

「植物の機能と制御」

平成12年度採択研究代表者

斉藤 和季

(千葉大学大学院薬学研究院 教授)

## 「ポストゲノム科学を基盤とする植物同化代謝機能のダイナミクス解明」

### 1. 研究実施の概要

本研究では、急速にゲノム解析が進んでいるシロイヌナズナとイネを研究材料として、プロテオミクスやメタボロミクスなどのポストゲノム科学を基盤とした炭素・窒素・硫黄・リンの同化代謝間相互のダイナミクスを解明することを目的とする。本年度は本格的にポストゲノム解析とそれに基づく遺伝子機能同定研究を行った。特に、栄養ストレス下および変異体におけるシロイヌナズナのトランスクリプトームとメタボローム解析の結果を統合的にマップ上に投影する研究を進めた。硫黄欠乏、窒素欠乏に対してのグローバルな応答とグルコシノレートなどの特異代謝系の応答を示すことが出来、同時にいくつかの未知遺伝子機能を同定した。また、アントシアニン変異体を用いてトランスクリプトームとメタボロームの統合により未知遺伝子機能を同定した。これらの変異体や過剰発現体のトランスクリプトーム、メタボローム解析によって遺伝子-代謝産物ネットワークの理解を進めた。窒素同化代謝については、イネのインブレットラインを用いて量的形質を決定している遺伝子座(QTL)の解析を進め、生産性を決定する窒素代謝関連酵素含量、穂数、粒重などの重要なQTLを染色体上にマップした。このQTL領域から原因遺伝子の単離を目指し、第2染色体QTL領域の高密度マッピングを進めると同時にQTL領域を含む染色体置換系統を作出し、穂数を決定する領域約40cMから約23kbまでこの領域を狭めることに成功した。粒重を決定している第11染色体のQTL領域にかんしても、染色体置換系統群を作出して解析を進めた。また、サイトゾル型グルタミン合成酵素遺伝子欠損株の解析を進め、その成果を報告した。リン酸代謝については、液胞膜リン酸輸送系同定のために進めていた液胞膜プロテオーム解析を条件を変えて進め、昨年度分と合わせて138の膜貫通タンパク質を同定した。また、イノシトールリン酸化合物の代謝過程の解析を進めるために、複数の関連酵素のシロイヌナズナノックアウト株を作成し、イノシトールリン酸化合物の濃度変化を検討した。さらにシロイヌナズナのリン酸転流に関連したトランスクリプトーム解析を進め、ソース・シンク転換に機能すると思われる複数の未知遺伝子を見出した。また、遺伝子破壊株をもちいてイネの糖代謝に関与する3種類のヘキソキナーゼ遺伝子の機能解析を進めるとともに、アンモニウムトランスポーター遺伝子群の機能分担解析を通して、根における窒素吸収制御の仕組みを解明した。また、ペルオキシソームタンパク質輸送因

子の網羅的*in vivo*機能解析を進め、サイトゾル型タンパク質輸送レセプター複合体の機能を明らかにした。小胞体由来の特異的なタンパク輸送小胞を失った突然変異株についても解析を続行中である。

## 2. 研究実施内容

1. 硫黄欠乏条件下の遺伝子発現の変化を包括的に記述し、さらにその制御機構を推定することを目的として、シロイヌナズナアレイを用いた解析（トランスクリプトミクス）と網羅的代謝物解析（メタボロミクス）を時系列で行った。特に、メタボローム解析は、超高分解能フーリエ変換質量分析による非ターゲット解析と、HPLC, キャピラリー電気泳動などによるターゲット解析を組み合わせ、栄養欠乏条件下での代謝産物の変動について時系列で網羅的なプロファイリングを行い、トランスクリプトームの結果と統合した。統合には自己組織化マップ(SOM)を用いた。その結果、グルコシノレート生合成と分解などの特異的代謝系の協調的な応答が示され、これらからグルコシノレート代謝に関わる遺伝子の機能を網羅的に推定することに成功した。
2. また、シロイヌナズナの完全長cDNA高発現ラインをGC-MSを用いた代謝産物の定量によるスクリーニングについて、より精緻でハイスループットなケモメトリクス手法を開発した。この方法では、複数の代謝産物の組み合わせによってのみ表現型が示される変異体を特定し、なお表現型変化の原因代謝産物群を特定できる。
3. セリンアセチル転移酵素は、システイン生合成の重要な中間体であるO-アセチルセリンを生成する酵素である。シロイヌナズナゲノムに存在する5個のセリンアセチル転移酵素様遺伝子について包括的に、酵素学的性質、局在性、組織特異のプロモータ発現、ストレス誘導性などを検討した。本年度は、これらの遺伝子破壊株を取得し、その表現型解析を進めた。
4. 硫黄欠乏条件下での制御機構の解明を目的としてシロイヌナズナ種子のプロテオーム解析を行った。シロイヌナズナを硫黄欠乏条件下および通常条件下で栽培し得られた完熟種子より抽出したタンパク質を二次元電気泳動で分離しMALDI-TOFMSにて同定した。各スポットを消化酵素で分解し、C末端側に相当するペプチドの分子量を解析した結果、C末端のアミノ酸が1つずつ失われてゆく断片化が起こっていることが明らかになった。さらに硫黄欠乏条件下では、この断片化が抑制されることが推定された。これらの事から種子貯蔵タンパク質は硫黄欠乏条件下で異なる翻訳後切断や修飾を受けていることが示唆された。本年度はこれらのC末端のプロセッシングに関与しているエキソペプチダーゼの同定を試みた。
5. シロイヌナズナのアントシアニン高蓄積変異体である*pap1-D*変異体について、トランスクリプトミクスとメタボロミクスを統合し、アントシアニン生産に関与する遺伝子—代謝産物ネットワークの解明と未知遺伝子機能の同定をした。本年度は2個の未知アシル転移酵素遺伝子の機能についてほぼ同定することが出来た。
6. 上記の技術基盤をもとに、シロイヌナズナだけでなくいくつかの実用植物についても

メタボロミクスに基づいたファンクショナルゲノミクス研究を開始した。具体的には、アントシアニン生産に関する成分変種である赤ジソ、青ジソと抗腫瘍性アルカロイド・カンプトテシンを生産する細胞培養系について、メタボロミクスと網羅的遺伝子発現解析による未知遺伝子機能の決定を進めた。本年度は、PCRセレクト法によって、アントシアニンやアルカロイド生産細胞に特異的に発現している遺伝子を網羅的に同定した。

7. 窒素リサイクル機構で鍵を握る、老化葉身のGS1と若い器官のNADH-GOGATの量を決定している複数のQTLを染色体上にマッピングした。本年度は、GS1と穂数など農業形質のQTLが重複して検出された第2染色体に着目し、コシヒカリを遺伝背景として、これらのQTL領域約40cMのみがインド型品種カサラスに置換された染色体置換系統群(NIL: C22)を作出し、QTL効果を、染色体置換系統を用いて詳細に解析した。この領域を、染色体置換系統と新規に設定したDNAマーカーを用いて、約23kbまで絞り込むことができた。同時に、第11染色体にも着目し、GS1含量と粒重を決定しているQTLに着目し、染色体置換系統を作出して解析を進め、GS1含量は約18.2cM、粒重は約14cMの領域に含まれることが判明した。
8. イネにおけるグルタミン情報伝達機構に着目し、グルタミンセンサーと考えられる*OsACR*遺伝子群を単離すると共に、ACR3がグルタミン結合能を持つこと、酵母ツーハイブリッド法により小さな分子シャペロンと相互作用すること、並びに核膜に局在することなどを明らかにした。またPIIタンパク質が1コピーであり、プラスチドに局在していることや、酵母ツーハイブリッド法によりN-アセチルグルタミン酸キナーゼと結合することなどが明らかとなった。RNAi法によるPIIノックダウンイネを作出し、DNAマイクロアレイ解析や、アミノ酸に絞ったメタボローム解析を進めた。
9. イネに新たなサイトゾリックGSが存在することを見出し、それぞれ*OsGS1;1* (従来のGS1)、*OsGS1;2* (従来のGSr)、*OsGS1;3* (新規なGS1) と命名した。*OsGS1;3*の発現は穎果に限定されており、また*OsGS1;1*は主に地上部と根、*OsGS1;2*は主に根で発現していた。*Tos17*挿入により*OsGS1;1*が破壊された変異体の解析を進め、GS1;1の生理的な重要性を明らかにすると共に、根における*OsGS1;1*と*OsGS1;2*の発現解析や大量発現系を用いた酵素の動力学的解析を行っている。
10. GOGAT反応は、窒素代謝と炭素代謝の接点に位置しており、代謝間クロストーク研究として重要である。しかし、2-OGのGOGAT反応への供給系は依然として不明である。この供給系を解明するため、NADイソクエン酸脱水素酵素(IDH)、NADPイソクエン酸脱水素酵素(ICDH)、グルタミン酸脱水素酵素(GDH)に着目し、種々の解析を行ったが、現時点でどの経路によって2-OGが供給されているか、依然として判明していない。
11. シロイヌナズナ培養細胞から単離、純化した液胞膜を用いて、リン酸輸送体同定のためのプロテオーム解析を進めた。昨年度とは異なる手法を含め計7回の分析を行い、これまでに138種の膜貫通タンパク質を見出した。このうち、プロモーター領域にリ

ン酸応答配列を持つ機能未知タンパク質について、形質転換株の作成を進めている。

12. シロイヌナズナイノシトールリン酸合成系に関与するMIPS（ミオイノシトール-1-リン酸合成酵素）とイノシトールリン酸化酵素について、複数の遺伝子のタグラインとRNAi株の取得に成功し、その種子のイノシトールリン酸含有量について測定を進めたが、現時点では有用な変異のある株を見出すことは出来なかった。さらに新たな系統の作成を進めている。
13. シロイヌナズナ未熟種子におけるMIPS酵素の局在を検討し、これまでに知られていたイネとは異なり、胚乳特異的に発現すること、IP6の合成が細胞間の相互作用を伴って生じることを明らかにした。
14. シロイヌナズナを材料に、イオンクロマトグラムに質量分析計をつなぐことで、糖リン酸の網羅的分析を可能にする手法を開発した。
15. シロイヌナズナリン酸転流機構解析のために、シュートにおけるソース・シンク組織の同定を行い、それぞれの組織から単離したRNAを用いてトランスクリプトーム解析を進めた。リン酸欠乏、エイジングからソース・シンク過程を分離する手法を開発し、あらたにソース・シンク転換のみに関連すると予想される遺伝子を複数見出した。
16. 細胞内糖センシングの分子機構：3種類のイネヘキソキナーゼ遺伝子（*OsHXX1-3*）の糖代謝・センシングにおける機能分担について、ノックアウト変異体を用いた解析を行った。レトロトランスポゾン*Tos17*遺伝子による遺伝子挿入破壊株についてスクリーニングを行い、第3エクソンに挿入された*OsHXX1*遺伝子破壊株の同定に成功した。この破壊株では、mRNA、タンパク質ともに発現が観察されず、活性も*OsHXX1*由来のグルコキナーゼ活性のみが減少していた。*OsHXX2*のノックアウト変異体の単離も終了した。詳細な解析の結果、*OsHXX1*、*OsHXX2*いずれのノックアウト変異体についても顕著な表現型の変化が観察されなかった。この原因としてイネゲノム中にヘキソキナーゼ遺伝子が多数存在しており、*OsHXX1*および*OsHXX2*それぞれの機能に他の相同遺伝子との重複性が予想された。今後、全ての*OsHXX*遺伝子を考慮した研究が必要である。
17. 糖シグナリング機構の解析：シロイヌナズナの芽生えにおいて、本葉の展開を停止する休眠現象が観察される。すなわち、シロイヌナズナの芽生えには、環境に応じて茎頂分裂組織（SAM）の分裂活性を制御する機構の存在が想定される。本研究では、シロイヌナズナにおいて糖の生成量低下がアブシジン酸（ABA）の生合成上昇を促進するとともに、SAMの分裂活性の低下を誘導することを明らかにした。この知見は、発芽時の使用の展開に続く形態形成過程において、糖とABAがSAMの分裂活性制御に拮抗的に作用することを示す結果である。糖シグナリング機構をより明確にするため、シロイヌナズナ糖高感受性変異体*ghs1*（glucose hyper-sensitive 1）を単離し、遺伝学的・生理学的解析を行った。原因遺伝子単離の結果、*GHS1*遺伝子はプラスチド30Sリボソームタンパク質S21をコードしていることが明らかとなった。本研究によって、葉緑体機能と糖シグナリングの関連が具体的に示された。タンパク質の選択的分解に関与する26Sプロテアソームには、プロテアーゼ活性をもつ20Sとその制御に関わる19S巨大

タンパク質構造体で構成されている。プロテアソーム19S調節複合体のサブユニットRPT2aの機能欠損 (KO) 変異体 *rpt2a* では、糖に対して高感受性を示すことが明らかとなった。いくつかの実験より、プロテアソームを介した糖シグナル伝達機構には細胞周期の制御が関与していることが明らかとなってきた。現在この仮説を証明するため、変異体の分子遺伝学的解析を進めるとともに、プロテアソームの構造と機能に関する研究を進めている。

18. 窒素源トランスポーターの分子機構：3種類のイネアンモニウムトランスポーター cDNA・遺伝子 (*OsAMT1;1*, *1;2*, *1;3*) に着目し、根におけるアンモニウムイオンの取込に関する機能分担の仕組みを検討している。ノーザン解析の結果、*OsAMT1;1*, *1;2*, *1;3* はそれぞれ異なる発現様式を示したことから、根における窒素の取込において異なる機能を担っていると考えられる。酵母変異体を用いた取込活性の解析から、上記3種のAMTはアンモニウム取込活性を有していることが明らかとなった。同時にポジトロンイメージング法を用いた窒素化合物の生体内移動に関する非破壊観察を行った。窒素飢餓処理を施したイネの根におけるアンモニウムの吸収は、3時間のアンモニウム添加処理によって数倍程度上昇することが明らかとなった。窒素代謝や窒素輸送の制御には、根で土壤中の外部窒素源の存在を認識することで規定される場合と、植物体内のグルタミンなどアミノ酸量 (Nステータス) によって規定される場合とが考えられる。アンモニウムイオンに依存していると思われた *OsAMT1* 遺伝子群の発現は、グルタミン合成酵素反応の阻害剤を用いた実験結果から、輸送基質であるアンモニウムイオンの受容ではなく、植物体内におけるグルタミンに制御されている可能性が示唆された。植物の窒素吸収能は、根内のグルタミン量の増加にともない負のフィードバック制御があることが知られている。しかしながら、本研究により *OsAMT1;2* は、その発現がグルタミンの増加によって、正のフィードバック制御を受ける新規の窒素トランスポーターであることを見出したAMT過剰発現イネを作製し、低施肥下で成長可能なイネ作出のための基礎データを蓄積した。
19. キャピラリー電気泳動を用いた発芽イネ胚における代謝産物の解析：メタボロミクス研究実施の手始めとして、発芽時のイネ胚における代謝産物パターンについて検討を加えた。完熟胚ではスクロースや一部のアミノ酸からなる比較的単純な可能性物質のみであったのに対して、発芽に伴い多くの代謝産物の検出・変動が観察された。これらの基礎データをもとに今後さらに研究を進める。
20. データベース解析からペルオキシソームタンパク質の輸送を制御する因子として15種類21個の遺伝子候補を予測し、網羅的な *in vivo* 機能解析を進めている。それらのうちでPEX5およびPEX7遺伝子は、それぞれの翻訳産物が結合してサイトゾル型レセプター複合体を形成していること、この複合体がPTS1型およびPTS2型ペルオキシソームタンパク質輸送の両方を制御していることが明らかとなった。現在、他の遺伝子についても詳細な機能解析を行っている。
21. PAC小胞由来のタンパク質輸送解析については、これまで同定していた変異体がエ

コタイプC24を元に作られており、遺伝子のマッピングに支障を生じた。そこで、エコタイプをコロンビアに変えて変異体を再度スクリーニングを行った。現在すでにいくつかの変異体候補を得ており、これらのバッククロスを行っている。

### 3. 研究実施体制

#### (1) 斉藤グループ

グループ長：斉藤和季（千葉大学大学院薬学研究院・教授）

研究項目：総括、硫黄代謝、二次代謝、メタボロミクス

#### (2) 山谷グループ

グループ長：山谷知行（東北大学大学院農学研究科・教授）

研究項目：窒素代謝、QTL解析

#### (3) 三村グループ

グループ長：三村徹郎（神戸大学理学部・教授）

研究項目：リン代謝

#### (4) 山口グループ

グループ長：山口淳二（北海道大学大学院理学研究科・教授）

研究項目：糖代謝、窒素代謝

#### (5) 林グループ

グループ長：林 誠（岡崎共同研究機構基礎生物学研究所・助教授）

研究項目：タンパク輸送蓄積

### 4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

#### (1) 論文（原著）発表

- Cintia Goulart Kawashima, Masaaki Noji, Michimi Nakamura, Yasumitsu Ogra, Kazuo T. Suzuki and Kazuki Saito: Heavy metal tolerance of transgenic tobacco plants over-expressing cysteine synthase. *Biotech. Lett.*, **26**, 153-157 (2004)
- Masami Yokota Hirai, Mitsuru Yano, Dayan B. Goodenowe, Shigehiko Kanaya, Tomoko Kimura, Motoko Awazuhara, Masanori Arita, Toru Fujiwara and Kazuki Saito: Integration of transcriptomics and metabolomics for understanding of global responses to nutritional stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 10205-10210 (2004)
- Takashi Asano, Ikumi Watase, Hiroshi Sudo, Mariko Kitajima, Hiromitsu Takayama, Norio Aimi, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Camptothecin production by *in vitro* cultures of *Ophiorrhiza liukuensis* and *O. kuroiwai*. *Plant Biotech.*, **21**, 275-281 (2004)

- Ikumi Watase, Hiroshi Sudo, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Regeneration of transformed *Ophiorrhiza pumila* plants producing camptothecin. *Plant Biotech.*, **21**, 337-342 (2004)
- Helen Jenkins, Nigel Hardy, Manfred Beckmann, John Draper, Aileen R. Smith, Janet Taylor, Oliver Fiehn, Royston Goodacre, Raoul Bino, Robert Hall, Joachim Kopka, Geoffrey A. Lane, B. Markus Lange, Jang R. Liu, Pedro Mendes, Basil J. Nikolau, Stephen G. Oliver, Norman W. Paton, Ute Roessner-Tunali, Kazuki Saito, Jorn Smedsgaard, Lloyd W. Sumner, Trevor Wang, Sean Walsh, Eve Syrkin Wurtele, and Douglas B. Kell: A proposed framework for the description of plant metabolomics experiments and their results. *Nature Biotech.*, **22**, 1601-1606 (2004)
- Jun-ichiro Nakajima, Ippei Tanaka, Shujiro Seo, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *J. Biomed. Biotech.*, **5**, 241-247 (2004)
- Cintia Goulart Kawashima, Oliver Berkowitz, Ruediger Hell, Masaaki Noji and Kazuki Saito: Characterization and expression analysis of a serine acetyltransferase gene family involved in a key step of the sulfur assimilation pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.*, **137**, 220-230 (2005)
- Taketo Okada, Masami Yokota Hirai, Hideyuki Suzuki, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Molecular characterization of a novel quinolizidine alkaloid O-tigloyltransferase: cDNA cloning, catalytic activity of recombinant protein and expression analysis in *Lupinus* plants. *Plant Cell Physiol.*, **46**, 233-244 (2005)
- Takayuki Tohge, Yasutaka Nishiyama, Masami Yokota Hirai, Mitsuru Yano, Jun-ichiro Nakajima, Motoko Awazuhara, Eri Inoue, Hideki Takahashi, Dayan B. Goodenowe, Masahiko Kitayama, Masaaki Noji, Mami Yamazaki and Kazuki Saito: Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of *Arabidopsis* plants over-expressing a MYB transcription factor. *Plant J.*, **42**, 218-235 (2005)
- Takehisa, H., Shimodate, T., Fukuta, Y., Ueda, T., Yano, M., Yamaya, T., Kameya, T. and Sato, T.: Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water. *Field Crops Research*, **89**, 85-95 (2004)
- Ishiyama, K., Inoue, E., Watanabe-Takahashi, A., Obara, M., Yamaya, T. and Takahashi, H.: Kinetic properties and ammonium-dependent regulation of cytosolic isoenzymes of glutamine synthetases in *Arabidopsis*. *J.*

*Biol. Chem.*, **279**, 16598–16605 (2004)

- Obara, M., Sato, T., Sasaki, S., Kashiba, K., Nakamura, I., Ebitani, T., Yano, M. and Yamaya, T.: Identification and characterization of QTL on chromosome 2 for cytosolic glutamine synthetase content and panicle number in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical Applied Genetics*, **110**, 1–11 (2004)
- Ishiyama, K., Inoue, E., Tabuchi, M., Yamaya, T. and Takahashi, H.: Biochemical backgrounds of compartmentalized functions of cytosolic glutamine synthetase for active ammonium assimilation in rice roots. *Plant Cell Physiol.*, **45**, 1640–1647 (2004)
- Sugiyama, K., Hayakawa, T., Kudo, T. Ito, T. and Yamaya, T.: Interaction of acetylglutamate kinase with a PII-like protein in rice. *Plant Cell Physiol.*, **45**, 1768–1778 (2004)
- Sekiguchi Y., Mitsunashi N., Mimura T.: Changes in sugar phosphates in Arabidopsis in response to phosphate nutrition measured by improved ion chromatography with pulsed amperometric detection combined with a titanium dioxide column. *Plant Biotechnology*, **21**, 143–150 (2004)
- Sekiguchi Y., Mitsunashi N., Inoue Y., Yagisawa H., Mimura T.: Development of a comprehensive analytical method for sugar phosphates in plants by ion chromatography with pulsed amperometric detection combined with a titanium oxide column. *Journal of Chromatography A*, **1039**, 71–76 (2004)
- Shimaoka T., Ohnishi M., Sazuka T., Mitsunashi N., Hara-Nishimura I., Shimazaki K., Maeshima M., Yokota A., Tomizawa K., Mimura T.: Isolation of intact vacuoles and proteomic analysis of tonoplast from suspension-cultured cells of *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology*, **45**, 672–683 (2004)
- Ohtomo R., Sekiguchi Y., Mimura T., Saito M., Ezawa T.: Quantification of polyphosphate: different sensitivities to short-chain polyphosphate using enzymatic and colorimetric methods as revealed by ion chromatography. *Analytical Biochemistry*, **328**, 139–146 (2004)
- Hayes J., Zhu Y., Mimura T., Reid R.: An assessment of the usefulness of solution culture in screening for phosphorus efficiency in wheat. *Plant and Soil*, **261**, 91–97 (2004)
- Kataoka T., Watanabe-Takahashi A., Hayashi N., Ohnishi M., Mimura T., Buchner P., Hawkesford M.J., Yamaya T., Takahashi H.: Vacuolar sulfate transporters are essential determinants controlling internal



- distribution of sulfate in Arabidopsis. *Plant Cell*, **16**, 2693-2704 (2004)
- Fukumoto T., Nakamura T., Suzuki M., Ogita S., Mimura T., Sasamoto H.: Different effects of four salts and pHs on protoplast cultures of a mangrove *Bruguiera sexangula* suspension cells, *Populus alva* leaves and tobacco BY-2 cells. *Plant Biotechnology*, **21**, 177-182 (2004)
  - Kobae Y., Uemura T., Sato M.H., Ohnishi M., Mimura T., Nakagawa T., Maeshima M.: Zinc transporter of *Arabidopsis thaliana* AtMTP1 is localized to vacuolar membranes and implicated in zinc homeostasis. *Plant & Cell Physiology*, **45**, 1749-1758 (2004)
  - Suzuki M., Hashioka A., Mimura T., Ashihara H.: Salt stress and glycolytic regulation in suspension-cultured cells of the mangrove tree, *Bruguiera sexangula*. *Physiologia Plantarum*, **123**, 246-253 (2005)
  - Oda Y., Mimura T., Hasezawa S.: Regulation of secondary cell wall development by cortical microtubules during tracheary element differentiation in Arabidopsis cell suspensions. *Plant Physiology*, **137**, 1027-1036 (2005)
  - Morita-Yamamuro, C., Tsutsui, T., Tanaka, A., Yamaguchi, J.: Knock-out of the plastid ribosomal protein S21 causes impaired photosynthesis and sugar-response during germination and seedling development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.*, **45**, 781-788 (2004)
  - Mano, S., Nakamori, C., Kondo, M., Hayashi, M. and Nishimura, M.: An Arabidopsis dynamin-related protein, DRP3A, controls both peroxisomal and mitochondrial division. *Plant J.*, **38**, 487-498 (2004)
  - Hayashi, M., Yagi, M., Nito, K., Kamada, T. and Nishimura, M.: Differential contribution of two peroxisomal protein receptors to the maintenance of peroxisomal functions in Arabidopsis. *J. Biol. Chem.* **280**, 14829-14835 (2005)
- (2) 特許出願
- H16年度特許出願件数：2件（CREST研究期間累積件数：13件）