

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	山形大学・理学部・准教授
氏名	宮沢 豊

1. 当該年度の研究目的

本研究は、申請者らが発見した水分屈性制御分子(MIZ1、MIZ2)を中心とした水分屈性制御分子の機能解明と水分環境に応答したオルガネラ動態変化の分子・細胞学的解析から、根の水分屈性発現機構を理解し、その応用としてグリーン・イノベーションに資する技術基盤を開発するものである。そのために、当該年度は MIZ1 および MIZ2 と相互作用する分子の探索と同定、*miz1* および *miz2* 変異を抑圧する突然変異体の探索と遺伝子同定を行う。同時に、水分屈性制御分子を利用した人為的な水分屈性能の改変技術の開発を行う。さらに、多数のオルガネラマーカー系統を顕微鏡下でスクリーニングして水分屈性に機能するオルガネラ動態変化の解析を行う。また、水分屈性発現に決定的機能を担う細胞群の同定を行う。

2. 研究の実施状況

前年度に引き続き、MIZ1 および MIZ2 と物理的、遺伝学的相互作用をする分子についてのスクリーニングを進めた結果、MIZ1 については、*miz1* 変異を抑圧する変異体の取得に成功し、マップベースクローニングでも候補が絞られてきている。さらに、MIZ1 と物理的に相互作用する分子の候補も取得できた。MIZ2 についても、免疫沈降実験系を確立し LC-MS/MS 解析による相互作用する分子の探索をできる段階まで進めた。一方、*miz2* 変異を抑圧する変異体については精力的にスクリーニングを進めたが今のところ再現性のある候補は取得できていない。また、MIZ1 発現が光や ABA によって調節されることを見いだすとともに、人為的に MIZ1 発現を向上させると、水分屈性能が亢進するとともにストレス環境下での細胞生存率が向上することを見いだした(Moriwaki et al. 2012, Miyazawa et al. 2012)。この結果を踏まえ、水分屈性能を亢進させたシロイヌナズナが、野生型や水分屈性変異体と比べ水分勾配の存在する土壌での生存能力、および生産力が高いことも明らかにした(Iwata et al. 印刷中)。

同時に水分屈性に機能する細胞群の同定も進めており、電子顕微鏡観察やマーカー系統を用いた解析から、水分屈性発現時に根端のコルメラ細胞で見いだされるアミロプラストの消失が自食作用によって行われる可能性を見いだした(Nakayama et al. 2012)。また、様々なオルガネラマーカー系統をスクリーニングした結果、1 系統においてラベルされたオルガネラが水分屈性発現時に根の皮層細胞で特徴的な偏在をすることを見いだした。細胞破壊実験による水分屈性制御細胞の同定は想定外の結果が出ているが、これを検証するための系統、すなわち組織特異的発現をするプロモーターによる遺伝子発現系の整備を進めた。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計5件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計4件 1, Moriwaki T., Miyazawa Y., Fujii N., Takahashi H. (2012) Light and abscisic acid signaling are integrated by <i>MIZ1</i> gene expression and regulate hydrotropic response in roots of <i>Arabidopsis thaliana</i>. <i>Plant, Cell and Environment</i> 35: 1359–1368 2, Nakayama N., Kaneko Y., Miyazawa Y., Fujii N., Higashitani N., Wada S., Ishida H., Yoshimoto K., Shirasu K., Yamada K., Nishimura M., Takahashi H. (2012) A possible involvement of autophagy in amyloplast degradation in columella cells during hydrotropic response of <i>Arabidopsis</i> roots. <i>Planta</i> 236: 999–1012 3, Miyazawa Y., Moriwaki T., Uchida M., Kobayashi A., Fujii N., Takahashi H. (2012) Overexpression of <i>MIZU-KUSSEI1</i> enhances the root hydrotropic response by retaining cell viability under hydrostimulated conditions in <i>Arabidopsis thaliana</i>. <i>Plant and Cell Physiology</i> 53: 1926–1933 4, Moriwaki T., Miyazawa Y., Kobayashi A., Takahashi H. (2013) Molecular mechanisms of hydrotropism in seedling roots of <i>Arabidopsis thaliana</i> (Brassicaceae). <i>American Journal of Botany</i> 100: 25–34 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計1件 1, Iwata S., Miyazawa Y., Fujii N., Takahashi H. MIZ1-regulated hydrotropism functions in the growth and survival of <i>Arabidopsis thaliana</i> under natural conditions. <i>Annals of Botany</i> 印刷中</p>
<p>会議発表 計 10 件</p>	<p>専門家向け 計10件 1, Iwata S., Miyazawa Y., Takahashi H. MIZ1-regulated hydrotropism plays an important role in plant growth and yield of <i>Arabidopsis thaliana</i> under water limited conditions. Plant Biology 2012, Austin, July 20–24, 2012 (American Society of Plant Biologists) 2, 岩田 悟、宮沢 豊、高橋秀幸 「シロイヌナズナの生産性・生存に対する水分屈性の寄与」 日本植物学会 第 76 回大会(姫路)2012 年 9 月 15 日～9 月 17 日(日本植物学会) 3, 奈良敬孝、宮沢 豊、藤井伸治、高橋秀幸 「ミヤコグサとエンドウを用いた水分屈性発現機構の比較解析」 日本植物学会第 76 回大会(姫路)2012 年 9 月 15 日～9 月 17 日(日本植物学会) 4, 中島佑介、宮沢 豊、藤井伸治、高橋秀幸 「イネにおける水分屈性の発現とオーキシン阻害剤処理による影響」 日本植物学会第 76 回大会(姫路)2012 年 9 月 15 日～9 月 17 日(日本植物学会) 5, 渡邊千秋、藤井伸治、宮沢 豊、東端 晃、嶋津 徹、鎌田源司、笠原晴夫、山崎 丘、渡邊郁子、伏島康男、石岡憲昭、高橋秀幸 「キュウリ芽生えの内皮細胞重力感受細胞で発現する CsPIN1 タンパク質の蓄積の重力応答性」 日本植物学会第 76 回大会(姫路)2012 年 9 月 15 日～9 月 17 日(日本植物学会) 6, 金 慧正、宮沢 豊、藤井伸治、高橋秀幸 「エンドウ根の回旋運動における重力応答依存性の検証」 日本植物学会第 76 回大会(姫路)2012 年 9 月 15 日～9 月 17 日(日本植物学会) 7, 岩田 悟、宮沢 豊、藤井伸治、高橋秀幸 「シロイヌナズナの生育・生存に対する水分屈性制御遺伝子 <i>MIZ1</i> の重要性」 東北植物学会第 2 回大会(弘前) 2012 年 12 月 15 日～12 月 16 日(東北植物学会) 8, Miyazawa Y., Moriwaki T., Uchida M., Kobayashi A., Fujii N., Takahashi H. “Improvement of plant water-stress avoidance by overexpression of <i>MIZU-KUSSEI1</i>, a gene responsible for root hydrotropism.” 第 54 回日本植物生理学会年会(岡山) 2013 年 3 月 21 日～3 月 23 日(日本植物生理学会) 9, 岩田 悟、内田真弓、小林啓恵、宮沢 豊、藤井伸治、高橋秀幸 「シロイヌナズナ <i>miz1</i> の抑圧突然変異体 <i>mzp1</i> の単離」 第 54 回日本植物生理学会年会(岡山) 2013 年 3 月 21 日～3 月 23 日(日本植物生理学会) 10, Takahashi H., Miyazawa Y., Kobayashi A., Moriwaki T., Fujii N. “MIZ1 and MIZ2 regulation of hydrotropism in <i>Arabidopsis</i> roots.” 第 54 回日本植物生理学会年会(岡山) 2013 年 3 月 21 日～3 月 23 日(日本植物生理学会) 一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	

様式19 別紙1

<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>該当なし</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1, 出前授業 2 件 標題:「植物のからだ作りと環境」 実施日:2012年6月4日、6月5日 場所:仙台市立七北田小学校(宮城県仙台市)、仙台市立木町通小学校 対象者:小学5年生(七北田小学校)、小学6年生(木町通小学校) 参加者数:各約100名 内容:植物が周囲の環境情報を感じ、自身の形態を変える仕組みについての授業 2, 学都「仙台・宮城」サイエンスデイ 2012 標題:「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:2012年7月15日 場所:東北大学川内キャンパス(宮城県仙台市) 対象者:小学4年生~大人 参加者数:約50名(イベント全体 6,331名) 内容:植物の屈性発現に関する講演と根の構造と傾性に関する体験学習 3, 体験入学(実習) 標題:「植物の細胞と組織を見てみよう!」 実施日:2012年7月28日 場所:山形大学小白川キャンパス(山形県山形市) 対象者:高校生 参加者数:約30人 内容:植物の根の構造と機能に関する解説と構造の観察 4, 出前授業・実習 標題:「及位中学校交流学习」 実施日:2012年8月7日~8月9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、酵素反応の実験 5, 模擬授業 標題:「宇宙、無重力の世界に展開する植物科学」 実施日:2012年9月4日 場所:山形大学小白川キャンパス(山形県山形市) 対象者:高校生(宮城県多賀城高校) 参加者数:約15名 内容:植物の重力応答と水分屈性に関する最近の研究の解説 6, 高大連携実習 標題:「大学の実験室で行う理数科生徒のための発展的な生物実習」 実施日:2012年9月19日 場所:山形大学小白川キャンパス(山形県山形市) 対象者:高校1年生 参加者数:約30人 内容:植物細胞の成長過程の解説と観察</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	<p>該当無し</p>

様式19 別紙1

その他	該当なし
-----	------

4. その他特記事項

該当無し

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)未受領額	既返還額(前年度迄の累計)
直接経費	129,000,000	58,200,000	44,100,000	26,700,000	0
間接経費	38,700,000	17,460,000	13,230,000	8,010,000	0
合計	167,700,000	75,660,000	57,330,000	34,710,000	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	0	44,100,000	0	44,100,000	44,100,000	0	0
間接経費	0	13,230,000	0	13,230,000	13,230,000	0	0
合計	0	57,330,000	0	57,330,000	57,330,000	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	37,852,722	植物育成装置、実験試薬、植物培養器材等
旅費	331,700	研究成果発表旅費(姫路、弘前、岡山)等
謝金・人件費等	5,621,980	博士研究員、技術補助員人件費等
その他	293,598	論文出版費等
直接経費計	44,100,000	
間接経費計	13,230,000	
合計	57,330,000	

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
純水製造装置	ミリポア社Elix essential UV3	1	687,435	687,435	2012/6/29	山形大学
人工気象器	日本医科器械社 LH-410SP	2	1,596,000	3,192,000	2012/7/27	山形大学
微量高速冷却遠心機	トミー精工社 MX-307一式	1	1,515,150	1,515,150	2012/9/6	山形大学
蛍光・発光イメージャー	BioRad社 ChemiDoc MP-	1	4,252,500	4,252,500	2012/9/12	山形大学
超微量分光光度計	Thermo Scientific社	1	1,988,700	1,988,700	2012/8/30	山形大学
生物環境調節装置	日本医科器械社 KCLP-1400ICT	1	1,212,750	1,212,750	2012/10/25	山形大学
リアルタイムPCR解析システム	BioRad社 CFX Connect 一式	1	2,992,500	2,992,500	2012/10/30	山形大学
顕微鏡用エアテーパー式	オリンパスメディカルサイエンス社	1	647,955	647,955	2012/9/28	山形大学
濃縮遠心機	Eppendorf社 5305c	1	842,625	842,625	2012/11/5	山形大学
実体顕微鏡システム一式	オリンパスメディカルサイエンス社	1	1,047,816	1,047,816	2012/11/30	山形大学
システム生物顕微鏡一式	オリンパスメディカルサイエンス社	1	4,945,710	4,945,710	2013/3/1	山形大学
高速細胞破碎システム	エムエス機器社 Precellys24	1	997,500	997,500	2013/3/12	山形大学