

課題番号	GS025
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	新規ペプチドリガンド-受容体ペアの探索を基軸とした植物成長の分子機構解析
研究機関・ 部局・職名	基礎生物学研究所 細胞間シグナル研究部門 教授
氏名	松林 嘉克

1. 当該年度の研究目的

細胞外分泌性のシグナル分子と、細胞膜貫通型の受容体タンパク質を介した細胞間シグナリングは、多細胞生物のかたちづくりを支える重要なしくみのひとつである。特定の受容体に特異的に結合するシグナル分子はリガンドと呼ばれるが、複雑な細胞内情報伝達カスケードの最上位に位置するリガンド-受容体ペアを見つけ出すことは、ポストゲノム時代の大きな課題である。本研究は、分泌型ペプチドを主な対象とし、バイオインフォマティクスや生化学的解析を駆使して新規リガンド-受容体ペアを見出し、これを基軸として植物成長の分子機構を解明することを目的としている。平成23年度は、受容体発現ライブラリの拡充を進め、リガンド候補群との結合実験を行なう。また、翻訳後修飾ペプチドのひとつであるアラビノシル化ペプチドの化学合成経路の確立や、アラビノシル化酵素の精製に向けた諸性質の検討を行なう。さらに、新規ペプチドホルモン RGF の情報伝達系路の解明を目指して、非感受性株のスクリーニングを行なう。

2. 研究の実施状況

- ①リガンド候補の探索:前年度に引き続き、シロイヌナズナゲノムデータベースから抽出した新規ペプチドホルモン候補について過剰発現植物体の作製を行ない、順次 nano LC-MS/MS を用いた成熟型ペプチド構造解析を進めている。新規のアラビノシル化ペプチドなどが同定された。
- ②翻訳後修飾ペプチドの化学合成:植物特異的な翻訳後修飾のひとつであるヒドロキシプロリン残基のアラビノシル化について、 β 1,2 結合選択的な化学合成経路の確立に成功した。化学合成されたアラビノシル化 CLV3 ペプチドは、未修飾のものに比べて高い受容体結合親和性を示し、生理活性も強まることが明らかとなった。この化学合成経路は、すべてのアラビノシル化ペプチドに応用可能である。
- ③受容体探索:受容体の同定へ向け、比較的大きいサイズの細胞外領域を持つ受容体キナーゼファミリーを中心に、タバコ BY-2 細胞を用いて受容体発現ライブラリーの作製を進めている。作製しつつある受容体発現ライブラリーの一部を用いて、根の成長を制御するペプチドホルモンである RGF の受容体を探索したところ、特異的な結合を示すものが見出された。さらに、アラビノシル化 CLV3 ペプチドに対しても、既知の受容体である CLV1 以外に特異的な結合活性を示す受容体キナーゼが新たに見出された。また、葉や花粉などの形成に関与する受容体である BAM1 のリガンドおよびリガンド結合部位を明らかにした。
- ④情報伝達系解析:RGF 情報伝達系の解明を目指して、転写因子である PLT2-GFP の RGF 依存的な局在変化を指標としたスクリーニング系を確立し、RGF 非感受性変異株の単離に成功した。
- ⑤ヒドロキシプロリン残基のアラビノシル化酵素の精製に向け、酵素活性を検出する系を確立し、生化学

的諸性質の検討を行なった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計4件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計2件 Matsubayashi Y. Small post-translationally modified peptide signals in <i>Arabidopsis</i>. The Arabidopsis Book 9, e0150 (2011).</p> <p>Shinohara H., Moriyama Y., Ohyama K., Matsubayashi Y. Biochemical mapping of a ligand-binding domain within <i>Arabidopsis</i> BAM1 reveals diversified ligand recognition mechanisms of plant LRR-RKs. The Plant Journal 70, 845-854 (2012)</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計2件 松林嘉克 広がる植物ペプチドホルモンの世界 化学と生物 49, 529-534 (2011).</p> <p>Matsubayashi Y. Recent progress in research on small post-translationally modified peptide signals in plants. Genes to Cells. 17, 1-10 (2012).</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計6件</p>	<p>専門家向け 計6件</p> <p>松林嘉克 硫酸化ペプチドによる根端メリステム形成制御 日本植物生理学会公開シンポジウム「世界をリードする日本発ペプチドホルモン研究」 名古屋大学(名古屋) 平成23年7月11日</p> <p>Matsubayashi Y. Secreted peptide signals required for maintenance of root stem cell niche in <i>Arabidopsis</i>. XVIII International Botanical Congress, Keynote Symposium “New signalling molecules” The Melbourne Convention and Exhibition Centre (Melbourne, Australia) July 23-30, 2011</p> <p>Matsubayashi Y. Secreted peptide signals required for maintenance of root stem cell niche in <i>Arabidopsis</i>. The 1st NIBB – Princeton Symposium “Proteomics, Metabolomics, and Beyond” Okazaki Conference Center (Okazaki, Japan) November 1-2, 2011</p> <p>Matsubayashi Y. Secreted peptide signals required for maintenance of root stem cell niche in <i>Arabidopsis</i>. The 3rd NIBB-TLL-MPIZ Joint Symposium 2011 “Cell Cycle and Development” Temasek Life Sciences Laboratory (Singapore) November 21-22, 2011</p> <p>松林嘉克 植物ペプチドホルモンに見出されるアラビノシル化修飾</p>

様式19 別紙1

	<p>第9回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム 名古屋大学(名古屋) 平成23年11月24-25日</p> <p>Matsubayashi Y. Challenges to identify novel hormones in plants. Germany-Japan Round Table "From the Early Universe to the Evolution of Life" Organized by JSPS, University of Heidelberg and NINS Studio Villa Bosch (Heidelberg, Germany) December 1-3, 2011</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>基礎生物学研究所 細胞間シグナル研究部門 松林嘉克</p> <p>http://www.nibb.ac.jp/ligand/</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>標題「科学三昧 in あいち 2011」</p> <p>実施日 2011年12月27日</p> <p>場所(施設名) 愛知県岡崎市(岡崎コンファレンスセンター)</p> <p>対象者 愛知県内のSSH指定高校の生徒・教員および協賛する大学・研究機関の教員</p> <p>参加者数 200名</p> <p>内容「科学三昧 in あいち 2011」では、愛知県内のSSH指定高校の生徒による研究発表および、大学・研究機関の教員による研究紹介が行なわれた。私は、基礎生物学研究所の代表として最新の研究を紹介し、多数の生徒と生命科学分野の研究の実際について議論した。また、会の最後に全参加者を前にして総評を行なった。</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	<p>2012年3月9日 中日新聞朝刊</p> <p>一岡崎から挑む 自然科学研究機構の若手ー“新ホルモン探し続け”</p>
その他	特になし

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	142,000,000	102,000,000	0	40,000,000	0
間接経費	42,600,000	30,600,000	0	12,000,000	0
合計	184,600,000	132,600,000	0	52,000,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	100,979,400	0	0	100,979,400	87,323,940	13,655,460	0
間接経費	30,600,000	0	0	30,600,000	0	30,600,000	0
合計	131,579,400	0	0	131,579,400	87,323,940	44,255,460	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	77,153,982	質量分析装置, 実験試薬, プライマー合成等
旅費	487,980	研究成果発表旅費(東京大学)等
謝金・人件費等	7,520,401	研究員人件費
その他	2,161,577	英文校正, 機器修理費用等
直接経費計	87,323,940	
間接経費計	0	
合計	87,323,940	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
質量分析装置	LTQ Orbitrap XL	1	68,134,500	68,134,500	2011/10/27	基礎生物学研 究所
窒素ガス発生装置	AIR-TECH AT24NC	1	1,767,150	1,767,150	2011/11/2	基礎生物学研 究所
				0		