

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) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されません

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. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	137,000,000	137,000,000	0	137,000,000	137,000,000	0	0
間接経費	41,100,000	41,100,000	0	41,100,000	41,100,000	0	0
合計	178,100,000	178,100,000	0	178,100,000	178,100,000	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	459,585	33,839,510	12,630,541	10,431,787	57,361,423
旅費	0	1,165,810	663,217	1,551,760	3,380,787
謝金・人件費等	0	20,942,907	20,416,547	18,319,538	59,678,992
その他	525	9,951,663	1,609,695	5,016,915	16,578,798
直接経費計	460,110	65,899,890	35,320,000	35,320,000	137,000,000
間接経費計	0	19,908,000	10,596,000	10,596,000	41,100,000
合計	460,110	85,807,890	45,916,000	45,916,000	178,100,000

4. 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
超高感度等温滴定型カロリーメーター	iTC200	1	13,860,000	13,860,000	2011/6/28	名古屋大学
細胞破碎装置	TSシリーズ 0.75KW 40Kpsi	1	4,725,000	4,725,000	2011/8/4	名古屋大学
低温バスサーキュレーター	AC150-A25	1	592,200	592,200	2011/8/4	名古屋大学
窒素ガス発生装置	AT-5NP-CS	1	747,600	747,600	2012/1/30	名古屋大学
高速液体クロマトグラフ	1260Infinity DAD/ELSD	1	7,808,220	7,808,220	2012/1/31	名古屋大学
多本架冷却遠心機	CF9RX	1	1,260,000	1,260,000	2012/6/8	名古屋大学
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

5. 研究成果の概要

(1) ジベレリン (GA) の代謝酵素の構造を解明／補酵素である2OGとGAが反応する機構が明かとなり、GAや阻害剤に対する反応性を変化させることが可能となった。このことにより高バイオマスイネや植物調節物質の開発が期待される。

(2) GAを育種的に利用／GA受容体の変異とDELLAの変異をヘテロに持つ2重変異体イネは、多分げつと高い背丈により最大地上乾物量(高バイオマス性)を示した。

(3) DELLAタンパク質の機能を解明／GAのシグナル伝達因子DELLAは、IDDと結合してSCL3を始めとするGA促進因子の転写を正に制御することによってGAのフィードバック制御を担っていることを明かにした。

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) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	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
	New strategy for producing "high biomass plants" by increasing gibberellin content or sensitivity
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・准教授
	Nagoya University, Bioscience and Biotechnology Center, Associate Professor
氏名 (下段英語表記)	上口 美弥子(田中 美弥子)
	Miyako Ueguchi-Tanaka

研究成果の概要

(和文):

従来の育種は、ジベレリン量や反応性を下げるにより子実収量の増大を図ったが、本研究では、それらを増大させ高バイオマス植物を作るという逆方向性の育種を目指した。そのために、ジベレリンの代謝および生合成酵素の X 線結晶構造解析による分子構造的な理解や、シグナル伝達メカニズムの理解を進めるとともに、それらを増大させた作物を作出した。これらの結果は、植物ホルモン、ジベレリンの合成量やシグナル伝達の制御によりバイオマスを増大させることが可能であることを示した。

(英文):

Our objective is to create "high biomass rice" with tall stature, using the plant hormone, gibberellin (GA). For this purpose, we crystallized GA metabolic and biosynthetic enzymes from rice, such as GA 2- and 3-oxidases and succeeded in their X-ray structure analyses, which will provide a useful knowledge for engineering these enzymes. Furthermore, we succeeded in understanding a new molecular mechanism for GA feedback regulation, in which DELLA protein, a known repressor in GA signaling, also acts as a co-activator and up-regulates GA feedback-related genes with the aid of the IDD family of proteins that

facilitate its binding to DNA. Finally, we determined the biomass contents of rice plants (F2 generation) showing various levels of GA signaling by crossing the weak allele of a GA receptor heterozygous mutant, *gid1-8*, with the weak allele of a rice DELLA heterozygous mutant, *slr1*. This revealed that maximum biomass contents can be achieved by using rice plants heterozygous for both mutations. these findings will uncover that GA is a very useful tool for creating "high biomass rice".

1. 執行金額 178,100,000 円
(うち、直接経費 137,000,000 円、 間接経費 41,100,000 円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

3. 研究目的

ジベレリンの生合成の増加や反応性を鋭敏にさせるとともに、巨大で耐倒伏性にも優れた高バイオマスイネの作出を目指す。さらに、イネで得られた成果を他の植物にも応用する。

4. 研究計画・方法

- (1) ジベレリン代謝酵素および生合成酵素を大量調製、結晶化し、X線構造解析により構造決定する。酵素活性に重要なアミノ酸を変異させたりコンビナント酵素ならびに形質転換イネを作出する。
- (2) ジベレリンシグナル伝達因子の2つの鍵因子、GA受容体遺伝子 *GID1* と抑制因子遺伝子 *SLR1*(イネ *DELLA* 遺伝子)に対して様々に変異を持つイネのバイオマス性を調べる。
- (3) *DELLA* 因子と結合し、ジベレリンのターゲット遺伝子のプロモーター領域とも結合できる因子を酵母ワンハイブリッド及び、酵母ツーハイブリッドにより探索し、探索した因子の機能解析を行う。

5. 研究成果・波及効果

(1) ジベレリン代謝酵素の構造を解明

イネ GA 代謝酵素 GA2OX3 の結晶化に初めて成功し、X線結晶構造解析結果が得られた。これにより、構造に基づいたジベレリンの合成、代謝量の調節によるバイオマス増産への基礎的基盤を確立した(図1)。

(2) ジベレリンを育種的に利用—高バイオマスイネの作出に成功

ジベレリン受容体の変異と *DELLA* の変異をヘテロに持つ2重変異体イネは、多分げつ性と高い背丈を示し、ジベレリンを利用した高バイオマスイネ作出に成功した(図2)。

(3) *DELLA* タンパク質の機能を解明

DELTAとDNAとの結合を仲介する新たな因子(IDD 転写因子)を同定し、DELTAが転写活性化因子として機能することを初めて明らかにした。また、転写される遺伝子の一つ SCL3は、抑制因子として機能し、DELTA、IDD、SCL3 の3つの因子が、転写活性、転写抑制としての役割を切り替えて、ジベレリンのフィードバック制御を行っていることが分かった(図3)。

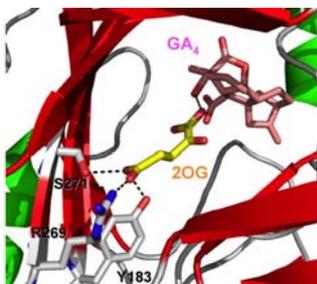


図 1 ジベレリン代謝酵素 (GA20X3)の活性中心付近の構造

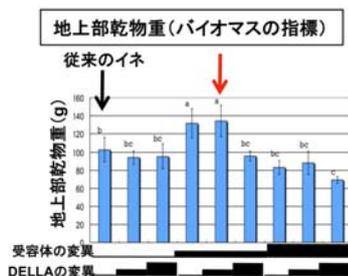


図 2 ジベレリン受容体の変異と DELTA の変異を遺伝的に様々に持つ変異体の地上部乾物重

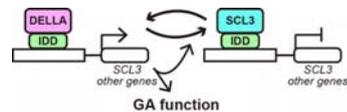


図 3 DELTA, SCL3, IDDによるジベレリンのフィードバック調節メカニズム

6. 研究発表等

雑誌 論文 計 7 件	<ol style="list-style-type: none"> 1. Aya K, Hiwatashi Y, Kojima M, Sakakibara H, Ueguchi-Tanaka M, Hasebe M, Matsuoka M. (2011) The Gibberellin perception system evolved to regulate a pre-existing GAMYB-mediated system during land plant evolution. <i>Nat Communications</i> Nov 22; 2:544. doi: 10.1038. 2. Hirano, K., Kouketu, E., Katoh, H. Aya, K., Ueguchi-Tanaka, M., Matsuoka, M. (2012) The suppressive function of the rice DELLA protein SLR1 is dependent on its transcriptional activation activity. <i>the Plant Journal</i>, 71, 443-453. 3. Hirano K, Aya K, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M. Molecular determinants that convert hormone sensitive lipase into gibberellin receptor. (2012) <i>Protein & Peptide Letters</i>, 19, 180-185. 4. 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 Expression and Purification</i>, 95, 248-258. 5. 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 Physiology</i>, 55, 897-912. 6. 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, doi: 10.1371. <p>(掲載済み—査読有り) 計 6 件</p> <p>(掲載済み—査読無し) 計 0 件</p> <p>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) <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i>, 111, 7861-7866.</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p>
--------------------------	---

<p>会議 発表</p> <p>計 12 件</p>	<p>専門家向け 計12件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 吉田英樹、平野恒、安益公一郎、上口（田中）美弥子、松岡信：イネの DELLA タンパク質 SLR1 は転写活性化因子として機能することにより GA 反応を抑制する。第 53 回日本植物生理学会年会、平成 24 年 3 月、京都（口頭） 2. 平井貴章、岩見将和、平野恒、加藤弘恵、川村真結子、三谷理恵、北野英己、松岡信、上口（田中）美弥子：ジベレリン受容体変異体 <i>gid1</i> の形質が復帰した <i>Sgd-2</i> の解析。第 53 回日本植物生理学会年会、平成 24 年 3 月、京都（口頭） 3. 三谷理恵、川村真結子、福村拓真、竹原清日、松岡信、上口（田中）美弥子：ジベレリン (GA) 核内受容体 GID1 の機能解析 (3)。第 53 回日本植物生理学会年会、平成 24 年 3 月、京都（口頭） 4. 竹原清日、森中洋一、加藤博章、松岡信、上口(田中)美弥子:ジベレリン生合成酵素の構造解析への試み。日本農芸学会 2013 年度大会、平成 25 年 3 月、仙台 5. 田中純夢、竹原清日、瀬瀬永里子、長谷川香織、Park Seung-Hyun、中嶋正敏、五十嵐香理、矢野健太郎、安益公一郎、上口(田中)美弥子、松岡信:カニクサ造精器誘導の解析。第 54 回日本植物生理学会年会、平成 25 年 3 月、岡山 6. 林誠人、安益公一郎、保浦徳昇、奥野綾子、上口(田中)美弥子、北野英己、松岡信:太極形質に関わる TSC1 と TSC2 遺伝子の機能解析。第 54 回日本植物生理学会年会、平成 25 年 3 月、岡山 7. 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、<u>上口（田中）美弥子</u>：ジベレリン シグナル伝達メカニズムに關与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） 8. 竹原清日、吉村巧、森中洋一、<u>松岡信、上口（田中）美弥子</u>：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） 9. 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、高木優、野元美佳、多田安臣、<u>松岡信、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發揮する。第 36 回日本分子生物学会年会。2013. 12(神戸) (ポスター発表) 10. Sato. T., Miyanoiri. Y., Takeda. M., Mitani. R., Hirano. K., Kainosho. M., <u>Matsuoka. M., Kato. H., 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) 11. 吉田英樹、平野恒、佐藤友美、光田展隆、野元美佳、前尾健一郎、瀬瀬永里子、三谷理恵、川村真結子、石黒澄衛、多田安臣、高木優、<u>松岡信、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發揮する。第55回日本植物生理学会年会。2014. 3（富山大学）（口頭発表）
------------------------------------	--

	<p>12. 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>
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>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 HP http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~yuyo/</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<ol style="list-style-type: none"> 平成24年3月23日、「植物ホルモンで新しいイネを作るはなし」(オープンレクチャー)、場所:名古屋大学生物機能開発利用研究センターセミナー室、対象者:高校生、一般、内容:本研究やジベレリンシグナル伝達に関して関心をもっていただく。 平成24年6月名大祭にてオープンレクチャー、「ジベレリンシグナル伝達について」、場所:名古屋大学名大祭ブースにて、対象者:一般、参加者15人、内容:本研究や、ジベレリンシグナル伝達に関して関心を持っていただく。 平成26年3月21日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」、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
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	なし
その他	<p>PNAS 掲載後、名古屋大学のハイライト論文に論文内容が紹介された (http://www.aip.nagoya-u.ac.jp/public/nu_research_ja/highlights/detail/0001482.html)。</p>

7. その他特記事項

なし