

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 25 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

植物は根でミネラル(無機栄養素)を吸い上げ、体内を循環させて利用する。植物がミネラルを効率的に獲得し利用するためには、様々な細胞の生体膜においてミネラルの膜透過を促進するタンパク質<ミネラル輸送体>が適材適所に配置されることが重要である。本研究では、シロイヌナズナをモデルとし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した。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>の二点の解明を進めるとともに、ホウ素利用効率の高いシロイヌナズナの作出と、カリウム輸送体の局在機構の解明を目的とした。

2. 研究の実施状況

ホウ酸トランスポーターBOR1 が高濃度のホウ素に反応して分解されるメカニズムを理解するため、昨年度までに取得した BOR1 の分解が起こらない変異株および BOR1 の分解を制御する BOR1 内部のアミノ酸配列について解析を進めた。その他の解析結果を合わせ、BOR1 自体がホウ酸濃度を認識するトランスセプター(トランスポーター兼レセプター)として働く可能性を見いだした。

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、ホウ酸トランスポーターBOR1 の偏在性について各種化合物を用いて解析し、合成オーキシンの外部投与によって中心よりの偏在形成を阻害できることを示した。また、BOR1 の制御の鍵段階と考えられるエンドサイトーシスについて逆遺伝学的な解析を進めた結果、細胞膜からの輸送小胞の形成を担うダイナミンタンパク質が BOR1 の偏在形成において重要であることを明らかにした。これらにより、根の遠心側細胞膜から中心側細胞膜に向かうトランスサイトーシスと呼ばれる小胞輸送メカニズムによって BOR1 の偏在性が維持されるモデルが考えられた。

ホウ酸チャネル NIP5;1 の細胞内局在に異常を持つ複数の変異株とその原因遺伝子の解析を進めた。特に NIP5;1 が凝集構造に集積する変異株を解析した結果、細胞壁だけでなく細胞内膜系の維持において D-ガラクトースが重要であることを発見した。さらに、NIP5;1 の小胞体からゴルジ体への輸送と細胞膜上偏在性に必要なアミノ酸配列をそれぞれ同定した。

応用面として、ホウ酸トランスポーターBOR2 の発現を増強し、低ホウ素条件での生育が改善したシロイヌナズナ形質転換株を作出した。また、ホウ酸輸送体トランスポーターの偏在性と分解性を欠失させて利用し、ホウ酸過剰条件での根外へのホウ酸排出活性が上昇し生育が改善したシロイヌナズナ形質転換株を作出した。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計4件
計6件	<p>1. Masataka Uehara, Sheliang Wang, Takehiro Kamiya, Shuji Shigenobu, Katsushi Yamaguchi, Toru Fujiwara, Satoshi Naito and Junpei Takano* (2014) Identification and Characterization of an Arabidopsis Mutant with Altered Localization of NIP5;1, a Plasma Membrane Boric Acid Channel, Reveals the Requirement for D-Galactose in Endomembrane Organization. Plant & Cell Physiology, 55(4): 704-714. *責任著者</p> <p>2. Kyoko Miwa, Shinji Wakuta, Shigeki Takada, Koji Ide, Junpei Takano, Satoshi Naito, Hiroyuki Omori, Toshiro Matsunaga, and Toru Fujiwara. (2013) Roles of BOR2, a boron exporter, in crosslinking of rhamnogalacturonan II and root elongation under boron limitation in <i>Arabidopsis thaliana</i>. Plant Physiology, 163 (4): 1699-1709.</p> <p>3. Yoshihiro Ohmori, Yayoi Inui, Masataka Kajikawa, Atsumi Nakata, Naoyuki Sotta, Koji Kasai, Shimpei Uruguchi, Nobuhiro Tanaka, Sho Nishida, Takahiro Hasegawa, Takuya Sakamoto, Yuko Kawara, Kayoko Aizawa, Haruka Fujita, Ke Li, Naoya Sawaki, Koshiro Oda, Ryuichiro Futagoishi, Takahiro Tsusaka, Satomi Takahashi, Junpei Takano, Shinji Wakuta, Akira Yoshinari, Masataka Uehara, Shigeki Takada, Hayato Nagano, Kyoko Miwa, Izumi Aibara, Takuya Ojima, Kaoru Ebana, Satoru Ishikawa, Kuni Sueyoshi, Hiroshi Hasegawa, Tetsuro Mimura, Mari Mimura, Natsuko I. Kobayashi, Jun Furukawa, Daisuke Kobayashi, Toshiyasu Okouchi, Keitaro Tanoi, Toru Fujiwara (2014) Cultivar-difference in cesium accumulation in rice grown in the paddy field in the Fukushima-city in the years of 2011 and 2012. Journal of Plant Research, 127:57-66</p> <p>4. Sumana Leangthitikanachana, Takahiro Fujibe, Mayuki Tanaka, Sheliang Wang, Naoyuki Sotta, Junpei Takano, and Toru Fujiwara. (2013) Differential expression of three BOR1 genes corresponding to different genomes in response to boron conditions in hexaploid wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.). Plant & Cell Physiology, 54: 1056-1063.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計0件</p> <p>(未掲載一査読有り) 計2件</p> <p>1, Shigeki Takada, Kyoko Miwa, Hiroyuki Omori, Toru Fujiwara, Satoshi Naito and Junpei Takano*. (2014) Improved tolerance to boron deficiency by enhanced expression of the boron transporter BOR2. Soil Science and Plant Nutrition, accepted *責任著者</p> <p>2, Hideki Hanaoka, Shimpei Uruguchi, Junpei Takano, Mayuki Tanaka, Toru Fujiwara (2014) OsNIP3;1, a rice boric acid channel, regulates boron distribution and is essential for growth under boron-deficient conditions. The Plant Journal, accepted.</p>

様式19 別紙1

会議発表	専門家向け 計 19 件
計 21 件	<ol style="list-style-type: none"> 1. Shinji Wakuta, Akira Yoshinari, Satoshi Naito, Junpei Takano Mechanisms of the polar distribution of BOR1, a borate/boric acid exporter in Arabidopsis thaliana (ポスター発表) 2. Akira Yoshinari, Martina Beck, Ji Zhou, Silke Robatzek, Satoshi Naito, Junpei Takano High-throughput quantitative imaging revealed new insights into the boron-dependent endocytosis of Arabidopsis boron transporter BOR1.(ポスター発表) 3. Sheliang Wang, Satoshi Naito, Junpei Takano Polar Localization of NIP5;1, a Boric Acid Channel, is Dependent on its N-Terminal Region(ポスター発表) 4. Junpei Takano, Shigeki Takada, Masataka Uehara, Shinji Wakuta, Akira Yoshinari, Sheliang Wang, Taro Amano, Taisei Tanaka, Yuka Ogino, Kyoko Miwa, Satoshi Naito Toward understanding the mechanisms of boron sensing and polar localization of boron transporters (口頭発表) <p>上記 4 件、XVII International Plant Nutrition Colloquium, Boron satellite meeting イスタンブール 2013 年 8 月 17-18 日</p> <ol style="list-style-type: none"> 5. Shinji Wakuta, Katsuhiko Mineta, Koji Ide, Kyoko Miwa, Toru Fujiwara, Satoshi Naito, Junpei Takano Phylogenetic analysis of borate/boric acid exporters in plants (ポスター発表) 6. Akira Yoshinari, Yuka Ogino, Tomoaki Sakamoto, Tetsuya Kurata, Satoshi Naito, Junpei Takano. A forward genetic approach to identify novel factors for boron-dependent endocytosis of a boron transporter, AtBOR1.(ポスター発表) 7. Sheliang Wang, Satoshi Naito, Junpei Takano. Mechanisms of the Plasma Membrane Targeting of the Boric Acid Channel NIP5;1(ポスター発表) 8. Masataka Uehara, Sheliang Wang, Takehiro Kamiya, Shuji Shigenobu, Katsushi Yamaguchi, Toru Fujiwara, Satoshi Naito, Junpei Takano Toward understanding the mechanisms of boron sensing and polar localization of boron transporters (口頭発表: 高野) <p>上記 4 件、XVII International Plant Nutrition Colloquium イスタンブール 2013 年 8 月 19-22 日</p> <ol style="list-style-type: none"> 9 高野順平 ホウ酸輸送体のエンドサイトーシスと細胞膜上極性局在のメカニズム 日本植物学会第77大会 シンポジウム 北海道大学 2013 年 9 月 14 日(口頭発表) 10. 吉成晃、Martina Beck, Ji Zhou, Silke Robatzek, 内藤 哲、高野順平 Identification and characterization of regulators for boron-dependent degradation of AtBOR1. 日本土壌肥料学会名古屋大会 名古屋大学 2013 年 9 月 11-13 日 (口頭発表) 11. 和久田真司、天野太郎、内藤哲、高野順平 植物細胞壁ペクチンを認識する Wall-associated kinase の細胞内局在解析 日本応用糖質科学会平成 25 年度大会 (第 62 回) 鹿児島 2013 年 9 月 24-26 日 (口頭発表) 12. 和久田真司、高野順平 ホウ酸トランスポーターBOR1 の偏在メカニズムの解明(口頭発表) 13. 吉成晃、天野太郎、高野順平 BOR1 細胞内輸送の分子メカニズムについての研究(口頭発表) 14. 上原匡貴、高野順平 Mechanisms for plasma membrane targeting and polar localization of a boric acid channel NIP5;1(口頭発表) <p>上記 3 件、第二回エンドメンブレンミーティング 京都大学 2013 年 10 月 15-16 日</p> <ol style="list-style-type: none"> 15. 高田 茂樹、北 翔一、岩元 明敏、三輪 京子、内藤 哲、高野 順平 A borate transporter AtBOR3 is required for repression of root elongation under low B conditions. (ポスター発表) 16. 荻野 由香、吉成 晃、内藤 哲、高野 順平 A structure-function analysis of a borate transporter AtBOR1 to reveal regulatory mechanisms for the boron-dependent endocytic degradation. (ポスター発表) 17. 和久田 真司、内藤 哲、高野 順平 Pharmacological Analysis of The Polar Localization of an Arabidopsis Borate/boric Acid Transporter, BOR1 (口頭発表) 18. 吉成 晃、藤本優、天野太郎、内藤哲、高野順平 Dynamin-mediated endocytosis is required for

様式19 別紙1

	<p>polar localization and boron-induced degradation of BOR1 in Arabidopsis thaliana. (口頭発表)</p> <p>19. 上原 匡貴、汪 社亮, 神谷岳洋, 重信秀治, 山口勝司, 藤原徹, 内藤哲, 高野順平 Biosynthesis of D-galactose by UDP-glucose 4-epimerase 4 is required for endomembrane organization in root epidermal cells of Arabidopsis thaliana. (ポスター発表)</p> <p>上記 5 件, 第 55 回日本植物生理学会年会 富山大学 2014 年 3 月 18 日-20 日</p> <p>一般向け 計 2 件</p> <p>1, 高野順平 植物のホウ素輸送体 ~作物のミネラル吸収の制御を目指した研究~ 第 10 回北大若手研究者交流会 北海道大学 2013 年 8 月 2 日 (口頭発表) <u>主催者の一人として開催</u></p> <p>2, 高野順平 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 FIRST シンポジウム「科学技術が拓く 2030 年」 東京都新宿区 ベルサール新宿グランド 2014 年 3 月 1 日 (ポスター発表)</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</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</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>北海道大学大学院農学研究院 http://www.agr.hokudai.ac.jp/rfoa/abs/abs2-2.html</p> <p>分子生物学研究室 http://arabi4.agr.hokudai.ac.jp/arabi.html</p> <p>HOKUDAI NEXT http://or.research.hokudai.ac.jp/next/</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 北海道札幌市立藻岩高等学校環境教育講座、講義と実習〈植物の栄養素輸送体 ~GFP を使って見てみよう~〉を実施、2013 年 9 月 6 日, 北海道大学農学部 対象: 藻岩高校学生 10 名 2. サッポロ農学校、講義と実習〈植物が栄養素を吸収するしくみ〉を実施、2013 年 8 月 29 日(8 月 25-30 日) 北海道大学農学部 主催: 北海道大学農学部 共催: 一般社団法人シニアと大学地域ネットワーク 対象: 一般の方 12 名 3. 北大セミナー in 富山、講義〈植物が栄養素を吸収する巧妙なしくみ〉を実施、2013 年 8 月 1 日 富山県富山市 高志会館 対象: 高校生 20 名
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 1 件</p>	<p>北海道新聞 「遺伝子研究 農をひらく ホウ素吸収 仕組み解明」(2013 年 5 月 27 日夕刊 6 面 1 頁)</p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25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	116,000,000	84,949,000	31,051,000	0	0
間接経費	34,800,000	25,484,700	9,315,300	0	0
合計	150,800,000	110,433,700	40,366,300	0	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	220,628	31,051,000	0	31,271,628	31,271,628	0	0
間接経費	0	9,315,300	0	9,315,300	9,315,300	0	0
合計	220,628	40,366,300	0	40,586,928	40,586,928	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	18,979,827	実験用試薬・資材・消耗品, 研究用設備 等
旅費	2,235,575	研究調査, 情報収集, 成果発表等に係る旅費
謝金・人件費等	8,352,684	博士研究員, 技術補助員給与
その他	1,703,542	データ解析, 学会参加費 等
直接経費計	31,271,628	
間接経費計	9,315,300	
合計	40,586,928	

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
対物レンズおよび 微分干渉用対物プ リズム	ライカマイクロ テムズ社 PL APO CS2 お よび11555010	1	1,260,000	1,260,000	2013/7/26	北海道大学
共焦点レーザー顕 微鏡 レーザー アップグレード	ライカマイクロ テムズ社 TCS SP8対応	1	2,467,500	2,467,500	2013/8/29	北海道大学
HyDチャンネル アップグレード	ライカマイクロ ステムズ社	1	3,297,000	3,297,000	2013/11/21	北海道大学
微量高速冷却遠心 機 他	トミー精工 MX-307, TMA- 300	1	932,400	932,400	2013/11/29	北海道大学
EMCCDカメラ	ローバーサイエ ンティフィック社 evolve-eXcelon- SD	1	2,835,000	2,835,000	2013/12/25	北海道大学