

課題番号	GS029
------	-------

**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24年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	根粒共生系の総合的理解による、低窒素肥料農業を目指した基礎的研究
研究機関・ 部局・職名	農業生物資源研究所・植物科学研究領域植物共生機構研究ユニット・ユニット長
氏名	林 誠

1. 当該年度の研究目的

根粒形成に関与する遺伝子を網羅的に同定するために、平成23年度に引き続きタグラインの大規模な展開を実施し、次世代シーケンサを用いた大規模挿入近傍配列決定方法により、破壊遺伝子を網羅的に同定する。また、根粒共生特異的遺伝子について、次世代シーケンサによる RNA-Seq などから、根粒形成における転写因子による発現ネットワークを明らかにする。根粒形成において機能喪失変異表現型を抑圧する復帰変異系統について、原因遺伝子の特定をおこなう。感染系形成に重要な役割を持つタンパク質の細胞内局在を明らかにする。固定窒素寄与率に与える遺伝子座の同定について、QTL マッピングのためのマーカーを整備する。

2. 研究の実施状況

- ・根粒共生遺伝子の網羅的同定 およそ 10,000 系統のタグラインを展開した。また、これまでに整備したおよそ 13,000 系統のタグラインから 120 系統の根粒共生変異体候補を選抜した。さらに次世代シーケンサを用いた大規模挿入近傍配列決定法により、これまでに整備したおよそ 17,000 系統のタグラインを用いて、およそ 94,000 の破壊遺伝子を網羅的に同定した。
- ・根粒共生遺伝子の機能解析 NIN による発現ネットワークについては、*Nin* 発現誘導系を利用した RNA-Seq およびランダムプライマーを用いた SAAB による in vitro の結合配列同定により網羅的な下流遺伝子ターゲットを得た。転写因子として機能する B-type RR をミヤコグサで網羅的に同定した。根粒形成のシグナル伝達経路で機能する *Castor* の機能喪失変異表現型を抑圧する復帰変異系統 2 系統において、次世代シーケンサを用いたゲノムのリシーケンスにより原因遺伝子を同定した。根粒形成のシグナル伝達経路で中心的な役割を果たす CCaMK については、全長を用いた結晶構造解析を試みた。Cyclops 変異抑圧系統を選抜した。蛍光タンパク質を融合した Crinkle を細胞内に導入し、Crinkle の細胞内局在を解析した結果、特異的な細胞内小器官に局在することが明らかとなった。
- ・固定窒素寄与率を支配する遺伝子座の同定 重窒素希釈法により固定窒素寄与率に差の見られた野生系統において、RIL での寄与率を測定した。また、野生系統間に存在するおよそ 10 万種の SNP を同定した。
- ・国民との科学・技術対話 一般向けの講演など、4 件を実施した。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計1件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計1件</p> <p>Soyano T, Kouchi H, Hirota A, Hayashi M. NODULE INCEPTION directly targets <i>NF-Y</i> subunit genes to regulate essential processes of root nodule development in <i>Lotus japonicus</i>. PLoS Genetics (2013) 9: e1003352 ISSN 15537390 <a href="http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1003352">http://www.plosgenetics.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1003352</a></p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表</p> <p>計21件</p>	<p>専門家向け 計21件</p> <p>深井英吾・サンダルニールス・吉川学・平川英樹・梅原洋佐・河内宏・佐藤修正・ストウゴートイェンス・廣近洋彦・林誠、ミヤコグサ遠縁交雑RIL集団におけるレトロトランスポゾンの活性化、東京農業大学、2013/3/27-28、日本育種学会</p> <p>深井英吾・Sandal N・吉川学・平川英樹・梅原洋佐・河内宏・佐藤修正・Stougaard J・廣近洋彦・林誠、ミヤコグサの種間交雑 RIL 集団におけるレトロトランスポゾンの活性化、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>征矢野敬・林誠・川口正代司、皮層細胞分裂を誘導するミヤコグサNINIはAON経路を介して根粒形成を抑制する、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>永江美和・武田直也・下田宜司・林誠・今泉(安楽)温子、CCaMK下流で発現する新規菌根菌応答遺伝子の同定と機能解析、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>征矢野敬・林誠、転写因子NINIはNF-Yを介して根粒形成を制御する、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>横田圭祐・林誠、根粒・菌根共生におけるストリゴラクトニンシグナル伝達経路の役割、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>矢野幸司・寿崎拓哉・梅原洋佐・佐藤修正・田畑哲之・河内宏・林誠・川口正代司・藤原徹、硝酸イオンによる根の形態変化を制御するミヤコグサARN1の解析、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>廣田敦子・林誠、マメ科植物ミヤコグサにおける根粒菌シグナルとサイトカイニンシグナルのクロストーク、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>箱山雅生・菅沼教生・河内宏・林誠・藤原徹、窒素固定能の発現に必要なミヤコグサSEN1タンパク質の機能解析、岡山大学、2013/3/21-23、日本植物生理学会</p> <p>下田宜司・佐藤修正・林誠、マメ科植物との共生窒素固定に関わる根粒菌因子の同定、福岡国際会議場、2012/12/11-14、日本分子生物学会</p> <p>Fukai E, Soyano T, Umehara Y, Nakayama S, Hirakawa H, Tabata S, Sato S, Hayashi M. Establishment of a <i>Lotus japonicus</i> gene tagging population using the endogenous retrotransposon <i>LORE1</i>. Hyderabad, India. 2012/10/2-7. VI International Conference on Legume Genetics and Genomics</p> <p>矢野幸司・梅原洋佐・菅沼教生・佐藤修正・田畑哲之・河内宏・林誠・藤原徹・川口正代司、ミヤコグサにおける <i>LjERN1</i> の機能解析、神戸大学、2012/9/25-27、植物微生物研究会</p>

様式19 別紙1

	<p>征矢野敬・林誠・川口正代司、皮層細胞分裂を誘導する NIN を介した根粒着生数の負の制御機構、神戸大学、2012/9/25-27、植物微生物研究会</p> <p>十川蒼・山崎大樹・三好貴紘・林誠・横田圭祐・田島茂行・野村美加、ミヤコグサ SNARE 遺伝子 <i>Syn1</i> は根粒形成初期における重要ファクターである、神戸大学、2012/9/25-27、植物微生物研究会</p> <p>下田宜司・林誠・今泉(安楽)温子、マメ科植物 CCaMK の比較機能解析、神戸大学、2012/9/25-27、植物微生物研究会</p> <p>Hayashi M. Plant genes that have triggered evolution of root nodule symbiosis. Phuket, Thailand. 2012/10/28-31. The 2<sup>nd</sup> Asian Conference on Plant-Microbe Symbiosis and Nitrogen Fixation</p> <p>Yokota K, Soyano T, Hayashi M. NSP1 and NSP2 regulate strigolactone biosynthesis genes and arbuscular mycorrhiza symbiosis in <i>Lotus japonicus</i>. Munich, Germany. 2012/9/2-5. 10th European Nitrogen Fixation Conference</p> <p>Hayashi M, Soyano T. Transcriptional regulation for nodulation in legumes. Kyoto, Japan. 2012/7/29-8/2. XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</p> <p>Takeda N, Maekawa T, Hayashi M, Parniske M, Kawaguchi M. Analysis of common symbiosis system reveals infection mechanism of arbuscular mycorrhizal fungi in <i>Lotus japonicus</i>. Kyoto, Japan. 2012/7/29-8/2. XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</p> <p>Imaizumi-Anraku H, Nagae M, Shimoda Y, Takeda N, Hayashi M. Identification of novel arbuscular mycorrhizal-specific genes regulated by gain-of-function CCaMK, a key regulator of endosymbiosis. Kyoto, Japan. 2012/7/29-8/2. XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</p> <p>Nomura M, Miyoshi T, Yamazaki H, Sogawa A, Chungopast S, Yokota K, Hayashi M, Tajima S. Study of vesicle trafficking in <i>Lotus japonicus</i> nodules. Kyoto, Japan. 2012/7/29-8/2. XV International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>研究の概要、生物研(農業生物資源研究所) <a href="http://www.nias.affrc.go.jp/researchactivities/25hayashi/">http://www.nias.affrc.go.jp/researchactivities/25hayashi/</a></p> <p>マメの大気中のチッ素利用を可能とする実行因子を同定、生物研(農業生物資源研究所) <a href="http://www.nias.affrc.go.jp/press/20130319/">http://www.nias.affrc.go.jp/press/20130319/</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>平成 24 年度農業生物資源研究所一般公開サイエンスカフェ「共生は究極の肥料になるの? ~根粒の世界~」、2012/4/20、農業生物資源研究所、一般、20 名、根粒形成の仕組みをスライドと植物サンプルを使って一般向けに平易に解説した。</p> <p>くらしとバイオプラザ 21 TTC バイオカフェ「植物と微生物における共生の進化~根粒を環境に優しい農業に役立てるには?」、2012/5/18、東京テクニカルカレッジ、専門学校の学生と先生、25 名、窒素固定と農業の関係を解説した。</p> <p>筑波研究学園都市交流協議会サイエンス Q「共生は究極の肥料になるの? ~根粒の世界~」、2012/10/3</p>

様式19 別紙1

	<p>(2012/11/5 ラヂオつくばで放送)、春日学園、中学2年生、7名、ミヤコグサやダイズの根粒を実際に観察させながら、スライドを使わずに板書で説明した。</p> <p>NIAS オープンカレッジ「共生から見る植物-植物と微生物の相互作用-」、2012/11/29、主婦会館プラザエフ、一般、15名、植物微生物共生の仕組みの解明とその応用についてスライドで解説した。</p>
新聞・一般雑誌等掲載計2件	<p>日経産業新聞、2013/3/26、p9、窒素利用のタンパク質、マメ科植物で発見、農業資源研</p> <p>日本農業新聞、2013/3/26、p20、根粒形成の仕組み解明、マメ科植物で生物資源研</p>
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成24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す

## 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	136,000,000	48,046,000	51,676,000	36,278,000	0
間接経費	40,800,000	14,413,800	15,502,800	10,883,400	0
合計	176,800,000	62,459,800	67,178,800	47,161,400	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	6,543,615	51,676,000	0	58,219,615	56,890,973	1,328,642	0
間接経費	0	15,502,800	0	15,502,800	15,103,800	399,000	0
合計	6,543,615	67,178,800	0	73,722,415	71,994,773	1,727,642	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	28,526,225	実験試薬等
旅費	899,060	研究成果発表旅費(岡山大学)等
謝金・人件費等	23,082,951	博士研究員等人件費
その他	4,382,737	学会参加費、ミヤコグサ培養変異体の圃場栽培とDNA回収組織収穫及び採種業務
直接経費計	56,890,973	
間接経費計	15,103,800	
合計	71,994,773	

## 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
共焦点レーザー スキャン顕微鏡シ ステム	カールツァイス社 LSM710	1	24,937,500	24,937,500	2013/3/19	植物科学研究領 域植物共生機構 研究ユニット
				0		
				0		