

平成24年度 島根大学「萌芽研究部門」研究プロジェクト 計画書

1. プロジェクト名称	東北地方の農業復興に役立つ遺伝子群の探索と機能解析					
	(英訳名)	Isolation and characterization of radioactive material and heavy metal transporters genes from rice for the promotion of earthquake disaster reconstruction				
2. プロジェクトリーダー	所属	生物資源科学部	職名	助教	氏名	秋廣高志
	現在の専門	植物細胞分子生物学			学位	博士(農学)
3. プロジェクトの概要 ①本研究プロジェクトで何をどこまで明らかにするか、②当該分野の国内外の研究と比較して本プロジェクトのユニーク性・重要性・先見性、③島根大学で行う意義・大学の発展にとって期待される効果、について簡潔に記入してください。						
① 研究プロジェクトで何をどこまで明らかにするか 東日本大震災の後に起こった大津波や原発事故により、東北地方の農業は壊滅的な被害を受けた。放射性物質による土壤汚染、地殻変動により鉱山等からの重金属の流出は特に深刻な問題となっており、解決すべき喫緊の課題となっている。本プロジェクトは、放射性物質であるセシウムやストロンチウム、重金属汚染の原因物質であるカドミウム、ヒ素、ニッケルなどの植物(イネ)における輸送機構の解明、とりわけトランスポーター遺伝子の単離および機能解析を目指す。本研究の最終目的は、これらの物質を吸収しない安心安全な新たな農作物品種の作出である。また一方で、これらの物質を過剰に蓄積する環境浄化植物を作出することである。						
② 当該分野の国内外の研究と比較して本プロジェクトのユニーク性・重要性・先見性 本研究の申請者は、植物の輸送体遺伝子のスクリーニング系として、酵母を感受性を指標として選抜する手法を世界に先駆けて考案し、3年間をかけてこれを完成させた。このライブラリーは世界に一つしか無くこれまでの実験手法では単離できなかった新奇輸送体遺伝子を次々と単離できるものとなっている。今回単離を目指す放射性物質の植物における輸送系は全く不明であり、解明されれば放射能汚染地域における農業の復興に極めて大きな知見となると考えられる。						
③ 島根大学で行う意義・大学の発展にとって期待される効果 本研究は東北地方の農業復興に貢献できるだけでなく、県内の一部の地域で問題となっているヒ素における土壤汚染に関する問題やアジア近隣(特に中国やバングラディッシュ)の発展途上国の重金属汚染の問題解決にも貢献しうる国際水準の研究であるという。これは、島根大学憲章に掲げる「地域課題に立脚した国際的水準の研究推進」と合致している。申請者が構築したライブラリーは世界に一つしか無く、世界的な研究リソースになるものと考えている。本リソースを利用するために世界中の研究者が本学に来学するようになれば、国内外の研究者との研究交流が盛んになり、本学学生にとっては海外の研究者や学生と交流する良い機会になるものと考えられる。						
4. 本学の大学憲章・中期目標・計画またはアクションプランとの関係						
5. 各年度の計画の概要 年度ごとに何をどこまで明らかにするのかを簡潔に書いてください。 【H24 年度】 セシウム、ストロンチウム、カドミウム、ヒ素、ニッケルの輸送体遺伝子の探索を行う。まず、スクリーニングホストの選抜(野生株または変異体)およびスクリーニング条件の検討(用いる元素の濃度の最適化)を行い最適条件を決定する。続いて、決定した実験条件下で第一次、二次、三次スクリーニングを行い、陽性クローンの絞り込みを行う。再現性の取れたクローンについては、トランスポーターアッセイを行い、輸送能を有することを確認する。確認できたクローンについては特許申請を行い、学会発表を行う。実験系が正しく作動することを確認する目的で各種糖やビタミンCの輸送体の単離を行う。 【H25 年度】 単離した遺伝子のイネにおける発現部位をRT-PCRを用いて特定する。また、GFPタンパク質との融合タンパク質を用いて細胞内局在の解明を行う。最終的に成果を学術雑誌に投稿する(国際誌 10本を目標とする)。また、国際学会等で成果を発表する。						
6. 配分経費 (単位:千円)25年度は24年度と同額をカッコ内に記入して下さい。						
平成(年度)	24	25	合計			
配分予定額(千円)	1,850千円	(1,850千円)	(3,700千円)			

7. 平成24年度の研究計画および達成目標

【研究項目】 研究項目には①,②,⋯の様に番号をつけて箇条書きしてください。

- ① セシウム・ストロンチウムに感受性を示すスクリーニングホストの選抜・作製。
- ② ①で選抜した酵母をホストにライブラリーを構築する。糖の輸送に変異を持つ酵母をホストとしたライブラリーを作成する。
- ③ セシウム、ストロンチウム、カドミウム、ヒ素、ニッケル、糖、ビタミン C を含む培地を作成し、スクリーニング条件を検討する。
- ④ ③で決定した条件でスクリーニングを行う。
- ⑤ 単離した遺伝子のイネにおける発現部位および細胞局在を解明する
- ⑥ 単離した遺伝子の発現抑制体や過剰発現体の作製

【達成目標】 対応する研究項目に対して第三者が本年度に達成できたと判断できる具体的な目標を記入してください。

- ① セシウムへの感受性を 5mM 程度(野生型の 5 倍)、ストロンチウムへの感受性を 50mM 程度(野生型の 5 倍)に低減させる。
- ② イネのトランスポーター遺伝子(1353 個)を①で選抜・作製した酵母に導入しライブラリーを 96 穴フォーマットで作成し、グリセロールストックする。
- ③ ベクターコントロールを導入した酵母を用いたスクリーニング条件(具体的には基質の濃度と培養時間)を決定する。
- ④ 擬陽性クローンを排除する目的で3次スクリーニングまで行う。選抜したクローンは液体培養においても感受性を示すことを調査する。
- ⑤ イネを栽培し各種処理を行った後、RNA を抽出し RT-PCR により発現量と発現部位を特定する。GFP との融合遺伝子を遺伝子銃を用いて長ネギの細胞に導入し、細胞内局在を明らかにする。
- ⑥ コンストラクションの作製(バイナリーベクターの構築)。形質転換および再分化体の作製。

8. プロジェクト推進担当者 平成24年度に限って記入してください。

計 2名

(ローマ字) 氏名	所属部局(専攻など)・職名	現在の専門 学位	役割分担
(プロジェクトリーダー) Takashi AKIHIRO 秋廣 高志	生物資源科学部生物科学科・ 助教	植物細胞分子 生物学・農学博 士	プロジェクト統括 ライブラリースクリーニング・単離した遺伝子の機能解析
Ishikawa TAKAHIRO 石川 孝博	生物資源科学部生命工学科・ 助教	植物応用分子 細胞生物学・農 学	ライブラリースクリーニング・単離した遺伝子の機能解析

