領域略称名:植物環境感覚

領 域 番 号:3211

平成27年度科学研究費補助金「新学術領域研究 (研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「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年度~平成26年度

平成27年6月

領域代表者 (京都大学・理学研究科・教授・長谷 あきら)

目 次

1.	研究領域の目的及び概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	9
2.	研究領域の設定目的の達成度・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	11
3.	研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	14
4.	審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	15
5.	主な研究成果(発明及び特許を含む)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	17
6.	研究成果の取りまとめ及び公表の状況(主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等)・・・・・・・・・	20
7.	研究組織(公募研究を含む)と各研究項目の連携状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	26
8.	研究経費の使用状況(設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	28
9.	当該学問分野及び関連学問分野への貢献度・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	32
10.	研究計画に参画した若手研究者の成長の状況・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	33
11.	総括班評価者による評価・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	34

研究組織

ᄱᄀᇺᄱᅭᄤ					
研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00	22120001 植物の環境感覚:刺激受 容から細胞応答まで	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	長谷 あきら	京都大学・理学研究科・教授	10
A01 計	22120002光に対する植物の細胞応答機構の解析	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	長谷 あきら	京都大学・理学研究科・教授	ಣ
A01 計	22120003 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	~	上村 松生	岩手大学・農学部・教授	2
A01 計	22120004 陸上植物の水獲得に機 能する根の水応答機構 の解明	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	高橋 秀幸	東北大学・生命科学研究科・教授	5
A02 計	22120005 植物環境感覚に関わる 分子の構造と機能	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	徳富 哲	大阪府立大学・理学研究科・教授	5
A02 計	22120006 環境感覚を支える植物 液胞動態とその適応機 構	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	三村 徹郎	神戸大学・理学研究科・教授	5
A02 計	22120007オルガネラ相互作用による植物環境応答の分子機構	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	西村 幹夫	基礎生物学研究所・特任教授	5
A03 計	22120008 植物組織を対象とした 1細胞計測技術の開発	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	神原 秀記	(株)日立製作所中央研究所・フェロー	2
A03 計	22120009 質量顕微鏡による高空 間分解能分子動態解析	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	高橋 勝利	独立行政法人産業技術総合研究所· 主任研究員	1
A03 計	22120010 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	平成 22 年度 ~ 平成 26 年度	細川 陽一郎	奈良先端科学技術大学院大学・物質 創成科学研究科・准教授	2

計画研究 計 10 件 23120502 紫外-可視光波長可変| 平成 23 年度 A01 レーザーを利用した植 日出間 純 東北大学・生命科学研究科・准教授 公 物の紫外光環境感覚に 平成24年度 関する研究 25120702 CPD 光回復酵素の発現 平成 25 年度 A01 制御・局在・構造変異を 日出間 純 東北大学・生命科学研究科・准教授 公 モデルとした植物の紫 平成26年度 外線環境感覚研究 23120503 平成 23 年度 低温シグナル伝達因子 A01 三浦 謙治 筑波大学・生命環境系・准教授 1 ICE1 の活性化に関わる 公 平成 24 年度 分子機構の解明 25120703 低温シグナル伝達因子 平成25年度 A01 三浦 謙治 ICE1の調節及びカルシ 筑波大学・生命環境系・准教授 3 公 ウムチャネルによる低 平成26年度 温感覚機構 平成 23 年度 23120510 A01 光屈性におけるオーキ 酒井 達也 新潟大学・自然科学系・教授 公 シン調節機構の解析 平成 24 年度 25120710 平成 25 年度 光屈性を誘導するフォ A01 酒井 達也 新潟大学・自然科学系・教授 2 トトロピンシグナル伝 公 平成 26 年度 達経路の解析 23120514 平成 23 年度 二酸化炭素のセンシン A01 福澤 秀哉 京都大学・生命科学研究科・教授 2 グと葉緑体内タンパク 公 平成 24 年度 質移動制御機構の解明 25120714平成 25 年度 A01 二酸化炭素のセンシン 福澤 秀哉 京都大学・生命科学研究科・教授 3 公 グと光合成制御機構の 平成 26 年度 解明 23120520 平成 23 年度 細胞内レドックス変化 A01 多田 安臣 名古屋大学・遺伝子実験施設・教授 公 に対する植物応答機構 平成 24 年度 の解明

			1		T	
A01 公	25120718 細胞内レドックス変化 に対する植物応答機構 の解明	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	多田	安臣	名古屋大学・遺伝子実験施設・教授	1
A01 公	23120521 気孔の青色光情報伝達 の遺伝学的・生化学的解 析	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	武宮	敦史	九州大学・理学研究院・助教	2
A01 公	25120719 気孔の青色光情報伝達 の遺伝学的・生化学的解 析	\sim	武宮	敦史	九州大学・理学研究院・助教	2
A01 公	23120522 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	~	松下	智直	九州大学・農学研究院・准教授	2
A01 公	25120720 フィトクロムによるグ リセリン酸キナーゼの 細胞内局在制御機構の 解析	~	松下	智直	九州大学・農学研究院・准教授	1
A01 公	23120524 光屈性の生態学的機能 を支える分子機構	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	飯野	盛利	大阪市立大学・理)研究科・教授	1
A01 公	25120724 光屈性の生態学的機能 を支える分子機構	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	飯野	盛利	大阪市立大学・理)研究科・教授	1
A01 公	23120519 温度環境感覚における PIF4 制御の分子機構の 解明	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	古本	強	龍谷大学・農学部・教授	1
A01 公	25120729 低温感知から PIF4 分解 までの分子機構の解明	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	古本	強	龍谷大学・農学部・教授	2
A01 公	23120506 植物の匂い感覚メカニ ズムの解明	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	東原	和成	東京大学・農学生命科学研究科・教授	1
A01 公	23120515 細胞場における mRNA 代謝とタンパク質分解		柘植	知彦	京都大学・化学研究所・准教授	1

					Т	
	とを統合する環境刺激 応答制御機構					
A01 公	25120709 植物の栄養応答におけ る葉緑体場の代謝制御	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	増田	真二	東京工業大学・バイオ研究基盤支援 総合センター・准教授	2
A02 公	23120504 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	~	森安	裕二	埼玉大学・理工学研究科・教授	2
A02 公	25120704 環境感覚により誘導される植物細胞死のオートファジーによる制御 機構の解明	~	森安	裕二	埼玉大学・理工学研究科・教授	3
A02 公	23120508 RNA 顆粒 P ボディーを 介した環境応答	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	渡邊	雄一郎	東京大学・総合文化研究科・教授	1
A02 公	25120707 RNA 顆粒 P ボディーを 介した環境応答	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	渡邊	雄一郎	東京大学・総合文化研究科・教授	2
A02 公	23120509 シロイヌナズナの機械 刺激受容体の構造と機 能	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	飯田	秀利	東京学芸大学・教育学部・教授	1
A02 公	25120708 シロイヌナズナの機械 刺激受容体の構造と機 能	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	飯田	秀利	東京学芸大学・教育学部・教授	2
A02 公	23120512 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	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	西川	周一	新潟大学・自然科学系・教授	1
A02 公	25120711 細胞膜受容体の小胞体 品質管理を介した花粉 成熟過程のストレス耐 性機構の解析	~	西川	周一	新潟大学・自然科学系・教授	1
A02 公	23120518 細胞核ダイナミクス解 析に基づいた植物細胞		松永	幸大	東京理科大学・理工学部・准教授	2

	の環境感覚システムの 解明					
A02 公	25120726 植物環境感覚システム におけるクロマチン動 態解析	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	松永	幸大	東京理科大学・理工学部・准教授	3
A02 公	23120523 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	~	和田	正三	九州大学・理学研究院・学術研究員	1
A02 公	25120721 葉緑体運動を仲介する CHUP1 タンパク質の 動態制御機構の解析	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	和田	正三	九州大学・理学研究院・学術研究員	1
A02 公	23120505 光合成環境感覚として の原型プラスチドシグ ナル	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	田中	寛	東京工業大学・資源化学研究所・教授	3
A02 公	23120507 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	~	有村(真一	東京大学・農学生命科学研究科・准 教授	2
A02 公	23120516 陸上植物における環境 応答機構の普遍性と多 様性	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	河内	孝之	京都大学・生命科学研究科・教授	4
A02 公	25120716 陸上植物における環境 応答機構の普遍性と多 様性	平成 25 年度 (辞退)	河内	孝之	京都大学・生命科学研究科・教授	-
A02 公	23120517 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	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	久冨	修	大阪大学・理学研究科・准教授	2
A02 公	25120705 葉緑体における光環境 感覚と細胞応答機構	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	華岡	光正	千葉大学・園芸学研究科・准教授	2
A02 公	25120706 環境ストレス応答にお	平成 25 年度 ~	植村	知博	東京大学・理学研究科・助教	3

	けるポストゴルジオル	亚战 26 年度				
	ガネラのダイナミクス	十八 40 十尺				
	と生理的意義の解明					
	25120715					
	 植物細胞の環境応答に	亚战 95 年度				
A02		十成 20 千良	المدارات	보 작 교	京权	0
公	おけるミトコンドリア	~ \\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	山岡	尚平	京都大学・生命科学研究科・助教	2
	の動態と生理機能のイ	平成 26 年度				
	メージング解析					
	25120722	平成 25 年度				
A02	1細胞ホルモン分析に	~	小柴	共一	首都大学東京・理工学研究科・教授	3
公	よる植物環境応答の細	平成 26 年度				
	胞レベルの解析					
	25120723					
A02	植物環境応答における	平成 25 年度			 京都府立大学・生命環境科学研究	
公	オルガネラ Ca2+シグナ	~	椎名	隆	科・教授	5
	リングの役割と分子機	平成 26 年度				
	作					
	23120501	平成 23 年度				
A03	光を用いた植物環境セ	~	綿引	雅昭	北海道大学・理学研究院・准教授	1
公	ンサーとイメージング	平成 24 年度				1
	技術の開発	十八 24 十尺				
	25120701					
A03	規オーキシンレポータ	平成 25 年度			北海道大学・理学研究院・准教授	
AUS 公	ーによるオーキシン応	~	綿引	雅昭		1
Z	答再編メカニズムの解	平成 26 年度				
	明					
	23120511					
4.00	ゲノム情報科学に基づ	平成 23 年度				
A03	く環境応答性プロモー	\sim	山本	義治	岐阜大学・応用生物科学部・教授	5
公	ターの動作原理の還元	平成 24 年度				
	論的解析					
	25120712					
4.00	ゲノム情報科学に基づ	平成 25 年度				
A03	く環境応答性プロモー	~	山本	義治	岐阜大学・応用生物科学部・教授	6
公	ターの動作原理の還元	平成 26 年度				
	論的解析					
	23120513					
	フラビン結合光センサ	平成 23 年度				
A03	ードメインを鋳型とし	~	岩田	達也	名古屋工業大学・工学研究科・助教	1
公	た酸化還元状態感受性	平成 24 年度	,			
	蛍光タンパク質の開発	.,,.== 1 \infty				
	エルノ・ / 貝ツ川兀					

A03 公	25120713 液胞を標的とした酸化 還元状態感受性蛍光タ ンパク質の開発	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	岩田	達也	名古屋工業大学・工学研究科・助教	2
A03 公	23120525 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	平成 23 年度 ~ 平成 24 年度	中迫	雅由	慶應義塾大学・理工学部・教授	
A03 公	25120725 植物環境感覚を支える 機能性分子・粒子のX線 構造解析	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	中迫	雅由	慶應義塾大学・理工学部・教授	2
A03 公	23120527 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	~	浦和	博子	岐阜聖徳学園大学・教育学部・准教 授	1
A03 公	25120728 植物の単一細胞におけ る遺伝子発現操作によ る環境応答解析法の開 発	~	浦和	博子	岐阜聖徳学園大学・教育学部・准教 授	2
A03 公	23120526 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	~	永田	典子	日本女子大学・理学部・准教授	3
A03 公	25120727 環境感覚の解明をめざ した透過電子顕微鏡法 によるオミクス解析	平成 25 年度 ~ 平成 26 年度	永田	典子	日本女子大学・理学部・教授	4

公募研究 計 55 件

1. 研究領域の目的及び概要(2ページ程度)

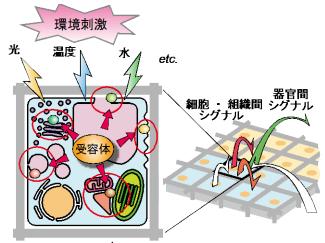
研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景(応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を発展させる場合にはその内容等)を中心に記述してください。

1) 本領域の目的と研究体制

動かないという選択をして生きている植物は、光、温度、水分などの様々な環境刺激を感知し、生理機能や形態を柔軟に変化させることで自己の生存を図ってきた。これを我々は「植物の環境感覚」と呼ぶことにする。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、受容体分子による刺激の感知から個体の生理応答に至る過程を、新しい植物細胞生物学の立場から総合的に明らかにすることである(図)。

2) 研究の背景

光合成という独立栄養能を獲得した植物は、動物とは大きく異なる進化の過程をたどり、固着生活を営むことで現在の繁栄を謳歌し



◎. オルガネラ因子 🥕 情報伝達鎖

図 植物の環境感覚機構

ている。その分布は地球上のほとんどの地域に及ぶが、これを可能としている重要な要因の一つが、 植物独自の環境感覚能である。植物は、移動可能な動物と比較して、より過酷な光、温度、水分など の環境変化にさらされているが、特殊化した感覚器官を発達させることなく、個体全体で全身的に対 応している。これを可能としているのが、個々の植物細胞がもつ環境感覚能である。

植物の細胞は、光合成を行う葉緑体、環境適応能を支える液胞、環境変化に防御的に働く細胞壁などの動物とは異なる多彩なオルガネラを発達させている。近年の研究により、植物細胞が外部刺激に応答する際に、オルガネラの分化やオルガネラ間相互作用を巧みに利用することで対応している可能性が浮上してきた。さらに、個々の細胞内で多様な環境情報が統合的に処理された後、それらの情報は、細胞間相互作用を通じて上位レベルの応答に統合される。植物という固有の生命システムでみられる環境感覚の仕組みを理解するには、細胞という単位に注目し、複数のオルガネラを含む「植物細胞場」において、どのように環境情報が処理され、その情報がどのように外に伝えられるかを知る必要がある。

植物細胞がもつ様々なオルガネラのうち光合成の場である葉緑体については、光合成機能に関する研究にとどまらず、特に分裂機構などについては世界をリードする研究が我が国において進められてきた。また、本領域に関係した研究として、特定領域研究「オルガネラ分化(平成16~20 年)」を中心に、オルガネラの可塑性と環境刺激の関係が探られ、例えば、細胞内の小胞輸送系が水分や重力に対する応答の情報伝達に重要な働きをしていることなどが示された。このような動向に加えて、細胞内シグナル伝達機構に関して、タンパク質リン酸化酵素、タンパク質分解系、転写因子などに注目した研究が活発に行なわれている。国内外間わず、環境応答のシグナル伝達機構は、現在、最もホットな分野の一つである。本領域では、これまでの成果を踏まえ、「植物細胞場」という視点を重視した研究を推進することで、新しい研究フロンティア開拓を目指す。

ポストゲノム時代の到来を迎え、細胞微細解析技術の開発が各所で進められ、細胞内の特定分子の動向を追跡することや、細胞を顕微鏡下で操作することが可能になりつつある。特定領域研究「ライフサーベイヤ(平成16~20 年)」や「バイオ操作(平成17~21 年)」では、生命システム理解のための様々な新規ツールの開発が推進され、例えば単一細胞における遺伝子発現の解析が可能となった。これらの技術が植物細胞に応用された例はまだ少ないが、光ピンセットが葉緑体などの研究に応用され大きな成果が得られている。研究フロンティアの開拓には、新技術の開発が不可欠である。本領域では、組織的に新解析技術開発に取り組み、異分野間の交流を通じて、植物細胞生物学の新しい時代を切り拓く。

3) 研究項目

本研究においては、受容体分子による刺激の感知から個体の生理応答に至る過程を総合的に明らか

にすることを目指し、個別の環境刺激応答を専門とする植物生理学者、植物細胞や植物オルガネラを専門とする植物細胞生物学者、タンパク質科学の研究者、などが連携して領域研究を推進する。さらに、新しい植物細胞の環境感覚像を構築し研究フロンティアを切り拓くには、革新的技術の開発・導入が不可欠である。しかしながら、細胞・オルガネラを対象とする微細技術の植物分野への応用は必ずしも進んでいない。そこで本領域では、技術開発のための研究項目を設定し、植物の研究実績にこだわらず、細胞解析の新しい手法を開発しつつある研究者を招集し、植物細胞解析の新規手法の開発・応用を推進する。これらの研究者が緊密な連携のもとに領域を推進することにより、植物研究分野における大きなブレークスルーが期待される。

—研究項目A01:個別刺激応答機構—

光、温度、水分という植物の生存を左右する3つの根源的な環境要因に関する計画研究と、他の刺激の専門家を含む若干数の公募研究により遂行する。この項目は本領域のいわば縦糸にあたり、個々の研究者が、専門とする刺激応答について、刺激の感知から個体応答までの分子機構を明らかにすることを主要な目的とする。この項目においては、従来の受容体とシグナル伝達因子による細胞内シグナル伝達、という捉え方に加え、植物の環境感覚が複数のオルガネラからなる「細胞場」における反応であるという視点を重視し、新技術を取り入れた細胞レベルの研究を軸に、新しい形のシグナル伝達研究を展開する。

--研究項目A02:受容体・細胞応答機構---

環境感覚の基盤となる、受容体とシグナル伝達因子、および、細胞応答が進行する場である細胞やそれを構成するオルガネラに関する専門家による3つの横断的な計画研究と、それを補う若干名の公募研究により遂行する。この項目は本領域の横糸にあたり、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(液胞、ゴルジ体、輸送小胞など)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。また、領域全体に対して、タンパク質構造解析、オミックス解析、イメージング解析などの基盤技術を提供する。

—研究項目A03:「植物細胞場」解析技術開発—

細胞・オルガネラレベルの様々な微細技術が開発され成果を挙げつつあるが、植物分野においてはまだその応用は限られている。そこで、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、技術開発の専門家が植物分野の研究者との密接な連携のもとに推進する。計画研究では、単一細胞遺伝子発現解析技術を利用した遺伝子発現応答解析法、植物組織・器官における質量顕微鏡を用いた代謝産物の高空間分解能解析法、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、などを行い、これに若干名の公募研究を加えて、新しい植物細胞生物学の創出を目指す。

4) 本領域の特徴、意義と必要性

これまで植物の環境応答に関する個別研究が行なわれ、タンパク質や遺伝子に注目した成果が多数報告されているが、反応の舞台である「細胞場」を意識した研究は少ない。一方、植物の様々な生理現象においてオルガネラの応答が重要な意味をもつことが最近明らかにされつつある。本研究の重要な特徴の一つは、個別の刺激を専門とする植物生理学者、タンパク質構造解析の専門家、植物細胞生物学者などが従来の枠を超えて協力することにより、ポストゲノム時代を見据えた新しい環境感覚システム像の構築を目指すことにある。これが実現されることで、植物分野にとどまらず、動物を含む生物一般における細胞応答機構に対する理解が深まると期待される。

本領域のもう一つの特徴は、これまで植物を扱っていなかった細胞解析技術の専門家の協力を得て、「植物細胞場」の新しい解析技術の開発を行なう点にある。このような協力の必要性は広く認められながらも、それを可能とする枠組みが欠けていた。本領域を推進することで、異分野間の交流・協力が促進され、植物科学基礎研究のみならず、農学や環境科学への応用も見据えた大きなブレークスルーがなされると期待している。

本領域研究の扱う課題は、我々人間を含めた地球上の全ての生命の源を培っている植物を理解する上で根元的なものである。動物とは全く異なる生存戦略をとる植物の生き方を理解することは、今後、植物の力を今以上に効率的に利用していかなくてはならない人類にとって、最重要課題の一つである。

2. 研究領域の設定目的の達成度(3ページ程度)

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

概観

本領域の目的は、「植物の環境感覚」の分子・細胞過過程を、異分野交流による新技術開発を一つの要として、新しい植物細胞生物学の立場から総合的に明らかにすることであった。この視点から、本研究の達成度について、1)個別刺激応答、2)分子・細胞、3)新技術開発、に分けて、未発表の成果も含めて概観し、最後に、4)新しい環境感覚システム像構築へ向けて、それがどこまで達成されたかを説明する。なお、各研究班の具体的成果については、5. 主な研究成果、6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況を参照されたい。

1)個別刺激応答

—光—

計画研究では、A01 長谷班が、1)シロイヌナズナ芽生えの部位毎の遺伝子発現応答を網羅的に比較し、子葉より茎頂部で応答が顕著であること、光刺激に応じて茎頂部のオーキシン量が多層的に制御されていることを、A03 神原班と共同で示し(Nito et al. in press)、2)フェムト秒レーザーを用いた植物体顕微手術法を開発し、オーキシンとは異なる未知シグナルが子葉から胚軸に伝達されることを、A03 細川班と共同で示し(学会発表)、3)質量顕微鏡によって光刺激に対する代謝応答の空間パターンを網羅的に解析する道を、A03 高橋班と共同で切り拓いた(学会発表)。また、公募班の顕著な成果として、A01 武宮班が中心になり、A01 多田班の協力も受け、長年の謎であったフォトトロピンのリン酸化基質 BLUS1 を明らかにした(Takemiya et al. 2013)。異分野の交流も順調に進み、新技術、従来型の研究の両方で重要な成果が得られ、領域の目的は十分達成された。

—温度—

計画研究では、A01 上村班が、1)低温馴化に関わる細胞膜タンパク質の変動に関するプロテオーム解析を進め、分子レベルと細胞レベルをつなぐ研究分野で重要な成果を上げるとともに(Minamai et al. in press, Kobayashi et al. 2014, Takahashi et al. 2013, 2012)、2)ルシフェラーゼをレポーターとする低温馴化応答モニター系を整備し、応答の個体レベルでの時空間的構造を解析する道を拓き(学会発表)、3)A01 長谷班の協力を得て、低温馴化と光応答のクロストークに関する興味深い結果を得た(学会発表)。また、公募班を含めた活動では、A01 上村班、A01 三浦班と A02 飯田班による Ca^{2+} チャネルに関する研究が注目される(一部学会発表)。温度応答と Ca^{2+} チャネルの関係はこれまでも指摘されているが、その実態はいまだ不明であり、大きな成果につながる可能性がある。以上、新技術の利用が図られ、新しい時空間解析や細胞生物学的解析の技術的基盤や、複数の研究者による人的ネットワークが整備され、領域の目的は十分達成された。

―その他の刺激―

計画研究では、A01 高橋班が、自らが発見した水分屈性特異的制御因子 MIZ1 の研究を総合的に進めた(Moriwaki et al. 2014 など多数)。また、本領域の特徴を生かした研究として、A02 西村班の協力を得て、水屈性応答時にオートファジーが機能する可能性を示し(Nakayama et al. 2012)、A03 細川班、A01 長谷班の協力を得て、根端の特定の細胞群を破壊した植物における水屈性について解析を進めた(学会発表)。さらに、これを補完するものとして、MIZ1 の組織特異的強制発現系統を用いた解析も進行中である(未発表)。これらの努力により、水分屈性応答の分子から器官レベルまでの過程を総合的に理解する道が拓かれつつある。また、その他の公募研究でも、栄養飢餓応答、CO₂応答、病害・傷害応答などについて興味深い成果が得られた(Yamano et al. in press など)。以上、水分屈性について分子レベルから、新技術による組織間シグナルの研究まで、レベル縦断的解析が進展し、領域の狙いは概ね達成された。

2) 分子·細胞応答

—分子—

計画研究では、A02 徳富班が、生物物理学的手法を用いて主に光受容体の分子構造に関する研究を総合的に進めた(Kahojiya et al. 2015 など多数)。この分野はもともと生物物理学分野と親和性が高いこともあるが、X線小角散乱によるフォトトロピンの構造変化に関する研究は(Okajima et al. 2014, Okajima et al. 2011)、A03 中迫班との共同研究によるものである。また A03 徳富班は分子間相互作用についても研究を進め、フォトトロピンのキナーゼ活性のアッセイ系を国内外に提供した

(Demarsy et al. 2012)。一方、公募研究においても、 Ca^{2+} チャネル、オーレオクロームの構造に関する研究が進展した。また、細胞と分子をつなぐ研究として RNA 顆粒の研究が、シグナル伝達一般に関わる研究としてモデル植物であるゼニゴケを用いた研究などがなされ、重要な成果が得られた (Komatsu et al. 2014 など)。以上は領域として想定た十分な成果と言える。さらに、 Ca^{2+} チャネルを軸とする共同研究が領域内で広く実施されるに至ったことは、想定外の大きな成果であった。

―単膜系オルガネラ―

計画研究では、A02 三村班が、主要な単膜系オルガネラである液胞を中心に細胞生物学的研究を進め、液胞膜における液胞タンパク質の特徴的局在の研究などを行った(Yoshida et al. 2013)。特に、セントポーリアにおける低温傷害における葉の白化が液胞膜崩壊によっておこることを示し(Kadohama et al. 2013)、さらに、A02 飯田班、A03 神原班の協力を得て、この応答に飯田らが発見した Ca²+チャネル MCAs が関わることを示唆する結果を得たことは注目される(Ohnishi et al. in press)。また、A02 三村班は、A03 高橋班による質量顕微鏡開発にも深く関わり、代謝物の空間分布に関する興味深い結果を得つつある(学会発表)。公募班では、オートファジー、ゴルジ体膜交通、小胞体品質管理などに関する興味深い成果が得られた(Maruyama et al. 2014 など)。以上、新技術の導入や Ca²+チャネルを軸とする他項目との連携が進み、領域の目的は十分達成された。

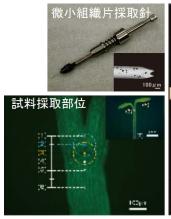
―複膜系オルガネラ―

計画研究では、A02 西村班が、ペルオキシソーム(単膜ではあるが、複膜系オルガネラの性質も併せ持つ)の研究を、分子遺伝学的にアプローチにより総合的に進めた(Shibata et al. 2013 など多数)。なかでも注目されるのは、A03 細川班と共同で行ったオルガネラ相互作用の解析である。同研究では、フェムト秒レーザー光を細胞内に集光させ、それが発生させる衝撃力を調節することにより、生きた細胞内でペルオキシソームと葉緑体の間の接着力を実測することに成功し、光条件でこの接着力が大きく異なることを示した(Oikawa et al. in press)。これは、生物物理学的手法が植物の細胞解析に有効であることを示す大きな成果である。また、公募班では、葉緑体運動、葉緑体での転写、ミトコンドリア分裂、核内構造などに関する分子レベルの研究が大きく進展した(Hirakawa et al. in press)。以上、オルガネラ相互作用に関する成果は、本領域の主要な狙いであった異分野交流による新分野創出という意味で、領域全体を代表するすばらしい成果となった。他にも、従来型のアプローチが主ではあるが、分子・細胞レベルの様々な新知見が得られており、領域の目的は十分達成された。

3)新技術開発

—微細領域遺伝子発現解析—

計画研究 AO3 神原班が中心になり、これに AO1 長谷班が加わり、植物の微細組織片の単離法と網羅的遺伝子発現解析法を開発した。本法により、中空の針を用いて生の植物試料から短時間で100μm程度の大きさの微細組織片を切出し、RNA-seqによる信頼度の高い網羅的遺伝子発現解析が実現できた(Kajiyama et al. in press)(図)。当初は一細胞で特定の遺伝子の発現をPRC 法により測定す



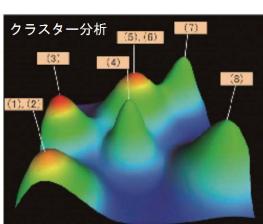


図 微細組織遺伝子発現解析

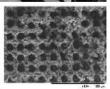
る予定であったが、遺伝子発現への影響を最小限に植物から一細胞を単離するのは技術的に困難なため、組織片を対象とする技術開発を進めた。開発に予定より時間がかかったため、多くの研究班がこの方法で解析を行うには至らなかったが、すでに A01 長谷班 (Nito et al. in press)、A02 三村班 (Ohnishi et al. in press) が本手法で得た結果を論文発表しており、汎用性の高い手法であることからも、今後の普及が大きに期待される。以上、本領域の要となる技術の開発を、植物側と技術側の研究者が密接に協力することで完成させることができたことは、領域の狙い通りの大きな成果と言える。ただし、開発が予定より遅れ、普及の時間が十分取れなかったことは残念であった。

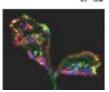
—質量顕微鏡—

計画研究 A03 高橋勝利班が中心になり、これに A02 三村班、A01 長谷班が協力して、植物組織に特化した質量顕微鏡装置と測定技術を開発した。細胞壁と発達した液胞をもつ植物組織が解析の対象で









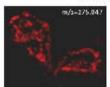


図 質量顕微鏡

あることから様々な困難に直面したが、関係研究者の努力により本領域の期間内に開発を無事終了することができた

(Takahashi et al. in press) (図)。開発に当初の予定からの遅れてが見られたものの班員の関心は高く、様々な試料(シロイヌナズナの芽生え、根、葯、葉;イネ、ニチニチソウ、ポプラ、コケ、ターメリックなど)において測定が進行中である。遺伝子発現解析の場合と同様、植物側と技術側の研究者が密接に協力することで技術を完了させることができたことは、領域の狙い通りの大きな成果と言える。ただし、開発が予定より遅れ、普及の時間が十分取れなかったことは残念であった。

―フェムト秒レーザー―

計画研究 AO3 細川班が中心になり、フェムト秒レーザー技術の植物細胞研究への応用可能性を探った。なかでも特筆すべきは AO2 西村班との共同研究である。上にも述べたように、フェムト秒レーザーが発生する衝撃力を利用するという今までにない手法で、生きた細胞内でオルガネラ同士の接着力を実測することが初めて可能となった(Oikawa et al. in press)。これ以外にも AO3 細川班は、植物系研究者が到底思いつかないような発想で、植物組織の顕微手術、植物体の力学的特性の測定、植物細

胞の衝撃応答の解析(Hosokawa et al. 2011)、植物組織内の過冷却状態の観察、一細胞遺伝子導入などに植物側研究者と共同で取り組んだ。以上、植物研究に縁のなかった物理学系研究者が参加することで、領域の活動は大いに活性化した。これは、領域の狙い通りの大きな成果と言える。

―その他の技術―

公募班においても、A03 項目の6 班にA01の1班を加えた7班が、それぞれの技術の開発と領域内への普及を図った。特にA01多田班の無細胞タンパク質合成とA03浦和班の赤外レーザーによる一細胞遺伝子発現誘導に対する注目度は高く、多くの共同研究が行われることとなり(Hayami et al. in pressなど)、領域の目的は十分達成された(くわしくは9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度、参照)。

4) 新しい環境感覚システム像構築へ向けて

本領域の最終的な目標は、新しい環境感覚システム像を構築することであった。まだまだ道半ばで はあるが、新分野開拓のための基盤が整備され、様々な研究の芽が出つつあり、領域の目的は概ね達 成されたと考えている。以下、主な成果について簡単にまとめる。

—時空間的解析—

新しい分野の創出については、本領域の活動により、時空間解析のための様々なツール(微細領域遺伝子発現解析、質量顕微鏡、レーザー顕微手術、一細胞遺伝子発現誘導など)が開発され、研究の基盤が整った。今後の新分野創出に向けての発展が大いに期待される。

--網羅的解析の新展開---

本領域の活動により、網羅的解析の持つパワーが改めて認識された。これらの手法はすでに完成された技術と見られがちであるが、上に述べた空間的要素や、効率的な無細胞タンパク質合成系を利用した網羅的アプローチ、情報工学的解析などの新技術を導入することにより、研究が新しい局面を迎えることが期待された。実際、その萌芽となる研究が領域内において開始された。

―細胞の力学的解析―

A03 細川班が加わることで、物理学的アプローチが植物研究に新分野を切り拓く可能性を実感することができた。植物細胞におけるミクロレベルでの力学測定はまだまだ手つかずの分野であり、細胞の力学応答を含めて、植物を対象とする様々な新分野創出の可能性を秘めていることが示された。

—複合環境応答、Ca²⁺—

複合環境応答は、当該分野でここ数年来関心を集め始めた分野である。本領域の活動からも、光と温度の関係が垣間見られた。また、あまりにも多彩な機能をもつため、かえってその正体が見失われがちな Ca²⁺について、新規 Ca²⁺チャネル MCA を軸に様々な共同研究を組織することができた。今後、確実な発展が期待される分野である。

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況(1ページ程度)

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

領域の活動においては、班員の協力もあり概ね順調に推移したが、その過程で生じた軽微な問題と 対応策について以下に記す。

1) 異分野連携

異分野連携は、技術系メンバー(神原、高橋勝利、細川)の積極的な姿勢のおかげで、全体としては予想以上に順調に推移したが、対応が必要な部分もあった。

- ・技術系メンバーが植物に無縁であったことから、研究の立ち上げ時においては、A03 神原班には A01 長谷班が、A03 高橋勝利班には A02 三村班と A01 長谷班が、A03 細川班には A01 長谷班が対応し、緊密な連携のもと、植物を材料とする実験を進める態勢を整えた。
- ・A03 高橋勝利班においては、後半、実働メンバーが研究代表者ただ1人という状況が生じたが、A02 三村班の社会人大学院生、A01 長谷班のポストドク1名を半ば専属とすることにより共同研究の密度を上げてこれを乗り切った。また、質量顕微鏡の測定には時間がかかるため、研究のある段階では、試料の入れ替えが制限要因となったが、自動試料交換装置を組み込むことでこの問題を解決した。
- ・植物分野での経験が乏しい A03 神原班、A03 高橋勝利班が成果を論文発表するにあたっては、それぞれ A01 長谷班、A02 三村班が緊密な連絡を保ちつつ論文を仕上げた。
- ・開発された技術の班内での普及を促進するため、技術系班員が中心になり、実習を含むワークショップを積極的に開催した。また、植物系と技術系班員の相互理解を深めるために、技術系メンバーに、班会議に加えて若手の会、シンポジウムなどでの講演を積極的に依頼するなどして、両者間の交流を図った。

2) 班会議

班会議は、未発表データを発表するため非公開で行った。当初の予定では、出席者を原則、研究代表者に限る方針であったが、若手育成のために大学院生の出席も認めるよう変更した。また、本領域の推進に必要と判断された場合は、領域外の研究者であってもオブザーバーとしての参加を認めた。

3)組織変更

意識して行ったものでは無いが、公募班について多少の入れ替わりがあった。このうち、研究代表者と連携研究者が交代するような変更を除くと、A01 研究項目では東原班、柘植班が退き、増田班が加わった。また、A02 研究項目では河内班、久富班が退き、椎名班、小柴班が加わった。退いたメンバーは、それぞれが領域の活動にユニークな貢献をしており、他の研究との関係で参加が難しくなったことは大変残念であった。

4) 国際シンポジウム

国際シンポジウムについては、あらかじめ開催年をはっきりと決めていなかったため、資金の捻出にやや苦労したが、規模を調整し、計画研究や民間財団等からの援助を仰ぐことで無事開催にこぎつけた。

5)解析の受託

基盤技術支援や新技術による解析については、実施する側がそれぞれ自分の研究時間を割いて作業を行っていることを考慮し、すべて共同研究ベースとして行った(注:ここでいう共同研究とは、必ずしも契約書によるものではない)。総括班の予算を、潤沢に振り向け人員を雇うというような形を徹底すれば、純粋の受託という形もありえたかもしれないが、効率や分野における共同研究のあり方を考えると、これが適切であったと考えている。

4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況(2ページ程度)

審査結果の所見及び中間評価において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

<審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況>

1)新技術について

「研究領域全体の研究成果が新技術の開発応答の成否に左右される」「質量顕微鏡技術にどこまで期待し、どのように応用し共有していくのか明確でない」「開発された技術が公開されて広く利用できるとさらに良い」

技術開発に関する様々な懸念は確かに存在したが、まずは、植物系の計画研究代表者のチームが、マンツーマンの形で技術系研究者と密接に連絡を取りながら開発を進めることで、領域の期間内に計画した全ての技術を完成させることができた。例えば「質量顕微鏡」では、開発がやや遅れたため具体的な成果が論文発表されるには至っていないが、すでに6研究班の依頼による様々な試料(シロイヌナズナの芽生え、根、葯、葉;イネ、ニチニチソウ、ポプラ、コケ、ターメリックなど)の測定が開始されており、今後の発展が大いに期待される。

技術の公開については、領域活動期間内に新技術全般に関する公開シンポジウムを行い、基本技術に関する論文(Takahashi et al. in press, Kajiyama et al. in press)、新技術を応用した論文(Oikawa et al. in press, Ohnishi et al. in press, Nito et al. in press など)を公表した。なお、これらの論文を含む Plant Cell & Physiology 誌特集号("Emerging technologies for the study of plant environmental sensing", July 2015; Vol 56:7)が刊行予定である。また、取りまとめ経費による公開ワークショップ等の開催を予定している。これらの活動により、本領域で開発された技術が領域外にも周知され、応用例がますます増えることが期待される。

2) 若手の育成

「研究領域を構成する研究者の年齢層が高い」

意識して行ったわけでは無いが、公募班には、多数の若手研究代表者が含まれることとなった(データシートの定義よりは年齢が上の「若手」)。そのうち、領域活動期間中に准教授から教授、あるいは特任准教授から准教授などに昇任した研究代表者の数は9名であった。また、領域終了後もポストドクや特任助教として研究を続けている若手研究者が25名おり、本領域の活動が若手の育成の一助となったと考えている。

<中間評価で指摘を受けた事項への対応状況>

評価結果:A (研究領域の設定目的に照らして、期待どおりの進展が認められる)

1)新技術の普及について

「今後、新技術がどう浸透していくかがポイントとなる」「今後新手法の応用展開を加速するために、より活発な班員間の共同研究を推進していただくよう期待したい」「領域外への情報発信がまだ不十分である」など

新技術の班内での普及は順調に進み、その利用に関わる領域内共同研究の数は81件に達した(公募班の技術を含む)(うち25件は論文発表済み)。領域外への情報発信については、新技術の開発にやや遅れが見られ十分に時間が取れなかった点はあるが、上にも述べたように、領域活動期間内に公開シンポジウムを行い領域外への広報に努めた。また、新技術に関する論文発表が進みつつあり、専門誌での特集号も刊行予定である。さらに、取りまとめ経費を用いて公開ワークショップなどを開催し、新技術の普及に努める計画である。これらの活動により、領域外へも新技術が普及、浸透していくことが期待される。

2) 領域内共同研究、若手育成

「領域内の共同研究を一層促すような、また若手研究者の育成に向けた領域代表者の強いリーダーシップが期待される。」

総括班では、「若手の会」の開催や、若手の班会議出席促進などを行い、若手の育成に努めた。上にあるように、本領域に関わった若手は概ね順調に成長しており、一定の成果が得られたと考えている。また領域内の共同研究については、総件数は 151 件に達し、そのうちの 75 件については論文発表または学会発表済みであることから、この面における領域の狙いは十分達成されたと考えている(詳しくは 7. 研究組織(公募研究を含む)と各研究項目の連携状況)。

3) 出口への意識と国民への広報

期待される。」「一連の研究の最終出口(産業応用)を意識する必要がある」
この用度については、処代は人業において付成す業がしまむ。 はきょうがぬか、まば乱をにここ
この問題については、総括班会議において何度も議論したが、何らかの組織だった活動を行うことは難しい、という結論となった。主な理由は、本研究は純粋に基礎分野の研究と位置づけられ、それ
が農業や環境問題に結びつくまでには長い道筋が予想された。残念ながら、この過程について何らな
の具体的アクションをとることは、領域の活動範囲を超えていると判断した。なお、この指摘に答え
るための新たな研究の進展を計画中である。
一方、「国民への広報」の重要性については十分認識していたが、一般向けの本の出版などを実際
に企画するには至らず、班員に個々の努力を促すにとどめた。とはいえ、多くの班員が何らかのアウ
トリーチ活動を行うに至った。その内訳は、出前授業(11名)、教科書の編集協力(4名)、高校生理科
教育に関わる委員(6名)、一般向け講演(9名)、プレスリリース(5名)、一般向け書籍・テレビ番組などによる情報発信(5名)などである。
こによる情報先信 (3名) なとである。

5. 主な研究成果(発明及び特許を含む)[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する] (3ページ程度)

本研究課題(公募研究を含む)により得られた研究成果(発明及び特許を含む)について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

1) 研究項目A01: 個別刺激応答機構 (計画研究)

計画研究ア(長谷班): 植物の光応答について、A03神原班の協力を得て、従来の見方とは異なり芽生えの茎頂部が強い光応答を示すことを見出した(Nito et al. in press)。A03神原班と共同で、植物微細組織片における遺伝子発現を網羅的に解析する手法を開発した(Kajiyama et al. in press)。A03高橋勝利班に協力し、植物組織切片におけるイメージング質量分析の技術を開発した(Takahashi et al. in press)。また、植物の光応答について、花芽形成に関わる新規因子PHLの同定(Endo et al. 2013)、フィトクロムの分子種間キメラ分子の機能解析(Oka et al. 2012)、フォトトロピンの構造機能解析(Aihara et al. 2012)、フォトトロピンの組織特異的機能の解析(Kozuka et al., 2011)などを行った。またA03細川班の協力を得て、避陰応答による胚軸伸長制御に子葉から胚軸への未知シグナルが関与することを発見した(学会発表)。

計画研究イ(上村班): 植物の低温馴化について、細胞膜の特定ドメインにおけるダイナミン様タンパク質の蓄積が凍結耐性獲得に関与することを示し(Minami et al. 2015)、凍結過程の細胞内を観察する技術を確立し(Kobayashi et al. 2014)、細胞膜タンパク質に関するプロテオーム解析を進め、低温馴化過程で細胞膜マイクロドメインのタンパク質組成が興味深い変動を示すことを見出した(Kobayashi et al. 2014, Takahashi et al. 2013, 2012)。また、低温馴化過程における細胞内 Ca²+の変動を観察するとともに、馴化過程のダイナミクスを観察するためのレポーター遺伝子導入植物系統を確立した。領域内基盤技術支援として 4 研究班の試料のプロテオーム解析を行い(2 件学会発表)、A01 長谷班の協力を得てクリプトクロムによる低温馴化の制御機構の解析を進め(学会発表)、A03 細川班と共同で組織内の水の過冷却状態をフェムト秒レーザーで解析する手法の開発を進めた(学会発表)。

計画研究ウ(高橋秀幸班): 植物の根の水分屈性について、小胞輸送制御因子である GNOM がオーキシンの排出輸送体 PIN 非依存的に水分屈性を制御すること(Moriwaki et al. 2014)、代表者らが発見した水分屈性因子 MIZ1 が自然環境下での生存に寄与すること(Iwata et al. 2013)、MIZ1 を過剰発現することにより水屈性が強化されること(Miyazawa et al. 2012)、光とアブシジン酸が MIZ1 の発現制御を通じて水屈性に影響すること(Moriwaki et al. 2012)、MIZ1 が側根形成の制御にも関わること(Moriwaki et al. 2011)などを明らかにした。また、AO3 細川班、AO1 長谷班と共同で、フェムト秒レーザーによる顕微手術による水分屈性の解析を進めた(学会発表)。

2) 研究項目A01:個別刺激応答機構 (公募研究)

公募研究(日出間班): 植物の UV 耐性に関わる CPD 光回復酵素のミトコンドリア輸送シグナル配列を明らかにし(Takahashi et al. 2014)、同酵素の結晶構造解析を海外グループと共同で行った(Hitomi et al. 2012)。公募研究(三浦班): ABA シグナルに関わる SUMO 化因子 SIZ1 と乾燥耐性の関わりや(Miura et al. 2013)、低温応答に関わる転写因子 ICE1 の活性調節機構(Miura et al. 2011)について研究を進めた。また、相互作用因子探索に関する領域内共同研究を 4 件行った。

公募研究 (増田班): 葉緑体における緊縮応答の鍵となる ppGpp を高感度定量する実験系を確立した (Ihara et al. 2015)。

公募研究(酒井班): 光屈性関連因子 RPT2 が光屈性の強光に対する順応に関わることを示した (Haga et al. 2015)。また、A01 長谷班と共同で光屈性の光受容部位を明らかにした (Yamamoto et al. 2012)。

公募研究(福澤班): クラミドモナスを用い、葉緑体への CO_2 取込みに関わ因子HLA3, LCIA の関係を明らかにした(Yamano et al. 2015)。また CO_2 応答の包括的制御因子CCM1 複合体の解析を進めた。

公募研究(多田班):海外の研究グループと共同で、タンパク質の脱ニトロシル化と植物免疫の関わりや (Kneeshaw et al. 2014)、サリチル酸受容体 (Fu et al. 2012) に関する研究を進めた。また代表者が開発した無細胞タンパク質発現系に関する領域内共同研究を15件行った(うち6件論文発表、1件学会発表)。 公募研究(武宮班):青色光による気孔開口においてフォトトロピンの基質となる新規プロテインキナーゼ BLUS1を発見し (Takemiya et al. 2013)、気孔開口制御に関わるタンパク質フォスファターゼを同定した

(Takemiya et al. 2013) $_{\circ}$

公募研究(**松下班**): フィトクロムのシグナル伝達において、新規因子 RRC1 を介した選択的スプライシングの制御が関わることを発見した(Shikata et al. 2014, Shikata et al. 2012)。

公募研究(飯野班): イネにおいてジャスモン酸関連変異体を単離しその役割を明らかにした(Riemann et al. 2013)。また、LAZY1が花茎の重力屈性に関わることを示した(Yoshihara et al. 2013)。

公募研究(古本班): 低温応答に転写因子 PIF4 が関わることを見出し分子遺伝学的研究を進めた。また、色素体において重要な役割を果たすピルビン酸輸送体を同定した(Furumoto et al. 2011)。

公募研究(柘植班):環境応答全般に関わる COP9 シグナロソームの解析を進めた。

公募研究(東原班): 植物の匂い応答という極めて新規性の高い題材について、細胞レベルの実験系を整備した。

3) 研究項目A02: 受容体・細胞応答機構(計画研究)

計画研究才(徳富班): 光受容体タンパク質の構造と機能について、A03 中迫班の協力を得て、光による活性化に伴うフォトトロピンの立体構造変化を明らかにした (Okajima et al. 2014, Takayama et al. 2011)。また、フォトトロピンの機能にLOV2 ドメインの A α $A\beta$ ギャップが重要な役割を果たすこと (Kashojiya et al. 2015)、フォトトロピンの LOV2 とキナーゼ領域からなる断片が光依存的に LOV1 を含む N 末端断片をリン酸化すること (Okajima et al. 2011)、などを見出し、海外のグループと共同で、光屈性に関わる因子 PKS4 がフォトトロピンでリン酸化されることを示した (Demarsy et al. 2012)。また、A01 長谷班(Aihara et al. 2013)、A02 久冨班(Hisatomi et al. 2013)の光受容体の構造解析について協力した。また、A01 武宮班、A02 和田班のキナーゼ活性測定に協力した。

計画研究力(三村班): A03 高橋勝利班と共同で、植物体あるいは組織切片において質量顕微鏡により代謝物の空間分布を網羅的に解析する技術を開発した(Takahashi et al. in press)。また、A03 神原班が中心になって開発した微細組織片遺伝子発現解析技術を利用して、セントポーリアにおける急激な温度低下による液胞膜崩壊について、 Ca^{2+} チャネルが関与することや MCA チャンネル遺伝子の発現が当該組織で高いことを示した(Ohnishi et al. in press, Kadohama et al. 2013)。さらに、ポプラの季節変動に応じたリン酸代謝の変化を研究するため、人工的に 1 年間を短縮する栽培法を確立した(Kurita et al. 2014)。また、いまだ詳細不明なリン酸欠乏認識機構の解明に向けて、レポーター系統を用いた研究や網羅的遺伝子発現解析などを進めた。領域内基盤技術支援として、3 研究班の試料のメタボローム解析を行った。また、A02 西村班が中心になり進めているオルガネラ・データベースの拡張・管理に協力した(Mano et al. 2014)。

計画研究キ(西村班): オルガネラ相互作用の環境応答についてペルオキシソームに注目した研究を進め、A01 細川班と共同で、フェムト秒レーザーを利用した新技術を開発し、光環境の変化に応答してペルオキシソームと葉緑体の接着力が変化することを実測により証明した(Oikawa et al. in press)。また、光環境下におけるペルオキシソーム機能変換においてオートファジーの機構が深く関与することを見出した(Shibata et al. 2013)。さらにプロテオーム解析によりペルオキシソームタンパク質輸送因子 PEX7と結合するタンパク質を同定し機能解析(Cui et al. 2013)、ER-bodyの膜に存在する新規タンパク質の解析(Yamada et al. 2013)、ペルオキシソーム形態異常変異体の解析(Goto et al. 2011)などを進めた。領域内基盤技術支援として班員を対象にトランスクリプトーム解析を行った。また、オルガネラ・データベースの拡張・管理を中心になって行った(Mano et al. 2014)。

4) 研究項目A02:受容体・細胞応答機構(公募研究)

公募研究(**森安班**): タバコ BY-2 細胞で、栄養飢餓で誘導されるオートファジー現象の細胞学的解析を進めた (Takatsuka et al. 2011, Oh-ye et al. 2011)。

公募研究 (田中・華岡班): 海外の研究者のグループに協力し、葉緑体の転写が生物時計によって制御されることを示した (Noordally et al. 2013)。また、紅藻 *Cyanidioschyzon* を用いて σ 因子の解析を進めた (Fujii et al. 2013)。

公募研究(植村班): 超解像顕微鏡を用いてトランスゴルジ網の動態観察を行った (Uemura et al. 2014)。 また、液胞輸送の研究に参加した (Ebine et al. 2014)。

公募研究 (渡邊班): ストレス応答に関わる RNA 顆粒 P-body の動態や機能について解析を進め、その構成 要素である DCP1 と DCP2 の振舞いが異なることを見出した (Motomura et al. 2015)。

公募研究(飯田班): 代表者が発見した Ca^{2+} チャネル MCA1, MCA2 について、機械刺激応答に関与する可能性を探るとともに、その分子構造や(Shigematsu et al. 2014)機能の解析(Nakano et al. 2011)を進めた。また、10 研究班と共同で MCA が環境応答に関与する可能性を探った(Ohnish et al. in press, 2 件学会発表)。

公募研究(西川班): 高温ストレス応答における分子シャペロンタンパク質の役割を調べ、小胞体 J タンパク質の種類により異なる標的分子の膜輸送が制御されることを示した(Maruyama et al. 2014)。

公募研究(有村・山岡班): ミトコンドリアと環境応答の関係を明らかにするため、可視化技術の開発や、 ミトコンドリアの分裂に関与する MIR01 の解析を進めた。

公募研究(和田班): 青色光による葉緑体定位運動の分子機構解析を目指し、この応答を仲介する CHUP1 タンパク質を軸に、フォトトロピンの葉緑体局在 (Kong et al. 2013a) や葉緑体型アクチン繊維の動態 (Kong et al. 2013b) の研究を進めた。

公募研究(小柴班): ナノスプレー法による一細胞ホルモン分析技術の開発を進め、ABA を検出することに成功した(Shimizu et al. in press)。また、光屈性とオーキシンの関わりについて研究した(Suzuki et al. 2014)。公募研究(椎名班): 環境応答におけるオルガネラ Ca²⁺シグナルの関与について研究を進め、エリシターで

誘導される初期遺伝子発現応答が光合成電子伝達に依存することを明らかにした(Sano et al. 2014)。

公募研究(松永班):環境応答時に核内で起こる変化に注目し、DNA 二本鎖切断により核内の相同染色体座の位置関係が変化すること (Hirakawa et al. 2015) などを見出した。

公募研究 (河内班): 基部陸上植物であるゼニゴケを材料に環境応答の研究を行い、フォトトロピンによる 葉緑体運動制御や (Komatsu et al. 2014)、光周性の分子機構の研究 (Kubota et al. 2014) を進めた。

公募研究(久冨班): 褐藻類で発見されたオーレオクロームの分子構造に関する研究を進めた(Hisatomi et al. 2014, 2013)。

5) 研究項目A03:「植物細胞場」解析技術開発(計画研究)

計画研究ク(神原班):環境刺激に対する遺伝子発現応答を植物体の部位特異的に解析するツールの開発を行った。これのため、植物の単一微細組織片において網羅的遺伝子発現解析を高感度に実施する実験プロトコルを確立するとともに、微細組織片採取用ニードルを用いて組織片を生の植物体より短時間で採取・回収する装置を開発した。このシステムを用い、A01 長谷班の協力のもと、シロイヌナズナ芽生えの微細領域における遺伝子発現解析が効率的に実現できることを示した(Kajiyama et al. in press)。また、A01 長谷班、A02 三村班と共同で、植物の光応答や低温障害応答の研究に本手法を応用し興味深い結果を得た(Nito et al. in press, Ohnishi et al. in press)。この他に3研究班と本手法に関する共同研究を行っている。また、本研究に関わる特許3件を出願中。

計画研究ケ(高橋勝利班):環境刺激に対する代謝物応答の空間パターンを網羅的に解析するために、植物 試料を対象とする質量顕微鏡の開発を行った。このため、質量顕微鏡装置のハードウエア、制御ソフトウエアおよびデータ解析ソフトウエアを開発するとともに、A02 三村班や A01 長谷班の協力のもと、植物組織片やシロイヌナズナ芽生え全体について、試料の前処理やイオン化のためのマトリクス蒸着法などを確立した。結果として、20 μm の空間分解能で代謝物の分布を網羅的に解析することが可能となった

(Takahashi et al. in press)。現在、領域内共同研究として、6 研究班とイネ、ポプラ、コケなど多様な植物試料の測定を行っている(3 件学会発表)。

計画研究コ(細川班):フェムト秒レーザーが引き起こす多光子吸収による局所的な切断現象や爆発現象を利用し、生きた植物細胞を対象とする新しい操作・加工・測定技術の開発を進めた。レーザーにより細胞内に様々な強度の衝撃波を生じさせることを利用し、AO2 西村班と共同でペルオキシソームと葉緑体の接着力や (Oikawa et al. in press)、動物細胞間の接着力を測定すること (Hosokawa et al. 2011) に成功した。また、AO1 長谷班の協力のもと、AFM 探針を利用してシロイヌナズナ芽生えの力学的特性を調べる手法や (Takenaka et al. 2014)、孔辺細胞の特定の細胞を周囲に影響をできるだけ与えず破砕する方法 (Higaki et al. 2012) を開発した。さらに、フェムト秒レーザーを用いた顕微手術による光応答や水分屈性の解析、変異体の根の力学的特性の測定、過冷却状態を利用した凍結耐性の解析、標的細胞への遺伝子導入などの研究を領域内共同研究として進めている (5 件学会発表)。

6) 研究項目A03: 「植物細胞場」解析技術開発(公募研究)

公募研究(綿引班):環境応答時の植物ホルモン・オーキシン応答を解析するため、応答の可視化技術の開発などを進めた。

公募研究(山本班):環境応答性の遺伝子発現制御機構について、ゲノム情報科学に基づく還元論的解析を進め、光防御関連遺伝子 *ELIP2* プロモーターに含まれる新規制御配列を明らかにした(Hayama et al. in press)。また、これまでのプロモーター配列に関する結果をデータベースとしてまとめ公開した(Hieno et al. 2014)。領域内共同研究としては、5 研究班とプロモーター解析に関する共同研究を行った(1 件投稿中)。

公募研究(岩田班): 光受容体の分子構造に関する研究を進めるとともに(Ito et al. 2014, Wijaya et al. 2014)、フラビン結合型光センサータンパク質を利用した酸化還元状態をモニターするための蛍光タンパク質作出を試みた。

公募研究(中迫班): X線を利用した刺激受容分子やオルガネラの構造解析を進めた。コヒーレントX線回 折イメージング解析の技術開発を進め (Nakasako et al. 2013)、A02 松永班の協力を得て、シゾン葉緑体の内部構造を観察することに成功した (Takayama et al. in press)。また、A01 徳富班との共同研究において X線小角散乱実験を行い、光受容体の構造解析を進めた (Okajima et al. 2014, Takayama et al. 2011)。

公募研究(浦和班): 赤外レーザーによる発熱を利用して、標的細胞で遺伝子発現を誘導する手法(IR-LEGO 法)の植物への応用を進めた。領域内共同研究として、本手法を用いる共同研究を9研究班と進めている(1件投稿中)。

公募研究(永田班): 透過型電子顕微鏡を用いてオルガネラ形態を網羅的に構造観察し、その結果のデータベース化を進めた(Toyooka et al. 2014, Myouga et al. 2013)。領域内共同研究として、7 研究班の試料の電子顕微鏡観察を行った(Motomura et al. 2015)。

6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況(主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等)(5ページ程度)

本研究課題(公募研究を含む)により得られた研究成果の公表の状況(主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況)について具体的に記述してください。論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には<u>二重下線</u>、研究分担者には<u>一重下線</u>、連携研究者には<u>点線の下線</u>を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。また、別添の「(2)発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に \odot を付してください。

1) 主要な論文、書籍一覧

-研究項目 A01 (計画研究) —

- Nito K, Kajiyama T, Unten-Kobayashi J, Fujii A, <u>Mochizuki</u> N, Kambara H, *<u>Nagatani</u> A (2015) Spatial regulation of the gene expression response to shade in Arabidopsis seedlings. *Plant Cell Physiol* (in press) 查読有
- Minami A, Tominaga Y, Furuto A, Kondo M, <u>Kawamura Y</u>, *<u>Uemura M</u>. (2015) Arabidopsis dynamin-related protein 1E in sphingolipid-enriched plasma membrane domains is associated with the development of freezing tolerance. *Plant Journal* (in press) 查読有
- Yamamoto K, <u>Suzuki</u> T, Aihara Y, Haga K, Sakai T, *<u>Nagatani</u> A. (2014) The phototropic response is locally regulated within the topmost light-responsive region of the Arabidopsis thaliana seedling. *Plant Cell Physiol*. 55(4):812-5.
- Kobayashi S, Kutsuna N, Tanino KK, <u>Uemura M</u>, *<u>Kawamura Y</u>. (2014) Confocal cryomicroscopic analysis and cryodynamics of endoplasmic reticulum in herbaceous plant cells. *Environmental and Experimental Botany*, 106: 44-51. 查読有
- Moriwaki T, *Miyazawa Y, Fujii N, *Takahashi H. (2014) GNOM regulates root hydrotropism and phototropism independently of PIN-mediated auxin transport. *Plant Science* 215-216: 141-149. 查読有
- *Endo M, Tanigawa Y, Murakami T, *Araki T, *<u>Nagatani</u> A (2013) PHYTOCHROME-DEPENDENT LATE-FLOWERING accelerates flowering through physical interactions with phytochrome B and CONSTANS. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:18017-18022. 查読有
- Takahashi D, <u>Kawamura</u> Y, *<u>Uemura</u> M. (2013) Changes of detergent-resistant plasma membrane proteins in oat and rye during cold acclimation. *Journal of Proteome Research*, 12: 4998-5011. 查読有
- Iwata S, <u>Miyazawa* Y, Fujii N</u>, *<u>Takahashi</u> H.(2013) MIZ1-regulated hydrotropism functions in the growth and survival of Arabidopsis thaliana under natural conditions. *Annals of Botany* 112: 103-114. 查読有
- Oka Y, Ono Y, Toledo-Ortiz G, Kokaji K, Matsui M, <u>Mochizuki</u> N, *<u>Nagatani</u> A (2012) Arabidopsis phytochrome A is modularly structured to integrate the multiple features that are required for a highly sensitized phytochrome. *Plant Cell* 24(7):2949-2962. 查読有
- Aihara Y, Yamamoto T, Okajima K, Yamamoto K, <u>Suzuki</u> T, Tokutomi S, Tanaka K, *<u>Nagatani</u> A (2012) Mutations in N-terminal flanking region of blue light-sensing light-oxygen and voltage 2 (LOV2) domain disrupt its repressive activity on kinase domain in the Chlamydomonas phototropin. *J Biol Chem* 287(13):9901-9909. 查
- Takahashi D, <u>Kawamura</u> Y, Yamashita T, *<u>Uemura</u> M. (2012) Detergent-resistant plasma membrane proteome in oat and rye: similarities and dissimilarities between two monocotyledonous plants. *Journal of Proteome Research* 111: 1654-1665. 查読有
- Li B, Takahashi D, <u>Kawamura</u> Y, *<u>Uemura</u> 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 and Cell Physiol* 53: 542-554. 查読有
- Nakayama M, Kaneko Y, <u>Miyazawa Y, Fujii</u> N, Higashitani N, Wada S, Ishida H, Yoshimoto K, Shirasu K, Yamada K, Nishimura M, *<u>Takahashi</u> H. (2012) A possible involvement of autophagy in amyloplast degradation in columella cells during hydrotropic response of Arabidopsis roots. *Planta* 236(4):999-1012.
- *Miyazawa,Y., Moriwaki T, Uchida M, Kobayashi A, Fujii N, *Takahashi H. (2012) Overexpression of MIZU-KUSSEI1 enhances root hydrotropic response by retaining cell viability under hydrostimulated condition in Arabidopsis thaliana. *Plant and Cell Physiology* 53: 1926-1933. 查読有
- Moriwaki T, *Miyazawa Y, Fujii N, <u>Takahashi</u> H. (2012) Light and abscisic acid signaling are integrated by MIZ1 gene expression and regulate hydrotropic response in roots of Arabidopsis thaliana. *Plant, Cell and Environment* 35: 1359-1368. 查読有
- Kozuka T, Kong SG, Doi M, Shimazaki K, *Nagatani A (2011) Tissue-autonomous promotion of palisade cell development by phototropin 2 in Arabidopsis. *Plant Cell* 23(10):3684-3695. 查読有
- Moriwaki T, *Miyazawa Y, Kobayashi A, Uchida M, Watanabe C, Fujii N, Takahashi H. (2011) Hormonal regulation of lateral root development in Arabidopsis modulated by MIZ1 and requirement of GNOM activity for MIZ1 function. *Plant Physiology* 157: 1209-1220. 查読有

-研究項目 A01 (公募研究) —

Yamano T, Sato E, Iguchi H, Fukuda Y, * Fukuzawa H. (2015) Characterization of cooperative bicarbonate uptake

- into chloroplast stroma in the green alga Chlamydomonas reinhardtii. *Proc Natl Acad Sci USA* (in press)
- Kajikawa M, Sawaragi Y, Shinkawa H, Yamano T, Ando A, Kato M, Hirono M, Sato N, *Fukuzawa H. (2015)Algal dual-specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase TAR1 regulates accumulation of triacylglycerol in nitrogen- or sulfur-deficiency. *Plant Physiology* (in press) 查読有
- hara Y, Ohta H, *Masuda S. (2015) A highly sensitive quantification method for the accumulation of alarmone ppGpp in Arabidopsis thaliana using UPLC-ESI-qMS/MS. *J. Plant Res.* 128: 511-518. 查読有
- Haga K, Tsuchida-Mayama T, Yamada M, *Sakai T. (2015) Arabidopsis ROOT PHOTOTROPISM2 contributes to the adaptation to high-intensity light in phototropic responses. *Plant Cell* 27, 1098-1112. 查読有
- Takahashi S, <u>Teranishi</u> M, Izumi M, Takahashi M, <u>Takahashi</u> F, *<u>Hidema</u> J. (2014) Transport of rice cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) photolyase into mitochondria relies on a targeting sequence located in its C-terminal internal region. *Plant J* 79: 951-963. 2014. 查読有
- Sato R, <u>Ohta</u> H. *<u>Masuda</u> S. (2014) Prediction of respective contribution of linear electron flow and PGR5-dependent cyclic electron flow to non-photochemical quenching induction. *Plant Physiol. Biochem*. 81: 190-196. 查読有
- Kneeshaw S, Gelineau S, <u>Tada</u> Y, Loake GJ, *Spoel SH. (2014) Selective protein denitrosylation activity of thioredoxin-h5 modulates plant immunity. *Mol Cell*. 56(1): 153-162. 查読有
- Shikata H, Hanada K, Ushijima T, Nakashima M, Suzuki Y, *Matsushita T. (2014) Phytochrome controls alternative splicing to mediate light responses in Arabidopsis. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:18781-18786. 查読有
- *Miura K, Okamoto H, Okuma E, Shiba H, Kamada H, Hasegawa PM, Murata Y. (2013) SIZ1 deficiency causes reduced stomatal aperture and enhanced drought tolerance via controlling salicylic acid-induced ROS accumulation in Arabidopsis. *Plant J* 73, 91-104. 查読有
- Takemiya A, Sugiyama N, Fujimoto H, Tsutsumi T, Yamauchi S, Hiyama A, Tada Y, Christie JM, *Shimazaki K. (2013) Phosphorylation of BLUS1 kinase by phototropins is a primary step in stomatal opening. *Nat. Commun.*, 4:2094. 查読有
- Takemiya A, Yamauchi S, Yano T, Ariyoshi C, *Shimazaki K. (2013) Identification of a regulatory subunit of protein phosphatase 1 which mediates blue light signaling for stomatal opening. *Plant Cell Physiol.*, 54: 24-35. 查読有
- Riemann M, Haga K, Shimizu T, Okada K, Ando S, Mochizuki S, Nishizawa Y, Yamanouchi U, Nick P, Yano M, Minami E, Takano M, Yamane H, *<u>Iino</u> M. (2013) Identification of rice allene oxide cyclase mutants and the function of jasmonate for defence against Magnaporthe oryzae, *The Plant Journal*, 74:226-238. 查読有
- Yoshihara T, Spalding EP, *<u>Iino</u> M (2013) AtLAZY1 is a signaling component required for gravitropism of the Arabidopsis thaliana inflorescence, *The Plant Journal*, 74:267-279. 查読有
- Miura K, Furumoto T. (2013) Cold signaling and cold response in plants. Int. J. Mol. Sci. 14:5312-5337.
- Hitomi K, Arvai AS, Yamamoto J, Hitomi C, <u>Teranishi</u> M, Hirouchi T, Yamamoto K, Iwai S, Tainer JA, <u>Hidema</u> J, *Getzoff ED. (2012) Eukaryotic class II CPD photolyase structure reveals a basis for improved UV-tolerance in plants. *J Biol Chem* 287: 12060-12069. 查読有
- Fu ZQ, Yan S, Saleh A, Wang W, Ruble J, Oka N, Mohan R, Spoel SH, <u>Tada</u> Y, Zheng N, *Dong, X. (2012). NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486: 228-232. 查読有
- Shikata H, Shibata M, Ushijima T, Nakashima M, Kong SG, Matsuoka K, Lin C, *Matsushita T. (2012) The RS domain of Arabidopsis splicing factor RRC1 is required for phytochrome B signal transduction. *Plant J* 70:727-738 查読有
- Takahashi M, <u>Teranishi</u> M, Ishida H, Kawasaki J, Takeuchi A, Yamaya T, Watanabe M, Makino A, *<u>Hidema</u> J. (2011) CPD photolyase repairs ultraviolet-B-induced CPDs in rice chloroplast and mitochondrial DNA. *Plant J* 66: 433-442. 查読有
- *Miura K, Ohta M, Nakazawa M, Ono M, Hasegawa, PM. (2011) ICE1 Ser403 is necessary for protein stabilization and regulation of cold signaling and tolerance. *Plant J* 67, 269-279. 查読有
- Mashiguchi K, Tanaka K, <u>Sakai T</u>, Sugawara S, Kawaide H, Natsume M, Hanada A, Yaeno A, Shirasu K, Yao H, McSteen P, Zhao Y, Hayashi K, Kamiya Y, *Kasahara H. (2011) The main auxin biosynthesis pathway in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 18512-18517. 查読有
- *<u>Furumoto</u> T, Yamaguchi T, Ohshima-Ichie Y, Nakamura M, Iwata Y, Shimamura M, Ohnishi J, Hata S, Gowik U, Westhoff P, Bräutigam A, Weber A, Izui K. (2011) Identification of a plastidial sodium-dependent pyruvate transporter. *Nature* 476:472-475. 查読有
- 一研究項目 A02 (計画研究) —
- ◎Ohnishi M, Kadohama N, Suzuki Y, Kajiyama T, Ishizaki K, Fukaki H, Iida H, Kambara H, *Mimura T. (2015) Involvement of Ca2+ in vacuole degradation caused by a rapid temperature decrease in Saintpaulia palisade cells: A case of gene expression analysis in a specialized small tissue. *Plant and Cell Physiology* (in press) 査 読有
- ◎Oikawa K, Matsunaga S, Mano S, Kondo M, Yamada K, Hayashi M, Kagawa T, Kadota A, Sakamoto W, Higashi S, Watanabe M, Mitsui T, Shigemasa A, Iino T, *Hosokawa Y, *Nishimura M. (2015). Physical interaction between peroxisomes and chloroplasts elucidated by in situ laser analysis. *Nature Plants*. (in press) 査読有

- ⑤Kashojiya S, *Okajima K, Shimada T. Tokuotmi, S. (2015) Essential role of the A'α/Aβ gap in the N-terminal upstream of LOV2 for the blue light signaling from LOV2 to kinase in Arabidopsis photototropin1, a plant blue light receptor. **PLoS One**, 10, e0124284. 查読有
- © Okajima K, Aihara Y, Takayama Y, Nakajima M, Kashojiya S, Hikima T, Oroguchi T, Kobayashi A, Sekiguchi Y, Yamamoto M, Suzuki T, Nagatani A, Nakasako M, *Tokutomi S. (2014) Light-induced conformational changes of LOV1 (Light Oxygen Voltage-sensing Domain 1) and LOV2 relative to the kinase domain and regulation of kinase activity in Chlamydomonas phototropin. *J. Biol. Chem.* 289, 413-422. 查読有
- Kurita Y, Baba K, Ohnishi M, Anegawa A, <u>Shichijo</u> C, Kosuge K, <u>Fukaki H</u>, *<u>Mimura</u> T. (2014) Establishment of a shortened annual cycle system; a tool for the analysis 1 of annual re-translocation of phosphorus in the deciduous woody plant (Populus alba L.). *Journal of Plant Research* 127:545-551, 查読有
- *Mano S, Nakamura T, Kondo M, Miwa T, Nishikawa S, Mimura T, Nagatani A,* <u>Nishimura M</u>. (2014) The Plant Organelles Database 3 (PODB3) update 2014: integrating electron micrographs and new options for plant organelle research. *Plant Cell Physiol*. 55(1):e1.
- Yoshida K, Ohnishi M, Fukao Y, Okazaki Y, Fujiwara M, Song C, Nakanishi Y, Saito K, Shimmen T, Suzaki T, Hayashi F, <u>Fukaki</u> H, Maeshima M, *<u>Mimura</u> T. (2013) Studies on vacuolar membrane microdomains isolated from Arabidopsis suspension-cultured cells: Local distribution of vacuolar membrane proteins. *Plant & Cell Physiology*, 54:1571-1584. 查読有
- Nagai M, Ohnishi M, Uehara T, Yamagami M, Miura E Kamakura M, Kitamura A, Sakaguchi S, Sakamoto W, Shimmen T, <u>Fukaki</u> H, Reid RJ, Furukawa A *<u>Mimura</u> T. (2013) Ion gradients in xylem exudate and guttation fluid related to tissue ion levels along primary leaves of barley. *Plant, Cell & Environment*, 36:1826-1837. 查
- Kadohama N, Goh T, Ohnishi M, <u>Fukaki</u> H, *<u>Mimura</u> T, Suzuki Y. (2013) Sudden collapse of vacuoles in Saintpaulia sp. palisade cells induced by a rapid temperature decrease. **PLoS One** 8(2): e57259. 查読有
- Shibata M, Oikawa K, Yoshimoto K, Kondo M, Mano S, Yamada K, Hayashi M, Sakamoto W, Ohsumi Y, *Nishimura M. (2013). Highly oxidized peroxisomes are selectively degraded via autophagy in Arabidopsis. **Plant Cell** 25:4967-4983. 查読有
- Cui S, Fukao Y, Mano S, Yamada K, Hayashi M, *<u>Nishimura</u> M. (2013). Proteomic analysis revealed that the Rab GTPase RabE1C is involved in the degradation of the peroxisomal protein receptor PEX7 (peroxin 7). *J. Biol. Chem.* 288:6014-6023. 查読有
- Yamada K, Nagano AJ, Nishina M, Hara-Nishimura I, *<u>Nishimura</u> M. (2013). Identification of two novel endoplasmic reticulum body-specific integral membrane proteins. *Plant Physiol.* 161, 108-120. 查読有
- Demarsy E, Schepens I, <u>Okajima</u> K, Hersch M, Bergmann S, Christie J, Shimazaki K, <u>Tokutomi</u> S, *Fankhauser C (2012) Phytochrome kinase substrate 4 is phosphorylated by the phototropin 1 photoreceptor. *EMBO J.* 31, 3457–3467. 查読有
- Okajima K, Matsuoka D, *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. 查
- Takayama Y, Nakasako M, <u>Okajima</u> K, Iwata A, Kashojiya S, Matsui Y, *<u>Tokutomi</u> S. (2011) Light-Induced movement of the LOV2 domain in an Asp720Asn mutant LOV2-Kinase fragment of Arabidopsis phototropin 2. *Biochemistry* 50, 1174–1183. 查読有
- Goto S, Mano S, Nakamori C, *<u>Nishimura</u> M. (2011). Arabidopsis ABERRANT PEROXISOME MORPHOLOGY9 is a peroxin that recruits the PEX1-PEX6 complex to peroxisomes. *Plant Cell*. 23, 1573-1587. 查読有
- -研究項目 A02 (公募研究) —
- Shimizu T, Miyakawa S, Esaki T, Mizuno H, <u>Masujima</u> T, <u>Koshiba</u> T, *Seo M. (2015) Live single cell plant hormone analysis by video-mass spectrometry. *Plant Cell Physiol*. (in press) 查読有
- Hirakawa T, Katagiri Y, Ando T, *<u>Matsunaga</u> S. (2015) DNA double-strand breaks alter the spatial arrangement of homologous loci in plant cells. *Sci. Rep.*, (in press) 查読有
- Motomura K, Le QTN, <u>Hamada</u> T, Kutsuna N, Mano S, Nishimura M, *<u>Watanabe</u> Y. (2015) Diffuse DCP2 accumulates in DCP1 granules under heat stress in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiol*. 56:107-115. 查読
- *<u>Uemura</u> T, Suda Y, <u>Ueda</u> T, Nakano A. (2014) Dynamic behavior of the trans-Golgi network in root tissues of Arabidopsis revealed by super-resolution live imaging. *Plant Cell Physiol.*, 55:694-703. 查読有
- Ebine K, Inoue T, Ito J, Ito E, <u>Uemura</u> T, Goh T, Abe H, Sato K, Nakano A, *<u>Ueda</u> T. (2014) Plant vacuolar trafficking occurs through distinctly regulated pathways. *Curr. Biol.*, 24:1375-1382. 查読有
- Shigematsu H, Iida K, Nakano M, Chaudhuri P, *<u>Iida</u> H, *Nagayama K. (2014) Structural characterization of the mechanosensitive channel candidate MCA2 from Arabidopsis thaliana. *PLoS ONE*, 9(1) e87724. 查読有
- Maruyama D, Yamamoto M, Endo T, *Nishikawa S. (2014) Different sets of ER-resident J-proteins regulate distinct polar nuclear-membrane fusion events in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiol.* 55: 1937-1944. 查読有
- Maruyama D, Sugiyama T, Endo T, *Nishikawa S. (2014) Multiple BiP genes of Arabidopsis thaliana are required

- for male gametogenesis and pollen competitiveness. Plant Cell Physiol. 55: 801-810. 查読有
- Suzuki H, Okamoto A, Kojima A, Nishimura T, Takano M, Kagawa T, Kadota A, Kanegae T, *Koshiba T. (2014) Blue-light regulation of ZmPHOT1 and ZmPHOT2 gene expression and the possible involvement of Zmphot1 in phototropism in maize coleoptiles. *Planta*, 240: 251-261. 查読有
- Sano S, Aoyama M, Nakai K, Shimotani K, Yamasaki K, Sato MH, Tojo D, Suwastika IN, Nomura H, *Shiina T. (2014) Light-dependent expression of flg22-induced defense genes in Arabidopsis. *Front Plant Sci.* 5, 531. 查
- Komatsu A, Terai M, <u>Ishizaki</u> K, Suetsugu N, Tsuboi H, <u>Nishihama</u> R, <u>Yamato</u> KT, Wada M, *<u>Kohchi</u> T. (2014) Phototropin encoded by a single-copy gene mediates chloroplast photorelocation movements in the liverwort Marchantia polymorpha L., *Plant Physiol.*, 166, 411-427. 查読有
- Kubota A, Kita S, <u>Ishizaki</u> K, <u>Nishihama</u> R. <u>Yamato</u>, KT, *<u>Kohchi</u> T. (2014) Co-option of a photoperiodic growth-phase transition system during land plant evolution, *Nature Comm*. 5, 3668. 查読有
- *<u>Hisatomi</u> O, Nakatani Y, Takeuchi K, Takahashi F<u>, Kataoka</u> H. (2014) Blue light-induced dimerization of monomeric aureochrome-1 enhances its affinity for the target sequence. *J. Biol. Chem.* 289, 17379–17391. 查
- Kumakura N, Otsuki H, Takeda A, *<u>Watanabe</u> Y. (2013). Arabidopsis AtRRP44A is the functional homolog of Rrp44/Dis3, an exosome component, is essential for viability and is required for RNA processing and degradation. *PLoS One* 8, e79219. 查読有
- Yamaoka S, Shimono Y, Shirakawa M, Fukao Y, Kawase T, Hatsugai N, Tamura K, Shimada T, *Hara-Nishimura I. (2013) Identification and dynamics of Arabidopsis adaptor protein-2 complex and its involvement in floral organ development. *Plant Cell* 25: 2958-2969. 查読有
- Kong SG, Suetsugu N, Kikuchi S, Nakai M, Nagatani A, *<u>Wada</u> M. (2013a) Both phototropin 1 and 2 localize on the chloroplast outer membrane with distinct localization activity. *Plant Cell Physiol*. 54:80–92. 查読有
- Kong SG, Arai Y, Suetsugu N, Yanagida T, *<u>Wada</u> M. (2013b) Rapid severing and motility of cp-actin filaments are required for the chloroplast avoidance response. *Plant Cell* 25:572-590. 查読有
- Noordally ZB, Ishii K, Atkins KA, Wetherill SJ, Kusakin, J, Walton EJ, Kato M, Azuma M, <u>Tanaka</u> K, <u>Hanaoka</u> M, *Dodd AN. (2013) Circadian control of chloroplast transcription by a nuclear-encoded timing signal. *Science* 339, 1316-1319. 查読有
- Hayashi K, Hasegawa J, *Matsunaga S. (2013) The boundary of the meristematic and elongation zones in roots: endoreduplication precedes rapid cell expansion. *Sci. Rep.*, 3, 2723. 查読有
- Watanabe S, <u>Hanaoka</u> M, Ohba Y, Ono T, Ohnuma M, Yoshikawa H, Taketani S, *<u>Tanaka</u> K. (2013) Mitochondrial localization of ferrochelatase in a red alga Cyanidioschyzon merolae. *Plant Cell Physiol*. 54, 1289-1295. 查読
- Fujii G, Imamura S, <u>Hanaoka</u> M, *<u>Tanaka</u> K. (2013) Nuclear-encoded chloroplast RNA polymerase sigma factor SIG2 activates chloroplast-encoded phycobilisome genes in a red alga, Cyanidioschyzon merolae. *FEBS Lett.* 587, 3354-3359. 查読有
- *<u>Hisatomi</u> O, Takeuchi K, Zikihara K, Ookubo Y, Nakatani, Y, Takahashi F, Tokutomi S, <u>Kataoka</u> H. (2013) Blue light-induced conformational changes in a light-regulated transcription factor, aureochrome-1. *Plant Cell Physiol.* 54, 93-106.
- Wang F, Liu P, Zhang Q, Zhu J, Chen T, <u>Arimura S, Tsutsumi</u> N, *Lin J. (2012) Phosphorylation and ubiquitination of dynamin-related proteins (AtDRP3A/3B) synergically regulate mitochondrial proliferation during mitosis. *Plant J*. Oct;72(1):43-56. 查読有
- Takatsuka C, <u>Inoue</u> Y, Higuchi T, Stefan H, Robinson D, *<u>Moriyasu</u> Y. (2011) Autophagy in tobacco BY-2 cells cultured under sucrose starvation conditions: Formation of the autolysosome and its characterization. *Plant Cell Physiology* 52: 2074-2087. 查読有
- Oh-ye Y, Inoue Y, *Moriyasu Y. (2011) Detecting autophagy in Arabidopsis roots by membrane-permeable cysteine protease inhibitor E-64d and endocytosis tracer FM4-64. *Plant Signaling Behavior* 6: 1946-1949. 查読有
- Nakano M, Iida K, Nyunoya H, *<u>Iida</u> 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. 查読有
- -研究項目 A03 (計画研究) —
- Kajiyama T, Fujii A, Arikawa K, Habu T, Mochizuki N, Nagatani A, *Kambara H. (2015) Position-specific gene expression analysis using a micro-gram dissection method combined with on-bead cDNA library construction. *Plant Cell Physiol.* (in press) 查読有
- <u>Takahashi</u> K, Kozuka T, Anegawa A, Nagatani A, Mimura T. (2015) Development and application of high resolution imaging mass 16 spectroscope for the study of plant tissues. *Plant Cell Physiol*. (in press)
- ◎Oikawa K, Matsunaga M, Mano M, Kondo M, Yamada K, Hayashi M, Kagawa T, Kadota K, Sakamoto W, Higashi S, Watanabe M, Mitsui T, Shigemasa A, <u>lino</u> T, *<u>Hosokawa</u> Y, * Nishimura M. (2015) Physical interaction between peroxisomes and chloroplasts elucidated by in situ laser analysis, *Nature Plants*, (in press) 査読有

- ◎Takenaka M, <u>Iino</u> T, Nagatani A, *<u>Hosokawa</u> Y (2014) Nanoscale bending movement of biological micro-object induced by femtosecond laser impulse and its detection by AFM, *Appl. Phys. Express*, 7:087002_1-4 查読有
- Fukui K, <u>Takahashi</u> K. (2012) Infrared multiple photon dissociation spectroscopy and computational studies of O-glycosylated peptides. *Anal. Chem.* 84-5: 2188-2194. 查読有
- Higaki T, Kutsuna N, <u>Hosokawa</u> Y, Akita K, Ebine K, Ueda T, Kondo N, *Hasezawa S (2012) Statistical organelle dissection of Arabidopsis guard cells using image database LIPS, *Sci. Rep.*, 2:405_1-405_9 查読有
- *Hosokawa Y, Hagiyama M, Iino T, Murakami Y, *Ito A (2011). Non-contact estimation of intercellular breaking force using a femtosecond laser impulse quantified by atomic force microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108:1777-1782. 查読有
- Miura D, Tsuji Y, <u>Takahashi</u> K, Wariishi H, Saito K. (2010) A strategy for the determination of the elemental composition by Fourier transformation: Cyclotron resonance mass spectrometry based on isotopic peak ratios. *Anal. Chem.* 82, 5887-5891. 查読有
- Yukihira D, Miura D, Saito K, <u>Takahashi</u> K, Wariishi H. (2010) MALDI-MS-based high-throughput metabolite analysis for intracellular metabolic dynamics, *Anal. Chem.* 82, 4278-4282. 查読有

-研究項目 A03(公募研究)—

- Hayami N, Sakai Y, Kimura M, Tokizawa M, Nomoto M, Tada Y, Iuchi S, *<u>Yamamoto</u> YY. (2015)

 Prediction-oriented promoter analysis of ELIP2 revealed novel transcriptional regulatory elements that unites high light, UV-B, and cold stress responses. *Plant Physiol* (in press) 查読有
- ◎ Takayama Y, Inui Y, Sekiguchi Y, Kobayashi A, <u>Oroguchi</u> T, Yamamoto M, *Matsunaga S, *<u>Nakasako</u> M. (2015) Coherent X-ray diffraction imaging of chloroplasts from Cyanidioschyzon merolae by using X-ray free electron laser. *Plant Cell Physiology*. (in press) 査読有
- ◎*Higaki T, Kutsuna N, Akita K, Sato M, Wakazaki M, Goto Y, Sawaki F, Kobayashi M, Nagata N, Toyooka K, Hasezawa S. (2015) Semi-automatic organelle detection on transmission electron microscopic images. *Scientific Reports*, 5: 7794. 查読有
- ◎Ito S, Kato H, Taniguchi R, <u>Iwata</u> T, Nureki O, *<u>Kandori</u> H. (2014) Water-containing hydrogen-bonding network in the active center of channelrhodopsin. *J. Am. Chem. Soc.*, 136, 3475–3482. 查読有
- ©Wijaya IM, <u>Iwata</u> T, Yamamoto J, Hitomi K, Iwai S, Getzoff ED, Kennis JT, Mathes T, *<u>Kandori H</u>. (2014) FAD chromophore charge controls the conformation of CPD-photolyase α-helices. *Biochemistry*, 53, 5864–5875. 查
- Hieno A, Naznin HA, <u>Hyakumachi</u> M, <u>Sakurai</u> T, Tokizawa M, Koyama H, Sato N, Nishiyama T, Hasebe M, Zimmer AD, Dang D, Reski R, Rensing S, Obokata J, *<u>Yamamoto</u> YY. (2014) ppdb: Plant Promoter Database ver 3. *Nucleic Acids Res* 42: D1188-1192. 查読有
- ◎*Toyooka K, Sato M, <u>Kutsuna</u> N, Higaki T, Sawaki F, Wakazaki M, Goto Y, Hasezawa S, <u>Nagata</u> N, Matsuoka K. (2014) Wide-range high-resolution transmission electron microscopy reveals morphological and distributional changes of endomembrane compartments during log-to-stationary transition of growth phase in tobacco BY-2 cells. *Plant Cell Physiology*, 55(9), 1544-1555. 查読有
- *Nakasako M, Takayama Y, Oroguchi T, Sekiguchi Y, Kobayashi A, Shirahama K, *Yamamoto M, Hikima T, Yonekura K, Maki-Yonekura S, Kohmura Y, Inubushi Y, *Takahashi Y, Suzuki A, Matsunaga S, Inui Y, Tono K, Kameshima T, Joti Y, Hoshi T. (2013) KOTOBUKI-1 apparatus for cryogenic coherent X-ray diffraction imaging. *Rev. Sci. Instrum.* 84, 093705. 查読有
- Myouga F, Akiyama K, Tomonaga Y, Kato A, Sato Y, Kobayashi M, Nagata N, Sakurai T, *Shinozaki K. (2013) The Chloroplast Function Database II: A comprehensive collection of homozygous mutants and their phenotypic/genotypic traits for nuclear-encoded chloroplast proteins. *Plant Cell Physiology*, 54:e2, 1-10. 查読有
- *Yamamoto YY, Yoshioka Y, Hyakumachi M, Maruyama K, Yamaguchi-Shinozaki K, Tokizawa M, Koyama H (2011) Prediction of transcriptional regulatory elements for plant hormone responses based on microarray data. **BMC Plant Biol** 11, 39. 查読有

-Plant Cell & Physioogy 誌特集号-

'New Emerging Technologies for the Study of Plant Environmental Sensing' (July 2015; Vol 56:7). Edited by A. Nagatani and T. Mimura

(本領域の班員が著者として含まれる原著論文6編、総説1編を含む特集号)

2) ホームページ、データベース

―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上に公開され、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。

—The Plant Organelles Database 3—

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 3" (http://podb3.nibb.ac.jp/Organellome/)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 (Mano et al. 2014)。2015 年 4 月 13 日現在、総アクセス数は 261, 480 となっている。

3) 主要な主催シンポジウム

―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、奈良オーガナイザー:長谷あきら他、参加者:国内約120名、海外招待10名
- ・The 2nd International Symposium on Plant Environmental Sensing 2015年3月13-15日、産業総合研究所臨海副都心センター、お台場オーガナイザー:長谷あきら他、参加者:国内約110名、海外招待6名

―国内シンポジウム他(領域企画、共催など)―

日本植物生理学会年会、日本生化学会大会、日本タンパク質科学会年会、日本植物学会大会において、 合計9件のシンポジウムを開催した

4)アウトリーチ活動

領域主催の一般向けシンポジウム等は行わなかったが、研究代表者それぞれの立場から、出前授業(11名)、教科書の編集協力(4名)、高校生理科教育に関わる委員(6名)、一般向け講演(9名)、プレスリリース(5名)、などを行った。また、5名が一般向け書籍・テレビ番組などによる情報発信を行った。

7. 研究組織(公募研究を含む)と各研究項目の連携状況(2ページ程度)

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

概要

本領域では、個別の環境刺激応答を専門とする植物生理学者からなる研究項目A01、植物細胞や植物オルガネラを専門とする植物細胞生物学者、タンパク質科学の研究者を集めた研究項目02を設定し領域研究を推進した(図)。さらに、新しい植物細胞の環境感覚像を構築し研究フロンティアを切り拓くには革新的技術の開発・導入が不可欠と考え、技術開発のための研究項目A03を設定し、植物の研究実績にこだわらず、解析技術開発の研究者と協力して、植物細胞解析の新手法の開発を推進するとともに、その領域内への普及を図った。

1)総括班

一班会議など一 領域全体の推進に向け、総括班を 組織し研究班間の連携を図った。具体的には、年2 回の班会議、年1回の合宿形式の若手の会、2回の 国際シンポジウムを含む各種シンポジウム、分科会 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、領域の研究目的の班員への周知、 浸透を図った。これらの努力の甲斐もあり、班員間

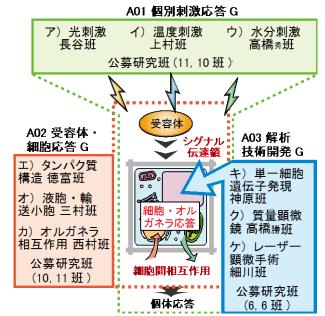


図 研究体制

共同研究が多数実施されることになった(計151件、うち47件論文発表済み、28件学会発表済み)(注:契約書を交わさないものを含む。全研究期間で集計)(次ページ図)。

一技術ワークショップ 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、「タンパク質構造解析」「無細胞タンパク質合成」「フェムト秒レーザー」「IR-LEGOを用いた遺伝子発現誘導法」「イメージング質量分析」「微細組織片遺伝子発現解析」に関する実習を含むワークショップを順次開催した。これらは班員にも好評で、技術利用に関する共同研究件数は49に上った。

一領域内外への情報発信— 本領域の活動を広く分野に周知させることを一つの目的として、計画班の代表者などが中心となり、領域主催の国際シンポジウムを2回、国内シンポジウムを8回開催した。さらに領域の活動を紹介するニュースレターを年2回刊行し班員を含む関係各所に配布した。さらに、Plant Cell & Physiology誌特集号'New Emerging Technologies for the Study of Plant Environmental Sensing'を本年7月に刊行予定である。また、AO2西村班が中心となり、環境刺激に応答したオルガネラの動態の研究成果を発信するためのデータベース"The Plant Organelles Database 3"の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。

—基盤技術支援— 総括班の班員が中心となって、公募研究班を含む班員に対して、「タンパク質構造解析 (A02徳富班)」「トランスクリプトーム (A02西村班)」「プロテオーム (A01上村班)」「メタボローム (A02三村班)」に関する共同研究ベースの基盤技術支援を行った。

2) 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計画研究に、光(6研究班)、温度(2研究班)、代謝系(2研究班)、その他(2研究班)を専門とする公募研究が加わり研究を進めた。項目内の共同研究で特筆すべきものとしては、光と温度の応答のクロストークに関する共同研究などが上げられる。これは当該分野における世界的な研究の流れに呼応した動きと位置付けられる。項目AO2との交流のなかで特筆すべきものとしては、Ca2+チャネルを専門とするAO2飯田班との多数の共同研究が上げられる。これらの研究により、Ca2+が関わることが知られながら、そこで働くCa2+チャネルが未同定であった様々な環境応答の研究が飛躍的に進む可能性がある。また、AO1多田班は、本研究項目の研究に加えて、無細胞タンパク質合成の技術を広く全班員に向けて発信し、他項目の研究班を含む多数の共同研究が行われることとなった。

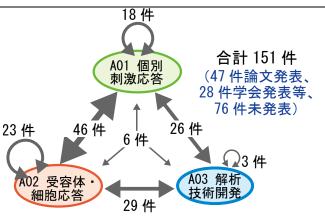
3) 研究項目A02: 受容体·細胞応答機構

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計画研究に、色素体・ミトコンドリア(5研究班)、膜交通(3研究班)、タンパク質(3研究班)、その他(2研究班)を専門とする公募研究が加わり研究を進めた。この項目の位置づけとしては、様々な環境刺激に対して、タンパク質やオルガネラがどのように応答するかを明らかにすることであった。すでに述べたように、研究項目A01との間に新しい組合せの共同研究が見られ(46件)、環境応答の研究分野に新しい光が当てられることとなった。上で述べたA02飯田班を中心とする共同研究はそのよい例である。

4) 研究項目A03: 受容体·細胞応答機構

計画研究では、微細組織片網羅的遺伝子発現解析技術、質量顕微鏡、フェムト秒レーザーを



※領域内共同研究の件数。データシートとは共同研究の基準が異なるので注意。

図 領域内共同研究数

用いた植物細胞解析技術の開発を進めた。特に前2者では、開発に予定より時間がかかったものの、植物分野の計画研究班の協力もあり、技術の核心部分を論文として報告することができた。また、技術ワークショップを開催するなどして技術の利用を班員に呼びかけたこともあり26件の共同研究が行われることとなった。これに加えて、公募班による、遺伝子発現可視化、生物情報工学、タンパク質工学、X線分光学、一細胞遺伝子発現誘導、電子顕微鏡/イメージ解析に関する技術開発が進められ、広く班員に利用されることとなった(共同研究32件)。以下、主な技術に関わる連携状況について概観する。

一微細組織片網羅的遺伝子発現解析(A03神原) — 一部当初計画の変更があったものの、A01長谷班の協力もあり、無事開発を終了することができた(Kajiyama et al. in press)。また、A01長谷班は、この技術を用いて光応答の研究を進め、予想に反して茎頂部が子葉より強い遺伝子発現応答を示すことを見出し(Nito et al. in press)、A02三村班は、セントポーリアの低温傷害の研究にこの技術を応用して、応答にMCA型のCa2+チャネルが関わるこを示唆する結果を得た(Ohnishi et al. in press)。これらに加えて3研究班がすでに共同研究を開始しており今後の普及が期待される

一質量顕微鏡(A03班高橋勝利) — 当初の予定よりは遅れたものの、A02三村班の協力もあり、無事開発をほぼ終了した(Takahashi et al. in press)。また、この技術は班員の関心を広く集め、A01長谷班の光刺激に対する代謝物応答の研究を筆頭に、6研究班が様々な材料で解析を開始しており、今後の更なる普及が期待される。

ーフェムト秒レーザー(A03細川班) — 植物側研究者に最もなじみのない技術の一つであったが、それだけに注目を集め新規性の高い共同研究が展開された。なかでもA03班西村は、この技術を用いてオルガネラ間の接着着力を細胞内で実測するというインパクトの高い結果を得た(Oikawa et al. in press)。またA01長谷班は、この技術を顕微手術に応用し、光応答時に子葉から胚軸へ未知のシグナルが伝達されることを示した。この他にも、これまでにないユニークな研究が5研究班との間で進行中であり、今後発展が注目される。

一公募研究— これは意図したものではなかったが、項目**A01多田班**が提供する無細胞タンパク質合成技術は、その優れた性質や汎用性の高さから注目を集め、15件の共同研究につながった。同技術は比較的短期間で結果を得ることができることから、すでに6件で論文発表が行われている。

A03浦和班の一細胞遺伝子発現誘導は、赤外線レーザーが比較的安価なこともあり、また多くの班員の研究目的に合致することから、11件の共同研究が行われることとなった。これを本格的に利用するには、ヒートショックプロモーターを利用した形質転換植物を用意する必要があるため、最終的な結果を得るには時間がかかるが、今後の成果が大いに期待される。**A03永田班**が提供する電子顕微鏡技術への関心も高く、9件の共同研究が行われることとなった。

5) 共同研究のまとめ

以上のように、本領域では総括班の努力もあり期待以上に活発な共同研究が行われた(図)。これらの共同研究が「ためにする」机上のものではないことは、すでにその約半分が論文発表や学会発表に至っていることからも窺われる。研究項目間の共同研究数について概観すると、技術に関するものが約1/3、項目A01とA02の間のものが約1/3と、非常にバランスのとれたものとなっており、この面での領域の狙いはほぼ達成されたと考えている。

Q	研究経費の使用状況	(設備の有効活用	研究費の効果的使用を含む)	(1ページ程度)
ο.	ツルル 見りなり			

領域研究を行う上で設備等(研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など)の活用 状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

- ・総括班の経費としては、おおよそ 1600 万を毎年充てた。これらは、班会議、若手の会、ワークショップ、国際シンポジウムなどの総括班が主催する会議や、植物学側と技術側による共同開発の推進、基盤技術支援、ニュースレターの発行、領域の事務処理などに有効に活用されたと考えている。
- ・計画研究の研究費についても、十分な研究成果が得られており、その費用は適切に活用されたと考えている。
- ・大型備品については、主に基盤技術支援のために、顕微鏡、プロテオーム関連機器、タンパク質分子解析関連機器、トランスクリプトーム関連機器などを購入した。これらについても、十分な成果が上げられたと考えている。
- ・各研究班が購入した大型物品(顕微鏡、遠心分離機、ガスクロマトグラフ、液体クロマトグラフ、 レーザー類)についても、各研究班の研究に不可欠のものであり、その費用は適切に活用されたと考 えている。

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細(計画研究において購入した主要な物品(設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。) について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

	神音」欄に記り	載したもの。) につい	(、金額)	ク人さい順に、作P	当に収まる軋団で乱	こ戦してください。)
年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
2 2		サーモフィッシャー サイエンティフィッ ク社 Nicolet8700 TOM ボックス赤外円二色 性測定ステップスキャンモデル	1	17,850,000	17,850,000	大阪府立大学
	共焦点レーザ ー走査型顕微 鏡	オリンパス社 FV1000-D	1	17,813,250	17,813,250	京都大学
	共焦点レーザ ー走査型顕微 鏡	オリンパス社 FD1000-D	1	16,674,000	16,674,000	神戸大学
	高感度遺伝子 発現解析用 DNA マイクロアレ イスキャナ		1	13,329,750	13,329,750	基礎生物学研究所
		GE ヘルスケア社 AKTA Crystal システ ム	1	12,931,380	12,931,380	大阪府立大
	分離用超遠心 機	Hitachi • CP80WX	1	7,990,500	7,990,500	岩手大学
	PM ファイバ出 力型連続発振 Nd:YAG レーザ ー		1	7,717,500	7,717,500	奈良先端技術大学
	ガスクロマト グラフ・質量分 析システムー 式	アジレント社 (5975GC/MS)	1	6,119,308	6,119,308	東北大学
	高速液体クロマトグラフシステム―式	アジレント社 (1200LC)	1	5,850,692	5,850,692	東北大学
		アナテック社フルオ ロホレスター3000	1	5,370,750	5,370,750	岩手大学
2 3	高出力フェム ト秒レーザー 増幅器用シー ドレーザー	FS-SP-SD	1	7,140,000	7,140,000	奈良先端技術大学
24	高出力フェムト秒レーザー 用励起レーザ	FS-SP-PL	1	6,634,950	6,634,950	奈良先端技術大学
		ベックマン (Optina MAX-XP/MLA-80)	1	5,743,500	5,743,500	東北大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【研究期間全般】

旅費

研究期間を通じて、総括班では120~170万円(班会議等への招聘、情報収集のための旅費など)、計画研究では50~200万円(学会出席、派遣など)の範囲に概ね収まっている。これを超えたケースについては、以下に説明する。

· 人件費 · 謝金

研究期間を通じて、総括班では600~700万円(領域活動のための事務補佐、基盤技術支援などのための実験補助など)の範囲に概ね収まっていた。計画研究では、雇用する博士研究員の数によって600~1500万円と幅が見られた。比較的高額になったケースについては、以下に説明する。

その他

研究期間を通じて、総括班では 280 万円前後(班会議等の会議開催関係費など)、計画研究では高い場合でも 200 万円程度(出版関係費、連絡費、修理代など)であった。比較的高額の支出になったケースについては、以下に説明する。

【平成23年度】

A03 計画研究、代表者 高橋勝利

・その他(4,617,078円)

質量顕微鏡を開発する過程において、サンプルステージなどの超高精密化作業を行った(当該研究組織では「役務」とし実施し、産総研の会計上「その他」に分類される)。

【平成24年度】

A02 計画研究、代表者 三村徹郎

・人件費 (14, 103, 591円)

特命助教1名(大西美輪)、学術研究員1名(姉川)を雇用した。大西は、本領域の計画班の主研究課題を実施し、姉川はメタボローム解析のためのMSのオペレーターと、A02高橋勝利班との共同での質量顕微鏡の開発を進めた。

A03 計画研究、代表者 高橋勝利

・旅費(4,601,155円)

国内旅費などに加え、カナダで開催された Desorption2014、アメリカで開催された ASMS2014、スイスで開催された IMSC2014、トルコで開催された Our ConII、チェコで開催された IMC2014 などの国際会議に出席した。

【平成 25 年度】

A02 計画研究、代表者 三村徹郎

・人件費(15,032,349円) 平成24年度と同様。

【平成26年度】

X00 総括班、代表者 長谷あきら

• 旅費 (2,403,386円)

他年度と同様の活動に加えて国際会議を開催し、外国からの招待講演者の旅費などを支出した。

A01 計画研究、代表者 長谷あきら

· 人件費・謝金(14,053,277円)

これまでの博士研究員1名体制に対して、**A03 神原班**と進めていた微細組織遺伝子発現解析手法を光応答に研究に応用するため、1年任期で博士研究員1名(二藤和昌)を雇用した。

A02 計画研究、代表者 三村徹郎

人件費(14, 258, 211 円)

平成24年度と同様。

A03 計画研究、代表者 高橋勝利

• 旅費(4,807,661円)

国内旅費などに加え、ドイツで開催された Desprotion2014、ドイツで開催された imzML ワークショップ、アメリカで開催された ASMS2012、スペインで開催された OurCon2014、ウイーンで開催された ICAR2012 などの国際会議に出席した。

(3) 最終年度(平成26年度)の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してくだ
さい。
A01 計画研究、代表者 長谷あきら
繰越し金(1, 300, 000 円)
最終年度に行う予定であった変異型植物の網羅的解析が遅れたため、結果の確認実験を次年度に延
期した。
ガレに。

|A02 計画研究、代表者 三村徹郎

繰越金(400,000円)

前年度に終了しなかった遺伝子発現解析のため。

A02 計画研究、代表者 西村幹夫

繰越金 (4,500,000円)

平成26年12月、植物ペルオキシソーム動態を扱う専門知識を有する研究協力者が、急遽他機関へ 異動することになり、本プロジェクトにおける植物ペルオキソーム動態の解析に参画できなくなっ た。同様の知識を持つ新たな人材の確保に4ヶ月を要したが、本プロジェクトの継続に必要な知識を 持つ研究協力者を平成27年4月から確保することができた。

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度(1ページ程度)

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

本領域では、新しい環境感覚システム像を構築することを目標に、異分野交流によって新技術の開発を進めた。この成果が当該分野に与えるインパクトについて、以下、いくつかの項目に分けて述べる(図)。

1) 新技術による時空間的解析の基盤確立

植物の環境刺激に対する応答を深く理解するためには時空間的解析が不可欠と考えられるが、そこに網羅的解析を適用するための手段は極めて限られていた。本研究により、高い空間分解能でトランスクリプトーム(Kajiyama et al. in press)およびメタボローム解析(Takahashi et al. in press)を行うことが初めて可能になった。さらに、これらの技術を光応答(Nito et al. in press)や低温傷害(Ohnishi et al. in press)の解析に適用することで、その有効性が実証された。RNA-seq 法の普及によりトランスクリプトーム解析のコストも下がりつつあり、今後、幅広い応用が期待される。

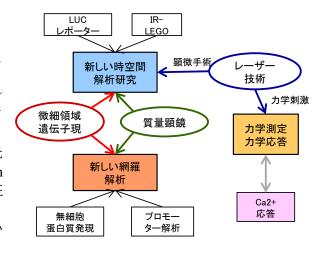


図 本領域が拓く新分野

また本研究により、環境応答の空間構造の研究において、レーザー顕微手術、赤外レーザーによ

る遺伝子発現誘導(IR-LEGO)、LUC をレポーターとする遺伝子発現解析法などの新技術が有効な研究手段であることが示された。これらの技術に関する領域内共同研究の数の多さは、班員の関心の高さを物語っている。領域の活動により、環境応答の時空間的解析のための新しい基盤が確立されたことの意義は大きい。

2) 新しい網羅的手法の確立に向けて

本研究によりトランスクリプトームやメタボローム解析を空間的に行う道が拓かれた(上記)。一方、ここから得られた大規模データから効率的に有用な情報を抽出するためには、そのための新しい情報工学的手法が必要であることが痛感させられた。さらに質量分析については、分子量と化合物を対応させる手段を整備する必要がある。本研究により網羅的解析のための実験手法が確立したことが原動力となり、空間データを扱う情報工学的手法が整備され、新しい研究分野が発展することを期待している。

新しい網羅的解析のもう一つの方向性として、A03 山本班による情報工学的アプローチと、A01 多田班が行っている無細胞タンパク合成系を利用した転写因子の網羅的解析手法の組み合わせは

(Hayami et al. in press)、大きな可能性を秘めている。植物の生理応答において転写因子が果たす役割は大きく、そのネットワーク構造を網羅的かつ簡便に解析する手段が広く求められており、本手法はその要求に対する解答の一つと位置づけられる。

3) 物理学的手法の植物学研究への導入

本領域の最も重要な成果の一つが、フェムト秒レーザーを用いた細胞内のおけるオルガネラ間の接着力の実測である (Oikawa et al. in press)。物理系の研究者と植物分野の研究者の交流はこれまで極めて限られていた。しかしながら、本領域の活動によってこの組み合わせが大きな成果に結びつくことが証明された。フェムト秒レーザーは、これ以外にも細胞の様々な力学的特性 (例えば細胞壁の張力)を測定するための手法となることが期待される。さらに、任意の大きさの力学的刺激を細胞内外に局所的に与えることを可能にする本手法は、細胞の力学応答や細胞内構造を研究するための有力な手段の一つとして発展することが期待される。

4. 刺激横断的研究の有効性

環境刺激応答の研究分野では、様々な情報経路のクロストークや、そこでハブとして働く因子の研究が各所で繰り広げられている。本研究で行われた Ca2+チャネル MCAs を軸とする様々な研究は、この流れに沿ったものであり、今後、大きく発展するポテンシャルを秘めている。また、光と他のシグナルのクロストークについても、今後の発展が期待される。

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況(1ページ程度)

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者の研究終了後の動向等を記述してください。

本領域では、若手育成のために、年1回、合宿形式の「若手の会」を開催、班会議への若手の出席の奨励、国際シンポジウムでのポスター賞の表彰などを行ってきた。特に「若手の会」の人気は高く、毎回100名以上(計画班のみの第一回を除く)が参加し交流を深めた。

若手の会

2014年度 若手の会(非公開)参加者60名

• 開催日: 2014年10月18-21日

•場所:蔵王、岩手

2013 年度 若手の会(非公開)参加者 111 名

・開催日:2013年10月20-22日 ・場所:小豆島ふるさと村、香川

2012 年度 若手の会 (非公開)参加者 120 名

・開催日:2012年10月15-17日 ・場所:浜名湖カリアック、静岡

2011 年度 若手の会 (非公開)参加者 130 名

・開催日:2012年10月15-17日 ・場所:ラフォーレ琵琶湖、滋賀

2010 年度 若手の会 (非公開) 参加者 134 名

・開催日:2010年12月13-14日 ・場所:アクティプラザ琵琶、滋賀

若手の領域活動期間内および終了後の動向は以下の通りである。

- ・ポストドク、特任助教などから助教以上(常勤研究者含む)に昇任した者 12名
- ・ポストドクなどから特任助教などになった者 4名
- ・ポストドクから別の研究室のポストドクに移った者 6名
- ・大学院生などからポストドクになった者 15 名
- ・企業などへの就職 16 名
- ・出身国で研究職についた留学生など 3名

アカデミアにおいて常勤の職に就いたものが12名という数字については、昨今の若手研究者の置かれている状況のなかでこれだけの人数の若手を分野に送り出すことができたことは、領域として一定の成果を上げられたと考えている。一方、現在ポストドク、特任助教をしている者の数は合計25名となり、常勤職を得ることが難しい昨今の傾向が見て取れる。

厳密な意味での「若手」から外れるが、本領域に参加して以降に例えば准教授から教授、あるいは特任准教授から准教授などに昇任した研究代表者等の数は9名であった。このことから、若手PIが着実に育ちつつあることが窺われる。これらの世代は概ね、班会議や若手の会に対しても積極的で、同世代で活発に交流する様子が随所に見られ、分野の今後の発展を期待させるものであった。

11. 総括班評価者による評価(2ページ程度)

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

国立研究開発法人、理化学研究所、環境資源科学研究センター長 篠崎一雄

「植物環境感覚」プロジェクトで取り上げられた研究課題の中では、特に植物の光応答の研究に関して光受容体であるフィトクロームやフォトトロピンの機能と構造に関して成果が上げられた。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カルシウムのシグナル伝達系の解析が進展した。本領域では細胞レベルでの解析に関するレベルの高い成果が多く上げられている点が特徴であり、細胞レベルでの解析技術の開発と相まって本領域の特徴的な成果となっており、高く評価できる。

本領域の課題提案の大きな特徴である細胞レベルでの新規解析技術開発が大きく進展したと評価できる。少量の細胞での組織特異的な遺伝子発現解析、フェムト砂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、質量顕微鏡による高分解能での解析技術の開発と植物細胞への利用に関して、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。論文発表は、まだ一部ではあるが、今後の成果の発表が楽しみである。Plant Cell Physiologyの特集号で技術紹介とその利用研究の成果が発表されれば、注目を受けると考えられる。

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。これは領域代表者の長谷あきら教授と総括班のメンバーの努力の賜物である。また、若手育成のための研究会、技術講習会も多く開催されて、新規技術の共同研究が大きく広がったと評価できる。今後の成果が楽しみである。また、次世代の研究者の育成にも力を入れて新領域に挑戦する人材が育ったことは高く評価できる。

全体として、長谷代表ら執行部の努力もあって領域全体として植物の環境応答に関する細胞生物学的な研究が進展したと高く評価できる。成果の応用に関しては、農業やバイオマス生産向上などの出口を期待できる課題ではないが、細胞の計測や細胞のイメージングなどの細胞関連の技術の応用は考えられる。

東京大学・教授、理化学研究所・チームリーダー 中野明彦

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。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、CO2 などの重要な刺激を、何が受容し、どのように伝えるかという問題に対して、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チャレンジした。解析技術開発にも力を入れ、質量顕微鏡、フェムト秒レーザーによる力学測定、レーザー顕微手術など、新たな手法を用いてこれまで得られなかった新しい知見を得る、あるいはその端緒につくことができた。班員間の連携もよく、班会議では活発な議論が行われていた。総じて期待通りの成果が得られたと評価する。本領域で育んだ新技術および連携研究が、さらに何らかの形で今後も発展することを念じている。

中部大学応用生物学部・教授、 中村研三

植物の環境応答、特に植物の生育に必須の光、温度、水分といった環境刺激への応答機構の研究分野は、我が国が世界をリードする研究分野の一つである。本領域研究「植物環境感覚」では、これらの分野の第一線研究者が中心となった計画研究班 A01 班と A02 班に加え、これまで植物分野での応用が限られていた新しい解析技術を取り込むことを目的に、新しい技術開発に携わる異分野の研究者を中心とした A03 班が組まれた点が大きな特徴である。これに加えて、各班の公募研究では多様な分野で独自のアプローチを進める多くの若手を中心とした人材が参画し、全体として研究分野、研究の材料や手法で実に多彩な人材が一同に介する特徴的な領域研究となった。そうした中、領域代表や幹事グループの強い牽引のもとでスタート時点から A01・A02 班の植物科学研究者と A03 班の異分野の新技術開発研究者とのペアリングにより多くの挑戦的な取組が進められ、本領域研究期間を通して多数

の様々な組み合わせの共同研究が活発に進められた。その結果、植物の環境刺激応答に関するインパクトの強い論文が多数発表されただけでなく、多くの今後の発展が期待される新しい方向性を持ったユニークな研究成果が得られており、本新学術領域研究の目的は充分に達成されたと評価できる。今後は、アウトリーチ活動等による領域外への広報活動等も通して、本領域研究で生み出された新たな方向性がより広い植物科学の分野に滲透し展開されるようになることを期待する。

北海道大学・名誉教授 山本興太朗

本領域は、植物の刺激受容・調節機構を様々なアプローチによって包括的に解明しようとする研究である。研究者がこの領域に参加したことによって、どれぐらい個々の研究の「包括度」を上げることができたかという点が評価の一つの焦点だろう。その点では、多数の班員間の共同研究が新に生まれたことが、班会議での活発な質疑や「雑談」とともに高く評価できる。本領域の象徴の一つが、新技術の開発(A03)である。この技術開発の達成度について、本報告書での長谷領域代表の評価はなかなか厳しいが、そもそもある技術をゼロから生物学分野に適用することの困難さを考えると、達成度はそうは低くないと評者は考えている。少なくとも、非常に良いブースターになることができたと言える。特に、レーザーを用いた in situ でのオーガネラ間相互作用の力学的評価(細川、西村班員)は、特筆できる成果だろう。