

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「藻類・水圏微生物の機能解明と制御による
バイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」
研究課題「高バイオマス生産に向けた高温・酸性耐
性藻類の創出」

研究終了報告書

研究期間 平成23年10月～平成29年 3月

研究代表者：宮城島 進也
(情報・システム研究機構
国立遺伝学研究所、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

野外環境で単独培養を行うための藻類株選定は、培養実施環境に類似した場所から単離された藻類株のうち、環境変動に比較的高い耐性を持つことを条件に行われる。しかしながら、もっとも多くの株が単離され、整備されてきた、中性・中温環境には、多種多様な藻類、非光合成生物が混在して生息している。従って、これらの藻類株を用いて野外培養を試みても、他の生物が混入し増殖するため、優占的に培養させることは困難である。

このような理由から、これまでの藻類における野外大量培養の成功例は、高塩濃度耐性を有する種(緑藻ドナリエラ等)、高 pH を好む種(藍藻スピルリナ等)などに限られてきた。しかしながら、これらを含む多くの藻類は強固な細胞壁を有するため、内容物抽出のための細胞破碎に比較的高いコストがかかる。また現在のところ形質転換等が行えない。一方で、数種の真核藻類において形質転換系が開発されてきたが、導入遺伝子がサイレンシングを受けることにより遺伝子産物を高発現できないなどの問題が起きている。

一方で我々は、高温酸性(30-60°C、pH 0.5-5.0)において唯一優占増殖する真核生物、単細胞紅藻シアニジウム類を用いた基礎研究を世界に先駆けて進めてきた。シアニジウム類は、他の生物が容易には成育できない酸性環境で比較的速く、高密度まで増殖するため、屋外培養に適していると考えられる。我々は、シアニジウム類の一種であるシゾンのゲノムを真核藻類として初めて100%解読した。さらにシゾンにおける形質転換法を開発した。

本研究では、シゾンのゲノム改変法の確立、オミクス技術の確立、これらを生かした藻類における貯蔵脂質合成制御機構の解明、貯蔵脂質合成能の加速法の開発、さらに、得られた技術の緑藻への応用等を行い、屋外開放培養によるバイオマス生産に適した藻類の開発を目的とした。本研究の結果以下成果が得られた。

- ① 遺伝子破壊法を応用することで、シゾンへの遺伝子導入・導入遺伝子の強制発現・誘導発現系を構築した。さらに細胞内油滴の高感度染色法・定量法及び生化学的定量法を確立した。シゾンのゲノムサイズは真核藻類において最小クラスであり、オミクス解析にも適していることから、現段階において最良のモデル光合成真核生物の系となった。今後、シゾンは、藻類だけでなく植物のモデル系として、代謝改変のみならず、様々な分野の基礎研究のために世界的に使用されると期待される。
- ② これらの技術とオミクス解析により、油滴合成における細胞内小器官の役割を解明し、二酸化炭素固定を調節する遺伝子と、それに引き続いておこる、油滴の主成分である TAG 合成を調節する遺伝子群を同定した。
- ③ その情報を基に、新たに開発した遺伝子改変法によりシゾンの代謝改変を行い、TAG 合成能を強化することに成功した。さらに、タンパク質リジン脱アセチル化酵素の阻害剤や、細胞内アミノ酸濃度を検知する TOR の阻害剤存在下で細胞内に油滴が蓄積することを発見した。緑藻クラミドモナスでも同様の結果が得られたことから一般性のある現象であり、これらの情報と技術は、今後他の藻類にも応用されていくと期待される。
- ④ これまでに、高温・酸性耐性の紅藻および緑藻を日本各地の温泉、鉱山廃水から単離し、ゲノム解析、比較ゲノム解析、比較トランスクリプトーム解析を行った。その結果、高温または酸性耐性の向上効果が期待される遺伝子資源候補を多数同定した。そのうち3遺伝子については他生物の高温耐性を向上させる効果があることがわかった。さらに、高温・酸性耐性を有し、細胞内に高度に貯蔵脂質を蓄積する緑藻類の単離にも成功した。
- ⑤ 藻類を用いた従来の油滴(脂質)合成・生産法の欠陥であった細胞増殖の阻害や遅滞を解消するために、細胞増殖を停止させずに、シゾンに油滴を大量に合成・生産させる培地、および光条件を開発した。培地については、他のシアニジウム類や本研究の過程で単離された、高温・酸性耐性緑藻類にも応用し、類似の結果を得た。上記の方法は、遺伝子組換えや培地交換を必要としないため、産業界にも広く応用が可能であると期待できる。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 紅藻シズンの形質転換法の改良および、相同組換えによる染色体任意ローカスへの遺伝子導入、過剰発現、発現誘導系を構築した。既存のウラシル合成遺伝子に加え、クロラムフェニコール耐性遺伝子をマーカーとした形質転換法の開発にも成功した。これにより、ゲノム上の任意複数箇所を編集することが可能となった。30 を超える導入遺伝子発現株を作成したが、導入遺伝子産物は効率よく発現し、これまでのところ、他の真核藻類でしばしば問題となる、導入遺伝子のサイレンシングは認められない。以上のように、他のモデル植物・藻類よりも使いやすいモデル光合成真核生物としての研究系が確立できた。
2. 真核光合成生物として最小のゲノムサイズ(16.5 Mbp)であるシズンはオミクス解析にも最適であり、シズンを用いた、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームの系を確立した。今後、藻類を含む植物のモデル系として、代謝改変に加えて様々な分野の基礎研究に世界的に使用されると期待できる。これらの技術と遺伝子改変系を駆使し、これまでに、油滴の形成過程の解明、油滴の動態に関わる細胞小器官の増殖(PNAS 2013, 2016)、光合成活性と細胞増殖の概日リズムによる時間分け機構(Nat. Commun 2014.)などにつながった。さらに、シズンを用いた先導的・独創的成果が国際的に評価され、Springer 社より、「*Cyanidioschyzon merolae*—A Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology」の執筆依頼を受け、本CRESTプロジェクトメンバーが中心となり執筆し、来年度出版予定である。
3. シズンのオミクス解析、遺伝子導入系を用いて、CO₂ 固定、窒素同化を調節する転写因子群の候補を同定し、その機能解析を進めた。さらに、タンパク質リジン脱アセチル化酵素の阻害剤(特願 2014-144756)や TOR の阻害剤(特願 2013-142173)存在下で細胞内に油滴が蓄積する(それぞれコントロールの 110 倍または 2.3 倍)ことを発見した。緑藻クラミドモナスでも同様の結果が得られたことから一般性のある現象であり、これらは今後の代謝改変のための重要な基礎情報として、チーム内外の藻類バイオマス利用に関する研究を促進するものである。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. シズンの細胞増殖を阻害せずに油滴の蓄積を誘導する培地(通常培地の約 100 倍、窒素源欠乏培地の 5-6 倍、特願 2014-071081)および、光条件(赤色光)(白色光の約 20 倍、特願 2014-152585)を開発した。培地については、別のシアニジウム類やクラミドモナスへも応用し、類似の結果を得た。さらに、この培地組成は海水に類似しているため、海水の利用による培地コストの大幅な低減を検討した結果、一部の海水が利用可能であることを見いだした。上記方法は、遺伝子組換えや培地交換を必要としないため、産業界にも広く応用可能となりうる。更に遺伝子改変株の利用と組合せた高効率の貯蔵脂質生産も期待できる。
2. シズン及びその他のシアニジウム類の安価な大量培養のために、酸性廃水を用いた培養法を検討した。その結果、硫酸酸性温泉廃水にアンモニウム、尿素などの窒素源を添加するだけで、無機合成培地と同程度の速度で同程度の細胞密度(>15 g wet weight/L)まで藻類を培養することが可能となった(Front. Microbiol. 2016)。また、さらに改良の必要があるが、酸性鉱山廃水、排気ガス等を用いたシアニジウム類の培養も条件と株次第では可能であることが判明した。
3. シズンの遺伝子導入系を改変し、外来配列を一切導入すること無く、染色体の任意の箇所を編集する技術を確立した。遺伝子破壊に加え、内在の強発現プロモーターによる任意の代謝経路の強化も可能となった。このようなゲノム改変はカルタヘナ法対象外のセルフクローニングとなりシズンの産業利用を促進することに繋がる。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 育種技術グループ 1

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
宮城島 進也	国立遺伝学研究所細胞 遺伝研究系	教授	H23.10～
壁谷 如洋	同上	特任研究員	H23.10～H26.3
墨谷 暢子	同上	特任研究員	H24.1～H28.8
廣岡 俊亮	同上	特任研究員	H24.4～
中村 真心	同上	D1～3(五年一貫 制)	H24.4～H26.9
恵良 厚子	同上	特任研究員	H25.4～H28.5
藤原 崇之	同上	助教	H25.4～
山下 亜紀子	同上	研究支援推進員	H23.10～H27.3
大林 龍胆	同上	遺伝研博士研究 員	H28.4～

研究項目

- ・シズン遺伝子導入系の改良
- ・シズンにおける導入遺伝子誘導発現系の作出
- ・シズンにおける遺伝子強制発現、発現抑制系の開発
- ・シズンにおけるオミクス解析基盤の整備
- ・シアノバクテリア *Acyl-ACP reductase* のシズン葉緑体内発現による TAG 合成強化
- ・新規シアニジウム類の野外からの単離
- ・貯蔵脂質能の高い酸性耐性緑藻の野外からの単離
- ・開放培養系構築に向けた培地コストの削減
- ・開放培養条件の検討
- ・研究チーム全体の統括、進行調整

② 育種技術グループ 2

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
黒岩 常祥	日本女子大学理学部	研究員	H23.10～
大沼 みお	立教大学理学部	研究員	H23.10～H27.3
井元 祐太	東京大学新領域創成科 学研究科	D3	H23.4～H27.3
黒岩 晴子	日本女子大学理学部	学術研究員	H23.10～

研究項目

- ・シズンの恒常的トランスフォーメーション法の開発
- ・導入遺伝子の強制発現系の開発
- ・高温・酸性耐性藻類で機能する蛍光タンパク質マーカーの選抜
- ・有用藻類株の凍結等保存技術の開発
- ・葉緑体の蛍光と競合しない細胞内油滴・澱粉粒の顕微定性・定量する BODIPY 法の開発
- ・細胞の増殖・分化過程における油滴、澱粉粒の合成に関わる細胞小器官とその役割の解明

- ・細胞分裂を行いながら油滴・澱粉粒を合成する培地の開発とその大量開放培養系への応用
- ・紅藻シズンを基盤にこれまでに得られた情報を広く展開できる新規有用緑藻の探索と解析

③環境耐性・遺伝子資源グループ1

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
三角 修己	山口大学創成科学研究科	准教授	H23.10～
宮川 勇	同上	教授	H23.10～
横田 昇太郎	山口大学医学系研究科	M1	H25.4～H26.3
田草川 真理	山口大学創成科学研究科	学術研究員	H26.4～
齋藤 貴史	山口大学医学系研究科	M2	H27.4～H28.3

研究項目

- ・新規の極限環境藻類の採種とキャラクターゼーション
- ・シズンからストレス耐性などの有用遺伝子の選抜
- ・新規有用株からの遺伝資源の探索
- ・LEDを用いた光波長条件によるバイオマス合成誘導
- ・化石燃料の燃焼ガスを用いた極限環境藻類の培養の検討
- ・高温耐性藻類株の育種

④環境耐性・遺伝子資源グループ2

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
吉川 博文	東京農業大学	教授	H23.10～
渡辺 智	東京農業大学	助教	H23.10～
兼崎 友	東京農業大学	研究員	H23.10～
志波 優	岩手医科大学	特任助教	H23.10～
児島 友子	東京農業大学	研究補助員	H24.4～
Wolfgang Hess	フライブルグ大学	教授	H25.10～H26.3
Claudia Steglich	フライブルグ大学	研究員	H25.10～H26.3
大林 龍胆	東京農業大学	研究員	H26.4～H28.3
高田 啓	東京農業大学	D3	H24.9～H26.3

研究項目

- ・新規高温・酸性耐性藻類の単離と純化
- ・新規高温・酸性耐性藻類のゲノム解析
- ・比較ゲノム解析・トランスクリプトーム解析による高温・酸性耐性遺伝子資源の探索
- ・インフォマティクス解析面での各共同研究グループの支援

⑤代謝機能・制御グループ1

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
田中 寛	東京工業大学・科学技術創成研究院	教授	H23.10～
小林一幾	東京工業大学・資源化学	産学官連携研究	H24.4～H25.3

	研究所	員	
河瀬泰子	東京工業大学・総合理工学研究科	D1～3	H23.10～
神崎 陸	東京工業大学・生命理工学研究科	M1～2	H25.4～H27.3
三浦貴子	千葉大学・大学院園芸学研究科	M1～2	H24.4～H26.3
瀧 景子	東京工業大学・科学技術創成研究院	産学官連携研究員	H25.4～
川嶋洋子	東京工業大学・科学技術創成研究院	産学官連携技術員	H25.4～H29.2
竹村時空	東京工業大学・生命理工学研究科	M1～2	H26.4～
井出洋子	東京工業大学・科学技術創成研究院	産学官連携技術員	H27.10～
小林勇氣	東京工業大学・科学技術創成研究院	助教	H28.4～

研究項目

- ・CO₂ 条件の変動によるトランスクリプトーム解析、制御因子（転写因子、クロマチン因子、代謝調節因子等を含む）の同定、遺伝子破壊、ChIP 法等による機能解明
- ・窒素同化制御に関わる転写因子の生理機能解明
- ・光環境による代謝酵素の発現変動について、制御因子の割出しと分子遺伝学的検証
- ・デンプン合成系、脂質合成系の制御因子の割出しおよび実験的検証
- ・遺伝的改変を行った藻類の開放培養系の構築

⑥代謝機能・制御グループ2

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
今村 壮輔	東京工業大学科学技術創成研究院	准教授	H23.10～
曾根 俊之	東京工業大学・生命理工学研究科	D1～3	H24.4～H27.3
竹内 卓人	東京工業大学総合理工学研究科	M1～2	H25.4～H27.3
太郎良 圭祐	東京工業大学総合理工学研究科	M1～2	H25.4～H27.3
小林 誠	東京工業大学総合理工学研究科	M1～2	H26.4～H28.3
平澤 英里	東京工業大学総合理工学研究科	M1～2	H26.4～H28.3
渡口 和樹	東京工業大学総合理工学研究科	M1～2	H27.4～
高橋 颯太	東京工業大学総合理工学研究科	M1～2	H27.4～
福田 智	東京工業大学生命理工学院	M1	H28.4～
小松 亜希子	東京工業大学科学技術創成研究院	産学官連携技術員	H28.4～H29.2

研究項目

- ・炭素シグナルと窒素シグナルの相互作用の解析
- ・油脂蓄積における TOR の機能解析
- ・糖質と脂質の定量解析実験系の確立と測定
- ・TLC により分離・精製した脂質の GC-FID を用いた解析
- ・TOR 制御下遺伝子の発現強化による油脂生産性の向上
- ・シズン有用形質遺伝子の評価
- ・藻類の開放培養系の構築

⑦動物実験グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	大松 勉	東京農工大学農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センター	講師	H29.2～

研究項目

- ・シズン摂取後のマウス消化管におけるシズンの動態解析

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

① 育種技術グループ1

遺伝子組換えシズン株におけるメタボローム変化の解析を、同研究領域 さきがけ研究員 蓮沼誠久教授および近藤昭彦教授（神戸大学）のグループとの共同研究、遺伝子組換えシズン株における貯蔵脂質のプロファイリングを、米国において藻類脂質の研究をリードしている Ursula Goodenough 教授グループ（University of Washington, USA）との共同研究、光呼吸系の改変株による代謝改変の研究をヨーロッパにおいて植物・藻類バイオマス増産の研究をリードしている Andreas Weber 教授グループ（Heinrich-Heine-University, Germany）との共同研究、新規高温・酸性耐性藻類の単離を、日本の藻類の単離・系統分類の分野をリードしている野崎久義准教授グループ（東京大学）との共同研究および長野県産業労働部ものづくり振興課の協力で進めた。

② 育種技術グループ2

油滴の分解・代謝に関わる複膜系細胞小器官であるミトコンドリアの分裂・増殖と機能解析に関しては、吉田大和博士（Michigan State University, USA、理研）と、単膜系細胞小器官の小胞体、ゴルジ体、リソソームの油滴合成や機能解析に関しては、八木沢芙美准教授（University of California, San Diego, USA、琉球大学）と、ペルオキシソームの分裂・増殖と機能に関しては井元祐太博士（九州大学理学府）と連携して研究ネットワークを組み情報の交換、共同研究を進めた。油滴の脂質含有量の測定と緑藻メダカモに関しては本プロジェクトの三角修己博士の協力を得ている他、松永幸大教授（東京理科大学）のグループと連携して全ゲノム情報解析及び機能解析を行った。

③ 環境耐性・遺伝子資源グループ1

山口大学農学・共同獣医学部附属中高温微生物センターの客員となり、中高温微生物を用いたバイオマス生産に関する研究グループに参加し、連携研究を進めている。平成 26 年度日本学術振興会の研究拠点形成事業（Core-to-Core Program）「バイオ新領域を拓く熱帯性微生物の国際研究拠点形成」（代表・山口大学 山田守）に参加し、東南アジア研究者との高温バイオマス生産に関する共同研究を開始した。山口大学産学公連携センターを通じ、中国電力（株）の新小野田石炭火力発電所において、排ガス

を用いた極限環境藻類の培養実験を実施した。また同研究領域 さきがけ研究員 蓑田歩博士（筑波大学）と極限環境紅藻類を用いたバイオマス創成に関する意見交換と実験技術情報の交換を行い、培養系の改良をおこなった。新規極限環境藻類の採種について、Yin-Ru Chiang 博士（Academia Sinica, 台湾）と情報交換し、台湾での現地調査を行った。

④ 環境耐性・遺伝子資源グループ2

藻類のトランスクリプトーム研究の専門家である Wolfgang R. Hess 教授 (University Freiburg, Germany, 平成 25 年に共同研究者として環境耐性・遺伝子資源 G2 に参画) および、Claudia Steglich 博士 (University Freiburg, Germany) を招聘し (平成 25 年 11 月 21 日から 27 日、7 日間)、研究交流を行った。RNA-seq に関する技術的な指導、今後の共同研究について打ち合わせを行うと共に、大学院生、研究者向けのセミナーも開催した。ゲノム情報解析のノウハウを活かし、同研究領域 さきがけ研究員 朝山宗彦教授 (茨城大学)、日原由香子准教授 (埼玉大学)、得平茂樹准教授 (首都大学東京)、成川礼講師 (静岡大学) 及び CREST 研究班 花井泰三准教授 (九州大)、村上明男准教授 (神戸大学) の各グループとの共同研究も進めた。

⑤ 代謝機能・制御グループ1

TAG 蓄積誘導条件である窒素欠乏時におけるメタボローム変化の解析を、斉藤和季グループリーダー及び草野都研究員 (理化学研究所; 草野研究員は現在筑波大学教授) との共同研究、TAG 合成誘導剤の検索を、吉田稔グループリーダー (理化学研究所・ケミカルジェネティクスグループ) らと共同研究で行い、タンパク質脱アセチル化酵素阻害剤による脂質合成誘導作用を発見し、関連化学物質を用いた作用機構の解析を進めている。また、デンプン合成調節遺伝子の解析を行っている Matthew Gentry 博士 (University of Kentucky, USA) が来日された折に招聘し (平成 28 年 4 月 14 日から 15 日、2 日間)、東京工業大学でのセミナー・共同研究打ち合わせ、さらに国立遺伝学研究所にて研究交流を行った。さらに Gentry 研究室の大学院生が平成 28 年 3 月に 2 週間来日滞在し、東京工業大学田中研究室にてシゾン形質転換法の研修を行った。

⑥ 代謝機能・制御グループ2

(株) デンソーとの共同研究で、TOR キナーゼ阻害剤による脂質合成促進について、シゾンやクラミドモナスで得られた結果の一般性を、脂質高生産緑藻株 (*Pseudococcomyxa* 株) を用いて検証した。シゾンにおける TOR キナーゼのリン酸化標的タンパク質を同定する目的で、TOR 阻害剤 (ラパマイシン) の添加・非添加条件におけるリン酸化タンパクプロテオーム解析を東谷篤志教授 (東北大学) と共同で進めている。脂質分析の技術に優れた、太田啓之教授グループ (東工大; 本 CREST 領域) の協力により、合成された脂質の定量・成分分析系を確立した。

§ 3 研究実施内容及び成果

3. 1 遺伝子導入・発現改変技術の開発と有用株の保存技術の開発

(育種技術グループ1・宮城島) (育種技術グループ2・黒岩) を中心として (環境耐性・遺伝子資源グループ1・三角) (環境耐性・遺伝子資源グループ2・吉川) (代謝機能・制御グループ1・田中) (代謝機能・制御グループ2・今村) も参画

(1) 研究実施内容及び成果

本実施項目の目的と位置づけ

現在さまざまな真核藻類において遺伝子導入技術が開発されつつあるがまだ途上段階にある。これまでの形質転換を用いた真核藻類の研究は、遺伝子導入が比較的容易で安定的に行えることから主に緑藻クラミドモナスを用いて行われてきた。しかしクラミドモナスでは

導入遺伝子のサイレンシングが起こる、自身の遺伝子の過剰発現や他生物種の遺伝子発現が非常に困難といった、多くの制限がある。このような状況のため他生物の遺伝子または改変遺伝子の過剰発現が必要とされる代謝改変によるバイオマス生産能の増強に関する研究に用いるには限界があった。

一方で、本研究チームは単細胞紅藻シズンにおいて、真核藻類としては唯一安定的に行える相同組換えを用いた遺伝子ターゲティング技術を開発している。シズンは、ゲノムサイズが 16.5 Mbp と光合成真核生物としては最小で(クラミドモナスは 120 Mbp) 遺伝子組成に冗長性がほとんど無いため、遺伝子改変の効果を明確にとらえることができ、オミクス解析を高効率で行うことができるといった特長も有している。シズンにおいて遺伝子改変系をさらに発展させ、他生物の遺伝子導入系、他生物またはシズンが本来もっている遺伝子の過剰発現系、遺伝子発現誘導系などが開発されれば、真核生物のバイオマス生産能の改変に関する研究に最適のプラットフォームができる。

さらにシズンを含めたシアニジウム類は、増殖能も比較的高く、高温・酸性環境で優占増殖することから、開放培養系に適した、糖質・脂質・その他有用物質合成増産株を代謝改変により作出できることが期待される。

以上の背景から本研究項目では、シズンにおける遺伝子導入・発現改変技術の確立および、有用株の保存技術の開発をねらいとする。

実施内容

- a) シズンの形質転換の高効率化
- b) 恒常的に維持できるプラスミドの開発
- c) 染色体ニュートラルサイトへの遺伝子挿入法の開発
- d) 導入遺伝子の過剰発現法の開発
- e) 異種生物由来の遺伝子発現法の開発
- f) 高温環境で機能する蛍光タンパク質マーカーの開発
- g) 複数の導入遺伝子発現系の開発
- h) 遺伝子発現誘導系の開発
- i) 新規トランスフォーメーションマーカーの開発
- j) 遺伝子改変シズンおよびその他有用な高温・酸性耐性藻類の凍結保存技術の開発
- k) 遺伝子導入によらない藻類の高温耐性化方法の開発

得られた成果

a) シズンの形質転換の高効率化
添加する DNA 量、混和方法、保温静置時間などを詳細に検討し、シズン細胞への DNA 導入効率の最適化(代謝 G1; 育種 G2、Ohnuma et al. 2014)を進め、現在遺伝子導入処理後 2 週間で形質転換コロニーが得られ、その後 2 週間程度で実験に使用可能な液体培養が得られるところまで効率化が進んでいる(育種 G1)。シズン細胞への DNA 導入については、ウラシル要求性株(*ura3* 株)を宿主とし、野生型の *URA3* 遺伝子をマーカーとして選択を行ってきた。ところが、この *ura3* 変異が 1 ベースの挿入変異であることから、一定頻度での復帰変異体が生じ、これが形質転換体取得の妨げとなっている。本研究において、相同組換えにより *URA3* 遺伝子の完全欠損株の取得に成功したことから(代謝 G1)、今後の形質転換実験のスピードアップが期待される。

b) 恒常的に維持できるプラスミドの開発
シズンと *Galdieria sulphuraria* のキメラ *URA* 遺伝子をマーカーとすることにより、シズン細胞内で複製し維持されるプラスミドを開発した(育種 G2)。

c) 染色体の任意ローカス(ニュートラルサイトおよび遺伝子ノックイン)への遺伝子挿入法の開発

すでに確立済みの遺伝子ターゲティングによる遺伝子破壊法を応用し、任意の遺伝子を染色体の任意ローカスに導入する方法を確立した(育種 G2、Fujiwara et al. 2013)(環境耐性 G2、Watanabe et al. 2014;代謝 G1;代謝 G2;育種 G1)。その結果、改変遺伝子の該当ローカスへのノックイン、および外来遺伝子の染色体ニュートラルローカスへの挿入の双方が可能となった。さらに、ニュートラルローカスへの遺伝子挿入において、シゾンの *URA* マーカーを用いた場合には1コピー挿入されるのに対して、シゾンと *Galdieria sulphuraria* のキメラ *URA* マーカーを用いることで、数~数十コピーのコンストラクトがタンデムに挿入され、安定的に維持されることが判明し、強制発現系に向いていることが分った(育種 G2、Fujiwara et al. 2013)。

d) 導入遺伝子の過剰発現法の開発

導入遺伝子を強制発現するために、シゾンにおいて高レベルに発現している遺伝子群のプロモーターを検討した結果、シゾンのカタラーゼ遺伝子プロモーター(育種 G2;育種 G1、Sumiya et al. 2015)、*APCC* 遺伝子プロモーター(環境耐性 G2、Watanabe et al. 2014;育種 G2、Fujiwara et al. 2013、代謝 G1;代謝 G2、Fujii et al. 2013)を用いることで安定的に導入遺伝子を強制発現できるようになった。

e) 異種生物由来の遺伝子発現法の開発

上記の方法を用いて、これまでに、シアノバクテリアの *Acyl-ACP reductase*(育種 G1、Sumiya et al. 2015)、出芽酵母の *FKBP12*(代謝 G2、Imamura et al. 2013)、種々の蛍光タンパク質マーカー(下記)などを安定的に発現する株が作成できていることから、外来遺伝子もサイレンシング等の影響を受けず、シゾン細胞内で安定的に発現できることがわかった。

f) 高温環境で機能する蛍光タンパク質マーカーの開発

高温での培養中にも安定的に蛍光を発する蛍光タンパク質マーカーの選抜と開発を行った。*EGFP* の安定強発現シゾン株を作成したところ、42°C の培養でも安定的に蛍光を発することが確認された(環境耐性 G2、Watanabe et al., 2014;育種 G2、Fujiwara et al. 2013)。さらに最近開発された *super folder (sf) GFP* をシゾン *codon usage* に最適化した配列で発現させたところ、*EGFP* の5倍程度の蛍光を発し、50°C でも安定であることがわかった(育種 G1、Sumiya et al. 投稿中)。また、各オルガネラに局在させ、その視認性を高めた株の作成を行った(環境耐性 G2、Watanabe et al., 2014;育種 G2)。その他赤色系の蛍光タンパク質も利用可能となった(育種 G2、G1、Sumiya et al. 2015)。

g) 複数の導入遺伝子発現系の開発

これまでは *URA* 以外のトランスフォーメーションマーカーは確立していなかったが(ただし i 参照)、任意の遺伝子をタンデムに並べることで二つの遺伝子を同時に導入して発現させることに成功した(育種 G1、Sumiya et al. 2016)。

h) 遺伝子発現誘導系の開発

代謝改変、特に調節因子の発現による改変等の効果を正確に評価するためには導入遺伝子の誘導発現系を利用することが効果的である。シゾンを高温にシフト(環境耐性 G1) および窒素源をアンモニウムから硝酸にシフト(代謝 G2)したときに特異的に発現する遺伝子群をマイクロアレイ解析により同定した。*HSP20* のプロモーターを用いることで、特異性の高い熱ショック遺伝子誘導発現系(40°Cから48°Cにシフト)を開発した(育種 G1;環境耐性 G1、Sumiya et al. 2014)。また、*NR*、*NIR*、*NIT* プロモーターを用いることで、窒素源をアンモニウムから硝酸に切り替えることで特異的に導入遺伝子を発現する系も開発した(育種 G1、Fujiwara et al. 2015)。

i) 新規トランスフォーメーションマーカーの開発

複数の導入遺伝子をタンデムに並べ、*URA* マーカーを用いて導入することには成功しているが、導入できる遺伝子数に限界があるため、新たなトランスフォーメーションマーカーの開発が望まれる。そこで、新たなマーカー遺伝子として、高温耐性クロラムフェニコール耐性遺伝子 (*CAT*) が利用可能であることが判明した (育種 G2)。さらに、*CAT* を用いた形質転換株の選抜法も開発できた (育種 G1)。

j) 遺伝子改変シゾンおよびその他有用な高温・酸性耐性藻類の凍結保存技術の開発
DMSO、メタノール、グリセロール等の凍結保護剤の混合比、凍結法の検討を行い、遺伝子改変を行ったシゾン株の凍結保存が可能となった (育種 G2)。さらに新規単離したシアニジウム類の凍結保存も行えるようになった (環境耐性 G2)。

k) 遺伝子導入によらない藻類の高温耐性化方法の開発
37°C で継代培養を繰り返したクラミドモナス集団の中から温度耐性株をシングルコロニーで単離した。株を野生株と掛け合わせ四分子解析した結果、遺伝子の変異により温度耐性が付与されている可能性が示唆された。本株は常温に戻して継代培養し、再び 37°C 培養を行っても温度耐性を保持していることが確認された。従って、育種により作出されたクラミドモナスの温度耐性株であることが示された (環境耐性 G1)。本方法はシアニジウム類にも適用可能である可能性が高い。

3. 2 高温・酸性耐性生物資源・遺伝子資源の同定

(環境耐性・遺伝子資源グループ 1・三角) (環境耐性・遺伝子資源グループ 2・吉川) (育種技術グループ 1・宮城島) を中心に (育種技術グループ 2・黒岩) も参画
(1) 研究実施内容及び成果

本実施項目の目的と位置づけ

開放培養は、バイオリアクターのような閉鎖系に比べ、運用コストが低いという利点があるが、一方で他生物のコンタミネーション、屋外の環境変化 (温度など) による培養株の死滅などの問題があり、現状ではその利用は限られている。コンタミネーションを防ぐためには、その他の生物が成育できない極限環境を用いることが有効である。さらに培養株が夏の高温下で生育できることも条件として望まれる。

高温・酸性条件でも生息できる藻類の利用は上記の問題に対する解決策の一つである。また、高温・酸性耐性藻類から、高温耐性・酸性耐性に寄与している遺伝子資源を同定し、それらを他の有用藻類に導入することで高温耐性・酸性耐性を付与することも有効な手段である。

そこで本研究項目は、貯蔵糖質・脂質の生産能の高い、高温・酸性耐性藻類株の自然界からの単離と、高温・酸性耐性藻類群のもつ環境耐性遺伝子資源の確保およびそれを用いた高温・酸性耐性藻類株の人工的な作出を目的としている。

実施内容

- a) 日本各地の高温・酸性からの新規藻類株の単離
- b) 単離した藻類株の環境耐性能の評価
- c) 単離した藻類株の糖質・脂質貯蔵能の評価
- d) 新規高温・酸性耐性藻類のゲノム解析
- e) 高温・酸性耐性藻類の比較ゲノム・トランスクリプトーム解析による、環境耐性遺伝子の同定
- f) 環境耐性遺伝子候補の発現強化または、他生物への遺伝子導入による環境耐性能向上効果の評価

得られた成果

- a) 日本各地の高温・酸性からの新規藻類株の単離

b) 単離した藻類株の環境耐性能の評価

c) 単離した藻類株の糖質・脂質貯蔵能の評価

日本各地の硫酸酸性温泉より紅藻類を採取し、*Cyanidium* 3 株、*Galdieria* 2 株を単離した(環境耐性 G1・G2)。箱根大涌谷の温泉噴出口より単離された *Cyanidium caldarium delta* (環境耐性 G1) および *delta om* (育種 G2 により分離) は既存の *Cyanidium* 類よりも高温耐性(60°C)を有することが判明した。さらに *Cyanidium caldarium* N3110(育種 G2 により分離)が高いマンガン耐性(100 mM MnCl₂)を有し、*Galdieria sulphralia* SG(育種 G2 により分離)が pH0.01-8 まで、幅広く培養可能であることが明らかになった(環境耐性 G2)。このように極めて高い環境耐性能を持つ藻類群が単離された。

Cyanidium sp. N3110 株は、100 mM マンガン、1 mM 銅、あるいは 0.1 mM カドミウムを添加した際に細胞内に多くの油滴形成が見られることを発見した。窒素欠乏条件下での油滴蓄積試験では一週間後には BODIPY 蛍光は低下するが、これらの重金属添加条件下では1週間後でも強い蛍光が観察された。*Cyanidium* sp. N3110 株はこのような重金属イオン存在下での脂質生産能に優れる株であることがわかった(環境耐性 G2)。

また長野県横手山硫黄鉱山跡地(pH1~3)より、酸性耐性緑藻を4株単離した。そのうち *Pseudochlorella* sp. YKT-1 は至適 pH 3.0-5.0 至適温度 20-25°C であり、pH 2.0、32°C でも増殖可能であることが判明した。さらに窒素欠乏にすることにより、30%/dw の貯蔵脂質を蓄積することがわかった(育種 G1、Hirooka et al. 2014)。

d) 新規高温・酸性耐性藻類のゲノム解析

高温または酸性耐性付与に大きく寄与している遺伝子資源を同定するために、本プロジェクトで新規単離した *Cyanidium* sp. Delta, *Cyanidium* sp. N3110, *Galdieria sulphuraria* SG について、核ゲノムのドラフト解読、及びミトコンドリアゲノム、葉緑体ゲノムの解読を実施した。特に高温耐性能を有する *Cyanidium* sp. Delta については、ロングリード型シーケンサー PacBio RSII を用いてさらに追加解析を実施し、核ゲノムについては、コンティグ数 81 本、総塩基長 12 Mb までアセンブルを進めることに成功した。

好酸性緑藻 *Chlamydomonas eustigma* についても同様にシーケンシングを行い(環境耐性 G2)、アセンブル後、核ゲノムおよびオルガネラゲノムのドラフト配列情報(69 Mbp)を得ており、全遺伝子(14,000 遺伝子)のアノテーションを行った(育種 G1)。

e) 高温・酸性耐性藻類のトランスクリプトーム・比較ゲノム解析による、環境耐性遺伝子の同定

f) 環境耐性遺伝子候補の発現強化または、他生物への遺伝子導入による環境耐性能向上効果の評価

シズンの pH 変動条件下におけるトランスクリプトーム解析より、より酸性条件で発現が誘導される遺伝子を複数同定し、細胞の膜系に関わる遺伝子が重要な役割を果たしている可能性が示唆された(環境耐性 G1)。同様に高温ストレス環境下におけるトランスクリプトーム解析により、低分子量のヒートショックタンパク質が生育限界域での高温耐性に関わっていることを見出し、その高温耐性の仕組みが緑藻クラミドモナスにも共通に保存されていることを明らかにした(環境耐性 G1、Kobayashi et al. 2014)。同様に高濃度の金属イオン(鉄・亜鉛)条件下で、光呼吸に係る遺伝子が誘導されてくることを見出した(環境耐性 G1)。本実験により、鉄イオンの代謝に関与する遺伝子の転写産物の増加が認められた。シズンのバイオマス合成の調節に鉄イオンが関与している可能性が示唆されたため、培地中の鉄イオン量を変化させて培養を行った結果、鉄欠乏環境においてシズンのバイオマス合成が誘導されることが明らかとなった(環境耐性 G1)。

シアニジウム、ガルデリア及び酸耐性クラミドモナスなどの非モデル系生物での次世代シーケンサーを用いたトランスクリプトーム解析系を確立した(環境耐性 G2)。rRNA の除去により、より効率的な解析が可能になった(環境耐性 G2)。また比較ゲノム解析により、シズンで環境耐性に関わる可能性が示唆されていた 29 遺伝子のシアニジウムにおけるオーソロ

グ遺伝子の配列を同定し、共同研究グループ内で共有した(環境耐性 G2)。高温耐性能を有する *Cyanidium sp. delta* について、高温処理時のトランスクリプトーム解析を実施した。その結果、高温で転写産物量が増加する遺伝子を 100 以上同定することに成功した。またマンガン耐性を有する *Cyanidium sp. N3110* については 100 mM マンガン添加時のトランスクリプトーム解析を実施し、マンガン応答性遺伝子の同定を実施した。強酸耐性の *Galdieria sulphuraria SG* については pH 3 から pH 1 にシフトした際のトランスクリプトーム解析を実施し酸耐性遺伝子のカタログ化をおこなった(環境耐性 G2)。

好酸性 *Chlamydomonas eustigma* と好中性 *Chlamydomonas reinhardtii* の比較ゲノム解析により、ヒ素トランスポーター、ヒ酸還元酵素などが環境中のバクテリアから水平転移で獲得されていることが明らかとなった(育種 G1)。

シゾンの plasma membrane ATPase を発現させることで酸性耐性を付加できることが大腸菌で確認できた(環境耐性 G1)。シアニジウム類トランスクリプトーム解析により高温で転写産物量の上昇が見られた遺伝子群のうち、イントロンを含まないと予想された遺伝子を個別に発現誘導型プラスミドに組み込み、酵母に導入して高温耐性の付与が可能かどうかテストした。その結果、2つの遺伝子において酵母への熱ショック耐性能の付与が確認できた(環境耐性 G2)。

3. 3 貯蔵脂質生産機構の解析と調節機構の解明

(1)研究実施内容及び成果

代謝機構・制御グループ 1・田中) (代謝機構・制御グループ 2・今村) (育種技術グループ 2・黒岩)を中心に (育種技術グループ 1・宮城島)も参画

本実施項目の目的と位置づけ

様々な真核藻類において窒素欠乏時に TAG を主成分とする油滴が細胞内に蓄積する。油滴形成は哺乳類細胞及びシゾンでは小胞体上で形成されるが、緑藻クラミドモナスでは葉緑体包膜上で形成されると報告されており、細胞生物学的な視点における油滴の形成過程の理解は途上段階にある。さらに窒素欠乏時に油滴が蓄積することから、窒素代謝制御機構が TAG 等の合成を制御すると予想されるが、真核藻類における窒素代謝制御機構の多くはわかっていない。また炭素/窒素バランスは厳密に制御されており、窒素欠乏による炭素代謝の変化が TAG 合成を促進すると考えられることから、炭素代謝、光や日周期による代謝制御機構の理解も必要である。

本研究項目では、(1)油滴の形成が細胞内のどのような細胞小器官の関与で、どのように形成されるか、また脂質の合成と分解に関わる細胞小器官と油滴形成の関係を明らかにすること、(2)窒素代謝、炭素代謝の制御因子を同定しその TAG 合成等における役割を解明することで、次の研究項目である、油滴合成能を強化した藻類株の作出に資することを目的としている。

実施内容

- a) 細胞内油滴の蛍光染色法と定量法の改良
- b) 真核藻類における細胞内油滴の形成過程とそれに関わるオルガネラの動態と役割の解明
- c) 窒素代謝、炭素代謝と細胞増殖の日周変動に関する解析
- d) 藻類からの脂質抽出、脂肪酸・炭化水素の生化学的定量法の確立とシゾンにおける脂質組成の解析
- e) 窒素代謝制御に関わる制御因子の同定と機能解析
- f) 炭素代謝制御に関わる制御因子の同定と機能解析
- g) 光および日周期による代謝制御に関わる制御因子の同定と機能解析
- h) メタボローム解析による炭素代謝と窒素代謝の相互作用に関する解析

得られた成果

a) 細胞内油滴の蛍光染色法と定量法の改良

従来、細胞内油滴の染色に用いられてきた赤色蛍光色素ナイルレッドは、葉緑体が赤の自家蛍光をもつため藻類や植物での微量な油滴の定量や形成過程の追跡への利用が難しい。そこで、黄緑色の蛍光を発する蛍光色素 BODIPY による染色法を確立した。この方法を用いて、バクテリアから様々な紅藻、緑藻における油滴形成と細胞核ゲノムの関係を調べ、ゲノムが大きいほど、多核であればあるほど、多くの油滴を合成することが分かった(育種 G2, Kuroiwa et al. 2012)。BODIPY 染色法の確立により、油滴の同定、顕微定性・定量が可能となり、特に高感度で油滴の動向を解析できるようになった。また油滴と小胞体を同時に蛍光染色する BODIPY-DiOC6 法により油滴の合成場が捉えやすくなった。

b) 真核藻類における細胞内油滴の形成過程とそれに関わる細胞小器官の動態と役割の解明

油滴の形成と分解における小胞体及び葉緑体の関係について、シズン、クラミドモナス、さらに細胞が紐状であり葉緑体が楕円形で一個、その表層に多数の油滴を形成する車軸藻 *Klebsormidium nitens* を選び、蛍光顕微鏡および電子顕微鏡を用いて解析した。*K. nitens* を用いた蛍光顕微鏡解析により油滴と葉緑体の間に小胞体が存在し、油滴が小胞体上で形成されることがわかった。さらに油滴が細胞分裂時に娘細胞へ分配されること、細胞老化時には、葉緑体の内部が分解され、その一部が油滴形成に利用されていることもわかった(育種 G2, Kuroiwa et al. 2014)。その後この現象はクラミドモナスでも見られ、詳細に電子顕微鏡観察したところ、澱粉粒の分解と油滴形成に介在する新しい直径約 0.7 μ m の「膜含有小体」が存在することが分かった。

窒素欠乏下に移したシズンの電顕解析から、まずリソソームにポリリン酸が集積したのちに細胞核周辺の小胞体から球状の油滴が形成され、培養時間とともにその数を増やすことがわかった。クラミドモナスにおいても、窒素欠乏下に移すと先ずリソソームにポリリン酸が蓄積され、ついで細胞核と葉緑体に挟まれた膜含有小体内で細胞質中に球状に遊離し培養につれてその数を増し、20 日後には細胞内が油滴で満たされることがわかった(育種 G2)。さらに脂質の分解に関わるペルオキシソームが分裂装置を使って増殖することがわかった(育種 G2, Imoto et al. 2012, 2013)。以上の結果、油滴形成にはリソソームなどを含めた複数の細胞小器官が関与することが示された。また、油滴は真核生物において小胞体上で形成されるという一般性も示された。

c) 窒素代謝、炭素代謝と細胞増殖の日周変動に関する解析

光合成を中心とした細胞内の各代謝経路は概日リズムにより制御され、日周変動する。特に藻類では細胞分裂が夜に限定され、CO₂ 固定と細胞増殖の関係は藻類バイオマス利用において重要な情報となる。シズンを用いて、トランスクリプトーム、メタボロームの日周変動をしらべたところ、CO₂ 固定、窒素同化、脂質合成、糖新生が昼間に、解糖系が夜間に活性が最も高くなった(育種 G1)。また、細胞分裂が夜間に限定されるメカニズムを解明した。実験的に細胞分裂を昼間に起こさせると高い酸化ストレスに曝された(育種 G1, Miyagishima et al. 2014)。藻類利用のための培養には、連続明条件よりも明暗条件の方が適していることが示唆された。

d) 藻類からの脂質抽出、脂肪酸・炭化水素の生化学的定量法の確立とシズンにおける脂質組成の解析

シズンおよびその他の高温・酸性耐性藻類の TAG・遊離脂肪酸・炭化水素の定量的解析法を確立した。その結果、シズンの TAG 量は窒素欠乏 24 時間後に 40 倍、72 時間後に約 180 倍に増加することがわかった。TAG に含まれる脂肪酸は、窒素欠乏後 17:0、18:2 の割合が上昇し、16:0、18:0、18:1 は減少した。炭化水素については、ヘプタデカンが検出されたが、その細胞内の量は乾燥藻体の約 0.01% と微量であり、窒素欠乏条件においてもその

量に変動は認められなかった(代謝 G2)。

e) 窒素代謝制御に関わる制御因子の同定と機能解析

TAG が顕著に蓄積する窒素欠乏 24 時間後のトランスクリプトーム解析の結果、3 つの MYB 型転写因子、脂肪酸・TAG 合成関連遺伝子のうち 2 つの小胞体局在型のグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ (GPAT) の発現量の上昇を確認した。

転写産物レベルでは脂肪酸合成経路の最初の律速酵素である ACCase の変動は見られなかった。しかしながら、細胞質局在型(真核型) ACCase 阻害剤フェノキサプロップ存在下で油滴の蓄積は阻害剤無添加条件同様におきたため、葉緑体局在型(バクテリア型) ACCase が窒素欠乏条件における脂質合成に大きく寄与することが示唆された(代謝 G1)。酵母や哺乳類において窒素を含む栄養源のシグナルを受容する TOR キナーゼが植物においても同様に機能すると作業仮説をたてて、TOR 活性阻害時の遺伝子発現レベルと TAG 量について調べた。TOR 活性をその特異的阻害剤ラパマイシンにより阻害するため、出芽酵母 FKBP12(ScFKBP12)をシゾンで発現する株を取得し、ラパマイシンにより TOR の活性を制御可能なシゾン株の作製に成功した(代謝 G2, Imamura et al., 2013)。ラパマイシンを添加した ScFKBP12 発現株では、窒素源存在下でも窒素同化系遺伝子群の転写量が上昇し、TOR が窒素代謝の上流で機能することが明らかとなった。ラパマイシン添加により TAG 量もコントロール条件に比べて約 2.3 倍に上昇した(代謝 G2, Imamura et al., 2015)。TAG に含まれる脂肪酸の組成は、窒素欠乏条件時とは異なりコントロール株に比べて 16:0 が増加、18:0 が減少した。ラパマイシン添加時および窒素欠乏時におけるトランスクリプトーム解析により、どちらの条件でも、TAG 合成関連遺伝子の内、2 個の GPAT 遺伝子と、II 型の DGAT 遺伝子の発現が誘導されることがわかった。一方、脂肪酸合成系遺伝子の発現には変動はなかった。また 2 つの MYB 型転写因子の発現が誘導された。TOR 下流で機能すると考えられる上記遺伝子について、過剰発現株と遺伝子破壊株を取得し、TAG 合成における機能を解析している。TOR が TAG 合成の上流シグナル伝達において機能することを、クラミドモナスなどの緑藻でも確認した(代謝 G2、特願 2013-142173)(代謝 G2, Imamura et al., 2016)。

f) 炭素代謝制御に関わる制御因子の同定と機能解析

CO₂ 濃度減少時において、光呼吸系の遺伝子群に加え、MYB 型転写因子 1 つと GATA 型転写因子 1 つの転写が誘導された。MYB 型転写因子に関しては、抗体を作製し、そのタンパク質量の変動を観察したが、CO₂ 濃度に依存した増減は観察されない一方、明条件から暗条件にシフトするとタンパク質量の上昇が観察された。よって、MYB 型転写因子が、光強度や炭素源(CO₂)濃度依存的に機能する制御因子として考えられる。一方、GATA 型転写因子については、遺伝子破壊株を作製することに成功した。破壊株では、低 CO₂ 条件で誘導される遺伝子の発現抑制が観察されている。よって、当該 GATA 因子が炭素代謝に関与する制御因子と考えられる(代謝 G1)。

g) 光および日周期による代謝制御に関わる制御因子の同定と機能解析

陸上植物でユビキチンリガーゼの活性調節や、ヒストン翻訳後修飾を介したクロマチン構造の調節を担い、光応答性遺伝子群の発現調節や細胞増殖制御に関わる DET1 のシゾンホモログの遺伝子破壊株を作成して機能解析を行った。det1 破壊株では陸上植物と同様に一部の核、葉緑体コードの mRNA が暗条件下で高いレベルで蓄積した。また明条件下では det1 破壊株は細胞が肥大し、油滴の形成誘導と TAG の蓄積もおきた。従って、DET1 はシゾンにおける光応答性のシグナル伝達系において、貯蔵脂質などの代謝産物の制御にも重要な役割を果たすことが示され、藻類の油滴蓄積へのユビキチンやヒストン修飾等の翻訳後修飾の関与が示唆された(代謝 G1)。

h) メタボローム解析による炭素代謝と窒素代謝の相互作用に関する解析

窒素欠乏下でのメタボローム解析の結果、特に TCA 回路の有機酸、糖(マルトース、トレハロース)や、イソロイシン、システインが顕著に増加していた。また、糖リン酸(イソロイシン、システイン)、アスパラギン、フェニルアラニン、スレオニン量も増加した。一方で、グルタミン、グルタミン酸、オルニチンなどの各種アミノ酸合成に関わるアミノ酸は大幅に減少した。上記の解析結果から、解糖系を経てアセチル CoA 量が上昇することが推測された(代謝 G1、代謝 G2)。

3. 4 貯蔵脂質生産活性化法の開発および高貯蔵脂質生産・高環境耐性藻類の作出

(育種技術グループ 1・宮城島)(育種技術グループ 2・黒岩)(環境耐性・遺伝子資源グループ 1・三角)(代謝機構・制御グループ 1・田中)(代謝機構・制御グループ 2・今村)

(1)研究実施内容及び成果

本実施項目の目的と位置づけ

上記3つの研究項目の成果を集結するとともに、培養条件を検討し、(1)シズンなどの高温・酸性耐性藻類の貯蔵脂質合成能を強化する、(2)その他の有用藻類に高温または酸性耐性能を付与し開放培養によるバイオエネルギー生産に資する藻類株の作成を目的とする。

具体的には、項目3および既知の情報を基に、項目1で開発される遺伝子改変技術を用いて、TAG 蓄積量の高い高温・酸性耐性藻類株を作出し、増殖を停止させることなく TAG 蓄積を行わせる培養条件を探索し、最終的には培地コストを低減し、開放培養系の作出を行う。またそれと並行して項目2で同定される高温または酸性耐性遺伝子資源を他の藻類に導入し、環境耐性能を付与させることで、開放培養に適した有用藻類の作出を行う。

実施内容

- 増殖を停止させずに油滴を蓄積させる培養条件の検討
- 代謝調節因子の機能促進・阻害による TAG 合成強化法の開発
- 遺伝子改変・代謝改変による高油滴蓄積株の開発
- 遺伝子導入による既存の有用藻類への耐高温または耐酸性能の付与
- 高温・酸性耐性藻類の培養コストの低減および開放培養系の開発

得られた成果

- 増殖を停止させずに油滴を蓄積させる培養条件の検討

シズンの培養において細胞増殖を阻害せず、貯蔵脂質生産を活性化する新しい人工培地(Q 培地)を開発した。BODIPY を用いた顕微定量法によると、細胞当たりの貯蔵脂質量は、通常培地の約 100 倍、窒素源欠乏培地の 5-6 倍であった。細胞増殖を脂質生産量に加味すると、総貯蔵脂質生産量は、コントロールに対して窒素源欠乏培地では、1.3 倍であるのに対し、開発した培地では 36 倍以上であった。この方法を別のシアニジウム類(*Galdieria* および *Cyanidium*)に適応し類似の結果を得た(育種 G2)。現在、この方法を緑藻クラミドモナスでも行っており、基本培地の組成の違いがあり工夫が必要であるが、上記と類似の結果が得られている(育種 G2)。上記方法は立教大学より特許出願を行った(育種 G2、特願 2014-071081)。この方法により、遺伝子組換えをしなくても大量に油滴を得ることができ、更に遺伝子組換えにより、環境変動耐性藻類における高効率な貯蔵脂質生産が可能となると期待される。さらに、この培地組成は海水に類似しており、人工海水に幾つかの物質を加えることによっても、細胞増殖能を維持したうえで、油滴を蓄積させることが可能となった。人工海水に代えて沼津や走水海岸などから採取した自然海水を使った。この場合地点による差があり、海水成分の調査を行うことにより、自然海水も十分に使用可能であると考えられた。

シアニジウム類の培養における光源を、従来の蛍光灯から RGB 型の LED に替えたところ

ろ、光の波長が極限環境紅藻類の増殖や生理活性、物質生産に影響を与えることを見出した。そこで、種々の光条件で培養を試みたところ、シズンにおいて、赤色光のみで培養することにより、細胞増殖を阻害せずに TAG の合成と蓄積を誘導させることに成功した。本手法においては、培地交換などの手間も必要としないことから、新規発明として、山口大学より特許出願を行った(環境耐性 G1、特願 2014-152585)。

b) 代謝調節因子の機能促進・阻害による TAG 合成強化法の開発

研究項目3で述べたように、シズン ScFKBP12 発現株(ラパマイシン感受性の遺伝子組換え体)にラパマイシンを添加することで、増殖は停止するが、TAG 量をコントロール条件に比べて約 2.3 倍に上昇させることができた。本 TAG 合成活性化法を特許出願した(代謝 G2、特願 2013-142173)。

研究項目3で述べたように、リジン脱アセチル化酵素(KDAC)に特異的かつ強力な阻害剤であるトリコスタチン(TSA)を加え、タンパク質のアセチル化レベルを人為的に亢進させると、油脂の蓄積が確認された(96 時間後でコントロールの 110 倍)。本 TAG 合成活性化法を特許出願した(代謝 G1、特願 2014-144756)。

c) 遺伝子改変・代謝改変による高油滴蓄積株の開発

シアノバクテリアで acyl-ACP reductase 遺伝子の過剰発現は内在性 aldehyde dehydrogenase のはたらきを活性化して脂肪酸蓄積をおこす。シズンやシアニジウム類のゲノムには acyl-ACP reductase はコードされていないため、シアノバクテリア acyl-ACP reductase をシズンにおいて発現したところ、増殖を停止することなく油滴を蓄積した株が得られた(育種 G1)。この株では TAG 量がコントロールよりも 2.5 倍に増加していた(代謝 G2)。トランスクリプトーム解析の結果、窒素欠乏時とは異なり、脂肪酸合成系を活性化していることがわかった(育種 G1)。この結果は窒素欠乏状態の模倣ではない別の手法に基づいた代謝改変により TAG 合成を促進できることを示唆する(育種 G1; 代謝 G2)。また、シズンのデンブ合成遺伝子の破壊株を作成し、窒素欠乏下で 20 日間培養したところ、コントロール株よりも 1.6 倍の TAG を蓄積することもわかった(育種 G1)。

d) 遺伝子導入による既存の有用藻類への耐高温または耐酸性能の付与

研究項目2で述べたように、高温・酸性耐性遺伝子候補を緑藻クラミドモナスに導入することで、緑藻等への高温・酸性耐性能付与を進める計画であったが、これまでも導入遺伝子が発現しない、または発現しても過剰発現できないなどの問題が発生した(育種 G1)。クラミドモナスを従来から使用している専門家の間でも同様の問題が認められていることから、宿主として不適切であると判断した(育種 G1)。

上記のような状況ではあるが、活性酸素消去系酵素であるアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX) 遺伝子をシズンや新規に単離したシアニジウムから得て一過的にシズンで発現させたところ、高温耐性化が示唆された。さらに APX 遺伝子過剰発現シズン株を作成したところ、高温耐性が上昇したことが示された(育種 G2)。また上記のとおり、シズンの plasma membrane ATPase を発現させることで酸性耐性を付加できることが大腸菌で確認できた(環境耐性 G1)のに加え、シアニジウム類の2種の遺伝子を過剰発現させることにより、酵母への熱ショック耐性能の付与が確認できた(環境耐性 G2)。

e) 高温・酸性耐性藻類の培養コストの低減および開放培養系の開発

シズンおよび本研究で単離された緑藻 YKT-1 を用いて、無機合成培地及び温泉水排水培地における開放培養(1 L)を室内で行い、シェーカー等による穏やかな攪拌のみを行えば、各藻類の開放培養が可能であり、他生物のコンタミネーションもおこらないことがわかった(育種 G1)。

3. 5 遺伝子組み換えシゾンの防疫飼料としての利用にむけた基礎研究 (育種技術グループ1・宮城島)(動物実験グループ・大松)

(1)研究実施内容及び成果

本実施項目の目的と位置づけ

他グループの研究により、単細胞紅藻シゾンへの遺伝子導入系が開発され、さらに導入遺伝子が安定的に発現することも明らかとなった。シゾン細胞は酸性(pH1-5)においては安定である一方で、中性(pH 6 以上)では破裂する。従って、シゾンを動物に捕食させた場合には、胃酸で消化されず、腸内で内容物が放出される可能性が高い。このようなことから、将来的に組換えワクチン発現シゾンを家畜・ペット等に摂取させ、疾病を予防できる可能性がある。そこで、遺伝子組換えシゾンをマウスに摂取し、その消化管における動態を観察し、その一部が内容物を保持したまま腸内まで到達するかを明らかにすることを目的とした。

実施内容

a) シゾン摂取後のマウス消化管におけるシゾンの動態解析

得られた成果

a) シゾン摂取後のマウス消化管におけるシゾンの動態解析

GFP を細胞質内に安定的に蓄積する株を作成し、マウス消化管に投入後の GFP シゾンの挙動を追跡した。ELSA により GFP の漏出を調べた結果、漏出は胃では検出されず、腸で検出されたことから、目的通りシゾンを用いれば、ワクチンなどの機能性ペプチドを腸まで送り届け腸管免疫に使用できる可能性が高まった。

§ 4 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 48 件)

1. Tsuneyoshi Kuroiwa, Mio Ohnuma, Yuuta Imoto, Osami Misumi, Takayuki Fujiwara, Shin-ya Miyagishima, Nobuko Sumiya and Haruko Kuroiwa, “Lipid droplets of bacteria, algae and fungi and a relationship between their contents and genome sizes as revealed by BODIPY and DAPI staining”, *Cytologia*, vol. 77, pp. 289–299, 2012 (DOI: 10.1508/cytologia.77.289)
2. Fumi Yagisawa, Takayuki Fujiwara, Haruko Kuroiwa, Keiji Nishida, Yuuta Imoto and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Mitotic inheritance of endoplasmic reticulum in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*.” *Protoplasma*, vol. 249 pp. 1129–1135, 2012 (DOI: 10.1007/s00709-011-0359-1)
3. Yamato Yoshida, Shin-ya Miyagishima, Haruko Kuroiwa and Tsuneyoshi Kuroiwa, “The plastid-dividing machinery: formation, contraction and fission.” *Curr Opin Plant Biol*, vol. 15 pp. 714–721, 2012 (DOI:org/10.1016/j.pbi.2012.07.002)
4. Yuuta Imoto, Haruko Kuroiwa, Mio Ohnuma, Shigeyuki Kawano and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Identification of peroxisome-dividing ring in *Cyanidioschyzon merolae* based on organelle partner hypothesis.” *Cytologia*, vol. 77, pp. 515–522, 2012 (DOI: 10.1508/cytologia.77.515)
5. Shin-ya Miyagishima, Kenji Suzuki, Kumiko Okazaki, and Yukihiro Kabeya, “Expression of the nucleus-encoded chloroplast division genes and proteins regulated by the algal cell cycle”, *Molecular Biology and Evolution*, vol. 29, pp. 2957–2970, 2012 (DOI: 10.1093/molbev/mss102)
6. Yukihiro Kabeya and Shin-ya Miyagishima, “Chloroplast DNA replication is regulated by the redox state independently of chloroplast division in *Chlamydomonas reinhardtii*.”, *Plant Physiology*, vol. 161, pp. 2102–2112, 2013 (DOI: 10.1104/pp.113.216291)
7. Satoru Watanabe, Mitsumasa Hanaoka, Yusaku Ohba, Tomohiro Ono, Mio Ohnuma, Hirofumi Yoshikawa, Shigeru Taketani, Kan Tanaka, “Mitochondrial localization of ferrochelatase in a red alga *Cyanidioschyzon merolae*”, *Plant & Cell Physiology*, vol. 54, No. 8, pp. 1289–1295, 2013. (DOI: 10.1093/pcp/pct077)
8. Yamato Yoshida, Takayuki Fujiwara, Yuuta Imoto, Masaki Yoshida, Mio Ohnuma, Shunsuke Hirooka, Osami Misumi, Haruko Kuroiwa, Shoichi Kato, Sachihito Matsunaga and Tsuneyoshi Kuroiwa, “The kinesin-like protein TOP promotes Aurora localisation and induces mitochondrial, chloroplast and nuclear division”, *Journal of Cell Science*, vol. 126, No. 11, pp.2392–2400, 2013 (DOI: 10. 1242/jsc.116798)
9. Yuuta Imoto, Haruko Kuroiwa, Yamato Yoshida, Mio Ohnuma, Takayuki Fujiwara, Masaki Yoshida, Keiji Nishida, Fumi Yagisawa, Shunsuke Hirooka, Shin-ya Miyagishima, Osami Misumi, Shigeyuki Kawano and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Single membrane-bounded peroxisome division revealed by isolation of dynamin-based machinery”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol.110, No. 23, pp.9583–9588, 2013 (DOI: 10. 1073/pnas. 1303483110)
10. Fumi Yagisawa, Takayuki Fujiwara, Mio Ohnuma, Haruko Kuroiwa, Keiji Nishida, Yuuta Imoto, Yamato Yoshida, and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Golgi inheritance in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*”, *Protoplasma*, vol. 250, No.4, pp.943–948, 2013 (DOI: 10.1007/s00709-012-0467-6)
11. Takayuki Fujiwara, Kan Tanaka, Tsuneyoshi Kuroiwa and Tatsuya Hirano, “Spatiotemporal dynamics of condensins I and II: evolutionary insights from the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*”, *Molecular Biology of the Cell*, vol.24, pp. 2515–2527, 2013 (DOI: 10.1091/mbc.E13-04-0208)
12. Sousuke Imamura, Aiko Ishiwata, Satoru Watanabe, Hirofumi Yoshikawa and Kan Tanaka, “Expression of budding yeast FKBP12 confers rapamycin susceptibility to the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*”, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 439, No. 2, pp. 264–269, 2013 (DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.08.045)
13. Takayuki Fujiwara, Mio Ohnuma, Masaki Yoshida, Tsuneyoshi Kuroiwa and Tatsuya Hirano, “Gene targeting in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*: single- and multi-copy insertion using authentic and chimeric selection markers”, *PLoS ONE*, vol.8, e73608, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0073608.s001)
14. Gaku Fujii, Sousuke Imamura, Mitsumasa Hanaoka and Kan Tanaka, “Nuclear-encoded chloroplast RNA polymerase sigma factor SIG2 activates chloroplast-encoded phycobilisome genes in a red alga, *Cyanidioschyzon merolae*”, *FEBS Letters*, vol. 587, No. 20, pp. 3354–3359,

- 2013 (DOI: 10.1016/j.febslet.2013.08.031)
15. Hitoshi Nakamoto, Kensaku Fujita, Aguru Ohtaki, Satoru Watanabe, Shouichi Narumi, Takahiro Maruyama, Emi Suenaga, Tomoko S. Misono, Penmetcha K. R. Kumar, Pierre Goloubinoff, and Hirofumi Yoshikawa, "Physical Interaction between Bacterial Heat Shock Protein (Hsp) 90 and Hsp70 Chaperones Mediates Their Cooperative Action to Refold Denatured Proteins", *Journal of Biological Chemistry* vol. 289, No. 9, pp. 6110–6119, 2014 (DOI: 10.1074/jbc.M113.524801)
 16. Shin-ya Miyagishima, Yukihiro Kabeya, Chieko Sugita, Mamoru Sugita, and Takayuki Fujiwara, "DipM is required for peptidoglycan hydrolysis during chloroplast division", *BMC Plant Biology* vol. 14, 57, 2014 (DOI: 10.1186/1471-2229-14-57)
 17. Shin-ya Miyagishima, Takayuki Fujiwara, Nobuko Sumiya, Shunsuke Hirooka, Akihiko Nakano, Yukihiro Kabeya, and Mami Nakamura, "Translation-independent circadian control of the cell cycle in a unicellular photosynthetic eukaryote", *Nature Communications*, vol. 5, Article No.:3807, 2014 (DOI: 10.1038/ncomms4807)
 18. Satoru Watanabe, Jun Sato, Sousuke Imamura, Mio Ohnuma, Yusaku Ohba, Taku Chibazakura, Kan Tanaka, and Hirofumi Yoshikawa, "Stable expression of a GFP-reporter gene in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 78, pp. 175–177, 2014 (DOI:10.1080/09168451.2014.877823)
 19. Mio Ohnuma, Takashi Yokoyama, Takayuki Inouye, Yasuhiko Sekine, Tsuneyoshi Kuroiwa and Kan Tanaka, "Optimization of polyethylene glycol (PEG)-mediated DNA introduction conditions for transient gene expression in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*", *Journal of General and Applied Microbiology*, vol. 60, pp. 156–159, 2014 (DOI: 10.2323/jgam.60.156)
 20. Tsuneyoshi Kuroiwa, Mio Ohnuma, Yuuta Imoto, and Haruko Kuroiwa, "Lipid droplet formation in cells of the filamentous green alga *Klebsormidium nitens* as revealed by BODIYO-DiOC6 and BODIPY-Nile Red double-staining microscopy", *Cytologia*, vol. 79, 501–507, 2014 (DOI: 10.1508/cytologia.79.501)
 21. Shunsuke Hirooka, Sumio Higuchi, Akihiro Uzuka, Hisayoshi Nozaki, and Shin-ya Miyagishima, "Acidophilic green alga *Pseudochlorella* sp. YKT1 accumulates high amount of lipid droplets under a nitrogen-depleted condition at a low-pH", *PLOS ONE*, vol. 9, e107702, 2014 (DOI: 10.1371/journal.pone.0107702)
 22. Nobuko Sumiya, Takayuki Fujiwara, Yusuke Kobayashi, Osami Misumi, and Shin-ya Miyagishima, "Development of a heat-shock inducible gene expression system in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*", *PLOS ONE*, vol. 9, e111261, 2014 (DOI: 10.1371/journal.pone.0111261)
 23. Nobuko Sumiya, N., Yasuko Kawase, Jumpei Hayakawa, Mami Matsuda, Mami Nakamura, Atsuko Era, Kan Tanaka, Akihiko Kondo, Tomohisa Hasunuma, Sousuke Imamura, and Shin-ya Miyagishima, "Expression of cyanobacterial acyl-ACP reductase elevates the triacylglycerol level in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*", *Plant & Cell Physiology*, vol. 56, 1962–1980, 2015 (DOI: 10.1093/pcp/pcv120)
 24. Takayuki Fujiwara, Yu Kanesaki, Shunsuke Hirooka, Atsuko Era, Nobuko Sumiya, Hirofumi Yoshikawa, Kan Tanaka, and Shin-ya Miyagishima, "A nitrogen source-dependent inducible and repressible gene expression system in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*", *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, 657 (DOI: 10.3389/fpls.2015.00657)
 25. Yusuke Kobayashi, Naomi Harada, Yoshiki Nishimura, Takafumi Saito, Mami Nakamura, Takayuki Fujiwara, Tsuneyoshi Kuroiwa, Osami Misumi "Algae sense exact temperatures: small heat shock proteins are expressed at the survival threshold temperature in *Cyanidioschyzon merolae* and *Chlamydomonas reinhardtii*", *Genome Biology and Evolution*, vol. 6, pp. 2731–2740, 2014 (DOI: 10.1093/gbe/evu216)
 26. Gaku Fujii, Sousuke Imamura, Atsuko Era, Shin-ya Miyagishima, Mitsumasa Hanaoka and Kan Tanaka, "The nuclear-encoded sigma factor SIG4 directly activates transcription of chloroplast *psbA* and *ycf17* genes in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*" *FEMS Microbiol. Lett.*, No. 362(10), fnv063, 2015 (DOI: 10.1093/femsle/fnv063)
 27. Yu Kanesaki, Sousuke Imamura, Motomichi Matsuzaki and Kan Tanaka, "Identification of centromere regions in chromosomes of a unicellular red alga, *Cyanidioschyzon merolae*", *FEBS Letters*, No. 589, pp. 1219–1224, 2015 (DOI: 10.1016/j.febslet.2015.04.009)
 28. Tsuneyoshi Kuroiwa, Mio Ohnuma, Hisayoshi Nozaki, Yuuta Imoto, Osami Misumi, and Haruko Kuroiwa, "Cytological evidence of cell-nuclear genome size of a new ultra-small unicellular freshwater green alga, "*Medakamo hakoo*" strain M-hakoo 311: I. Comparison with

- Cyanidioschyzon merolae* and *Ostreococcus tauri*", Cytologia vol. 80, No.1, pp.143–150, 2015 (DOI: 10.1508/cytologia.80.143)
29. Sousuke Imamura, Yasuko Kawase, Ikki Kobayashi, Toshiyuki Sone, Atsuko Era, Shin-ya Miyagishima, Mie Shimojima, Hiroyuki Ohta and Kan Tanaka, "Target of rapamycin (TOR) plays a critical role in triacylglycerol accumulation in microalgae", Plant Mol. Biol., No. 89, pp. 309–318, 2015 (DOI: 10.1007/s11103-015-0370-6)
 30. Keiko Taki, Toshiyuki Sone, Yuki Kobayashi, Satoru Watanabe, Sousuke Imamura and Kan Tanaka, "Construction of a *URA5.3* deletion strain of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*: A backgroundless host strain for transformation experiments", J. Gen. Appl. Microbiol., No. 61, pp. 211–214, 2015 (DOI: 10.2323/jgam.61.211)
 31. Sousuke Imamura, Yasuko Kawase, Ikki Kobayashi, Mie Shimojima, Hiroyuki Ohta and Kan Tanaka, "TOR (target of rapamycin) is a key regulator of triacylglycerol accumulation in microalgae", Plant Signal. Behav., No. 11(3), e1149285, 2016 (DOI: 10.1080/15592324.2016.1149285)
 32. Nadine Rademacher, Ramona Kern, Takayuki Fujiwara, Tabea Mettler–Altmann, Shin-ya Miyagishima, Martin Hagemann, Marion Eisenhut and Andreas P.M. Weber, "Photorespiratory glycolate oxidase is essential for the survival of the red alga *Cyanidioschyzon merolae* under ambient CO₂ conditions", J Exp Bot. erw118. 2016 (DOI: 10.1093/jxb/erw118)
 33. Tsuneyoshi Kuroiwa, Mio Ohnuma, Yuuta Imoto, Osami Misumi, Noriko Nagata, Isamu Miyakawa, Masahiro Fujishima, Fumi Yagisawa and Haruko Kuroiwa, "Genome Size of the Ultra-small Unicellular Freshwater Green Alga, "*Medakamo hakoo* 311: II. Comparison with *Cyanidioschyzon merolae*, *Saccharomyces cerevisiae* (n, 2n), and *Chlorella variabilis*", Cytologia vol. 81, No.1, pp. 69–76, 2016 (DOI: 10.1508/cytologia.81.69)
 34. Yuki Kobayashi, Hiroyuki Ando, Mitsumasa Hanaoka and Kan Tanaka, "Abscisic acid participates in the control of cell-cycle initiation through heme homeostasis in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*", Plant Cell Physiol. vol. 57(5), 953–960, 2016 (DOI: 10.1093/pcp/pcw054)
 35. Mari Takusagawa, Youhei Nakajima, Takafumi Saito, Osami Misumi, "Primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae* accumulates storage glucan and triacylglycerol under nitrogen depletion", J. Gen. Appl. Microbiol., Vol. 62, Jul 14;62(3):111–7, 2016 (DOI: 10.2323/jgam.2015.12.001.)
 36. Masakazu Toyoshima, Natsumi Mori, Takashi Moriyama, Osami Misumi, Naoki Sato, "Analysis of TAG accumulation under nitrogen deprivation in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*", Microbiology, vol. 162, May;162(5):803–12, 2016 (DOI: 10.1099/mic.0.000261)
 37. Yuki Kobayashi and Kan Tanaka, "Transcriptional regulation of tetrapyrrole biosynthetic genes explains abscisic acid-induced heme accumulation in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*", Front. Microbiol. (online published), 2016 (DOI: 10.3389/fpls.2016.01300)
 38. Fumi Yagisawa, Haruko Kuroiwa, Takayuki Fujiwara and Tsuneyoshi Kuroiwa, "Intracellular structure of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* in response to phosphate depletion and resupplementation revealed by electron microscopy", Cytologia vol. 81, 341–347, 2016 (doi.org/10.1508/cytologia.81.341)
 39. Shunsuke Hirooka and Shin-ya Miyagishima, "Cultivation of acidophilic algae *Galdieria sulphuraria* and *Pseudochlorella* sp. YKT1 in media derived from acidic hot springs", Frontiers in Plant Science vol. 7, Article 2022, 2016 (doi.org/10.3389/fmicb.2016.02022).
 40. Nobuko Sumiya, Takayuki Fujiwara, Atsuko Era and Shin-ya Miyagishima, "Chloroplast division checkpoint in the algal cell cycle", Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 113, E7629–E7638., 2016 (doi: 10.1073/pnas.1612872113)
 41. Yuki Kobayashi, Kan Tanaka "Extraction and measurement of abscisic acid in a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*". Bio-protocol vol. 6, 2016 (doi.org/10.21769/BioProtoc.2033)
 42. Nobuko Sumiya and Shin-ya Miyagishima, "Hierarchical order in the formation of chloroplast division machinery in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*". Commun. Integr. Biol., in press.
 43. Takayuki Fujiwara, Mio Ohnuma, Tsuneyoshi Kuroiwa, Ryodo Ohbayashi, Shunsuke Hirooka and Shin-ya Miyagishima "Development of a double nuclear gene-targeting method by two-step transformation based on a newly established chloramphenicol-selection system in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*". Front. Plant Sci. vol. 8, Article 343, 2017 (doi.org/10.3389/fpls.2017.00343)

44. Yuuta Imoto, Yuichi Abe, Kanji Okumoto, Masanori Honsho, Haruko Kuroiwa, Tsuneyoshi Kuroiwa and Yukio Fujiki, “Defining dynamin-based ring organizing center on the peroxisome-dividing machinery isolated from *Cyanidioschyzon merolae*.” J. Cell Sci. 130, 853-867, 2017 (DOI:10.1242/jcs.199182).
45. Kirsten A Reimer, Martha R Stark, Lisbeth-Carolina Aguilar, Sierra R Stark, Robert D Burke, Jack Moore, Richard P Fahlman, Calvin K Yip, Haruko Kuroiwa, Marlene Oeffinger and Stephen D Rader, “The sole LSm complex in *Cyanidioschyzon merolae* associates with pre-mRNA splicing and mRNA degradation factors.” RNA 23, in press
46. Ikki Kobayashi, Satoru Watanabe, Yu Kanesaki, Tomohiro Shimada, Hirofumi Yoshikawa, Kan Tanaka “Conserved two-component Hik34-Rre1 module directly activates heat-stress inducible transcription of major chaperone and other genes in *Synechococcus elongatus* PCC 7942”. Mol. Microbiol. in press, (DOI: 10.1111/mmi.13624)
47. Sousuke Imamura, Keiko Taki, Kan Tanaka “Construction of a rapamycin-susceptible strain of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* for analysis of target of rapamycin (TOR) function”. J. Gen. Appl. Microbiol. in press
48. Sho Yamaguchi, Yuuki Kawada, Hidetaka Yuge, Kan Tanaka, Sousuke Imamura “Development of New Carbon Resources: Production of Important Chemicals from Algal Residue”. Scientific Reports, in press

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. Yamato Yoshida, Shin-ya Miyagishima, Haruko Kuroiwa, Tsuneyoshi Kuroiwa “Plastid-dividing machinery: formation, contraction and fission” Curr. Opin. Plant Biol. vol. 15, pp. 1-8, 2012
2. 黒岩常祥、日本植物学会について思うこと、日本植物学会 130 周年記念誌 6-30 (2013)
3. 藏野 憲秀、萩原 大祐、今村 壮輔、原山 重明、軽油生産能を有する単細胞緑藻の生産性向上、微細藻類によるエネルギー生産と事業展望、第9章、pp73-79、シーエムシー出版、2012
4. 田中 寛、今村 壮輔、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における窒素同化系とその制御、光合成研究 vol. 22, pp.167-173, 2012
5. 兼崎 友、万緑藻中紅一点:紅藻の科学 公益社団法人日本生物工学会刊 生物工学会誌 第91 卷8号 p.469, 2013
6. 兼崎 友、志波 優、吉川 博文、微生物研究での次世代シーケンサーの有効活用、遺伝子治療・診断の最先端技術と新しい医薬品・診断薬の開発 第5章 12 節、pp. 176-182, (株)技術情報協会, 2014
7. 黒岩常祥、細胞、原始から未来への鍵、「人間と文化」三愛新書 印刷中 (2014)
8. Tsuneyoshi Kuroiwa and Haruko Kuroiwa, “Mechanisms of division and inheritance of mitochondria and chloroplasts as revealed by help of superior researchers”. In Atlas in Plant Cell Structure, Springer, 2014
9. Haruko Kuroiwa and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Lipid body production in response to nitrogen starvation in *Chlamydomonas reinhardtii*”. In Atlas in Plant Cell Structure, Springer, 2014
10. Yamato Yoshida and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Chloroplasts divide by contraction of a bundle of polyglucan nanofilament”. In Atlas in Plant Cell Structure (Eds. Noguchi, T., et al.), Springer, pp48, 2014.
11. Haruko Kuroiwa and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Production of oil bodies in response to nitrogen starvation in *Chlamydomonas reinhardtii*”. In Atlas in Plant Cell Structure (Eds. Noguchi, T., et al.), Springer, pp 108, 2014.
12. 今村 壮輔、田中 寛、藻類オイル生合成のチェックポイント酵素 TOR キナーゼ. 日本ゲノム微生物学会会報誌、No.13、p1

13. 今村 壮輔、田中 寛、藻類オイル生合成のチェックポイントキナーゼ TOR、シーエムシー出版、藻類由来オイル/成分の利用と実用化に向けた取り組み、第2章、pp11-18、シーエムシー出版、2016
14. 兼崎 友、ゲノム研究の歴史と技術革新、公益社団法人日本生物工学会刊 生物工学会誌 第95巻3号 p.136-139, 2017

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 30 件、国際会議 10 件)

<国内>

1. 黒岩常祥(育種技術 G2)、われわれの細胞の起源をゲノム形態学から観る、日本顕微鏡学会特別講演、つくば国際会議場、2012.5.15
2. 田中 寛(代謝機能・制御 G1)、今村壮輔、紅藻シズン *Cyanidioschyzon merolae*における代謝制御研究、光合成学会公開シンポジウム「光合成と藻類バイオテクノロジー」、横浜(東京工業大学)、2012.6.1.
3. 黒岩常祥(育種技術 G2)、ミトコンドリアの起源からわれわれの細胞の「基」を読む、分析電子顕微鏡、幕張メッセ、2012.7.10
4. 黒岩常祥(育種技術 G2)、オルガネラの増殖と遺伝のしくみから真核生物の誕生機構を読む、新学術領域講演会 国立感染症研究所、2012.7.21
5. 黒岩常祥(育種技術 G2)、われわれの細胞誕生の謎を解く:未来への鍵、経済同友会講演、東京経済同友会 2012.10.25
6. 黒岩常祥(育種技術 G2)、細胞、原始から未来への鍵、三愛会文化講演会、東京銀座東武ホテル 2012.11.1
7. 渡辺智(環境耐性・遺伝子資源 G2)、藻類の遺伝子導入による有用植物の創出、第27回沙漠工学分科会講演会、東京農業大学、2013.1.23
8. 黒岩常祥(育種技術 G2)、細胞分裂に隠された細胞誕生のしくみー三つの細胞小器官の分裂装置の発見から 第14回 IGER グリーン自然化学レクチャー、名古屋大学、2013.5.31
9. 黒岩常祥(育種技術 G2)、オルガネラの分裂装置から見た生物の誕生・現在・未来、神谷宣郎生誕100周年記念シンポジウム、大阪大学、2013.7.13
10. 宮城島進也(育種技術 G1)、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における光合成と細胞成長・分裂の協調機構 日本植物学会第77回大会、札幌、2013.9.13
11. 三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、原始紅藻類研究のこれまでとこれからーゲノム解読からバイオマス創成まで、第28回つくば藻類・プロティストフォーラム、筑波大学、2013.10.28
12. 黒岩常祥(育種技術 G2)、20億年前に誕生した細胞からあなたまで、そして未来へ、東京理科大学公開セミナー、東京理科大学(野田)、2014.5.22
13. 黒岩常祥(育種技術 G2)、20億年前に誕生した細胞からあなたまで、そして未来へ、日本学士院第六十回公開講演会、山梨県立図書館 1階 イベントスペース、2014.5.24
14. 兼崎友(環境耐性・遺伝子資源 G2)、次世代シーケンス技術の発展から考える微生物ゲノム研究の行方、第13回微生物研究会、東京、2014.7.26
15. 黒岩常祥(育種技術 G2)、単膜系オルガネラで発見された第三の分裂リングから読み解く真核細胞の起源、日本学術会議進化系統分科会主催シンポジウム、日本学術会議、2014.8.9
16. 黒岩常祥(育種技術 G2)、真核生物の普遍原理の探求ー原核生物より小さな真核生物を基盤に、東京大学生物科学専攻統合記念シンポジウム、東京大学、2014.9.27
17. 今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、藻類バイオ燃料生産に向けた分子生物学的アプローチ、化学工学会 2014年度開発型企業の会、東京工業大学、2014.12.12
18. 今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における窒素同化系とその制御、微細藻類研究会 2014、岡崎コンファレンスセンター、2014.12.22

19. 黒岩常祥(育種技術 G2)、Microobservations reveal the true nature of the cell –On basis of discovery of three dividing rings of mitochondria, chloroplasts and peroxisomes、医学生物学電子顕微鏡技術学会、名古屋市立大学、2015.6.20
20. Yuuta Imoto(育種技術 G2)、Analysis of ultrastructure and molecular mechanism of the mitochondrion and peroxisome dividing machineries、日本生化学会・分子生物学会合同大会 シンポジウム、神戸ポートアイランド、2015.12.2
21. 黒岩常祥(育種技術 G2)、宇宙誕生は望遠鏡で細胞誕生は顕微鏡で –ミトコンドリア、葉緑体、ペルオキシソームの分裂マシンの発見から細胞誕生における核の3戦略を読む–、日本女子大学バイオイメージングセンター シンポジウム、日本女子大学、2015.12.5
22. 宮城島進也(育種技術 G1)、宿主細胞と共生細胞の分裂同調化によるオルガネラ成立機構、共生・寄生生物学シンポジウム、筑波大学、2016.3.5
23. 大林龍胆(環境耐性・遺伝子資源 G2)、シアノバクテリアにおける DNA 複製制御機構とその多様性に関する研究、第10回ゲノム日生物学会年会、東京工業大学、2016.3.5
24. 田中 寛(代謝機能・制御 G1)、シアノバクテリアから葉緑体へ：共生進化を光環境応答から見る、第16回進化学会シンポジウム S6：植物の進化、大岡山(東京工業大学)、2016.8.26
25. 宮城島進也(育種技術 G1)、Uses of acidic hot spring eukaryotic algae: pure and applied sciences、光合成科学：エネルギーとバイオマス、東京工業大学、2017.1.28
26. 瀧景子(代謝機能・制御 G1)、シズンゲノミクス研究基盤の整備と現状、光合成科学：エネルギーとバイオマス、東京工業大学、2017.1.28
27. 今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、藻類油脂生合成のチェックポイントキナーゼ TOR：その発見と応用、光合成科学：エネルギーとバイオマス、東京工業大学、2017.1.28
28. 田中寛(代謝機能・制御 G1)、小林勇気：共生による細胞進化：別個のオシレーションは如何に共役したか？：大阪大学 蛋白質研究所セミナー「真核生物のオルガネラ研究最前線」、大阪大学吹田キャンパス、2017.3.22
29. 今村壮輔(代謝機能・制御 G2)：細胞質とオルガネラのリボソーム RNA 合成の協調機構：大阪大学 蛋白質研究所セミナー「真核生物のオルガネラ研究最前線」、大阪大学吹田キャンパス、2017.3.22
30. 兼崎友(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重金属耐性を示す紅藻シアニジウムのオミクス解析、東京工業大学シンポジウム 光合成科学：エネルギーとバイオマス、東京工業大学、2017.1.28

<国際>

1. Yuuta Imoto(育種技術 G2), Mio Ohnuma, Yamato Yoshida, Haruko Kuroiwa, Tsuneyoshi Kuroiwa, Shigeyuki Kawano, Division behavior of mitochondrion and microbody in the red algae *Cyanidioschyzon merolae*, The international PhD student conference on Experimental Plant Biology. Czech Republic, Brno 2012.9.15
2. Kan Tanaka(代謝機能・制御 G1), Tsubasa Hosoya, Masaru Terashita, Yu Kanasaki and Sousuke Imamura. Nitrogen assimilatory pathway and the regulation in a eukaryotic red alga *Cyanidioschyzon merolae*. Physiology and Biotechnology of Microalgae, Russian Academy of Science, Moscow, Russia, 2012.10.16.
3. Shin-ya Miyagishima(育種技術 G1), Creation of heat and acid tolerant algae toward high biomass production. 1st Korea-Japan Microalgae Symposium, Daejeon, Korea. 2013.10.11
4. Tsuneyoshi Kuroiwa(育種技術 G2), On the origin of organelles: Why is mitochondrial division accompanied by inheritance of peroxisome and lysosome? The 4th international symposium on dynamics of mitochondria from molecular mechanisms to physiological function and diseases. Okinawa, Japan 2013.10.29
5. Hirofumi Yoshikawa(環境耐性・遺伝子資源 G2), New frontier of microbiology driven by next generation sequencer. High-temperature fermentation technology with thermotolerant microorganisms in tropical area. Kasetsart University, Bangkok, Thailand

2014.7.4

6. Kan Tanaka(代謝機能・制御 G1)、Abscisic acid signaling in a unicellular red alga、Japanese-Finnish Seminar 2014、Design of Superior Machinery of Light Energy Conversion in Photosynthetic Organisms、Sapporo、2014.10.13
7. Kan Tanaka(代謝機能・制御 G1)、Roles of the conserved response regulator Rre1 in stress-responsive transcription in cyanobacteria、The German-Japanese Binational Seminar 2015、Harvesting Light: From light harvesting to biotechnological products、Atami、2015.3.22
8. Kan Tanaka(代謝機能・制御 G1)、Abscisic acid signaling in a unicellular red alga、Yamada Symposium、Dynamics and Regulation of Photosynthesis、Nara、2015.10.30
9. Kan Tanaka(代謝機能・制御 G1)、Conserved Transcriptional Framework for Light Acclimation Processes: From Cyanobacteria to Chloroplasts、Saariselka、Finland、2016.9.8
10. Shin-ya Miyagishima(育種技術 G1)、Creation of heat and acid tolerant algae toward high biomass production、Baltimore、USA、2016.8.30

② 口頭発表 (国内会議 50 件、国際会議 4 件)

<国内>

- 1.大沼みお(育種技術 G2)、井元祐太、黒岩晴子、黒岩常祥、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* を用いたバイオマス生産向上株作出の試み 日本植物学会第 76 回大会、兵庫、2012.9.16
- 2.黒岩常祥(育種技術 G2)、黒岩晴子、大沼みお、井元祐太、三角修己、シズンのオルガネラの増殖から分かった油滴形成の真核生物における一般性 日本植物学会第 76 回大会、兵庫、2012.9.17
- 3.黒岩晴子(育種技術 G2)、三角修己、大沼みお、井元祐太、黒岩常祥、藻類におけるバイオエネルギー生産に関わる機能の細胞学的研究 日本植物学会第 76 回大会、兵庫、2012.9.17
- 4.小林優介(環境耐性・遺伝子資源 G1)、藤田亜希子、中村真心、三角修己、原始紅藻の熱耐性に関わる遺伝子の探索とその特徴付け 日本植物学会中国四国支部 第 69 回大会 島根 2012.5.12-13
- 5.三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、小林優介、藤原崇之、黒岩晴子、黒岩常祥、原始紅藻の熱耐性関連遺伝子の探索とその特徴付け 日本植物学会第 76 回大会 兵庫 2012.9.15-17
- 6.今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、兼崎友、大沼みお、井上貴之、関根靖彦、藤原崇之、黒岩常祥、田中寛、植物で初めて同定された窒素同化を制御する転写因子 第6回日本ゲノム微生物学会年会、東京、2013.3.11
- 7.毛利奈津美(環境耐性・遺伝子資源 G1)、横田昇太郎、三角修己、原始紅藻の硫黄欠乏応答に関する分子細胞学的解析、中国四国植物学会 第 70 回大会、徳島、2013.5.12
- 8.廣岡俊亮(育種技術 G1)、兼崎友、広瀬侑、吉川博文、宮城島進也、酸性耐性藻類の創出に向けての好酸性クラミドモナスのゲノム・トランスクリプトーム解析 日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
- 9.中村真心(育種技術 G1)、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における光合成による酸化ストレス応答と細胞周期制御の関係 日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
- 10.墨谷暢子(育種技術 G1)、小林優介、三角修己、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の遺伝子発現誘導系の確立と応用、日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
- 11.藤原崇之(育種技術 G1)、墨谷暢子、宮城島進也、細胞周期の進行と連携した葉緑体とミトコンドリア分裂の制御機構の解析、日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
- 12.大沼みお(育種技術 G2)、井元祐太、黒岩晴子、三角修己、兼崎友、黒岩常祥、シズンに

- おける遺伝子改変技術の改良とシアニジウム類おける高温耐性株選抜法、日本植物学会第77回大会、札幌、2013.9.13
- 13.黒岩晴子(育種技術 G2)、三角修己、大沼みお、井元祐太、黒岩常祥、藻類における細胞小器官の脂質合成に関わる機能の細胞学的研究、日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
 - 14.黒岩常祥(育種技術 G2)、井元祐太、黒岩晴子、大沼みお、単膜系細胞小器官の分裂装置から見た真核細胞の起源～ミトコンドリアとペルオキシソームは兄弟～、日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
 - 15.井元祐太(育種技術 G2)、黒岩晴子、吉田大和、大沼みお、藤原崇之、吉田昌樹、西田敬二、八木沢芙美、廣岡俊亮、宮城島進也、三角修己、黒岩常祥、河野重行、ポストゲノムクスを基盤としたペルオキシソーム分裂装置 (Pod-machinery) の構造同定と分子機構の解明、日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.15
 - 16.三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、毛利奈津美、横田昇太郎、原始紅藻の硫黄欠乏に対する細胞応答の解析、日本植物学会第 77 回大会、札幌、2013.9.14
 - 17.大沼みお(育種技術 G2)、吉田大和、藤原崇之、井元祐太、八木沢芙美、今村壮輔、三角修己、吉田昌樹、黒岩晴子、田中寛、黒岩常祥、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の分子遺伝学的手法の開発とその応用、第 7 回 日本ゲノム微生物学会若手の会、静岡県駿東郡、2013.9.19
 - 18.廣岡俊亮(育種技術 G1)、兼崎友、広瀬侑、吉川博文、宮城島進也 ゲノム解析を基盤とした好酸性クラミドモナスの酸性適応進化の解明 第 7 回 日本ゲノム微生物学会若手の会、静岡県駿東郡、2013.9.20
 - 19.井元祐太(育種技術 G2)、大沼みお、黒岩晴子、河野重行、黒岩常祥、単膜系ペルオキシソーム分裂マシンの構造・機能解析とその起源、第 55 回日本植物生理学会年会サテライトミーティング、富山、2014.3.17
 - 20.齋藤貴史(環境耐性・遺伝子資源 G1)、三角修己、原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の光波長変化に対する細胞応答の細胞生理学的解析、第 71 回中国四国植物学会大会、岡山、2014.5.11
 - 21.井元祐太、黒岩晴子、吉田大和、大沼みお、藤原崇之、吉田昌樹、西田敬二、八木沢芙美、廣岡俊亮、宮城島進也、三角修己、河野重行、黒岩常祥(育種技術 G2)、単膜系オルガネラ分裂リングの同定- ゲノム科学を基盤としたペルオキシソーム分裂装置(POD machinery)の微細構造と分子機構の解析、第 66 回日本細胞生物学会大会、奈良、2014.6.11
 - 22.宮城島進也(育種技術 G1)、藤原崇之、墨谷暢子、恵良厚子、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon* におけるエネルギー変換と細胞周期進行の関係、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 23.恵良厚子(育種技術 G1)、藤原崇之、墨谷暢子、中村真心、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* におけるエネルギー代謝の日周シフト、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 24.齋藤貴史(環境耐性・遺伝子資源 G1)、三角修己、原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のバイオマス合成に対する光波長変化の影響、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 25.三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、中島庸平、泉彩香、齋藤貴史、江頭茉由子、窒素欠乏環境における *Cyanidioschyzon merolae* のデンプン蓄積と脂質合成の関係、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 26.大沼みお(育種技術 G2)、藤原崇之、井元祐太、廣岡俊亮、黒岩晴子、三角修己、黒岩常祥、シゾンの形質転換系を用いた高温耐性遺伝子過剰発現の効果、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 27.黒岩晴子(育種技術 G2)、大沼みお、三角修己、井元祐太、黒岩常祥、藻類におけるバイオエネルギー生産に関わる機能を向上させる培地の探索、日本植物学会 第78回大会、

- 神奈川、2014.9.12
- 28.黒岩常祥(育種技術 G2), 大沼みお, 三角修己, 井元祐太, 黒岩晴子、バイオ燃料産生におけるオルガネラの役割、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 29.井元祐太(育種技術 G2), 黒岩晴子, 大沼みお, 藤木幸夫, 黒岩常祥、ポストゲノミクスを基盤としたペルオキシソーム分裂装置の構造と機能解析、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.12
 - 30.廣岡俊亮(育種技術 G1), 広瀬侑, 兼崎友, 吉川博文, 宮城島進也、好酸性緑藻 *Chlamydomonas eustigma* のゲノム・トランスクリプトーム解析、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.14
 - 31.墨谷暢子(育種技術 G1), 藤原崇之, 恵良厚子, 宮城島進也、単細胞藻類の細胞周期進行における葉緑体分裂チェックポイント、日本植物学会 第78回大会、神奈川、2014.9.14
 - 32.Takashi Kanzaki(代謝機能・制御 G1), Sousuke Imamura, Kan Tanaka、Functional analysis of nitrogen deficiency responsive transcription factor MYB1 in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*、第56回日本植物生理学会年会、東京、2015.3.17
 - 33.今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、田中寛、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における TOR (target of rapamycin) の機能解析、第56回日本植物生理学会年会、東京、2015.3.17
 - 34.墨谷暢子(育種技術 G1), 藤原崇之, 恵良厚子, 宮城島進也、単細胞紅藻の細胞周期進行における葉緑体分裂チェックポイント、第67回日本細胞生物学会、タワーホール船堀、2015.7.2
 - 35.恵良厚子(育種技術 G1)、真核藻類におけるエネルギー代謝リズムによる変動、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.6
 - 36.三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、単細胞原始紅藻の脂質合成と葉緑体の動態に関する分子細胞学的解析、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.6
 - 37.宮城島進也(育種技術 G1)、真核藻類におけるエネルギー代謝と細胞周期進行の関係、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.7
 - 38.墨谷暢子(育種技術 G1), 藤原崇之, 恵良厚子, 宮城島進也、真核藻類の葉緑体分裂チェックポイントの解析、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.8
 - 39.井元祐太、本庄雅則、奥本寛治、吉田昌樹、大沼みお、黒岩晴子、黒岩常祥(育種技術 G2)、藤木幸夫、GTP 依存的制御によるダイナミンリングの形成と収縮機構の解析、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.8
 - 40.黒岩常祥(育種技術 G2)、三角修己、野崎久義、大沼みお、井元祐太、黒岩晴子、紅藻シゾン を基盤にした顕微比較ゲノム測定に寄る最小真核緑藻メダカモの発見と意義・今後の展開、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.8
 - 41.黒岩晴子、大沼みお、三角修己、井元祐太、黒岩常祥(育種技術 G2)、藻類におけるバイオエネルギー生産と細胞小器官の機能に関する細胞学的研究、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.8
 - 42.岡村枝里佳、松永朋子、坂本卓也、黒岩常祥(育種技術 G2)、松永幸大、*Cyanidioschyzon merolae* におけるオーロラキナーゼを介したミトコンドリア分裂制御メカニズムの解析、日本植物学会第79回大会、朱鷺メッセ、2015.9.8
 - 43.平澤英里(代謝機能・制御 G2)、田中 寛、今村 壮輔、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のトリアシルグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼの機能解析、第57回日本植物生理学会年会、岩手大学上田キャンパス、2016.3.18
 - 44.今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、河瀬泰子、小林一幾、曾根俊之、恵良厚子、宮城島進也、下嶋美恵、太田啓之、田中寛、微細藻類においてトリアシルグリセロール合成を制御する TOR キナーゼ、第57回 日本植物生理学会年会、岩手大学上田キャンパス、2016.3.18
 - 45.田草川真理(環境耐性・遺伝子資源 G1)、クラミドモナスを用いた高温耐性藻の実験進化

- 学的作出、中国四国植物学会第 73 回大会、鳥取大学、2016.5.15
- 46.藤原崇之(育種技術 G1)、核藻類における日周期と細胞周期進行の関係の理解に向けて、日本植物形態学会第 28 回大会、琉球大学・西原キャンパス、2016.9.15
 - 47.兼崎友(環境耐性・遺伝子資源 G2)、小田しおり、重信直人、渡辺智、三角修己、吉川博文、極限環境紅藻シアニジウムのオミクス解析と重金属ストレス応答、日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 - 48.黒岩常祥(育種技術 G2)、シズンとメダカモから探る真核生物の増殖の基本原則、第 80 回日本植物学会大会 シンポジウム、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 - 49.瀧景子(代謝機能・制御 G1)、曾根俊之、墨谷暢子、神崎陸、宮城島進也、今村壮輔、田中寛、タイリングアレイによる原始紅藻シズンの窒素応答転写因子 CmMYB1 の転写ターゲットの網羅的解析、第58回日本植物生理学会年会、鹿児島大学、2017.3.17
 - 50.宮澤 和己(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重信 直人、兼崎 友、渡辺 智、吉川 博文、紅藻ガルデリアの糖添加による葉緑体白化・再緑化現象の解析、日本農芸化学会 2017 年年度大会、京都女子大学、2017.3.18

<国際>

- 1.Osami Misumi(環境耐性・遺伝子資源 G1)、Complete Genome sequence of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*, International Symposium on Microbial Research and Biotechnology for Biomass Utilization(The 2nd Satellite Seminar of Core to Core Program)、JR 博多シティ、2015.11.12
- 2.Sousuke Imamura(代謝機能・制御 G2)、Target of rapamycin (TOR) plays a critical role in triacylglycerol accumulation in microalgae、6th International Singapore Lipid Symposium/6th Asian Symposium on Plant Lipids、SLING, National University of Singapore、2015.12.3~4
- 3.Sousuke Imamura(代謝機能・制御 G2)、Regulation of nitrogen assimilation in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*、Tokyo Tech-HHU Du'sseldorf Joint Symposium on Photosynthesis as a New Chemical Resource、Tokyo、2015.3.5
- 4.Shin-ya Miyagishima(育種技術 G1)、Creation of heat and acid tolerant algae toward high biomass production、PACIFICHEM2015、Hawaii, USA、2015.12.18

③ ポスター発表 (国内会議 53 件、国際会議 11 件)

<国内>

1. 墨谷暢子(育種技術 G1)、小林優介、三角修己、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の遺伝子発現誘導系の開発 日本植物学会第 76 回大会、兵庫、2012.9.15
2. 大沼みお(育種技術 G2)、井元祐太、黒岩晴子、黒岩常祥、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* を用いた脂肪滴増加株作出の試み、日本植物形態学会 24 回大会、兵庫県立大学、2012.9.14
3. 兼崎友(環境耐性・遺伝子資源 G2)、三角修己、渡辺 智、黒岩常祥、吉川博文、紅藻 *Cyanidium caldarium* delta 株のミトコンドリアゲノム解読、第 7 回 日本ゲノム微生物学会、長浜、2013.3.8-10
4. 重信直人(環境耐性・遺伝子資源 G2)、齋藤夏穂、兼崎友、渡辺智、三角 修己、黒岩常祥、千葉櫻拓、吉川 博文、箱根大湧谷からの極限環境紅藻類シアニジウム、ガルデリアの新規単離、第 54 回日本植物生理学会年会、岡山、2013.3.21-23
5. 藤井岳(代謝機能・制御 G1)、今村壮輔、華岡光正、田中寛、シズン核コードシグマ因子 SIG2 による葉緑体フィコビリソーム遺伝子群の転写活性化、第 54 回日本植物生理学会年会、岡山、2012.3.23
6. 墨谷暢子(育種技術 G1)、小林優介、三角修己、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* 遺伝子発現誘導系の開発、日本植物形態学会第 25 回大会、札幌、2013.9.12

7. 中村真心(育種技術 G1)、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における光合成による酸化ストレス応答と細胞周期制御の関係、日本植物形態学会第 25 回大会、札幌、2013.9.12
8. 井元祐太(育種技術 G2)、黒岩晴子、吉田大和、大沼みお、藤原崇之、吉田昌樹、西田敬二、八木沢芙、廣岡俊亮、宮城島進也、三角修己、黒岩常祥、河野重行、原始紅藻シズンにおけるペルオキシソーム分裂装置 (Pod-machinery) の構造と分子機構の解明、日本植物形態学会第 25 回大会、札幌、2013.9.12
9. 大沼みお(育種技術 G2)、井元祐太、黒岩晴子、黒岩常祥、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における遺伝子改変技術の改良とシアニジウム類における高温耐性株選抜法、日本植物形態学会第 25 回大会、札幌、2013.9.12
10. 齋藤貴史(環境耐性・遺伝子資源 G1)、三角修己、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の光応答の解析、日本植物形態学会第 25 回大会、札幌、2013.9.12
11. 今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、石綿愛子、渡辺智、吉川博文、田中寛、ラパマイシンに感受性を示すシズン株の構築—植物における TOR キナーゼの機能解明に向けて—、第 7 回日本ゲノム微生物学会若手の会、静岡 2013.9.19
12. 廣岡俊亮(育種技術 G1)、兼崎友、広瀬侑、吉川博文、宮城島進也、好酸性クラミドモナスの酸性適応進化の解明に向けて、第 10 回クラミドモナス研究会「微細藻類研究のブレイクスルー」、岡崎、2013.11.29
13. 今村壮輔(代謝機能・制御 G2)、石綿愛子、渡辺智、吉川博文、田中寛、植物における TOR (target of rapamycin) の機能解明に向けて:ラパマイシンに感受性を示すシズン株の構築、第 8 回 日本ゲノム微生物学会年会、東京、2014.3.8
14. 小田しおり(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、三角修己、黒岩常祥、吉川博文、極限環境紅藻の新規単離と重金属イオン耐性に関わる遺伝子の探索、第 8 回日本ゲノム微生物学会年会、2014.3.7-9
15. 重信直人(環境耐性・遺伝子資源 G2)、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文、単細胞紅藻 *Galdiera sulphuraria* 新規単離株における糖添加時の細胞応答の解析、第 55 回植物生理学会年会、富山、2014.3.18-20
16. 大庭優作(環境耐性・遺伝子資源 G2)、山口智也、佐藤淳、千葉櫻拓、渡辺智、吉川博文、単細胞紅藻シズンにおける DNA 複製評価系の構築、第 55 回植物生理学会年会、富山、2014.3.18-20
17. 江頭茉由子(環境耐性・遺伝子資源 G1)、齋藤貴史、三角修己、pH 変化に対する *Cyanidioschyzon merolae* の応答、第 71 回中国四国植物学会大会、岡山、2014.5.10
18. 墨谷暢子(育種技術 G1)、藤原崇之、恵良厚子、宮城島進也、単細胞紅藻の細胞周期における葉緑体分裂チェックポイント、日本植物形態学会第26回大会、神奈川、2014.9.11
19. 齋藤貴史(環境耐性・遺伝子資源 G1)、三角修己、紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の貯蔵脂質とデンプン合成に対する光波長の影響、日本植物形態学会第26回大会、神奈川、2014.9.11
20. 大沼みお(育種技術 G2)、藤原崇之、井元祐太、廣岡俊亮、黒岩晴子、三角修己、黒岩常祥、原始紅藻シズンの遺伝子操作系を用いた高温耐性遺伝子過剰発現の効果、日本植物形態学会第26回大会、神奈川、2014.9.11
21. 田草川真理(環境耐性・遺伝子資源 G1)、中島庸平、三角修己、窒素欠乏条件下での原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のデンプンと TAG 蓄積の関係、日本植物形態学会第26回大会、神奈川、2014.9.11
22. 墨谷暢子(育種技術 G1)、河瀬泰子、早川准平、松田真実、中村真心、恵良厚子、田中寛、近藤明彦、蓮沼誠久、今村壮輔、宮城島進也、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* におけるシアノバクテリア Acyl-ACP reductase の発現はトリアシルグリセロールの量を増加させる、第27回植物脂質シンポジウム、静岡、2014.11.28
23. 大原ひかる(代謝機能・制御 G1)、安藤洗幸、小倉駿佑、藤井岳、今村壮輔、田中寛、恵良厚子、宮城島進也、五十嵐雅之、内海龍太郎、華岡光正、単細胞紅藻シズンにお

- る葉緑体に依存した核遺伝子の光誘導転写制御、第 56 回日本植物生理学会年会、東京、2015.3.16
24. 三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、培地の窒素含有量に伴う *Cyanidioschyzon merolae* の細胞応答の解析、中国四国植物学会第 72 回大会、愛媛大学、2015.5.16
 25. 田草川真理(環境耐性・遺伝子資源 G1)、窒素欠乏条件下において原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* はデンプンと TAG の両方を蓄積する、中国四国植物学会第 72 回大会、愛媛大学、2015.5.16
 26. 田草川真理(環境耐性・遺伝子資源 G1)、単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 高温耐性株の作製、第 12 回クラミドモナス研究会、中央大学、2015.9.3
 27. 墨谷暢子(育種技術 G1)、藤原崇之、恵良厚子、宮城島進也、真核藻類における葉緑体分裂チェックポイントの解析、日本植物形態学会第 27 回大会、朱鷺メッセ、2015.9.5
 28. 田草川真理(環境耐性・遺伝子資源 G1)、単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 高温耐性株の解析、日本植物形態学会第 27 回大会、朱鷺メッセ、2015.9.5
 29. 宮澤和己(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文、単細胞性紅藻 *Galdieria sulphuraria* SG 株における糖添加時の葉緑体白化減少の解析、日本植物学会第 79 回大会、朱鷺メッセ、2015.9.6
 30. 岩上匡伸(環境耐性・遺伝子資源 G2)、渡辺智、小野智央、兼崎友、田中寛、吉川博文、単細胞性紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* におけるヘム代謝酵素の局在解析、日本植物学会第 79 回大会、朱鷺メッセ、2015.9.6
 31. 小田しおり(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、笠原浩司、三角修己、吉川博文、新規単離極限環境紅藻の Mn 耐性関連遺伝子の探索、日本植物学会第 79 回大会、朱鷺メッセ、2015.9.6
 32. 齋藤貴史(環境耐性・遺伝子資源 G1)、紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の培養光波長によるバイオマス合成変化の仕組みの探求、日本植物学会第 79 回大会、朱鷺メッセ、2015.9.7
 33. 小林勇氣(代謝機能・制御 G1)、安藤洸幸、華岡光正、田中寛、紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* におけるアブシシン酸の機能、第 38 回 日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、2015.12.2
 34. 瀧景子(代謝機能・制御 G1)、曾根俊之、小林勇氣、渡辺智、今村壮輔、田中寛、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シズン) の遺伝子改変宿主株の分離、第 38 回 日本分子生物学会年会、神戸ポートアイランド、2015.12.2
 35. 小林 勇氣(代謝機能・制御 G1)、安藤洸幸、華岡光正、田中寛、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における ABA の機能、第57回 日本植物生理学会年会、岩手大学上田キャンパス、2016.3.18
 36. 竹村 時空(代謝機能・制御 G1)、小林勇氣、瀧景子、今村壮輔、田中寛、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における窒素欠乏応答低分子量 G タンパク CmRAB5 の機能解析、第57回 日本植物生理学会年会、岩手大学上田キャンパス、2016.3.20
 37. 河瀬 泰子(代謝機能・制御 G1)、今村壮輔、田中寛、単細胞紅藻類において暗誘導される R1 型 MYB 転写因子 MYB2 の機能解析、第57回 日本植物生理学会年会、岩手大学上田キャンパス、2016.3.20
 38. 小田しおり(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、笠原浩司、三角修己、吉川博文、新規単離極限環境紅藻の Mn 耐性関連遺伝子の探索、日本農芸化学会 2016 年大会、札幌コンベンションセンター、2016.3.28
 39. 三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の alcohol dehydrogenase の解析、中国四国植物学会第 73 回大会、鳥取大学、2016.5.14
 40. 三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* のバイオマス合成における鉄イオンの影響、日本植物形態学会第 28 回大会、琉球大学、2016.9.15
 41. 岩上匡伸(環境耐性・遺伝子資源 G2)、山川健太、大庭優作、兼崎友、千葉櫻拓、渡辺智、吉川博文、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における核ゲノム複製開始点の解

- 析、日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
42. 宮澤和己(環境耐性・遺伝子資源 G2)、重信直人、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文、紅藻ガルドリアへのグルコース添加による葉緑体白化現象と変異株の解析、日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 43. 三角修己(環境耐性・遺伝子資源 G1)、原始紅藻のバイオマス合成に影響を与える複数の外的要因とその代謝応答の共通性、日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 44. 田草川真理(環境耐性・遺伝子資源 G1)、高温耐性クラミドモナスの特性解析、日本植物学会第 80 回大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 45. 岡村枝里佳、松永朋子、坂本卓也、黒岩常祥、松永幸大、単細胞藻類シズンを用いたオーロキナーゼによる ミトコンドリア分裂制御メカニズムの解明、第80回 日本植物学会大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 46. 井元祐太(育種技術G2)、阿部雄一、奥本寛治、本庄雅則、黒岩晴子、黒岩常祥、藤木幸夫、ペルオキシソーム分裂装置の構造と機能解析、第80回 日本植物学会大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 47. 黒岩常祥(育種技術 G2)、黒岩晴子、永田典子、三角修己、田草川真理、井元祐太、八木沢芙美、乾弥生、松永幸大、紅藻シズンと極小緑藻メダカモから真核細胞の誕生・増殖の基本原理を探る、第80回 日本植物学会大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 48. 黒岩晴子(育種技術G2)、三角修己、井元祐太、大沼みお、黒岩常祥、藻類における脂質合成に関わる細胞小器官の機能について、第80回 日本植物学会大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 49. 大沼みお(育種技術 G2)、藤原崇之、井元祐太、黒岩晴子、宮城島進也、田中寛、黒岩常祥、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の構成的プラスミドと抗生物質耐性マーカーの開発、第 80 回 日本植物学会大会、沖縄コンベンションセンター、2016.9.16
 50. 吉川瞳子(代謝機能・制御 G1)、小林勇氣、瀧景子、今村壮輔、田中寛、単細胞紅藻シズンにおける核遺伝子の光転写活性化機構の解析、第11回日本ゲノム微生物学会年会、慶應義塾大学、2017.3.4
 51. 竹村時空(代謝機能・制御 G1)、小林勇氣、今村壮輔、田中寛、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における多重遺伝子変異系の開発、第58回日本植物生理学会年会、鹿児島大学、2017.3.18
 52. 小林勇氣(代謝機能・制御 G1)、田中寛：紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における ABA シグナル伝達の解析、第58回日本植物生理学会年会、鹿児島大学、2017.3.18
 53. 岩上匡伸(環境耐性・遺伝子資源 G2)、山川健太、大庭優作、兼崎友、渡辺智、千葉櫻拓、吉川博文、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における核ゲノム複製開始点の解析、第 39 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2016.12.1

< 国際 >

1. Sousuke Imamura(代謝機能・制御 G2), Yu Kanasaki, Mio Ohnuma, Takayuki Inouye, Yasuhiko Sekine, Takayuki Fujiwara, Tsuneyoshi Kuroiwa, Kan Tanaka. R2R3-type MYB transcription factor, CmMYB1, is a central nitrogen assimilation regulator in *Cyanidioschyzon merolae*, The 12th Asian Conference on Transcription, Korea, 2012.6.6-9
2. Takayuki Fujiwara(育種技術 G1), Nobuko Sumiya, Shunsuke Hirooka, Akihiko Nakano, Yukihiko Kabeya, Mami Nakamura, Shin-ya Miyagishima. Translation-independent circadian control of the cell cycle in a unicellular photosynthetic eukaryote. Biology of plastids -towards a blueprint for synthethic organelles, Poland, 2014.6.21-26
3. Mami Nakamura(育種技術 G1), Shin-ya Miyagishima. Relationship between responses to photosynthetic oxidative stress and regulation of cell cycle progression in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. Biology of plastids -towards a blueprint for synthethic

- organelles, Poland, 2014.6.21-26
4. Takashi Kanzaki(代謝機能・制御 G1), Sousuke Imamura, Kan Tanaka. Functional analysis of nitrogen deficiency responsive transcription factor MYB1 in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. Tokyo Tech-HHU Du'sseldorf Joint Symposium on Photosynthesis as a New Chemical Resource, Tokyo, 2015.3.4
 5. Gaku Fujii(代謝機能・制御 G1), Sousuke Imamura, Keisuke Tarohra, Keisuke Yoshida, Toru Hisabori, Mitsumasa Hanaoka, Kan Tanaka. Redox status regulates chloroplast transcription in the red algae *Cyanidioschyzon merolae*, Tokyo Tech-HHU Du'sseldorf Joint Symposium on Photosynthesis as a New Chemical Resource, Tokyo, 2015.3.4
 6. Kazuki Wada, Shoichi Kato, Mio Ohnuma, Tsuneyoshi Kuroiwa(育種技術 G2), Sachihito Matsunaga. Functional analysis of cohesin in primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*, The 2nd International Symposium on Plant Environmental Sensing, Tokyo, 2015.3.13-15
 7. Sousuke Imamura(代謝機能・制御 G2). Regulation of ribosome RNA transcription in a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. 2nd International Symposium Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells. Tsukuba, 2015.9.30-10.2
 8. Sumiya, N. (育種技術 G1), Kawase, Y., Hayakawa, J., Matsuda, M., Nakamura, M., Era, A., Tanaka, K., Kondo, A., Hasunuma, T., Imamura, S., and Miyagishima, S. Expression of cyanobacterial acyl-ACP reductase elevates the triacylglycerol level in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. 6th Asian Symposium on Plant Lipids, SLING, National University of Singapore, 2015.12.3-4
 9. Eri Hirasawa(代謝機能・制御 G2). Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase improves TAG productivity in a unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. 6th Asian Symposium on Plant Lipids, SLING, National University of Singapore, 2015.12.3-4
 10. Yuuta Imoto(育種技術 G2). Analysis of ultrastructure and molecular mechanism of the peroxisome-dividing (POD) machinery. American Society for Cell Biology 2015 Meeting, San Diego, USA, 2015.12.15
 11. Osami Misumi(環境耐性・遺伝子資源 G1). Unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* accumulates storage glucan and triacylglycerol under nitrogen depletion. 17th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas. Kyoto, 2016.6.26-7.1

(4)知財出願

①国内出願 (4件)

1. 発明の名称:「微細藻類、培養物、及び油脂の製造方法」
発明者:今村壮輔、田中寛、小林一幾、河瀬泰子、竹内卓人、太田啓之、下嶋美恵、藏野憲秀
出願人:国立大学法人東京工業大学、株式会社デンソー
出願日:2013.7.5
出願番号:特願 2013-142173
2. 発明の名称:「紅藻シアニジウム目のための脂質生産用培地組成物および脂質生産方法」
発明者:黒岩常祥、大沼みお、黒岩晴子、井元祐太
出願人:学校法人立教学院
出願日:2014.3.31
出願番号:特願 2014-071081
3. 発明の名称:「藻類油脂の製造方法及び藻類油脂の産生促進剤」
発明者:田中寛、今村壮輔、曾根俊之、吉田稔、松山晃久

出願人:独立行政法人科学技術振興機構、独立行政法人理化学研究所

出願日:2014.7.15

出願番号:特願 2014-144756

4. 発明の名称:「藻類バイオマスの生産方法」

発明者:三角修己、齋藤貴史

出願人:国立大学法人山口大学

出願日:2014.7.28

出願番号:特願 2014-152585

(5)受賞・報道等

①受賞

1. 竹田国際貢献賞、田中 寛、2013.7.3 日
2. Daiwa Adrian Prize 2013、Antony N. Dodd、華岡 光正、田中 寛 他7名の共同受賞、2013.1.27
3. 東京大学大学院新領域研究科 科長賞、井元祐太、2014.3.19
4. 日本細胞生物学会 若手最優秀発表賞、井元祐太、2014.6.11
5. 先端技術大賞フジテレビジョン賞、井元祐太、2014.7.31
6. 第27回植物脂質シンポジウム ポスター賞、墨谷暢子、2014.11.29
7. 第9回日本ゲノム微生物学会 ポスター賞「博士研究員以上」部門、渡辺智、2015. 3. 6
8. 中国四国植物学会 優秀発表賞ポスター発表部門、田草川真理、2015.5.17
9. 瑞宝重光章、黒岩 常祥、2015.11.5
10. 第10回日本ゲノム微生物学会若手賞、大林龍胆、2016.3.5
11. 東工大挑戦的研究賞、今村 壮輔、2016.07.29
12. 日本植物形態学会第 28 回大会奨励賞、藤原崇之、2016.09.15
13. 日本植物学会第 80 回ポスター賞、最優秀賞 黒岩常祥(東京理科大、松永幸大研究室と共同受賞)、2016.09.15
14. 第13回日本学術振興会賞、宮城島進也、2017.02.8
15. 日本農芸化学会 2017 年度功績賞、吉川博文、2017.03.17

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. Yamato Yoshida, Takayuki Fujiwara, Yuuta Imoto, Masaki Yoshida, Mio Ohnuma, Shunsuke Hirooka, Osami Misumi, Haruko Kuroiwa, Shoichi Kato, Sachihito Matsunaga and Tsuneyoshi Kuroiwa, “The kinesin-like protein TOP promotes Aurora localisation and induces mitochondrial, chloroplast and nuclear division”, Journal of Cell Science, vol. 126, No. 11, pp.2392-2400, 2013 (DOI: 10. 1242/jsc.116798)

上記論文発表についてのプレスリリースをうけての報道

- (1) 赤旗、細胞分裂の司令塔を発見、2013.6.12
- (2) 他にヤフーニュース、マイナビニュース、ライブドアニュース、環境 goo、エキサイトニュース「細胞分裂の基本的な仕組みの解明につながる遺伝子を発見」、2013.5.13

2. Yuuta Imoto, Haruko Kuroiwa, Yamato Yoshida, Mio Ohnuma, Takayuki Fujiwara, Masaki Yoshida, Keiji Nishida, Fumi Yagisawa, Shunsuke Hirooka, Shin-ya Miyagishima, Osami Misumi, Shigeyuki Kawano and Tsuneyoshi Kuroiwa, “Single membrane-bounded peroxisome division revealed by isolation of dynamin-based machinery”, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol.110, No. 23, pp.9583-9588, 2013 (DOI: 10. 1073/pnas. 1303483110)

上記論文発表についてのプレスリリースをうけての報道

- (1) 産業経済新聞、細胞分裂の分裂法、2013.5.21
- (2) 日本経済新聞、リング状物質が作用、細胞小器官の分裂を解明、2013.5.22
- (3) 日刊工業新聞、ペルオキシソーム細胞分裂、リング状物質が関与、2013.5.22

- (4) 朝日新聞、細胞小器官分裂の仕組み解明、2013.5.30
 (5) 赤旗、ペロキシソームの謎に迫る、2013.6.29
 (6) 共同通信を通じて北海道新聞、山形新聞、茨城新聞、上毛新聞、千葉日報、東京新聞、神奈川新聞、山梨日日新聞、信濃毎日新聞、静岡新聞、中日新聞、福井新聞、京都新聞、大阪日日新聞、神戸新聞、徳島新聞、愛媛新聞、高知新聞、佐賀新聞、長崎新聞、毎日新聞、河北新聞、山陰中央新報、山陽新聞、四国新聞、西日本新聞、日本海新聞、ジャパンタイムスを含む 61 社の他にヤフーニュース、マイナビニュース、MSN産経ニュース、「細胞小器官の分裂法を解明」、2013.5.21～6.6

3. Shin-ya Miyagishima, Takayuki Fujiwara, Nobuko Sumiya, Shunsuke Hirooka, Akihiko Nakano, Yukihiro Kabeya, and Mami Nakamura "Translation-independent circadian control of the cell cycle in a unicellular photosynthetic eukaryote", *Nature communications*, vol. 5, Article No.:3807, 2014 (DOI: 10.1038/ncomms4807)

上記論文発表についてのプレスリリースをうけての報道

- (1) 静岡新聞、藻の細胞分裂は夜に限定 国立遺伝研が仕組み解明、2014.5.9
 (2) 伊豆新聞、夜間選り細胞分裂 国立遺伝研が仕組み解明、2014.5.9
 (3) 伊豆日日新聞、夜間選り細胞分裂 国立遺伝研が仕組み解明、2014.5.9
 (4) サイエンスポータル、昼に光合成、夜に分裂する仕組み解明、2014.5.9

上記記事マイナビニュース(2014.5.10)、ナショナルジオグラフィックニュース(2014.5.11)に掲載

- (5) 科学新聞、夜間に細胞分裂する理由 光合成による損傷を最小限に、2014.5.23
 (6) 朝日新聞(静岡版)、昼に光合成、夜に細胞分裂、なぜ? 2014.6.17

4. Sousuke Imamura, Yasuko Kawase, Ikki Kobayashi, Toshiyuki Sone, Atsuko Era, Shin-ya Miyagishima, Mie Shimojima, Hiroyuki Ohta and Kan Tanaka, "Target of rapamycin (TOR) plays a critical role in triacylglycerol accumulation in microalgae" *Plant Mol. Biol.*, No. 89, pp. 309-318, 2015 (DOI: 10.1007/s11103-015-0370-6)

上記論文発表についてのプレスリリースをうけての報道

- (1) 日刊工業新聞、藻類の栄養感知たんぱく質不活性で油脂作製～東工大が発見～、2015.9.9
 (2) 化学工業日報、藻類由来油脂で新知見 東工大 ～有用脂肪酸の増産など～、2015.9.10

5. Yuki Kobayashi, Hiroyuki Ando, Mitsumasa Hanaoka and Kan Tanaka, "Abscisic acid participates in the control of cell-cycle initiation through heme homeostasis in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*", *Plant Cell Physiol.* vol. 57(5), 953-960, 2016 (DOI: 10.1093/pcp/pcw054)

上記論文発表についてのプレスリリースをうけての報道

- (1) 化学工業日報、原始植物がストレス関与分泌物合成、2016.4.5
 (2) 日刊工業新聞、原始紅藻が塩ストレス応答 植物ホルモン合成 東工大など発見、2016.4.8
 (3) 科学新聞、原始紅藻シグンでアブシシン酸が機能 東工大の研究グループが発見 植物ホルモン獲得のルーツ解明、2016.4.29

(6) 成果展開事例

① 実用化に向けての展開

- ・現在、段取りを進めている中国電力(株)の新小野田石炭火力発電所における、排ガスを利用した極限環境藻類の培養実験の結果を待ち、共同研究あるいは NEDO への応募などについて、山口大学産学公連携センターと協議中 (環境耐性・遺伝子資源 G1)
- ・山口大学産学公連携センターを仲介役として、宇部興産(株)と極限環境藻類を用いた廃棄物

資源の回収と資化に関する技術相談、共同研究について協議中。(環境耐性・遺伝子資源 G1)

②社会還元的な展開活動

- ・国立遺伝学研究所一般公開(平成 24、26 年度、観客 500 名)および、公開講演会(平成 25 年度、観客 250 名)、東京農業大学オープンキャンパス(平成 24-28 年度、観客 250 名)において藻類を用いた研究およびその利用に関して紹介した。(育種技術 G1)
- ・旭化成(株) 研究・開発本部 環境エネルギー研究開発センターの研究員に、藻類の培養条件等についての相談に乗り、いくつかの情報を提供した(平成 26 年 8 月 8 日、育種技術 G1)
- ・高等学校への出前授業で藻類バイオマス創成に関する動向と最新の研究内容を講義した(環境耐性・遺伝子資源 G1;環境耐性・遺伝子資源 G2)
- ・本CRESTの成果である極限環境藻類のLED光波長調節によるバイオマス合成の仕組みについて、文部科学省の建屋入り口の展示ロビーにて平成 29 年 3 月に約 1 ヶ月間実演展示(環境耐性・遺伝子資源 G1)

§ 5 研究期間中の活動

5. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 24 年 4 月 7 日	国立遺伝学研究所一般公開(研究室担当分)	国立遺伝学研究所	500 名	一般公開において藻類の研究法および利用法について紹介
平成 24 年 5 月 17 日	出前講義	山脇学園中学校高等学校(東京都)	60 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 24 年 9 月 25 日	第 4 回 山口大学農学部及び共同獣医学部附属中高温微生物センターシンポジウム「環境微生物－発見、解析、問題解決－」	山口大学吉田キャンパス	70 名	一般公開シンポジウム
平成 24 年 12 月 1 7 日	山口大学研究推進体「微生物の機能進化と環境適応 第 4 回研究成果発表会」	山口大学吉田キャンパス	140 名	一般公開講演会
平成 25 年 3 月 6 日	出前講義	大成高等学校(東京都)	30 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 25 年 3 月 13 日	出前講義	東京都立神代高等学校	30 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 25 年 11 月 2 日	国立遺伝学研究所公開講演会 2013(研究室担当分)	秋葉原コンベンションホール	250 名	一般公開講演会(藻類の研究および利用について 40 分の講演を行った。)
平成 25 年 11 月 7 日	出前講義	山口県立新南陽高等学校	20 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 25 年 11 月 22 日	第 5 回 山口大学農学部及び共同獣医学部附	山口大学吉田キャンパ	80 名	一般公開シンポジウム

	属中高温微生物センターシンポジウム 「地球温暖化に抗う生き物たちの戦略」～生物の耐熱性・耐熱化メカニズム～	ス		
平成 25 年 11 月 22 日	ラン藻の分子生物学 2013	かずさ DNA 研究所	110 名	微細藻類研究に関するシンポジウムを主催した。
平成 25 年 12 月 13 日	山口大学研究推進体 「微生物の機能進化と環境適応 第 5 回研究成果発表会」	山口大学吉田キャンパス	150 名	一般公開講演会（同領域 さきがけ 蓑田歩博士の講演を含む）
平成 26 年 3 月 7-9 日	第 8 回 日本ゲノム微生物学会年会	東京農業大学	400 名	微生物研究に関する学会を主催した。
平成 26 年 4 月 5 日	国立遺伝学研究所一般公開	国立遺伝学研究所	500 名	一般公開において藻類の研究法および利用法について紹介
平成 26 年 6 月 18 日	出前講義	東京都立豊多摩高等学校	30 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 26 年 7 月 26 日	第 13 回微生物研究会	東京農業大学	260 名	微生物研究に関する学会を主催した。
平成 26 年 8 月 3, 4 日	高校生向け模擬講義	東京農業大学	200 名	一般公開の模擬講義にて、藻類研究の動向について講演した。
平成 26 年 11 月 21 日	高校生向け模擬講義	東京農業大学	50 名	長野県飯山北高等学校の高校生、教員を対象に藻類研究の動向について講演した。
平成 27 年 1 月 21 日	理数フロンティア公開授業「科学的思考力、表現力を育む指導」	津久戸小学校 (東京都)	120 名 (PTA を含む)	理数教育公開講演会
平成 27 年 3 月 4-5 日	Tokyo Tech-HHU Dusseldorf Joint Symposium on Photosynthesis as a New Chemical Resources	Tokyo Tech Campus Innovation Center	70 名	学術交流
平成 27 年 3 月 29 日	日本農芸化学会大会シンポジウム 微生物および植物の「耐熱性」と「耐熱化」	岡山大学	75 名	公開シンポジウム
平成 27 年 5 月 31 日	遺伝子実験体験ワークショップ	東京農業大学	13 名	小学生～高校生を対象に遺伝子組換えに関する講義、実習を行った。
平成 27 年 8 月 7 日	山口大学中高温微生物研究センター「環境微生物部門セミナー」	山口大学	44 名	植木博士（東工大、久堀・若林研）を招聘し、招待講演を行った。

平成 27 年 10 月 7 日	出前講義	東京都立広尾高等学校	30 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 28 年 5 月 27 日	出前講義	秋田県立大学	25 人	NGS を用いたの藻類研究現状と展望についての講義
平成 28 年 7 月 4 日	1st <i>Cyanidioschyzon merolae</i> Symposium.	東京大学	40 名	シゾンの遺伝子改変計とそれを利用した研究成果に関する会議。
平成 28 年 8 月 25 日	岡山理科大学スーパーサイエンススクールサイエンスセミナー	日本女子大学	6 名	SSH の高校生(岡山理科大学)に細胞小器官の構造・機能及び誕生の講義をするとともに、永田典子日本女子大学教授の支援を得て電子顕微鏡など細胞観察機器を見学した。
平成 28 年 11 月 10 日	出前講義	神奈川県立多摩高等学校	30 名	微細藻類研究の現状と展望についての講義
平成 29 年 1 月 28 日	光合成科学：エネルギーとバイオマス	東京工業大学	80 名	一般公開シンポジウム
平成 29 年 3 月 10 日	「文科省エントランス企画展示」関連事業 山口大学中高温微生物研究センター・公開セミナー	キャンパス・イノベーションセンター東京	20 名	微生物・微細藻類を用いたバイオ燃料生産に関する公開セミナー

§6 最後に

単細胞紅藻シゾンの遺伝子改変技術の開発について、開始当初の想定よりも大幅に研究が進み、少なくとも基礎研究のためには、今や最も扱いやすい真核藻類研究系となった。現在、海外を含め多数の研究者から問い合わせが相次いでいるところである。チーム型研究のおかげで、複数の研究室から様々な技術開発アイデアが生まれたことがその要因として大きかったと感じている。また、研究総括、領域参事、アドバイザーの先生方の助言により、今後のシアニジウム類の利用の道も見え始めた。本研究の成果を生かし、今後はより社会実装に向けた研究が進められると確信している。