

課題番号	GS011
------	-------

**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	植物ホルモン・ジベレリンを利用した高バイオマス植物の作出
研究機関・ 部局・職名	名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・准教授
氏名	上口 美弥子(田中 美弥子)

1. 当該年度の研究目的

<p>(1) GA 生合成、分解酵素の改変</p> <p>1. 構造解析結果に基づいて、酵素の基質との結合を強化させるように酵素のアミノ酸に変異をさせたものをイネに導入し形質を評価する。評価結果が良ければ、この変異遺伝子を太棹、強棹イネに導入し、さらにバイオマスとしての評価を行う。</p> <p>(2)-I 成長抑制因子 DELLA 活性の抑制</p> <p>1. DELLA の活性が抑制(すなわち長棹化)、太棹、強棹性の遺伝子をピラミディングした F3集団を多数圃場に展開し、実際の高バイオマス作物としての利用性を検討、評価する。</p> <p>(2)-II GA により引き起こされる細胞分裂・伸長の解析</p> <p>1. 今まで得られたマイクロアレイ結果から、注目してきた遺伝子が GA を与えてから茎葉伸長するまでにどのような挙動をするのかを調べに対する GA シグナル伝達の全体像を俯瞰する。</p> <p>2. (1)-1 や (2)-I-1 で高バイオマス作物が得られた場合は、それらの中で GA シグナル伝達がどのように変化をしているかを調べるためマイクロアレイを行い、今まで調べてきた遺伝子群の挙動を調べる。</p>

2. 研究の実施状況

<p>(1) GA 生合成、代謝酵素の改変</p> <p>ジベレリン (GA)の代謝酵素である GA2 酸化酵素の結晶化に成功し、その活性に重要なアミノ酸を各アミノ酸の変異により同定した。結晶化の結果、GA2 酸化酵素は S-S 結合により 2 量体形成をしており、さらに、予想外に活性中心の GA 以外に各酵素の間に別な GA が挟み込まれており、全体として 4 量体構造をとっていることが明らかになった。現在その特徴的な構造の生物学的な意味を調べるとともに GA3 酸化酵素についても結晶化に成功した。また、形質転換体イネを作出し、バイオマスの評価を行っている。</p> <p>(2)-I 成長抑制因子 DELLA 活性の抑制</p> <p>DELLA の活性を様々に抑制した、イネをほ場に展開した。受容体の変異と DELLA タンパク質の変異をヘテロに持つ個体が最も高いバイオマス性を持っていた。一方で、それらと太棹で強棹性を持つイネとの多重変異体を作ったが、バイオマスの向上は認められなかった。</p> <p>(2)-II GA により引き起こされる細胞分裂・伸長の解析</p> <p>Y2H、Y1H で見いだされた、DELLA タンパク質と結合し、下流の遺伝子のプロモーターと結合す</p>

様式19 別紙1

る因子、IDD タンパク質は、介在因子として存在し、DELLA タンパク質がコアクティベーターとして機能するのに必須であることを明らかにした。さらに、形質転換植物により GA のフィードバック制御に関わっていることを示した。また、そのターゲットとして用いた、*SCL3* 遺伝子産物が IDD タンパク質を介在因子として働く GA フィードバック制御におけるコリプレッサーとして機能していることが解った。すなわち、IDD タンパク質を介在因子として、コアクティベーターである DELLA タンパク質とコリプレッサーである SCL3 が拮抗的に機能することによりフィードバック制御を可能としていることが明らかになった。以上の結果を論文としてまとめ、PNAS に掲載された。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 4 件</p>	<p>(掲載済み－査読有り) 計 3 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Sato T, Miyanoiri Y, Takeda M, Naoe Y, Mitani R, Hirano K, Takehara S, Kainosho M, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M, Kato H. Expression and purification of a GRAS domain of SLR1, the rice DELLA protein. (2014) <i>Protein Expr Purif.</i> 95 248-258. 2. Aya K, Hobo T, Sato-Izawa K, Ueguchi-Tanaka M, Kitano H, Matsuoka M. A Novel AP2-Type Transcription Factor, SMALL ORGAN SIZE1, Controls Organ Size Downstream of an Auxin Signaling Pathway. (2014) <i>Plant Cell Physiol.</i> 55 (5) 897-912. 3. Okuno A, Hirano K, Asano K, Takase W, Masuda R, Morinaka Y, Ueguchi-Tanaka M, Kitano H, Matsuoka M. New approach to increasing rice lodging resistance and biomass yield through the use of high gibberellin producing varieties. (2014) <i>PLoS One</i> 9 (2): doi: 10.1371. <p>(掲載済み－査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Yoshida H, Hirano K, Sato T, Mitsuda N, Nomoto M, Maeo K, Koketsu E, Mitani R, Kawamura M, Ishiguro S, Tada Y, Ohme-Takagi M, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M. DELLA protein functions as a transcriptional activator through the DNA binding of the INDETERMINATE DOMAIN family proteins. (2014) in Press.
<p>会議発表 計 6 件</p>	<p>専門家向け 計 6 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 佐藤友美、宮ノ入洋平、武田光広、三谷理恵、平野恒、竹原清日、野元美佳、多田安臣、甲斐荘正恒、松岡信、加藤博章、上口(田中)美弥子：ジベレリンシグナル伝達メカニズムに関するタンパク質の構造・機能解析. 第 31 回植物細胞分子生物学会. 2013. 9 (北海道大学) (ポスター発表) 2. 竹原清日、吉村巧、森中洋一、松岡信、上口(田中)美弥子：ジベレリン生合成酵素の機能解析及び構造解析の試み. 第 31 回植物細胞分子生物学会. 2013. 9 (北海道大学) (ポスター発表) 3. 吉田英樹、平野恒、佐藤友美、瀬瀬永里子、三谷理恵、川村真結子、光田展隆、

様式19 別紙1

	<p>高木優、野元美佳、多田安臣、<u>松岡信</u>、<u>上口（田中）美弥子</u>：DELLA タンパク質は zinc finger 型転写因子の仲介により転写活性化能を発揮する。第36回日本分子生物学会年会。2013.12(神戸) (ポスター発表)</p> <p>4. Sato. T., Miyanoiri. Y., Takeda. M., Mitani. R., Hirano. K., Kainosho. M., <u>Matsuoka. M.</u>, Kato. H., <u>Ueguchi-Tanaka, M.</u>：EXPRESSION AND PURIFICATION OF A GRAS DOMAIN OF RICE GRAS PROTEIN, SLR1, SUITABLE FOR STRUCTURAL ANALYSIS. Biophysical Society 58th Annual Meeting. 2014.2 (San Francisco, USA) (ポスター発表)</p> <p>5. 吉田英樹、平野恒、佐藤友美、光田展隆、野元美佳、前尾健一郎、瀨瀬永里子、三谷理恵、川村真結子、石黒澄衛、多田安臣、高木優、<u>松岡信</u>、<u>上口（田中）美弥子</u>：DELLAタンパク質はzinc finger 型転写因子の仲介により転写活性化能を発揮する。第55回日本植物生理学会年会。2014.3 (富山大学) (口頭発表)</p> <p>6. 竹原清日、三上文三、樫尾徹、<u>松岡信</u>、<u>上口（田中）美弥子</u>：ジベレリン生合成・代謝酵素のX線結晶構造解析。日本農芸化学会2014年度東京大会。2014.3 (明治大学) (口頭発表)</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>名古屋大学 生物機能開発利用研究センター 有用農業形質保存分野ホームページ http://bbc.agr.nagoya-u.ac.jp/~yuyo/</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>2014年3月に一般の方や高校生を対象とした、セミナーを行った。 「植物の生殖戦略と植物ホルモンのはなし」実施日：2014年3月21日 場所：名古屋大学 東山キャンパス 理学南館坂田・平田ホール、対象者：中学生以上の一般市民、参加人数：20人、内容：植物ホルモンが引き起こす生き残り戦略について</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計1件</p>	<p>なし</p>
<p>その他</p>	<p>なし</p>

4. その他特記事項

特になし。

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ず

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	137,000,000	101,680,000	35,320,000	0	0
間接経費	41,100,000	30,504,000	10,596,000	0	0
合計	178,100,000	132,184,000	45,916,000	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	0	35,320,000	0	35,320,000	35,320,000	0	0
間接経費	0	10,596,000	0	10,596,000	10,596,000	0	0
合計	0	45,916,000	0	45,916,000	45,916,000	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	10,431,787	マルチモードプレートリーダー、実験試薬等
旅費	1,551,760	研究成果発表旅費(アメリカ)等
謝金・人件費等	18,319,538	研究員・技術補佐員人件費
その他	5,016,915	機器修理、人材派遣等
直接経費計	35,320,000	
間接経費計	10,596,000	
合計	45,916,000	

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
マルチモードプレ ートリーダー	EnSpire	1	4,725,000	4,725,000	2013/9/13	名古屋大学