

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2013

課題番号：21380008

研究課題名(和文) イネプロラミンの翻訳及び小胞体内への集積機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism for the translation and accumulation into the endoplasmic reticulum of rice prolamine

研究代表者

熊丸 敏博 (Kumamaru, Toshihiro)

九州大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00284555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円、(間接経費) 4,350,000円

研究成果の概要(和文)：プロラミンmRNAの特定小胞体への局在性に関与すると考えられるタンパク質に関して、当該遺伝子にSNPsを有する系統を選抜した。ESP1タンパク質は特異的な終止コドンを認識することが示唆された。プロラミン分子種のPB-Iにおける局在性を明らかにした。分子シャペロンPDIL2-3に関して当該遺伝子にSNPsを有する系統を選抜した。PDIL2-3はプロラミン分子間ジスルフィド架橋形成を促進することを明らかにした。CysRプロラミンの集積に関する新奇変異遺伝子について候補遺伝子を同定した。

研究成果の概要(英文)：i) For the proteins participating in the localization on the specific endoplasmic reticulum of prolamine mRNAs, the mutation lines detected SNPs within the corresponding genes were selected. ii) The recognition of specific termination codon by ESP1 protein was suggested. iii) It was clear the localization of prolamines in PB-I. iv) The mutation lines detected the SNPs within the gene encoding the molecular chaperon PDIL2-3 were selected. It was clear that PDIL2-3 promoted the formation of disulfide-bridge between prolamine molecules. v) The candidate responsible genes of the mutations for prolamine accumulation were identified.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：育種学

キーワード：貯蔵タンパク質 小胞体 分子シャペロン 突然変異 イネ

## 1. 研究開始当初の背景

イネ種子貯蔵タンパク質の内のプロラミンは、粗面小胞体上で合成された後、小胞体内腔に直接蓄積する (Tanaka et al., 1980)。その結果、小胞体内に蓄積したプロラミンは、直径約 1  $\mu\text{m}$  の難消化性の PB-I となり、コメの特性にさまざまな影響をもたらす。イネプロラミンを量的または質的に劇的に変化させるためには、プロラミン分子の合成から蓄積までの過程に関する遺伝学的制御機構を明らかにする必要がある。

イネプロラミン分子はシステイン残基を含む A、B、C ドメインを有する分子種 (システインが多いプロラミン: CysR プロラミン) と A、B、C ドメインを有しない分子種 (システインが少ないプロラミン: CysP プロラミン) の二種類から構成され、ほぼ同量存在する (Ogawa et al., 1987)。CysR プロラミンは、分子間ジスルフィド結合を介してプロラミン会合体を形成する。一方、CysP プロラミンは、分子同士の疎水相互作用によって凝集している。しかし、これらのプロラミン分子が小胞体内で PB-I という構造体まで形成される過程は不明である。

イネ  $\alpha$ -グロブリンは、CysR プロラミンと同様に ABC ドメインを有し、分子内ジスルフィド結合を形成し、モノマーで貯蔵型液胞内に集積する。これは、 $\alpha$ -グロブリンが小胞体内腔で可溶性であるため、直ちに小胞体外に排出されることによる。しかし、分子内ジスルフィド結合形成を阻害させた組換え  $\alpha$ -グロブリン分子は、小胞体内に留まり、PB-I 内に取り込まれた (Kawagoe et al. 2005)。また、イネ胚乳中のプロテインジスルフィドイソメラーゼ 1-1 (PDIL1-1) が欠損する *esp2* 変異体では、PDIL2-3 が多量に発現していた。さらに、グルテリン前駆体と CysR プロラミンが小胞体内にジスルフィド結合を介して存在していた (Takemoto et al., 2002)。これらの結果は、小胞体内において、PDIL2-3 は CysR プロラミン分子とシステインを有するグルテリン前駆体分子の間で分子間ジスルフィド結合形成を触媒していることを示唆している。

イネ新生プロラミン分子は分子シャペロン BiP と親和性が高いこと (Li, et al. 1993)、BiP は PB-I の膜の表面下に局在していること (Muench et al. 1998) が報告されている。小胞体内におけるプロラミン分子と BiP との相互作用機構は明らかではない。さらに、プロラミン分子が集まって PB-I 内に凝集体がどのように形成するのかその分子機構も明らかでない。

申請者は、イネ受精卵のメチルニトロソウレア (MNU) 処理によって得られた突然変異 3000 系統から、CysP プロラミン分子を特異的に減少する *esp1* 変異体及び CysR プロラミンを激減する *esp3* 変異体を選抜した (Kumamaru et al. 1987)。 *esp1* 変異体の解

析結果から、*ESP1* 遺伝子が翻訳終結因子 eRF1 (Eucaryotic Release Factor 1) をコードしていることを明らかにし、eRF1 がすくなくとも 4 種類の CysP プロラミン分子の合成を制御することを明らかにした。一方、CysR プロラミンの合成制御に関わっていると思われる *esp3* 変異の原因遺伝子は不明である。さらに、CysR プロラミンのジスルフィド結合形成に關与する PDIL2-3 に関する変異体の単離には至っていない。

## 2. 研究の目的

本研究ではイネプロラミン分子の小胞体上での翻訳から PB-I への集積までの遺伝的制御機構の解明を目的とし、具体的には、下記の ~ を明らかにする。なお、研究申請時にはなかったが、研究開始後にプロラミン mRNA の局在性がプロラミンの PB-I への集積に重要であると判断したので同項目を追加した。

イネプロラミン mRNA の特定小胞体に局在する機構を明らかにするために、プロラミン mRNA と相互作用するタンパク質に関する突然変異の選抜と解析を行う。

イネプロラミン分子の翻訳時における調節機構の解明のため、CysP プロラミン分子の翻訳時における eRF1 による合成制御機構を明らかにする。

小胞体内で凝集したプロラミン分子が、PB-I に集積する機構を明らかにする。

CysR プロラミン分子の 3 次構造形成に分子シャペロン PDIL2-3 が關与していること、及びその機構を明らかにする。

CysR プロラミン分子の合成を制御していると考えられる新奇遺伝子を同定する。

## 3. 研究の方法

プロラミン mRNA の局在性に關与する因子の解析

プロラミン mRNA の特定小胞体への局在の關与が期待されるタンパク質 Tudor-SN、RBP-P、RBP-I、RBP-A、RBP-K のゲノム遺伝子に SNP を有する変異体を TILLING 法によって選抜した。選抜した系統について当該遺伝子のゲノム DNA 塩基配列を解析した。一部の変異系統について免疫蛍光顕微鏡と免疫電子顕微鏡により貯蔵タンパク質の集積を解析した。

イネプロラミン分子の翻訳時における機構の解析

レポーター遺伝子の終止コドン置換した 3 種類の遺伝子コンストラクトを用いて、野生型品種及び *esp1* 変異体をそれぞれ形質転換した。同形質転換体の葉におけるレポーター遺伝子の発現をリアルタイム PCR によって解析した。

プロラミンの PB-I への集積機構の解析  
野生型品種並びに CysR/10kD プロラミンを RNAi によってノックダウンした系統について、貯蔵タンパク質の集積を免疫蛍光顕微鏡と免疫電子顕微鏡により解析した。

プロラミン分子の 3 次構造形成関与する分子シャペロン PDI L2-3 の解析  
分子シャペロン PDIL2-3 の当該ゲノム遺伝子に SNP を有する系統を TILLING 法によって選抜した。選抜した系統について当該遺伝子のゲノム DNA 塩基配列を解析した。一部の変異系統について免疫蛍光顕微鏡と免疫電子顕微鏡により貯蔵タンパク質の集積を解析した。GST を融合した PDIL2-3 組み換えタンパク質を大腸菌によって発現させた。同組み換えタンパク質を界面活性剤によって処理し解析に用いた。さらに同組み換えタンパク質遺伝子で形質転換したイネ種子を用いて、免疫沈降実験並びに共焦点レーザー顕微鏡解析を行った。

新奇プロラミン変異遺伝子の連鎖地図  
CysR プロラミンをほぼ欠損する系統、EM49 及び *esp3* 変異体について、インド型品種 Kasalath との交雑 F2 からそれぞれホモ個体を選抜し、同ホモ個体を用いて遺伝子連鎖地図を構築した。各遺伝子の候補領域内に存在する予測遺伝子について各変異系統のゲノム DNA の塩基配列を解析した。

#### 4. 研究成果

プロラミン mRNA の局在性に関与する因子の解析

・以下、TILLING 法によって当該ゲノム遺伝子に一塩基置換変異(SNP)を有する系統を選抜した。

Tudor-SN に関してゲノム遺伝子に SNP を有する 71 系統を選抜し、31 系統においてアミノ酸置換が、1 系統において終始コドンの形成が認められた。RBP-P では 12 系統の SNP を有する系統を選抜し、5 系統においてアミノ酸置換が認められた。RBP-I では 32 系統の SNP を有する系統を選抜し、19 系統においてアミノ酸置換が認められた。RBP-A では 5 系統の SNP を有する系統を選抜し、すべてアミノ酸置換が認められた。RBP-K では 7 系統において SNP を示し、4 系統においてアミノ酸置換が認められ、その内の 1 系統では終止コドンの形成が認められた。Tuder-SN、RBP-P、RBP-I に関して、それぞれ 34 系統、3 系統、16 系統について各変異ホモ個体を獲得した。

・Tudor-SN について TILLING 法によって選抜した同遺伝子中に終止コドンを形成した系統と domain 内にアミノ酸置換を有した系統の種子の貯蔵タンパク質の細胞内局在性を解析した。その結果、野生型では PB-I の中心部に集積する CysR/10kD プロラミンと周

辺部に集積する CysP/13kD プロラミンが、両変異では共に PB-I 内に均一に分布していた。両変異の PB-II は歪な形状を示していた。両変異で見られた表現型は Tudor-SN 遺伝子の変異によると考えられる。

イネプロラミン分子の翻訳時における機構の解析

形質転換体の葉におけるレポーター遺伝子の発現をリアルタイム PCR によって解析した結果、終止コドン 1 と 2 を有するレポーター遺伝子によって形質転換した *esp1* 変異体では、野生型形質転換体に比べ発現量が共に減少した。一方、終止コドンが 3 のレポーター遺伝子では発現量が野生型の 95%とほとんど差は認められなかった。この結果は ESP1 タンパク質は特異的な終止コドンを認識することを示唆している。

プロラミンの PB-I への集積機構の解析

・CysR/10kD プロラミンが PB-I の中心部に核として集積すること、その周辺部に他の CysR プロラミンと CysP/13kD プロラミンが集積することを明らかにした。

・CysR/10kD プロラミン、CysP/13kD プロラミンと蛍光タンパク質の融合タンパク質を登熟種子で発現させると PB-I に集積することを明らかにした。

・CysR/10kD を RNAi によってノックダウンした系統において、CysR/10kD の特異的な減少と CysP/13kD の集積量の減少並びに PB-I の顕著な形成異常が認められた。一方、殆どの CysR プロラミン分子が減少する *esp3* 変異体において、PB-I の形成異常が認められた。

プロラミン分子の 3 次構造形成関与する分子シャペロン PDIL2-3 の解析

・PDIL2-3 のゲノム遺伝子に関して、MNU 突然変異系統約 1200 系統から TILLING 法によって 15 系統の SNP を有する系統を選抜し、6 系統がアミノ酸置換を有していた。*pdi2-3(A360T)*変異株の胚乳中のプロテインボディを免疫蛍光顕微鏡及び透過型電子顕微鏡によって解析した。野生型において CysR/10kD プロラミンは PB-I の中心部に CysP/13kD プロラミンは PB-I の周辺部に集積する。これに対して *pdi2-3(A360T)*変異株において両者が PB-I 全体に不均一に拡散して集積した。これらの結果から PDIL2-3 は CysR/10kD プロラミンの分子内ジスルフィド結合に関与することを示唆している。

A360T の変異を含む PDIL2-3 と GFP との融合蛋白質遺伝子を作製し、形質転換イネを作出した。登熟種子細胞での融合蛋白質の局在を観察したところ、野生型 PDIL2-3 と GFP の融合蛋白質は主に PB-I の表面に局在するのに対し、変異体の融合蛋白質は小胞体の内腔に局在した。

・大腸菌で発現させた GST と PDIL2-3 の融合蛋白質は安定な 4 量体を形成した。GST を切

断後、精製した PDIL2-3 は安定な 4 量体を維持した。PDIL2-3 の活性部位を含まない b ドメインには分子内ジスルフィド架橋が存在し、この架橋形成は PDIL1-1 によって促進されることを明らかにした。PDIL1-1 と PDIL2-3 の組換え酵素の解析から、PDIL1-1 は分子内ジスルフィド架橋形成を、PDIL2-3 は分子間ジスルフィド架橋形成を促進することを明らかにした。

・ GFP-PDIL2-3 融合蛋白質を発現する組換えイネの登熟種子を材料にして、抗 GFP 抗体を用いた免疫沈降実験によってシャペロンタンパク質の BiP が共沈することを明らかにした。PDIL2-3 と BiP は小胞体内腔で共に PB-I の表面に局在することから、両蛋白質の複合体形成が PB-I 形成に関与することが示唆された。

#### 新奇プロラミン変異遺伝子の連鎖地図

・ EM49 について原因遺伝子を明らかにするために、高密度連鎖地図を構築した。候補領域内におけるゲノム遺伝子配列を解読した結果、候補遺伝子中の一つに野生型と比べて EM49 においてアミノ酸置換が認められた。同座の変異系統についても同様に当該遺伝子にアミノ酸置換を伴う SNP が認められた。  
・ *esp3* 変異の原因遺伝子の同定のために、*esp3* 変異体と野生型との交雑 F2 個体を栽培し、*esp3* 遺伝子をホモに持つ個体を選抜した。同個体別の葉より抽出した DNA を用いて *ESP3* 遺伝子近傍の高密度遺伝子連鎖地図を構築した。その結果 *ESP3* 遺伝子領域に存在する複数の候補遺伝子を検出した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

1. Hoai T. T. T., Matsusaka, H., Toyosawa, Y., Suu T. D., Satoh H., Kumamaru T. (2014) Influence of single-nucleotide polymorphisms in the gene encoding granule-bound starch synthase I on amylose content in Vietnamese rice cultivars. *Breed. Science.* (受理)(査読有) doi:10.1270/jsbbs.64.1.
2. Hoai T. T. T., Suu T. D., Satoh H., Kumamaru T. (2014) Diversity of glutelin acidic subunit polypeptides in rice cultivars collected from Northern Vietnam. *Plant Breeding.* (published on line) (査読有) doi:10.1111/pbr.12159.
3. Fukuda M., Wen L., Satoh-Cruz M., Kawagoe Y., Nagamura Y., Okita T. W., Washida H., Sugino A., Ishino S., Ishino Y., Ogawa M., Sunada M., Ueda T., Kumamaru T. (2013) A guanine nucleotide exchange factor for Rab5 proteins is essential for intracellular transport of the proglutelin from the Golgi apparatus to the protein storage vacuole in rice endosperm. *Plant Physiology* 162 (2), 663-674. (査読有) doi:10.1104/pp.113.217869.
4. Yang, Y., S. Ishino, T. Yamagami, T. Kumamaru, H. Satoh, Y. Ishino. (2012) The OsGEN-L protein from *Oryza sativa* possesses Holliday junction resolvase activity as well as 5'-flap endonuclease activity. *The Journal of Biochemistry* 151, 317-327. (査読有) doi:10.1093/jb/mvr145.
5. Fukuda M., M. Satoh-Cruz, L. Wen, A. J. Crofts, A. Sugino, H. Washida, T. W. Okita, M. Ogawa, Y. Kawagoe, M. Maeshima, T. Kumamaru. (2011) The small GTPase Rab5a is essential for intracellular transport of proglutelin from Golgi apparatus to the protein storage vacuole and endosomal membrane organization in developing rice endosperm. *Plant Physiology* 157, 632-644. (査読有) doi: 10.1104/pp.111.180505.
6. Ushijima, T., H. Matsusaka, H. Jikuya, M. Ogawa, H. Satoh, T. Kumamaru. (2011) Genetic analysis of cysteine-poor prolamins polypeptides reduced in the endosperm of the rice *esp1* mutant. *Plant Science* 181, 125-131. (査読有) doi: 10.1016/j.plantsci.2011.04.011.
7. Nagamine A., H. Matsusaka, T. Ushijima, Y. Kawagoe, M. Ogawa, T. W. Okita, T. Kumamaru. (2011) A role for the cysteine-rich 10 kDa prolamins in protein body I formation in rice. *Plant and Cell Physiology* 52(6), 1003-1016. (査読有) doi:10.1093/pcp/pcr053.
8. Onda Y, A. Nagamine, M. Sakurai, T. Kumamaru, M. Ogawa, Y. Kawagoe. (2011) Distinct role of PDI and P5 sulfhydryl oxidoreductases in multiple pathways for oxidation of structurally diverse storage proteins in rice. *Plant Cell* 23, 210-223. (査読有) doi:10.1105/tpc.110.079509.
9. Satoh-Cruz M., A. J. Crofts, Y. Takemoto-Kuno, A. Sugino, H. Washida, N. Crofts, T. W. Okita, M. Ogawa, H. Satoh, and T. Kumamaru. (2010) Protein disulfide isomerase like 1-1 participates in the maturation of proglutelin within endoplasmic reticulum in rice endosperm. *Plant and Cell Physiology* 51(9), 1581-1593. (査読有) doi:10.1093/pcp/pcq098.
10. Satoh-Cruz M., M. Fukuda, M. Ogawa, H. Satoh, and T. Kumamaru. *Glup4* gene encodes small GTPase, Rab5a in rice. *Rice Genetics Newsletter* 25, 48-49 (2010)(査読有)
11. Doroshenk K. A., A. J. Crofts, H. Washida, M. Satoh-Cruz, N. Crofts, T. W. Okita, R. T. Morris, J. J. Wyrick, M. Fukuda, T. Kumamaru, and H. Satoh. (2010) Characterization of the rice *glup4* mutant

- suggests a role for the small GTPase Rab5 in the biosynthesis of carbon and nitrogen storage reserves in developing endosperm. *Breeding Science* 60, 556-567. (査読有) doi:10.1270/jsbbs.60.556.
12. Ueda Y., M. Satoh-Cruz, H. Matsusaka, Y. Takemoto-Kuno, M. Fukuda, T. W. Okita, M. Ogawa, H. Satoh, T. Kumamaru. (2010) Gene-gene interactions between mutants that accumulate abnormally high amounts of proglutelin in rice seed. *Breeding Science* 60, 568-574. (査読有) doi:10.1270/jsbbs.60.568.
  13. Kumamaru T., Y. Uemura, Y. Inoue, Y. Takemoto, Sadar U. Siddiqui, M. Ogawa, I. Hara-Nishimura and H. Satoh. (2010) Vacuolar processing enzyme plays an essential role in the crystalline structure of glutelin in rice seed. *Plant and Cell Physiology* 51, 38-46. (査読有) doi:10.1093/pcp/pcp165.
  14. Onda Y., T. Kumamaru, Y. Kawagoe. (2009) ER membrane-localized oxidoreductase Ero1 is required for disulfide bond formation in the rice endosperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 14156-14161. (査読有) doi:10.1073/pnas.0904429106.
- [学会発表](計 28 件)
1. Tian L., K. A. Doroshenk, T. Kumamaru, T. W. Okita. Identification and characterization of a novel RNA-binding protein involved in glutelin mRNA processing and localization. *Plant Biology*, 2013. 7. 21, Providence, USA.
  2. Nagamine A., T. Kumamaru, T. W. Okita. Identification of potential effectors for the small regulator Rab5. *Plant Biology*. 2013. 7. 21., Providence, USA.
  3. 熊丸 敏博. イネ貯蔵タンパク質の輸送・集積に関する調節機構解明. 日本育種学会第 8 回九州育種談話会. 2013.9.26. 諫早市.
  4. 山城 憲子, 牛島 智一, 熊丸 敏博. タンパク質の翻訳における終止コドン認識に関するイネ ESP1/eRF1 の機能解析. 日本育種学会第 123 回講演会. 2013. 3. 28. 東京農業大学.
  5. 豊澤佳子, 井上佳美, 吉川尚樹, 小川雅広, 熊丸 敏博. イネ胚乳における Protein Disulfide Isomerase Like (PDIL)2-3 に関する変異体の選抜と解析. 日本育種学会第 7 回九州育種談話会. 2012.10.11. 九州沖縄農業研究センター.
  6. Kumamaru T. Construction of MNU-induced mutant pools and high performance TILLING system for detection of SNPs in rice. BIT 's 3rd Annual World, World DNA and Genome Day. 2012. 4. 26. 西安, 中国.
  7. 豊澤佳子, 井上佳美, Thomas W. Okita, 熊丸 敏博. イネ胚乳における Protein Disulfide Isomerase Like (PDIL) 2-3 に関する変異体の選抜と解析. *イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ*. 2012. 7. 6. 奈良.
  8. M. Fukuda, L. Wen, M. Satoh-Cruz, Y. Kawagoe, T. W. Okita, M. Ogawa, M. Sunada, T. Ueda, T. Kumamaru. GLUP6/GEF is the activator for GLUP4/Rab5a, and involved in intracellular transporting of proglutelin from Golgi to protein storage vacuole in rice endosperm. *Plant Biology*. 2012. 7.21. Austin, USA.
  9. Kumamaru T., Taniguchi, K., Fujimoto, W., Okita, T. W. Identification of mutants for factors required for the ER-localization of prolamin-mRNAs in rice by TILLING method. *Plant Biology*. 2012.7.21. Austin, USA.
  10. Ushijima, T., H. Matsusaka, Y. Kawagoe, M. Ogawa and T. Kumamaru. The ESP1 gene, regulatory factor of cysteine-poor prolamins, encode the eucaryotic peptide chain release factor 1(eRF1) in rice. International Plant RNA Workshop. 2011. 6. 21. 理化学研究所(横浜研究所).
  11. Okita T. W., K. A. Doroshenk, Y. Yang, N. Ozber, C. Wang, M. Satoh-Cruz, R. T. Morris, J. J. Wyrick, M. Ogawa, M. Fukuda, T. Kumamaru, H. Satoh, A. J. Crofts, N. Crofts, H. Washida. The complexities of RNA localization in plant. *Plant Biology*. 2011. 8. 8. Mineapolis, USA.
  12. 佐藤 光, 西 愛子, 松坂弘明, 熊丸敏博. MNU 受精卵処理によるイネの種子成分に関する変異の作製. 第 3 2 回種子生理生化学研究会年会. 2011. 11. 11. 日光.
  13. 小川雅広, 長嶺愛, T. W. Okita, 熊丸敏博. イネ  $\alpha$ -グロブリンは PBI に一時的に局在する. 第 32 回種子生理生化学研究会年会. 2011. 11. 12. 日光.
  14. 谷口晃一, 藤本若菜, T. W. Okita, 熊丸敏博. イネプロラミン mRNA の特定小胞体への局在化に関する因子の TILLING 法を用いた突然変異体の選抜. 日本育種学会第 6 回九州育種談話会. 2011. 11. 24. 南九州大学.
  15. Fukuda, M., L. Wen, M. Satoh, Y. Kawagoe, T. W. Okita, M. Ogawa, T. Kumamaru. Guanine nucleotide exchange factor is required for the intracellular transport of proglutelins to protein storage vacuole in rice endosperm. *American Society of Cell Biology*. 2011. 12. 4. Denver, USA.
  16. Kumamaru T. Detection of SNPs by TILLING and analysis of the gene function in rice. 第 53 回日本植物生理学会シンポジウム. Forefront of quality improvement and sophistication of plant bioresources. 2012. 3. 16. 京都産業大学.
  17. 谷口晃一, 杉本若菜, T. W. Okita, 熊丸敏博. イネプロラミン mRNA の特定小胞体への局在化に関する因子の TILLING 法を

- 用いた突然変異体の選抜. 日本育種学会第 120 回講演会. 2011. 9. 23. 福井県立大学.
18. 長嶺愛, 松坂弘明, 川越靖, 小川雅広, T. W. Okita, 熊丸敏博. イネ種子貯蔵タンパク質プロラミンの集積における Cys-rich プロラミンの作用. 第 52 回植物生理学会年会. 2011. 3. 東北大学.
  19. Wen, L., M. Fukuda, M. Satoh-Cruz, T. Kumamaru, M. Ogawa, T.W. Okita. The relationship between Rab5a GTPase and guanidine exchange factor involved in the intracellular transport of the glutelin in rice seed. 第 52 回植物生理学会年会. 2011. 3. 東北大学.
  20. 井上佳美, 吉川尚樹, 小川雅広, 熊丸敏博. イネ胚乳における protein disulfide isomerase like 2-3 (PDIL2-3)に関する変異体の TILLING 法を用いた選抜. 日本育種学会 119 回講演会. 2011. 3. 29. 横浜市立大学.
  21. 井上佳美, 長嶺愛, 熊丸敏博, 小川雅広. イネ種子における Protein Disulfide Isomerase (PDI) に関する変異体の選抜と解析. 日本育種学会第 5 回九州育種談話会. 2010. 11. 19. 佐賀大学.
  22. 川越靖, 長嶺愛, 恩田弥生, Yun Min-Soo, 熊丸敏博. イネ胚乳貯蔵オルガネラ発達の分子機構の解明. 第 31 回種子生理生化学研究会年会. 2010. 12. 17. 近江八幡.
  23. Nagamine A., Inoue Y., Ogawa M., Matsusaka H., Ushijima T., Satoh H., Okita T. W., Kumamaru T. The role of cysteine-rich prolamines for the formation of prolamine protein body in rice, Plant Biology 2009, Honolulu, USA .
  24. Kumamaru T., Y. Takemoto, I. Hara-Nishimura, M. Ogawa, H. Satoh. Vacuolar processing enzyme plays an essential role in the formation of the glutelin crystalline structure in rice seed, Plant Biology 2009, Honolulu, USA .
  25. 藤本若菜, T. W. Okita, 佐藤美緒, 熊丸敏博. イネ貯蔵タンパク質 mRNA の特定小胞体への局在化に關与する Tudor-SN に関する突然変異体の選抜と解析. 日本育種学会第 4 回九州育種談話会. 2009. 12. 11. 九州沖縄農業研究センター .
  26. 長嶺愛, 熊丸敏博, 川越靖. イネ種子 13 kD Cys-poor プロラミンの小胞体内への蓄積における 10kD Cys-rich プロラミンの役割. 第 30 回種子生理生化学研究会. 2009. 11. 26. 九州大学 .
  27. 松坂弘明, 熊丸敏博, 佐藤光. 高ス테인イネプロラミンの生合成・集積に関する遺伝子のマッピング. 第 30 回種子生理生化学研究会. 2009. 11.27. 九州大学 .
  28. 牛島智一, 川越靖, 小川雅広, 佐藤光, 熊丸敏博. イネ低ス테인プロラミンの生合成に關わる *Esp1* 遺伝子の単離. 第 30 回種子生理生化学研究会. 2009.11.27.

九州大学 .

〔図書〕(計 2 件)

1. Doroshenk K. A., A. J. Crofts, H. Washida, M. Satoh-Cruz, N. Crofts, Y. Yang, R. T. Morris, T. W. Okita, M. Fukuda, T. Kumamaru, H. Satoh. (2012) mRNA localization in plants and the role of RNA binding proteins. In RNA Binding Proteins, Zdravko J. Lorković, ed. Landes Bioscience, 95-112. (査読有)  
http://www.landesbioscience.com/curie/chapter/5034/
2. 熊丸敏博, 小川雅広, 佐藤光, Thomas W. Okita. (2009) イネ種子貯蔵タンパク質集積の遺伝的制御機構. 種子の科学とバイオテクノロジー, 原田久也ら(種子生理生化学研究会)編, 学会出版センター, 東京, 56-59.

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

熊丸 敏博 (KUMAMARU, Toshihiro)  
九州大学・農学研究院・准教授  
研究者番号: 00284555

### (2)研究分担者

川越 靖 (KAWAGOE, Yasushi)  
独立行政法人農業生物資源研究所・植物科学  
研究領域・主任研究員  
研究者番号: 50355757  
(平成 25 年 10 月 3 日逝去)

### (3)研究分担者

佐藤光 (SATO, Hikaru)  
九州大学・農学研究院・教授  
研究者番号: 70128031  
(平成 24 年 3 月 31 日定年退職)

### (4)連携研究者

小川 雅広 (OGAWA, Masahiro)  
山口県立大学・共通教育機構・教授  
研究者番号: 10160772