### 公募案内

# 岩手大学農学部附属寒冷バイオフロンティア研究センター 学術研究員 募集

岩手大学農学部附属寒冷バイオフロンティア研究センターは、以下の要領で学術研究員(ポスドク) を公募します。

## 1. 応募資格と研究分野

着任時に学位を有しており、当センター配属教員とともに以下に示すいずれかのプロジェクトを担当できる者。各プロジェクトの概要等は、当センターホームページ (http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~icg-1/CFRC/gaiyou-3.htm)を参照するか、担当教員に直接照会してください。なお、選考の過程で業績等に関わる評価が同等である場合には、男女共同参画社会基本法の趣旨に則り、女性を優先的に採用します。

- a) 植物の呼吸制御システムに関する研究(担当:伊藤 菊一)
- b) 植物の凍結耐性分子機構:低温馴化と凍結傷害(担当:上村 松生)
- c) リンドウ越冬芽の休眠と耐寒性を支配するしくみ(担当:堤 賢一)
- d) 大腸菌におけるタンパク質膜挿入に関わる糖脂質の機能解析(担当:西山 賢一)
- e) 植物の凍結下における傷害とそれに対する分子耐性機構(担当:河村 幸男)
- f) イネ胚乳発達初期過程における細胞増殖制御機構の解明(担当:斎藤 靖史)
- g) Elucidating the molecular components that regulate the auxin response under cold stress. (担当:Rahman, Abidur)

#### 2. 着任時期

平成22年4月1日

## 3. 着任場所

岩手大学農学部附属寒冷バイオフロンティア研究センター(盛岡市)

## 4. 任期

1年契約。最長3年まで更新が可能。

## 5. 募集人員

1名

### 6. 待遇

国立大学法人岩手大学非常勤職員就業規則による。

### 7. 応募書類

- 1) 履歴書(様式自由、メールアドレスを必ず書いてください)
- 2) 研究業績目録(原著論文、総説、著書、特許、その他参考事項に分けて記す)

- 3) 主要論文別刷(各1部)3編以内(コピー可)
- 4) これまでの研究の概要 (A4 用紙 1 枚以内)
- 5) 着任後の研究に対する抱負(A4 用紙 1 枚以内)
- 6) 自己アピール (A4 用紙 1 枚以内)
- 7) 応募者について問い合わせが可能な方の氏名・所属・連絡先 (1~2 名、メールアドレスも書いてください)

## 8. 応募締切

平成22年2月5日(金)(必着) その時点で適任者がいなければ適任者が決まるまで。

# 9. 応募方法 (郵送、又は、e-mail)

郵送の場合、応募書類を入れた封筒に「学術研究員応募書類在中」と記し、送付してください。 e-mail の場合、件名を「学術研究員応募」と記載し、応募書類を pdf ファイル形式で添付してください。

#### 10. その他

- 1) 選考の途中でセミナーやインタビューをお願いすることもあります。
- 2) 応募書類はお返しいたしません。採否に関わらず結果をお知らせします。

# 11. 連絡先及び宛先

〒020-8550

盛岡市上田 3-18-8

岩手大学農学部附属寒冷バイオフロンティア研究センター

木村 千寿(きむら ちず)

電話: 019-621-6240 FAX: 019-621-6243

電子メール: cryo@iwate-u.ac.jp

植物の呼吸制御システムに関する研究(生体熱制御システム研究分野)

ザゼンソウを含む発熱植物を対象に、その熱産生等に関するメカニズムの解析や熱制御システムの解明 および、その応用に向けた研究を行う。今回は、植物の呼吸制御システムに関わる以下の3つの研究項 目のいずれかに関心を持ち、熱意を持って研究を推進できる方を歓迎する。

## 1. ザゼンソウにおける寒冷適応戦略

早春に花を咲かせるザゼンソウは氷点下を含む外気温度の変動にも拘わらず、その肉穂花序の温度を 20 内外に維持する能力を有する。本研究においては、ザゼンソウの発熱の意義や熱産生に必要な因 子や細胞機能などを研究し、寒冷環境におけるユニークな生物適応戦略としてのザゼンソウの発熱現象 を明らかにする。

## 2. 恒温植物の熱制御システムの解明

ハスはザゼンソウとともにその発熱現象において"恒温性"が観察される植物である。恒温植物においては、"熱産生"に関するメカニズムとともに、"温度センシング"に関与する因子が存在することが予想される。本研究においては、ハスやザゼンソウ等の恒温植物を対象に、それぞれの"温度センシング機構"に関する研究を行う。

3. 生物を模倣した熱制御システムおよびエネルギー変換デバイス等の開発 これまで、ザゼンソウの発熱現象が、"Zazen attractor"と名付けた非線形アルゴリズムにより達成されていることが明らかになっている。本研究においては、岩手大学工学部等と共同研究を推進している"植物の温度制御システム原理に基づいて動作するコントローラの開発"や、"エネルギー変換デバイスの開発"に関する研究を行う。 生命適応研究分野 (上村 松生) http://news7a1.atm.iwate-u.ac.jp/~crcdbbt/index.htm

植物の凍結耐性分子機構:低温馴化と凍結傷害

地球規模での気候変動が進む現代においても、秋口の早霜や春先の晩霜などで生じる凍結による農作物に対する被害は後を絶たず、植物の寒冷環境下における耐性獲得と傷害発生メカニズムを明らかにする意義は大きい。凍結傷害の初発部位は細胞膜であり、その構造・機能を低温・凍結下で維持することが生存には不可欠である(Uemura and Steponkus, 1999; Uemura et al., 2006 )。当研究グループ(一部、河村准教授との共同研究)は、世界的にユニークな植物の寒冷適応分子機構研究をめざし、低温馴化過程で積極的に起こる細胞膜の組成的・機能的改変の様相を詳細に理解する(Kawamura & Uemura, 2003; Tominaga et al., 2006; Minami et al., 2009; Yamazaki et al., 2008 & 2009)とともに、細胞膜を凍結ストレスから保護すると考えられる細胞内変動についても研究を進めている(Sasaki et al., 2008; Nagao et al., 2009 )。さらに、低温耐性を支配する遺伝子発現制御ネットワークの統合的理解に向けた分子生物学的、生理生化学的な研究も合わせて進めている(産業技術総合研究所および岩手生物工学研究センターとの共同研究)。今回は、上述したような領域における研究推進に積極的に関わり、進行中の研究テーマを強力に進める、あるいは、関連領域で独自のテーマを設定して研究を進めることができる研究員を募集する。

Division of Cold-Adaptation Biology (Matsuo Uemura)

Molecular Mechanism of Plant Freezing Tolerance: Cold Acclimation and Freezing Injury

Elucidation of mechanisms of plant freezing tolerance is still very important and critical to prevent crop plants from being injured by late fall and/or early spring frosts. It is well known that the primary site of freezing injury in plants is the plasma membrane and maintaining the integrity of the plasma membrane is of the most importance to survival under severe cold conditions. Our research objectives, in part in collaboration with Yukio Kawamura's group, are to understand structural and functional alterations in the plasma membrane that occur actively during cold acclimation. To achieve our research goals, we have demonstrated cold-induced dynamic alterations in plasma membrane compositions (Kawamura & Uemura, 2003; Tominaga et al., 2006; Minami et al., 2009; Yamazaki et al., 2008 & 2009) and in other cellular components that may affect the performance of the plasma membrane at low temperature (Sasaki et al., 2008; Nagao et al., 2009). In addition, we have recently initiated to elucidate how changes in gene expression profiles involve in enhancing freezing tolerance of plants (in collaboration with research groups in Iwate Biotechnology Research Center, IBRC, and National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, AIST). We welcome applications from energetic and creative persons who are willing to join our exciting research projects that will contribute greatly to the needs of people to secure their life.

# リンドウ越冬芽の休眠と耐寒性を支配するしくみ

堤

越冬芽の休眠誘導のしくみ、耐寒性のしくみ、及び休眠誘導と耐寒性構築の連絡のしくみを研究する。休眠については細胞周期停止、特にG<sub>0</sub>への進入と維持の機構および DNA 複製開始制御の視点から、耐寒性についてはこれまでに同定した複数種の候補タンパク質・遺伝子の機能と発現調節の研究から進める。これらの研究は植物分野で研究があまり進んでいないものである。タンパク質解析に経験があり、意欲のある人を募集する。

# 参考論文

1. T. Hikage, Y. Saitoh, C. Tanaka-Saito, H. Hagami, F. Satou, Y. Shimotai, Y. Nakano, Takahashi, Y. Takahata, and K. Tsutsumi. (2007)

Structure and allele-specific expression variation of novel alpha/beta hydrolase fold proteins in gentian plants. *Mol. Genet. Genomics* 278 (1), 95-104.

- 2. M. Takahashi, T. Hikage, T. Yamashita, Y. Saitoh, M. Endou and K. Tsutsumi (2006) Stress-related proteins are specifically expressed under non-stress conditions in the overwinter buds of the gentian plant *Gentiana triflora*. *Breeding Sci.*, 56 (3), 39-46.
- 3. H. Minami, J. Takahashi, A. Suto, Y. Saitoh, and K. Tsutsumi (2006)

Binding of AIF-C, an Orc1-binding transcriptional regulator, enhances replicator activity of the rat aldolase B origin. *Mol. Cell. Biol.* 26 (23), 8770-8780.

## 大腸菌におけるタンパク質膜挿入に関わる糖脂質の機能解析 (担当教員:西山賢一)

大腸菌の内膜に局在する膜内在性タンパク質は、その翻訳に共役して膜挿入する。これらのタン パク質の膜挿入機構に関しては多くの研究が蓄積しており、現在では大まかに2つの経路で膜挿入 が起こると考えられている。一つは、合成途中の膜タンパク質はシグナル認識粒子 (SRP) により 内膜にターゲットされ、トランスロコン (SecYEG) において膜挿入が進行する経路であり、多く の膜タンパク質がこの経路で膜挿入する。この経路は、必要な因子や膜挿入機構等が真核生物にお ける小胞体膜挿入と高い相同性を示す。もう一つはSRPやSecYEGには全く依存しない経路であり、 比較的分子量の小さな膜タンパク質がこの経路で膜挿入する。この経路に従う膜タンパク質はリン 脂質のみからなるリポソームにすら膜挿入することから、自発的膜挿入経路であると考えられてき た。しかし、SecYEG に依存する膜タンパク質でもりリポソームに自発的膜挿入するため、この経 路は生体内における膜挿入機構を反映していない、in vitro 実験系における artifact であることが判明 した

| 一方、リポソームに生理的濃度のジアシルグリセロールを加えておくと、自発的膜挿入は 完全に抑制されることが判明した12。こうした生理的な条件では、従来自発的膜挿入すると考えら れてきた膜タンパク質でも膜内在性の未知の因子に依存して膜挿入することが明らかになった 12. 膜挿入活性を指標として内膜から膜挿入因子を検索し、SDS-PAGE 上で分子量約8kDaの精製標品 を得た。この因子はSRP やSecYEG に依存する膜挿入経路においても必須の因子であった $^1$ 。すな わち、この因子はすべての膜タンパク質の膜挿入に必須であり、膜挿入反応には極めて重要な因子 であると考えられる。構造解析の結果、この因子は複合糖脂質であり、糖部分には3個のアミノ糖 を構成成分とするユニットの繰り返し配列が存在し、この部分がリン脂質に連結された構造を取っ ていることが判明した。

本研究では、この複合糖脂質の機能を詳細に調べることを目的とする。まず、因子の構造を基にその生合成に関わる因子を探索し、それらをコードする遺伝子破壊を行う。因子を枯渇させた株を構築し、タンパク質膜挿入反応への影響を *in vivo* で調べる。申請者は膜タンパク質の精製や大腸菌の遺伝学に堪能であることが望ましい。

- 1 ) Nishiyama et al. J Biol Chem, 281, 35667-35676 (2006)
- 2 ) Kawashima et al. J Biol Chem, 283, 24489-24496 (2008)

植物の凍結下における傷害とそれに対する分子耐性機構

植物は、温度や湿度などの環境条件の変化に対し、柔軟に対応する能力を有する。一方、地球温暖化は激しい気象変動を伴い、その変動は植物の環境適応能力を超える場合がある。例えば、農作物の凍霜害は地球温暖化により減少すると考えられているが、実際には、東日本以北などでは増える傾向にあることが報告されている。このように、植物の凍結耐性機構を、分子から深く理解することは農業的にも生態学的にも急務である。当研究グループでは、凍結下における植物細胞の傷害およびそれに対する分子の耐性機構の研究を行っており(一部、上村教授との共同研究)、特に、実際の凍結現場の現象を観察することを目指している(Yamazaki et al. 2008a, 2008b, 2009)。

さて、凍結は複合的なストレスを植物細胞にもたらすことが言われてきた(Levitt 1980)。例えば、乾燥や塩濃縮を伴う凍結脱水ストレスや、氷晶成長による機械的ストレスである。一方、耐凍性増大のためには細胞膜が凍結下で安定的になることが必須であることも報告されてきた(Steponkus et al. 1993)。すなわち、凍結耐性機構の解明には、脱水ストレス、もしくは機械ストレスに対する細胞膜の安定性を理解することが鍵となる。これまでは凍結脱水ストレスにおける細胞膜の安定性のみに焦点が当てられ、凍結機械ストレス耐性機構に関する研究はほとんど無かった。

近年、当研究グループは、シロイヌナズナにおける凍結機械ストレス耐性として、細胞膜修復が重要な働きをすることを明らかにした(Yamazaki et al. 2008b)。 細胞膜修復は、次の3つのステップ、 )細胞膜損傷箇所からの細胞外カルシウムの流入、 )カルシウムセンサー分子であるシナプトタグミンによるカルシウム感知、 )カルシウム依存的エキソサイトーシスによる小胞と細胞膜の融合、からなる。動物の細胞膜修復の分子機構においては、複数の分子、例えば、エキソサイトーシス関連分子である SNARE タンパク質なども関与する複雑な機構であることが示されている。しかし、植物細胞においては、 )細胞膜に局在する植物シナプトタグミン SYT1 が関与すること、)SYT1 が細胞膜修復で機能する上で、細胞膜マイクロドメイン領域が重要な場であること、以外は分かっていない(Yamazaki et al. 2008b; Minami et al. 2009)。

以上の背景をもとに、現在および今後の研究では、下記の5つの課題を取り扱う。

- 1) 植物における細胞膜修復能の一般性と凍結耐性との進化的関連
- 2)細胞膜修復に関与する SNARE タンパク質の同定および解析
- 3) 細胞膜マイクロドメイン領域における SYT1 相互作用分子の同定および解析
- 4)細胞膜修復に関与する小胞の同定およびその凍結動態の観察
- 5)組織レベルでの凍結機械ストレス耐性と凍結脱水ストレス耐性の関係性の解明

本公募では、上述したようなテーマに関わり、研究を進めることが出来る人、もしくは、「植物の 凍結下における傷害とそれに対する分子耐性機構」に関連する独自のテーマを設定し、研究を進め ることができる研究員を求める。

### イネ胚乳発達初期過程における細胞増殖制御機構の解明 (担当:斎藤靖史)

イネの胚乳発達は温度による影響を受けやすい。低温では胚乳発達が遅れ、高温では、速度が向上するが、種子の品質が低下する。よって寒冷による米生産量の減少、温暖化による米の品質低下などが問題となる。このような気候変動に対して安定した米の生産量、品質を維持するために、イネ胚乳発達のメカニズムの解明は重要である。イネ胚乳核は受精直後から活発に増殖するが、細胞質分裂がおこらないためシンシチウム(多核体)が形成される。受精後3日後、細胞化が起こり、シンシチウムを形成している胚乳核の間に一斉に細胞壁が形成され、胚乳は多数の単核の細胞の集合体となる。細胞化直後、種子中央に存在する巨大な液胞を取り囲む一層の単核胚乳細胞が膜状に配置し、胚乳細胞はその後、液胞領域を埋め尽くすまで細胞分裂を繰り返す。胚乳核の増殖速度は一定なので、シンシチウムを形成している時期の長さが胚乳、種子サイズを決定づける。

本研究では、イネ胚乳のシンシチウム形成と細胞化に関わる細胞周期制御の分子機構を解明する。現在までに細胞周期進行のブレーキの役割を果たす CKI の 1 つ Orysa;KRP3 と、細胞周期制御タンパク質を時期特異的にユビキチン化する F-box 遺伝子の 1 つが、シンシチウムを形成している時期のイネ胚乳で特異的に発現していることがわかっている(J Exp Bot *in press*, doi: 10.1093/jxb/erp343)。これらの遺伝子のイネ胚乳における機能を細胞生物学的手法やノックダウン解析用いて明らかにするために研究員を募集する。

### 環境温度変動に対する RNAi サーモメーターの機能解明 (担当:斎藤靖史)

野外で生育する植物は実験室内で一定の条件下で栽培される植物とは異なり、環境条件の変動にさらされている。我々は転写制御系の他に、植物ゲノムにコードされる非コードRNAによる発現制御がこのような環境条件の変動に対抗するために必要と考え、研究を続けている。非コードRNAから作られる tasiRNA 量が低温条件下で減少し、tasiRNA ターゲット転写産物が低温において増加することがわかった。よって、植物ゲノムには温度を関知して遺伝子発現を調節する非コードRNA(tasiRNA)が存在すると考えられ、これをRNAi サーモメーターと名付けた。野外で生育する植物は夜から早朝にかけて低温にさらされ、昼には常温で生育することが多い。このような温度変動を毎日周期的に受ける植物には、低温で発現上昇した転写産物を常温で速やかに消失させる機構が存在すると考えられる。現在、低温で増加した転写産物の常温での消失過程にRNAi サーモメーターが関与する事例が得られているので、この解析を進めるための研究員を募集する。

## Elucidating the molecular components that regulate the auxin response under cold stress

The plant hormone, auxin controls the plant behavior from embryogenesis to senescence. However, little is known about the response of this hormone under abiotic stresses such as cold. In an effort to understand the mechanistic basis of auxin response under cold stress, we have recently developed a new gravity response assay using Arabidopsis roots as a model system. Combining molecular and cellular approaches, we showed that cold stress primarily targets the auxin transport system rather than auxin signaling and inhibits basipetal auxin transport by blocking the intracellular trafficking of the auxin efflux carrier, PIN2 and PIN3. We also demonstrated that the inhibition of protein trafficking by cold stress is selective and independent of cellular actin organization and membrane fluidity. This work was published in Plant Cell (shibasaki et al., 2009). The future aspect of the project would be centered on both classical genetics and system biology. By using the new assay system, we are planning to do a large scale screening for mutants that show a normal gravity response under cold stress followed by subsequent molecular and cellular characterization of the mutated genes. The second approach to identify the molecular components regulating the pathway would be through system biology. To this end, a pilot proteomics project has been successfully established and we are expecting to expand the established system to identify the proteins that show a differential expression pattern in our assay system. The up regulated and down regulated proteins-peptide will be divided in groups according to their presumptive function an effort will be made to understand their physiological role using a reverse genetic approach.

The possible candidates are expected to have a Ph.D. in molecular biology, plant molecular biology or a related field. Applicants should have experience in molecular biology, gene cloning and proteomics. Experience in transgene expression and signal transduction in plant systems will be an advantage but not absolutely necessary.