

ISSN 0916-930X
CODEN : OSSHEN

岡山大学
資源生物科学研究所報告 第12卷
(Annual Report 2004)

岡山大学資源生物科学研究所

Research Institute for Bioresources
Okayama University



研究活動目次

Contents of Research Activities

研究活動 (Research Activity)	
核機能分子解析グループ (Group of Nuclear Genomics)	1
作物種子研究グループ (Group of Crop Seed Science)	2
植物ストレス応答分子解析グループ (Group of Physiology and Molecular Biology of Plant Stress Responses)	3
分子生理機能解析グループ (Group of Molecular and Functional Plant Biology)	4
作物ゲノム育種グループ (Group of Crop Genome Modification)	5
環境昆虫機能グループ (Group of Insect Physiology and Molecular Biology)	6
化学ストレス生態応答グループ (Group of Ecological Response to Environmental Stress)	7
植物・微生物相互作用グループ (Group of Plant-Microbe Interactions)	8
微生物機能開発グループ (Group of Applied Microbiology)	9
植物気象生態グループ (Group of Meteorological Ecology)	10
生命環境適応先端工学グループ (Group of Advanced Engineering of Adaptation for Bioenvironment)	11
大麦・野生植物資源研究センター (Barley and Wild Plant Resource Center)	
大麦・野生植物資源グループ (Group of Barley and Wild Plant Resource)	12
A. 大麦 (Barley)	
B. 野生植物 (Wild Plant)	
細胞分子生化学グループ (Group of Cytomolecular Biochemistry)	14
遺伝資源機能解析グループ (Group of Genetic Resources and Functions)	15
出版物リスト (List of Publication)	16
国際会議およびシンポジウム (List of International Conference and Symposium)	22
研究所員が主催したシンポジウム等 (List of Symposium Superintended by the Member of Institute)	28

核機能分子解析グループ

本研究グループでは、植物を主たる材料として、核および染色体の構造と機能に関する分子細胞学および分子遺伝学的研究を行っている。現在は、植物の染色体機能要素（セントロメア、テロメア、複製起点）の構造解析を中心に、科学技術振興事業団の戦略的基礎研究推進事業（CREST）の一環として、「植物における染色体機能要素の分子的解析と人工染色体の構築」プロジェクト（研究代表者：村田稔）を推し進めている。

1. シロイヌナズナの新規ミニ染色体の分離

我々はこれまで、シロイヌナズナにおいて、第4染色体の短腕に由来するミニ染色体を分離し、そのセントロメア構造を解析してきた。今回、この染色体にカナマイシン耐性遺伝子を挿入し、染色体数 $2n=12$ の系統を作製することに成功した。また、新たにpBGF101（バイナリーベクター-pBI101+GFP遺伝子）をin planta法で導入したところ、 $2n=13$ の形質転換個体が得られた。FISH（蛍光 in situ ハイブリダイゼーション）による染色体解析から、ミニ4S以外に、3つの小型染色体が存在することがわかった。このうち2つは、T-DNAが挿入されており、第2染色体の短腕に由来する新規のミニ染色体であることがわかった。この後代で、このミニ2Sを1本（ $2n=11$ ）、または1対（ $2n=12$ ）保持する系統を分離したところ、一部の個体ではジーンサイレンシングが起こっていた。FISHによる解析の結果、このミニ2S染色体のセントロメア特異的180-bpリピートのサイズは、正常な第2染色体よりもかなり短く（ >1 Mb）、セントロメアの内部で切断が起きたことが推測された。

2. セントロメア特異的タンパク質の解析

セントロメアDNAに結合するタンパク質としては、ヒトのCENP-AやCENP-Cがよく知られており、これらのホモログも植物で見つかっている。しかし、これら以外のセントロメアタンパク質については、ほとんど研究が進んでいない。我々は今回、分裂酵母で最近発見されたMis12タンパク質のホモログ遺伝子をシロイヌナズナから単離し、推定されるアミノ酸配列からペプチド抗体を作製した。この抗体を用いた間接免疫抗体染色法から、このタンパク質が細胞周期を通してセントロメアに特異的に局在することが明らかとなった。また、クロマチン・ファイバー法により、これらのセントロメアタンパク質が、180-bpクラスターの一部およびHTR12（セントロメアヒストンH3）と共局在することがわかった。これ以外にも、ヒトではまだ発見されていない新規のセントロメアタンパク質を特定した。

3. シロイヌナズナのテロメアを保護するタンパク質

シロイヌナズナにおいて、分裂酵母のPOT1（protection of telomere 1）様の遺伝子を2種（*AtPOT1*, *AtPOT2*）同定した。RT-PCRからそれらの発現を調べたところ、前者では3種、後者では2種の転写物が確認され、オルターナティブスプライシングを受けていることが示唆された。ヒトのPot1遺伝子でも、同様にオルターナティブスプライシングを受け、5つのバリエーションのうち1つは、組織特異的に生じていることがわかっていて。しかし、そのような特異的発現は、シロイヌナズナにおいて確認されなかった。*AtPOT1*の推定アミノ酸の配列をもとにペプチド抗体を作製し、ウエスタンブロッティングで調べたところ、3種の異なるサイズのバンドが確認された。このことから、3つのスプライシングバリエーションは、すべて翻訳されていることが示され、テロメアに結合していることが示唆された。

Group of Nuclear Genomics

Our research group is studying the molecular structures and functions of nuclei and chromosomes, mainly in plants. Our recent goal is to construct plant artificial chromosomes by analyzing chromosome functional elements; centromeres, telomeres and replication origins. We are currently working on the CREST project sponsored by the JST, "Molecular analysis of chromosome functional elements and construction of artificial chromosomes in plants".

1. Isolation of novel minichromosomes from *Arabidopsis thaliana*

We have been analyzing the minichromosome 4S, derived from a short arm of chromosome 4, in *Arabidopsis thaliana*. In this experiment, we have isolated a line carrying two mini-4S chromosomes tagged with kanamycin-resistant (*nptII*) gene ($2n=12$). In addition, we transformed the Tr4S line with pBGF101 (pBI101+GFP) by the *in planta* vacuum infiltration technique, and succeeded in producing a fertile plant with $2n=13$. Among the transformants, fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with 5S and 18S rDNAs as probes revealed that there were three minichromosomes in addition to mini-4S, and that one chromosome 2 was missing. Of the three minichromosomes, two originated from a short arm of chromosome 2 (2S) and one was tagged with T-DNA. In its progeny, various combinations of the minichromosomes appeared, and the plants having one and two mini-2S ($2n=11$ and 12) were successfully isolated. Interestingly, expression of both *GFP* and *nptII* genes were occasionally suppressed in these plants. FISH with 180-bp repeat as a probe indicated that the size of the 180-bp repeat cluster on the mini2S is much shorter (>1 Mb) than that of original chromosome 2. This suggests that breakage have occurred in the centromeric region.

2. Analysis of centromere-specific proteins

Proteins similar to the human centromere-binding proteins such as CENP-A and -C have been identified in some plant species. However, no other centromere-binding proteins have been characterized yet. Therefore, we characterized the *Arabidopsis* gene homologous to the fission yeast Mis12. The antibody against the synthetic peptide made from the deduced amino acid sequence showed that the AtMIS12 protein localizes on the centromeric regions through cell division. Analysis using the chromatin-fiber technique revealed that the centromere proteins localize only a limited part of the 180-bp repeat clusters, but colocalize with HTR12 (centromeric histone H3). We also found a novel centromere protein that has not been identified in humans.

3. Pot1 (Protection of telomere 1)-like proteins in *A. thaliana*

We identified two Pot1-like proteins (AtPot1 and AtPot2) in *A. thaliana*. RT-PCR revealed the production of three different transcripts of *AtPOT1* and two of *AtPOT2*, suggesting that they were exposed to alternative splicing. Alternative splicing is also known to occur in human Pot1, and only one splicing variant had tissue specificity among five splicing variants. Therefore, tissue specificities were also investigated in AtPot1 and AtPot2. However, neither AtPot1 nor AtPot2 showed any tissue specificity. The antibody against the synthetic peptide deduced from the *AtPOT1* recognized three different peptides in nuclear extracts, suggesting that all three *AtPOT1* variants are translated and bind to the telomeres.

日本産コムギからつくられる小麦粉は、パンや麺に加工するときの品質が悪く、またくすんだ色をしている。この原因は、収穫期の雨と低温により種子が収穫前に畑で発芽しやすく（穂発芽）、収穫した種子が多く澱粉分解酵素を含むことがあるためである。また、赤粒コムギは穂発芽を生じにくいため多く栽培されるが、製粉時に種皮の赤色素が粉に混じるため粉色が悪くなる。今年度この研究グループでは以下の研究を行った。

1) コムギ種子色素の合成に関わる*DFR*遺伝子の比較

6倍性コムギの3つのゲノム、A, B, Dの第三染色体(3A, 3B, 3D)に座乗する*DFR*遺伝子とA, B, Dゲノムの祖先になったコムギ近縁種がもつ*DFR*遺伝子の塩基配列を明らかにし、その構造を比較した。アミノ酸をコードする領域(ORF)に対してアミノ酸をコードしない領域(introns, promoter, 3'-, 5'-UTR)に多くの変異が見られた。この変異の量は一般に予想される変異よりも多く、異なるゲノムが合わさる倍数化時に多くの塩基変異が誘導される可能性が明らかになった。

2) コムギ粉のdough色に関わるPolyphenol oxidase (PPO) 遺伝子の単離

コムギ粉の中に含まれるPPOは、粉に水を加えdoughを作成した後にdoughの色を悪くする原因と考えられている。このPPO遺伝子をコムギから3つ単離した。

また、キビ種子の発芽における澱粉分解酵素の役割について研究を行った。キビ種子は α -グルコシダーゼ活性を有しているが、その活性は発芽の初期段階に倍増する。そこで本酵素を発芽初期段階のキビ種子から単離して、本酵素は、マルトオリゴ糖の分子量が大きくなるほど酵素活性が増大することを明らかにした。即ち、本酵素は、 α -アミラーゼによる澱粉分解産物に対して β -アミラーゼによる澱粉分解産物に対するよりもよく作用する。さらに、澱粉分子の中でアミロペクチンを優先的に分解すること、澱粉分子の異常結合として存在する α -1,3-結合のニゲロースを容易に分解することも明らかにした。そのため、本酵素はキビ種子の発芽初期段階で重要な役割を演じていることが考えられる。

Quality of the flour milled from domestic wheat is poor in noodle- and bread-making, and also in flour color. In Japan, rain-fall and cold temperature at harvesting time of wheat often induces seed germination in the field before harvest (preharvest sprouting). Starch-degrading enzymes secreted in germinating seeds affect flour quality. Red-grained lines have been mainly cultivated in Japan, since they show high resistance to preharvest sprouting. However, the red pigment in the seed coat tissue contaminates the flour after the milling process and lowers the brightness of the flour. We have mainly been studying these problems. The following researches were conducted this year.

1) Comparison of *DFR* gene involved in the synthesis of grain pigment

We isolated *DFR* genes on 3A, 3B and 3D chromosomes of the A, B and D genomes, respectively, of hexaploid wheat, and those of ancestral species of wheat. Comparison of the sequences of these *DFRs*, revealed a larger variation in the untranslated regions (intron, promoter, 3'- and 5' UTR) than in the ORF, which is translated to amino acids. The variation in the untranslated region was unexpectedly large. It is possible that polyploidization, which makes different genomes stay in a cell, might induce higher base changes.

2) Isolation of polyphenol oxidase (PPO) genes related to dough colour change of wheat

PPO in the flour has been thought to be an enzyme that reduces the brightness of dough. We isolated three PPO genes from wheat.

We are also studying the role of starch-degrading enzymes in starch digestion. α -Glucosidase exists in millet seeds and it approximately doubles within 24h of the germination. We isolated α -glucosidase from germinating millet seeds. The K_m value of the enzyme decreased with increasing molecular weight of the malto-oligosaccharides. Therefore, the α -glucosidase is considered to have a stronger affinity for malto-oligosaccharides liberated from starch by α -amylase than for maltose produced by β -amylase. The enzyme preferably hydrolyzed amylopectin in starch, but also readily hydrolyzed nigerose, which has an α -1,3-glucosidic linkage and exists as an abnormal linkage in the structure of starch.

The enzyme readily hydrolyzed millet starch in germinating seeds. Therefore, the enzyme is considered to play an important role during the early stage of germination.

本グループでは世界の農耕地の30%を占める酸性土壌における作物生産性の向上を目指して、酸性土壌における植物の生育を制御する重要な因子であるアルミニウム (Al) 毒性に関して、その障害機構と耐性機構について継続的に研究を行っている。以下に得られた成果の一端を紹介する。

1. ダイズのAl誘導性クエン酸分泌に対するK252aとABAの作用

ダイズのAl耐性はAl誘導性クエン酸分泌に依存している。分泌過程におけるタンパクリン酸化阻害剤であるK252aとABAの作用について調べた。K252aの前処理あるいは共存下でのAl処理により、クエン酸分泌量が減少し、それとともないAl含量の増加とAlによる根伸長障害が増幅された。一方、Al処理によりABA含量が増加したが、K252aはAlによるABAの増加を抑制しなかった。ABA誘導性のクエン酸分泌と根伸長の促進はK252aで抑制されたが、ABAはK252aの障害を解除出来なかった。ABAはクエン酸分泌の初期過程に関与しているが、その後の過程に関与するK252a感受性タンパクリン酸キナーゼがダイズのクエン酸分泌の主役を演じていることが示唆された。

2. エンドウ根におけるAlによる活性酸素種 (ROS) の誘発とAl耐性機構の解析

Al感受性の異なるエンドウ 2 品種を用い、Alによる根伸長障害に対する耐性度の違いについて生理・生化学的に解析した。Al耐性品種 (Alaska) ならびにAl感受性品種 (Hyogo) は、ともにAlによるROSの発生率と根伸長阻害率との間に強い相関があることから、ROSの発生が根伸長障害の原因である可能性が高い。さらに、Al感受性品種と比較して、Al耐性品種ではAlの標的部位である根端において、ATP含量が高く、さらに、Al処理に伴ってATP量が低下し、それとともにAl耐性も低下することから、根端ATP含量がAl耐性の決定因子の一つである可能性を示唆している。

以上の研究に加え、タバコ培養細胞を用い、Alに対する初期応答反応について原形質膜を介した無機イオンや糖および水輸送への影響を中心に解析を進めている。

3. コムギALMT1形質転換植物のアルミニウム耐性

これまで我々は、Al耐性コムギからALMT1遺伝子を単離し、それがAl活性化型リンゴ酸トランスポーターをコードし、コムギのAl耐性遺伝子であることを明らかとした。本年度はALMT1が植物体においてもAl耐性を付与する可能性について検討するため、単子葉植物のオオムギや双子葉植物のタバコに遺伝子導入を行い、その機能発現とAl耐性度から評価した。オオムギはコムギよりもAl耐性が低い。オオムギのALMT1形質転換体では、根端の高いリンゴ酸放出能と共に、水耕によるAl処理や酸性土壌においてAl耐性コムギ品種と同程度まで生育の向上が認められた。さらに、タバコのALMT1形質転換体でも、水耕栽培におけるAl耐性の向上が認められた。従って、コムギのAl耐性遺伝子ALMT1はコムギ以外の植物体においてもAl耐性を付与でき、酸性土壌耐性遺伝子であることが示された。

Our group has been studying the mechanism of aluminum (Al) toxicity and tolerance of plants. Al toxicity is a major problem limiting crop production in acid soil. Our goal is to increase the crop productivity in acid soil. Some results are presented below.

1. Effects of K-252a and abscisic acid on the efflux of citrate from soybean roots

The Al-induced release of organic acid has been suggested as an important mechanism of Al resistance in plants. The effects of K-252a and abscisic acid (ABA) on the efflux of citrate were investigated in soybean (*Glycine max* L.) roots. Treatment with K-252a, an inhibitor of protein kinase, before or during Al application severely inhibited the Al-induced efflux of citrate accompanying an increase in Al accumulation and intensified Al-induced root growth inhibition. Al-treatment increased the endogenous level of abscisic acid (ABA) in soybean roots, but K-252a failed to inhibit the Al-induced increase in endogenous ABA. ABA-induced increases in citrate efflux and root elongation were suppressed by K-252a, while ABA could not reverse the K-252a effects. These results suggest that ABA is probably involved in the early response, after which K-252a-sensitive protein kinases play a key step in regulating exudation.

2. Analysis of Al tolerance mechanism in pea roots in relation to reactive oxygen species (ROS) production.

The molecular mechanism of Al tolerance in pea roots was investigated physiologically and biochemically, by comparison between Al-tolerant (Alaska) and Al-sensitive (Hyogo) cultivars. In both cultivars, there was a strong correlation between the rate of ROS production at the elongation zone and the rate of root elongation inhibition. This suggests that the Al-triggered ROS production is a determining factor of root elongation inhibition under Al treatment. Furthermore, compared with Hyogo, Alaska contained a larger amount of ATP in root apices, and Al treatment decreased the ATP content in Alaska accompanying a decrease in Al tolerance. These results suggest that the amount of ATP in the root apex is one of the factors determining Al tolerance. In addition, to elucidate primary responses to Al, we are analyzing the effects of Al on the fluxes of mineral nutrients, water and sugar in the plasma membrane using cultured tobacco cells.

3. Overexpression of wheat ALMT1 gene confers aluminum tolerance in plants

We previously cloned a wheat ALMT1 gene which is an Al-activated malate transporter, and showed that ALMT1 is an Al-tolerance gene. Here, to examine whether wheat ALMT1 confers Al tolerance in other intact plants, we produced transgenic barley and tobacco plants overexpressing ALMT1. Transgenic barley roots exhibited Al-activated malate efflux and enhanced tolerance to Al in both hydroponic culture and acid soil. Transgenic tobacco roots also exhibited increased Al tolerance in hydroponic culture. These findings indicate that ALMT1 confers Al tolerance in both monocot and dicot plants, and also is an acid-soil tolerance gene.

本グループでは植物の生長と環境応答機構について、生体膜を含む、細胞および分子生理学的な観点から研究を進めている。現在以下の研究を行っている。

1. アクアポリンの機能解析

アクアポリンは水と低分子化合物の輸送を担う膜タンパク質である。オオムギ根から単離・同定した原形質膜型アクアポリン遺伝子HvPIP2;1は、オオムギのアクアポリンファミリーの中でも最も発現量が多いものの一つであり、塩ストレスに反応して発現が制御されていた。HvPIP2;1遺伝子は(1)水輸送活性をもつアクアポリンをコードしていること、(2)強制的に高発現させると植物体の耐塩性が低下すること、(3)二酸化炭素の透過活性もコードすること、を明らかにした。(3)の結果から、アクアポリン活性の制御を通じて光合成速度が制御される可能性が示唆されている。

2. オオムギとイネのMajor Membrane Intrinsic Protein (MIP) 遺伝子ファミリー

MIPファミリーは、アクアポリンを含む遺伝子ファミリーであり、大きく分化した4つのサブファミリーがある。我々は、オオムギMIPsの発現と機能を網羅的に研究するために、現在オオムギからMIPsのcDNAを収集中である。イネゲノムシーケンスは2002年に一応完了をみた。そこでイネゲノムから全てのMIPファミリーを検索して整理した。結果、36遺伝子と2つの偽遺伝子が見つかった。アラビドプシスやトウモロコシのMIPファミリーと比較することによって、多様性の大きなMIPファミリーの中に見出されている幾つかのサブファミリーの構造的特長とその機能について有益な情報が得られた。

3. 環境応答機構におけるカルシウムシグナリングを制御する因子

イネやトウモロコシから報告されているストレス応答性遺伝子のホモログで、細胞内シグナル伝達系に関与する可能性が考えられる因子として、オオムギのMAPKaseとCAX (Calcium proton exchanger) の遺伝子を新規に同定・単離した。前者は生育温度のシフトによって発現が制御されていた。後者は高濃度の塩化カルシウムを水耕培養液に加えることでオオムギ根における発現が上昇した。オオムギCAXはカルシウム輸送活性を欠損する酵母の形質を相補した。

4. グルタチオン抱合化合物の液胞膜透過機構

グルタチオンに抱合された除草剤のGS-Xポンプによる液胞内への輸送は除草剤の解毒や作物の除草剤抵抗性に深く関与している。このGS-XポンプはABCスーパーファミリーに属するタンパク質である。本年度は、ヤエナリのゲノミックDNA及びcDNAからGS-Xポンプ遺伝子を単離し、その構造と機能を明らかにしようと試み、また、リアルタイムRT-PCR法を用いて、発現誘導を定量的に解析した。

This group is conducting molecular and cellular biological studies on the plant growth and the plant's response to environmental stress including studies on biological membranes. The following researches are in progress.

1. Functional analysis of aquaporins.

Aquaporins are membrane proteins responsible for the transport of water and some low-molecular weight compounds. We revealed that transcript of a barley aquaporin, HvPIP2;1, was one of the most abundant aquaporins in barley, and its expression is regulated by salt stress. We revealed that HvPIP2;1 encoded water channel activity, raised salt sensitivity, and increased CO₂ permeability suggesting that aquaporin activity regulates the CO₂ assimilation rate.

2. Major membrane intrinsic protein (MIP) family in barley and rice genomes.

MIPs are an ancient family of channel proteins including aquaporins comprising four different groups of highly divergent proteins. To conduct comprehensive studies on the expression and function of MIP family, we have been collecting cDNAs encoding MIPs from barley plants.

In the genomic sequence of rice, which was completed in 2002 though the database is in the draft stage, we have identified 36 different MIP-encoding genes and 2 pseudo-genes. Comparison with *Arabidopsis thaliana* and *Zea mays* provided useful information on the structure and function of several subfamilies of MIPs.

3. Factors regulating calcium signaling in the response to environmental stress.

We have identified the genes for MAPKase and CAX (calcium proton exchanger) in barley. These genes are homologues of stress-responsive genes for MAPKase and CAX reported from rice and maize. Transcription of barley MAPKase was regulated by the temperature change. The amount of CAX transcript in barley roots increased after an addition of calcium chloride to the hydroponic solution. Barley CAX complemented the phenotype of yeast cells lacking the activity of calcium transport into the vacuole.

4. Mechanism of transportation of glutathion-conjugate across tonoplast membrane.

The transport of glutathione-conjugated herbicide into tonoplast by the GS-X pump is closely related to herbicide resistance and detoxification. The GS-X pump is a protein belonging to an ABC super family. This year, we examined the structure and function of the GS-X pump gene isolated from genomic DNA and cDNA of *Vigna radiata* seedlings and examined the quantitative expression of the GS-X pump gene using the real-time RT-PCR method.

本グループでは、トランスポゾンタギング系統の利用や野生種の遺伝子による効率的な食料生産のために必要な遺伝要因の解明および植物ホルモンによる遺伝子発現制御機構の解明を目的とする。

1. イネのDNAトランスポゾン*nDart*を転移させる自律性因子の探索

日印間交雑F2に生じた易変性ヴィレッセント変異体の準同質遺伝子型系統から発見された*Ac/Ds*型に属するDNAトランスポゾン、*nDart* (*non-autonomous DNA-based active rice*) は自然栽培条件下で転移挿入を繰り返す活性のある非自律性因子である。活性のある*nDart*を遺伝子タギングの道具として利用するには、転移酵素をコードする自律性因子 (*Dart*と呼称) の存在を特定し、それによる*nDart*の転移制御機構を解明することが必須である。そこで、日本型イネの易変性ヴィレッセント変異、*pyl-v* (*nDart*と*Dart*が含まれている) をインド型イネ*Kasalath*に導入する過程のBC3F1個体を用いて、日本型イネの染色体断片の残存型と*pyl-v*の分離から自律性因子の座乗する染色体を推定した。その結果、*nDart*を転移させる*Dart*は第6染色体の長腕末端部に座乗するものと考えられた。

2. オオムギ未熟胚由来カルスからの植物体再分化に及ぼす光の影響

オオムギ未熟胚由来カルスからの植物体再分化には光制御機構が存在し、関東二条5号やK-3では暗黒条件下でカルスを誘導することにより植物体再分化が促進された。12時間日長と暗黒条件を組合せた光条件下でカルスを誘導した場合、カルス誘導の前半の暗黒処理が効果的に再分化率を高かった。このことから、光のシグナルに対する感受性はカルス誘導の比較的早い時期で高いことが明らかとなった。次に、カルス誘導を蛍光灯、赤色光、遠赤色光、青色光で行い、各光質の植物体再分化におよぼす影響を調査した。その結果、光照射による植物体再分化率の低下は赤色光、遠赤色光では認められず、青色光でのみ植物体再分化率が低下した。このことから、オオムギ未熟胚由来カルスからの植物体再分化における光抑制には青色光のシグナルが関与していると考えられた。

3. アブシジン酸 (ABA) シグナル伝達に関与するPR5型S/Tプロテインキナーゼ (*PR5RK*) 遺伝子の単離と解析

植物は、ABAにより種子休眠・発芽を調節し、低温、乾燥や高塩濃度下でのストレス耐性を獲得することが知られている。green fluorescent protein (GFP) 発現を指標としてシロイヌナズナGFPエンハンサートラップラインをスクリーニングにより、ABAに応答する遺伝子の探索を試みた。その結果得られたいくつかのラインの中から、ABAシグナル伝達経路における正の制御因子*PR5RK*遺伝子が単離された。現在、*PR5RK*やホモログの解析を通してABAに応答する遺伝子発現制御機構の解析を進めている。

In this group, genetic factors necessary for greater production efficiency of crops are studied by using transposon-tagging lines and introgression of genes from wild species. The mechanism of gene expression by phytohormone is also studied.

1. Detection of an autonomous element responsible for mobility of DNA transposon *nDart* in rice

An non-autonomous *Ac/Ds* type transposon, *nDart* (non-autonomous DNA-based active rice transposon) identified in a mutable virescent NIL derived from a wide cross is actively transposed under a normal growth condition. It is important to identify an autonomous element *Dart* that makes *nDart* transposed and reveal the regulatory mechanism of the transposition. In BC3F1 plants, which were obtained by backcrossing japonica *pyl-v* plant having *nDart* and *Dart* to indica *Kasalath* as a recurrent parent, relation between persistent japonica-type chromosome segments segregate of *pyl-v* were examined by SSR analysis. *Dart* was presumed to be located at distal region of long arm of chromosome 6.

2. Light control of shoot regeneration in calli derived from immature embryos of barley

Callus growth and shoot regeneration in immature embryos of barley was examined under various combination of a 12-h photoperiod and continuous darkness. Incubation in darkness during callus induction enhanced shoot regeneration in Kanto nijo-5 and K-3. Kanto nijo-5 and K-3 incubated in darkness during the first two weeks of the callus induction followed by two weeks of a 12-h photoperiod had higher shoot regeneration ability than those incubated in an 12-h photoperiod followed by two weeks of darkness. Sensitivity to light condition may be higher in the early stage of callus induction. The effects of light quality were examined in Kanto Nijo-5 and K-3. Immature embryos were cultured under fluorescent, red, far-red and blue light. Percentages of shoot regeneration were low in cultures under fluorescent and blue light, but high in cultures under red and far-red light. This suggests that blue light signals concern with light inhibition of shoot regeneration.

3. Analysis of PR5 receptor-like S/T protein kinase (*PR5RK*) gene related to abscisic acid (ABA) signal transduction

ABA controls seed dormancy, germination and the responses to some stresses such as cold, drought and high salt in a plant. To identify new genes or enhancers for hormonal response in Arabidopsis, we screened green fluorescent protein (GFP) reporter gene enhancer trap lines by monitoring GFP expression changes after hormone treatments and obtained six lines. A *PR5RK* gene was cloned as a target gene out of them. The knockout mutant of *PR5RK* exhibited ABA insensitivity, suggesting that *PR5RK* was a positive regulator of ABA signal transduction. We are investigating the mechanism of the *PR5RK* gene expression responsive to ABA signal.

当グループでは、昆虫の行動学的、生理学的、生化学的機能を解析するとともに、それらに関係する遺伝子を特定し、その発現様式を明らかにすることで、資源植物の保護への有効利用を目指している。

1. オオタバコガの低温耐性

オオタバコガは多くの作物に食害を起し、その被害が大きな問題となっている。本虫の分布可能域を推定するために、20℃から0℃まで低温順化した休眠蛹と非休眠蛹の耐寒性と糖含量を調べた。その結果、過冷却点は両蛹とも-17℃前後であった。しかし、休眠蛹では半数以上が0℃で110日以上生存し、非休眠蛹は30日以内に殆どが死亡した。低温順化した休眠蛹でグリセロールは検出されなかったが、低温順化中に体内のトレハロースの蓄積がみられた。これらの結果、非休眠蛹は越冬できないが、休眠蛹は冬季の平均気温が0℃以上の地域で越冬可能と推定された。さらに、トレハロースの蓄積が本虫の0℃での耐寒性を高めていると推定された。

2. オオタバコガの休眠に関する研究

オオタバコガの休眠は幼虫時の温度と日長により影響を受けることをすでに明らかにした。しかし、野外個体群の中には20℃、短日条件で飼育しても休眠しない個体が見られた。これらの個体が20℃よりも低い温度で休眠するかを明らかにする目的で、20℃、短日で休眠しない個体を選抜し、15℃での休眠を調べた。その結果、15℃で飼育すると日長と無関係に休眠することが明らかとなった。さらに、休眠を誘起する温度感受期を調べた。温度感受期は幼虫5齢の後半（摂食を止めてから蛹化まで）と蛹期であった。休眠を誘起する温度感受期は日長感受期と異なっていることが明らかとなった。

3. コナガの昆虫成育制御剤抵抗性に関与するグルタチオン-S-トランスフェラーゼ遺伝子の解析

グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) と昆虫成育制御剤 (クロルフルアズロン) との関連性をコナガの非選抜 (NS) 系統とクロルフルアズロン抵抗性 (CFR) 系統を用いて解析した。その結果、CFR系統ではGST遺伝子の発現およびGST活性がNS系統に比べて高まっていることが明らかとなった。このことは、GSTはコナガのクロルフルアズロン抵抗性に関与していることを示唆している。サザン解析および塩基配列決定の結果、CFR系統における高いGSTの発現は遺伝子の転写活性の増大によって生じていることが明らかとなった。

4. 果実吸蛾類に対する忌避剤の開発

果実吸蛾類はモモやナシといった果実の収穫直前に吸汁することから、その被害は収量に大きく影響する。その被害を軽減するための忌避剤の開発を引き続き行っている。

In this laboratory, the behavioral, physiological and biochemical functions of insects and related genes are being studied to develop new techniques for insect pest control.

1. Cold hardiness of *Helicoverpa armigera*

The cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* is a major pest to many crops. To identify the overwintering regions in Japan, we have been studying the cold hardiness and sugar content in diapausing and non-diapausing pupae acclimatized from 20℃ to 0℃. Supercooling points of acclimatized diapausing and non-diapausing pupae were around -17℃. However, 50% acclimatized diapausing pupae survived for more than 110 days at 0℃ and almost all non-diapausing pupae died within 30 days. Even though polyols such as glycerol were not detected in diapausing pupae, the trehalose content increased significantly in the pupae during acclimation. These results show that diapausing pupae can overwinter in regions where average winter temperatures are higher than 0℃.

2. Diapause of *Helicoverpa armigera*

Helicoverpa armigera exhibits a facultative pupal diapause, which depends on temperature and photoperiod during the larval stage. However, some pupae in the field populations do not enter diapause even though they are reared at 20℃ under a short photoperiod. To elucidate whether they enter diapause at temperatures lower than 20℃, non-diapausing groups were selected at the above conditions. When the groups were reared at 15℃, they entered diapause irrespective of photoperiod. Furthermore, sensitive stages for thermal determination of pupal diapause were determined. The sensitive stages were late fifth larval instar (from gut purge to pupation) and pupae. The thermal sensitive stages were different from photosensitive stages for pupal diapause.

3. Studies on glutathione S-transferase gene involved in chlorfluazuron resistance of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L.

We have been studying the relationship between glutathione S-transferase (GST) and chlorfluazuron resistance using non-selected (NS) and chlorfluazuron-resistant (CFR) strains of the diamondback moth (DBM), *Plutella xylostella* L. The CFR strain exhibited higher GST gene expression and GST activity than the NS strain. These results suggest that GST is involved in detoxification of chlorfluazuron in DBM. Southern blot and nucleotide sequencing analyses showed that the higher GST-3 expression in the CFR strain results from enhanced gene transcription.

4. Development of repellent to fruit-piercing moths

Since fruit-piercing moths suck out the juice from only ripening fruits, they are serious pests in orchard culture. Studies are being conducted to develop effective repellents.

本グループは、環境における化学物質の運命と生物に及ぼす影響を評価・解析し、生態環境保全を図ることによって、資源生物の健全な生育を図り人類の福祉と資源生物科学の発展に寄与することを目的とする。

1. 生態系における有害化学物質の運命と生態影響評価に関する研究

人間の諸活動は拡大の一途をたどり、今日では地球規模にまで及んでいる。特に一般有害化学物質、持続性有機汚染物質、環境ホルモンと呼ばれる内分泌攪乱化学物質による環境汚染は生態系に重要な影響を及ぼすと懸念されている。

化学物質（農薬、重金属、界面活性剤、栄養塩、その他種々の民生用、産業用途の化学物質）は環境中に放出または漏出後水路、河川、湖沼そして最終的には海洋に達する。本グループは、これらの化学物質の生態系における運命と生態影響の評価・解析に関する研究を行う。

水・土壌系における化学物質は水、浮遊物質、堆積物、土壌、微生物、高等動植物の間を吸・脱着、吸収、排泄、光・生分解等、様々な物理・化学・生物学的プロセスを経て、環境構成要素に再分布する。この特性は環境条件としてpH、酸化還元電位、溶解性、極性、W/O分配係数、光・紫外線強度、微生物量等によって支配される。これらのことを考慮して、産業廃棄物処分場や農地からの化学物質の流出特性を解析した。

化学物質の生態毒性評価は細菌、酵母、植物プランクトン、ミジンコ、高等植物を試験生物として、成長阻害、増殖阻害、死亡率など様々なエンドポイントを指標とするバイオアッセイを行っている。植物に対しては光合成能力、クロロフィル含有量などを指標として総合的な生態毒性評価を行っている。近年特に問題となっている人工エストロゲンと植物性エストロゲンの相互作用に関する研究を行っている。植物エストロゲンとの比較によって、人工エストロゲンの摂取許容量の算定を試みている。

有害化学物質の毒性評価を行う場合、複数の化学物質が同時に作用する相互作用は重要な課題である。当研究グループでは重金属、農薬、内分泌攪乱化学物質の相互作用について検討し、定量的な解析を行い、化学物質の組み合わせや作用メカニズムの相違によって、相乗、相加、拮抗作用が現れることが分かった。

2. 産業廃棄物処分場の安全性の総合評価に関する研究

本研究は2003年の21世紀COEの分担研究課題である。産業廃棄物処分場からの浸出水中に含まれる有害化学物質による環境汚染は生態影響だけでなく、人の健康影響の問題でもある。ここでは浸出水の化学的特性、化学物質の生態系における運命と生態毒性評価、リスク評価・管理の研究を行っている。

3. 化学物質のハイスループット毒性評価法の開発研究

有害化学物質によって汚染された環境水の包括的な毒性評価を短時間で、大量に行うためのハイスループットによるバイオアッセイの開発研究を行っている。これは化学ストレスによって細胞内に発生する活性酸素種の検出を指標とする新しいツールである。

Our research group aims to contribute to the welfare and health of humankind and the development of the science in bioresources through the evaluation and analysis of the fate and biological effects of chemicals in the environment and the preservation of bioresources.

1. Study on the fate and ecotoxicity evaluation of hazardous chemicals in ecosystems

Environmental pollution, especially that by general hazardous chemicals, persistent organic pollutants and endocrine disrupting chemicals are apprehended to have serious effects on the ecosystems. Chemicals such as agricultural chemicals, heavy metals, surface-active substances, and other chemicals used by consumers and industries are released into the environment and finally reach the sea through water channels, rivers and lakes. Our research group is investigating the fates and ecotoxicity of these chemicals. These chemicals in water and soil spheres are redistributed to water, suspended matters, sediments, soils, micro-organisms and higher fauna and flora via adsorption-desorption, intake-excretion, photo- and bio-degradation and various physical, chemical and biological processes. These are controlled by pH, redox potential, solubility, w/o distribution factor, light/UV intensity, biomass of microbes and others. Considering these factors, we are investigating the fates and ecotoxicity of chemicals from agricultural lands and industrial waste-disposal sites. The integrated ecotoxicity of chemicals is evaluated by bioassays using bacteria, yeast, phytoplankton, daphnia and higher plants. Growth inhibition, mortality, photosynthetic activity, chlorophyll contents etc. are evaluated as endpoints. We are evaluating the allowable intake of artificial estrogens which is a recent controversial problem by comparing the intensities of estrogenicity of artificial and phyto-estrogens. For evaluation of the ecotoxicity of chemicals, we investigated the interaction of heavy metals, agricultural chemicals and endocrine chemicals quantitatively and found that synergistic, additive and antagonistic interaction modes vary with the combination and reaction mechanisms of chemicals.

2. Integrated evaluation of the safety of industrial waste-disposal site.

Chemical characteristics of leachates, the fates and ecotoxicity, risk assessment and risk management at the industrial waste-disposal sites are under investigation.

3. Development Research on Toxicity Evaluation of hazardous Chemicals by High-throughput Method

We conduct research on developing high-throughput methods of bioassays for comprehensive toxicity evaluation of hazardous chemicals released to environments. This is a new tool for detecting active oxygen generated in cells by chemical stress.

当研究分野では、植物ウイルス (*Benyvirus*、ランエそ斑紋ウイルス) および菌類ウイルスを主要研究材料として用い、ウイルスと宿主およびウイルスと媒介者との相互関係を分子、細胞レベルで解析している。

1. *Benyvirus*の病原性・抵抗性の分子機構

Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) の54K ORF領域を導入した植物は高頻度でRNAサイレンシングを誘導することをはじめて明らかにした。形質転換植物は、高度抵抗性と回復性の2つの表現型を示し、前者はトランスジーンによるRNAサイレンシング、後者はウイルス感染によって誘導されるRNAサイレンシングと結論された。葉と根におけるトランスジーンmRNAの蓄積量、短鎖RNA、DNAのメチル化などの解析結果から、葉と根ではサイレンシングの活性が異なり、葉と比べて根ではウイルスの抵抗性が低いことを証明した。

2. ランエそ斑紋ウイルス (OFV) の構造タンパク質とその核移行

OFVは感染細胞の核内にViroplasmを形成するユニークなRNAウイルスである。Viroplasmにはウイルスタンパク質の存在が確認されたことから、この領域がウイルス複製や粒子形成の場であると推定された。ウイルス構造タンパク質の細胞内局在様式、特に核移行性に注目して調べたところ、26Kが強い核局在性を示すことが判明した。49Kは、本来細胞全体に分布しているが、26K存在下では核への局在化が認められた。49Kおよび26Kはウイルスの主構成タンパク質であることから、26Kの核移行能が、ゲノムの核輸送に貢献しているものと推定された。

3. 新規なHypovirusのゲノム構造の解析

様々なウイルスがクリ桐枯病菌に感染し、病原性の低下 (ハイポウイルス) をはじめ各種の病徴を引き起こす。本年は、非常に高いハイポウイルスを引き起こすウイルス、MYRV1-Cp9B21の性格付けを行った。2重殻構造の精製粒子は感染性を有する。ゲノムは11本の分節型dsRNA (S1-S11) からなり、それぞれのセグメントの+鎖は5'末端にキャップ構造、末端共通配列5' GAUCA—GCAGUCA3'、単一のORFという基本構造を持っている。これらの結果から、本ウイルスをタイプ種とする属の新設を国際ウイルス分類委員会に提案し、承認された。今後、ゲノム・翻訳産物の対応関係を明らかにし、最終的には逆遺伝学の確立を目指す。

1. Pathogenicity of *Benyvirus*

We found that transgenic *Nicotiana benthamiana* plants transformed with the 54-kDa read through domain open reading frame of *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) display highly resistant and recovery phenotypes at high frequency. The highly resistant plants are immune to foliar rub-inoculation with BNYVV. Molecular analyses revealed that resistance in highly resistant plants is mediated by transgene-induced RNA silencing and that recovery is mediated by virus infection-induced silencing of the transgene. We compared the differences between the RNA degradation in leaves and that in roots using these transgenic and nontransgenic plants. The results show that the RNA silencing-mediated resistance is less effective in roots than in leaves.

2. Nuclear import of Orchid fleck virus (OFV)

Orchid cells infected with OFV induces an intranuclear electron-lucent viroplasm. We found that intranuclear viroplasms result from the accumulation of OFV structural proteins and may be the site of virion assembly. Of the three structural proteins of OFV tested for subcellular studies, only the 26K protein is capable of nuclear import. Coexpression of 49K and 26K proteins drastically affects their localization patterns relative to the expression of individual proteins and result in a shift of both proteins to a subnuclear region. Because 49K and 26K proteins are probably essential components of the viral ribonucleoprotein (RNP), translocation of the signal-containing 26K protein may play a key role in nuclear import of the OFV RNP.

3. Genome organization of a novel *Hypovirus*

We report here the identification of a *reovirus*, termed MYRV1, from a morphologically distinct hypovirulent isolate (9B21) of *Cryphonectria parasitica*, which is the filamentous fungus that causes chestnut blight disease. Virus particles purified from infected mycelium of this isolate contain 11 segments of dsRNA and show physical characteristics typical of the family *Reoviridae*. Introduction of purified particle preparations into protoplasts made from virus-free isolates of the fungus resulted in newly infected mycelium with the same morphological characteristics as the original virus-infected isolate. Sequence analysis revealed that all the segments of CpMYRV1 have single large ORFs on their plus-strands and the conserved terminal sequences, 5' GAUCA—GCAGUCA-3'. MYRV1 was also shown to be closely related to mammal-pathogenic *coltiviruses* within the family. The proposal we made to International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) has been approved. "*Mycoreovirus*" is a new genus within the family *Reoviridae* and accommodates MYRV1 as its type member.

微生物は動物、植物と共に生態系の重要な一員であり、分解者として物質循環に貢献している。原核微生物として細菌、ラン藻が、真核微生物として酵母、かび、きのこが含まれ、環境適応能の高さから、高等生物では期待できないような機能や応用が考えられ、モデル細胞として細胞機能解析に用いられる。

微生物機能開発グループでは、様々な微生物機能を細胞・酵素・遺伝子レベルで解析して、生物の環境適応・進化機構を解明するとともに、細胞・酵素を用いた有用物質の開発と応用、遺伝子改変による酵素機能の改良などを通じて、直接あるいは間接的に環境改善に貢献することを目指している。

1. 合成高分子、芳香族化合物の微生物分解

ポリエチレングリコール (PEG) 分解に関わる PEG 脱水素酵素 (PEGDH) の相同性に基づいたモデリングを行い、変異酵素を作成して活性部位や反応機構を解析した。また、PEGDH を含むオペロンの転写開始点を決定し、オペロン上下流の塩基配列を解析するとともに、遺伝子制御の解析を進めている。さらにポリプロピレングリコールやポリビニルアルコール、PCB やナフタレンなどの芳香族化合物の分解に関わる酵素遺伝子のクローニングと解析を進めている。

2. アルミニウム (Al) 耐性菌の応用と機能解明

茶畑から分離した Al 耐性菌 (*Penicillium janthinellum* F-13) の土壌改善効果を調べ、土木工事により出現する酸性切り土面の植生回復促進効果や酸性土壌における小麦発芽促進効果があることを確認した。また、UV 変異耐性株 (*P. chrysogenum* IFO4626) から得た Al 耐性遺伝子候補を *Arabidopsis thaliana* に導入して、耐性の付与を調べている。他方、赤色酵母 *Rhodotorula glutinis* で発見した、通常金属耐性とは全く異なるタンパク質の発現、ならびに遺伝的な耐性獲得機構の解析を進めている。耐性菌では Mg 取込みとミトコンドリア活性が著しく上昇した。また、ディファレンシャルディスプレイ法で耐性に関わる遺伝子群を検出し、それらを解析した。

3. バイオサーファクタント (BS) の開発と応用

原油資化性及び乳化性を示す海洋細菌 *Myroides* sp. SM-1 が、マリンプロス中に生産する BS 成分の解析を行った。ヘキサデカン乳化能を指標として精製した物質は NMR 解析で胆汁酸であることが判明した。胆汁酸としてはコール酸、デオキシコール酸とそれらのグリシン抱合体が含まれ、コレステロールより合成されることを示した。原核生物のコレステロールの合成はミコバクテリウム以外では知られていない。また、胆汁酸の合成は原核生物では初めての報告である。しかし、これらは原油乳化能を示さないため、原油乳化成分を調べ、物質を精製して構造を解析した。また、市販栄養培地で別の原油乳化性 BS が生産されることを見出したため、この物質の精製を行った。

4. 土壌中の微生物細胞検出法の開発

土壌中では多くの微生物が有害物質を分解できる。土壌中の微生物細胞の生理状態を評価するため、レーザスキャニングサイトメトリ (LSC) を用いたモニタリング方法を開発した。この測定機器はフローとイメージサイトメトリの両者を解析することができる。微生物細胞と土壌粒子の蛍光を区別するため、GFP を発現する大腸菌と土壌粒子の蛍光を測定した。蛍光強度、輝度、色調などのパラメータを測定した後、GFP 発現大腸菌と土壌粒子、ならびに鉱物粒子と蛍光プローブで標識した大腸菌を比較した。その結果、蛍光特性を基にして、いくつかのパラメータを最適化すれば、土壌中の微生物細胞が LSC で選択的に計測可能であることを見出した。

Microorganisms are important members as degraders as plants are as producers and animals are as consumers in the natural ecosystem. Prokaryotic microorganisms include bacteria and cyanobacteria and eucaryotic microorganisms include yeasts, molds and mushrooms. They have far higher abilities to adapt to environmental stresses than plants and animals, which can be applied to agricultural, environmental and industrial purposes. The aim of our group is to improve the environment, directly or indirectly, through the studies on genetic and biochemical control, adaptation to environmental stress and genetic evolution of microorganisms.

1. Microbial degradation of polymers and aromatic compounds

Based on the homology modeling of polyethylene glycol dehydrogenase (PEGDH) that involved in PEG degradation, we produced mutant enzymes and analyzed the active sites of the enzyme and its reaction mechanism using the mutant enzymes. The transcription starting site of PEG operon was determined and the regulation of the operon was analyzed. We have performed cloning and analysis of degradation genes for polypropylene glycol, polyvinyl alcohol (PVA), aromatic compounds such as PCB and naphthalene.

2. Analysis of Al-resistant microbes and their application

The Al-hyper-resistant *Penicillium janthinellum* F-13 was found to improve the growth of grass and wheat on acidic soil, when inoculated together with plants. Al-resistant gene isolated from Al-tolerant mutant derived from *Penicillium chrysogenum* IFO4626 was introduced into *Arabidopsis thaliana* to confer Al-resistance to it. Inheritable and epigenetic Al-resistance newly found with *Rhodotorula glutinis* IFO1125 was analyzed and elevated Mg-uptake and mitochondria activities were detected. Differential display indicated that expression of the genes in wild- and resistant-types were markedly different and the genes expressed or depressed more than the wild-type were identified and classified into several groups.

3. Production of unique biosurfactants and their application

Myroides sp. SM-1 isolated from seawater produced biosurfactants (BSs) in marine broth. One of them was purified, based on its emulsification of n-hexadecane. Surprisingly, these compounds were completely in accordance with bile acids (cholic acid, deoxycholic acid and their glycine conjugates) by NMR and TLC analyses. Cholic acid, a primary bile acid, was produced from cholesterol, as indicated in mammals. Production of cholesterol by prokaryotes has not been reported except mycobacteria and that of bile acids by them is a new biochemical finding. These compounds did not emulsify for crude oil. Other BSs were purified based on emulsification for crude oil. These compounds were suggested to be a lipopeptide and their chemical structure is under analysis.

4. Development of a method for detecting bacterial cells in soil

Many microorganisms can degrade hazardous materials in soil. To assess the physiological status of bacterial cells in soil, we developed a monitoring method using Laser Scanning Cytometry (LSC). This instrument combines the analytical capabilities of flow and image cytometry. To distinguish between fluorescence of bacterial cells and soil particles, we measured the fluorescence of *Escherichia coli* expressing green fluorescent protein (GFP) and that of soil particles. After measuring several parameters like fluorescence intensity, brightness, texture etc., the data from GFP expressing *E. coli* were compared with the fluorescence of soil particles and mineral grains. Based on these fluorescence properties, bacterial cells in soil sample were selectively estimated by LSC.

本研究グループでは、資源植物を取り巻く気象環境要因の解析と環境要因に対する植物の反応を、細胞、器官、個体、群落、生態系の各種レベルで研究している。

1. 気象要因に対する植物の応答反応の研究

この数年間、乾燥土壌条件下における紅芒麦を栽培して、紅芒麦の乾燥ストレス耐性を解析してきた。新たにシードバック栽培法を採用し、種々の濃度のポリエチレングリコール水溶液で、紅芒麦とシラサギコムギを栽培し、異なる水ポテンシャル条件下における紅芒麦とシラサギコムギの生育特性、種子の吸水特性を解析した。低水ポテンシャル条件下では、紅芒麦の方がシラサギコムギよりも良く生育し、吸水能力も高いことが明らかになってきた。また、イネ科の植物の稈や、植物の実の空隙中の炭酸ガスなどの気体成分の濃度や成分の経時変化の特性を研究している。

2. 生態系の保護、保全に関する研究

特異なカルスト地形である羅生門ドリーネ、下帝釈峡や毛無山ブナ林、三次盆地などで気象観測を行ってきた。得られた膨大な観測資料を整理し、それぞれの生態系における気象環境の特性を解析すると共に、生態系の保護・保全に関する研究を進めている。

3. 作物の湿害に関する研究

オオムギの水感受性と酸素濃度の関係について研究をおこなった。低酸素濃度下での発芽は水感受性と関連が大きかった。また、低酸素濃度下でのジベレリンによる発芽促進およびアブシジン酸の抑制効果には、品種により違いが見られた。

4. 生物季節への地球温暖化の影響に関する研究

中国四国地域のイロハモミジの紅葉期はここ10年で数日間遅れていることが明らかになった。また、紅葉時期と紅葉期直前の最低気温には、回帰関係が認められた。倉敷地域20箇所での観測により、紅葉時期の予測式が求められた。

5. 瀬戸内地域の酸性雨に関する研究

香川大学の共同研究者と20数年間に及ぶ酸性雨の観測を実施している。香川で降る雨の65%倉敷で降る雨の95%が酸性雨であり、瀬戸内地域での降雨の酸性化が著しいことが明らかになった。また、昼間の降水の酸性度と空中水分の酸性度には有意な相関が認められた。

The ecophysiological interactions between plant and meteorological environment under various conditions are studied at each level from ecosystem, vegetation, individual leaves to plant cells.

1. Studies on plant response to meteorological stresses

The drought resistance under different water potential was compared by growing *Hongmaimai* and *Shirasagikomugi* in PEG solutions of different concentration, with seed pack growth pouches. The results clarified that under low water potential conditions, *Hongmaimai* grows faster than *Shirasagikomugi* and has higher water absorption ability. The concentrations of gases such as CO₂ and O₂ inside culms or pods of plants are experimentally studied.

2. Studies on protection and preservation of ecosystem.

We have made some meteorological observations in Rasyomon doline, Shimotaisyaku valley, Miyoshi basin and a beech forest of Mt. Kenashi. Now we are analyzing the many observational data to protect and preserve each ecosystem or wild plants,.

3. Studies on flooding damage of crop.

Water sensitivity of barley seeds are highly correlated to germination under low oxygen content. Stimulation of germination by GA under low oxygen content and suppression by ABA shows different response among varieties.

4. Effect of climate change on phenology.

Coloring date of Japanese maple (*Acer palmatum* Thunb. Subsp. *Palmatum*) delayed for several days in these decade in Chugoku-Shikoku area. There is a good correlation between coloring date and minimum temperature before coloring date. We made a quotation to estimate a coloring date using data corrected at Kurashiki district.

5. Observation of acid rain in Setouti district.

We are continuing a observations of acid rain for 20 years with co-researchers at Kagawa University. Acidification of rain water is serious. Sixty five percentage and 95% of rainfall is so called acid rain in Kagawa and Kurashiki respectively. Acidity of rain water and acidity of air moisture in day time is positively correlated

当研究グループでは大腸菌、かび臭物質産生ラン藻(糸状体)、酵母、高等植物を対象として、生命環境での様々なストレスに対する応答反応や適応機構を解明している。

1. かび臭物質を産生する糸状体ラン藻における重金属耐性機構に関する研究

かび臭物質を産生する糸状体ラン藻 *Oscillatoria brevis* のゲノムDNAから単離した、重金属イオン輸送体 CPx-ATPase に関わる新規遺伝子 (*bxa1*)、重金属結合タンパク質メタロチオネイン (MT) をコードする遺伝子 (*bmtA*) 及び SmtB/ArsR ファミリーに属する金属制御因子 (リプレッサータンパク質) をコードする新規遺伝子 (*bxmR*) の特性解析を行った。その結果、BxmR は *bxa1*, *bmtA* 及び *bxmR* 自身の発現を制御することが判明した。また *O. brevis* は 1 価 (Cu, Ag) 及び 2 価 (Zn, Cd) の両種の重金属イオンによって発現制御される上記 3 種の遺伝子をもつ初めてのバクテリアであることが判明した。さらに次の 2 つの重要なことが示唆された。1) *bxmR* の発現は *bmtA* の発現と完全に同様な傾向を示した。さらに EMSA (ゲルシフトアッセイ法) の実験により、リプレッサー BxmR は *bmtA* と *bxmR* の operator/promoter 領域の同じサイトに結合することが示された。従ってこのサイトはこれら 2 つの遺伝子の同時転写制御に関わると考えられる。2) 金属に依存する輸送体 Bxa1 の発現が、*O. brevis* の金属毒性に対する最初の防御機構として働き、メタロチオネイン BmtA の発現はゆっくりとした 2 番目の防御システムとして機能することが示唆された。

2. 植物のアルミニウム (Al) ストレスに関する分子遺伝学的解析

新規の Al 耐性株 (#355-2 株) を *Arabidopsis* の enhancer tagging lines から得たが、この株では tag の挿入により F9E10.5 遺伝子と F9E10.6 遺伝子の発現量が増加していた。そこで、両者のどちらが Al 耐性に寄与するかを検討した。その結果、F9E10.5 遺伝子が Al 耐性に関与していた。また、#355-2 株は短根毛を有するが、野生株に比べて根毛からの Al 吸収が著しく抑制されていた。このため、この部分での酸化ストレスによるダメージも少ない。根毛は根端部同様に Al 毒性のターゲットであろう。

新たな Al ストレス耐性機構や耐性遺伝子を得るために Al 耐性野生植物のスクリーニング (56 種) を行った。その結果、ススキやメリケンカルカヤなど強靱な植物が得られた。現在、これらの耐性機構の生理学的解析や耐性遺伝子のスクリーニングを開始した。

Al ストレス誘導機構に関しては、Al 誘導性 *AtGSTII* 遺伝子のプロモーター領域に結合する転写調節因子をコードする遺伝子の単離を行っている。

Our group has been investigating the mechanisms of adaptation to bioenvironmental stresses, using *E. coli*, filamentous musty-odor producing cyanobacteria, yeast and higher plants.

1. Studies on the mechanism of heavy-metal tolerance in the filamentous musty-odor producing the cyanobacterium *Oscillatoria brevis*

A novel gene (*bxa1*) related to heavy-metal transporter (CPx-ATPase), a gene (*bmtA*) encoding heavy metal-binding protein (metallothionein, MT) and a novel SmtB/ArsR family metalloregulator gene (*bxmR*) from the filamentous musty-odor producing cyanobacterium *Oscillatoria brevis* were characterized. BxmR was revealed to repress the expression of *bxa1* and *bmtA* as well as *bxmR*. De-repression of the expression of all three genes is mediated by both monovalent (Cu, Ag) and divalent (Zn, Cd) heavy metal ions. Further experiments revealed two important points. 1) The expression kinetics of *bxmR* completely parallel that of *bmtA*. Electrophoretic Mobility Shift Analysis showed that *bxmR* and *bmtA* share the same protein-binding site. Therefore this site is likely responsible for the co-transcriptional regulation of these two genes. 2) The metal-mediated de-repression of the transporter might function as the first acute phase of defense against metal toxicity in *O. brevis*. The metallothionein BmtA is suggested to function as a slowly secondary system protecting *O. brevis* from metal toxicity.

2. Molecular genetic characterization of Al stress in plant

An Al-resistant line (#355-2) was isolated from a pool of *Arabidopsis* activation enhancer tagging lines. The gene expression of F9E10.5 and F9E10.6 was higher in #355-2 line than in a wild-type parental line. Our Al sensitivity test suggested that F9E10.5 gene can slightly ameliorate Al toxicity in this line. #355-2 line showed short root hairs and lower Al ions were accumulated in root hair region of this line than that of wild-type line. The root hair region as well as root tips region may be the site of attack by the Al ion in *Arabidopsis*.

To find a new mechanism and/or genes for Al resistance, we performed Al sensitivity tests for wild weed plants (56 plants) and could isolated several candidates including *Miscanthus* and *Andropogon* as Al super resistant plants. Further physiological analyses, and an isolation of the Al super resistant genes have started.

To characterize the Al-stress induced gene, *AtGSTII*, we have started isolation of the gene encoding transcription factor, which is related to the gene-expression of the *AtGSTII* in Al stress.

A. 大麦グループ

大麦グループでは、実験系等を含む栽培オオムギ約10,000系統と野生オオムギ約300系統を保有し、(1)種子の増殖、遺伝的多様性の評価、特性データのデータベース化、種子配布等の系統保存事業、(2)ゲノム解析の諸手法を使ったオオムギ遺伝資源の機能開発に関する研究に取り組んでいる。

1. オオムギ遺伝資源の評価

(a) 赤かび病抵抗性のQTL解析

オオムギ赤かび病抵抗性の異なる交配親間の3つの雑種集団を用いて、複数年次に渡って抵抗性を評価し、検出したQTLを比較した結果、抵抗性のQTLが計7つ検出され、且つそれらの効果は環境要因により変動することが明らかとなった。

(b) 休眠性のQTL解析

穂発芽性の育種的な対応の一つとしての利用が期待されるオオムギの休眠性の遺伝解析を目的とし、2つの組換え型自殖系統および2つの倍加半数体系統を用いてQTL解析を行い、各々のQTLの位置および効果を比較した結果、何れの集団においても5HL染色体上に効果の大きなQTLを見出した。現在、より詳細な座乗位置を明らかにする目的で、マーカー数を増やして座乗位置の比較を行っている。

(c) 渦性オオムギの系統解析

オオムギのuzu遺伝子は、東アジアに特異的に分布する半矮性遺伝子であり、これまでに*HvBRI1*の1つのアミノ酸置換によって引き起こされるブラシノステロイド非感受性変異体であることを報告した。今年度は、260系統以上の在来渦系統を用いて系統解析を実施した結果、渦遺伝子は1度の変異が自然交配によって東アジアに広がったことが示唆された。

2. オオムギ遺伝資源の分譲・配布

従来より継続して担当しているオオムギ種子の分譲・配布に加えて、平成14年度よりナショナルバイオリソースプロジェクトによるcDNA、BACライブラリーの配布事業も担っている。

(a) cDNAクローンの配布

独自に開発したオオムギESTへの国内外からのリクエストに対しての分譲業務を実施している。

(b) BACクローンおよびライブラリーの分譲

独自に作製した国産の醸造用オオムギ品種「はるな二条」を材料に作製したBACライブラリーの各クローン、選抜用プールDNA・高密度フィルターおよびライブラリーの全クローンセットについて、国内外の研究者のリクエストに応じて分譲した。

3. オオムギのゲノム解析

戦略的創造研究推進事業(CREST)「植物の機能と制御」領域「オオムギゲノム機能の開発と制御」では、岡山大学資源生物科学研究所附属大麦・野生植物資源研究センターに保存されているオオムギ遺伝資源を用いてオオムギの遺伝子情報を包括的に解析し、世界のオオムギ

A. Group of barley

We have preserved ca. 10,000 accessions of cultivated barley including experimental lines and ca. 300 accessions of wild relatives. The subjects of our research are 1) collection and preservation of barley germplasm including evaluation of genetic diversity and characteristics in the germplasm, construction of the barley germplasm database and worldwide sample distribution and 2) generation of the resources for genome analysis including EST, molecular markers and DNA libraries to study the genome-based barley diversity and the genetic analysis of significant traits in barley.

1. Evaluation of barley germplasm

(a) QTL analysis for Fusarium Head Blight (FHB) resistance

We validated the resistance to FHB using several segregating populations that represented different levels of resistance, and carried out a QTL analysis. Seven QTLs were detected and the effects of individual loci were found to be affected by environmental factors.

(b) QTL analysis for barley seed dormancy

To access genetic mechanism of barley seed dormancy, which may be associated with preharvest sprouting in small grains including barley, a QTL analysis was performed using two RI populations and two DH populations. Detection of QTLs for the seed dormancy and comparison of the chromosomal position and the effect of individual QTL revealed that one QTL located on 5HL was commonly detected in all the populations. We are attempting to map the QTL with higher resolution.

(c) Phylogenetic analysis of 'uzu' semi-dwarf barley

Using more than 260 'uzu' landraces distributed in East Asia, we carried out dCAPS marker analysis to detect *uzu*-specific mutation of *HvBRI1* found in 'Akashinriki', and discussed the phylogeny of 'uzu' landraces.

2. Collection and distribution of barley genetic resources

In 2004, ca. 1,000 seed samples were distributed on request. In addition to seed distribution, cDNA and BAC library (including individual clones, pooled BAC DNA for screening, high density replica membranes and complete clone set) were distributed with the support of the National BioResource Project (NBRP).

3. Barley genome analysis

With the support of the Japan Science and Technology Agency (JST), we are carrying out a project named "Development and control of genomic function in barley". The project aims to establish an Asian center of barley genome research based on the barley germplasm preserved at the Barley and Wild Plant Research Center, Okayama University.

ゲノム研究におけるアジアのセンターを形成することを目的としている。本年度は、(a) 独自のEST解析により得られた約1万のユニジェーンのうち、約2,000 ESTのオオムギ連鎖地図上へのマッピング、(b) 一粒系コムギの分離集団へオオムギESTをマッピングすることによるオオムギ-コムギの比較ゲノム解析、(c) 独自で作製したcDNAマイクロアレイおよびAffymetrix社のGeneChip® Barley Genome Arrayを用いて、原因遺伝子が明らかにされていない複数の矮性同質遺伝子系統対を材料にした比較発現解析、(d) MALDI-TOF/MSを用いた、醸造過程で特異的に発現するタンパク質群の同定を目的としたプロテオーム解析、等の研究を行っており、種々の知見を得ている。

We have constructed ca. 10,000 barley unigenes using 140,000 EST generated at Okayama Univ.

In 2004, (a) ca. 2,000 EST were genetically localized onto our standard mapping population using SNP typing technology, (b) barley ESTs were mapped onto diploid wheat map for the comparative genome analysis between barley and wheat, (c) transcriptional profiling analysis was performed with several dwarf-isogenic pairs using both cDNA microarray generated in our laboratory and GeneChip® Barley Genome Array (Affimetrix), and (d) proteome analysis was performed for identification of the proteins specifically expressed during malting using MALDI-TOF/MS.

B. 野生植物

1. イネ科植物のC3, C4判定

研究所に保存しているイネ科植物453種、506点のさく葉標本を用いて、炭素安定同位体比を測定し、現在までに発表がなされていない多くの種を含むイネ科植物がC3植物であるかC4植物であるかを判定した。(半場祐子氏との共同研究)

2. アルミニウム耐性植物の探索

研究所に保存している野生植物の種子を用いて、47種類の植物の発芽時のアルミニウム耐性と根の伸張を測定した。その結果イネ科植物の中に耐性の強い種が見つかった。(江崎文一氏との共同研究)

3. 地方植物目録の作成

総社市の植生を5年間調査し、標本作製を行い、総社市植物目録として、近く出版する。

岡山市、御津町、灘崎町の植物を調査し、近く岡山市植物目録として出版する。

4. ミズアオイの保護・保全に関する研究活動

17年間にわたってミズアオイの保護活動が続け、ミズアオイは岡山県条例に基づく保護指定種となった。ミズアオイの調査や生活史に関する一般向け小冊子を出版した。

B. Wild Plant

Preservation of seeds and herbarium of wild plants
(April 13, 2004)

	Herbarium	Seed	Live seed
Family	250	220	198
Species	5,915	4,524	2,920
Accessions	53,642	27,139	12,933

植物の生長過程における細胞の生理機能や植物の有する多様性などを解明するために、生体細胞を構成する物質を、生化学的手法を用いて、分子レベルで解析している。

1. 特殊環境下で生育する野生植物の機能特性

酸性雨は、森林破壊だけではなく鉱山廃鉱、金属建造物、放置された産業廃棄物などから有害重金属を流出させ、土壤環境破壊を引き起こしている。そのため、劣悪環境下でも生育できる植物が要求されてきた。しかし、数種の野生シダ・コケはこのような特異環境下でも生育できることが知られている。そこで、真正シダ目のカニクサ (*Lygodium japonicum*) の胞子を無菌的に発芽させ、その前葉体をムラシゲ-スクーグ基本塩、ショ糖、硫酸銅を含む培地にて90日間培養した。その結果、銅存在下での生育はコントロールの1/2に減少するが、経時的に多量の銅を細胞内に蓄積した。銅の取り込み最大速度は培養20日目で[17 μ mol Cu/g dry wt.]であった。コントロールと銅処理細胞の細胞壁からCDTA、Na₂CO₃、1M KOH、4M KOHにて、マトリックス多糖を順次抽出すると、銅処理細胞のペクチンはコントロールの1/2に、ヘミセルロースは僅かに減少した。またペクチンは陰イオン交換カラムクロマトで4画分に分画され、銅処理細胞では73%以上がウロン酸からなるポリマーの増加がみられた。次にendo-pectate lyaseにて銅蓄積細胞壁を分解した結果、細胞壁中の約66%の銅が可溶化された。以上のことから、カニクサは、生育中に銅を特異的に細胞壁ペクチンのホモガラクトロンに結合・蓄積することによって、銅耐性を示すことが明らかになった。

2. 品種間で発現が異なる遺伝子とタンパク質の構造と機能解析

植物の環境ストレス抵抗性のメカニズムを解明する目的で、塩ストレスに対して感受性を示すオオムギと抵抗性を示すオオムギを材料にして、塩ストレス抵抗性オオムギで特異的にあるいは優位に発現している遺伝子やタンパク質の構造と機能について解明している。塩ストレスは地下に集積されるため植物の塩抵抗性に対する応答反応は主に根で起こることが予想されるため、100mM NaClで12時間処理した塩抵抗性オオムギOUK305根から調製したmRNAを用いてcDNAライブラリー (KR) を構築した。ランダムに選択した6,432個のcDNAを3' と5'の両端から塩基配列を解析してそのESTをphred/phrap法で解析した結果、冗長性のない5,726個のESTを得た。対象としてオオムギBarke根のcDNAライブラリー (HW) を同様に解析しBLAST検索の結果、KRとHWはそれぞれ634個と553個のcontigがオオムギ、イネ、コムギ、トウモロコシのTIGR GOデータベースの遺伝子と相同性を示した。Gene Ontology ConsortiumとMIPSのカテゴリーに基づきESTを分類した結果、KRとHW差を認めることはできなかった。しかし、KRとHWでそれぞれ発現量の多い遺伝子を比較した結果、HWで発現していない遺伝子がKRで高発現していることやこれらの遺伝子は機能がほぼ未同定であることが明らかとなった。

We have been studying the physiological function and diversity of cells during plant growth at the molecular level using biochemical techniques.

1. Mechanism of metal tolerance of wild plants.

The pollution of soil and water with heavy metals is widespread and, therefore, a high level of tolerance to these metals is required to grow plants at these contaminated sites. We have examined the growth of *Lygodium japonicum* prothallium under normal and copper-enriched conditions. Copper led to a reduction in cell growth; the maximum mass of cells grown in the presence of copper was 50% of the control at 90 days. However, the total copper content of the cells cultured on the copper-enriched medium increased linearly from the start of culture for 90 days. The maximum rate of copper uptake into the cells was [17 μ mol copper/g dry wt.]. Cell walls were isolated from both copper-treated and untreated cells, and then extracted sequentially with CDTA, Na₂CO₃, 1M KOH, and 4 MKOH. The amount of pectin solubilized from copper-treated cell walls was 53% of that from the control. When the pectin was fractionated by anion-exchange chromatography into four carbohydrate peaks, considerable increases were observed in acidic pectic polymers from copper-treated cell walls. Approximately 66% of the copper in the cell walls of copper-treated cells was released by the endo-pectate lyase treatment.

2. Structure and function of genes and proteins expressed specifically in plants tolerant to environmental stresses.

We have established the expressed sequence tag (EST) database of the salt-tolerant barley in to define the gene expression profiles and to isolate the tolerance-related genes. The cDNA library was constructed from the mRNAs prepared from the roots of salt-tolerant barley "OUK305" treated with 100mM NaCl for 12 h because the root is the organ of land plants mostly affected by salt stress. Randomly selected 6,432 cDNAs were sequenced from both 3' and 5' ends, the ESTs were assembled by the phred/phrap program, and 5,726 non-redundant ESTs were obtained. The sequence data of the root cDNA library (HW) from the barley "Barke" was assembled by the same program as a control. The BLAST search showed that 634 and 553 contigs from KR and HW, respectively, had significant homology to the genes of the barley, rice, wheat, and maize TIGR GO databases. The ESTs were categorized based on the Gene Ontology Consortium and MIPS assignments, showing no significant difference between the distribution of KR and HW ESTs. However, some genes expressed specifically in KR, whose function has not been identified, were detected by the comparison of abundantly expressed genes between KR and HW.

本グループでは、資源植物における代謝機能の活性化や環境への適応メカニズムを分子から個体レベルで詳しく調べることにより、遺伝資源の新たな機能解析とその利用を目指した研究を行っている。特に、光合成や呼吸などのエネルギー転換に関わる細胞内小器官（オルガネラ）である葉緑体とミトコンドリアに着目し、オルガネラが持つ環境適応機能について解析している。

1. 光適応機能における葉緑体タンパク質の品質管理

葉緑体タンパク質複合体は恒常的に光酸化による傷害を受ける。そのため、光合成などの葉緑体機能を維持するには、傷害を受けたタンパク質の品質管理が非常に重要な意味を持つ。チラコイド膜の光化学系複合体が傷害を受けると、修復サイクルにより分解され新たなタンパク質と置き換わって再構成される。これらによる葉緑体膜タンパク質のクオリティコントロールは、光阻害を回避するためのシステムとして非常に重要であることが、最近の分子遺伝学的研究によりわかってきた。修復サイクルにおける分解を担う膜プロテアーゼの1つとしてFtsHメタロプロテアーゼがある。私たちは、シロイヌナズナにおいて葉に斑入りを生じる突然変異*var1*, *var2*の原因遺伝子を明らかにし、それぞれが別の葉緑体型FtsH (FtsH5とFtsH2) をコードすることを明らかにした。また、我々は植物の葉が斑入りを起こすメカニズムについても興味を持っており、「斑入りは植物が固有に持つ生存戦略の1つである」と考えている。斑入りを起こす遺伝機構とFtsHとの関係を明らかにするための分子遺伝学的研究も進行中である。

2. 花粉の核性に関わるシロイヌナズナ突然変異体の解析

植物は重複受精をするため、花粉には受精までに2個の精細胞ができる。しかし、成熟花粉では1個あるいは2個の雄原細胞を持つ種があり、雄原細胞が1個の場合は柱頭への受粉後に分裂し2個の精細胞が形成される。このような「核性」の違いは近縁種でも異なることがあり、花粉寿命に関係するともいわれるが、詳しいことは不明である。これまでにシロイヌナズナ花粉のスクリーニングにより、雄原細胞が2個で正常な3核性花粉と、雄原細胞が1個で2核性の花粉が1:1に分離する変異体*nikaku*を単離した。遺伝解析の結果より、この変異は雌性配偶子には影響せず、雄性配偶子致死遺伝子であることがわかった。花粉以外の生長段階で、野生型と異なる形質は観察されなかった。2核性花粉は常に1:1の分離を示すことから、*nikaku*では花粉第2分裂(PMII)が特異的に阻害されていると推測された。*nikaku*は3番染色体下腕にマップされ、花粉の核性を支配する遺伝子の1つであると考えており、マップベアスクローニングによる原因遺伝子の単離を進めている。

3. 水チャンネルの二酸化炭素透過に関する研究

細胞膜における水の透過に重要な役割を果たしている水チャンネルは、同時に二酸化炭素をも透過する可能性が示唆されている。しかし、このことを実証する実験結果はほとんど得られていない。我々は水チャンネルを過剰発現させた形質転換イネを用いて、葉内の二酸化炭素に対する透過性が増加するかどうかを検証した。その結果、形質転換体では確かに二酸化炭素に対する透過性が増加し、同時に光合成速度も増加することが示された。さらに形質転換体では葉の形態が乾性形態となっていることが分かり、水チャンネル増加によって必然的に生じる乾燥ストレスに馴化していることが明らかになった。

Our group is studying the metabolic functions and mechanisms of the adaptation of resource plants to severe environments, both at molecular and individual levels. We focus on the chloroplast and mitochondrion - the two organelles that participate in the energy transfer systems of photosynthesis and respiration, respectively.

1. Quality control of membrane proteins in chloroplasts and its relationship to light adaptation

The photosynthetic apparatus is constantly damaged by photooxidation. The quality control of chloroplast proteins, which are rapidly repaired after damaged, is crucial for minimizing this photodamage. This is especially important when reaction center protein D1 in Photosystem II, which is located on thylakoid membranes is photodamaged during photosynthetic electron transfer. FtsH is a membrane-bound ATP-dependent metalloprotease and is involved in this repair cycle. We have recently shown that loss of chloroplastic homologues FtsH2 and FtsH5 in *Arabidopsis* reduces PSII activity upon exposure to high-intensity light and results in leaf-variegated phenotype. Although our observation demonstrates the importance of FtsH in the PSII repair cycle, the mechanism leading to leaf variegation remains unclear. We propose that the formation of variegated sectors is an adaptive response of plants to potentially lethal environmental conditions, and currently we are trying to isolate the regulatory factors by molecular genetic approaches.

2. An *Arabidopsis* mutant deficient in pollen mitosis II

In plants, pollen has two sperm cells to perform double fertilization. Mature pollen grain has a vegetative nucleus together with the two sperm nuclei. However, another type of mature pollen grain contains only one generative nucleus. This difference in the nucleoploidy of mature pollen grains may affect pollen viability. We isolated an *Arabidopsis* mutant that has altered nucleoploidy. This mutant, *nikaku*, segregated normal tri-nuclear pollen grains and abnormal di-nuclear pollen grains at a 1:1. Our genetic analysis showed that the di-nuclear phenotype was inherited only maternally, and the transmission rate was always 1:1. These results suggest that pollen mitosis II is impaired in the mutation. Analysis of DNA content of di-nuclear pollens revealed that the mutation blocked DNA replication, suggesting that *nikaku* may affect pollen mitosis II at an early step.

3. CO₂ transfer enhanced by aquaporin

Although some previous studies suggest that the water channel has a role in CO₂ transport through plasma membrane, there is still little evidence whether CO₂ transport is enhanced by aquaporin in the intact plant. Transgenic rice plants over-expressing aquaporin in plasma membrane showed a higher internal CO₂ conductance and photosynthetic rate, which suggest that aquaporin has a role in CO₂ transport through the plasma membrane. In the transgenic plants, leaf mesophyll anatomy is a dry-type, suggesting that the leaves are acclimated to water stress that is induced by aquaporin. Our group studies the mechanisms of the genetic resources by which plants control the metabolic functions or the adaptation to severe environments, both at molecular and individual levels. We focus on chloroplast and mitochondrion - the two organelles that participate in the energy transfer systems of photosynthesis and respiration, respectively. Being vulnerable to environmental changes like temperature and light intensity, these organelles have developed novel adaptation mechanisms.

出版物リスト (*List of publication*)

核機能分子解析グループ (Group of Nuclear Genomics)

- (1) Shibata, F., Murata, M. 2004. Differential localization of the centromere-specific proteins in the major centromeric satellite of *Arabidopsis thaliana*. *J. Cell Sci.* 117: 2963-2970.
- (2) Ogura, Y., Shibata, F., Sato, H., Murata, M. 2004. Characterization of a CENP-C homolog in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet. Syst.* 79: 139-144
- (3) Nagaki, K., Cheng, Z., Ouyang, S., Talbert, P. B., Kim, M., Jones, K. M., Henikoff, S., Buell, C. R., Jiang, J. 2004. Sequencing of a rice centromere uncovers active genes. *Nature Genet.* 36: 138-145
- (4) Jin, W., Melo, J. R., Nagaki, K., Talbert, P. B., Henikoff, S., Dawe, R. K., Jiang, J. 2004. Maize Centromeres: Organization and functional adaptation in the genetic background of oat. *Plant Cell* 16: 571-581.
- (5) Nagaki, K., Murata, M. 2005. Characterization of CENH3 and centromere-associated DNA sequences in sugarcane. *Chromosome Res.* (In press)
- (6) Tani, A., Murata, M. 2005. Alternative splicing of *POT1*-like genes in *Arabidopsis thaliana*. *Genes and Genet. Syst.* (In press)

作物種子研究グループ (Group of Crop Seed Science)

- (1) Himi, E. and Noda, K. 2004. Isolation and location of three homoeologous dihydroflavonol-4-reductase (*DFR*) genes of wheat and their tissue-dependent expression. *Exp. Bot.* 55: 365-375.
- (2) Himi, E., Nisar, A. and Noda, K. 2005. Color genes (R-1 and Rc-1) for grain and coleoptile upregulated flavonoid biosynthesis genes in wheat. *Genome* in print.
- (3) Yamasaki, Y., Fujimoto, M., Kariya, J. and Konno, H. 2005. Purification and characterization of an α -glucosidase from germinating millet seeds. *Phytochemistry*, in press.

植物ストレス応答分子解析 (Group of Physiology and Molecular Biology of Plant Stress Responses)

- (1) Ahn, S.J., Rengel, Z. and Matsumoto, H. 2004. Aluminum-induced plasma membrane surface potential and H⁺-ATPase activity in near-isogenic wheat lines differing in tolerance to aluminum. *New Phytologist* 162: 71-79.
- (2) Delhaize, E., Ryan, P.R., Hebb, D.M., Yamamoto, Y., Sasaki, T. and Matsumoto, H. 2004. Engineering high level aluminum tolerance in barley with the *ALMT1* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 19: 15249-15254.
- (3) Ezaki, B., Suzuki, M., Motoda, H., Kawamura, M., Nakashima, S. and Matsumoto, H. 2004. Mechanism of gene expression of *Arabidopsis* glutathione S-transferase, *AtGST1* and *AtGST2* in response to Aluminum stress. *Plant Physiol.* 134: 1672-1682.
- (4) Kobayashi, Y., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H. 2004. Studies on the mechanism of aluminum tolerance in pea (*Pisum sativum* L.) using aluminum-tolerant cultivar 'Alaska' and aluminum-sensitive cultivar 'Hyogo'. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50: 197-204
- (5) Ligaba, A., Shen, H., Shibata, K., Yamamoto, Y., Tanakamaru, S. and Matsumoto, H. 2004. The role of phosphorus in aluminium-induced citrate and malate exudation from rape (*Brassica napus* L.). *Physiol. Plant.* 120: 575-584.
- (6) Ligaba, A., Yamaguchi, M., Shen, H., Sasaki, T., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H. 2004. Phosphorus deficiency enhances plasma membrane H⁺-ATPase activity and citrate exudation in greater purple lupin (*Lupinus pilosus*). *Functional Plant Biol.* 31: 1075-1083.
- (7) Nian, H., Yang, Z.M., Huang, H., Yan, X. and Matsumoto, H. 2004. Combined effect of short-term water deficit stress and aluminum toxicity on citrate secretion from soybean roots. *J. Plant Nutr.* 27: 1281-1293.
- (8) Sasaki, T., Yamamoto, Y., Ezaki, B., Katsuhara, M., Ahn, S.J., Ryan, P.R., Delhaize, E. and Matsumoto, H. 2004. A wheat gene encoding an aluminium-activated malate transporter. *Plant J.* 37: 645-653.
- (9) Shen, H., Ligaba, A., Yamaguchi, M., Osawa, H., Shibata, K., Yan, X. and Matsumoto, H. 2004. Effect of K-252a and abscisic acid on the efflux of citrate from soybean roots. *J. Exp. Bot.* 55: 663-671.
- (10) Shen, H., Yan, X., Cai, K. and Matsumoto, H. 2004. Differential Al resistance and citrate secretion in the tap and basal

roots of common bean seedlings. *Physiol. Plant.* 121: 595-603.

- (11) Tabuchi, A., Kikui, S. and Matsumoto, H. 2004. Differential effects of aluminum on osmotic potential and sugar accumulation in the root cells of Al-resistant and Al-sensitive wheat. *Physiol. Plant.* 120: 106-112.
- (12) 山本洋子. 2004. 項目 23, 作物のストレス耐性: 酸性土壌 (アルミニウム). 新編農学大事典 (山崎耕宇・久保祐雄・西尾敏彦・石原 邦 監修). 養賢堂. pp. 819-821. (Yamamoto, Y. 2004. Chapter 23, Stress tolerance in crops: Acid soils (aluminum). *In: Encyclopedia of Agriculture (New version)*, Yamazaki, K., Kubo, H., Nishio, T. and Ishihara, K. (eds). Yokendo. pp. 819-821)
- (13) 山本洋子. (翻訳) 2004. 第5章無機栄養. テイツ・ザイガー植物生理学第3版. (L. Taiz, E. Zeiger 編. 西谷和彦・島崎研一郎 監訳). 培風館. (Yamamoto, Y. 2004. Chapter 5, Mineral nutrition (translation). *In: Plant Physiology 3rd edition*, Taiz, L. and Zeiger, E. (eds), Nishitani, K. and Shimazaki, K. (eds for translation). Baifukan. pp. 65-83)
- (14) 松本英明 (翻訳). Chapter 23, Molecular physiology of mineral nutrient acquisition, transport and utilization by L.V. Kochian. *In Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Buchanan, B.B., Gruissen, W. and Jones, R.L. (eds). American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland 2000. pp.1204-1249. (印刷中).
- (15) 松本英明. Al stress. 植物ゲノム科学事典 (駒嶺 穆ら編). 朝倉書店 (印刷中). (Matsumoto, H. Al stress. *In Dictionary on Plant Genom* (Komamine, A. et al. eds). Asakura Shoten. (in press)
- (16) 松本英明. Al resistance. 植物ゲノム科学事典 (駒嶺 穆ら編). 朝倉書店 (印刷中). (Matsumoto, H. Al resistance. *In Dictionary on Plant Genom* (Komamine, A. et al. eds). Asakura Shoten. (in press)
- (17) Matsumoto, H., Osawa, H. and Ahn, S.J. Aluminium toxicity syndrome and tolerance mechanism of crop plant in acid soil environment. *In Vegetable Growing Environment, Production and Quality*, Ramdane Dris (ed). The Haworth Press, Inc. NY. (in press).
- (18) Nian, H., Yang, Z.M., Huang, H., Yan, X.L. and Matsumoto, H. Citrate secretion induced by aluminum stress may not be the key mechanism responsible for the differential aluminum tolerance of some soybean genotypes. *J. Plant Nutr.* (in press).
- (19) Sivaguru, M., Yamamoto, Y., Rengel, Z., Ahn, S.J. and Matsumoto, H. Early events responsible for aluminium toxicity symptoms in suspension-cultured tobacco cells. *New Phytologist* (in press).

分子生理機能解析グループ (Group of Molecular and Functional Plant Biology)

- (1) 且原真木. 2004. 植物の根に関する諸問題-水透過性の分子機構: 根における水チャネル・アクアポリンの機能- 農業および園芸79:600-605.
(Katsuhara, M. 2004. A molecular mechanisms of water permeability: function of water channel, aquaporin, .in root. *Nogyo to Engei* 79: 600-605.)
- (2) Hanba, Y. T., Shibasaka, M., Hayashi, Y., Hayakawa, T., Kasamo, K., Terashima, I., Katsuhara, M. 2004. Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant Cell Physiology* 45: 521-529.
- (3) 且原真木. 2004. 水の吸収と輸送の分子機構: 水チャネル研究の新展開 根の研究13: 15-20.
(Katsuhara, M. 2004. A molecular mechanisms of water absorption and water transport: recent progress in study on water channel. *Root Research* 13: 15-20.)
- (4) Liu, T., Nakashima, S., Hirose, K., Shibasaka, M., Katsuhara, M., Ezaki, B., Giedroc, D. P., Kasamo, K. 2004. A novel cyanobacterial SmtB/ArsR family repressor regulates the expression of a CPx-ATPase and a metallothionein in response to both Cu(I)/Ag(I) and Zn(II)/Cd(II). *Journal of Biological Chemistry* 279: 17810-17818.
- (5) Sasaki, T., Yamamoto, Y., Ezaki, B., Katsuhara, M., Ju, A. S., Ryan, P., Delhaize, E., Matsumoto, H. 2004. A wheat gene encoding an aluminium-activated malate transporter. *Plant Journal* 37: 645-653.

作物ゲノム育種グループ (Group of Crop Genome Modification)

- (1) Fukuda, A., K. Nemoto, M. Chono, S. Yamaguchi, M. Nakajima, J. Yamagishi, M. Maekawa and I. Yamaguchi (2004): Expression pattern of the coparyl diphosphate synthase gene in developing rice anthers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68: 1814-1816.

環境昆虫機能グループ (Group of Insect Physiology and Molecular Biology)

- (1) Sonoda, S. and Tsumuki, H. 2004. Analysis of RNA-mediated virus resistance by NSs and NSm gene sequences from *Tomato spotted wilt virus*. *Plant Sci.* 166: 771-778.
- (2) Sonoda, S., Maruyama, T., Izumi, Y., Yoshida, H. and Tsumuki, H. 2004. Molecular cloning, nucleotide sequence and gene expression of a transferrin gene from the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae). *Appl. Entomol. Zool.* 39: 463-468.
- (3) 丸山哲也・園田昌司・泉 洋平・吉田英哉・積木久明. 2004. ニカメイガETS転写因子ホモログ遺伝子断片のクローニング、塩基配列決定および発現解析. 応動昆中国支部会報46:1-5.
(Maruyama, T., Sonoda, S., Izumi, Y., Yoshida, H. and Tsumuki, H. 2004. Molecular cloning, nucleotide sequence and gene expression of CsETS, an ETS transcription factor homolog in the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. Chugoku Branch* 46: 1-5.)
- (4) Sonoda, S and Tsumuki, H. 2004. Analysis of gene sequences for the nucleocapsid protein from *Tomato spotted wilt virus* for promoting RNA-mediated cross-protection using the *Potato virus X* vector system. *J. Gen. Plant Pathol.* 70: 239-242.
- (5) Izumi, Y., Anniwaer, K., Yoshida, H., Sonoda, S., Fujisaki, K. and Tsumuki, H. 2005. Comparison of cold hardiness and sugar contents between diapausing and non-diapausing pupae of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Physiol. Entomol.* (in press).
- (6) Izumi, Y., Sonoda, S., Yoshida, H. and Tsumuki, H. Identification of tissues showing the lowest tolerance to freezing in larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Physiol. Entomol.* (in press)
- (7) Kurban, A., Yoshida, H., Izumi, Y., Sonoda, S. and Tsumuki, H. Pupal diapause of *Helicoverpa armigera* : sensitive stage for photoperiodic induction. *Appl. Entomol. Zool.* (in press).
- (8) Sonoda, S., Nishiguchi, M. and Tsumuki, H. Evaluation of virus resistance conferred by the NSs gene sequences from *Tomato spotted wilt virus* in transgenic plants. *Breeding Sci.* 55 (in press).
- (9) Shimono, M., Ino, M., Sonoda, S., Fujimura, T. and Nishiguchi, M. Inverse-correlation between the accumulation of mRNA in GFP silenced transgenic *Nicotiana benthamiana* and the resistance to GFP gene carrying *Potato virus X*. *J. Gen. Plant Pathol.* 71 (in press).

化学ストレス生態応答グループ (Group of Ecological Response to Environmental Stress)

- (1) 朴 明玉、岡村秀雄、青山 勳. 2004. ミジンコ致死試験による農業地帯を流下する河川水の毒性評価. 環境毒性学会誌. 7:23-33.
- (2) 朴 明玉、青山 勳、藤野 実、田中 勝. 2004. 感染性廃棄物の中間処理残渣の安全性評価. 医療廃棄物研究. 17: 1-8.
- (3) 青山 勳. 2004. 医療廃棄物のリスクと管理. 防塵棒叢誌. 32:499-505.
- (4) Izumi C. Mori and Julian I. Schroeder. 2004. Reactive oxygen species activation of plant Ca^{2+} channels. A signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction. *Plant Physiol.* 135:702-708.

植物・微生物相互関係グループ (Group of Plant-Microbe Interactions)

- (1) Suzuki, N., Supyani, S., Maruyama, K., and Hillman, B. I. (2004) Complete genome sequence of Mycoreovirus 1/Cp9B21, a member of a new genus within the family Reoviridae, from the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Journal of General Virology* 85, 3437-3448.
- (2) Hillman, B. I. Supyani, S., Kondo, H. and Suzuki, N (2004). A reovirus of the fungus *Cryphonectria parasitica* that is infectious as particles and related to the *Coltivirus* genus of animal pathogen. *Journal of Virology* 78,892-898.
- (3) Hillman, B. I. and Suzuki, N. (2004). Viruses of the chestnut blightfungus, *Cryphonectria parasitica*. *Advances in Virus Research* 63, 417-466.
- (4) Mertens, P. P. C., Hillman, B. I., and Suzuki, N. Genus *Mycoreovirus*. In:Fauquet, C. M. et al., (eds.). *Virus Taxonomy*:

Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego. in press.

- (5) Andika, I. B., Kondo, H., and Tamada, T. Evidence that RNA silencing-mediated resistance to *Beet necrotic yellow vein virus* is less effective in roots than in leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. in press.
- (6) 鈴木信弘 (分担) マイコウイルス学の新展開 作物保護の新展開—バイオサイエンスのかけはし—ソフトサイエンス社 (印刷中)

微生物機能開発グループ (Group of Applied Microbiology)

- (1) Ohta, T., Tani, A., Kimbara, K. and Kawai, F. 2004. A novel nicotinoprotein aldehyde dehydrogenase involved in polyethylene glycol degradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* In press.
- (2) Klomklang, W., Tani, A., Kimbara, K., Mamoto, R., Ueda, T., Shimao, M. and Kawai, F. 2004. Biochemical and molecular characterization of a periplasmic hydrolase for oxidized polyvinyl alcohol hydrolase from *Sphingomonas* sp. strain 113P3. *Microbiology*. In press.
- (3) Kawai, F., Watanabe, M., Shibata, M., Yokoyama, S., Sudate, Y. and Hayashi, S. 2004. Comparative study on biodegradability of polyethylene wax by bacteria and fungi. *Polym. Degr. Stabil.* 86: 105-114.
- (4) Yamashita, M., Tani, A. and Kawai, F. 2004. Cloning and expression of an ether-bond-cleaving enzyme involved in the metabolism of polyethylene glycol. *J. Biosci. Bioeng.* 98: 313-315.
- (5) Watanabe, M., Kawai, F., Shibata, M., Yokoyama, S. and Hayashi, S. 2004. Analytical and computational techniques for exogenous depolymerization of xenobiotic polymers. *Math. Biosci.* 192: 19-37.
- (6) Yamashita, M., Tani, A. and Kawai, F. 2004. A new ether bond-splitting enzyme found in Gram-positive polyethylene glycol 6000-utilizing bacterium, *Pseudonocardia* sp. strain K1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* published online (in press).
- (7) Maneerat, S., Nitoda, T., Kanzaki, H. and Kawai, F. 2004. Bile acids are new products of a marine bacterium, *Myroides* sp. strain SMI. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* published online (in press).
- (8) 金原和秀、潮木知良、京谷隆、志村稔、早川敏雄. 2004. 光脱塩素と生物分解のハイブリッド法による PCB 処理法、*生物工学会誌*、82(2): 56-62.
- (9) Miyazawa, D., Mukerjee-Dhar, G., Shimura, M., Hatta, T. and Kimbara, K. 2004. Genes for Mn(II)-dependent NahC and Fe(II)-dependent NahH located in close proximity in the thermophilic naphthalene and PCB degrader, *Bacillus* sp. JF8: cloning and characterization. *Microbiology* 150: 993-1004.
- (10) Yamada, T., Hiraoka, Y., Ikehata, M., Kimbara, K., Avner, B. S., Das Gupta, T. K. and Chakrabarty, A. M. 2004. Apoptosis or growth arrest: Modulation of tumor suppressor p53's specificity by bacterial redox protein azurin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 101: 4770-4775.
- (11) Sugimoto, M., Saiki, Y., Zhang, D. and Kawai, F. 2004. Cloning and characterization of preferentially expressed genes in an aluminium-tolerant mutant derived from *Penicillium chrysogenum* IFO 4626. *FEMS Microbiol. Lett.* 30: 137-142.
- (12) Tani, A., Zhang, D., Duine, J. A. and Kawai, F. 2004. Treatment of the yeast *Rhodotorula glutinis* with AlCl₃ (Al) leads to acquisition of heritable Al resistance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65: 344-348.

植物気象生態グループ (Group of Meteorological Ecology)

- (1) Ligaba, A., Shen, H., Shibata, K., Yamamoto, Y., Tanakamaru, S. and Matsumoto, H., 2004. The role of phosphorus in aluminium-induced citrate and malate exudation from rape (*Brassica napus*). *Physiol. Plant.* 120:575-584.
- (2) 米谷俊彦・平岡直子・中戸孝子・王介民. 2004. 岡山県南部における浮遊粒子状物質の動態について—黄砂の発生源との関係—. *しぶかわ* 24:33-40.
(Maitani, T., Hiraoka, N., Nakato, T., and Wang, J. 2004. Time variations of airborne particles in southern part of Okayama (6)
—their relation to source region of yellow sands—. *Shibukawa* 24:33-40
- (3) Maitani, T., Hiraoka, N., Nakato, T., and Wang, J. 2005. Time variations of suspended particulate matter in Kurashiki and dust storm in the north of China. *J. Agric. Meteorol., Tokyo*, 60:519-523.
- (4) Miyashita, K., Tanakamaru, S., and Maitani, T. Measurement of photosynthesis and transpiration in Floating

weed(Dukweed) for several days. J. Agric. Meteorol.,Tokyo, 60:757-760.

- (5) Miyashita,K., Tanakamaru, S., Maitani, T., and Kimura, K. 2004. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. Environ. Exp. Bot. 53:205-214.
- (6) Miyashita,K., Tanakamaru, S., and Maitani, T., Meteorological impact on transpiration. In The encyclopedia of water. John Wiley & Sons Publishings (in press).
- (7) Wang, J., Liu, S., Maitani, T., Bastiaanssen, W. and Pelgrum, H. 2005. Monitoring actual evapotranspiration with satellite remote sensing in the Hai river basin of China. J. Agric. Meteorol., Tokyo, 60:565-568.

生命環境適応先端工学グループ (Group of Advanced Engineering of Adaptation for Bioenvironment)

- (1) Liu, T., Nakashima, S., Hirose, K., Shibasaka, M., Katsuhara, M., Ezaki, B., Giedroc, D. P. and Kasamo, K. 2004. A novel cyanobacterial SmtB/ArsR family repressor regulates the expression of a CPx-ATPase and the metal tolerance in response to both Cu (I)/Ag (I) and Zn (II)/Cd (II). J. Biol. Chem. 279: 17810-17818.
- (2) Sasaki, T., Yamamoto, Y., Ezaki, B., Katsuhara, M., Ahn, S. J., Ryan, P. R., Delhaize, E. and Matsumoto, H. 2004. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. Plant Journal 37: 645-653.
- (3) Ezaki, B., Suzuki, M., Motoda, H., Kawamura, M., Nakashima, S., and Matsumoto, H. 2004. Mechanism of gene expression of Arabidopsis glutathione S-transferase, *AtGST1*, and *AtGST11* in response to aluminum stress. Plant Physiol. 134: 1672-1682.

大麦・野生植物資源研究センター (Barley and Wild Plant Resource Center)

大麦・野生植物資源グループ (Group of Barley and Wild Plant Resource)

A. 大麦 (Barley)

- (1) Domon, E., Y. Yanagisawa, A. Saito and K. Takeda (2004) Single nucleotide polymorphism genotyping of the barley waxy gene by polymerase chain reaction with confronting two-pair primers. Plant Breed. 123: 225-228.
- (2) Zhang, W., T. Kaneko and K. Takeda (2004) β -amylase variation in wild barley accessions. Breed. Sci. 5: 41-49.
- (3) Zhang, W., T. Kaneko, M. Ishii and K. Takeda (2004) Differentiation of β -amylase phenotypes in cultivated barley. Crop Sci. 44: 1608-1614
- (4) Ma, J. F., S. Nagao, K. Sato, H. Ito, J. Furukawa and K. Takeda (2004) Molecular mapping of a gene responsible for Al-activated secretion of citrate in barley. J. Exp. Bot. 55:1335-1341.
- (5) Saisho, D., K. Tanno, M. Chono, I. Honda, H. Kitano and K. Takeda (2004) Spontaneous brassinolide-insensitive barley mutant 'uzu' adapted to East Asia. Breed. Sci. 54: 409-416.

B. 野生植物

- (1) 藤井伸二・狩山俊悟・榎本敬. 2003. 1999年版紀伊大島植物目録 (高等植物) の補遺およびカンアオイ属に関する分類学的ノート. 南紀生物45(2): 115-117.
(Fujii, S., Kariyama, S. and Enomoto, T. 2004. Supplement to Flora of Kii-Oshima Island, 1999:Higher plants and a taxonomic note on Heterotropa. Nankiseibutsu 45(2), 115-117.)
- (2) 狩山俊悟・小島裕子・榎本敬. 2004. 岡山県新産の帰化植物(15). 倉敷市立自然史博物館研究報告 19: 91-94.
(Kariyama, S., Kobatake, H. and Enomoto, T. 2004. New Records of Naturalized Plants of Okayama Prefecture, Southwest Japan(15). Bull. Kurashiki Mus. Nat. Hist., No.19: 91-94.)
- (3) 浅井元朗・黒川俊二・清水矩宏・榎本敬. 2004. 輸入冬作物原体に混入していた雑草種子の同定. Grassland Science 50(別): 466-467.
(Asai, M., Kurokawa, S., Shimizu, N. and Enomoto, T. 2004. Identification of weed seeds contaminated in winter crop seeds. Grassland science 50(Suppl.):466-469.
- (4) 榎本敬. 2004. 倉敷新産の絶滅危惧植物 マツナ. 倉敷の自然 76:5-6.
(Enomoto, T. 2004. New record of Suaeda asparagoides in Kurashiki city, Japan. Nature conservation of Kurashiki city, Japan 76: 5-6.)
- (5) 榎本敬・狩山俊悟・小島裕子. 2004. 倉敷市内からの記録がある「岡山県版レッドデータブック」掲載 植物. 倉敷の

自然 76: 7-10.

(Kariyama, S., Kobatake, H. and Enomoto, T. 2004. Endangered plants of Kurashiki city which are recorded in "Red data book of Okayama prefecture, Japan". Nature conservation of Kurashiki city 76:7-10.)

- (6) 吉岡俊人・佐藤茂・榎本敬・マイケルフェナー. 2004. 冬季一年草における実発芽種子バーナリゼーションと種子二次休眠との関係. 雑草研究 49(別): 36-37.
(Yoshioka, T., Sato, S. Enomoto, T. and Fenner, M. 2004. Pre-germination seed vernalization and secondary seed dormancy in winter annual plants. Weed Sci. Tech. 49(suppl.): 36-37.)
- (7) 浅井元朗・黒川俊二・清水矩宏・榎本敬. 2004. 輸入冬作物原体に混入していた雑草種子の同定 (予報) 関東雑草研究会報 15:28.
(Asai, M., Kurokawa, S., Shimizu, N. and Enomoto, T. 2004. Identification of weed seeds contaminated in imported winter crop seeds. Report of weed science society of Kanto Area, Japan 15:28.)
- (8) 榎本敬・裾分由美子. 2004. 埋立地の植物の移り変わり. しぜんしくらしき 48:16.
(Enomoto, T. and Susowake, Y. 2004. Plant succession on a newly reclaimed land at Kurashiki city. Sizensi Kurashiki 48: 16.)
- (9) 榎本敬 (監修). ミズアオイのふしぎ. 財団法人船穂町農業公社. 12pp.
(Enomoto, T. supervise 2004. An interesting life form of Monochoria Korsakowi. Agricultural company of Funao town, Okayama, Japan. 12pp.)
- (10) 榎本敬. ミズアオイ (水葵). 倉敷の自然 77:1-2
(Enomoto, T. 2004. On Monochoria Korsakowi. Nature conservation of Kurashiki city, Japan 77: 1-2.)

細胞分子生化学グループ (Group of Cytomolecular Biochemistry)

- (1) Konno, H., Nakato, T., Nakashima, S. and Katoh, K. 2004. *Lygodium japonicum* fern accumulates copper in the cell wall pectin. Journal of Experimental Botany (in press)
- (2) 今野晴義. 2004. イスノキ葉から誘導した培養細胞の細胞壁構造とその分解酵素の性状. 生物学に関する試験研究論叢 19: 50-57
- (3) Sugimoto, M., Saiki, Y., Zhang, D. and Kawai, F. 2004 Cloning and characterization of preferentially expressed genes in an aluminum-tolerant mutant derived from *Penicillium chrysogenum* IFO4626. FEMS Microbiol. Lett. 230: 137-142.
- (4) Nakajima, N., Ishihara, K. and Sugimoto, M. 2004. Earthworm fibrinolytic enzymes. Handbook of Proteolytic Enzymes 2nd Edn. Elsevier, 1689-1691.

遺伝資源機能解析グループ (Group of Genetic Resources and Functions)

- (1) Asano, T., Yoshioka, Y., Kurei, S., Sakamoto, W., Sodmergen and Machida, Y. 2004. The CRUMPLED LEAF protein that is localized in the envelope membrane of plastids is involved in cell division, cell differentiation, and plastid division in Arabidopsis. Plant J. 38: 448-459.
- (2) Hanba, Y. T., Shibasaka, M., Hayashi, Y., Hayakawa, T., Kasamo, K., Terashima, I. and Katsuhara, K. 2004. Aquaporin facilitated CO₂ permeation at the plasma membrane: over-expression of a barley aquaporin HvPIP2;1 enhanced internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of the transgenic rice plant. Plant Cell Physiology 45: 521-529.
- (3) Sakamoto, W. and Hoshino, T. 2004. An approach to screen mitochondrial mutants in Arabidopsis thaliana. Endocytobiosis Cell Res. 15: 101-109.
- (4) Hanba, Y. T., Moriya, A. and Kimura, K. 2004. Surface wetness induces changes in stomatal and non-stomatal limitation to photosynthesis in bean and pea, having contrast leaf wettability. Plant, Cell, & Environment 27: 413-421
- (5) Koide, T., Yamazaki, T., Yamamoto, M., Fujishita, M., Nomura, H., Moriyama, Y., Sumiya, N., Matsunaga, S., Sakamoto, W. and Kawano, S. 2004. Molecular divergence and characterization of two chloroplast division genes, FtsZ1 and FtsZ2, in the unicellular green alga *Nannochloris bacillaris* (Chlorophyta). J. Phycol. 40: 546-556.
- (6) Adam, Z., Zaltsman, A., Sinvany-Villalobo, G. and Sakamoto, W. 2004. FtsH proteases in chloroplasts and cyanobacteria. Physiol Planta. (in press).

- (7) Yamazaki, T., Yamamoto, M., Sakamoto W. and Kawano, S. 2004. Duplications, conserved introns, and Xintron sliding† of *rbcS* in the green alga *Nannochloris bacillaris*. *Phycol. Res.* (in press).
- (8) Feng, X., Arimura, S., Hirano, H.Y., Sakamoto, W. and Tsutsumi, N. 2004. Isolation of mutants with aberrant mitochondrial morphology from *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet. Syst.* 79: 301-305.
- (9) Sakamoto, W., Miura, E., Kaji, Y., Okuno, T., Nishizono, M. and Ogura, T. 2004. Allelic characterization of the leaf-variegated mutation *var2* identifies the conserved amino acid residues of FtsH important for ATP hydrolysis and proteolysis. *Plant Mol. Biol.* (in press)

国際会議およびシンポジウム (International Conference and Symposium)

核機能分子解析グループ (Group of Nuclear Genomics)

- (1) Shibata, F., Murata, M. 2004. Differential localization of the centromeric histone H3 variant in the major centromeric satellite of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Animal Genomes XII*, Jan. 10-14, San Diego, USA.
- (2) Nagaki, K., Talbert, P. B., Henikoff, S., Jiang, J. 2004. The functional components of rice centromeres. *Plant and Animal Genomes XII*, Jan. 10-14, San Diego, USA.
- (3) Jin, W., Nagaki, K., Jiming, J. 2004. The fine structure of maize centromeres. *Plant and Animal Genomes. XII*, Jan. 10-14, San Diego, USA
- (4) Murata, M., Shibata, F., Sato, H. 2004. Differential localization of the centromere-specific proteins in *Arabidopsis thaliana*. 15th Internat. Chromosome Conference, Sept. 5-10, Brunel Univ., West London, UK.
- (5) Shibata, F., Murata, M. 2004. Histone H3 modifications in the centromeric regions of *Arabidopsis thaliana*. 15th Internat. Chromosome Conference, Sept. 5-10, Brunel Univ., West London, UK.
- (6) Tani, A., Murata, M. 2004. Characterization of a telomere end binding proteins in *Arabidopsis thaliana*. 15th Internat. Chromosome Conference, Sept. 5-10, Brunel Univ., West London, UK.
- (7) Murata, M. 2004. Visualization of centromeric proteins/DNA in *Arabidopsis thaliana*. 5th Internat. Conference on Chromosome Res. at Nano-era, "Nano and Visual Biology of Chromosome Dynamics", Oct. 16-17, 2004, Kyoto Univ., Kyoto, Japan.

作物種子研究グループ (Group of Crop Seed Science)

- (1) Himi, E and Kaz. Noda 2004 Red grain colour gene *R* of wheat is a Myb-type transcription factor. 10th Int. Symp. Pre-Harvest Sprouting in Cereals. Norfolk, England. 2004. June 7-11.

植物ストレス応答分子解析グループ (Group of Physiology and Molecular Biology of Plant Stress Responses)

- (1) Ezaki, B., Kiyohara, H., Nakashima, S. and Matsumoto, H.: Isolation and characterization of new aluminum (Al) resistant genes using *Arabidopsis* enhancer tagging lines. *Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH* (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 290-291. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
- (2) Kikui S., Yamamoto, Y., Maekawa, M. and Matsumoto, H.: The prevention of aluminum accumulation in root apex is associated with the translocation of aluminum from root to shoot in an aluminum tolerant rice variety (*Oryza sativa* L.). *Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH* (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 252-253. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
- (3) Kobayashi, Y., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H.: Root elongation inhibition independent and dependent on superoxide anion under aluminum stress in pea (*Pisum Sativum* L.). *Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH* (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 232-233. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
- (4) Ligaba, A., Shen, H., Shibata, K., Yamamoto, Y., Tanakamaru, S. and Matsumoto, H.: The response of rape (*Brassica*

- napus* L.) to the combined effects of aluminium and phosphorus stresses. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 260-261. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
- (5) Matsumoto, H.: Molecular aspect of Al tolerance in crop plants: Novel Al-activated malate transporter gene in wheat roots. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 4-5. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
 - (6) Matsumoto, H.: Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH. ISBN 4-9902071-1. pp. 1-407. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004. (editor in chief (H.M) with 6 other editorial members)
 - (7) Panda, S.K., Yamamoto, Y., Kondo, H. and Matsumoto, H.: Mitochondrial redox changes and opening of membrane permeability transition pore cause programmed cell death in tobacco cells under aluminium stress: A new intracellular mechanism of aluminum toxicity. International Symposium in Kurashiki, Al Stress Research in Plants: Present status and new directions for future. RIB. Aug. 7, 2004.
 - (8) Panda, S.K., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H.: Mitochondrial respiratory inhibition, redox changes and opening of membrane permeability transition pore cause programmed cell death in tobacco cells under aluminium stress. Abstracts ComBio 2004. pp. 125. Perth, Australia. Sep. 26-30, 2004.
 - (9) Ryan, P., Raman, H., Zhang, K., Moroni, J.S., Apples, R., Martin, P., Sasaki, T., Yamamoto, Y., Matsumoto, H., Hebb, D. and Delhaize, E.: Molecular mapping of the wheat *ALMT1* gene for aluminium tolerance and its function in heterologous expression systems. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 70-71. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
 - (10) Sasaki, T., Yamamoto, Y., Katsuhara, M., Ryan, P.R., Delhaize, E. and Matsumoto, H.: A wheat gene encoding an aluminium-activated malate transporter. 20th RIB Symposium-International Symposium on Frontier Research to Improve Crop Productivity in Acid Soils. pp. 4-8. Kurashiki, Japan. January 9, 2004.
 - (11) Sasaki, T., Osawa, H., Yamamoto, Y., Katsuhara, M., Ahn, S.J., Ryan P.R., Delhaize, E. and Matsumoto, H.: Regulation of malate efflux in wheat root apex under aluminum stress: Role of protein phosphorylation and *ALMT1* gene. The 1st International Symposium "Life & Environmental Science in Future". pp. 65-74. Kwangju, Korea. April 28, 2004.
 - (12) Sasaki, T., Yamamoto, Y., Katsuhara, M., Ryan, P.R., Delhaize, E., Yamaguchi, M. and Matsumoto, H.: An aluminum-tolerant gene involved in the malate efflux in wheat. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 292-293. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
 - (13) Sasaki, T., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H.: Future works of *ALMT1* gene in RIB. International Symposium in Kurashiki, Al Stress Research in Plants: Present status and new directions for future. RIB. Aug. 7, 2004.
 - (14) Sasaki, T., Katsuhara, M., Ryan, P.R., Delhaize, E., Hebb, D.M., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H.: Detection of Al-activated malate transporter. 第77回日本生化学会大会発表抄録集 (生化学Vol. 76, No. 8, 2004) pp. 724. 横浜パシフイコ. Oct. 13-16, 2004.
 - (15) Shen H., Yan, X. and Matsumoto, H. Effect of modulators on the aluminum-induced efflux of citrate from soybean roots. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 208-209. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
 - (16) Sivaguru, M., Yamamoto, Y., Rengel, Z., Ahn, S.J. and Matsumoto, H.: Modulation of cytosolic calcium levels in aluminum-treated tobacco cells depends on the growth phase. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 228-229. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
 - (17) Yamaguchi, Y., Yamamoto, Y., Baba, N. and Matsumoto, H.: Role of glutathione and glutathione peroxidase in the aluminum tolerance acquired during phosphate starvation in suspension-cultured tobacco cells. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 220-221. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.
 - (18) Yamamoto, Y., Devi, S.R., Nozawa, A., Basset, R.A., Rikiishi, S., Sasaki, T. and Matsumoto, H.: Mechanisms of internal aluminum toxicity and tolerance in plant cells. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 52-53. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.

- (19) Zheng, S.J., Yang, J.L., Yu, X.H., Liu, Q. and Matsumoto, H.: Organic acid secretion does not enhance Al resistance in some Al sensitive plants. Proceedings of the 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH (Matsumoto, H., Nanzyo, M., Inubushi, K., Yamamoto, Y., Koyama, H., Saigusa, M., Osaki, M. and Sakurai, K. eds). pp. 212-213. Sendai, Japan. Aug. 1-5, 2004.

分子生理機能解析グループ (Group of Molecular and Functional Plant Biology)

- (1) Katsuhara, M.: Aquaporins under salt stress. Gordon Research Conference "Salt and Water Stress in Plants", Hong Kong, China. June 13-18, 2004.
- (2) Sasaki, T., Oosawa, H., Yamamoto, Y., Katsuhara, M., Ahn, S. J., Ryan, P. R., Delhaize, E., Matsumoto, H.: Regulation of malate efflux in wheat root apex under aluminum stress: role of protein phosphorylation and ALMT1 gene. The 1st International Symposium "Life and Environmental Science in Future", Chonnam University, Korea. April 2004.

作物ゲノム育種グループ (Group of Crop Genome Modification)

- (1) Rikiishi, K. and M. Maekawa. Analysis of wheat mutants with reduced seed dormancy. 10th Int. Symp. On Pre-Harvest Sprouting. Norfolk, United Kingdom, June 7-11, 2004.

環境昆虫機能グループ (Group of Insect Physiology and Molecular Biology)

- (1) Tsumuki, H. and Izumi, Y. Identification of primary tissues showing the lowest hardiness to freezing in larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). XXII International Congress of Entomology, Brisbane, Australia, Aug. 15th-21st, 2004.
- (2) Sonoda, S. and Tsumuki, H. Glutathione S-transferase gene involved in insecticide resistance of the diamondback moth *Plutella xylostella* L. International Symposium on Insecticide Resistance. Challenges to the Evolution of Insects to Insecticides, 日中共同研究セミナー、名古屋、11月27日、2004.

化学ストレス生態応答グループ (Group of Ecological Response to Environmental Stress)

- (1) Isao Aoyama. 2004. Environmental Fate and Ecotoxicity. The 3rd International Training Course of Water Management. Tyunisa, Tunisia. Jan. 4 - 13
- (2) Isao Aoyama and Piau Mingyu. : 2004. The 6th Seminar of JSPS-MOE Core University Program on Urban Environment. Okinawa, July. 26-28
- (3) Julian I. Schroeder, Izumi Mori, Jared Young, June M. Kwak, Daniel. Mackesy, Yingzhen Yang, Nathalie Leonhardt, Gethyn J. Allen, Zhen-Ming Pei and Yoshiyuki Murata. 2004. 13th International Workshop on Plant Membrane Biology. Montpellier, France July 6-10.

植物・微生物相互関係グループ (Group of Plant-Microbe Interactions)

- (1) Suzuki, N., S. Supyani, K. Maruyama, H. Kondo, and B. I. Hillman (2004). A reovirus of the fungus *Cryphonectria parasitica*, a member of the genus *Mycoreovirus*, that is infectious as particles and related to the mammal pathogenic *coltiviruses*. Annual Meeting of American Society for Virology, July 10-14, Montreal, Quebec, Canada.

微生物機能解析グループ (Group of Applied Microbiology)

- (1) Kawai, F., Maneerat, S., Nitoda, T. and Kanzaki, H.: Bile acids are newly found as prokaryotic products of a marine bacterium, *Myroides* sp SM-1, 104th General Meeting of American Society for Microbiology, New Orleans, LA, USA, May 23-27, 2004
- (2) Tani, A. and Kawai, F.: Adaptive aquirement of aluminum resistance by *Rhodotorula glutinis* IFO1125, 104th. General Meeting of American Society for Microbiology, New Orleans, LA, USA, May 23-27, 2004
- (3) Kawai, F. and Watanabe, M.: Numerical study on exogenous depolymerization of polyethylene glycol, The 8th World Conference on Biodegradable Polymers and Plastics, Seoul, Korea, June 1-4, 2004.
- (4) Shimomura, Y., Haba, Y., Shimura, M., Ohno, R. and Kimbara, K.: Development of a method for detecting bacterial cells in soil, 7th Internal Symposium of Environmental Biotechnology, Chicago, IL, USA, June 18-21, 2004.
- (5) Tani, A., Tanaka Y. and Kawai, F.: Adaptive acquirement of Al resistance in the yeast, *Rhodotorula glutinis* IFO 1125, The 6th International Symposium on Plant-Soil Interactions at Low pH, Sendai, Japan, August 1-5, 2004.
- (6) Shimomura, Y., Haba, Y., Shimura, M. and Kimbara, K.: Development of a method for detecting bacterial cells in soil, 10th Internal Symposium on Microbial Ecology, Cancun, Mexico, August 22-27, 2004.
- (7) Watanabe, M. and Kawai, F.: Numerical study on biodegradation of polyethylene glycol, 12th Biennial Computational Techniques and Applications Conference, Melbourne, Australia, Sep. 27-Oct. 10, 2004.
- (8) Maneerat, S., Bamba, T., Kobayashi, A., Yamada, H. and Kawai, F.: Lipopeptide biosurfactant produced by a thermotolerant marine bacterium, *Myroides* sp. SMI, The 4th JSPS-NRCT Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications, Fukuoka, Janan, Nov. 7-10, 2004
- (9) Komklang, W., Tani, A., Kimbara K. and Kawai, F.: Cloning, sequencing and expression of periplasmic oxidized polyvinyl alcohol hydrolase from *Sphingomonas* sp. strain 113P3, The 4th JSPS-NRCT Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications, Fukuoka, Janan, Nov. 7-10, 2004.
- (10) Charoenpanich, J., Tani, A., Kimbara, A. and Kawai, F.: Transcription of the genes involved in polyethylene glycol degradation by *Sphingomonas macrogoltabidus* No. 103, The 4th JSPS-NRCT Joint Seminar on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications, Fukuoka, Janan, Nov. 7-10, 2004.
- (11) Watanabe, M. and Kawai, F.: Numerical and experimental study on mechanism of microbial depolymerization, International Symposium on Numerical Simulation of Environmental problems, Okayama, Japan, Nov. 22-23, 2004.

植物気象生態グループ (Group of Meteorological Ecology)

- (1) Maitani, T., Hiraoka, N., Nakato, T., and Wang, J. Time variations of suspended particulate matter in Kurashiki and dust storm in the north of China. International Symposium on Food Production and Environmental Conservation in the Face of Global Environmental Deterioration. Fukuoka, Japan, Sept. 7-11, 2004
- (2) Miyashita, K., Tanakamaru, S., and Maitani, T. Measurement of photosynthesis and transpiration in Floating weed(Dukweed) for a few days. International Symposium on Food Production and Environmental Conservation in the Face of Global Environmental Deterioration. Fukuoka, Japan, Sept. 7-11, 2004.
- (3) Wang, J., Liu, S., Maitani, T., Bastiaanssen, W. and Pelgrum, H. Monitoring actual evapotranspiration with satellite remote sensing in the Hai river basin of China. International Symposium on Food Production and Environmental Conservation in the Face of Global Environmental Deterioration. Fukuoka, Japan, Sept..7-11, 2004

生命環境適応先端工学グループ (Group of Advanced Engineering of Adaptation for Bioenvironment)

- (1) Ezaki, B., Kiyohara, H., Nakashima, S., Matsumoto, H.: Isolation and characterization of new aluminum (Al) resistant genes using Arabidopsis enhancer tagging lines. The 6th international symposium on Plant-Soil interactions at low pH. Sendai, Japan, August 1-5, 2004

- (2) Ezaki, B., Kiyohara, H., Matsumoto, H., Nakashima, S.: Characterization of a novel gene and a mechanism of Arabidopsis enhancer tagging line for aluminum (Al)-resistance. JSPS Workshop on "Development of Biomanure Based on the Symbiotic System", Bali, Indonesia, December 3-4, 2004

大麦・野生植物資源研究センター (Barley and Wild Plant Resource Center)

大麦・野生植物資源グループ (Group of Barley and Wild Plant Resource)

A. 大麦 (Barley)

- (1) Sato, K., Y. Yamazaki and K. Takeda: Comparative sequence analysis of barley ESTs and rice genome. *Plant, Animal & Microbe Genomes XII*, abstract: W30, 2004.
- (2) Suzuki H., T. Sasanuma, K. Sato and K. Takeda: Expression analysis using cDNA microarray in seedling shoots of malting barley and its dwarf mutants. IPGSA Meeting 2004, Canberra, Australia, 20-24 September 2004.
- (3) Sato K., H. Suzuki and K. Takeda: Comparison of expression profiles between GeneChip[®] and cDNA microarray in seedling shoots of malting barley and its dwarf mutants. IPGSA Meeting 2004, Canberra, Australia, 20-24 September 2004.
- (4) Hori, K., T. Kobayashi, K. Sato, K. Takeda: QTL Analysis of resistance to fusarium head blight in barley RI populations. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings II: 792-798, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic
- (5) Saisho, D., K. Tanno, M. Chono, I. Honda, H. Kitano and K. Takeda: Identification of barley semi-dwarf gene 'uzu'. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings II: 220-225, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic
- (6) Takeda, K.: Inheritance of fusarium head bright resistance in barley. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings I: 302-307, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic
- (7) Hirota, N., T. Kaneko, H. Kuroda, K. Ito and K. Takeda: Genetic variation of barley seed lipoxygenase-1: Null mutants. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings II: 69-73, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic
- (8) Hirota, N., T. Kaneko, K. Ito and K. Takeda: Genetic variation of barley seed lipoxygenase-1: Thermostability. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings II: 64-68, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic
- (9) Sato, K., N. Nankaku, Y. Motoi and K. Takeda: A large scale mapping of ESTs on barley genome. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings I: 79-85, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic
- (10) Sugimoto, M., Y. Okada, K. Sato, K. Ito and K. Takeda: Root-specific O-methyltransferase gene expressed in salt-tolerant barley. 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings II: 998-1002, 20-26 June 2004, Brno, Czech Republic

B. 野生植物 (Wild Plant)

- (1) Enomoto, T., N. Shimizu, S. Kurokawa and S. Kariyama. 2004. Weed invasions from foreign countries into Japan Beijing International Symposium on Biological Invasions : E9-E10. Beijing, China..
- (2) Asai, M., S. Kurokawa, N. Shimizu and T. Enomoto. 2004. Identification of exotic weed seeds detected from imported hay into Japan. International Conference on Assessment and control of biological invasion risks. August 26-29, 2004. Education & Cultural Hall, Yokohama National University Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama, Japan.

細胞分子生化学グループ (Group of Cytomolecular Biochemistry)

- (1) Sugimoto, M., Okada, Y., Sato, K., Ito, K. and Takeda, K.: Root-specific O-methyltransferase gene expressed in salt-tolerant barley. 9th International Barley Genetics Symposium. Brno, Czech Republic, June 20-26, 2004.
- (2) 杉本 学, 佐藤和広, 武田和義. オオムギの網羅的タンパク質マップ構築のためのプロテオーム解析. CREST研究領域「植物の機能と制御」第2回公開シンポジウム, 東京, 10月26日, 2004.

遺伝資源機能解析グループ (Group of Genetic Resources and Functions)

- (1) Sakamoto, W.: FtsH metalloproteases VAR1 and VAR2 involved in the repair cycle of Photosystem. 13th International congress of photosynthesis. Montreal, Canada, Aug. 29 - Sept.. 3, 2004
- (2) Zaltsman, A., Raskind, S., Sakamoto, W., Feder, A., Sinvany G. and Adam, Z. The family of chloroplast FtsH proteases in Arabidopsis - expression and function. CSHL Meeting on Molecular Chaperons and the Heat Shock Response. Cold Spring Harbor, New York, May 5 - 9, 2004

研究所員が主催したシンポジウム等

(List of Symposium Superintended by the Member of Institute)

第7回植物生体膜シンポジウム

日時：2004年3月26日

場所：東京大学農学部1号館2階8番教室

テーマ：植物の膜輸送および膜機能研究の現状と新展開

オーガナイザー：且原真木（岡山大・資生研）

朽津和幸（東京理科大・理工／ゲノムセンター）

セッションI 膜輸送系：ポンプ、トランスポーターの新展開 — 故笠毛邦弘教授を偲んで

1. 特別講演：気孔開口における細胞膜 H^+ -ATPaseの役割とその活性化の機構 島崎研一郎 (九州大・理)
2. 糸状体ラン藻が有する多種重金属イオン耐性に関わる新規のCPx-ATPase 劉 トン (テキサスA & M大)
3. 液泡型 H^+ -ATPaseの活性調節とその仕組みの解析の現状と展望 中西 洋一 (名古屋大・農)
4. カサノリの Na^+/K^+ -ATPaseホモログについて 池田己喜子 (岡山県立大・保福)
5. 植物における硫酸イオン輸送システムの制御 高橋 秀樹 (理研・PSC)
6. ホウ素輸送体BOR1の同定と制御 高野 順平 (東京大・農)
7. コムギのアルミニウム耐性遺伝子：細胞膜局在リソゴ酸トランスポーター 佐々木孝行 (岡山大・資生研)

セッションII 膜輸送の分子生理学の新展開

8. 植物二次代謝産物の膜輸送とABCトランスポーター 矢崎 一史 (京都大・木質研)
9. リン酸をめぐる植物の生理：輸送と代謝 三村 徹郎 (奈良女子大・理)
10. 植物細胞におけるエンドソームの分化と動態 上田 貴志 (理研・中央研)

セッションIII カルシウムシグナリングの新展開 — 故武藤尚志教授を偲んで

11. 植物のカルシウムシグナリング—CDPKとストレスストレス応答性プロテインキナーゼを中心に— 湯浅 高志 (東大院・総合文化)
12. 植物のカルシウムシグナリング—カルシウムモニタリングとカルシウムチャンネルを中心に— 古市 卓也 (名古屋大・医)
13. 細胞死制御因子とカルシウム制御 井原 由理 (東京大・分生研)
14. シャジクモにおけるカルシウムシグナリング 菊山 宗弘 (新潟大・理)
15. シロイヌナズナ葉の青色光による細胞内カルシウム動員機構 原田 明子 (理研・PSC)
16. Plasma membrane Ca^{2+} permeable channels in ABA-signaling in stomatal guard cells 森 泉 (カリフォルニア大・サンディエゴ校)
17. 植物のストレス応答における膜電位依存性カルシウムチャンネルの生理機能 朽津 和幸 (東京理科大・理工／ゲノムセンター)
18. 伸展活性化 Ca^{2+} チャンネルの新展開 飯田 秀利 (東京学芸大・教／JST・CREST)
19. カルシウムイオンによるアクチン-ミオシン系細胞骨格の分子レベルにおける調節機構 横田 悦雄 (姫路工業大・理)

The 7th Plant Biomembrane Symposium

March 26, 2004. University of Tokyo

Title: New Century of Biological Membrane

Organizer: Maki Katsuhara (RIB, Okayama University)

Kazuyuki Kuchitsu (Dep. of App. Bio. Sci., Tokyo University of Science)

Session I Membrane Transport: New Aspects of Pump and Transporter

-
1. Special lecture: Activation mechanism and role of plasma membrane ATPase in stomata opening
Ken-ichiro Shimazaki (Fac. Sci., Kyushu University)
 2. A novel cyanobacterial CPx-ATPase in multi-heavy-metal cotolerance
Susumu Nakashima (RIB, Okayama University)
 3. Regulation of vacuolar H⁺-ATPase activity and its mechanism
Youichi Nakanishi (Grad. Sch. Bioagro. Sci., Nagoya University)
 4. Na⁺/K⁺-ATPase homologues in *Acetabularia acetabulum*
Mikiko Ikeda (Okayama Prefect. University)
 5. Regulation of sulfate ion transport system in plant.
Hideki Takahashi (PSC, RIKEN)
 6. Isolation and regulation of boron transporter, BOR1.
Junpei Takano (Grad. Sch. Agri. Life Sci., University of Tokyo)
 7. Aluminum tolerance gene of wheat: malate transporter in plasma membrane.
Takayuki Sasaki (RIB, Okayama University)

Session II New development of molecular physiology in membrane transport

8. Membrane transport of secondary metabolites and ABC transporter.
Kazufumi Yazaki (Wood Res. Inst., Kyoto University)
9. Plant physiology on phosphate: its transport and metabolism
Tetsuro Mimura (Dep. Biology, Nara Women's University)
10. Development and dynamics of endosomes in plant cells.
Takashi Ueda (Disc. Res. Inst., RIKEN)

Session III New aspect of calcium signaling

11. Calcium signaling in plants: CDPK and stress-responsive protein kinase.
Koji Yuasa (Grad. Sch. Arts Sci., University of Tokyo)
12. Calcium signaling in plants: calcium monitoring and calcium channel
Takuya Furuichii (Grad. Sch. Medic., Nagoya University)
13. Regulatory factor of cell death and its regulation by calcium
Yuri Ihara (IMCB, University of Tokyo)
14. Calcium signaling in *Chara*
Munehiro Kikuyama (Dep. Biol., Niigata University)
15. Mechanism of increase in cytoplasmic calcium induced by blue-light in *Arabidopsis* leaves.
Akiko Harada (PSC, RIKEN)
16. Plasma membrane Ca²⁺ permeable channels in ABA-signaling in stomatal guard cells.
Izumi Mori (UCSD, USA)
17. Physiological function of stress-responsive and voltage-dependent calcium channel in plants.
Kazuyuki Kuchitsu (Dep. of App. Bio. Sci., Tokyo University of Science)
18. New aspect of stretch-activated calcium channel
Hidetoshi Iida (Dep. Biology, Tokyo Gakugei University/ CREST JST)
19. Molecular mechanism of calcium regulation of actin-myocin cytoskeleton system.
Etsuo Yokota (Grad. Sch. Sci., Himeji Institute of Technology)

**資源生物科学研究所創立90周年記念
第21回 資源生物科学シンポジウムプログラム**

日 時：平成16年12月18日（土） 9:20～16:40（受付 9:10より）

場 所：倉敷市立美術館

テーマ：「比較生物学に基づくポストゲノムの展開」－機能性の解明と生物多様性の分化－

- | | | |
|-------------------------|-------|-------------|
| 1. 哺乳類を例とした比較ゲノム解析の諸手法 | 斎藤 成也 | (国立遺伝学研究所) |
| 2. 植物はいかに日の長さを認識しているのか？ | 井澤 毅 | (農業生物資源研究所) |

-
- 短日植物イネと長日植物シロイヌナズナの比較分子生物学 -
 - 3. ムギ類の広域適応を可能にした遺伝子群の比較分子遺伝学 加藤 鎌司 (岡山大学農学部)
 - 出穂特性関連遺伝子の解析 -
 - 4. イネ科作物の半矮性形質の機構と利用 最相 大輔 (岡山大学資源生物科学研究所)
 - “緑の革命”と渦性オオムギとの比較-
 - 5. 生物多様性におけるエピジェネティクスの意義 土生 芳樹 (農業生物資源研究所)
 - 6. 変異体から見た発生・分化の多様性 長戸 康郎 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

21st RIB Symposium (December 18, 2004. Kurashiki City Art Museum Hall)

Title: The Development of Post-Genomics Based on Comparative Biology

-Functional Analysis and Differentiation of Biodiversity-

1. Various methods of comparative genomics with special reference to mammalian genomes
Naruya Saitou (Div. Population Genetics, Natl. Inst. Genetics)
2. How plants measure the day length in photoperiodic flowering?
- Comparative molecular biology using the short-day plant, rice and the long-day plant, Arabidopsis-
Takeshi Izawa (Molecular Genetics Group, Natl. Inst. Agrobiol. Sci.)
3. Comparative molecular genetics of wide adaptability of wheat and barley
- Analysis of the genes controlling heading time
Kenji Kato (Lab. Plant Cytogenetics and Breeding, Fac. Agr, Okayama Univ.)
4. Molecular mechanism and commercial utilization of semi-dwarfism in cereal crops
- Comparison between 'Green Revolution' and 'uzu' barley
Daisuke Saisho (RIB, Okayama Univ.)
5. Roles of Epigenetic Regulation in Biological Diversity
Yoshiki Habu (Plant Cell Engineering Lab, Natl. Inst. Agrobiol. Sci.)
6. Diversity of developmental processes inferred by mutant analyses of rice
Yasuo Nagato (La. Plant Breeding and Genetics. Grad. Sch. Agr. Life Sci. Univ. Tokyo)

研究所創立90周年記念

平成16年度岡山大学資源生物科学研究所公開講座プログラム

日時：平成16年 7月24日～7月31日
場所：岡山大学資源生物科学研究所会議室
講座名：生物のがんばり（2）

- | | | | |
|------------------------------------|----------|-------|-----------|
| 1. 根が持つ知られざる力 | 7月24日（土） | 松本 英明 | 資源生物科学研究所 |
| 2. 大切な水：細胞はどうやって水の出入りをコントロールしているか？ | | 且原 真木 | 資源生物科学研究所 |
| 3. ウイルスの不思議 | 7月31日（土） | 玉田 哲男 | 資源生物科学研究所 |
| 4. 植物による澱粉の貯蔵と利用 | | 山崎 良樹 | 資源生物科学研究所 |

The 90th Anniversary of the Founding of Institute

Program of RIB Open Lectures, Okayama University 2004(July 24~July 31, 2004,RIB)

Title: perseverance of living things

- | | | |
|-------------------------------------------------------------------|---------|-------------------|
| 1. Unknown capability of plant root | July 24 | Hideaki Matsumoto |
| 2. Water is important:how cells control water influx and efflux ? | | Maki Katsuhara |
| 3. A mystery of virus | July 31 | Tetsuo Tamada |

資源生物科学研究所創立90周年記念式典ならびに記念講演会

岡山大学資源生物科学研究所は、大正3年（1914年）に大原孫三郎氏によって創立され、平成16年に創立90周年を迎えました。研究所創立90周年記念式典、記念講演会、記念祝賀会を平成16年12月17日午後に行われ、学内外から多数の参加者を得て、盛会裡に無事終了しました。

記念式典

2004年12月17日(金) 14:00 - 14:40 倉敷市立美術館

記念講演会

2004年12月17日(金) 14:50 - 16:50 倉敷市立美術館

- | | | |
|----------------------------------------|-------|--------------------|
| 1. 大原農研から資源生物科学研究所へ
- センテナリアルに向けて - | 村田 稔 | (岡山大学 資源生物科学研究所) |
| 2. アブラナ科植物の自家不和合性研究 | 磯貝 彰 | (奈良先端科学技術大学院大学) |
| 3. 植物バイオテク研究と私たちの未来
- 基礎研究の役割 - | 岩渕 雅樹 | (独立行政法人 農業生物資源研究所) |

記念祝賀会

2004年12月17日(金) 17:30 - 19:30

場所：倉敷国際ホテル

The 90th Anniversary of Founding of Research Institute for Bioresources, Okayama University

Research Institute for Bioresources, Okayama University was established in 1914 by Mr. Magosaburo Ohara. On Friday, December 17, 2004, the 90th Anniversary of Founding of the Institute was celebrated in Kurashiki. The ceremony, lecture and party were largely attended.

Ceremony

December 17, 2004. Kurashiki City Art Museum

Memorial Lecture

December 17, 2004. Kurashiki City Art Museum

- 1 . A history from the Ohara Institute to the Research Institute for Bioresources: – To reach the centennial anniversary –
Minoru Murata (RIB, Okayama Univ.)
- 2 . Studies on the self-incompatibility in Brassica family
Akira Isogai (Nara Inst. of Sci. and Tech.)
- 3 . Plant biotechnology and our future – A mission of the basic study –
Masaki Iwabuchi (National Inst. of Agrobiol. Sci.)

Party

December 17, 2004. Kurashiki Kokusai Hotel

Annual Report 2004

Director: Kazuyoshi Takeda

Editorial Members: Yoshiki Yamasaki
Toshihiko Maitani

Published by Research Institute for Bioresources, Okayama University
Chuo 2-20-1, Kurashiki 710-0046, Japan
Tel: +81-86-424-1661
Fax: +81-86-434-1249

岡山大学資源生物科学研究所報告 第12巻 (Annual Report 2004)

平成17年 3月25日 印刷
平成17年 3月31日 発行

発行所 岡山大学資源生物科学研究所
710-0046 倉敷市中央2丁目20-1
TEL : 086-424-1661
FAX : 086-434-1249

編集委員 山崎 良樹
米谷 俊彦

印刷所 昭和印刷株式会社

