

## 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 25 年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	光合成電子伝達の最適化による植物バイオマス増進の技術基盤研究
研究機関・ 部局・職名	埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授
氏名	川合真紀

### 1. 当該年度の研究目的

本研究では植物バイオマス生産性向上のための鍵となる光合成電子伝達系の最適化のための技術的基盤を得る事を目的としている。葉緑体内でNADをリン酸化する酵素(NAD キナーゼ)を高発現させた植物系統における生育・代謝亢進の機構を解明するとともに、NAD キナーゼに加えて、その上流の NAD 代謝酵素(NADS、NMNAT)を合わせて高発現させた系統の作出を引き続きおこなう。さらに、NAD キナーゼ高発現系統のさらなるバイオマス増進の可能性を探るため、異なる栄養条件下での成長・代謝解析を行う。遺伝子発現解析から硫酸同化系が通常の生育条件では不足状態となっている可能性が示されたことから、これまでに明らかとなっていた窒素、炭素同化経路の増進に加え、硫黄同化系の変化に注目して研究をおこない、植物バイオマス増進のための技術基盤を確立する。

### 2. 研究の実施状況

これまでの研究から、細胞内の NAD 代謝系の改変が植物の物質生産能力や光合成能力の最適化の為に有効である事を示してきた。今年度は、NAD 合成の上流の2つの酵素(NADS および NMNAT)に葉緑体移行配列を付加して高発現した系統の作出とその解析をおこなった。ef1 プロモーター(恒常的に高発現)、および Cab プロモーター(光依存的に高発現)で NAD 合成遺伝子群を発現させた両系統(イネ、シロイヌナズナ)とも、植物体は正常に生育し、著しい形態異常や不稔性などは見られなかった。形質転換イネ系統を用いた光合成パラメーターの測定では、Fv/Fm 値は約 0.8 と変化していなかったが、余剰なエネルギーを廃棄する熱放散の数値(NPQ)が、コントロールで 1.7~1.8 に対し、ef1 プロモーター系統では 1.8~2.0と若干上昇していた。光化学系IIを通る電子伝達の実行量子収率( $\Phi_{II}$ )については、ef1 系統では低下している個体が多かった一方で、Cab プロモーター系統では、増加しているものが複数得られた。NAD 合成経路を発現させるタイミングの違いがこれらの差異を生み出したと考えられる。今後、成長・収量調査を含め解析を進めて行く必要がある。また、NADK2 の高発現による代謝増進の分子機構を明らかにするため、NADK2 高発現シロイヌナズナ系統のマイクロアレイ解析を行った結果、硫黄欠乏時に発現上昇する機能未知の遺伝子の発現量の増加が明らかとなった。そこで、NADK2 高発現系統を、硫酸を添加した培地で育成した結果、コントロール系統よりも生育が向上した。また、NADK2 過剰発現系統は高濃度硫酸耐性を示した。また、硫黄代謝産物のひとつであるグルタチオンの内生量が増加していることも明らかとなり、これらの結果から、NADK2 の高発現体では、炭素および窒素の代謝に加えて硫黄代謝も同時に活性化されていることが明らかとなった。これらの条件を考慮することにより、NADK2 高発現系統の生育をさらに亢進させることができることがわかった。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 13 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 11 件</p> <p>Onda, Y., Miyagi, A., Uchimiya, H., Kawai-Yamada, M. (2014) NADK2 overexpression on primary metabolite profiles in rice leaves under elevated carbon dioxide, <i>Plant Biology</i>, Jan 7. doi: 10.1111/plb.12131.</p> <p>Kakimoto, M., Ishikawa, T., Miyagi, A., Saito, K., Miyazaki, M., Asaeda, T., Yamaguchi, M., Uchimiya, H., Kawai-Yamada, M. (2014) Culture temperature affects gene expression and metabolic pathways in the 2-methylisoborneol-producing cyanobacterium <i>Pseudanabaena galeata</i> <i>Journal of Plant Physiology</i> 171, 292-300.</p> <p>Kawai-Yamada, M., Nagano, M., Kakimoto, M., Uchimiya, H. (2014) Plastidic protein Cdf1 is essential in Arabidopsis embryogenesis. <i>Planta</i>, 239, 39-46.</p> <p>Ishikawa, T., Imai, H., Kawai-Yamada, M. (2014) Development of an LC-MS/MS method for Analysis of free sphingoid bases using 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan (NSD-F). <i>Lipids</i> 49, 295-304.</p> <p>Hashida, S., Takahashi, H., Takahara, K., Kawai-Yamada, M., Kitazaki, K., Shoji, K. Goto, F., Yoshihara, T., Uchimiya, H. (2013) NAD<sup>+</sup> accumulation during pollen maturation in Arabidopsis regulating onset of germination. <i>Molecular Plant</i>, 6, 216-225.</p> <p>Miyagi, M., Uchimiya, M., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H. (2013) Impact of aluminium stress on oxalate and other metabolites in <i>Rumex obtusifolius</i>. <i>Weed Research</i>, 53, 30-41.</p> <p>Miyagi, A., Uchimiya, M., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H. (2013) An antagonist treatment in combination with tracer experiments revealed isocitrate pathway dominant to oxalate biosynthesis in <i>Rumex obtusifolius</i> L. <i>Metabolomics</i>, 9, 590-598.</p> <p>Hashida, S., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H. (2013) NAD<sup>+</sup> accumulation as a metabolic off switch for orthodox pollen. <i>Plant signaling and Behavior</i> 8, e23937.</p> <p>Miyagi, A., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, M., Ojima, N., Suzuki, K., Uchimiya, H. (2013) Metabolome analysis of food-chain between plants and insects. <i>Metabolomics</i>, 9, 1254-1261.</p> <p>Kaniya, Y., Kizawa, A., Miyagi, A., Kawai-Yamada, M., Uchimiya, H., Kaneko, Y., Nishiyama, Y., Hihara, Y. (2013) Deletion of the transcriptional regulator cyAbrB2 de-regulates primary carbon metabolism in <i>Synechocystis</i> sp. PCC 6803. <i>Plant Phys.</i>, 162, 1153-1163.</p> <p>Kim, S., Kim, H., Ko, D., Yamaoka, Y., Otsuru, M., Kawai-Yamada, M., Ishikawa, T., Oh, H.M., Nishida, I., Li-Beisson, Y., Lee, Y. (2013) Rapid induction of lipid droplets in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> and <i>Chlorella vulgaris</i> by Brefedelin A. <i>PLoS One</i>. 8, e81978.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 2 件</p> <p>Nagano*, N., Ishikawa*, T., Ogawa, Y., Iwabuchi, M., Nakasone, A, Shimamoto, K., Uchimiya, H., Kawai-Yamada, M. (2014) Arabidopsis Bax inhibitor-1 promotes sphingolipid synthesis during cold stress by interacting with</p>
------------------------	--

	<p>ceramide-modifying enzymes. <i>Planta</i>, in press. * equally contribution                  Kawai, H., Ishikawa, T., Toshiaki, M., Kore-eda, S., Kawai, M., Ohnishi, J. (2014)                  Arabidopsis glycerol-3-phosphate permease 4 is localized in the plastids and                  involved in the accumulation of seed oil . <i>Plant Biotechnology</i>, accepted</p>
<p>会議発表 計 20 件</p>	<p>専門家向け 計 17 件                  Kawai-Yamada, M., Ishikawa, T., Nagann, M., Nakasone, A., Uchimiya, H.                  Functional association of cell death suppressor Arabidopsis Bax Inhibitor-1                  with lipid metabolism. Oxidative stress and cell death in plants: mechanisms                  and implications. <i>Plant Symposium of the SEB, Firenze, Italia, 2013.7.26-28</i>                  (ポスター発表)                  宮城敦子、内宮博文、川合真紀、シュウ酸合成阻害エゾノギシギシのメタボローム                  解析、第31回日本植物細胞分子生物学会、札幌、2013.9.10-12                  北野沙也佳、宮城敦子、大野豊、長谷純弘、鳴海一成、山口雅利、内宮博文、川合                  真紀、ガンマ線が高シュウ酸植物の代謝に及ぼす影響、第77回日本植物学会、札                  幌、 2013.9.13-15                  石川寿樹、中曽根光、長野稔、内宮博文、川合真紀、シロイヌナズナの低温応答に                  おけるスフィンゴ脂質代謝動態、第 77 回日本植物学会、札幌、2013.9.13-15、                  宮城敦子、内宮博文、川合真紀、Al<sup>3+</sup>存在下における高シュウ酸植物エゾノギシギシ                  のメタボローム解析、第 77 回日本植物学会、札幌、2013.9.13-15                  中曽根光、石川寿樹、内宮博文、川合真紀、出芽酵母発現系を用いたスフィンゴ脂                  質長鎖塩基 Δ 8 位不飽和化酵素のドメイン解析、第 78 回日本植物学会、札幌、                  2013.9.13-15                  柿沼悠太、石川寿樹、長野稔、山口雅利、内宮博文、川合真紀、蒸散制御における                  シロイヌナズナの脂肪酸伸長酵素 AtELO1 の機能解析、第 78 回日本植物学会、                  札幌、2013.9.13-15                  柿沼悠太、石川寿樹、長野稔、山口雅利、内宮博文、川合真紀、シロイヌナズナの                  脂肪酸伸長酵素の蒸散制御への寄与、第 2 6 回植物脂質シンポジウム、札幌                  9/15-16 (ポスター)                  長野稔、石川寿樹、藤原正幸、深尾陽一郎、川合真紀、島本功、スフィンゴ脂質 2-                  ヒドロキシ脂肪酸は膜ラフト形成を介してイネの耐病性を制御する、第 2 6 回植                  物脂質シンポジウム、札幌、9/15-16、 (ポスター)                  中曽根光、石川寿樹、内宮博文、川合真紀、Δ 8 スフィンゴ脂質不飽和化酵素の酵素                  活性に関わる領域の検索、第 2 6 回植物脂質シンポジウム、札幌 9/15-16、 (ポ                  スター)                  長野稔、中曽根光、内宮博文、川合真紀、シロイヌナズナの低温ストレス応答にお                  けるスフィンゴリピドーム解析、第 2 6 回植物脂質シンポジウム、札幌 9/15-16、                  宮城敦子、内宮博文、川合真紀、植物におけるシュウ酸蓄積機構のメタボローム解                  析、第 8 回メタボロームシンポジウム、福岡、2013.10.3                  石川寿樹、内宮博文、川合真紀、植物スフィンゴ脂質分子種の迅速同定法および一                  斉定量解析法の開発、第 8 回メタボロームシンポジウム、福岡、2013.10.3                  Miyagi, A., Uchimiya, H., Kawai-Yamada, M., Metabolome analysis of soluble                  oxalate accumulation in <i>Rumex obtusifolius</i> L. (<i>Polygonaceae</i>). <i>Plant Gene</i>  <i>Discovery &amp; “Omics” Technologies</i> , Vienna, Austria, 2014.2.17-18 (ポスター)                  Kawai-Yamada, M., Sato, Y., Uchimiya, H. Metabolomic improvement of</p>

様式19 別紙1

	<p>NAD(P)(H) biosynthesis in plants. Plant Gene Discovery &amp; “Omics” Technologies, Vienna, Austria, 2014.2.17-18 (ポスター)</p> <p>石川寿樹、内宮博文、川合真紀、ストレス誘導性細胞死制御に関する細胞膜マイクロドメインタンパク質、第55回日本植物生理学会、富山、2014.3.18-20</p> <p>長野稔、石川寿樹、藤原正幸、深尾陽一郎、川合真紀、島本功、膜ラフトはNADPH オキシダーゼの制御を介してイネ自然免疫機構に関する、第55回日本植物生理学会、富山、2014.3.18-20</p> <p>一般向け 計3件(国民との対話と同一)</p> <p>川合真紀、荒川河川敷における外来種の影響～DNA 解析による植物の特定をとおして～、高校生環境学習講座 (主催：埼玉県総合教育センター)、埼玉大学、2013. 7. 28-29</p> <p>川合真紀、遺伝子からひも解く植物の不思議、科学者の芽養成プログラム ステップ2 土曜ジュニアセミナー (主催：埼玉大学)、埼玉大学、2013. 9. 7</p> <p>川合真紀、植物の力 (主催：埼玉大学)、埼玉大学、2013. 11. 2</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 1件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 1 件</p> <p>特願 2013-023290、植物に含有されるシュウ酸量を低減させる方法、川合真紀、北野沙也佳、宮城敦子、大野豊、長谷澄宏、鳴海一成</p>
<p>Webページ (URL)</p>	
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>川合真紀、荒川河川敷における外来種の影響～DNA 解析による植物の特定をとおして～、高校生環境学習講座 (主催：埼玉県総合教育センター)、埼玉大学、2013. 7. 28-29、高校生約 15 人を対象として遺伝子の増幅と遺伝子組み換え技術に関する講演と実習をおこなった。</p> <p>川合真紀、遺伝子からひも解く植物の不思議、科学者の芽養成プログラム ステップ2 土曜ジュニアセミナー、埼玉大学、2013. 9. 7、小中学生と父兄約 50 名を対象として、近年のバイオテクノロジーのシンポについての講演をおこなった。</p> <p>川合真紀、植物の力、埼玉大学、2013. 11. 2、一般約 100 名、植物バイオマスや細胞壁の成り立ちや改変技術についての解説と、葉脈標本作りの指導をおこなった。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 1件</p>	<p>埼玉新聞 2013年6月5日 サイ・テクこらむ 「植物の能力を有効利用」</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

**様式19 別紙1**

さいたま市環境影響評価技術審議会委員  
生物多様性影響評価検討会・拡散防止措置確認会議委員  
埼玉県地球温暖化対策の検討に関する専門委員会委員

## 実施状況報告書(平成25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	104,000,000	80,500,000	23,500,000	0	0
間接経費	31,200,000	24,150,000	7,050,000	0	0
合計	135,200,000	104,650,000	30,550,000	0	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	10,092,131	23,500,000	0	33,592,131	33,592,131	0	0
間接経費	0	7,050,000	0	7,050,000	7,050,000	0	0
合計	10,092,131	30,550,000	0	40,642,131	40,642,131	0	0

## 3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	9,407,015	実験試薬、実験器具など
旅費	2,154,110	研究成果発表旅費(植物学会、植物生理学会)等
謝金・人件費等	20,129,169	博士研究員人件費、技術補佐員人件費等
その他	1,901,837	論文英文校正費、窒素発生装置修理等
直接経費計	33,592,131	
間接経費計	7,050,000	
合計	40,642,131	

## 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
光合成蒸散測定装置	ADC Bioscientific Lcpro-SD	1	3,940,000	3,940,000	2013/12/13	埼玉大学
AquaPen-C	日本環境計測 EM-AP-C 100	1	610,000	610,000	2013/12/10	埼玉大学
				0		