

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成24年度）

1. 機関番号

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 3 | 2 | 6 | 9 | 2 |
|---|---|---|---|---|

 2. 研究機関名 東京工科大学
3. 研究種目名 基盤研究(C) 4. 補助事業期間 平成24年度～平成26年度
5. 課題番号

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 4 | 5 | 8 | 0 | 0 | 1 | 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
6. 研究課題 ヤトロファの耐乾性遺伝子の同定

7. 研究代表者

| 研究者番号 | 研究代表者名 | 所属部局名 | 職名 |
|-----------------|------------------|--------|----|
| 8 0 4 0 9 7 8 9 | タダ ユウイチ 多田 雄一 | 応用生物学部 | 教授 |

8. 研究分担者

| 研究者番号 | 研究分担者名 | 所属研究機関名・部局名 | 職名 |
|-------|--------|-------------|----|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

9. 研究実績の概要

本研究では、ヤトロファのもつ高度な耐乾性の機構を解明し、耐乾性育種のための新規な技術基盤を提供することを目的として3種の実験を計画した。

研究代表者らは、cDNAサブトラクション法により既にいくつかの乾燥応答性遺伝子をヤトロファから同定していたため、として、これらの遺伝子の機能の解析を行った。また、茎成分のメタボローム解析を行うことで耐乾性と関連のある成分を同定し、その合成に關与する遺伝子を同定するために の実験を行った。さらに、としてトランスクリプトームの網羅的解析からも耐乾性にアプローチする計画であった。

研究項目 の「cDNAサブトラクション法によって同定した乾燥応答性のcDNAの機能解析」では、サブトラクション法により同定した乾燥条件下で特異的に発現しているcDNAの全長をPCRで単離して、35Sプロモーターにドライブされた発現ベクターを構築し、シロイヌナズナに導入した。

研究項目 の「CE-M Sを用いたヤトロファの樹液のメタボローム解析」では、最も効率的な方法について理研と相談した結果、手法を変更してワイドターゲットメタボローム解析を行った。乾燥条件と灌水条件で育てたヤトロファの茎に加えて根もサンプリングして、メタボローム解析し、乾燥処理により含有量が増加する成分を同定した。それらの代謝物としてはラフィノース属オリゴ糖類やプロリンが含まれていた。これらの化合物の合成に關与するヤトロファの遺伝子をPCRで増幅し、発現ベクターを構築し、シロイヌナズナに導入した。

研究項目 の「アグロバクテリウムを宿主としたヤトロファcDNAの発現ライブラリーの構築と、高浸透圧条件下でのスクリーニング、および選抜cDNAのシロイヌナズナでの機能解析」については に注力したために行わなかった。

10. キーワード

| | | | |
|---------|-----------|------------|-----|
| (1) 耐乾性 | (2) ヤトロファ | (3) メタボローム | (4) |
| (5) | (6) | (7) | (8) |

11. 現在までの達成度

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

研究項目 のcDNAサブトラクション法によって同定した乾燥応答性のcDNAの機能解析では、予定通り、乾燥条件で特異的に発現しているcDNAの発現ベクターを構築し、シロイヌナズナに導入した。
 研究項目 のヤトロファの樹液のメタボローム解析では、予定していた茎に加えて根でもメタボローム解析を実施し、根、茎に特異的な成分と両者に共通な乾燥処理により含有量が増加する成分を同定した。さらに、これらの化合物の合成に関するヤトロファの遺伝子3種をPCRで増幅し、発現ベクターを構築し、シロイヌナズナに導入しており、計画以上の進展があった。
 研究項目 のアグロバクテリウムを宿主としたヤトロファcDNAの発現ライブラリーの構築と、高浸透圧条件でのスクリーニング、および選抜cDNAのシロイヌナズナでの機能解析については行わなかった。その理由としては、研究項目 において予想以上に良好な成果が得られたことから、の研究項目 に注力した方が耐乾性遺伝子の同定という本課題の最終目的を達成するために適していると判断したために研究手法を絞り込んだためである。従って、研究項目 を行わなくても研究の進捗や目的の達成度のうえで問題はない。

12. 今後の研究の推進方策 等

(今後の推進方策)

研究項目 のcDNAサブトラクション法によって同定した乾燥応答性のcDNAの機能解析では、cDNA導入したシロイヌナズナの解析を行う。
 研究項目 のCE-M5を用いたヤトロファの樹液のメタボローム解析では、新たに非ターゲットメタボローム解析を行う方向で検討中である。また、ラフィノース属オリゴ糖類やプロリンの合成に関与するヤトロファの遺伝子を導入したシロイヌナズナの解析と新たな遺伝子導入を継続して行う。
 研究項目 のアグロバクテリウムを宿主としたヤトロファcDNAの発現ライブラリーの構築と、高浸透圧条件でのスクリーニング、および選抜cDNAのシロイヌナズナでの機能解析については研究項目 に注力するため中止とする。

(次年度の研究費の使用計画)

研究項目 のcDNAサブトラクション法によって同定した乾燥応答性のcDNAの機能解析では、RT-PCRや組換え体の生理学的・分子生物学的解析のために予算を使用する。
 研究項目 のCE-M5を用いたヤトロファの樹液のメタボローム解析では、非ターゲットメタボローム解析を行うための費用と、同定された代謝物の絶対量を測定するための液体クロマトグラフィーによる分析などの費用に予算を使用する。さらに、昨年度に遺伝子導入したシロイヌナズナの生理学的・分子生物学的解析を行うための費用に充当する。また、別のラフィノース属オリゴ糖類の合成に関与するヤトロファの遺伝子の発現ベクターの構築と導入をおこなうための費用に充当する。

13.研究発表(平成24年度の研究成果)

〔雑誌論文〕計(0)件 うち査読付論文 計(0)件

| 著者名 | | 論文標題 | | | |
|-------------------------|-------|------|------|---------|--|
| | | | | | |
| 雑誌名 | 査読の有無 | 巻 | 発行年 | 最初と最後の頁 | |
| | | | ---- | ---- | |
| 掲載論文のDOI(デジタルオブジェクト識別子) | | | | | |
| | | | | | |

〔学会発表〕計(2)件 うち招待講演 計(0)件

| 発表者名 | | 発表標題【発表確定】 | | |
|---|-------------|---|--|--|
| Tada Y | | Genetic Engineering for salt and drought tolerance in plants. | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | | |
| 1st Japanese-Saudi University's Workshop on Biotechnology | 2012年07月12日 | Tokyo Univ. of Technol. | | |

| 発表者名 | | 発表標題【発表確定】 | | |
|----------------|-------------|---------------------------|--|--|
| 多田雄一、澤田有司、平井優美 | | ヤトロファのメタボローム解析による耐乾性機構の解明 | | |
| 学会等名 | 発表年月日 | 発表場所 | | |
| 第35回日本分子生物学会年会 | 2012年12月14日 | 福岡国際会議場 | | |

(図書) 計(0)件

| 著者名 | 出版社 | | | |
|-----|-----|--|-----|-------|
| | | | | |
| 書名 | | | 発行年 | 総ページ数 |
| | | | | |

14. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

(出願) 計(0)件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 出願年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | | |

(取得) 計(0)件

| 産業財産権の名称 | 発明者 | 権利者 | 産業財産権の種類、番号 | 取得年月日 | 国内・外国の別 |
|----------|-----|-----|-------------|-------|---------|
| | | | | 出願年月日 | |
| | | | | | |

15. 備考

| |
|--|
| |
|--|