課題番号 GS002

# 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	植物根の水分屈性発現機構の解明とその利用による植物成長制御の革新
研究機関· 部局·職名	東北大学·大学院生命科学研究科·助教
氏名	宮沢 豊

### 1. 当該年度の研究目的

本研究は、申請者らにより発見された水分屈性制御分子と水分環境に応答したオルガネラ動態変化の分子機構の解明から「水分環境を感じ根の形態が動的変化をする仕組み」を理解し、グリーンイノベーションに資する技術基盤を提供するものである。そのために、当該年度は水分屈性制御分子であり、新規なタンパク質である MIZ1 の水分屈性における機能を同定することを目的として研究を進める。具体的には、MIZ1 について、その細胞内局在を前年度樹立した MIZ1 と GFP が融合したタンパク質を発現するシロイヌナズナを用いて解析する。さらに、MIZ1 と GFP の融合タンパク質を発現する個体よりタンパク質を抽出し、免疫沈降法を用いて MIZ1 と結合するタンパク質の単離を行う。同時に、miz1 突然変異を抑圧する突然変異のスクリーニングを行う。また、MIZ1 過剰発現体を作出し、その表現型を解析することにより、MIZ1 の水分屈性、根の成長制御に関する機能を明らかにする。

#### 2. 研究の実施状況

前年度に樹立した MIZ1-GFP 融合タンパク質発現系統を用いて、MIZ1 が根の分裂域と伸長域の境界付近の皮層細胞および側方の根端細胞で強く発現し、根端コルメラ細胞でも発現することを明らかにした。 MIZ1 の細胞内局在は、予測プログラム上では色素体とされていたものの、実際は細胞質および小胞体に局在していることが明らかになった。さらに変異体型 miz1 タンパク質を GFP でラベルした融合タンパク質を発現する系統も作出し、ミスセンスの miz1 変異によって、タンパク質が消失することを見いだした(Yamazaki et al. 2012)。さらに、MIZ1-GFP 融合タンパク質発現系統より抽出したタンパク質を用いて免疫沈降を行い、結合タンパクを同定する実験系を確立し、質量分析によるタンパク質同定を開始した。さらに、MIZ1 の機能を明らかにする目的で、MIZ1を過剰発現する植物体を作出し、それらの解析を行った。その結果、MIZ1 の過剰発現は主根の水分屈性を促進しただけでなく、側根の形成を抑制した。また、この側根形成の抑制はオーキシンの投与により回復し、根のオーキシン量が野生型と比べ miz1突然変異体で増加し MIZ1 過剰発現体で低下していることを明らかにした。これらのことから MIZ1 が根のオーキシン量を負に調節する分子であることを示した(Moriwaki et al. 2011)。 MIZ1 の過剰発現が側根形成にも関与したことから、側根の水分屈性能の MIZ1 による制御についても解析した。その結果、側根も主根と同様に水分屈性を示すこと、miz1 変異体の側根は水分屈性を示さなかったことから、MIZ1 が側根の水分屈性において必須であることを明らかにした(Iwata et al. 2012)。

#### 3. 研究発表等

# 雑誌論文 (掲載済みー査読有り) 計5件 1. Moriwaki, T., Miyazawa, Y., Kobayashi, A., Uchida, M., Watanabe, C., Fujii, N. and Takahashi, H. (2011) 計5件 Hormonal regulation of lateral root development in Arabidopsis modulated by MIZ1 and requirement of GNOM activity for MIZ1 function. Plant Physiology, 157: 1209-1220, ISSN: 0032-0889, http://www.plantphysiol.org/content/157/3/1209.full 2. Kato, F., Araki, M., Miyazawa, Y., Fujii, N., Takeda, K., Suge, H. and Takahashi, H. (2011) Factors responsible for deep-sowing tolerance in wheat seedlings: varietal differences in cell proliferation and the co-ordinated synchronization of epidermal cell expansion and cortical cell division for the gibberellin-mediated elongation of first internodes. Annals of Botany, 108: 439-447, ISSN: 0305-7364: http://aob.oxfordjournals.org/content/108/3/439.full 3. Iwata, S., Miyazawa, Y. and Takahashi, H. (2012) MIZU-KUSSEI1 plays an essential role in the hydrotropism of lateral roots in Arabidopsis thaliana. Environmental and Experimental Botany, 75: 167-172, ISSN: 0098-8472. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098847211002097 4. Watanabe, C., Fujii, N., Yanai, K., Hotta, T., Kim, D-H., Kamada, M., Sasagawa-Saito, Y., Nishimura, T., Koshiba, T., Miyazawa, Y., Kim, K-H. and Takahashi, T. (2012) Gravistimulation changes the accumulation pattern of the CsPIN1 auxin efflux facilitator in the endodermis of the transition zone in cucumber seedlings. Plant Physiology, 158: 239-251, ISSN: 0032-0889 5. Yamazaki, Y., Miyazawa, Y., Kobayashi, A., Moriwaki, T., Fujii, N., Takahashi, H. (2012) MIZ1, an essential protein for root hydrotropism, is associated with the cytoplasmic face of the endoplasmic reticulum membrane in Arabidopsis root cells. FEBS Letters, 586: 398-402, ISSN: 0014-5793, (掲載済みー査読無し) 計0件 (未掲載) 計0件 会議発表 専門家向け 計10件 1, Yutaka Miyazawa, Teppei Moriwaki, Mayumi Uchida, Akie Kobayashi, Nobuharu Fujii, Hideyuki Takahashi. 計11件 "Analysis of overexpressor of MIZU-KUSSEI1, a gene required for root hydrotropism of Arabidopsis thaliana', XVIII International Botanical Congress, Melbourne, July 23 – 30 2, Tomokazu Yamazaki, Akie Kobayashi, Yutaka Miyazawa, Hideyuki Takahashi, "MIZ1, a soluble protein essential for root hydrotropism, is associated with surface of endoplasmic reticulum membrane in Arabidopsis root cells", Plant Biology 2011, Minneapolis, August 6 - 10 (American Society of Plant Biologists) 3, Satoru Iwata, Yutaka Miyazawa, Hideyuki Takahashi, "Hydrotropism in lateral roots and its possible contribution to drought avoidance in Arabidopsis thaliana", Plant Biology 2011, Minneapolis, August 6 - 10 (American Society of Plant Biologists) 4, Yutaka Miyazawa, "Molecular mechanism of hydrotropism in Arabidopsis roots and its interaction with other environmental stimuli", The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing, March 19 - 21

5, 岩田 悟、宮沢 豊、高橋秀幸、「シロイヌナズナの根系形成に対する水分屈性の寄与」日本植物学会第75

様式19 別紙1 回大会(東京)9月17日~9月19日(日本植物学会) 6, 冨田 優太、宮沢 豊、山﨑 誠和、阿部 清美、藤井 伸治、高橋 秀幸、「高速フーリエ変換を用いたイネ 子葉鞘における回旋転頭運動の重力応答依存性の解析」日本植物学会第75回大会(東京)9月17日~ 9月19日(日本植物学会) 7. 森脇哲平、岩田悟、渡辺千秋、内田真弓、小林啓恵、宮沢豊、藤井伸治、高橋秀幸、「オーキシン量の低 下はシロイヌナズナ根の水分屈性能を向上させる」、日本植物学会第75回大会(東京)9月17日~9月 19日(日本植物学会) 8, 森脇哲平、小林啓恵、宮沢豊、藤井伸治、高橋 秀幸、「光と ABA シグナルは MIZ1 の発現調節を介して水 分屈性を制御する」、東北植物学会第1回大会(岩手)12月17日~12月18日(東北植物学会) 9. 奈良敬孝、森脇哲平、山崎誠和、宮沢豊、高橋秀幸、「マメ科植物における水分屈性発現機構の解析」東 北植物学会第1回大会(岩手)12月17日~12月18日(東北植物学会) 10, 森脇哲平, 宮沢豊, 藤井伸治, 高橋秀幸、「光による水分屈性発現調節機構の解析」、第 53 回日本植物 生理学会年会(京都)3月16日~3月18日(日本植物生理学会) 一般向け 計1件 1, 宮沢豊、「根が水を求めて「動く」仕組みを探る -グリーン・イノベーションへ向けた挑戦-」、市 民公開シンポジウム「生命の形をみちびく道しるべ」、(東京)、6月4日(東北大学大学院生命 科学研究科) 図書 計O件 産業財産権 (取得済み)計0件 出願·取得状 (出願中) 計O件 計O件 Webページ (URL) 該当なし 国民との科 1、市民公開シンポジウム 学·技術対話 標題:「根が水を求めて「動く」仕組みを探る -グリーン・イノベーションへ向けた挑戦-」 の実施状況 実施日:6月4日 場所:日経・大手町セミナールーム2(東京都千代田区) 対象者:一般 参加者数:約30名 内容:植物根の水分屈性の研究成果とそれを利用した植物成長制御への取り組み 2、出前授業 標題:「植物のからだ作りと環境」 実施日:6月28日 場所:仙台市立七北田小学校(宮城県仙台市)

対象者:小学5年生

## 様式19 別紙1

参加者数:約100名 内容:植物が周囲の環境情報を感受し、自身の形態を変える仕組みについての授業 3、学都「仙台・宮城」サイエンス・デイ 標題:「動物も植物も細胞と分子でできている - 生きているを観てみよう!」(「植物の形と動きを観察しよ う」を出展) 実施日:7月10日 場所:東北大学川内キャンパス(宮城県仙台市) 対象者:小5~中学生 参加者数:約100名(イベント全体1,800名)、 内容:植物の屈性発現に関する講演と傾性に関する体験学習 4、出前授業·実習 標題:「及位中学校交流学習」 実施日:8月9日-11日 場所:真室川町立及位中学校(山形県真室川町) 対象者:中学3年生 参加者数:約20名 内容:植物の成長におけるオーキシンの役割についての講義と実験、植物ゲノムに関する講義と実験 新聞·一般雑 誌等掲載 該当なし 計O件 その他 該当なし

### 4. その他特記事項

学都「仙台・宮城」サイエンス・デイ出展に関して、知的好奇心がもたらす心豊かな社会の想像に資すると評価され、仙台市教育委員会より「子ども未来賞」を授与された。

課題番号 GS002

## 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) 丰 马	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	129,000,000	58,200,000	0	70,800,000	0
間接経費	38,700,000	17,460,000	0	21,240,000	0
合計	167,700,000	75,660,000	0	92,040,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

			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(=④一⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	57,617,463	0	0	57,617,463	57,617,463	0	0
間接経費	17,355,000	0	0	17,355,000	17,355,000	0	0
合計	74,972,463	0	0	74,972,463	74,972,463	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

		金額	備考
物品費 旅費		50,231,623	超遠心分離機、水分屈性細胞解析システム(顕微鏡)等
		569,910	研究成果発表旅費(東京、盛岡、京都、奈良)等
	謝金・人件費等	6,774,137	博士研究員、技術補佐員人件費
	その他	41,793	レーザー細胞破壊装置使用料
直接	接経費計	57,617,463	
間接経費計		17,355,000	
合計		74,972,463	

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)

<u> </u>								
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		
	ベックマンコールター社 Optima MAX-XP	1	7,848,750	7,848,750	2011/7/14	東北大学		
デジタルマイクロス コープ	VHX-1000	1	6,979,140	6,979,140	2011/9/28	東北大学		
クロマトチャンバー	日本フリーザー 社	1	804,300	804,300	2011/10/17	東北大学		
水分屈性細胞解析システム	オリンパスメディ カルサイエンス	1	31,783,500	31,783,500	2012/3/22	東北大学		