

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. リコンビナントのタンパク質の発現条件を検討し、単分散で結晶性のよいタンパク質を多量に得る条件を探索する。</p> <p>(2) -I 成長抑制因子 DELLA 活性の抑制</p> <p>1. DELLA 活性が適度に抑制されたイネと太棹、強棹型イネの F1 個体を展開し、F2 個体を得る。</p> <p>2. この時点で、DELLA の構造解析が成功していた場合には、構造から類推して DELLA 活性を最適に抑制するためのアミノ酸置換を行い、それらの変異 DELLA を発現させたイネを作出、表現型の評価を行う。</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. 22年度(2)-2-1で注目した遺伝子のプロモーター領域に DELLA が結合するかを CHIP アッセイ等で検証し、結合するシス配列を特定。シス配列の <i>in vivo</i>における機能をプロモーターGUS で証明。</p> <p>2. DELLAはコアクティベーターと考えられるので、DELLAと一緒に結合する別な DNA 結合因子があると考えられる。これを1で決定したシス配列をもとに Y1H を行い、タンパク質を同定する。</p>

2. 研究の実施状況

<p>(1) GA 生合成、分解酵素およびジベレリンシグナル因子の改変</p> <p>1. GA 生合成酵素 GA3 oxidase 及び分解酵素 GA2 oxidase については、イネのファミリー内のほぼすべての遺伝子についてクローニングを完了し、大腸菌を利用した発現系を構築・基質や阻害剤を加える事で結晶化に十分量のサンプルを得ることに成功した。現在、結晶化の初期条件を探索中である。</p> <p>2. ジベレリン受容体 GID1 の NMR による構造解析について新たに着手し、約 2 割程度の帰属を完了した。本解析により、リガンドとの結合を動的に理解しバイオマス向上のための受容体改変に応用できることが期待される。</p> <p>(2) -I 成長抑制因子 DELLA 活性の抑制</p> <p>1. DELLA 活性が適度に抑制されたイネと太棹、強棹型イネの F1 個体を展開し、F2 種子を得た。</p> <p>2. DELLA たんぱく質 (GRAS ドメイン) の X 線構造解析を行い、微結晶を得た。高解像度ではないが、X 線回折像が得られたため、さらに結晶化条件の検討を行う予定である。</p> <p>3. DELLA たんぱく質内の GRAS ドメインの変異による伸長促進型 <i>S/r</i> 変異体 (<i>S/rA288V</i>) と GID1 受容体が部分的に壊れた <i>gid1-8</i> 変異体を掛け合わせ、それぞれの変異をホモ、ヘテロ、野生型で持つ変異体イネを作出した。これにより、ジベレリンシグナル伝達が様々な程度のイネのバイオマスへの効果の評価が可能となった。</p> <p>4. ノナボクラは、インド稲の1つでありバイオマス性が高いが日本の気候では花をつけることができない。そこで、バイオマス性の優れたノナボクラとジベレリンシグナル伝達抑制型 <i>S/rd2</i> 変異体を掛け合わせ、高バイオマス性に優れ日本でも栽培可能なイネの作出を新たに計画した。23年度は、F4 世代を用いて形質調査を行った。平成24年度は、良好な形質を示したものについてさらに詳しい形質を調査する予定である。</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>転写因子ライブラリーより DELLA たんぱく質に特異的に結合する因子を見だし、それらがジベレリンシグナルの下流で働く遺伝子のプロモーター領域に結合することを証明した。</p>

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 2 件</p>	<p>1. 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. Plant J. Mar 19. doi: 10.1111. 2. Hirano K, Aya K, Matsuoka M, Ueguchi-Tanaka M. Molecular determinants that convert hormone sensitive lipase into gibberellin receptor. Protein Pept Lett. 19, 180-185 (2012).</p> <p>(掲載済み－査読有り) 計 2 件 (掲載済み－査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 3 件</p>	<p>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（ポスター発表） 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（ポスター発表） 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（ポスター発表）</p> <p>専門家向け 計 3 件 一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 0 件</p>	<p>該当なし</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>現在取り組んでいる研究について(メンバー紹介内) 有用農業形質保存分野 HP http://www.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>平成24年3月23日 「植物ホルモンの新しいイネを作るはなし」という授業名のオープンレクチャーを行った。 対象:一般</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計 0 件</p>	<p>該当なし</p>
<p>その他</p>	<p>該当なし</p>

4. その他特記事項

なし

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	66,360,000	0	70,640,000	0
間接経費	41,100,000	19,908,000	0	21,192,000	0
合計	178,100,000	86,268,000	0	91,832,000	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	65,899,890	0	0	65,899,890	65,899,890	0	0
間接経費	19,908,000	0	0	19,908,000	19,908,000	0	0
合計	85,807,890	0	0	85,807,890	85,807,890	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	33,839,510	超高感度等温滴定型カロリメーター、実験試薬等
旅費	1,165,810	研究成果発表旅費(京都産業大学)等
謝金・人件費等	20,942,907	博士研究員人件費、技術補佐員人件費
その他	9,951,663	次世代シーケンス解析料等
直接経費計	65,899,890	
間接経費計	19,908,000	
合計	85,807,890	

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
超高感度等温滴 定型カロリメーター	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
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