

領域略称名：植物環境感覚
領域番号：3211

平成24年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「植物の環境感覚：刺激受容から細胞応答まで」

(領域設定期間)
平成22年～平成26年

平成24年6月

領域代表者 京都大学・大学院理学研究科・教授・長谷 あきら

2. 目次

1.	表紙	1	ページ
2.	目次	2	ページ
3.	研究領域の目的及び概要	3	ページ
4.	研究の進展状況	4	ページ
5.	研究を推進する上での問題点と今後の対応策	5	ページ
6.	主な研究成果（発明及び特許を含む）	6	ページ
7.	研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、 ホームページ、公開発表等）	15	ページ
8.	研究組織と各研究項目の連携状況	24	ページ
9.	研究費の使用状況（設備の有効活用、 研究費の効果的使用を含む）	28	ページ
10.	今後の研究領域の推進方策	29	ページ
11.	総括班評価者による評価の状況	30	ページ

3. 研究領域の目的及び概要

研究領域名：「植物の環境感覚：刺激受容から細胞応答まで」

研究期間：平成22年度～26年度

領域代表者所属・職・氏名：京都大学大学院理学研究科・教授・長谷あきら

補助金交付額（研究領域全体の直接経費の額）：

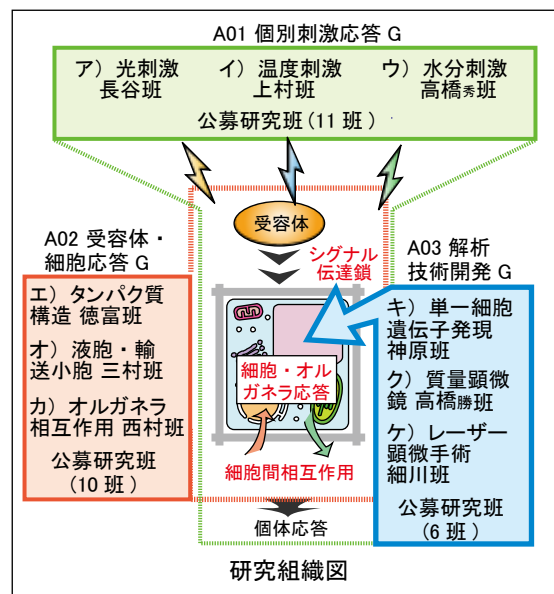
平成22年度 245,700,000 円

平成23年度 268,600,000 円

平成24年度 255,400,000 円

本領域の目的と研究体制

固着生活を営む植物は、動物とは異なる方法で、光、温度、水分などの様々な環境刺激を感知し、これに柔軟に反応している。これを我々は「植物の環境感覚」と呼ぶ。本領域の目的は、植物の環境感覚の分子基盤を、植物細胞という特定の「場」における反応と位置づけ、刺激受容から個体応答に至る過程を、新しい植物細胞生物学の立場から明らかにすることである。この目的に従い3つの研究項目を設定し、植物の全く新しい環境感覚システム像の構築を進めている（右図）。なかでもA03解析技術開発では、植物分野外の研究者が中心となり、異分野間の密接な連携のもと、新分野開拓を目指している。



—総括班—

領域全体の推進に向け、研究班間の連携を図る。具体的には、班会議、若手の会、シンポジウム、公開データベースなどの活動を通じ、班員に情報交換と議論の場を提供するとともに、新技術に関するワークショップ等を開催しその普及に努めている。また、相互支援システムとして、計画研究班が中心になり基盤技術支援を提供している。

—研究項目 A01：個別刺激応答機構—

光、温度、水分という主要刺激を扱う3計画研究と、様々な刺激の専門家による11の公募研究よりなる。植物の環境感覚がオルガネラ等からなる「細胞場」の反応であるという視点を重視し、他研究項目と連携して、各刺激応答の全貌解明を目指している。

—研究項目 A02：受容体・細胞応答機構—

環境感覚の基盤となる受容体やシグナル伝達分子、細胞応答の場である細胞・オルガネラなどに関する3計画研究と、それを補う10の公募研究によりなる。受容体分子による刺激受容から、オルガネラ・細胞・個体レベルの応答までの各過程に注目し、他研究項目と連携して、その原理の解明を目指している。

—研究項目 A03：「植物細胞場」解析技術開発—

「植物細胞場」を解析するための新技術として、「単一細胞遺伝子発現解析」、「質量顕微鏡による代謝物解析」、「フェムト秒レーザーを用いた細胞操作」を計画研究で開発し、さらに画像解析やバイオインフォマティクスなどの新技術に関する6つの公募研究を加え、他項目の研究者と協力して、技術開発と環境感覚研究への応用を進めている。

4. 研究の進展状況

概要

固着生活を営む植物は、光、温度、水分などの様々な環境刺激を敏感に感知し、これに柔軟に応答している。本領域の目的は、植物の環境感覚の分子基盤を、植物細胞という特定の「場」における反応と位置づけ、**研究項目A01：個別刺激応答機構**、**A02：受容体・細胞応答機構**、**A03：「植物細胞場」解析技術開発**の連携のもと、異分野間連携による新技術開発を軸に、新しい植物環境感覚システム像を構築することである。以下、項目毎の進展状況について記す。

—研究項目 A01：個別刺激応答機構—

本項目では、光、温度、水分を中心に、各種刺激に関する3計画研究と11公募研究を進めた。光刺激については、**計画研究ア（長谷班）**に6公募研究が加わり、光受容体分子の構造と機能、光応答に関わるキナーゼやタンパク質分解因子の作用機構、光屈性や避陰応答における器官／組織間シグナル伝達機構、などについて研究を進めた。また、温度刺激については、**計画研究イ（上村班）**に2公募研究が加わり、低温応答に関与する新奇タンパク質の探索、温度シグナル応答の鍵転写因子の作用機構、低温刺激に対する細胞応答などについて研究を進めた。また水を含む物質刺激については、**計画研究ウ（高橋秀幸班）**に2公募研究が加わり、水分屈性の分子機構、植物細胞の匂い応答、二酸化炭素の感知などに関する研究を進めた。加えて、1公募班が複合的ストレス応答の研究を進めた。以上の成果に関し、57編の原著論文を公表した。

—研究項目A02：受容体・細胞応答機構—

本項目では、刺激応答に関わる分子の構造と機能や、単膜系および複膜系オルガネラに関する3計画研究と10公募研究を進めた。分子レベルでは、**計画研究エ（徳富班）**に2公募研究が加わり、光受容体の分子構造と機能に関する研究、苔類の光受容関連分子の網羅的解析などを進めた。さらに、下流のシグナル伝達機構について、4公募班が、Ca²⁺イオンの関与、DNA損傷に対する核応答、mRNA代謝のストレス応答、タンパク質変性への応答、などについて研究を進めた。単膜系オルガネラについては、**計画研究オ（三村班）**が、温度障害に対する液胞応答、低温に対するリン酸転流応答などについて、1公募班がオートファジーについて研究を進めた。また、複膜系オルガネラ応答については、**計画研究カ（西村班）**が、光により制御されるペルオキシソームの葉緑体への接着について、2公募班が光による葉緑体の運動制御と環境刺激による細胞周期進行について研究を行った。以上の成果に関し、64編の原著論文を公表した。

—研究項目A03：「植物細胞場」解析技術開発—

本項目では、3計画研究と6公募研究が、植物環境感覚を解析するための新技術開発を他研究班と連携して進めた。**計画研究キ（神原班）**では、「単一細胞遺伝子発現解析技術」の植物への応用を進め、微細組織片での遺伝子発現計測に成功した。**計画研究ク（高橋勝利班）**では、植物組織で質量分析イメージング（質量顕微鏡）を行うための試料調整法、機器、ソフトウェアを整備し、シロイヌナズナ組織切片で画像を得ることに成功した。**計画研究ケ（細川班）**では、植物側研究者と連携して、フェムト秒レーザーが、レーザー顕微手術による器官／組織間シグナル伝達の解析や、オルガネラ間相互作用の力学的解析に役立つことを示した。この他に、6公募班が、遺伝子発現制御技術、電子顕微鏡、X線イメージング、新奇プローブの作出などに関する研究を進めた。以上の成果に関し、30編の原著論文を公表した。

5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策

平成22年度から開始した本領域では、細かな修正を必要とする問題点は出てきているが、それらに対応しつつ全体としては、概ね順調に推移していると考えている。

—新技術の開発と普及—

異分野間連携による新技術の開発は、本研究領域において最重要事項の一つである。研究立ち上げ時には、これまで植物を材料とした経験のない技術系研究者側にかかなりの戸惑いもあったが、植物系の計画研究班がきめ細かく対応することにより、どの技術についても基本的な実験が可能となった。

新技術の内容を領域内に周知させるには班会議のみでは不十分と考え、「フェムト秒レーザー技術」に関する技術ワークショップを開催したところ、大きな反響があり共同研究の促進につながった。他の新技術についても、順次、ワークショップ等を開催して普及に努める予定である。これまでは植物細胞に応用可能な新技術の開発に重きをおいてきたが、今後は、色々な実験系で動かすことによって、新たな応用法を模索する段階に移行する。ここで、特殊な機材を必要とする技術に関しては、利用件数の増加に備え、可能な範囲で設備の拡充や共同研究の調整を考えたい。

—領域内活動—

班員間の交流と情報交換は領域推進の要である。特に、異分野間連携に重きをおく本領域では、その重要度は高い。現在、2.5日間の日程で年2回の班会議を開催しているが、これだけでは議論が深まりにくいとため、若手の会、技術ワークショップ、分科会などを企画し、これを補った。結果として、班員間の共同研究の数も順調に増えており、一定の効果があつたと考えている。特に技術ワークショップは、単に説明を聞くだけでなく、実際に現場で手を動かしながら指導を受けられるということで大変好評であった。

領域内で進められるポストゲノム解析については、トランスクリプトーム(西村班)、プロテオーム(上村班)、メタボローム(三村班、高橋勝班)支援を行えるように、各技術を持つ計画研究班が協力体制を整えているが、まだ利用が多くはないので、今後具体的な共同研究の中で、利用可能性を広げていく予定である。

特定領域「オルガネラ分化」が立ち上げたオルガネラデータベース“The Plant Organelles Database 2” (英語で運営し、全世界からのアクセスを集めている)を引き継ぐ形で、植物細胞の環境感覚に関するデータベースを充実させることを目指している。現時点では、まだ収集数はそれほど多くはないが、今後は、さらに公募各班が持つ画像データなどもまとめることで、領域内での情報交換に有効に利用する予定である。

—領域外への情報発信—

班員へ向けた活動と比較し、領域外への情報発信についてはまだ弱い点がある。そのなかで、上にも述べたオルガネラデータベースには大いに期待している。また、新技術発信の場としての態勢が整ったとは言い難いが、今後は、これを新技術の普及のための情報発信の核として活用したい。また、植物系の学会などで積極的にシンポジウムを企画して情報発信に努めたが、今後は、これを外の分野の学会にまで広げ、より広範囲な分野へ働きかけたい。

「国民との科学・技術対話」は、領域としての取り組みが最も遅れている項目である。これまでは、各班員の個別の対応に頼ってきたが、今後は、総括班を中心に、何らかの具体的な企画を立てて行くことも検討している。

6. 主な研究成果（発明及び特許を含む）

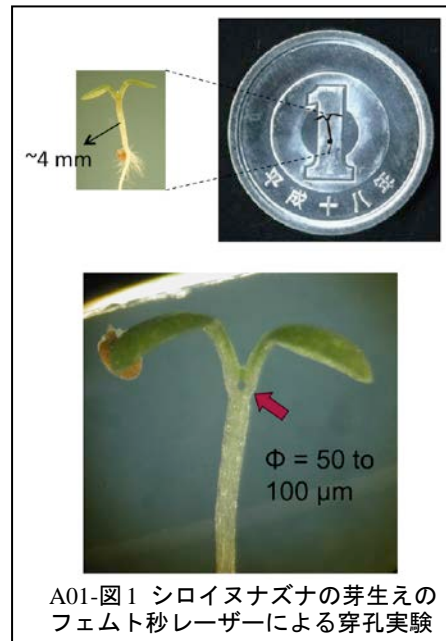
研究項目A01：個別刺激応答機構

本項目では、特定の刺激応答を専門とする研究者が、植物の環境感覚がオルガネラ等からなる「細胞場」の反応であるという視点を重視し、他研究項目と連携して、個別の刺激応答の全貌を解明を目指している。現時点での各研究班の主要な研究成果は以下の通りである。

—光環境感覚—

植物の環境感覚の中でも、光刺激に対する応答は最も研究の進んだ分野のひとつである。本項目では、1つの計画研究と6つの公募研究が中心になって研究を進めた。

・計画研究ア（長谷班）では、赤色光受容体フィトクロム、青色光受容体フォトトロピンの構造について、1) 酵母菌を利用した構造／機能解析を進め、光受容 LOV ドメインの N-末端側にある α ヘリックスが分子内シグナル伝達において重要な役割を果たすことを示した（A02 徳富班と共同）。2) フィトクロムの分子種の中でも特殊な機能をもつ phyA について、発色団ポケットに向けて”舌”構造を突き出している PHY ドメインの働きにより著しく光感受性が増加していることを示した。また、組織レベルの光応答について、3) 葉肉組織における柵状組織の発達がフォトトロピンによって組織自律的に制御されることを示した（A01 武宮班と共同）。4) 葉の扁平化において、フィトクロム B がフォトトロピンと拮抗的に働いていることを示した（A02 和田班と共同）。器官レベルの光応答については、5) 陰刺激応答の光受容部位が子葉であり、葉で感知された情報が胚軸に移行したのち、一定の休止期を経て胚軸伸長を促進することを示した。さらに、6) A03 細川班が開発したフェムト秒レーザーによる顕微手術システムを利用して、芽生えにおいて穿孔実験を成功させ、子葉からの胚軸へ未知のシグナルが伝えられることを示す結果を得た（A01-図1）。7) A03 神原班が開発した微細植物組織を対象とする遺伝子発現計測法を利用し、陰刺激に対する遺伝子発現応答が器官毎に異なることを示した。



A01-図1 シロイヌナズナの芽生えのフェムト秒レーザーによる穿孔実験

・公募研究A01.01（日出間班）では、光を受容してDNAの損傷を修復するCPD光回復酵素について、1) 結晶構造を明らかにし、2) その発現が種々の光受容体によって複雑に制御されていること、3) オルガネラへの輸送が、光による制御を受けている可能性があることを示した。

・公募研究A01.04（酒井班）では、光屈性において、1) オーキシン輸送体PINが関与する光屈性誘導機構と、PINに依存しない機構の二つが働いていることを明らかにした。さらに、2) ユビキチン E3 活性をもつタンパク質が重力屈性に働くこと、3) ミヤコグサ根粒の形成にフィトクロムが関与すること、などを明らかにした。

・公募研究A01.06（柘植班）では、1) 光形態形成の制御因子COP9シグナロソーム (CSN) と結合するスプライソソーム構成因子SAP130が、mRNA代謝とタンパク質分解の制御を通じて、光応答や花粉形成に深く関わることを示した。また、2) CSNと結合するmRNA代謝関与因子（Ddx15とSAP130類似タンパク質）が担う光応答機構の解析を進めた。

・公募研究A01.09（武宮班）では、赤外線サーモグラフィを用いたシロイヌナズナ気孔開口変異体のスクリーニングを行い、青色光による気孔開口や細胞膜H⁺-ATPaseの活性化を欠き、フォトトロピンやH⁺-ATPaseそのものは正常に機能している*blus1*変異体を取得した。その原因遺伝子は新奇のプロテインキナーゼをコードしていた。

・公募研究A01.10（松下班）では、1) フィトクロムBのシグナル伝達経路を見直すために、遺伝子機能重複の問題を克服するための挑戦的な変異体スクリーニング系を構築し、順遺伝学的解析を進めた。また、2) 従来フィトクロムの機能に不可欠だと考えられていた発色団との共有結合が、必ずしも必要無いことを明らかにした。

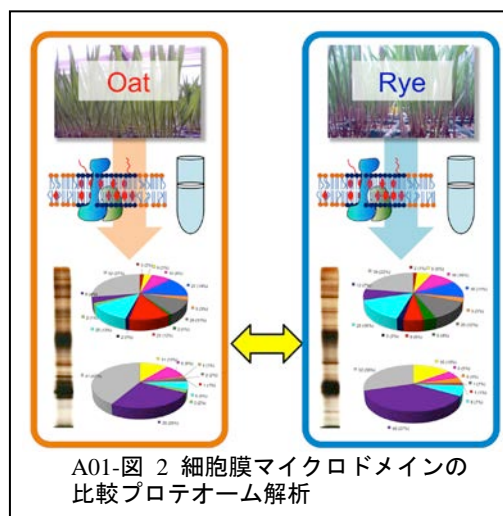
・公募研究 A01.11（飯野班）では、光屈性に見られる多相的な光量反応曲線について、1) 全ての反応成分で *phot1* が唯一の光受容体として、NPH3/CPT1 と PKS が必須なシグナル因子として関与すること、2) PKS は正・負の反応方向性に関与すること、3) 多相性の一部は青色光と近紫外光の同時照射により生じること、を明らかにした。

上記に加えて、A02徳富班が光受容体の分子構造について、A02河内班が苔類の光シグナル伝達について、A02久富班がオーレオクロームの構造と機能について、A02西村班が光によるペルオキシソームと葉緑体との接着制御について、A02和田班が光による葉緑体定位の機構について研究を進めた。

-温度環境感覚-

温度感覚は植物の生存を左右する重要な能力で、植物はこれを用いて低温や高温へ巧みに対応している。この項目については、1つの計画研究と2つの公募研究が中心になって研究を進めた。

・計画研究イ（上村班）では、個体レベルでの詳細な低温情報受容から耐性形質発現までの分子経路について、組織間コミュニケーションを含めて総合的に理解することを目指し、1) 個体レベルの低温馴化について、馴化・脱馴化の詳細な検討およびルシフェラーゼ導入変異株による解析を進めた。その結果、馴化・脱馴化における温度・光・時間条件が植物の凍結耐性を指標として明らかになりつつある。2) 役割の異なる凍結耐性関連因子をコードする遺伝子のプロモータ領域にルシフェラーゼをつなぎ、形質転換体を作成し、その発光を検出する系の開発に成功し、低温馴化過程における発現解析を行なっている。3) 細胞レベルの応答



について、温度・光条件を制御しながら細胞内の変化を低温顕微鏡を用いて観察したところ、ER の特徴的な凍結動態、すなわち、凍結と同時にフィラメント状の構造が小胞状へと変化することが明らかとなった。現在、アクチンフィラメントとの関連で研究を進めている。4) 低温感覚に関与する新奇タンパク質の同定を目指して、細胞膜および細胞膜マイクロドメインのプロテオーム解析を行い、いくつかの植物に共通な変化と特徴的な変化を明らかにした（A01-図 2）。さらに、5) シロイヌナズナ培養細胞の細胞膜プロテオーム解析より ABA が細胞膜タンパク質の低温応答にも関わっていることを明らかにした。

・公募研究 A01.02（三浦班）では、低温シグナル伝達機構の解明のため、低温シグナルの鍵転写因子 ICE1 と相互作用する因子を酵母 2 ハイブリッド法により探索し、転写因子 MYC、MAP キナーゼ及びカルモジュリン様(CML)タンパク質を見出し、これらの

因子が低温耐性に関わることを遺伝学的に証明した。また MYC 転写因子に関しては ICE1 の下流に存在する DREB1A プロモータに実際に結合することを示した。

・公募研究 A01.07 (古本班) では、光シグナルを伝える転写因子 PIF4 が温度シグナルにも関係する「シグナル統合因子」であることを発見した。そこで、PIF4 の構造/機能解析を進め、N 末端を欠失した PIF4 は、光シグナルには応答できないが、温度シグナルには応答し、プロテアソーム分解へと導かれることを示した。さらに、このタンパク質が安定化される変異体のスクリーニングを進めた。

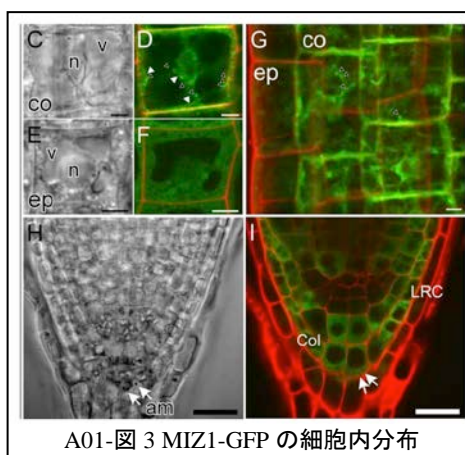
・上記に加えて、A02 三村班がセントポーリアの冷温障害、A02 渡邊班が温度環境と P-ボディの形態変化、A02 西川班が高温ストレス応答に関連したヒートショックタンパク質の研究を進めた。

-物質環境感覚-

植物は、光や温度などの物理的な刺激に加えて、水分、二酸化炭素、無機栄養塩、さらには生物が出す揮発成分である「匂い」など、様々な化学物質刺激を感知する能力をもつ。ここでは、1つの計画研究と2つの公募研究が中心になって研究を進めた。

・計画研究ウ (高橋秀幸班) は、植物が水獲得のために発現する水分屈性の分子機構を解明するために、これまでに同定した MIZ1 (機能未知) および MIZ2 (GNOM) を軸に、その制御分子を解析した。1) MIZ1 の過剰発現は、水分屈性を有意に亢進するだけでなく、側根形成を抑制することが明らかになり、これらの現象がオーキシン量の低下によって起こる可能性が示された。MIZ1 が、小胞輸送を担う GNOM/MIZ2 およびオーキシン応答の上流で機能することもわかった。2)

miz1-1 突然変異体に GFP を付加した MIZ1 (MIZ1-GFP) を導入して解析した結果、MIZ1-GFP は *miz1-1* 突然変異体の表現型を相補して水分屈性を回復させること、MIZ1-GFP シグナルは、根の根端皮層細胞と側部根冠組織に認められ、且つ、可溶性タンパク質ならびに小胞体膜の原形質側表面に分画されることがわかった (A01-図3)。3) MIZ1 と相互作用するタンパク質を探索し、その候補を取得することに成功した。4) 照射およびアブシジン酸の処理が MIZ1 の発現を正に制御し、光受容体フィトクロムおよび転写因子 HY5



A01-図3 MIZ1-GFP の細胞内分布

を介した青色光シグナルが、MIZ1 の誘導に機能することを見出した。光とアブシジン酸は独立に MIZ1 を誘導することも示された。5) 側根の水分屈性にも MIZ1 が必要なことを明らかにしたうえで、自然界 (土壌中) において根の水分屈性が乾燥条件下での水獲得に機能し、根系形成、生存、生産性に大きく貢献することを証明した。

・公募研究 A01.03 (東原班) では、植物が匂い物質を感知する分子機構を明らかにすることを目的とし、タバコ由来培養細胞 BY-2 およびタバコ個体に、テルペン系の匂いであるカリオフィレンを曝露すると、6時間後くらいから Ca^{2+} 依存的に防御遺伝子のひとつである *osmotin* の発現誘導が起こることを見出した。カリオフィレン応答を *in vivo* で可視化するために、*osmotin* 誘導性 GUS 形質転換タバコ、および GFP 由来蛍光 Ca^{2+} センサー G-CaMP2 形質転換タバコを作出した。サリチル酸やジャスモン酸経路など既知のシグナル伝達に関わる遺伝子発現誘導を比較解析したところ、匂いによって異なる経路が活性化されることがわかった。

・公募研究 A01.05 (福澤班) では、1) クラミドモナスの CO_2 センサー候補分子 CCM1 のボルボックスのオルソログを同定し、C 末端側に保存され、*Ccm1* 欠損株を相補でき

ないドメインを新たに見出した。2) RNA-seq 法により CO₂ に対する転写応答を調べ、複数の制御因子、輸送体因子、CCM1 依存的に発現する Myb 転写因子を見出した。3) 無機炭素濃縮機構に必須な LCIB の葉緑体内移動に関わる因子を明らかにする為に、DNA タギングにより変異株単離を行った。約 5,500 株について LCIB-GFP の蛍光を観察し、LCIB がピレノイド周囲にリング状に局在できず、ピレノイドの位置や数が異常である表現型を示す株を 4 株得た

- ・上記の他に、A02 三村班がリン酸応答について研究を進めている。

-その他-

本領域では、上記の分類に収まらない刺激として、機械刺激および複合刺激応答である病害ストレス応答についても研究を進めた。

- ・計画研究ア（長谷班）では、A02 三村班の協力のもと、様々な細胞構造が GFP 標識された遺伝子導入シロイヌナズナ約 160 系統を用いて、様々な環境刺激に対する細胞応答の網羅的スクリーニングを進めた。その結果、機械刺激に応答して細胞質から核へ速やかに移行するタンパク質を発見した。また、phyA の Pfr が機械刺激に応答して、可逆的に細胞質で顆粒状構造体を形成することを見出し、A02 西村班、A02 渡邊班の協力のもと、その解析を進めた。

- ・公募研究 A01.08（多田班）では、病害ストレスへの応答解析として、レドックスシグナル伝達系に注目し、細胞内レドックスを直接感知する転写制御因子の同定及び特徴づけを進めた。病害ストレスで有意に発現するシロイヌナズナの 344 転写因子タンパク質を合成し、タンパク質翻訳後修飾である S-ニトロソ化スクリーニングを行った。その結果、TGA2 や TBF1 等の既知の防御関連転写因子や、NAC32 の様な機能未知因子を多数同定した。全ての WRKY ファミリー転写因子は NO 感受性であり、植物におけるレドックスセンサーファミリーであることが示唆された。

- ・上記の他に、A02 飯田班は機械感受性イオンチャンネルの環境感覚における様々な役割について研究を進めている。

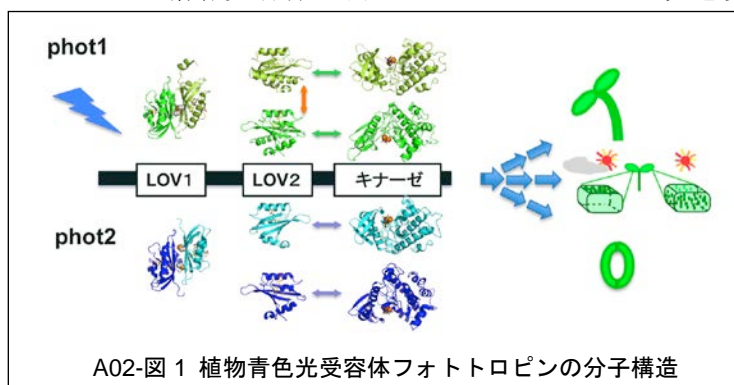
研究項目A02：受容体・細胞応答機構

本項目では、刺激受容体タンパク質やシグナル伝達因子の分子構造と機能に関する生物物理学的研究、外部環境条件の変化に対する単膜オルガネラの応答機構の研究、葉緑体などの高度に分化したオルガネラ間の相互作用による環境応答の研究、などを軸に、環境応答の現場である「細胞場」とそこで働く分子に関する理解を深めることを目指している。各研究班の主要な研究成果は以下の通りである。

-環境情報受容体構造と遺伝子-

現時点で、植物環境感覚の入口としての情報受容体が明らかになっているのは光感覚だけであり、主に光応答を対象に研究を進めた。温度感覚、水感覚、については、研究項目A01の各研究班が受容体の探索を進めている。また、リン酸感覚の受容体について、A02三村班が研究を進めた。

- ・計画研究エ（徳富班）が、



1) 青色光受容体フォトトロピン (phot) の、*in vitro* のキナーゼ解析系を開発し、光シグナルがキナーゼ活性を制御する分子内光シグナル伝達に関する新知見を、X線小角散乱による解析により明らかにした (A03 中迫班と共同) (A02-図1)。2) キナーゼ活性と光反応との相関の解析から、シロイヌナズナの二つのホモログ間の光感受性の差異の原因の一つを分子構造から明らかにした。3) シロイヌナズナ phot2 のシグナル伝達において、フィトクロムA (phyA) シグナル伝達とのクロストークに関わると考えられる因子を見つけた。4) シロイヌナズナ phyB の光受容ドメインのホロタンパク質発現系の構築を行い高純度試料調製に成功し、結晶構造解析を開始した。5) クリプトクロムの一つ Cry-DASH の光反応と分子構造変化に関する知見を得た。

・公募研究A02.08 (久富班) は、青色光制御型転写因子とされるオーレオクロームの組換えタンパク質を作成し、吸収・蛍光スペクトルや光反応性を解析した。1) 円偏光二色性および動的散乱の測定から、青色光照射で二次構造組成が変化し、オーレオクロームの構造変化が誘起されることを示した (A02徳富班と共同)。2) 部位特異的変異解析により、オーレオクロームのスペクトルや光反応性に影響を与えるアミノ酸を明らかにした。

・公募研究A02.07 (河内班) は、光受容体の遺伝子構造の解析において、モデル植物として導入に成功した原初陸上植物である苔類ゼニゴケを用いて光環境認識の普遍性と多様性を解析し、1) 赤色光受容体フィトクロムと下流制御因子PIF様遺伝子を同定し、光形態形成機能を明らかにした。青色光受容体フォトトロピン突然変異体を分離し、2) photがゼニゴケでも葉緑体光定位運動および葉状体背腹性決定に関与することを明らかにした。

・計画研究オ (三村班) は、栄養塩として植物が利用するリン酸環境の受容体探索のため、低リン条件下で生育したシロイヌナズナの高リン処理10分~30分で発現量が増大する遺伝子を複数見出した。この遺伝子群の発現に関わる上流遺伝子の探索を進めている。

-環境感覚に関わる細胞内情報伝達と遺伝子・生体分子応答-

植物細胞が受容体において環境刺激を受け取った後、細胞内でどのような情報伝達が行われているかについては、代表的情報伝達物質であるCa²⁺、遺伝子発現調節に関わるDNA複製やmRNA修飾、さらにタンパク質品質管理について研究を進めている。

・公募研究A02.05 (飯田班) では、環境感覚に関わる細胞内情報伝達物質の一つと考えられるCa²⁺の動態について、1) シロイヌナズナのCa²⁺透過性機械受容チャネルMCA1とMCA2の構造機能相関の研究を進めその詳細を明らかにした。2) イネのOsMCA1が、低浸透圧刺激に重要であること、タバコのNtMCA1とNtMCA2が、温度環境受容にも関与する可能性を示唆した。

・公募研究A02.03 (有村班) では、1) 細胞質Ca²⁺濃度変化を可視化できるシロイヌナズナを作製し、細胞質Ca²⁺濃度変化とオルガネラ形態の同時画像取得に成功した。2) ミトコンドリア外膜Ca²⁺結合タンパク質MIROにCa²⁺非結合型点変異を導入し、ミトコンドリア形態への影響を、Ca²⁺と環境変化との関連で解析している。

・公募研究A02.09 (松永班) では、紫外線環境などによって生じるDNA損傷やオーキシン飢餓が、細胞体積を増加させると同時にDNA量を倍加させる現象について解析し、DNA損傷とオーキシン飢餓を同時に与えると、DNA量倍加を伴わない細胞体積増加が誘導されたことから、DNA量増加と細胞体積増加は独立した現象であることをイメージング解析により証明した。

・公募研究A02.04 (渡邊班) では、mRNAの5'末端に存在するキャップ構造をはずす酵素DCP1の致死変異をPDCP1::DCP1:GFP遺伝子で相補し形質が正常になった形質転換体を得ることに成功し、P-ボディとよばれる1-2 μmの大きさの顆粒状の構造体を可視

化できる形質転換体植物を確立した。これを用いて、温度環境変化で顆粒状態が変化すること、顆粒状態と別に細胞質に凝集していないDCP1があることを見出した。

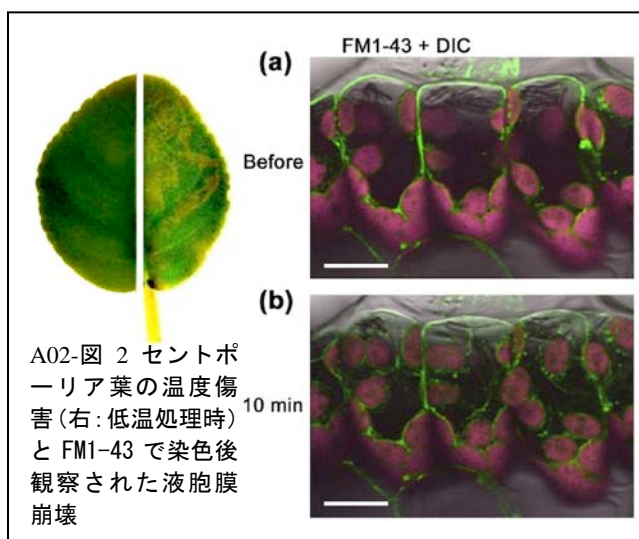
・公募研究A02.06（西川班）では、小胞体品質管理で中心的な役割をはたす小胞体分子シャペロンAtERdj3Bを欠損したシロイヌナズナ変異株が、高温ストレス下でポレンコート形成異常を伴った花粉成熟欠損を示すことを見いだした。小胞体品質管理の基質候補として細胞膜のLRR型キナーゼであるRpk2を同定し、AtERdj3Bの欠損によって、高温ストレス特異的にRpk2の細胞膜への輸送や、Rpk2下流遺伝子発現が抑制されることを明らかにした。

－単膜系オルガネラ応答－

環境刺激が、実際に応答を引き起こすための場となる細胞内構造として、単膜系オルガネラについて研究を進めた。

・計画研究オ（三村班）では、植物分布を決める重要因子である

「温度」に関する研究において、1) アフリカ原産のセントポーリアの葉において、葉温が急激に低下すると傷害を受け変色・枯死する現象を解析し、傷害を受けた葉では柵状組織の細胞において、急激な温度降下により液胞膜が崩壊して酸性の液胞



内容物が漏出し、細胞死に至るといいう傷害メカニズムを見出し、そこで働くタンパク質の解析を進めた（A01上村班と共同）（A02-図2）。2) 樹木のリン利用機構を明らかにするためにポプラでリン転流に関する解析を行い、晩秋の温度低下時に生じるリン転流にイノシトールリン酸が小枝の液胞に蓄積されることを見出した。3) 三村班の西村いくこは、昆虫などの食害部位で忌避物質の生産を担う葉のミロシン細胞は、液胞にミロシナーゼを大量集積するが、葉原基におけるエンドサイトーシスが当該細胞の協調的分化を制御することを見出した。4) 外部環境の応答に、運動タンパク質であるミオシンが重要な働きをしていることを明らかにした。

・公募研究A02.01（森安班）では、1) 高分子分解の場としての液胞に関わる植物細胞のオートファジー(ATG)経路について検討を進め、オートリソソームを植物で初めて単離し、そこにプロテアーゼが存在することとプロテアーゼ阻害剤によるエンドサイトーシス経路の停止を明らかにした。2) さらに恒暗条件下で緑葉が起こすプログラム細胞死についてフィトクロムの関与と、ATG経路が暗誘導細胞死を負に制御することを明らかにした。

－複膜系オルガネラ応答とオルガネラ相互作用－

環境刺激応答における複膜系オルガネラの関与や、単膜系オルガネラとの相互作用について研究を進めた。

・計画研究カ（西村班）では、光に応答した細胞内現象として、1) 緑葉組織ではペルオキシソームと葉緑体との接着機構は光合成依存的に促進され、ペルオキシソームの葉緑体への結合力が光で増幅されることを、フェムト秒レーザーを用いて明らかにした

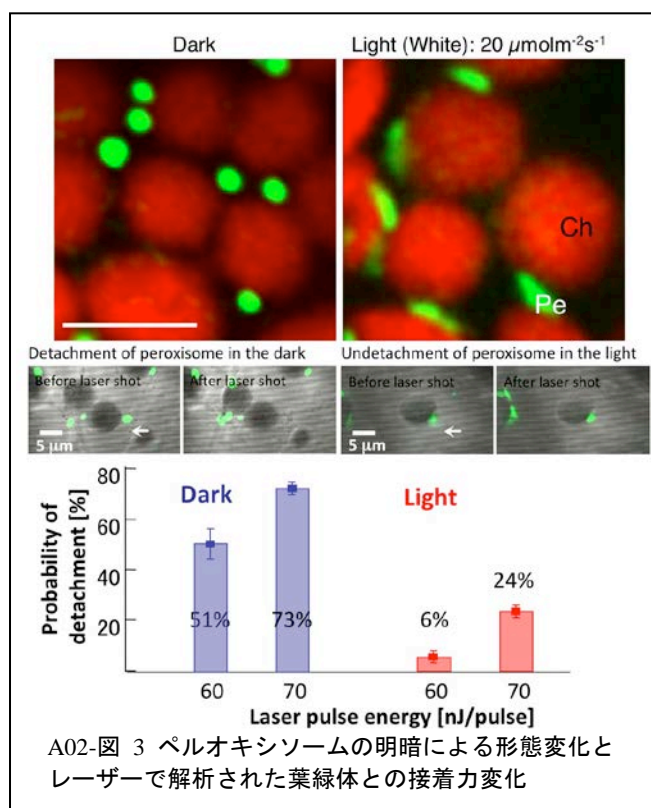
（A03細川班との共同研究）（A02-図3）。2) この接着機構に異常を生じた変異体を複数

選抜し、オートファジー関連因子の関与を見出した。3) またペルオキシソーム内に不活性化されたカタラーゼの凝集体を作る変異株を見出した。これら変異株では、強光下での老化の促進と活性酸素種の蓄積が確認され、ストレス条件下におけるペルオキシソーム分解系の重要性が示唆された。

・公募研究A02. 10 (和田班) では、青色光受容体フォトトロピンで誘導される葉緑体運動に必須な cp-actin 繊維の重合に関わる CHUP1 たんぱく質の機能解析を行い、CHUP1 の結合タンパク質の探索、および葉緑体運動因子との結合活性を解析し、幾つかの新たな因子を明らかにした。

・公募研究A02. 02 (田中班) では、乾燥環境適応に重要な役割を果たす植物ホルモンの一つであるアブシジン酸 (ABA) が細胞周期開始に及ぼす効果を、モデル細胞シジンの細胞周期について検討し、1) ABA

添加がオルガネラDNA複製 (ODR) と核DNA複製の両者を阻害し、ABAの作用点がODR活性化に関わるシグナル伝達系であることを示した。また、2) 光照射によるODRの開始にはMAPKカスケードの活性化が必要だが、暗所でもMAPKの活性化剤であるアニソマイシンとヘムを共存させるとODRを開始させることが可能であることを見出した。



A02-図 3 ペルオキシソームの明暗による形態変化とレーザーで解析された葉緑体との接着力変化

研究項目A03 : 「植物細胞場」解析技術開発

本項目は環境感覚の舞台である「植物細胞場」を解析するための新技術開発を、他の研究項目の研究者と連携して行うことを目的としている。計画研究では、1) 動物細胞では研究が始まっているが細胞壁を持つ植物細胞ではまだ例のない「単一細胞遺伝子発現解析技術」の開発、およびそれを利用した遺伝子発現応答の解析、2) 植物組織・器官における代謝産物の「質量顕微鏡による高空間分解能解析法」の開発とその応用、3) 「フェムト秒レーザーを用いた植物細胞の微細操作技術と局所刺激技術の開発」とその応用を目指しており、公募研究ではこれらを補完する幾つかの技術開発とその応用研究を目標としている。

—遺伝子発現解析技術の開発—

・計画研究キ (神原班) による「単一細胞遺伝子発現解析技術」開発は、現時点では、動物浮遊細胞で成功している単一細胞レベルには到達していない。しかし、1) 植物細胞固有の2つの問題点、細胞壁によるmRNA抽出の阻害、液胞内核酸分解酵素によるmRNAの分解、をクリアーするために、微少ポンチによる微小切片の高速採取法を開発し、さらに新しいcDNAライブラリー作製法も開発し、両者の特許出願を行った。2) 多

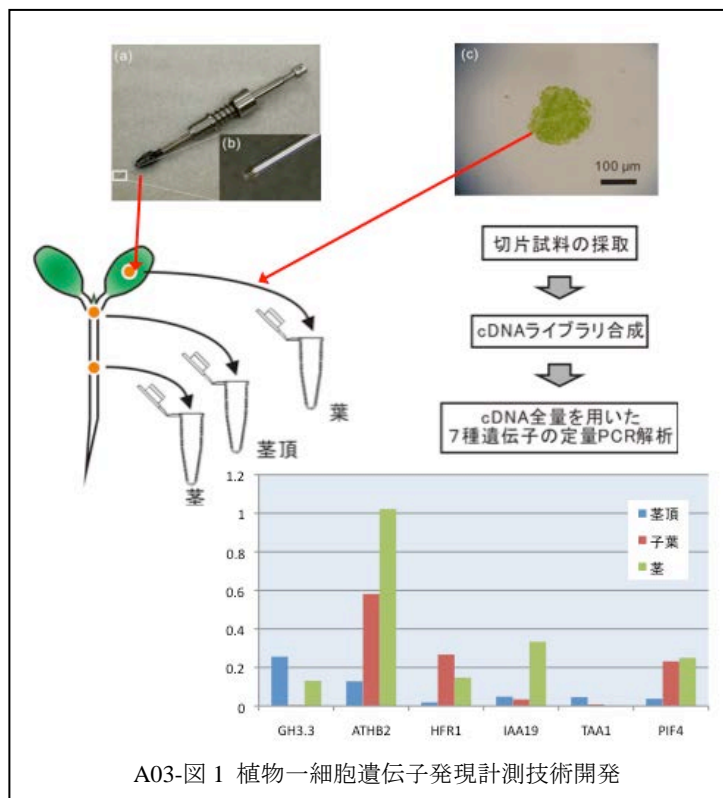
数の試料を効率よく定量解析するためにカギとなる洗浄工程の自動化技術を開発した。3) 同技術を用いて、シロイヌナズナ芽生え1本の異なる部位について、6種類の避陰応答遺伝子の発現誘導を比較した (A01長谷班との共同研究) (A03-図1)。今後、光応答にともなう微小場での網羅的遺伝子発現解析への試用を予定している。そこで改良を重ねた後に、単一細胞や他の環境応答研究への応用を進める。

・公募研究A02.01 (綿引班)

は、遺伝子発現を可視化するイメージング技術を用いて、植物ホルモンオーキシンの初期応答反応解析を進めた。応答プロモーターをもつ様々な発光レポータータンパク質の解析を行い、ルシフェリンが最適であることを見出し、化学発光イメージングによりそれを可視化することに成功した。

・公募研究A02.02 (山本班)

では、プロモーターに関する情報解析を進め、次世代シーケンサーを用いてシロイヌナズナのタンパク質をコードする遺伝子の87%についてプロモーターの位置決定を行うことに成功し、それに基づく



A03-図1 植物一細胞遺伝子発現計測技術開発

転写制御配列発見スキームの開発を行った。これを利用して、UVB応答及び強光ストレス応答を担う新規転写制御配列を同定した。

・公募研究A02.06 (浦和班)

では、赤外線照射により熱ショック応答を誘導し、目的遺伝子を発現させるIR-LEGO (InfraRed Laser Evoked Gene Operator) 法を用いて、特定の遺伝子を特定の部位で発現させる技術の開発を目指している。この手法の植物における使用法の確立を目指し、1) シロイヌナズナ芽生えへの照射条件等を検討し、A01長谷班と共同で一細胞発現誘導のための基礎データを集めている。2) Cre/loxPシステムを用いたGatewayシステムのディスティネーションベクターを作製し、他班との共同研究に供するためのシステム構築を行っている。

・公募研究A02.05 (永田班)

では、葉緑体の形態に注目し、遺伝子発現とオルガネラ構造との相関から遺伝子機能の予測を行う新技術の開発とデータベースの構築を進めている。これまでに約70ラインの葉緑体変異体の葉緑体を網羅的に電子顕微鏡による形態観察を行い、遺伝子機能とオルガネラ構造を結びつける有用な知見を得た。この解析には、組織全体に渡る広域高解像度の電子顕微鏡画像が必要である。そのためにPCにより電子顕微鏡を制御して1万枚を超える画像を自動取得できる装置、および得られた画像の結合ソフトウェアの開発を行った。

ーフェムト秒レーザーを用いた植物細胞の微細操作技術と局所刺激技術の開発ー

・計画研究ケ (細川班)

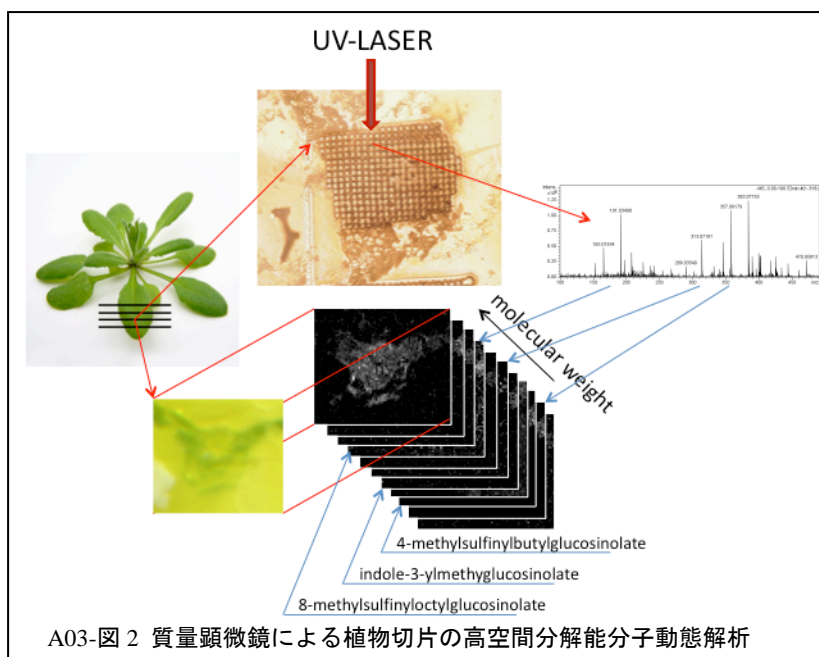
では、高強度のフェムト秒レーザーを顕微鏡で集光すると、集光点でマイクロレベルのレーザーアブレーションや爆発現象が生じることを利用して、

単一の植物生細胞を加工・操作する新技術を開発し、これを用いた新しい植物機能解析法を確立しようとしている。これまでに、1) 共焦点蛍光像を観察しながらレーザー加工できるシステム、2) 試料を凍結状態に保持しながらレーザー照射して観察できるシステム、を確立し、3) レーザーと原子間力顕微鏡の組み合わせによる内部応力計測システム構築を行った。これらのシステムの一部は既に領域内に公開され、他班との共同研究の成果として、4) A01長谷班と共同でシロイヌナズナ芽生えの維管束をレーザー加工してオーキシン応答を調べる実験を行い、避陰反応におけるオーキシン以外のシグナル因子の存在を示した。また、5) A02西村班と共同で、暗所と明所におけるペルオキシソームと葉緑体の相互作用力の計測に成功した。

-質量顕微鏡による高空間分解能解析法-

・計画研究ク（高橋勝利班）

では、質量顕微鏡による高空間分解能分子動態解析法を開発している。1) まず測定の微小精密制御化のハードウェアシステムの改善と制御ソフトウェアの開発を行った。2) 次に植物試料調製時の問題である細胞壁処理に関して、急速凍結法、極低温薄切法、氷温凍結乾燥法を組み合わせ用い、シロイヌナズナの葉の40ミクロン厚の乾燥切片を作成した。



A03-図2 質量顕微鏡による植物切片の高空間分解能分子動態解析

3) マトリクスの選定、塗布法に関しても条件検討を行い（A01長谷班との共同研究）、4) 10~20ミクロンの空間分解能でシロイヌナズナの葉の切片の質量顕微鏡測定を行う事に成功した（A03-図2）。

-その他の新技術の開発-

・公募研究A03.04（中迫班）では、1) Spring8に新規開発されたX線自由電子レーザーによる植物オルガネラ・細胞のX線イメージングを目指し、葉緑体や単細胞性の紅藻などの非結晶粒子について、高干渉性X線回折顕微鏡法による構造解析を行い、葉緑体の1粒子構造を得ることができた。2) A02徳富班と共同で、環境感覚受容分子のX線による構造解析プラットフォームを立ち上げ、他の研究班との共同研究を開始するとともに、A02徳富班と共同で青色光受容体フォトトロピンの分子構造解析などで成果をあげた。

・公募研究A03.03（岩田班）では、近年細胞内環境制御の重要因子と考えられるようになったオルガネラや細胞内の酸化還元状態を知るために、フォトトロピンのLOVのようなフラビン結合光センサードメインを鋳型に、酸化還元状態に応答して蛍光強度が可逆的に変化する蛍光プローブタンパク質の開発を目指し、LOVドメインの遺伝子へのランダム変異導入と大腸菌体でのスクリーニングを行った結果、光依存的な還元反応が鋳型LOVとは異なる変異体を見出した。

7. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）

（1）主要な論文等一覧

★原著論文（査読有り）

計画研究 70 件、公募研究 82 件、合計 152 件

－研究項目 A01 計画班 28 件（主要な論文 13 件を記載）－

- Oka, Y., Ono, Y., Toledo-Ortiz, G., Kokaji, K., Matsui, M., Mochizuki, N. and *Nagatani, A. (2012) *Arabidopsis* phytochrome A is modularly structured to integrate the multiple features that are required for a highly sensitized phytochrome. *Plant Cell*, (in press)
- *Ahamed, A., Murai-Hatano, M., Sakurai-Ishikawa, J., Hayashi, H., Kawamura, Y. and Uemura, M. (2012) Cold-stress-induced acclimation in rice is mediated by root-specific aquaporins. *Plant Cell Physiol.* (in press).
- Nakayama, M., Kaneko, Y., Miyazawa, Y., Fujii, N., Higashitani, N., Wada, S., Ishida, H., Yoshimoto, K., Shirasu, K., Yamada, K., Nishimura, M. and *Takahashi, H. (2012) A possible involvement of autophagy in amyloplast degradation in columella cells during hydrotropic response of *Arabidopsis* roots. *Planta* (in press).
- Aihara, Y., Yamamoto, T., Okajima, K., Yamamoto, K., Suzuki, T., Tokutomi, S. Tanaka, K. and *Nagatani, A. (2012) Mutations in the N-terminal flanking region of the blue-light sensing domain LOV2 disrupt its repressive activity on the kinase domain in the *Chlamydomonas* Phototropin. *J. Biol. Chem.* 287: 9901-9909.
- Li, B., Takahashi, D., Kawamura, Y. and *Uemura, M. (2012) Comparison of plasma membrane proteomic changes of *Arabidopsis* suspension cells (T87 line) after cold and abscisic acid treatment in association with freezing tolerance development. *Plant Cell Physiol.* 53: 542-554.
- Watanabe, C., *Fujii, N., Yanai, K., Hotta, T., Kim, D., Kamada, M., Sasagawa-Saito, Y., Nishimura, T., Koshiba, T., Miyazawa, Y., Kim, K. and Takahashi, H. (2012) Gravistimulation changes the accumulation pattern of the CsPIN1 auxin efflux facilitator in the endodermis of the transition zone in cucumber seedlings. *Plant Physiol.* 158: 239-251.
- Kozuka, T., Kong, S-G, Doi, M., Shimazaki, K. and *Nagatani, A. (2011) Tissue-autonomous promotion of palisade cell development by phototropin 2 in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23: 3684-95.
- Moriwaki, T., *Yutaka M., Kobayashi, A., Uchida, M., Watanabe, C., Fujii, N. and Takahashi, H. (2011) Hormonal regulation of lateral root development in *Arabidopsis* modulated by MIZ1 and requirement of GNOM activity for MIZ1 function. *Plant Physiol.* 157: 1209-1220.
- Toledo-Ortiz, G., Kiryu, Y., Kobayashi, J., Kim, Y., Nam, H.G., Mochizuki, N. and *Nagatani, A. (2010) Subcellular sites of the signal transduction and degradation of phytochrome A. *Plant Cell Physiol.* 51: 1648-1660.
- Jang, I.C., Henriques, R., Seo, H.S., Nagatani, A. and *Chua, N.H. (2010) *Arabidopsis* PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR proteins promote phytochrome B polyubiquitination by COP1 E3 ligase in the nucleus. *Plant Cell* 22:2370-2383.
- *Kozuka, T., Kobayashi, J., Horiguchi, G., Demura, T., Sakakibara, H., Tsukaya, H. and Nagatani, A. (2010) Involvement of auxin and brassinosteroid in the regulation of petiole elongation under the shade. *Plant Physiol.* 153: 1608-1618.
- Yamazaki, T., Takata, N., Uemura, M. and *Kawamura, Y. (2010) *Arabidopsis* synaptotagmin SYT1, a type I signal-anchor protein, requires tandem C2 domains for delivery to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 285: 23165-23176.
- Sakata, T., Oshino, T., Miura, S., Tomabeche, M., Tsunaga, Y., Higashitani, N., Miyazawa, Y., Takahashi, H., Watanabe, M. and *Atsushi H. (2010) Auxin reverses plant male sterility caused by high temperatures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 8569-8574.

－研究項目 A01 公募班 29 件（主要な論文 17 件を記載）－

- Fu, Z., Yan, S., Saleh, A., Wang, W., Ruble, J., Oka, N., Mohan, R., Spoel, S.H., Tada, Y., Zheng, N., *Dong, X., (2012) NPR3 and NPR4 are receptors of the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* (in press)
- Shikata, H., Nakashima, M., Matsuoka, K. and *Matsushita, T. (2012) Deletion of the RS domain of RRC1 impairs phytochrome B signaling in *Arabidopsis* *Plant Signal. Behav.* (in press)
- Takemiya, A., Yamauchi, S., Yano, T., Ariyoshi, C. and *Shimazaki, K. (2012) Identification of a regulatory subunit of protein phosphatase 1 which mediates blue light signaling for stomatal opening. *Plant Cell Physiol.* (in press).
- Hitomi, K., Arvai, AS., Yamamoto, J., Hitomi, C., Teranishi, M., Hirouchi, T., Yamamoto, K., Iwai, S., Tainer, JA., Hidema, J. and *Getzoff, ED. (2012) Eukaryotic Class II CPD photolyase structure reveals a basis for improved UV-tolerance in plants. *J. Biol. Chem.* 287: 12060-12069.
- *Sakai, T., Mochizuki, S., Haga, K., Uehara, Y., Suzuki, A., Harada, A., Wada, T., Ishiguro S. and Okada K. (2012) The WAVY GROWTH 3 E3 ligase family controls the gravitropic response in *Arabidopsis* roots. *Plant J.* 70: 303-314.
- Shikata, H., Shibata, M., Ushijima, T., Nakashima, M., Kong, SG., Matsuoka, K., Lin, C. and *Matsushita, T. (2012) The RS domain of *Arabidopsis* splicing factor RRC1 is required for phytochrome B signal transduction *Plant J.* 70: 727-738.
- Takahashi, M., Teranishi, M., Ishida, H., Kawasaki, J., Takeuchi, A., Yamaya, T., Watanabe, M., Makino, A. and *Hidema, J. (2011) CPD photolyase repairs ultraviolet-B-induced CPDs in rice chloroplast and mitochondrial DNA. *Plant J.* 66: 433-442.
- *Miura, K., Ohta, M., Nakazawa, M., Ono, M., and Hasegawa, P.M. (2011) ICE1 Ser403 is necessary for protein stabilization and regulation of cold signaling and tolerance. *Plant J.* 67: 269-279.
- *Miura, K., Sato, A., Ohta, M., and Furukawa, J. (2011) Increased tolerance to salt stress in the phosphate-accumulating *Arabidopsis* mutants *siz1* and *pho2*. *Planta* 234: 1191-1199.
- Mashiguchi, K., Tanaka, K., Sakai, T., Sugawara, S., Kawaide, H., Natsume, M., Hanada, A., Yaeno, T., Shirasu, K., Yao, H., McSteen, P., Zhao, Y., Hayashi, K., Kamiya Y. and *Kasahara H. (2011) The main auxin biosynthesis pathway in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 18512-18517.
- *Suzuki A., Suriyagoda, L., Shigeyama, T., Tominaga, A., Sasaki, M., Hiratsuka, Y., Yoshinaga, A., Arima, S., Agarie, S., Sakai, T., Inada, S., Jikumaru, Y., Kamiya, Y., Uchiumi, T., Abe, M., Hashiguchi, M., Akashi, R., Sato, S., Kaneko, T., Tabata S. and Hirsch, A. M. (2011) Lotus japonicus nodulation is photomorphogenetically controlled by sensing the R/FR ratio through JA signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 16837-16842.
- Yamano, T., Fujita, A., *Fukuzawa, H., (2011) Photosynthetic characteristics of a multicellular green alga *Volvox carteri* in response to external CO₂ levels possibly regulated by CCM1/CIA5 ortholog. *Photosynthesis Res.* 109: 151-159.
- Aki, S., Nakai, H., Aoyama, T., Oka, A. and *Tsuge T. (2011) *AtSAP130/AtSF3b-3* function is required for reproduction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 52: 1330-1339.
- *Tsuge T., Menon S, Tong Y, Wei N. (2011) CSN1 inhibits c-Jun phosphorylation and down-regulates ectopic expression of JNK1. *Protein Cell* 2: 423-432.
- *Furumoto, T., Yamaguchi, T., Ohshima-Ichie, Y., Nakamura, M., Iwata, Y., Shimamura, M., Ohnishi, J., Hata, S., Gowik, U., Westhoff, P., Bräutigam, A., Weber, A. and Izui, K. (2011) Identification of a plastidial sodium-dependent pyruvate transporter. *Nature* 476: 472-475.
- Wang, W., Barnaby, JY., Tada, Y., Li, H., Tor, M., Caldelari, D., Lee, DU., Fu, XD., *Dong, X. (2011) Timing of plant immune responses by a central circadian regulator., *Nature* 470: 110-114.
- Oka, Y., Kong, SG. and *Matsushita, T. (2011) A non-covalently attached chromophore can mediate phytochrome B signaling in *Arabidopsis* *Plant Cell Physiol.* 52: 2088-2102.

— 研究項目 A02 計画班 25 件 (主要な論文 13 件を記載) —

- Tanaka, K., Nakasone, Y., Okajima, K., Ikeuchi, M., Tokutomi, S. and *Terazima, M. (2012) Time-Resolved Tracking of Interprotein Signal Transduction: *Synechocystis* PixD-PixE complex as a Sensor of Light Intensity. *J. Amer. Chem. Soc.* (in press).
- Kawachi, M., Kobae, Y., Kogawa, S., Mimura, T., Krämer, U., *Maeshima, M. (2012) Amino acid screening based on structural modeling identifies critical residues for function, ion selectivity and structure of *Arabidopsis* MTP1. *FEBS J.* (in press).
- Goh, T., Joi, S., Mimura, T., *Fukaki, H. (2012) The establishment of asymmetry in *Arabidopsis* lateral

- root founder cells is regulated by LBD16/ASL18 and related LBD/ASL proteins. *Development* 139: 883-893.
- Okajima, K., Matsuoka, D. and *Tokutomi, S. (2011) LOV2-linker-kinase phosphorylates LOV1-containing N-terminal polypeptide substrate via photoreaction of LOV2 in Arabidopsis phototropin1. *FEBS Lett.* 585: 3391-3395.
- Takayama, Y., *Nakasako, M., Okajima, K., Iwata, A., Kashojiya, S., Matsui, Y. and *Tokutomi, S. (2011) Light-Induced movement of the LOV2 domain in an Asp720Asn mutant LOV2-Kinase fragment of Arabidopsis phototropin 2. *Biochemistry* 50: 1174-1183.
- Mano, S., Miwa T., Nishikawa, S., Mimura, T., *Nishimura, M. (2011) The Plant Organelles Database 2 (PODB2): an updated resource containing movie data to address plant organelle dynamics. *Plant Cell Physiol.* 52: 244-253.
- Oikawa, A., Matsuda, F., Kikuyama, M., Mimura, T., *Saito, K. (2011) Metabolomics of a single vacuole reveals metabolic dynamism in an alga *Chara australis*. *Plant Physiol.* 157: 544-551.
- *Mano, S., Nakamori, C., Fukao, Y., Araki, M., Kondo, M. and *Nishimura, M. (2011) Defects of peroxisomal membrane protein 38 causes enlargement of peroxisomes. *Plant Cell Physiol.* 52: 2157-2172.
- Goto, S., Mano, S., Nakamori C., and *Nishimura, M. (2011) Arabidopsis ABERRANT PEROXISOME MORPHOLOGY9 is a peroxin that recruits of the PEX1/PEX6 complex to peroxisomes. *Plant Cell* 23: 1573-1587.
- Mano, S., Niwa, T., Nishikawa, S., Mimura, T. and *Nishimura, M. (2011) The Plant Organelles Database 2 (PODB2) : An update containing movie data of plant organelle dynamics. *Plant Cell Physiol.* 52: 244-253.
- Nakasone, Y., Zikihara, K., Tokutomi, S. and *Terazima, M. (2010) Kinetics of conformational changes of the FKFI-LOV domain upon photoexcitation. *Biophys. J.* 99: 3831-3839.
- Kawaguchi, Y., Nakasone, Y., Zikihara K., Tokutomi, S. and *Terazima, M. (2010) When is the helix conformation restored after the reverse reaction of Phototropin? *J. Amer. Chem. Soc.* 132: 8838-8839.
- Shirakawa, M., Ueda, H., Shimada, T., Nishiyama, C., Kondo, M., Takahashi, T., Okuyama, Y., Nishimura, M. and *Hara-Nishimura, I. (2010) Arabidopsis Qa-SNARE SPY2 proteins localized to different subcellular regions function redundantly in vacuolar protein sorting and plant development. *Plant J.* 64: 924-935.
- Kanai, M., Nishimura, M. and *Hayashi, M. (2010) A peroxisomal ABC transporter promotes seed germination by suppressing polygalacturonase inhibiting proteins under the control of *ABI5*. *Plant J.* 62: 936-947.

— 研究項目 A02 公募班 39 件 (主要な論文 19 件を記載) —

- *Hanaoka, M., Takai, N., Hosokawa, N., Fujiwara, M., Akimoto, Y., Kobori, N., Iwasaki, H., Kondo, T. and Tanaka, K. (2012) RpaB, another response regulator operating circadian clock-dependent transcriptional regulation in *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *J. Biol. Chem.* (in press).
- Ishizaki, K., Nonomura, M., Kato, H., Yamato, K. T. and *Kohchi, T. (2012) Visualization of auxin-mediated transcriptional activation using a common auxin-responsive reporter system in the liverwort *Marchantia polymorpha*. *J. Plant Res.* 125 (in press).
- Tsuboi, H., Nakamura, S., Schäfer, E. and *Wada, M. (2012) Red light-induced phytochrome relocation into the nucleus in *Adiantum capillus-veneris*. *Mol. Plant* (in press).
- Wang, F., Liu, P., Zhang, Q., Zhu, J., Chen, T., Arimura, S. I., Tsutsumi, N. and *Lin, J. (2012) Phosphorylation and ubiquitination of Dynamin related proteins (AtDRP3A/3B) synergically regulate mitochondrial proliferation during mitosis. *Plant J.* (in press).
- Hirooka, S., Hanaoka, M., Enami, K., Kanazawa, T., Sone, T., Imoto, Y., Ando, A., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T. and *Tanaka, K. (2012) Nuclear-encoded plastid sigma factor SIG6 exclusively contributes to chloroplast differentiation in plastid differentiation of Arabidopsis thaliana. *Cytologia* 77: 73-82.
- Goto, Y., Tokunaga, F. and *Hisatomi, O. (2012) Hematological- and neurological-expressed sequence 1 gene products in progenitor cells during newt retinal development. *Stem Cells Internatl.* vol. 2012, 6 pages.
- Takatsuka, C., Inoue, Y., Higuchi, T., Hillmer, S., Robinson, D. G. and *Moriyasu, Y. (2011) Autophagy in tobacco BY-2 cells cultured under sucrose starvation conditions: Isolation of the autolysosome and

- its characterization. *Plant Cell Physiol.* 52: 2074-2087.
- *Hamada, T., Tominaga, M., Fukaya, T., Nakamura, M., Nakano, A., Watanabe, Y., Hashimoto, T. and Baskin, T.I. (2012) RNA processing bodies, peroxisomes, Golgi bodies, mitochondria, and Endoplasmic Reticulum tubule junctions frequently pause at cortical microtubules. *Plant Cell Physiol.* 53: 699-708.
- Izawa, T., Nagai, H., Endo, T. and *Nishikawa, S. (2012) Yos9p and Hrd1p mediate ER retention of misfolded proteins for ER-associated degradation. *Mol. Biol. Cell* 23: 1283-1293.
- Tsuboi, H. and *Wada, M. (2012) Distribution pattern changes of actin filaments during chloroplasts movement in *Adiantum capillus-veneris*. *J. Plant Research* 125: 417-428.
- Oh-ye, Y., Inoue, Y. and *Moriyasu, Y. (2011) Detecting autophagy in Arabidopsis roots by membrane-permeable cysteine protease inhibitor E-64d and endocytosis tracer FM4-64. *Plant Signal. Behav.* 6: 1-4.
- Enami, K., Ozawa, T., Motohashi, N., Nakamura, M., Tanaka, K. and *Hanaoka, M. (2011) Plastid-to-nucleus retrograde signals are essential for expression of nuclear starch biosynthesis genes during amyloplast differentiation in tobacco BY-2 cultured cells. *Plant Physiol.* 157: 518-530.
- Nakano, M., Iida, K., Nyunoya, H., and *Iida, H. (2011) Determination of structural regions important for Ca²⁺ uptake activity in Arabidopsis MCA1 and MCA2 expressed in yeast. *Plant Cell Physiol.* 52: 1915-1930.
- Fujiu, K., Nakayama, Y., Iida, H., Sokabe, M., and *Yoshimura, K. (2011) Mechanoreception in motile flagella of *Chlamydomonas*. *Nauret. Cell Biol.* 13: 630-633.
- Toyooka, T., Hisatomi, O., Takahashi, F., Kataoka, H. and *Terazima, M. (2011) Photoreactions of Aureochrome-1. *Biophys J.* 100: 2801-2809.
- Iwata, E., Ikeda, S., Matsunaga, S., Kurata, M., Yoshioka, Y., Criquid, M.-C., Genschik, P. and *Ito, M. (2011) GIGAS CELL1, a novel negative regulator of APC/C, is required for proper mitotic progression and cell fate determination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23: 4382-4393.
- Sakamoto, T., Tsujimoto-Inui, Y., Uraguchi, S., Yoshizumi, T., Matsunaga, S., Mastui, M., Umeda, M., Fukui, K. and *Fujiwara, T. (2011) Condensin II alleviates DNA damage and is essential for tolerance of B overload stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 23: 3533-3546.
- Adachi, S., Minamisawa, K., Okushima, Y., Inagaki, S., Yoshiyama, K., Kondou, Y., Kaminuma, E., Kawashima, M., Toyoda, T., Matsui, M., Kurihara, D., Matsunaga, S. and *Umeda, M. (2011) Programmed induction of endoreduplication by DNA double-strand breaks in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 10004-10009.
- Ichikawa, S., Yamada, N., Suetsugu, N., Wada, M. and *Kadota, A. (2011) Red light, phot1 and JAC1 modulate phot2-dependent reorganization of chloroplast actin filaments and chloroplast avoidance movement. *Plant Cell Physiol.* 52: 1422-1432.

— 研究項目 A03 計画班 17 件 (主要な論文 7 件を記載) —

- *Hosokawa, Y., Masuhara, H. and Kaji, T. (2012) Three-dimensional analysis of tightly focused femtosecond laser beam and shockwave propagations in water *Int. J. Optomechatronics* (in press).
- Fukui, K. and *Takahashi, K. (2012) Infrared Multiple Photon Dissociation Spectroscopy and Computational Studies of O-Glycosylated Peptides. *Analyt. Chemistry* 84: 2188-2194.
- Miura, D., Tsuji, Y., Takahashi, K., *Wariishi, H. and Saito, K. (2011) A Strategy for the Determination of the Elemental Composition by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry Based on Isotopic Peak Ratios *Analyt. Chemistry* 82: 5887-5891.
- Yukihira, D., Miura, D., Saito, K., Takahashi, K. and *Wariishi, H. (2011) MALDI-MS-Based High-Throughput Metabolite Analysis for Intracellular Metabolic Dynamics. *Analyt. Chemistry* 82: 4278-4282.
- *Hosokawa, Y., Hagiwara, M., Iino, T., Murakami, Y. and *Ito, A. (2011) Non-contact Estimation of Intercellular Breaking Force Using Femtosecond Laser Impulse Quantified by Atomic Force Microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 1777-1782.
- Maizawa, Y., Okano, K., Matsubara, M., Masuhara, H. and *Hosokawa, Y. (2011) Morphological Evaluation of Cell Differentiation after The Isolation of Single Cells by a Femtosecond Laser-Induced Impulsive Force *Biomed. Microdev.* 13: 117-122.
- *Hosokawa, Y., Ochi, H., Iino, T., Hiraoka, A. and *Tanaka, M. (2011) Photoporation of biomolecules into single cells in living vertebrate embryos induced by a femtosecond laser amplifier *PLoS ONE* 6:

e27677_1- e27677_7.

Maezawa, Y. *Hosokawa, Y., Okano, K., Matsubara, M. and Masuhara, H. (2010) In Situ Observation of Cell-Detachment Process Initiated by Femtosecond Laser-Induced Stress Wave. *Appl. Phys. A* 101: 127-131.

—研究項目 A03 公募班 13 件（主要な論文 7 件を記載）—

Kumar, S., Yoshizumi, T., Hongo, H., Yoneda, A., Hara, H., Hamasaki, H., Takahashi, N., Nagata, N., Shimada, H. and *Matsui M. (2012) *Arabidopsis* mitochondrial protein TIM50 affects hypocotyl cell elongation through intracellular ATP level. *Plant Sci.* 183: 212-217.

*Yamamoto, Y.Y., Yoshioka, Y., Hyakumachi, M. and Obokata, J. (2011) Characteristics of core promoter types with respect to gene structure and expression in *Arabidopsis thaliana*. *DNA Res.* 18: 333-342.

*Yamamoto, Y.Y., Yoshioka, Y., Hyakumachi, M., Maruyama, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Tokizawa, M. and Koyama, H. (2011) Prediction of transcriptional regulatory elements for plant hormone responses based on microarray data. *BMC Plant Biol* 11: 39.

Iwata, T., Watanabe, A., Iseki, M. Watanabe, M. and *Kandori, H. (2011) Strong Donation of the Hydrogen Bond of Tyrosine during Photoactivation of the BLUF Domain *J. Phys. Chem. Lett.* 2. 1015-1019.

Zhang, Y., Iwata, T., Yamamoto, J., Hitomi, K., Iwai, S., Todo, T. Getzoff, E. D. and *Kandori, H. (2011) FTIR Study of Light-Dependent Activation and DNA Repair Processes of (6-4) Photolyase *Biochemistry* 50: 3591-3598.

Takayama, Y. and *Nakasako, M. (2011) A few low-frequency normal modes predominantly contribute to conformational responses of hen egg white lysozyme in the tetragonal crystal to variations of molecular packing controlled by environmental humidity. *Biophys. Chem.* 159: 237-246.

Kodama, W. and *Nakasako, M. (2011) Application of real-space three-dimensional image reconstruction method in the structural analysis of non-crystalline biological particles in water envelop by coherent X-ray diffraction microscopy *Physical Review E* 84, 021902 (15 pages)

★総説等（査読有り）

計画研究 11 件、公募研究 10 件、合計 21 件

—計画班（主要な総説 2 件を記載）—

*Miyazawa, Y., Yamazaki, T., Moriwaki, T. and Takahashi, H. (2011) “Root tropisms: its mechanism and possible functions in drought avoidance”, In Turkan I. (eds.) Plant responses to drought and salinity stress: development in a post-genomic era. *Adv. Bot. Res.* 57: 349-375.

*Nagatani, A. (2010) Phytochrome: structural basis for its functions., *Curr. Opin. Plant Biol.* 13: 565-570.

—公募班（主要な総説 2 件を記載）—

Sato, A., and *Miura, K. (2011) Root architecture remodeling induced by phosphate starvation. *Plant Signal. Behav.* 6: 1122-1126.

Kodama, Y., Suetsugu, N. and *Wada, M. (2011) Novel protein-protein interaction family proteins involved in chloroplast movement response. *Plant Signal. Behav.* 6: 483-490.

★総説等（査読無し）

計画研究 6 件、公募研究 12 件、合計 18 件

★特許

計画研究 2 件、公募研究 0 件、合計 2 件

—A03. 計キ（梶山）出願 2 件—

産業財産権の名称：洗浄装置

発明者：梶山智晴、他

権利者：日立

特許、特願 2011-264051 2011 年 12 月 1 日 国内

植物組織採取方法及び植物遺伝子解析方法

発明者：梶山智晴、他

権利者：日立

特許、特願 2012-037593 2012 年 2 月 23 日 国内

(2) ホームページについて

—領域ホームページ—

本領域のホームページは平成 22 年 9 月 24 日に、京都大学内のサーバー

<http://physiol2.bot.kyoto-u.ac.jp/~Kaken/>

に公開され、平成 23 年 4 月 6 日に、“Environment Sensing of Plants”を“esplant”と略したドメインを購入し、外部サーバーに

<http://esplant.net>

として公開された。

ホームページには、領域の概要、組織メンバー、研究概要、会議・シンポジウムの案内、原著論文などの研究成果、求人案内、ニュースレターが公開情報として記載している。ワークショップや本年 3 月に行われた国際会議の受付申請にも本ホームページが利用された。本年 6 月からアクセス解析を開始したが、シンポジウムや公募のない平時であるにもかかわらず、数百件／日のアクセス数がある日があった。ここから、イベント発生時には数千件／日のアクセスがあったものと推測され、多くの研究者のデータソースとして利用されていると考えられる。

—オルガネラデータベース—

環境刺激に応答したオルガネラの動態の研究成果を全世界に発信するため、

“The Plant Organelles Database 2”

<http://podb.nibb.ac.jp/Organelleme/>

を、本領域で支援し、コンテンツのアップデートと登録レコード数の増加を図った。

本データベースは、本領域内に限らず、日本から全世界に情報を発信することが、今後の植物科学の発展とさらには日本の科学の世界における地位を確立するためにも重要であるということを考え、全てを英語で一般に公開している。サーバーは基礎生物学研究所で管理し、本領域のホームページにリンクされている。

本データベースは、オルガネラの動きや 3 次元回転像を収集した「Organelles Movie

Database]、オルガネラの静止画像を集めた「Organelome Database」、解析法を集めた「Functional Analysis Database」、および外部へのリンク集を集めた「External Links」という4つのコンテンツから構成されていたが、新たに環境刺激に応答したオルガネラの動態に特化したコンテンツ「Perceptive Organelles Database」を平成24年5月に公開した。光や水、温度など11種類の環境刺激のキーワードで検索可能となっている。

本データベースに含まれる各コンテンツのURLは以下のとおりである。

Perceptive Organelles Database 検索ページ：

<http://podb.nibb.ac.jp/Organelome/bin/findStimulus.php?status=>

Organelles Movie Database 検索ページ：

<http://podb.nibb.ac.jp/Organelome/bin/findMovie.php?status=>

Organelome Database 検索ページ：

<http://podb.nibb.ac.jp/Organelome/bin/findChannel.php?status=>

Functional Analysis Database 検索ページ：

<http://podb.nibb.ac.jp/Organelome/bin/findFunctional?status=>

External Links：

<http://podb.nibb.ac.jp/Organelome/bin/listLinks.php>

(3) 公開発表について

—国際シンポジウム（本領域主催）—

- ・ The 1st International Symposium on Plant Environmental Sensing
2012年3月19日～21日、奈良東大寺総合文化センター、オーガナイザー：長谷あきら他、参加者：国内約120名、海外10名



—国内シンポジウム他（領域企画または共催）—

- ・ 第84回日本生化学会大会
シンポジウム「植物の環境感覚-刺激受容機構を中心に」、2011年9月21日～9月24日、京都国際会館、オーガナイザー：長谷あきら・徳富哲、参加者：約70名
- ・ 第52回日本植物生理学会年会
シンポジウム10「Application of high technology to frontier research of plant adaptation to environment.」2011年3月20日～22日を予定、東日本大震災のため要旨集をもって開催とみなすことになった、東北大学、オーガナイザー：徳富哲・細川陽一郎
- ・ 第53回日本植物生理学会年会
シンポジウム17「New technology for frontier research of plant environmental perception.」、2012年3月16日～18日、京都産業大学、オーガナイザー：三村徹郎・細川陽一郎、参加者：約50名
- ・ 第12回日本蛋白質科学会
ワークショップ2WF「植物の環境感覚をささえる多様な蛋白質機能」2012年6月20日～22日、名古屋国際会議場、オーガナイザー：徳富哲・西川周一、参加者：約50名

- ・(社) 日本植物学会第 76 回大会
シンポジウム「植物の低温応答におけるカルシウムの役割」2012 年 9 月 15 日
～17 日 (予定)、兵庫県立大学、オーガナイザー：上村松生

—領域主催、技術支援ワークショップ（講義と実習）—

- ・新学術領域研究「植物環境感覚」第 1 回ワークショップ
「植物環境応答タンパク質の構造研究 1 -大量発現、X線小角散乱と結晶化-」
2011 年 9 月 14-15 日、大阪府立大学。オーガナイザー：徳富哲・中迫雅由、参加者：28 名
- ・新学術領域研究「植物環境感覚」第 2 回ワークショップ
「無細胞タンパク質合成」2011 年 12 月 13 日、香川大学、オーガナイザー：多田安臣、参加者：35 名
- ・新学術領域研究「植物環境感覚」第 3 回ワークショップ
「フェムト秒レーザーを用いた植物細胞のマイクロプロセス講習会」、2012 年
4 月 12 日、奈良先端科学技術大学院大学、オーガナイザー：細川陽一郎、参加者：17 名
- ・新学術領域研究「植物環境感覚」第 4 回ワークショップ
「IR-LEGO を用いた遺伝子発現誘導法 (仮)」2012 年 10 月 18 日～19 日、基礎生物学研究所、オーガナイザー：浦和博子

—その他、班員が中心となって開催した国際会議のシンポジウムなど—

- ・The 5th International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis、Tokyo、2011 年 3 月 3 日～4 日、Chair：神原秀記
- ・The 28th International Symposium on Space Technology and Science、「Session on Space Biology」、Okinawa、2011 年 6 月 5 日～12 日、Organizer：高橋秀幸
- ・9th International Plant Cold Hardiness Seminar「Low temperature adaptation in a changing world」、Luxembourg、2011 年 7 月 17 日～22 日、Organizer：上村松生
- ・5th Asia and Oceania Conference on Photobiology、Nara、2011 年 7 月 30 日～8 月 1 日、
「Plant photoreceptors and their functions (I)」、Chair：徳富哲
「Plant photoreceptors and their functions (II)」、Chair：長谷あきら
「Plant responses to UV」、Chair：日出間純
「Crosstalk of light and hormone signals in plants」、Chair：飯野盛利
- ・Japan Society for the Promotion of Science Japan-Scandinavia Colloquium「Abiotic Stress from Genes to Biosphere」、Stavanger、Norway、2011 年 8 月 20 日、Chair：上村松生
- ・The 7th International Forum on Post-Genome Technologies、「Tools for Gene Expression Analysis of Single-Cells」、Chongqing、China、2011 年 10 月 28 日～29 日、Organizer and Chair：神原秀記
- ・Plant-Microbe Interactions to the Cold 2012、Sapporo、2012 年 6 月 24 日～28 日、Organizer：上村松生
- ・10th International Congress on Plant Molecular Biology、Jeju、South Korea、2012 年 10 月 21 日～26 日、
「Blue light photoreceptor (仮題)」、Chair：和田正三
「Phytochrome signaling (仮題)」、Chair：長谷あきら
- ・The 6th International Forum On Post-Genome Technologies (予定)、Kyoto、2012 年 11 月 27 日～28 日、Organizer and Honorary Chair：神原秀記

－招待講演－

国際学会（海外）30件、国際学会（国内）28件、国内学会など66件、合計124件

（4）「国民との科学・技術対話」について

本領域で行われている研究成果の社会への還元に関する活動は、大きく以下の4つに分けることができる。領域全体としては、現時点ではインターネットを用いたデータの発信、データベースの構築、さらに一般向け解説に重点を置いている。また、班員各自は独自の努力を進めている。

－領域としての成果公開と一般向け解説の発信－

- ・領域ホームページと一般向けのデータベース「植物オルガネラワールド」で発信

－新聞、テレビ等マスコミ媒体への成果発表、解説－

- ・新聞等による成果発表：
計画研究ケ（細川班）7件、A01 酒井班2件、A01 古本班8件、A02 松永班4件
- ・研究解説：
計画研究ウ（高橋秀幸班）1件（宇宙航空研究開発機構 (JAXA)ホームページ）
A02 森安班1件（埼玉新聞「液胞の形成メカニズムを探る」）、
A03 中迫班1件（BS フジ ガリレオX 加速器最前線）

－初等、中等教育への貢献－

- ・スーパーサイエンスハイスクール等指導、解説委員：7件
- ・出前授業：7件

－市民講座－

- ・教育機関における公開講座：13件
- ・一般公開講座：13件

8. 研究組織と各研究項目の連携状況

概要

本領域では、専門を異にする研究者が集い、その間の密接な連携を通して、植物の環境応答研究のフロンティアを開拓することを目指している。特に、植物を専門としない技術系の研究者と、植物の専門家が協力して、新技術の開発と応用を推進することが領域の最大の特徴である。これを実現するために、総括班が中心となって連携の促進に努めてきた。

特に、**研究項目 A03** については、技術開発がスムーズに進むよう、植物側の計画研究班が積極的に関わる態勢を整えた。また、従来型の技術支援については、計画研究班員による相互支援態勢を確立した。さらに、通常の総括班の活動として、年2回の班会議と年1回の若手の会を開催するとともに、各種学会の機会をとらえて積極的にシンポジウム等を開催し、班員が実際に顔を合わせて議論できる機会を提供した。また、ホームページ、ニュースグループなどを利用して、班員間の連絡に努めた。特筆すべき点として、新技術の紹介と普及を促すための技術系ワークショップ等を積極的に実施した。これらの努力により、現在、120件近くの班員間共同研究が実施または計画中である。

—新技術開発に向けた異分野連携—

本領域の特徴である**研究項目 A03**：「植物細胞場」解析技術開発では、異分野間の連携が鍵をにぎる。以下に、この項目を構成する3計画班と植物側研究者の間の連携の現状について記す。

・**計画研究キ（神原班）**「単一細胞遺伝子発現解析技術」では、本手法の核となる技術の開発を、主に**A01 長谷班**と共同で進めた。本法を植物細胞へ応用するための反応条件の最適化にやや手間取ったが、最近になり、植物微小組織片で再現性良く、複数の遺伝子の mRNA 分子数を測定することに成功した。今後は、**A01 長谷班**が行っている光応答機構の研究への応用を進めるとともに、ワークショップなどを開催して領域内での普及に努める。また、当初は特定の遺伝子の発現のみを対象としていたが、これを網羅的解析に拡張すべく**A01 長谷班**と共同で改良を進める計画である。

・**計画研究ク（高橋勝利班）**「質量顕微鏡による高空間分解能分子動態解析法」では、機材とソフトウェアの開発、および植物切片調製法の確立が進み、まだ空間分解能は低いものの、シロイヌナズナの葉の横断切片で代謝物のイメージを得ることに成功している。一方、**A01 長谷班**と共同で、シロイヌナズナ組織破砕液を用いた予備実験を進め、これまでにない器官特異性を示す光応答代謝物を発見した。これらの結果を受けて、現在、5件の共同研究が領域内で進行中（計画中を含む）である。今後は、**A02 三村班**のメタボローム解析拠点との連携による新メタボローム拠点へと発展させることを検討している。

・**計画研究ケ（細川班）**「フェムト秒レーザーを用いた植物細胞の微細操作技術と局所刺激技術」では、フェムト秒レーザーの特性を生かした植物分野への応用を推進した。その結果、同手法による顕微手術が植物の光応答研究に有効であること（**A01 長谷班**と共同）、同手法を利用してペルオキシソームと葉緑体の相互作用力が計測できること（**A02 西村班**と共同）、などが示され、本法が植物研究分野において新しい領域を切り拓くきっかけとなる可能性が確認された。また、**A03 細川班**が中心になり、遺伝子発現解析のため単一細胞の切出し（**A03 神原班**と共同）、細胞膜穿孔による遺伝子導入（**A01 高橋 秀**班と共同）、力学刺激に対する細胞応答研究（**A01 長谷班**、**A01 多田班**との共同）、組織内の過冷却状態の検出と操作（**A01 上村班**との共同）などの応用の可能性を探っている。設備面では、平成23年度には**A01 長谷班**に追加でフェムト秒レーザーを設置し、

より班員が使いやすい態勢を整えた。また、ワークショップを通じて班員への技術紹介に努め、既に13件の共同研究が進行中（計画中を含む）である。

－基盤技術支援－

本領域では、新技術に加えて従来型のオミックス解析等も引き続き重要と考え、班員に対する基盤技術支援システムを確立し、領域全体の研究の効率化を図った。

・計画研究イ（上村班）では、多種のプロテオーム解析が可能なシステムを構築し、それを利用した基盤技術支援を行っている（6研究班の試料を解析中）。

・計画研究エ（徳富班）では、A03 中迫班と共同でタンパク質構造解析プラットフォームを構築し、結晶構造解析に関するワークショップを開催した（8研究班が共同研究を実施または計画中）。また総括班予算で購入した FTIR 等による構造解析共同研究を計画中である。

・計画研究オ（三村班）では、キャピラリー電気泳動－質量分析計を利用したメタボローム解析のプラットフォームを立ち上げた。現在、領域内の研究者と議論を進め A03 高橋^勝班と連携した新拠点への発展を検討中である。

・計画研究カ（西村班）では、トランスクリプトーム解析拠点を整備し、平成23年度より領域内共同利用として DNA マイクロアレイ解析の運用を開始した（3研究班）。また、環境刺激に応答したオルガネラの動態の研究成果を全世界に発信するため、データベースの更新とコンテンツの追加を進めた。

－技術系ワークショップ－

本領域では、技術面の連携を促進するため、以下のワークショップを開催した。

・タンパク質構造解析（平成23年9月14日、大阪府立大；A02 徳富班、A03 中迫班が担当）タンパク質の構造研究に関する情報・技術を実技を交えて紹介した。現在、これに関連した7件の共同研究が進行中（計画中を含む）である。

・無細胞タンパク質合成（平成23年12月13日、香川大；A01 多田班が担当）多田らが開発した高効率・低コストの無細胞タンパク質合成キットを実技を交えて紹介した。その反響は大きく、すでに14研究班（計画中を含む）がこの技術を導入している。

・フェムト秒レーザー（平成24年4月12日、奈良先端大；A03 細川班が担当）フェムト秒レーザーによる植物細胞加工技術を領域内に普及するため、その性能を実技を交えて紹介した。現在、これに関する13件が進行中（計画中を含む）である。

・一細胞遺伝子発現誘導（IR-LEGO）（平成24年10月18-19日予定、基礎生物学研究所；A03 浦和班が担当）赤外線レーザーを用いた局所的加温により、特定の遺伝子を特定の部位で発現させる技術を実技を交えて紹介する予定である。

加えて、一細胞遺伝子発現計測（A03 神原班）、質量顕微鏡（A03 高橋^勝班）などについても、順次、ワークショップを開催予定である。

－領域内共同研究の実績－

領域が目指すところを実現するには、班員間の連携が不可欠である。現時点で進行中（計画中を含む）の共同研究の数は119件に上り（平均6.6件/研究班）、領域内連携が順調に進んでいることが見て取れる。

- ・新技術に関する共同研究：合計41件
 - 一細胞遺伝子発現解析：2件
 - 質量顕微鏡：5件
 - フェムト秒レーザー：13件
 - 無細胞タンパク質合成：14件

その他：7件

- ・研究項目 A03 と他の項目の間の共同研究：38 件
- ・技術系と植物系の研究者の間の共同研究：24 件
- ・基盤技術支援に関する共同研究：17 件

総括班 植物の環境感覚：刺激受容から細胞応答まで

役割	氏名	所属	職名
研究代表者	長谷 あきら	京都大学	教授
研究分担者	西村 幹夫	基礎生物学研究所	教授
連携研究者	三村 徹郎	神戸大学	教授
連携研究者	上村 松生	岩手大学	教授
連携研究者	高橋 秀幸	東北大学	教授
連携研究者	徳富 哲	大阪府立大学	特命教授
連携研究者	高橋 勝利	産業技術総合研究所	主任研究員
連携研究者	西村 いくこ	京都大学	教授
連携研究者	細川 陽一郎	奈良先端科学技術大学院大学	特任准教授
連携研究者	神原 秀記	株式会社日立製作所	フェロー

A01 個別刺激応答機構

計画研究			
ア) 光に対する植物の細胞応答機構の解析			
研究代表者	長谷あきら	京都大学	教授
連携研究者	望月 伸悦	京都大学	助教
連携研究者	鈴木 友美	京都大学	助教
イ) 植物の低温耐性獲得および喪失における温度刺激・応答機構の高時空間分解解析			
研究代表者	上村 松生	岩手大学	教授
研究分担者	河村 幸男	岩手大学	准教授
ウ) 陸上植物の水獲得に機能する根の水応答機構の解明			
研究代表者	高橋 秀幸	東北大学	教授
連携研究者	藤井 伸治	東北大学	准教授
連携研究者	宮沢 豊	山形大学	准教授
連携研究者	小林 啓恵	山形大学	博士研究員
連携研究者	森田 美代	奈良先端科学技術大学院大学	准教授
公募研究			
01. 紫外～可視光波長可変レーザーを利用した植物の紫外光環境感覚に関する研究			
研究代表者	日出間 純	東北大学	准教授
02. 低温シグナル伝達因子 ICE 1 の活性化に関わる分子機構の解明			
研究代表者	三浦 謙治	筑波大学	准教授
03. 植物の匂い感覚メカニズムの解明			
研究代表者	東原 和成	東京大学	教授
04. 光屈性におけるオーキシン調節機構の解析			
研究代表者	酒井 達也	新潟大学	准教授
05. 二酸化炭素のセンシングと葉緑体内タンパク質移動制御機構の解明			
研究代表者	福澤 秀哉	京都大学	教授
06. 細胞場における mRNA 代謝とタンパク質分解とを統合する環境刺激応答制御機構			
研究代表者	柘植 知彦	京都大学	助教
07. 温度環境感覚における PIF 4 制御の分子機構の解明			
研究代表者	古本 強	広島大学	准教授
08. 細胞内レドックス変化に対する植物応答機構の解明			
研究代表者	多田 安臣	香川大学	准教授
09. 気孔の青色光情報伝達の遺伝学的・生化学的解析			
研究代表者	武宮 淳史	九州大学	助教
10. 挑戦的な変異体スクリーニング法によるフィトクロム B の N 末端領域の下流因子同定			
研究代表者	松下 智直	九州大学	特任准教授
11. 光屈性の生態学的機能を支える分子機構			
研究代表者	飯野 盛利	大阪市立大学	教授

A02 受容体・細胞応答機構

計画研究			
エ) 植物環境感覚に関わる分子の構造と機能			
研究代表者	徳富 哲	大阪府立大学	特命教授
研究分担者	吉原 静恵	大阪府立大学	助教
連携研究者	岡島 公司	大阪府立大学	特任助教
連携研究者	直原 一徳	大阪府立大学	客員研究員
連携研究者	桂 ひとみ	大阪府立大学大	博士研究員
オ) 環境感覚を支える植物液胞動態とその適応機構			
研究代表者	三村 徹郎	神戸大学	教授
連携研究者	深城 英弘	神戸大学	准教授
連携研究者	七條 千津子	神戸大学	助教
連携研究者	西村 いくこ	京都大学	教授
カ) オルガネラ相互作用による植物環境応答の分子機構			
研究代表者	西村 幹夫	基礎生物学研究所	教授
公募研究			
01. 分解の細胞場としてのオートファジー：その経路と植物老化における役割の解明			
研究代表者	森安 裕二	埼玉大学	教授
02. 光合成環境感覚としての原型プラスチドシグナル			
研究代表者	田中 寛	東京工業大学	教授
03. 植物ミトコンドリアのカルシウム知覚と動態のライブイメージング解析			
研究代表者	有村 慎一	東京大学	准教授
04. RNA顆粒Pボディーを介した環境応答			
研究代表者	渡邊 雄一郎	東京大学	教授
05. シロイヌナズナの機械刺激受容体の構造と機能			
研究代表者	飯田 秀利	東京学芸大学	教授
06. 小胞体品質管理による花粉成熟過程のストレス耐性機構の解析			
研究代表者	西川 周一	新潟大学	教授
07. 陸上植物における環境応答機構の普遍性と多様性			
研究代表者	河内 孝之	京都大学	教授
08. オーレオクロームによる光情報受容と転写調節機構研究の新展開			
研究代表者	久富 修	大阪大学	准教授
09. 細胞核ダイナミクス解析に基づいた植物細胞の環境感覚システムの解明			
研究代表者	松永 幸大	東京理科大学	准教授
10. 葉緑体光定位運動を仲介するCHUP1タンパク質の動態制御機構の解析			
究代表者	和田 正三	九州大学	特任教授

A03 『植物細胞場』解析技術開発

計画研究			
キ) 植物組織を対象とした1細胞計測技術の開発			
研究代表者	神原 秀記	株式会社日立製作所	フェロー
連携研究者	梶山 智晴	株式会社日立製作所	主任研究員
ク) 質量顕微鏡による高空間分解能分子動態解析			
研究代表者	高橋 勝利	産業技術総合研究所	主任研究員
ケ) フェムト秒レーザーを駆使した植物細胞の局所操作と刺激法の開発			
研究代表者	細川 陽一郎	奈良先端科学技術大学院大学	准教授
公募研究			
01. 発光を用いた植物環境センサーとイメージング技術の開発			
研究代表者	綿引 雅昭	北海道大学	准教授
02. ゲノム情報科学に基づく環境応答性プロモーターの動作原理の還元論的解析			
研究代表者	山本 義治	岐阜大学	准教授
03. フラビン結合光センサードメインを鋳型とした酸化還元状態感受性蛍光タンパク質の開発			
研究代表者	岩田 達也	名古屋工業大学	特任助教
04. 植物細胞内光機能分子・粒子の空間階層X線イメージング			
研究代表者	中迫 雅由	慶應義塾大学	教授
05. 環境感覚である葉緑体チラコイド膜の形成機構解明をめざしたモルフォローム解析の提案			
研究代表者	永田 典子	日本女子大学	准教授
06. 赤外線レーザー照射によるシロイヌナズナ単一細胞における遺伝子発現誘導系の開発			
研究代表者	浦和 博子	岐阜聖徳学園大学	准教授

9. 研究費の使用状況

大型設備

総括班として、以下の大型設備機器を購入し、研究に供している。

－プロテオーム解析用機器（岩手大学・上村班）－

- ・二次元電気泳動データ解析システム（5,370,750 円、H22）、プロテオーム発現定量解析システム（5,250,000 円、H22）：本領域におけるプロテオーム基盤技術支援プラットフォームを築く目的で購入し、原著論文 5 編、総説 1 編、著書 1 編を発表した。

－受容体タンパク質構造解析機器（大阪府立大学・徳富班）－

- ・AKTA Crystal（12,931,380 円、H22）：分子構造解析用の高純度タンパク質試料精製に領域内共同研究を含めて使用し、原著論文 3 編を発表した。
- ・Nicolet 8700 FTIR、VCD 付（17,850,000 円、H22）：タンパク質分子構造の IR 解析に領域内共同研究を含め使用し、学会発表を行い研究成果をあげつつある。

－トランスクリプトーム解析用機器（基礎生物学研究所・西村班）－

- ・高感度遺伝子発現解析用 DNA マイクロアレイスキャナ（13,329,750 円、H22）：本領域におけるトランスクリプトーム解析支援拠点として整備した。3 つの研究班から解析依頼を受け、合計 24 種の DNA マイクロアレイ解析を実施している。

－細胞内構造解析用機器（神戸大学・三村班）－

- ・共焦点レーザー走査型顕微鏡 FV-1000D（16,674,000 円、H22）：細胞内の構造解析及び、細胞への顕微操作を行う支援目的で整備し、本機を用いて論文 1 編を発表した。

－各計画班が購入した大型機器（500 万円以上）－

- ・計画研究ア（長谷班）：共焦点レーザー走査型顕微鏡 FV-1000D（17,813,250 円、H22）
- ・計画研究イ（上村班）：分離用超遠心機（7,990,500 円、H22）
- ・計画研究ウ（高橋秀幸班）：ガスクロマトグラフ・質量分析システム一式（6,119,308 円、H22）、高速液体クロマトグラフシステム（5,850,692 円、H22）
- ・計画研究ケ（細川班）：PM ファイバ出力型連続発振 Nd:YAG レーザー（7,718,000 円、H22）、高出力フェムト秒レーザー増幅器用シードレーザー（7,140,000 円、H23）

人件費

計画研究各班が雇用している若手研究支援員は以下の通りである。

- ・計画研究ア（長谷班）：ポスドク（H22: 1 名、H23: 1 名、H24: 1 名）
- ・計画研究イ（上村班）：ポスドク（H23: 2 名、H24: 2 名）
- ・計画研究エ（徳富班）：ポスドク（H22: 1 名、H23: 2 名、H24: 2 名）
- ・計画研究オ（西村班）：ポスドク（H23: 3 名、H24: 3 名）
- ・計画研究カ（三村班）：特命助教（H23: 1 名、H24: 1 名）、ポスドク（H24: 1 名）

10. 今後の研究領域の推進方策

概要

平成22年度から開始した本領域では、植物の環境感覚の分子基盤を、植物細胞という特定の「場」における反応と位置づけ、刺激受容から個体応答に至る過程を、新しい植物細胞生物学の立場から明らかにすることを目指している。それぞれの項目について具体的成果も出始め、領域内の共同研究も活発化するなど、本領域の活動は、この目標に向かって概ね順調に推移してきたと考えている。以下、いくつかの項目に分けて今後の推進方策について述べる。

—新技術の開発と応用—

本領域の最大の特徴である新技術の開発については、植物系研究者のきめ細かい対応のきめもあり、研究項目A03計画研究で開発中の「単一細胞遺伝子発現解析」、「質量顕微鏡」、「フェムト秒レーザー」の全てについて、植物への応用の目途が立ちつつある。加えて、公募研究のなかからも、「無細胞タンパク質合成」「一細胞遺伝子発現誘導」などの重要な新技術が提供されつつある。そこで今後は、これらの技術を利用する立場にある植物側研究者に強く働きかけ、新技術応用の可能性を幅広く模索し、本領域の目的である新しい植物環境感覚像の構築へ向けた研究を推進する。ここで、特殊な機材を必要とする技術に関しては、利用件数の増加に備え、可能な範囲で設備の拡充を図るとともに、必要があれば、効率的な利用のための調整なども考える。

—領域内連携のさらなる活性化—

本研究領域では、新技術開発を含む異分野間連携に重きを置いている。これを促進するために、通常の班会議に加えて、若手の会、技術ワークショップ、分科会、各種シンポジウムなどを開催し、班員間のコミュニケーションを図ってきた。これにより領域内の議論が活性化し、結果として、119件もの共同研究が開始されるに至った。その内容を見ると、新技術の開発・応用に関するもの、基盤技術支援に関するもの、さらには、新しい研究領域の誕生を予感させるもの、など様々であり今後の展開が大いに期待される。これらの連携活動は、新しい植物環境感覚像を構築するために不可欠であり、今後も、あらゆる手段を用いてその促進、支援に努める。また、これまでの活動は、班員間の相互理解を深めることに重きを置いていたが、研究の後半に向けては、テーマを絞った分科会活動などにも力を入れ、領域の力を最大限生かしつつ、領域が目的とする新しい植物環境感覚像の構築へ向けて研究の収斂を図る。

—領域外への情報発信—

班員へ向けた活動と比較し、領域外への情報発信についてはまだ弱い点がある。これまで開発途上であった新技術も、植物への応用が可能な段階に移行しつつあるので、研究の後半には、公開データベース“The Plant Organelles Database 2”なども利用しつつ、情報発信に努めたい。また、これまでは主に植物系の学会でシンポジウムを開催し情報発信を進めてきたが、今後は、これを外の分野の学会にまで広げ、より広範囲な働きかけを行いたい。「国民との科学・技術対話」についても、総括班を中心に、何らかの具体的な企画を立てて行くことを検討している。

11. 総括班評価者による評価の状況

本領域では、4人の総括班評価者に、随時、評価・助言をお願いしている。以下に、中間評価に向けた評価・助言を記載する。

評価者：篠崎 一雄

所属・職：理化学研究所・植物科学研究センター長

「植物環境感覚」は計画班の研究が開始して2年、公募研究が開始して1年たつが、当該分野で成果を上げている研究者を適正に配置していることもあり、全体として順調に成果を上げている。本領域の特徴として、研究代表の研究領域である光に対する植物の応答の研究分野で光受容体であるフィトクロームやフォトトロピンに関する機能と構造に関して成果が上がられている。また、低温や高温などの温度変化、水や二酸化炭素などの環境変化に対する植物の応答に関してシグナル受容に関する研究が進展している。

本領域の課題提案の特徴となっている細胞レベルでの新規解析技術開発に関しても順調に立ち上がっている。すなわち、少量の細胞での組織特異的な遺伝子発現解析、フェムト秒レーザーを用いた細胞の微細操作技術と細胞応答の可視化、さらに質量顕微鏡による高分解能での解析技術の開発など、植物研究者と技術開発責任者との連携で順調に技術開発と利用に関する研究が立ち上がっている。

班員間の情報交換、連携研究等も活発に行われており、新学術領域としてまとまったプロジェクト研究としての方向性が明瞭になっている。また、若手育成のための研究会、技術講習会も企画されており、次世代の研究者の育成にも力を入れている点も優れている。

全体として、本領域の研究開始後の2年に関しては、長谷代表ら執行部の努力もあって順調に立ち上がっていると高く評価できる。この方向性で研究を進めれば大きな成果が期待できる。

評価者：中野 明彦

所属・職：東京大学・教授、理化学研究所・主任研究員

本研究領域は、植物がその進化の過程で独自に獲得してきた環境応答の分子メカニズムを、多様な切り口から理解して行こうというのが目標である。植物科学関連の他の研究領域とやや異なり、実に多様な分野のユニークな専門家が集結しており、光、温度、水という主要な刺激を、何が受容し、どのように伝えるかに、生理学、発生生物学、細胞生物学、分子生物学、遺伝生化学など、多様なアプローチで迫ろうとしている。非常に議論も活発で、評価委員としても班会議に参加していてとても楽しいと感じられる研究グループである。解析技術開発にも力を入れており、質量顕微鏡、レーザー顕微手術など、現時点では未完成でも、今後の展開が楽しみなチャレンジが進められている。後半の展開が楽しみである。

評価者：中村 研三

所属・職：中部大学・応用生物学部長、教授

本新学術領域研究では、植物の研究者と解析技術の研究者との間のコラボによって、「単一細胞遺伝子発現解析技術」を応用した植物微細組織片での遺伝子発現計測や、植

物組織の質量分析イメージング（質量顕微鏡）による画像取得、フェムト秒レーザー顕微手術を使った器官間シグナル伝達の解析やオルガネラ間相互作用の力学的解析に成功しており、いずれも今後の活用が期待されるユニークな成果となっている。その他の共同研究も活発に行われ、植物の環境刺激応答に関する多くのインパクトの強い論文が発表されている。シンポジウム開催、データベース公表などの成果の広報活動も活発に行われており、全体として研究は極めて順調には進捗している。

評価者：山本 興太郎
所属・職：北海道大学・教授

本領域の特色の一つは、新技術の開発と応用を推進するために A03 班を用意したことだが、これが意外に効果的で、領域全体に新局面を開こうとする意識が高まったように感じられる。実際、A03 班以外に属する班員も、考え方も含めて様々な新技術を提供していて、領域内で様々な組み合わせの共同研究が生まれている。これまでの2年間半、班員は新規の組み合わせが触発する研究上の利益を十分享受したようにみえる。生物学研究の過半は環境応答の研究といっても過言ではないが、環境応答の分野が広いがゆえに分野横断的に組織されたグループ研究は意外に少ない。その点でも分野横断的な本領域研究は独特で、新規の組み合わせによる研究上の利益を産み出しているようにみえる。今後の課題は、ここで生まれた新たな取り組みをいかに展開して、実現してみせるかという点にあるだろう。