

様 式 C - 7 - 1

平成 27 年度科学研究費助成事業（科学研究費補助金）実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号 1 4 6 0 3 2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 新学術領域研究（研究領域提案型） 4. 研究期間 平成24年度～平成28年度

5. 課題番号 2 4 1 1 4 0 0 4

6. 研究課題名 細胞外刺激に応答する細胞骨格の再編成

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 1 8 0 8 2 6	ハシモト タカシ 橋本 隆	バイオサイエンス研究科	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

1) チュープリンのThr349のリン酸化を特異的に認識する抗体を作製した。この抗体を用いることにより、PHS1依存的な チュープリンのリン酸化をより簡便に、かつより高感度に検出することが可能になった。

2) PHS1を活性化するシグナル伝達系を解明するために、遺伝子構成がアラビドプシスよりも単純なゼニゴケを実験材料として用いた共同研究を西浜講師・河内教授（京大・生命）と開始した。まず、ゼニゴケにおいて浸透圧ストレスにより チュープリンがリン酸化されるか、このリン酸化がゼニゴケPHS1依存的かどうかを調べたところ、0.6Mソルビトール高浸透圧処理により5分以内にゼニゴケチュープリンのThr349がリン酸化され、このリン酸化はゼニゴケPHS1破壊変異株では完全に消失した。

3) ゼニゴケゲノムには3つのMAPキナーゼ遺伝子が存在する。そのうちの、MpMPK2（Cタイプ）とMpMPK3（Dタイプ）の遺伝子破壊株における高浸透圧誘導性 チュープリンのリン酸化を調べたところ、どちらの変異株においてもリン酸化は野生株と変化はなかった。残りのMpMPK1（アラビドプシスA/Bタイプに相当）の遺伝子破壊株は致死であった。

4) PHS1自身のリン酸化アミノ酸残基を同定するために、通常の生育条件および高浸透圧条件で育成させたアラビドプシス植物体からPHS1-GFPを精製して、中神博士（理研）との共同研究でリン酸化部位を同定した。PHS1の多くのセリン残基がリン酸化され、そのうち高浸透圧処理にリン酸化が増大するものは8つあった。これらの単独リン酸化ミミック変異PHS1をアラビドプシス細胞に一過的に発現させたところ、顕著な表層微小管の脱重合は観察されなかった。複数の部位のリン酸化が必要である可能性を検討するために、リン酸化ミミック多重変異PHS1を作製し、それらの効果を検討中である。

10. キーワード

(1) 微小管	(2) 浸透圧ストレス	(3) チューブリン	(4) 植物
(5) リン酸化	(6)	(7)	(8)

11. 現在までの進捗状況

(区分)(2) おおむね順調に進展している。

(理由)

特異的リン酸化抗体を作製することに成功し、ゼニゴケにおけるMPK破壊株の解析も順調に進行している。PHS1自己リン酸化されるアミノ酸残基の同定に関して、計画された実験を行ったが、期待される成果はまだ得られていない。

12. 今後の研究の推進方策

(今後の推進方策)

ゼニゴケMPK1の遺伝子破壊については、条件的遺伝子破壊株の作製を共同研究として進める。PHS1自己リン酸化部位の同定については、in vitroでの自己リン酸化活性を調べ、活性が認められれば、in vitroの実験系を用いて自己リン酸化部位を解析し、同定する。

13. 研究発表 (平成 27 年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計 (2) 件 / うち査読付論文 計 (2) 件 / うち国際共著論文 計 (0) 件 / うちオープンアクセス 計 (0) 件

著者名		論文標題				
S. Takatani, T. Hirayama, T. Hashimoto, T. Takahashi, and H. Motose		Abscisic acid induces ectopic outgrowth in epidermal cells through cortical microtubule reorganization in Arabidopsis thaliana.				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
Sci. Rep.	有	5	2015	11364	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1038/strep11364						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

著者名		論文標題				
T. Hashimoto		Microtubules in Plants				
雑誌名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	国際共著	
The Arabidopsis Book	有	13	2015	e0179	-	
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)						
10.1199/tab.0179						
オープンアクセス						
オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難						

〔学会発表〕 計 (6) 件 / うち招待講演 計 (2) 件 / うち国際学会 計 (1) 件

発表者名		発表標題	
Takashi Hashimoto		Plant responses to drought by the cytoskeleton remodeling	
学会等名	発表年月日	発表場所	
Annual Academic Meeting of Korean Society for Plant Biotechnology (招待講演) (国際学会)	2015年06月17日 ~ 2015年06月19日	Korean Cultural Center (Chungnam Province, Korea)	

発表者名	発表標 題	
橋本隆	ダイナミックな微細管細胞骨格は植物細胞の形を作り出し、環境ストレスに応答する	
学会等名	発表年月日	発表場所
第53回日本生物物理学会年会（招待講演）	2015年09月12日～ 2015年09月15日	金沢大学（石川県金沢市）

発表者名	発表標 題	
Coleman Duncan, 堀田 崇, 橋本 隆	チューブリンリン酸化酵素PHS1 はMAPK を介さずにリン酸化活性を抑制する	
学会等名	発表年月日	発表場所
第57回日本植物生理学会年会	2016年03月18日～ 2016年03月20日	信州大学（長野県上田市）

発表者名	発表標 題	
加藤 壮英, 市村 朋子, 平井 祐貴, 足立 侑実子, 竇金 佐和子, 藤田 智史, 八木 慎宜, 橋本 隆	器官のねじれ形質への各細胞層の寄与	
学会等名	発表年月日	発表場所
第57回日本植物生理学会年会	2016年03月18日～ 2016年03月20日	信州大学（長野県上田市）

発表者名	発表標 題	
堀田 崇, 内村 誠一, 野口 真大, 出村 拓, 武藤 悦子, 橋本 隆	精製植物チューブリンを用いた微細管のin vitroダイナミクス解析	
学会等名	発表年月日	発表場所
第57回日本植物生理学会年会	2016年03月18日～ 2016年03月20日	信州大学（長野県上田市）

発表者名 高橋 英之, 長尾 直弥, 西浜 竜一, 河内 孝之, 橋本 隆	発表標題 高浸透圧ストレスに応答したゼニゴケの表層微小管脱重合	
学会等名 第57回日本植物生理学会年会	発表年月日 2016年03月18日 ~ 2016年03月20日	発表場所 信州大学 (長野県上田市)

〔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. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計(0)件

国際研究集会名	開催年月日	開催場所

16. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

(1) 国際共同研究 : -

17. 備考

橋本研ホームページ
<http://bsw3.naist.jp/hashimoto/>