

課題番号	GS001
------	-------

**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 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	植物におけるミネラル輸送体の蓄積/偏在メカニズムの解明と利用による作物生産性の向上
研究機関・部局・職名	北海道大学・大学院農学研究院・助教
氏名	高野 順平

1. 当該年度の研究目的

本研究では、シロイヌナズナをモデルとして用い植物細胞膜におけるミネラル輸送体の蓄積と偏在の制御機構を理解し、植物のミネラル吸収・移行を適切にコントロールする技術の開発を目指す。本年度は、<1, 植物細胞において必須栄養素の一つであるホウ素の濃度が認識され、小胞輸送系を介してホウ素輸送体 BOR1 の蓄積量が適切に調節されるメカニズム>と、<2, ホウ素輸送体 BOR1 および NIP5;1 が細胞膜において内より(根の中心方向)および外より(遠心方向)に偏在するメカニズム>の二点の解明を主目的とした。さらには、ホウ素以外のミネラル輸送体の局在機構の解明にも着手した。

2. 研究の実施状況

ホウ素トランスポーターBOR1 が高濃度のホウ素に応答して分解されるメカニズムを理解するため、BOR1 の分解が起こらない変異株をスクリーニングの結果、複数取得した。そのうち一つについては、次世代シーケンサーを用いて責任遺伝子をほぼ同定した。また本スクリーニングの予期せぬ成果として、BOR1 の分解を制御する BOR1 内部のアミノ酸を複数同定した。今後の解析により、ホウ素センシングのメカニズム解明が期待できる。

ミネラル輸送体が細胞膜上で偏在するメカニズムを理解するため、NIP5;1 の細胞膜における偏在に異常を持つ複数の変異株を獲得した。これらについてマッピングと次世代シーケンサーによる解析を進めたところ、NIP5;1 が細胞内の凝集構造に蓄積する変異株について責任遺伝子を同定できた。責任遺伝子は D-ガラクトース合成に必要な遺伝子であり、続く解析により、細胞壁だけでなく細胞内膜系の維持に D-ガラクトースが必要なことを示唆した。NIP5;1 が小胞体や液胞膜に局在する変異株についても、責任遺伝子の同定を進めている。BOR1 についても偏在に異常をもつ変異株のスクリーニングを開始した。

NIP5;1 の偏在性に必要なペプチド領域を近縁の NIP タンパク質との比較の結果同定した。さらに、この領域は細胞膜上で偏在しない NIP タンパク質の対応する領域と取り替えると、偏在性を付与できることを示した。これにより、輸送体の偏在性を人為的に制御する道が開けた。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 1 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 0 件 (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 1 件 Differential expression of three BOR1 genes corresponding to different genomes in response to boron conditions in hexaploid wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) Leangthitikanchana S, Fujibe T, Tanaka M, Wang S, Sotta N, Takano J, Fujiwara T Plant and Cell Physiology 2013; doi: 10.1093/pcp/pct059</p>
<p>会議発表 計 19 件</p>	<p>専門家向け 計 19 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 和久田真司、内藤哲、高野順平 ホウ素依存的なホウ素トランスポーターBOR1 の分解を解明するための高速スクリーニング系の確立 (ポスター発表)</li> <li>2. 高田茂樹、内藤哲、高野順平 ホウ酸トランスポーターAtBOR3 は低ホウ素条件で root/shoot 比を制御する (口頭発表)</li> <li>3. 吉成晃、内藤哲、高野順平 ホウ酸輸送体 AtBOR1 の分解/偏在を制御する因子の探索(ポスター発表)</li> <li>4. 天野太郎、内藤哲、高野順平 シロイヌナズナ培養細胞を用いたホウ酸輸送体 BOR1 の局在/分解の観察系確立(ポスター発表)</li> <li>5. 上原匡貴、内藤哲、高野順平 シロイヌナズナのホウ酸チャンネル NIP5;1 の局在に異常を持つ変異体の解析(ポスター発表)</li> <li>6. 汪社亮、内藤哲、高野順平 The N-terminal region is required for polar localization of a plasma membrane boric acid channel NIP5; 1(ポスター発表)</li> </ol> <p>上記6件、新学術領域研究「植物環境突破力」第三回若手の会 札幌 2012年7月24-27日</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>7. 高野順平 ホウ素センシングとホウ酸トランスポーターの細胞内輸送 植物細胞生物学若手の会 北海道大学(主催)2012年8月23,24日(口頭発表)</li> <li>8. 和久田真司、内藤哲、高野順平 BOR1 trafficking 解明のためのスクリーニング系の開発(ポスター発表)</li> <li>9. 天野太郎、内藤哲、高野順平 シロイヌナズナ培養細胞を用いたホウ酸輸送体 BOR1 の局在/分解の観察系確立(ポスター発表)</li> <li>10. 上原匡貴、神谷岳洋、重信秀治、藤原徹、内藤哲、高野順平 シロイヌナズナホウ酸チャンネル NIP5;1 の細胞内局在・偏在機構の解明(口頭発表)</li> <li>11. 高田茂樹、三輪京子、藤原徹、内藤哲、高野順平 ホウ酸トランスポーターのアクチベーションによるホウ素欠乏耐性シロイヌナズナの作出 (ポスター発表)</li> </ol> <p>上記4件、日本土壌肥料学会 鳥取大学 2012年9月3-6日</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>12. 和久田真司、内藤哲、高野順平 ホウ素センサー候補遺伝子群の逆遺伝学的解析(口頭発表)</li> <li>13. 吉成晃、内藤哲、高野順平 Identification of novel regulators of intracellular trafficking of AtBOR1(口頭発表)</li> <li>14. 天野太郎、内藤哲、高野順平 シロイヌナズナ培養細胞を用いたホウ酸輸送体 BOR1 の局在/分解の観察系確立(口頭発表)</li> <li>15. 上原匡貴、内藤哲、高野順平 シロイヌナズナのホウ酸チャンネル NIP5;1 の細胞内局在に異常を持つ変異株の解析(口頭発表)</li> <li>16. 汪社亮、内藤哲、高野順平 Identification of an amino acid region required for polar localization of a plasma membrane boric acid channel NIP5;1(口頭発表)</li> </ol> <p>上記5件、第一回エンドメンブレンミーティング 東京大学 2012年9月24,25日</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>17. 小笠原希実、坂本直哉、伊藤利章、坂本尚義、内藤哲、高野順平 同位体顕微鏡システムを用いたシロイヌナズナ組織中のホウ素の直接可視化手法の確立 (ポスター発表)</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>植物生理学会 岡山大学 2013年3月21-23日</p> <p>18. Uehara M, Kamiya T, Shigenobu S, Yamaguchi K, Fujiwara T, Naito S, <u>Takano J</u> Arabidopsis mutants with altered intracellular localization of a plasma membrane boric acid channel (口頭発表)</p> <p>19. Yoshinari A, Beck M, Zhou J, Robatzek S, Naito S, Takano J, Forward genetics to identify novel factors of boron-sensing and endocytosis of AtBOR1 (ポスター発表)</p> <p>上記2件 16th International Workshop on Plant Membrane Biology, Kurashiki 2013年3月26-31日 (Organizing Committeesの一員として開催)</p> <p>一般向け 計0件</p>
図書 計1件	<p>Satoshi Naito, Hitoshi Onouchi, Junpei Takano Studies using Arabidopsis, a Toolbox to Know the Unknowns. (2012) in Agricultural Sciences for Human Sustainability, Graduate School of Agriculture, Hokkaido University, KAISEISHA PRESS,総ページ136,ISBN978-4-86099-283-5 C3061, p48-51,</p>
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>北海道大学大学院農学研究院 <a href="http://www.agr.hokudai.ac.jp/rfoa/abs/abs2-2.html">http://www.agr.hokudai.ac.jp/rfoa/abs/abs2-2.html</a></p> <p>分子生物学研究室 <a href="http://arabi4.agr.hokudai.ac.jp/arabi.html">http://arabi4.agr.hokudai.ac.jp/arabi.html</a></p> <p>HOKUDAI NEXT <a href="http://or.research.hokudai.ac.jp/next/">http://or.research.hokudai.ac.jp/next/</a></p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>1. 北海道札幌市立藻岩高等学校環境教育講座にて講義と実習&lt;タンパク質の居場所を GFP を使って見る&gt;を実施。北海道大学農学部にて。平成24年9月7日、藻岩高校 8名</p> <p>2. 北海道大学&lt;国民との科学・技術対話&gt;推進事業にてオープンラボ(講義,実習,自由質疑)&lt;やせた土地でもぐんぐん育つ植物を作るために--ミネラルを運ぶ分子“トランスポーター”を見てみよう&gt;を3回実施。北海道大学農学部にて。</p> <p>平成24年11月17日 立命館慶祥高校 30名 平成24年11月29日 札幌北高校 10名 平成24年12月27日 札幌西高校 12名</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計1件	<p>HOKKAIDO UNIVERSITY MAGAZIN, March 2013 p10-11 &lt;Finding New Ways to Help Crops Grow on Marginal Land&gt;</p>
その他	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成24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	116,000,000	47,339,000	37,610,000	31,051,000	0
間接経費	34,800,000	14,201,700	11,283,000	9,315,300	0
合計	150,800,000	61,540,700	48,893,000	40,366,300	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	4,227,551	37,610,000	0	41,837,551	41,616,923	220,628	0
間接経費	0	11,283,000	0	11,283,000	11,283,000	0	0
合計	4,227,551	48,893,000	0	53,120,551	52,899,923	220,628	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	24,562,655	実験用試薬・資材・消耗品、研究用設備 等
旅費	3,135,556	研究調査、情報収集、成果発表等に係る旅費
謝金・人件費等	11,558,647	博士研究員、技術補助員給与
その他	2,360,065	研究用設備修理 等
直接経費計	41,616,923	
間接経費計	11,283,000	
合計	52,899,923	

## 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
オートクレーブ	榊トミー精工 LSX-500	1	511,875	511,875	2012/4/12	北海道大学
プリズム分光型共 焦点レーザー顕微 鏡	ライカマイクロシ ステムズ(株) TCS SP8 HWパッ ケージ	1	15,999,900	15,999,900	2012/10/23	北海道大学