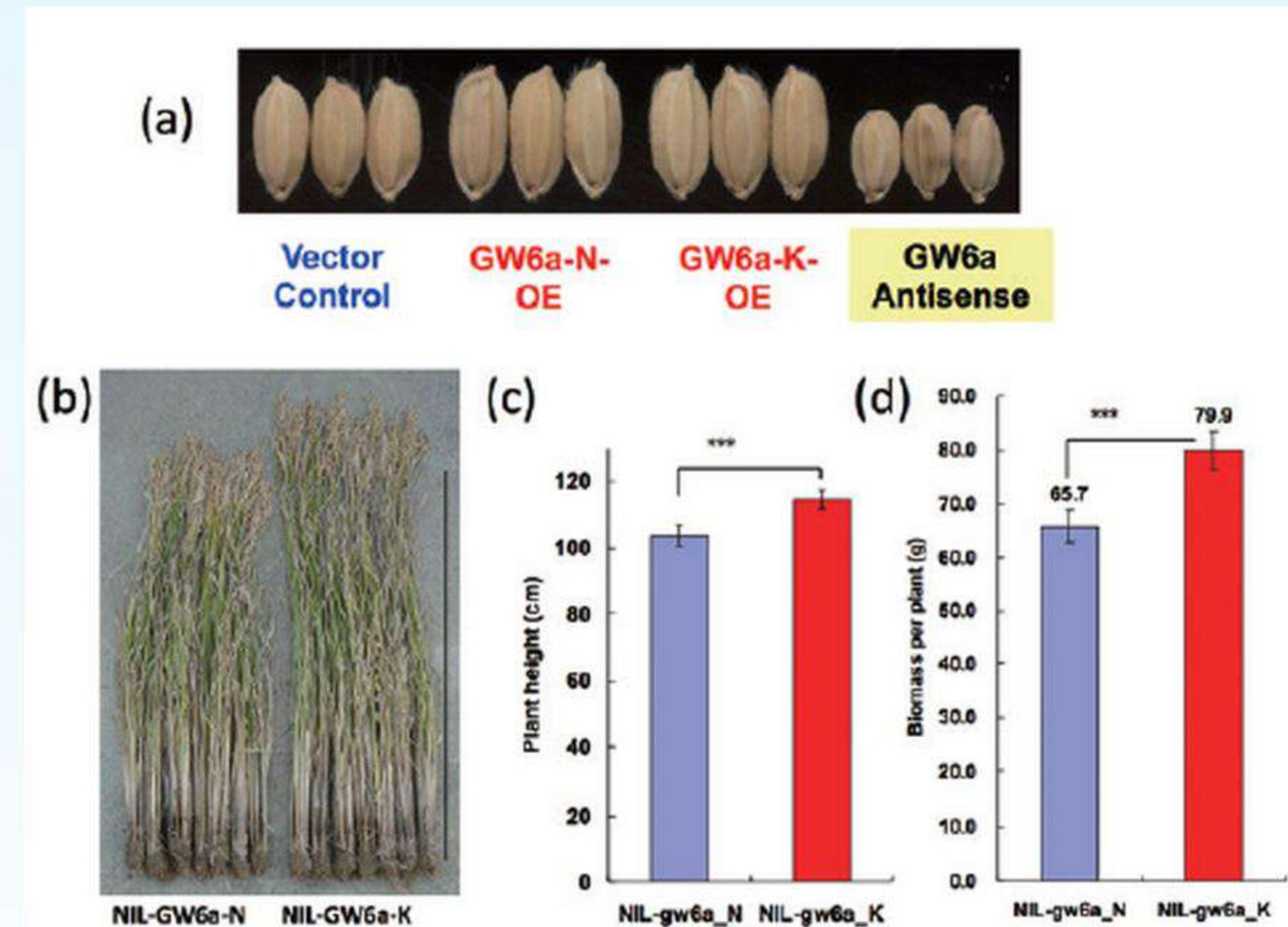


図1: GW6a遺伝子は種子サイズ、草丈およびバイオマスを増大させる
(a) 日本晴GW6a遺伝子とKsalathGW6a遺伝子を過剰発現した種子(GW6a-N-OE, GW6a-K-OE)、GW6a遺伝子の発現を抑制した種子(GW6aAntisense)。(b) GW6a遺伝子が日本晴型(NIL-GW6a-N)のイネ及びGW6a遺伝子がKsalath型(NIL-GW6a-K)のイネの草型。(c) NIL-GW6a-N及びNIL-GW6a-Kの草丈。(d) NIL-GW6a-N及びNIL-GW6a-Kのバイオマス。

AtPHT4;4はシロイヌナズナ(*Arabidopsis*)の葉緑体に局在するアスコルビン酸輸送体である

AtPHT4;4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in *Arabidopsis*

Takaaki Miyaji, Takashi Kuromori, Yu Takeuchi, Naoki Yamaji, Kengo Yokosho, Atsushi Shimazawa, Eriko Sugimoto, Hiroshi Omote, Jian Feng Ma, Kazuo Shinozaki, Yoshinori Moriyama
Nature Communications 6: 5928, 2015.

強光・乾燥・塩害などの環境ストレスにより地球規模で農地が悪化し、近年、作物収量の減少が深刻化しています。環境問題の克服や改善には、作物のストレス耐性能を少しでも上げることが必要です。また、植物のストレス耐性能を上げることは、食料問題だけでなく、地球の温暖化の解決に向けた緑化対策などにも役立ちます。

植物は強い光にさらされると、光合成による過剰エネルギーが葉緑体に蓄積し、葉やけなどの光障害を引き起こします。そのため、植物には光障害から葉緑体を守る仕組みがあります。その一つが、補助色素のキサントフィル類を集光効率の低い物質に変換し、過剰な光エネルギーを熱に変えて散逸させる仕組み(非光化学消光)です。ミトコンドリアから葉緑体に運びこまれたアスコルビン酸(ビタミンC)はその変換の補酵素として働きます。アスコルビン酸は、光ストレスを軽減しつつ、活発に光合成を行う仕組みを支えています。

葉緑体のアスコルビン酸トランспортерを同定することは、アスコルビン酸の生理的役割の解明や光ストレス耐性能を備えた植物育種への応用にとって重要な課題です。しかしながら、これまで良いトランспорターの輸送活性評価法がなかったため、ミトコンドリアで合成されたアスコルビン酸がどのように葉緑体内に取り込まれるのか明らかにされていませんでした。

私たちは、大腸菌に任意の植物トランспорターを大量発現させ、精製し、人工膜小胞に再構成する輸送活性測定法を開発しました。この手法を用いて、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*、モデル植物)のリン酸トランспорター(AtPHT)4ファミリーのAtPHT4;4が、アスコルビン酸トランспорターであることを突き止めました(図1)。このトランспорターはより強い光が当たる葉の表面(柵状組織)の葉緑体に多く発現し、葉緑体の入り口にある包膜に局在していることがわかりました。この遺伝子発現は光ストレス下で大きく上昇し、効率的にアスコルビン酸を葉緑体に運んでいました。

また、葉緑体のアスコルビン酸トランспорター遺伝子を欠損したシロイヌナズナは、葉の還元型アスコルビン酸量が減少し、光ストレス耐性能が低下していることを確認しました。葉緑体にアスコルビン酸が運ばれなくなることで、光合成の仕組みのうち、光ストレスを熱として逃がす非光化学消光が阻害されていることがわかりました(図2A)。実際に、この遺伝子欠損シロイヌナズナは、光ストレス下において、キサントフィル類のうち、集光効率の高いビオラキサンチンから集光効率の低いゼアキサンチンへの変換が著しく阻害されていました(図2B)。

以上の研究成果から、AtPHT4;4は葉緑体包膜のアスコルビン酸トランспорターであることがわかりました。このトランспорターによってミトコンドリアから葉緑体に運ばれたアスコルビン酸は、光合成により生じた過剰な光エネルギーを熱として逃がす過程の補酵素として必須であり、その結果、光ストレス耐性能を獲得していることがわかりました。

本論文は、植物のアスコルビン酸トランспорターを見つけた最初

の報告です。今後、アスコルビン酸輸送を制御することによって、光ストレス下に適応できるストレス耐性能を備えた植物育種への応用が期待されます。

参考論文

- Foyer CH. (2015) Redox homeostasis: Opening up ascorbate transport. *Nature Plants* 1: 14012.
Fernie AR, Tóth SZ. (2015) Identification of the elusive chloroplast ascorbate transporter extends the substrate specificity of the PHT family. *Mol Plant*. 8: 674-676.

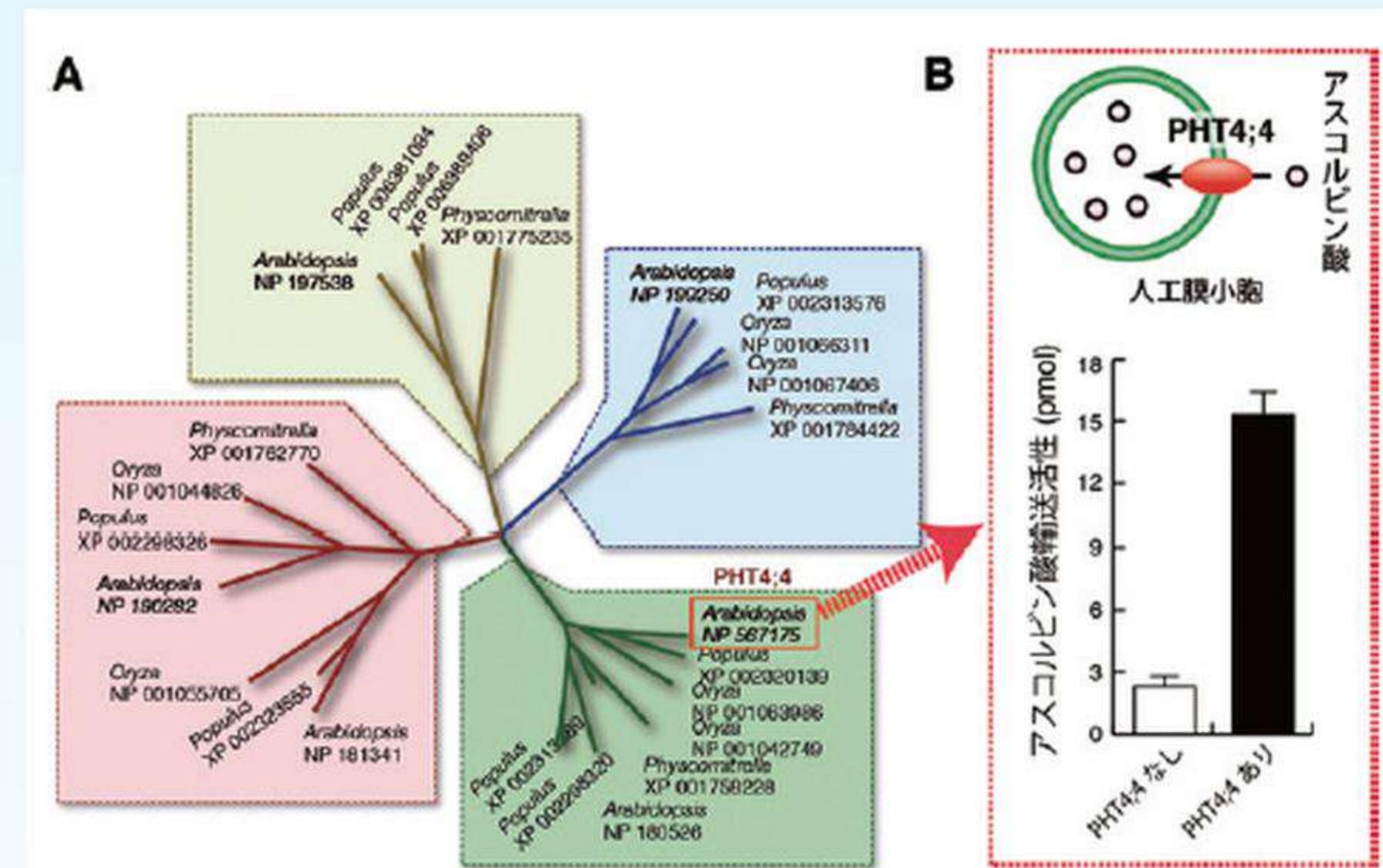


図1: AtPHT4;4はアスコルビン酸トランспорターである
(左) 植物におけるPHT4ファミリーの系統樹。PHT4はシロイヌナズナだけでなく、他の植物種にも広く分布している。(右) AtPHT4;4がアスコルビン酸を輸送することを見いだした。AtPHT4;4を組み込んだ人工膜小胞は、組み込んでいないものに比べ、約5倍のアスコルビン酸を小胞内に輸送した。

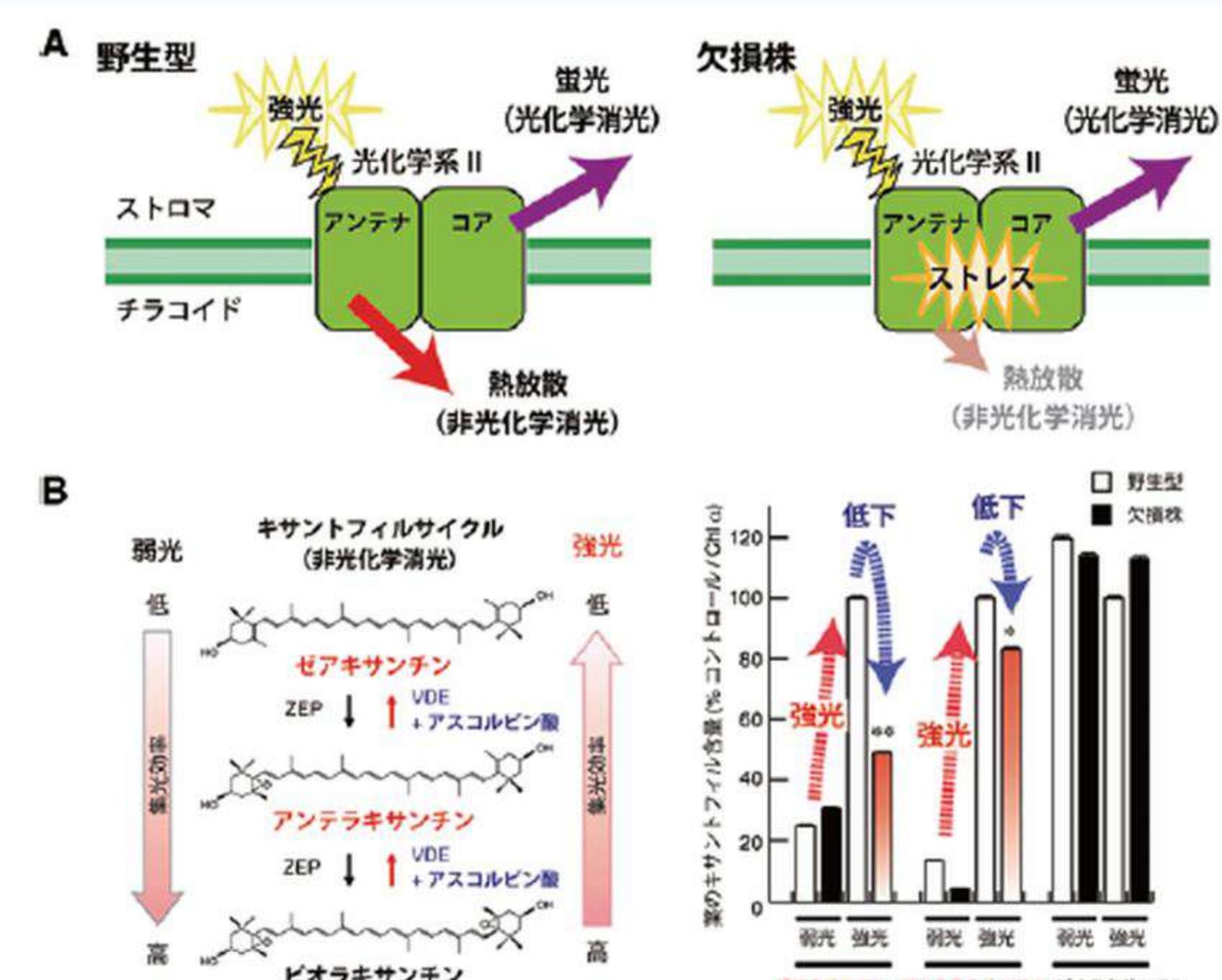


図2: アスコルビン酸トランспорターを欠損した植物は光ストレス耐性が低下した
(A) 植物は光合成で生じる過剰な光エネルギーを蛍光あるいは熱として逃がし、葉緑体を光障害から守っている。アスコルビン酸トランспорターを欠損したシロイヌナズナは、光エネルギーを熱放散する過程(非光化学消光)が阻害されていた。
(B) (左) 非光化学消光の仕組みを示した。葉が強い光にさらされると、変換酵素(VDE: ビオラキサンチンデオキシダーゼ)と補酵素であるアスコルビン酸が集光効率の高いビオラキサンチンから集光効率の低いゼアキサンチンに変換し、過剰な光エネルギーを熱放散する。(右) アスコルビン酸トランспорターを欠損したシロイヌナズナは、ビオラキサンチンからゼアキサンチンに変換することができなくなり、光ストレスを受けやすくなることがわかった。

硫酸イオントランспорターSULTR2;1の硫黄欠乏応答に働くシス配列—遺伝子下流域による発現誘導と地上部への硫酸イオン輸送に果たす役割—

Sulfur-responsive elements in the 3'-non-transcribed intergenic region are essential for the induction of *SULFATE TRANSPORTER 2;1* gene expression in *Arabidopsis* roots under sulfur deficiency.

Akiko Maruyama-Nakashita, Akiko Watanabe-Takahashi, Eri Inoue, Tomoyuki Yamaya, Kazuki Saito, Hideki Takahashi
The Plant Cell 27: 1279-1296, 2015.

硫黄は動植物の必須栄養素のひとつです。植物による硫黄の同化は、硫酸イオンの吸収に始まり、細胞内に取り込まれた硫酸イオンは、活性化と還元反応を経てシステインへと同化されます。硫酸イオンの植物体内への取り込みに働くのが硫酸イオントランспорター (SULTR) であり、シロイヌナズナには 12 種が存在します (Takahashi et al., 2011)。環境中の硫黄が不足すると、植物は硫黄同化系を活性化することで成長に必要な硫黄源を補います。SULTR の中では、根からの吸収に働く *SULTR1;1*, *SULTR1;2*、液胞からの排出に働く *SULTR4;1*, *SULTR4;2*、今回研究対象とした *SULTR2;1* の根における転写産物量が著しく上昇します。このうち、*SULTR2;1* を除く *SULTR* の発現上昇は、SLIM1 転写因子により制御されることが分かっています。SLIM1 転写因子は、環境中の硫黄濃度の減少 (-S) に応じた遺伝子発現変化を包括的に制御しますが、*SULTR2;1* 転写産物量の上昇は SLIM1 の影響を受けません (Maruyama-Nakashita et al., 2006)。つまり、-S による *SULTR2;1* 転写産物量の上昇機構を解析することは、植物が -S に応じて硫酸イオンを獲得するための新しい調節機構を明らかにすることに繋がります。

SULTR2;1 の根における -S 応答領域を明らかにする目的で、*SULTR2;1-5'* 領域 :GFP: *SULTR2;1-3'* 領域または NOS ターミネーターを持つ植物を観察したところ、*SULTR2;1* の根における -S 応答に 3' 非転写領域が必要であることが分かりました (図 1)。続いて 3' 非転写領域についてのデリーション実験や塩基置換実験を行った結果、終止コドンより下流 361-369 bp, 450-456 bp の二つの領域が *SULTR2;1* の -S 応答に必要であることが分かりました。この領域は *SULTR2;1* の 3' 非翻訳領域よりも外側にあり、その有無は 3' 非翻訳領域の長さに影響を与えませんでした。また、他のプロモーターと組み合わせた場合や 5' 領域に置かれた場合でも -S 応答を引き起こしました。これらの結果から、この領域が *SULTR2;1* の遺伝子発現を制御すると考えられます。

SULTR2;1-5' 領域 :GFP: *SULTR2;1-3'* 領域を持つ植物では、従来 *SULTR2;1* の発現組織として知られていた根の内鞘細胞や木部柔細胞だけでなく、皮層でも -S に応じた GFP の蓄積が認められました (図 1)。*SULTR2;1* の根における発現上昇が硫酸イオン輸送に果たす役割を明らかにする目的で、*SULTR2;1* の 3' 領域に T-DNA が挿入されたシロイヌナズナ (tKO) を取得しました (図 2A)。tKO では、根における -S に応じた *SULTR2;1* の発現上昇が失われました (図 2B)。*SULTR2;1* の地上部における転写産物量は -S に応じて減

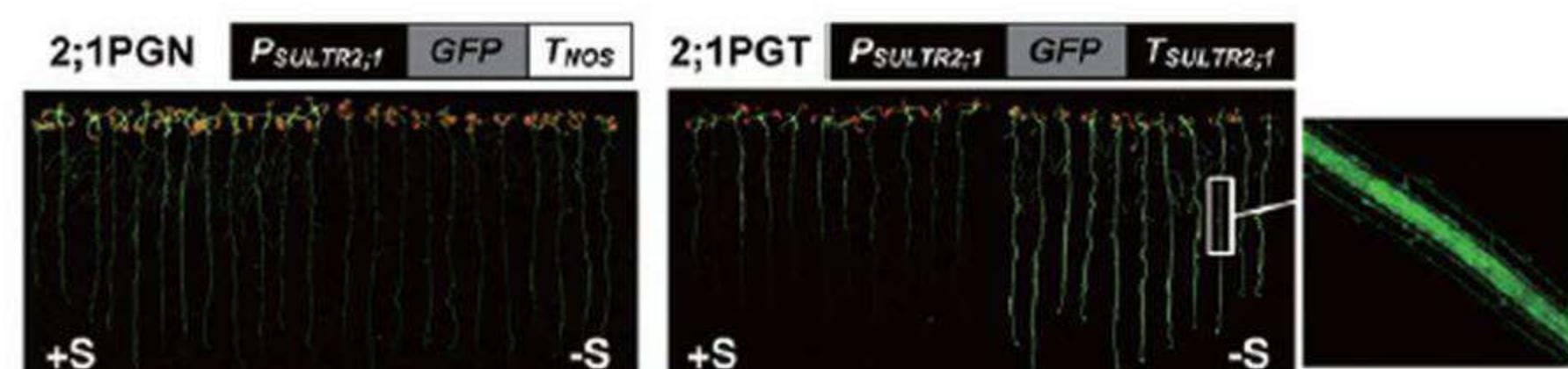


図 1 : *SULTR2;1* の根における硫黄欠乏応答は 3' 下流域によって制御される
SULTR2;1-5' 領域 (*P_{SULTR2;1}*) :GFP:NOS ターミネーター (*T_{NOS}*) (2;1PGN, 左)、*SULTR2;1-5'* 領域 :GFP:*SULTR2;1-3'* 領域 (*T_{SULTR2;1}*) (2;1PGT, 中央) を持つ植物の GFP 蛍光。硫酸イオンを 1500 μM (硫黄十分, +S) または 15 μM (硫黄欠乏, -S) 含む MGRL 培地上で各植物を 10 日間育成し、蛍光スキャナーを用いて植物の GFP 蛍光を観察した。2;1PGT では -S 条件の根で GFP が蓄積している。2;1PGT を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ (右)、根の内鞘細胞や木部柔細胞に加えて皮層でも GFP の蓄積が認められた。

少します。これは SLIM1 依存的に -S に応じて発現の上昇するマイクロ RNA395 の働きによることが知られています (Kawashima et al., 2009)、地上部での -S 応答は tKO でも変化しませんでした (図 2B)。野生型株、tKO を用いて、+S、-S 条件における硫酸イオンの吸収と地上部への移行を比較したところ、野生型株と比べて tKO では、-S 条件においてのみ吸収と移行が有意に減少していました (図 2C)。これらの結果は、*SULTR2;1* が硫酸イオン吸収と地上部への移行の両方に働くおり、-S 条件においては 3' 非転写領域を介した根における発現上昇によりその活性が上昇することを示しています。

本論文により、*SULTR2;1* の根における発現誘導の機構および硫酸イオンの吸収と移行に果たす役割が明らかになりました。植物における必須栄養素の吸収と分配の調節に関する新しい知見が得されました。

参考論文

- Takahashi H, Kopriva S, Giordano M, Saito K, Hell R. (2011) Sulfur assimilation in photosynthetic organisms: molecular functions and regulations of transporters and assimilatory enzymes. *Annu. Rev. Plant Biol* 62: 157-184.
Maruyama-Nakashita A, Nakamura Y, Tohge T, Saito K, Takahashi H. (2006) Arabidopsis SLIM1 is a central transcriptional regulator of plant sulfur response and metabolism. *Plant Cell* 18: 3235-3251.
Kawashima CG, Yoshimoto N, Maruyama-Nakashita A, Tsuchiya YN, Saito K, Takahashi H, Dalmay T. (2009) Sulphur starvation induces the expression of microRNA-395 and one of its target genes but in different cell types. *Plant J.* 57: 313-321.

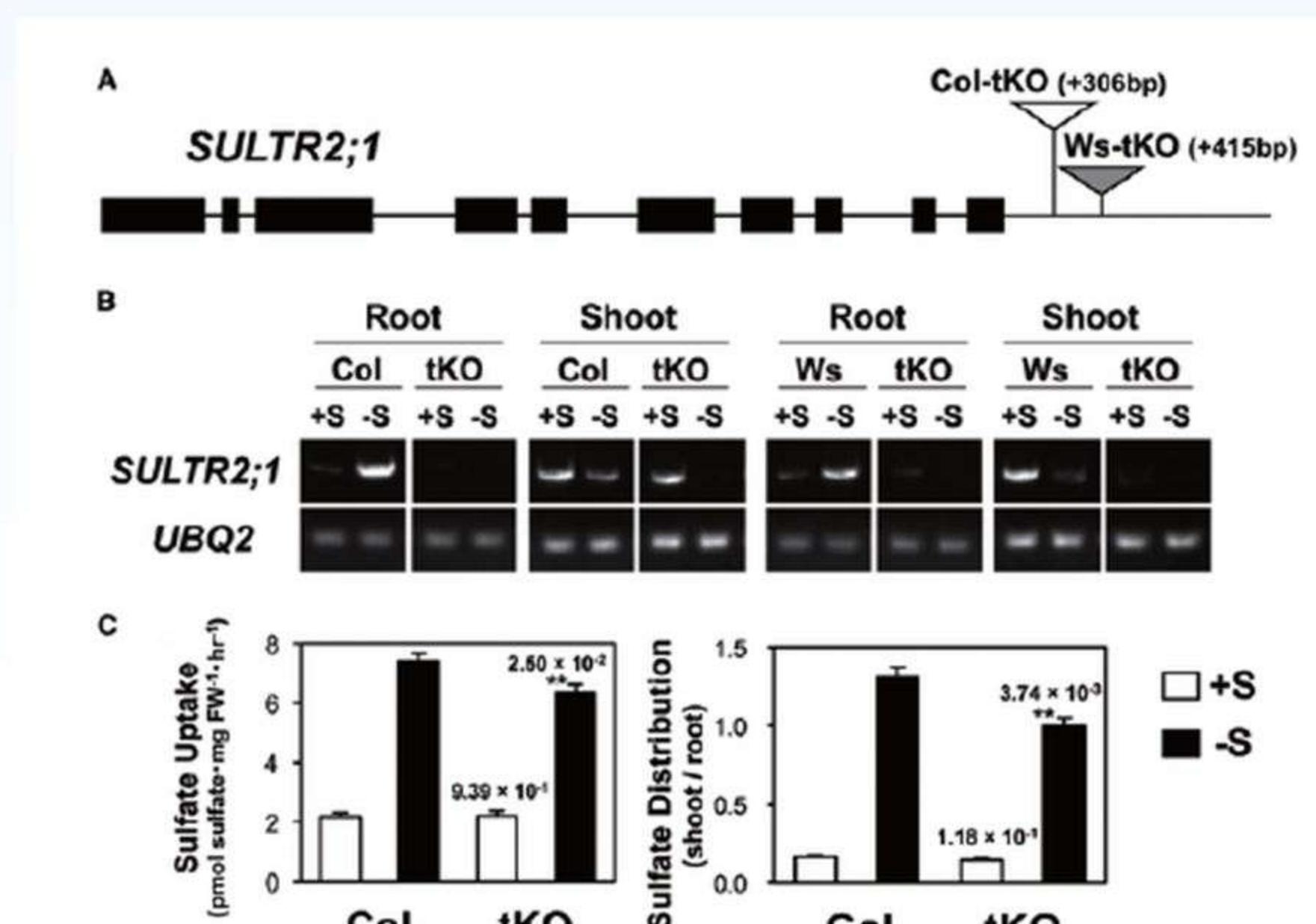


図 2 : *SULTR2;1-3'* 領域への T-DNA 挿入が *SULTR2;1* の -S 応答と硫酸イオンの吸収・移行に及ぼす影響

A *SULTR2;1* のゲノム構造。黒いボックスはエキソンを、線はそれ以外の領域を示す。三角形は T-DNA の挿入位置を示す。*SULTR2;1-3'* 領域に T-DNA が挿入されたシロイヌナズナ (tKO) を二つの野生型株 (Col, Ws) について取得した。

B 野生型株および tKO における *SULTR2;1* の転写産物量。各植物を +S、-S 条件で 10 日間育成し、根 (Root) および地上部 (Shoot) における *SULTR2;1* の転写産物を RT-PCR により検出した。コントロールとして、*UBQ2* を増幅した。野生型株の根では、+S よりも -S でバンドが濃くなっているが、tKO ではその変化が認められない。地上部では、野生型株、tKO ともに +S よりも -S でバンドが薄くなっている。

C 野生型株 (Col) および tKO における硫酸イオンの吸収活性と地上部への移行活性。各植物を B と同様に育成し、水耕液中に加えた [³⁵S] 硫酸イオンの時間当たりの取り込み量 (吸収活性, 左)、および取り込み量の地上部 / 地下部比 (移行活性, 右) を測定した。吸収活性・移行活性とともに、+S 条件では植物間の差が認められず、-S 条件では、どちらも tKO で減少した。

MYB3Rによる転写抑制は植物の器官成長を制御する

Transcriptional repression by MYB3R proteins regulates plant organ growth

Kosuke Kobayashi, Toshiya Suzuki, Eriko Iwata, Norihito Nakamichi, Takamasa Suzuki, Poyu Chen, Misato Ohtani, Takashi Ishida, Hanako Hosoya, Sabine Müller, Tünde Leviczky, Aladár Pettkó-Szandtner, Zsuzsanna Darula, Akitoshi Iwamoto, Mika Nomoto, Yasuomi Tada, Tetsuya Higashiyama, Taku Demura, John H. Doonan, Marie-Theres Hauser, Keiko Sugimoto, Masaaki Umeda, Zoltán Magyar, László Bögör, Masaki Ito
The EMBO Journal (in press), 2015.

植物の器官が形成される過程では、発生初期において盛んであった細胞分裂が、発生の進行とともに低下し、最終的にはほぼすべての細胞が分裂を停止します。このような発生の進行に伴った細胞分裂活性の低下は、多細胞生物一般に広く見られる現象であり、発生メカニズムの根幹に位置する機構である考えられますが、その仕組みは未だ十分には理解されていません。このような発生に伴う細胞分裂の制御には、細胞周期因子の発現制御が重要であると考えられています。例えば、M期サイクリンをはじめとするG2/M期遺伝子群は、発生の進行とともに顕著に発現レベルが低下し、成熟した器官ではほとんど発現が見られなくなります。しかし、このような発現の低下が、発生に伴う積極的な転写抑制に依るものなのか、単に細胞分裂が停止した結果であるのかは明らかではありませんでした。

私たちはこれまでに植物のG2/M期遺伝子群には共通のシス配列が存在し、そこにR1R2R3型Myb転写因子(MYB3R)が結合して転写調節を行っていることを示してきました。今回の論文では、5個存在するシロイヌナズナのMYB3Rのうちの3個(MYB3R1, MYB3R3およびMYB3R5)が転写抑制因子として働くこと、そしてその主要な機能が分裂停止後の細胞(post-mitotic cell)におけるG2/M期遺伝子の発現抑制であることを示しました。抑制型MYB3R全てを欠く $myb3r1/3/5$ 三重変異体では、葉や根の発生におけるpost-mitotic cellや、根毛やペイブメントセルなど完全に分化した細胞でもG2/M期遺伝子の発現を抑制できず(図1)、その結果、器官成長の促進、胚や植物体の大型化が引き起こされるほか(図2)、異所的な細胞分裂による種々の形態形成異常が生じました。また、分裂組織における標的遺伝子の発現解析から、増殖中の細胞における抑制型MYB3Rの機能は、G2/M期以外の細胞周期の時期に転写を抑制することであり、これによりG2/M期遺伝子の発現に周期変動がもたらされることが分かりました。

クロマチン免疫沈降による実験から、抑制型MYB3RはG2/M期遺伝子以外にG1/S期に発現する遺伝子群にも特異的に結合していること示されました。さらに、プルダウン実験から抑制型MYB3RはG1/S期遺伝子を制御する転写因子E2Fと複合体を形成して働いていることが明らかになりました(図2)。この複合体はヒトやショウジョウバエすでに知られているDREAM complexに類似するものであること、しかし植物では活性化型と抑制型の少なくとも2種類の複合体が存在している点、この複合体が発生過程で構成因子を変化させている点などにおいて植物に特有の性質を示していることが明らかになりました。ショウジョウバエや脊椎動物で知られるMybは、一般に転写活性化因子として細胞分裂に必要な遺伝子群の発

現をONにすることが知られています。しかし、植物はON/OFFそれに働くMyb転写因子を別々に持っていることが初めて示されました。植物は動物とは異なり、その成長が環境により大きく影響を受けること、また容易に脱分化(カルス形成)するなど高い可塑性を示すことが知られています。MYB3Rに見られる植物特有の細胞周期制御は、このような植物細胞の特徴を解明する手掛かりになる可能性があります。

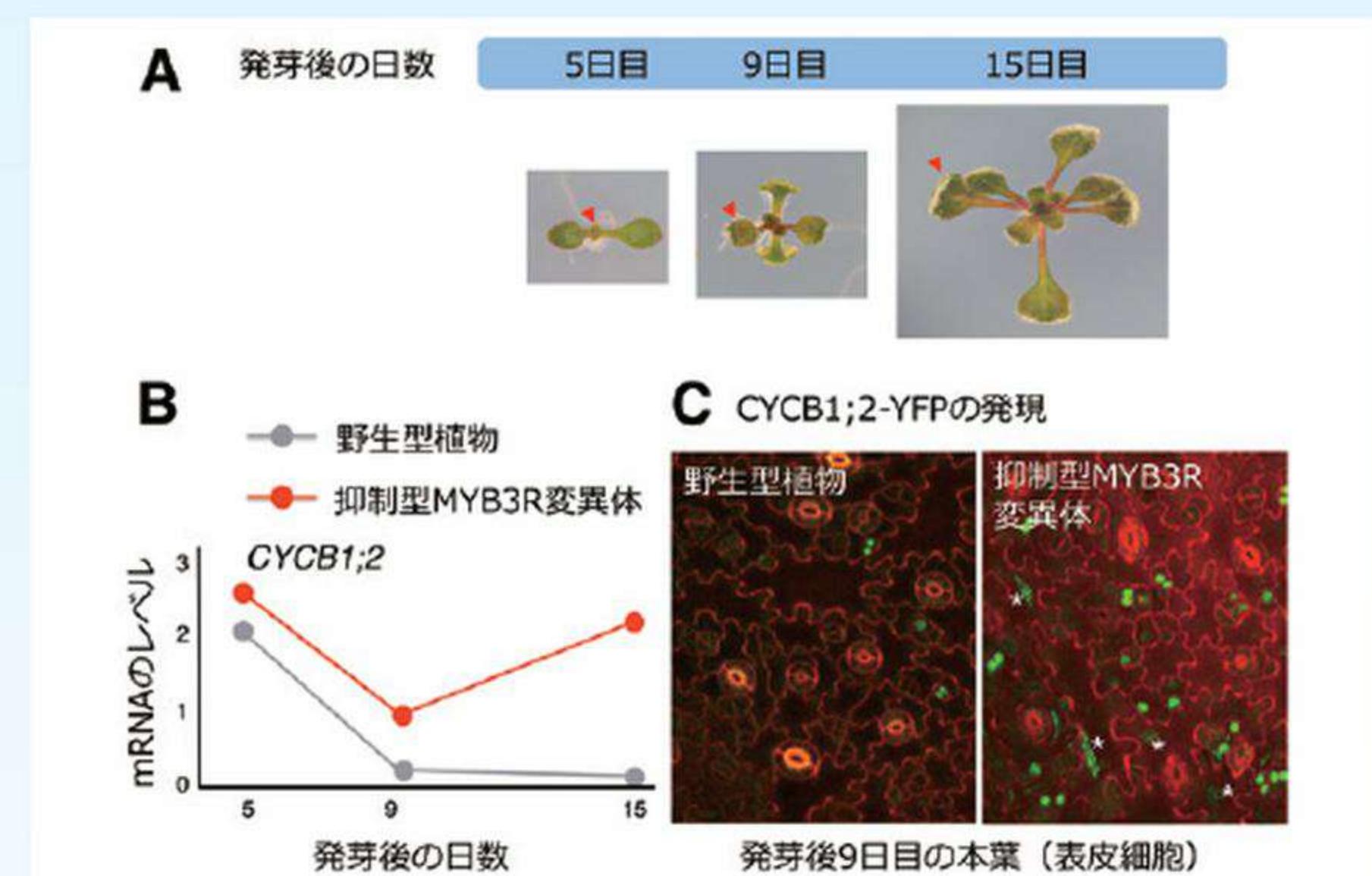


図1：抑制型MYB3R変異体の葉におけるG2/M期遺伝子の異時的な発現
(A) シロイヌナズナの第1,2葉は、発芽後5日目くらいに見えはじめ、その後成長を続けるが、15日目まではほぼ完全に成長を停止する。
(B) CYCB1;2遺伝子は通常、葉の発生が進行し、細胞分裂活性が低下するとともに発現レベルが低下する。しかし、抑制型MYB3Rの変異体では、野生型植物で見られたような発生に伴う発現の低下が起きず、15日目の葉でも発現の高い状態が持続している。
(C) 葉の表皮におけるCYCB1;2の発現を、CYCB1;2-YFPの蛍光パターンにより調べた結果。発芽後9日目の野生型植物では、分裂中の一部の細胞にだけYFPの発現が見られるが、抑制型MYB3Rの変異体では、このような細胞に加えて分裂を停止し、すでにペイブメントセルに分化しつつある細胞(*)にYFPが発現している。

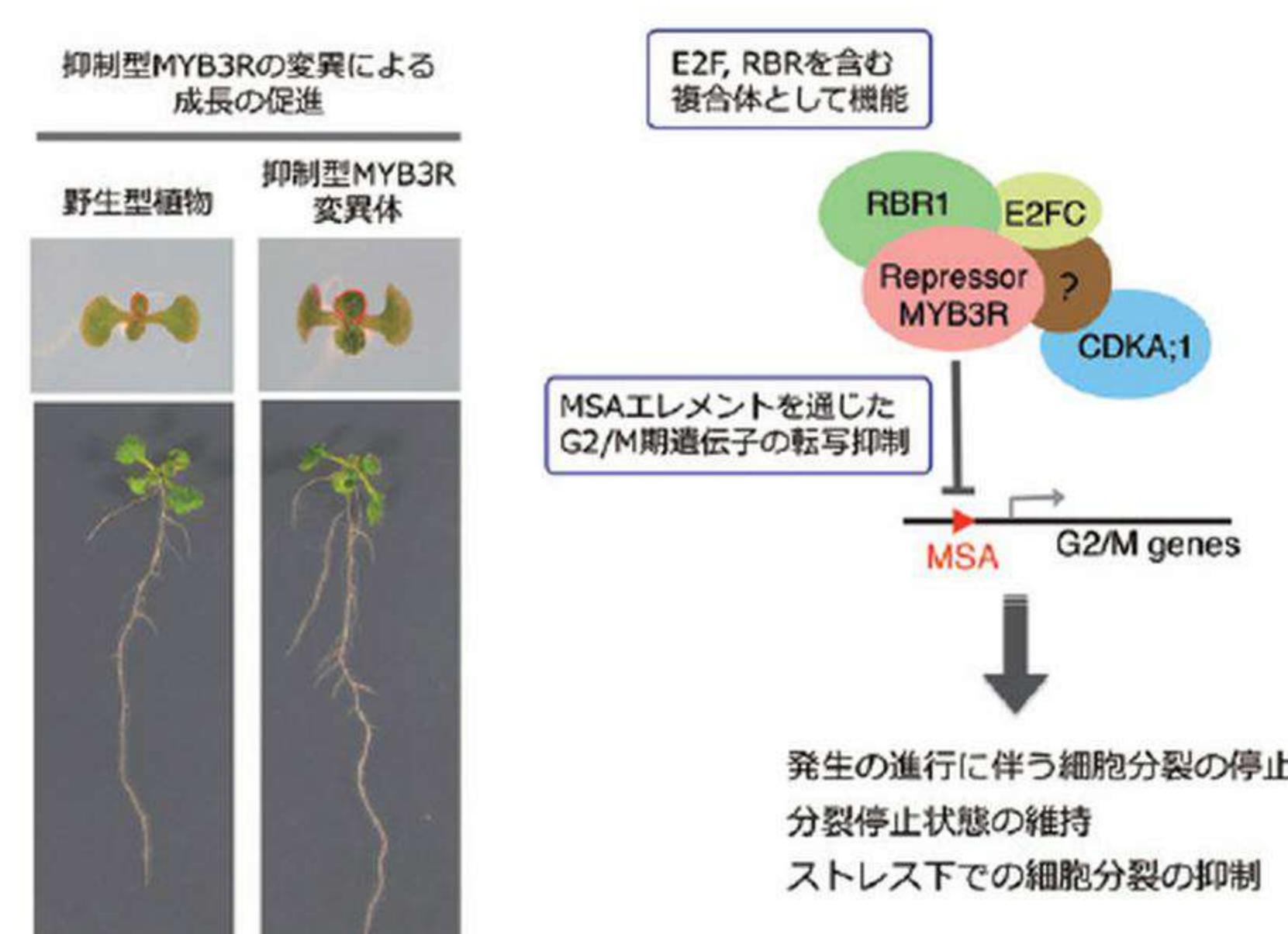


図2：抑制型MYB3Rによる器官成長の制御とタンパク質複合体の形成
抑制型MYB3Rを欠く変異体では、葉や根などの器官の成長が野生型植物に比べて促進される。これは発生プログラムに従った細胞分裂の停止を起こすことができず、通常よりも長期間にわたり分裂を続けてしまったことが原因であると考えられる。また、抑制型MYB3Rは、G1/S期遺伝子の転写を制御するE2F、およびE2Fと結合する抑制因子RBRと同一のタンパク質複合体に存在することが示された。この複合体の生理的な意義やその全構成因子を解明することが今後の課題である。

各賞受賞者

| | |
|-----------|--|
| 馬 建 鋒 | 2012年 第20回木原記念財団 学術賞 2014年 山陽新聞賞（学術功労） |
| 分担者：山地 直樹 | 2013年 日本土壤肥料学会奨励賞 |
| 篠崎 和子 | 2014年 トムソン・ロイター社「Highly Cited Researchers 2014」選出 2014年 日本植物学会 JPR 論文賞 |
| 内藤 哲 | 2012年 日本植物細胞分子生物学会 学術賞 |
| 山谷 知行 | 2015年 日本農学賞・読売農学賞 |
| 芦刈 基行 | 2012年 AAAS (American Association for the Advancement of Science) fellow 2015年 第23回木原記念財団 学術賞 |
| 佐竹 晓子 | 2012年 数理生物学会 奨励賞 2014年 守田科学 研究奨励賞 2014年 ナイスステップな研究者 選定 |
| 沖 大幹 | 2011年 第16回生態学琵琶湖賞（日本生態学会） |
| 坂本 敦 | 2012年 日本学術振興会・科研費審査委員表彰 |
| 関 原明 | 2014年 トムソン・ロイター社「Highly Cited Researchers 2014」選出 |
| 宮地 孝明 | 2012年 第85回日本化学会大会鈴木紘一メモリアル賞 |
| 堀江 智明 | 2012年 第20回生物工学論文賞 |
| 西村 宜之 | 2013年 日本植物生理学会 奨励賞 |
| 深尾 陽一朗 | 2014年 日本植物学会 特別賞・教育（植物科学研究教育推進ユニット、植物グローバル教育プロジェクト・団体受賞） |
| 丸山 明子 | 2011年 日本土壤肥料学会 奨励賞 |
| 石崎 公庸 | 2013年 日本農芸化学会農芸化学奨励賞 2013年 日本植物学会 JPR 論文賞 2014年 日本農芸化学会 BBB 論文賞 |
| 瀬 尾 光範 | 2014年 植物化学調節学会 奨励賞 |
| 本瀬 宏康 | 2011年 平成23年度文部科学省若手科学者賞 |
| 澤 進一郎 | 2012年 日本植物学会 JPR 論文賞 |
| 福田 弘和 | 2011年 計測自動制御学会 SI部門 優秀講演賞 2012年 日本生物環境工学会 論文賞 2013年 日本生物環境工学会 学術奨励賞 2014年 日本生物環境工学会 国際学術賞 |
| 持田 恵一 | 2013年 科学技術の「美」パネル展 優秀賞 2014年 理研 研究奨励賞 |

[領域主催の活動]

総括班会議

総括班メンバーに加え、評価・助言委員、学術調査官の先生方にも参加して頂き、領域運営に関する議論を行いました。

- 第1回 2010年7月23～24日、東京大学農学部
- 第2回 2010年11月5～6日、せとうち児島ホテル（岡山）
- 第3回 2011年6月14日、倉敷アイビースクエア（倉敷）
- 第4回 2011年11月1日、ホテルウェルシーズン浜名湖（浜松）
- 第5回 2011年12月9日、倉敷市芸文館（倉敷）
- 第6回 2012年3月6日、名古屋大学・野依学術交流センター
- 第7回 2012年7月26日、定山渓ビューホテル（札幌）
- 第8回 2012年12月17日、北海道大学・学術交流会館
- 第9回 2013年6月18日、東北大学・さくらホール
- 第10回 2013年11月14日、宮城蔵王ロイヤルホテル（蔵王）
- 第11回 2014年3月10日、京都ガーデンパレス（京都）
- 第12回 2014年11月6日、レイクフォレストリゾート（京都）
- 第13回 2015年3月12日、東京大学・中島董一郎記念ホール

領域会議

計画・公募班員が研究成果を発表し、活発な議論を行いました。領域会議での議論を通じて多くの共同研究が生まれ、その成果は論文等に発表されています。

- 第1回 2011年6月13～15日、倉敷アイビースクエア（倉敷）
- 第2回 2012年3月5～7日、名古屋大学・野依学術交流センター
- 第3回 2012年12月17～19日、北海道大学・学術交流会館
- 第4回 2013年6月17～19日、東北大学・さくらホール
- 第5回 2014年3月9～11日、京都ガーデンパレス（京都）
- 第6回 2015年3月11～12日、東京大学・中島董一郎記念ホール



若手の会

最大で 116 名もの参加者に恵まれ、学生や研究員による研究発表、計画班員を中心とした特別企画等を通じて、多くの交流ができました。若手にとっては研究者仲間を増やす良い機会となり、今後の研究活動にとって貴重な財産となりました。

- 第1回 2010年11月4～6日、せとうち児島ホテル（岡山）
- 第2回 2011年10月31日～11月2日、ホテルウェルシーズン浜名湖（浜松）
- 第3回 2012年7月24～27日、定山渓ビューホテル（札幌）
- 第4回 2013年11月13～15日、宮城蔵王ロイヤルホテル（蔵王）
- 第5回 2014年11月5～7日、レイクフォレストリゾート（京都）



国際シンポジウム

"Strategies of plants against global environmental change"

2011年12月8～10日、倉敷市芸文館（倉敷）

海外から 10 名、国内から 7 名の植物研究者を招聘し、本領域主催の国際シンポジウムを開催しました。150 名余りの参加者に恵まれ、密度の濃いディスカッションが行われました。

海外招待講演者

Meng Chen (Duke University) , Tim Colmer (The University of Western Australia) , Liam Dolan (Oxford University) , Christian Fankhauser (University of Lausanne) , Veronica Grieneisen (John Innes Centre) , Ulf Lagercrants (Uppsala University) , Youngsook Lee (POSTECH-UZH Cooperative Laboratory) , Steve McGrath (Rothamsted Research Centre) , Arp Schnittger (CNRS) , Rens Voesenek (Utrecht University)



公開シンポジウム

環境突破力！～植物の生存戦略と成長戦略～

2012年12月18日、北海道大学農学研究院・大講堂

馬建鋒（岡山大）「酸性土壌突破力」

篠崎和子（東京大）「乾燥ストレス突破力」

経塚淳子（東京大）「しなやかな環境突破力」

杉本慶子（理研）「成長を止めるという戦略」

澤進一郎（熊本大）「CLEペプチドの戦略」

藤原徹（東京大）「環境突破と栄養輸送」



植物環境突破力～新たなる研究の発展に向けて～

2015年3月13日、東京大学伊藤国際学術研究センター・伊藤謝恩ホール

馬建鋒（岡山大）「酸性土壌を突破する植物の戦略」

今泉貴登（University of Washington）「シロイヌナズナにおける光周性花成の分子機構」

木下俊則（名古屋大）「環境シグナルに対する気孔開閉制御の分子機構」

篠崎和子（東京大）「植物の環境ストレス応答と成長制御の分子機構」

清水健太郎（University of Zurich）「非モデル生物の生態ゲノミクス：自然変動環境下の熱帯樹木と異質倍数体を例に」

経塚淳子（東京大）「ストリゴラクトンが伝える情報、その伝え方」

芦刈基行（名古屋大）「エチレンージベレリンリレーを介したイネ節間伸長の分子メカニズム」

中村友輝（Academia Sinica, Taiwan）「花芽発生におけるリン脂質の機能」

鳥居啓子（University of Washington）「植物の内外環境のインターフェースである気孔の発生とパターン形成」

佐竹暁子（北海道大）「植物の巧みなデンプンマネジメントにおける概日時計の役割」

＜パネルディスカッション＞ 研究の国際化と植物科学の発展



ラボジョイントミーティング

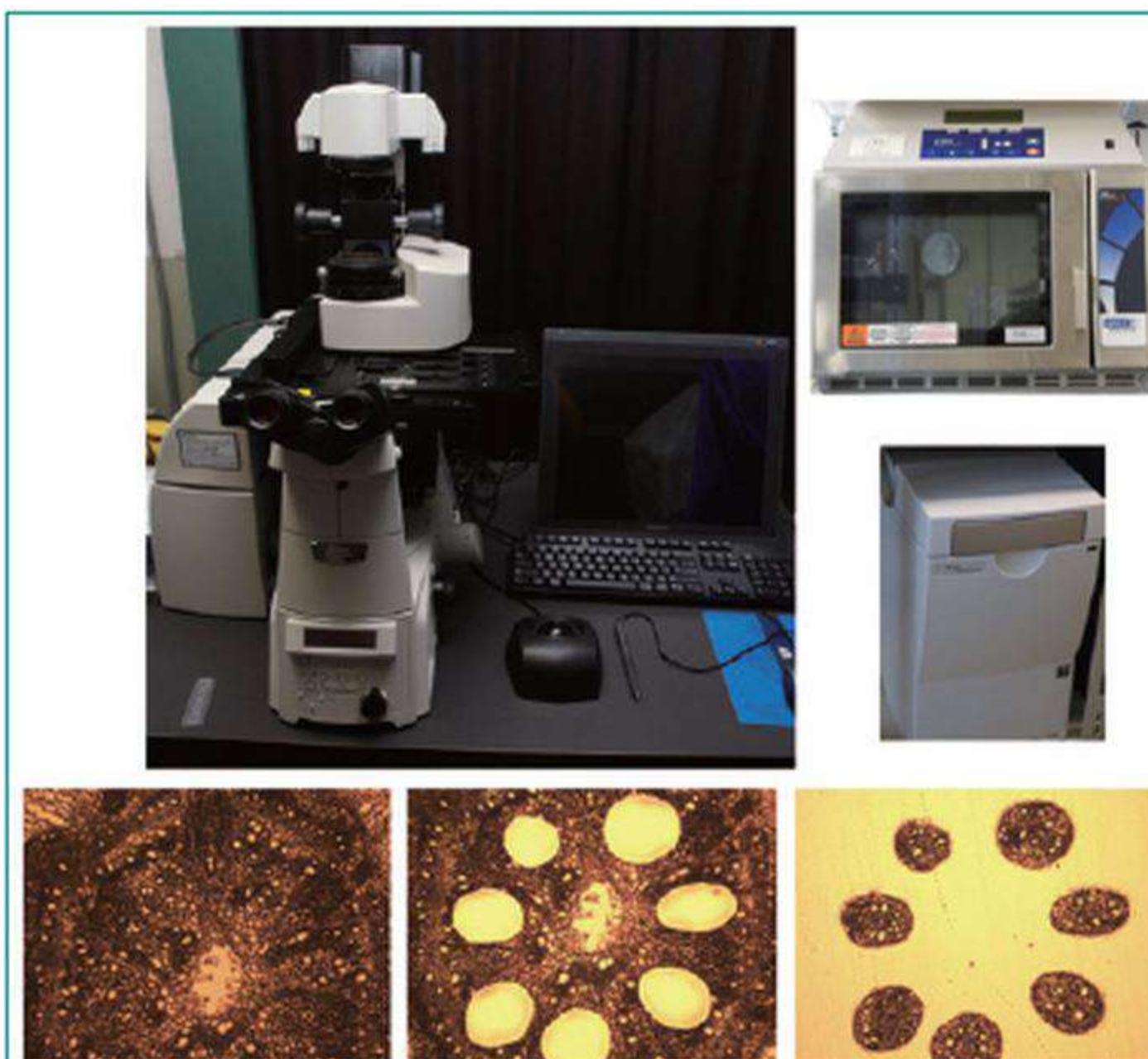
領域内共同研究を活性化するため、研究室間のジョイントミーティングを開催しました。教員だけでなく、研究員や学生も交えて具体的な意見交換を行うことで、多くの共同研究の芽が生まれました。

- ・2010年12月15～16日、シーパレスリゾート（豊橋） 芦苅研究室+木下研究室
- ・2011年1月20～21日、奈良先端科学技術大学院大学 梅田研究室+杉本研究室
- ・2012年9月19～21日、合歓の郷（三重） 芦苅研究室+木下研究室
- ・2013年3月11日、理化学研究所（横浜） 梅田研究室+杉本研究室+岩元研究室+伊藤（正）研究室
- ・2013年8月1～2日、舞子ビラ（兵庫） 馬研究室+木下研究室
- ・2014年9月19～20日、ラフォーレ琵琶湖（滋賀） 馬研究室+木下研究室
- ・2014年10月1～2日、名古屋大学 芦苅研究室+木下研究室



ストレス評価センター

本領域では、遺伝子組み換え植物の生育を様々な環境条件下で評価するために、岡山大学資源植物科学研究所にストレス評価センターを設けました。センターには遺伝子組み換え植物育成装置に加え、レーザーマイクロダイセクション装置 (Applied Biosystems ArcturusXT) を設置し、特定の組織のトランスクriプトーム解析等に活用しました。遺伝子組み換え植物育成装置を利用した外部の班員は5名で、計1215日でした。またレーザーマイクロダイセクションを利用した外部の班員は3名で、計277時間でした。



若手海外渡航支援

本領域では若手海外渡航支援基金を設け、14名の若手研究者（学生や博士研究員）が海外で研究発表するのを支援しました。

■ 市川 美恵

京都府立大学大学院生命環境科学研究科・D3（佐藤雅彦研究室）
24th International Conference on Arabidopsis Research
2013年6月24～28日（オーストラリア・シドニー）

■ 大濱 直彦

東京大学大学院農学生命科学研究科・D2（篠崎和子研究室）
24th International Conference on Arabidopsis Research
2013年6月24～28日（オーストラリア・シドニー）

■ 松永 航

北海道大学大学院生命科学院・D1（伊藤秀臣研究室）
24th International Conference on Arabidopsis Research
2013年6月24～28日（オーストラリア・シドニー）

■ 高塚 大知

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・博士研究員（梅田正明研究室）
Society for Experimental Biology: Annual Main Meeting
2013年7月3～6日（スペイン・バレンシア）

■ 陳 志長

岡山大学自然科学研究科・D3（馬建鋒研究室）
The 17th International Plant Nutrition Colloquium
2013年8月19～22日（トルコ・イスタンブル）

■ 反田 直之

東京大学農学生命科学研究科・M2（藤原徹研究室）
The 17th International Plant Nutrition Colloquium
2013年8月19～22日（トルコ・イスタンブル）

■ 黒羽 剛

名古屋大学生物機能開発利用研究センター・博士研究員（芦刈基行研究室）
The 11th International Conference on Plant Anaerobiosis
2013年10月6～11日（フィリピン・ロスパニヨス）

■ 綾野 まどか

名古屋大学生物機能開発利用研究センター・研究員（芦刈基行研究室）
The 11th International Conference on Plant Anaerobiosis
2013年10月6～11日（フィリピン・ロスパニヨス）

■ 安喜 史織

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科・博士研究員（梅田正明研究室）
Auxins and Cytokinins in Plant Development: International Symposium 2014
2014年6月29日～7月4日（チェコ・プラハ）

■ 山下 由衣

北海道大学大学院農学研究院・博士研究員（内藤哲研究室）
9th FASEB Meeting on "Post-transcriptional control of gene expression: Mechanisms of mRNA degradation"
2014年7月6～11日（アメリカ・ビッグスカイ）

■ 高橋 洋平

名古屋大学大学院理学研究科・研究員（木下俊則研究室）
Plant Biology 2014
2014年7月12～16日（アメリカ・ポートランド）

■ Bart Rymen

理化学研究所環境資源科学研究センター・博士研究員（杉本慶子研究室）
25th International Conference on Arabidopsis Research
2014年7月28日～8月1日（カナダ・バンクーバー）

■ 松永 航

北海道大学大学院生命科学院・D2（伊藤秀臣研究室）
25th International Conference on Arabidopsis Research
2014年7月28日～8月1日（カナダ・バンクーバー）

■ 村井 周平

埼玉大学大学院理工学研究科・M2（竹澤大輔研究室）
The 17th Annual MOSS International Conference
2014年9月25～28日（中国・北京）

RICE 特集号刊行

本領域の企画として、オンラインジャーナル *Rice* の Volume 5 (2012年) に abiotic stress に関する特集号を組みました。

Abiotic Stress 編集：芦刈基行（名古屋大）、馬建鋒（岡山大）

- Nenghui Ye, Liguo Jia, Jianhua Zhang
ABA signal in rice under stress conditions
- Shunsaku Nishiuchi, Takaki Yamauchi, Hirokazu Takahashi, Lukasz Kotula, Mikio Nakazono
Mechanisms for coping with submergence and waterlogging in rice
- Shimpei Uraguchi, Toru Fujiwara
Cadmium transport and tolerance in rice: perspectives for reducing grain cadmium accumulation
- Daisuke Todaka, Kazuo Nakashima, Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki
Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in rice
- Jaeil Cho, Taikan Oki
Application of temperature, water stress, CO₂ in rice growth models
- Tomoaki Horie, Ichiro Karahara, Maki Katsuhara
Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants

PCP 特集号刊行



本領域の企画として、*Plant and Cell Physiology* 誌にモデリングに関する特集号を組みました。

Modeling Strategies for Plant Growth and Survival

Plant Cell and Physiology, Volume 56, Issue 4, 2015

- Akiko Satake, Gen Sakurai, Toshinori Kinoshita (Editorial)
Modeling strategies for plant survival, growth and reproduction

- Alex A.R. Webb, Akiko Satake
Understanding circadian regulation of carbohydrate metabolism in *Arabidopsis* using mathematical models

- Norihito Nakamichi
Adaptation to the local environment by modifications of the photoperiod response in crops

- Motohide Seki, François Gabriel Feugier, Xian-Jun Song, Motoyuki Ashikari, Haruka Nakamura, Keiki Ishiyama, Tomoyuki Yamaya, Mayuko Inari-Ikeda, Hidemi Kitano, Akiko Satake

A mathematical model of phloem sucrose transport as a new tool for designing rice panicle structure for high grain yield

- Akie Shimotohno, Naoyuki Sotta, Takafumi Sato, Micol De Ruvo, Athanasius F.M. Marée, Verônica A. Grieneisen, Toru Fujiwara

Mathematical modeling and experimental validation of the spatial distribution of boron in the root of *Arabidopsis thaliana* identify high boron accumulation in the tip and predict a distinct root tip uptake function

- Gen Sakurai, Akiko Satake, Naoki Yamaji, Namiki Mitani-Ueno, Masayuki Yokozawa, François Gabriel Feugier, Jian Feng Ma

In silico simulation modeling reveals the importance of the Caspary strip for efficient silicon uptake in rice roots

- Yuriko Kimura, Saya Aoki, Eigo Ando, Ayaka Kitatsuji, Aiko Watanabe, Masato Ohnishi, Koji Takahashi, Shin-ichiro Inoue, Norihito Nakamichi, Yosuke Tamada, Toshinori Kinoshita

A flowering integrator, SOC1, affects stomatal opening in *Arabidopsis thaliana*

化学と生物「セミナー室」連載企画

日本農芸化学会の和文誌‘化学と生物’の「セミナー室」に、「植物の生存・成長戦略から見た環境突破力」という連載を企画し、計画班員 10 名が解説記事を掲載します。

| | |
|------------------------|---------------------|
| 2015年 8月 馬 建鋒 (岡山大) | 「酸性土壌を突破する植物の力」 |
| 2015年 9月 木下 俊則 (名古屋大) | 「気孔開閉制御と環境突破力」 |
| 2015年 10月 篠崎 和子 (東京大) | 「温度変動に応答する植物の仕組み」 |
| 2015年 11月 山谷 知行 (東北大) | 「イネの窒素飢餓応答戦略」 |
| 内藤 哲 (北海道大) | 「栄養シグナルと植物の環境突破力」 |
| 2015年 12月 経塚 淳子 (東北大) | 「枝分かれから見た植物の環境変動応答」 |
| 2016年 1月 杉本 慶子 (理研) | 「細胞伸長と植物ストレス突破力」 |
| 2016年 2月 梅田 正明 (奈良先端大) | 「細胞周期と植物ストレス突破力」 |
| 芦苅 基行 (名古屋大) | 「水ストレスを克服するイネの戦略」 |
| 2016年 3月 佐竹 曜子 (九州大) | 「数理モデルによる植物環境力の統合的理 |

学会シンポジウムの共催

班員がオーガナイザーとなり、国内学会のシンポジウムや国際学会を本新学術領域との共催企画として開催し、領域研究の成果を積極的に発信してきました。

日本植物学会第74回大会

シンポジウム「細胞周期研究から見えてきたDNA複製・修復の統御機構」

2010年9月10日、中部大学

オーガナイザー：梅田正明（奈良先端大）、杉本慶子（理研）

第3回日中植物栄養ワークショップ

2011年3月27～29日、倉敷市芸文館

オーガナイザー：馬建鋒（岡山大）

第53回日本植物生理学会年会

シンポジウム「環境変動に対する植物の生存・成長突破力」

2012年3月16日、京都産業大学

オーガナイザー：馬建鋒（岡山大）、木下俊則（名古屋大）

第30回日本植物細胞分子生物学会 大会・シンポジウム

シンポジウム「植物のストレス耐性の基礎研究から応用への展開」

2012年8月3日、奈良先端科学技術大学院大学

オーガナイザー：篠崎和子（東京大、国際農林水産業研究センター）

日本植物学会第76回大会

シンポジウム「ゲノム倍加を伴う植物細胞の成長～鍵因子と応用展開～」

2012年9月17日、兵庫県立大学

オーガナイザー：伊藤正樹（名古屋大）、杉本慶子（理研）

第54回日本植物生理学会年会

シンポジウム「環境と植物～温度・RNA・成長～」

2013年3月22日、岡山大学

オーガナイザー：藤原徹（東京大）、杉本慶子（理研）

第16回国際植物膜生物学ワークショップ

2013年3月26～31日、倉敷市芸文館

組織委員長：馬建鋒（岡山大）

第55回日本植物生理学会年会

シンポジウム 「環境変動に対する植物の生存成長戦略：統合研究の新展開」

2014年3月20日、富山大学

オーガナイザー：篠崎和子（東京大）、佐竹暁子（北海道大）

イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ2014

2014年7月11～12日、東京大学

オーガナイザー：経塚淳子（東京大）、他

日本土壤肥料学会2014年度大会

2014年9月9日、東京農工大学

シンポジウム 「植物栄養と数理モデルの接点～数理モデルで植物栄養の仕組みを理解する～」

オーガナイザー：馬建鋒（岡山大）

日本植物学会第78回大会

2014年9月12日、明治大学

シンポジウム 「環境刺激に応答した植物の情報伝達と成長制御」

オーガナイザー：木下俊則（名古屋大）、松林嘉克（名古屋大）

日本育種学会第126回講演会

2014年9月26日、南九州大学

ワークショップ 「～水 土壤 作物～ 環境ストレス突破の分子生理基盤と育種との融合」

オーガナイザー：最相大輔（岡山大）

第56回日本植物生理学会年会

2015年3月16日、東京農業大学

シンポジウム 「Epigenetic and transcriptional control of environmental response」

オーガナイザー：伊藤秀臣（北海道大）、杉本慶子（理研）

第33回日本植物細胞分子生物学会 大会・シンポジウム

2015年8月12日、東京大学

シンポジウム 「成長突破力～ラボからフィールドへ～」

オーガナイザー：馬建鋒（岡山大）、梅田正明（奈良先端大）

アウトリーチ活動

領域研究の成果を広く社会に発信するため、様々なアウトリーチ活動を行ってきました。

小学生向け企画

小学生田植え・稻刈り教室

名古屋大学フィールド科学教育研究センター・東郷フィールド

2011年6月11日～10月22日（担当：芦苅基行）



ひらめき☆ときめきサイエンス KAKENHI 「身边な不思議発見隊～おコメができるまで大研究～」

東京大学農学部

2011年8月20日（担当：経塚淳子）

2012年8月19日（担当：経塚淳子）

2014年8月24日（担当：経塚淳子）



植物の実験教室

東京大学大学院農学生命科学研究科植物分子生理学研究室

2013年8月25日（担当：篠崎和子）

高校生向け企画

高校生シンポジウム「植物の多様な生存戦略～東北に植物のチカラを～」

東北大・川内北キャンパス

2012年8月6日（担当：芦苅基行）



出張授業

- ・愛知県立豊田西高等学校、2011年11月17日（担当：木下俊則）
- ・武蔵高等学校、2012年7月5日（担当：岩元明敏）
- ・広島県立大門高等学校、2012年9月20日（担当：坂本敦）
- ・山脇学園高等学校、2013年6月6日（担当：太治輝昭）
- ・広島県立府中高等学校、2013年12月12日（担当：本瀬宏康）

福島での特別企画

福島市立三河台小学校での出前授業「おコメ徹底研究」

2012年5月18日（担当：経塚淳子）



福島県立福島高等学校での講演・座談会「植物科学の魅力：研究者という職業」

2012年5月18日（担当：経塚淳子）



福島県南相馬市立原町第3中学校での出前講義・実験「おコメを知る」

2014年9月7日（担当：経塚淳子、芦苅基行）



一般向け企画

サイエンスカフェ

芦苅基行「迫り来る世界の食糧危機～植物科学を利用した解決へのチャレンジ～」名古屋市栄、2012年7月4日

木下俊則「植物の巧みな環境応答～スーパー植物の可能性～」名古屋市栄、2013年5月15日



名古屋大学生物機能開発利用研究センター公開実験講座

「バイオサイエンス・バイオテクノロジーを体験する」

名古屋大学・生物機能開発利用研究センター

2013年8月4日（担当：芦苅基行）

2014年8月3－4日（担当：芦苅基行）



市民セミナー

岩元明敏「枝分かれから見るサクラの多様性～ソメイヨシノはなぜ「美しい」のか～」小石川植物園、2012年2月29日、

3月10日

杉本慶子「植物の美を読み解く～アートとサイエンスの出会い～」日比谷図書文化館、2012年10月3日

上野大勢「植物のミネラルストレス解消法」高知新聞文化ホール、2012年11月12日

上野大勢「ストレスと戦う植物たち」高知市文化プラザかるぽーと、2012年12月11日

芦苅基行「植物科学で食糧増産に挑む」名古屋市鶴舞中央図書館、2014年11月24日

公開講座・講演会

芦苅基行「バイオテクノロジーを利用した食糧増産へのチャレンジ」名古屋大学、2013年6月9日

杉本慶子「植物のかたちをつくる」理化学研究所（横浜）、2013年9月28日

栗津暁紀「数学の基礎と展望～不思議な事に数学～」広島大学、2014年8月5日

梅田正明「植物が行うDNAの倍々ゲーム」奈良先端科学技術大学院大学、2014年10月4日

佐竹暁子「数理モデルで明らかになる植物の生き方」明治大学、2014年12月12日

評価・助言委員から

本新学術領域の終了にあたり、評価・助言委員の先生方からコメントを頂きましたので、ここに掲載させて頂きます。

巖佐 庸（九州大学理学研究院・教授）

新学術領域研究「植物の環境突破力」（領域代表：馬建鋒教授）は、植物の環境ストレス耐性の分子生物学的基盤を解明するとともに、数理モデリングを行うことによって新しい研究分野を確立しようとする目的を持って進められた。

研究対象はさまざまであったが、非常に優れた実験生物学の研究者が計画班員にそろっていた。その年齢も中堅から若手といつてもよい研究者が中心であった。多数の女性研究者が班員に含まれ中心的な役割を果たしたこと、本領域研究の特色である。社会へのアウトリーチ活動や大学院生などへの教育セッションも熱心に行われた。

他方、分子生物学的な理解をもとに数理モデルを構築し、生命科学に新しい側面を切り開く、という側面に関しては、当初は1名が計画班員として含まれていただけであった。しかしその後、数理モデルを研究テーマとする公募班員が採用され、それぞれに努力をされ、いくつかの優れた成果が上がった。

本新学術研究でなされた数理モデリングでは、フラックスの記述と制御、法則性の解明が中心である。最適化を取り込んだものもあり、それらは植物の環境応答の適応性を理解する上に役立つ。他方で、実験的研究が遺伝子ネットワークの解明を行っていることを考えると、数理モデリングも遺伝子の発現や制御が組み込まれたものであることが望ましいが、分子メカニズムを取り込んだ数理モデルは本新学術領域ではなされなかった。次のステップ、発展版としてそのような研究展開を期待したい。

生命科学の新学術研究において数理モデリングを行うといった領域をいくつか知っているが、多くの領域でモデリングの役割や特色について領域運営の責任者が理解しておられるとは思えないことが多かった。モデルは単なる飾りに扱われていて、本質的役割を果たすとは評価されていないと感じた。本新学術研究はそれらとは全く対照的で、数理モデリングの強み、有効性を正確に理解している分子生物学者の方が多数含まれていた。馬領域代表をはじめ、新学術研究を運営された中心メンバーが、数理モデリングの役割についてよく理解し、リーダーシップを発揮されたためである。その背景には植物生理学という分野が定量的な理解にもとづいて発展してきたという学問の歴史があるのかもしれない。その結果、分子生物学的手法で実験をすすめている大学院生や博士研究員などの若手研究者にも、数理モデリングを研究で使用したいとする希望者が多く育っている。

今後、分子生物学を中心とする生命科学において、数理科学との融合や協同が盛んになると予想されるが、馬プロジェクトは、新しい研究領域を確立させることができた新学術領域研究の最大の成功例の一つと数えられるであろう。

寺島 一郎（東京大学大学院理学系研究科・教授）

新学術領域研究「植物環境突破力」では、植物のストレス応答の分子基盤を明らかにし、それをもとに厳しい環境に耐性を持つ植物を創ることを目指して研究が進められてきた。このテーマは、地球環境の激変下にあって、間もなく100億人に達しようとしている人類に十分な食糧を提供し、森林や草原などの生態系の機能を維持するために、最も重要なものである。本新学術領域研究では、馬建鋒代表をはじめとする農学系の研究者と、基礎植物科学系や数理生物学の研究者が緊密に協力し、この課題に正面から取り組んだ。基礎系の分野で行われるストレス応答研究の中には、非現実的な条件下で植物の挙動を解析するものもある。このような研究は、実際の環境ストレス耐性植物の創出のためには意味のないものである。本領域では、そのような懸念のある研究や、植物材料の栽培に問題がある研究が、厳しく批判されていたのが

印象的であった。このような教育的な議論が意識改革を生み、結果として地に足の着いた一流の研究成果に繋がったと思う。議論の中心を担った総括班メンバーの努力を多としたい。

本領域研究では、目標の一つであった数理的手法の導入にも大きな成果があった。数理生物学者と実験科学者が緊密に協力することで、単に現実を説明するだけのレベルを超えた、予測力・説明力があり信頼性の高いモデルがいくつも完成した。

若手の育成にも大きな成果があった。「若手の会」は毎年開かれ、回を重ねる毎に若手の研究者がたくましく育っていることが実感された。若手同士ではなく、シニアの研究者も親しくかつ厳しく若手と議論していたことが印象に残った。総括班の予算によって各班の若手を国際学会で発表させたことも優れた企画だったと言えよう。

本新学術領域によって、多くの質の高い成果が生まれた。同時に、農学系、基礎系、数理系の研究者が太いパイプで結ばれ、学際的研究のさらなる発展の基盤も築かれた。本領域研究のテーマは5年で終わるようなものではない。この基盤を生かしたプロジェクトの継続が強く望まれる。

中村 研三（中部大学応用生物学部・教授）

本新学術領域研究は、植物科学の中でも進展著しい植物の環境応答の研究分野に、数理モデリングの手法を導入して新しい展開を図ろうとするところに斬新さがあり、そうした方向への強い期待を受けてスタートした。当初こそモデリングを取り入れた研究は多くなかったが、領域内での講習会などを重ね、班員による優れたモデリングの研究成果の発表もあって、モデリングへの理解は広まり、それを積極的に取り入れた研究は着実に増加した。環境変化への個体レベルの応答といった問題から地球規模の環境変動の農業生産への影響といったレベルまで、モデリングやシミュレーションの重要性は今後益々高まると思われ、本領域研究の当初の目的は達成されたと評価できる。

本領域研究では、数理分野の研究者と実験科学者との間はもとより、班員の間での共同研究が非常に活発に行われた。植物の環境応答の研究分野は、従来から我が国が世界をリードする分野の一つであったが、こうした活発な共同研究を通して本領域研究の中では環境応答の分子機構から個体や生態のレベルでの環境応答、それらの数理モデルと実に幅広い研究のスペクトラムが追求され、多くの優れた研究成果が生み出された。また、発足当初から学会等でのシンポジウムや国際シンポジウムを開催してモデリング研究の普及や研究成果の公開を活発に進めてきたが、様々なアウトリーチ活動や若手の会なども数多く企画・開催し、班員と共同研究者や学生らだけでなく、子供達を含めた多くの一般の方々を巻き込んだ領域活動が活発に行われ、若手後継者の育成や一般の方々に植物科学の面白さ、身の回りの生活における重要性などの理解を深める上でも大いに貢献したと評価できる。

このように、本領域研究では領域代表のリーダーシップのもとで若手を中心とした幹事グループの領域活動への強い熱意が發揮され、「環境突破力」というインパクトあるネーミングに相応しい精力的な領域研究活動が行われて、多くの更なる発展を期待させる成果が生み出された。

