戦略的創造研究推進事業　CREST
研究領域「二酸化炭素資源化を目指した
植物の物質生産力強化と生産物活用のための
基盤技術の創出」
研究課題「葉緑体機能改変によるステイグリーン植
物の創出」

研究終了報告書

研究期間　平成23年12月～平成29年3月

研究代表者：田中　歩
（北海道大学低温科学研究所、教授）

§1 研究実施の概要

(1)実施概要

本チームの目的は葉緑体機能改変によるステイグリーン植物の創出である。そのためには、葉緑体、とりわけ光化学系の機能維持を達成する必要がある。そこで、本チームは共同し、1) 光化学系の改変によるステイグリーン植物の創出、2) 葉緑体の分解抑制によるステイグリーン植物の創出、3) 葉緑体の安定化によるステイグリーン植物の創出、の3方面から葉緑体機能の維持によるステイグリーン植物の創出を試み、いずれの方面においても大きな成果を上げた。同時に、ステイグリーン関連遺伝子の網羅的な選抜も試み、多くのステイグリーン関連遺伝子を同定するとともに、バイオマスの増加が認められる株の単離にも成功した。以下に、それぞれの項目についての研究成果の概要を示す。

1)「光化学系の改変によるステイグリーン植物の創出」のターゲットとしては、光化学系の集光アンテナ、および、それ以外の光化学系サブユニットの2つが選択肢となる。田中・草場グループは共同してこの課題に取り組み、それら両方の改変により複数の植物種(シロイヌナズナ、イネ、タバコ)においてステイグリーン形質を誘導した。具体的には、田中グループでは集光アンテナの改変によるステイグリーン形質の強化に取り組み、クロロフィル分解酵素の変異株と組み合わせ、その安定化に成功した。草場グループでは、光化学系 II のサブユニット(PsbM)および光化学系 I のアンテナタンパク質(Lhca4)が光化学系の形成・分解に重要な役割を果たすことを見出した。さらに、後者の変異株ではハーベストインデックスが高まるなどのバイオマス特性改良が認められた。これらの結果から、光化学系の改変がステイグリーン形質を誘導する有効な技術であることが明らかになった。

2)「葉緑体の分解抑制によるステイグリーン植物の創出」については、田中グループによって、これまで未解明であったクロロフィルの Mg 脱離酵素遺伝子の本体が、メンデルの緑豆の原因遺伝子 SGR であったことが明らかになった。興味深いことに、SGR の一過的な発現はクロロフィル分解系にとどまらず老化関連遺伝子の発現をも誘導すること、さらに、SGR の機能破壊株は強力なステイグリーン形質を示すことも明らかになった。SGR の発現制御による葉の老化制御は汎用性の高い技術であり、極めて重要な発見である。

草場グループでは、光化学系の分解において、上述の光化学系サブユニット(PsbM, Lhca4)に加え、SGR および NYC4 も重要な役割を担っていることを明らかにした。同時に、シロイヌナズナを用いてステイグリーン遺伝子ネットワークを解析し、①植物ホルモンであるストリゴラクトン及び②光受容体を介した葉老化促進の作用機構を解析し、ストリゴラクトン、エチレンおよび光受容体の三者における老化制御ネットワークを提唱した。特にストリゴラクトン変異株では、ステイグリーン形質に伴うバイオマスの増大も観察され、このアプローチの有用性を示した。

3)「葉緑体の安定化によるステイグリーン植物の創出」については、主に坂本グループが、光合成と葉緑体機能維持に関わる現象の解明から重要因子を同定し、これらの強化によるステイグリーンの実現とバイオマスへの利用のための研究を行った。具体的には葉緑体品質管理に関わる傷害の修復作用として、①光化学系 II 修復サイクルの重要プロテアーゼ FtsH と Deg の機能解明、②葉緑体膜の傷害と機能維持に関わるVIPP1タンパク質の同定、③葉の老化における葉緑体DNA分解現象の検証とオルガネラヌクレアーゼDPD1の機能解明、を進めた。さらに、他のグループと連携してこれらの機能解明とステイグリーン技術への利用を試み、VIPP1 の高発現株を利用することで田中グループが開発したステイグリーン株の生育阻害を改善し、より強力で安定したステイグリーンを作出することに成功した。

坂本グループでは、さらにステイグリーン技術をバイオマス作物へ利用するための基盤研究として、ソルガムを用いたステイグリーン同定の研究を行った。3つのグループの協力により、①ソルガムで再現よくステイグリーンを評価する栽培系を確立し、②ステイグリーン形質の QTL 解析を実現させる組換え純系系統を研究期間内に作出し、③得られた系統のゲノム解析を CREST の他チームと共同で行って高密度遺伝地図を作成し、④ソルガムステイグリーン QTL を同定することができた。また、これらリソースにより他のバイオマス関連重要形質に関し

ても同様の解析が可能になり、今後の CO_2 資源化研究への道筋をつけることができた。

(2)顕著な成果

＜優れた基礎研究としての成果＞

1. 葉緑体型グルタミン酸合成酵調節因子 ACR の発見

概要:

窒素代謝はステイグリーン形質と密接な関係にある。葉緑体型 Fd-GOGAT は植物の窒素代謝の中心的な役割を担っているが、その調節機構は不明であった。我々は、新規調節因子 ACR11を発見した。ACR11は Fd-GOGAT に結合してその量を調節し、日周や窒素量への GOGAT の応答を可能にしている。また、アミノ酸代謝を調節する役割も果たしていると予想される。

2. ストリゴラクトンとエチレンによる葉老化制御機構の解明

概要:

近年発見された植物ホルモン・ストリゴラクトンは葉の老化制御を含めた様々な機能を持つことが明らかになりつつある。我々は、正常な葉の老化の進行には植物ホルモン・エチレンの合成とエチレンにより制御されるストリゴラクトンの合成の両方が必要であることを明らかにした。葉の老化がこのような 2 段階の制御を受けていることは、植物体を枯死させる老化シグナルは暴走することがないように厳密に制御されていることを示唆する。

3. VIPP1 タンパク質による葉緑体膜保護機能の解明

概要:

VIPP1 タンパク質は光合成生物に普遍的に存在するが、その生理作用の詳細は不明であった。膜貫通領域を持たないが巨大複合体を形成して膜結合性を有し、チラコイド膜形成に関わると予想されていたが、本研究により、VIPP1 は高温や低浸透圧により包膜が受ける傷害を認知して膜からの脱会合と会合を繰り返し、葉緑体膜を保護する作用があることを明らかにした。この膜保護作用には光合成生物特有の C 末端領域が付加的に作用することも明らかにした。VIPP1 の高発現により植物の成長あるいはストレス耐性が改善されることもわかり、葉緑体機能維持の一側面とそれらの生理作用が解明された。

＜科学技術イノベーションに大きく寄与する成果＞

1. Mg-脱離酵素の発見

概要:

クロロフィル分解の最初の反応を触媒する Mg-脱離酵素は、多くの研究者が長年にわたり単離に挑戦してきたが、未同定のままであった。我々は、StayGreen 遺伝子(SGR)が Mg-脱離酵素であることを解明した。sgr変異株は強力な Stay green の形質を示す。この Mg-脱離酵素の阻害剤を作製すれば、園芸、農産物の輸送など様々な方面に応用が広がる。

2. 低肥料条件で濃緑色葉を作る技術

概要:

イネステイグリーン突然変異体 *dcd1* 突然変異体は低肥料条件下でも葉の緑色を濃く保つ性質を持つものと考えられた。例えば畳表に使われるイグサは濃い緑色の葉にするために多量に施肥した条件により栽培するが、このような栽培はコストの上でも、環境保全の意味でも問題がある。また、一般に観賞用の植物は葉色が濃いことが望まれており、*dcd1*遺伝子のゲノム編集等による破壊は低肥料条件下でも濃緑色の葉を作る一般的な技術となる可能性がある。

3. ソルガム重要形質の QTL 同定と利用

概要:

本研究ではバイオマス作物ソルガムにおけるステイグリーン形質の同定を実践するために組換え純系系統の育成を行った。この系統を用いることで、ステイグリーンに限らず収量、環境耐性などに関わる重要形質が遺伝子として単離できることが明らかとなった。これらの多くが未だ同定されていない形質であるため、今後、これらの QTL を同定してマーカー育種に用いることで、二酸化炭素資源化への利用がソルガムなどの大型作物で期待できる。

§2 研究実施体制

(1)研究チームの体制について

①田中グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	田中 歩	北海道大学低温科学研究所	教授	H23.12～
	田中 亮一	同上	准教授	H23.12～
	高林 厚史	同上	助教	H23.12～
	伊藤 寿	同上	助教	H23.12～
	加藤 由佳子	同上	技術職員	H23.12～
＊	岸本 純子	同上	技術補助員	H23.12～H26.3、H26.10～
	中島 沙織	同上	D2～3	H23.12～H25.3
	胡 学運	同上	D2～3	H23.12～H25.9
	下田 洋輔	同上	D1～3、学振 PD	H23.12～H27.3
	功刀 基	同上	D1～3	H23.12～H27.3
	高橋 香織	同上	D1～3、学振 DC	H24.4～H28.3
＊	横野 牧生	同上	学術研究員	H25.4～
	Jia Ting	同上	D1～3	H26.4～H28.3
	秋山 雄希	同上	D1～3	H26.4～
	佐藤 智亮	同上	D1～3	H26.4～
	古川 亮	同上	D1	H28.4～

研究項目:光合成の改変によるステイグリーン誘導

- シロイヌナズナのステイグリーン変異株の単離と原因遺伝子の同定
- 光化学系改変技術の開発とステイグリーン誘導
- ステイグリーン技術の統合と汎用性の検討

②草場グループ

研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	草場 信	広島大学大学院理学研究科	教授	H23.12～
＊	増田 優	同上	特任助教	H24.9～H25.2
＊	上妻 馨梨	同上	特任助教	H25.2～H27.3
＊	長島 由美	同上	契約技術職員	H25.10～H27.11、H28.4～
	小塚 俊明	同上	助教	H27.4～
	山谷 浩史	同上	学振 DC1	H27.4～
＊	中野 道治	同上	特任助教	H28.4～

研究項目:ステイグリーン系統の単離・解析と作出

- イネステイグリーン突然変異体の原因遺伝子単離と葉緑体機能改変
- シロイヌナズナにおけるステイグリーン遺伝子ネットワークの解析
- ソルガムにおけるステイグリーン遺伝子オルソログの解析

③坂本グループ
研究参加者

	氏名	所属	役職	参加時期
○	坂本　亘	岡山大学資源植物科学研究所	教授	H23.12～
	加藤　裕介	同上	技術職員、助教	H23.12～H24.3、H27.4～
	小童谷　利恵	同上	技術補佐員	H23.12～
＊	Lingang Zhang	同上	特別契約職員(助教)	H24.4～H28.3
	高見　常明	同上	技術職員	H25.4～
＊	大西　紀和	同上	特別契約職員(助教)	H28.4～

研究項目：葉緑体機能強化因子の同定とステイグリーンの作出
- 葉緑体品質管理と機能向上によるステイグリーン技術の確立
- ソルガムにおけるステイグリーン利用の実践とCO_2資源化への基盤整備

(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
坂本グループのVIPP1による成長促進作用については、国内シンポジウムでの成果発表後に日本たばこ産業(株)が興味を持ち、共同研究により解析を進めることになった。米国特許仮出願を行ったがその後の結果で本出願を見送っているが、他のソルガムなどの研究も含め、今後の共同研究については協調する体制が構築された。

本研究でチーム一体となって進めたソルガムステイグリーンの解析については、同じくソルガムのモデリングを進めている堤チームと協力体制が確立され、ソルガムの遺伝地図作成、圃場栽培と形質測定が飛躍的に進んだ。また、ソルガムのステイグリーンと乾燥耐性の研究に取り組む鳥取大学との連携も進むことになった。一部の研究については、企業との連携も進み、今後も継続した国内ネットワークとして研究が進むと予想される。

§３ 研究実施内容及び成果

３．１ 光合成の改変によるステイグリーン誘導（北海道大学　田中グループ）

(1)研究実施内容及び成果

本チームでは、光化学系の改変によるステイグリーンの作製に取り組んできた。その中で、CAO 高発現株で光化学系の改変によるステイグリーン形質の誘導が生じることを見出した。これは、光合成機能を長く維持すること自体が葉の老化を阻害し得るという点で、極めて重要な知見であった。なぜならば、光化学系の安定化、もしくは光化学系の分解遅延によって葉の老化を阻害し、光合成期間を長くすることが可能であることが明らかになったからである。

そこで、本研究では、その方向性に基づき、1）CAO 高発現株に特徴的な細胞死の抑制によってそのステイグリーン形質の安定化を目指すとともに、2）光合成機能を伴うステイグリーン突然変異株のスクリーニングを行った。また、3）葉の老化の律速段階であるクロロフィル分解の研究から得た知見を利用して、4）クロロフィル分解制御を利用したステイグリーン形質の誘導に成功した。また、同時に、5）光化学系の安定化および葉の老化阻害に重要な役割を担う、窒素代謝の新規制御機構を明らかにした。これにより、新たなステイグリーン誘導技術への道筋を見出した。さらに、本研究を進める中で、光化学系の重要な制御機構を見出したため、それも合わせて報告する。

１．ステイグリーン遺伝子の網羅的単離とバイオマス評価

①バイオマスの増加する変異体の単離と解析

バイオマスの増加するステイグリーン株を得るため、理化学研究所が提供するシロイヌナズナ遺伝子強制発現系統 FOX ラインのスクリーニングを行った。その結果、ステイグリーン形質を持つ SGk 株（図1）を単離することに成功した。この株ではバイオマスの増加が観察された。バイオマスの増加の程度は環境によって異なり、長日の条件では、地上部、地下部とも約 1.5 倍のサイズになった。この株のゲノムを詳しく調べたところ、この形質は外来遺伝子の発現誘導ではなく、外来の DNA 断片が At3g15115 の領域に挿入されていることによることが分かった。そこでこの遺伝子の Knockout ラインを解析したところ、同じようにバイオマスの増加が見られた。SPAD で測定したクロロフィル量もこれらの変異株において増えていた（図2）。これらの結果より、この形質は At3g15115 の発現が抑制されたためと思われる。At3g15115 はこれまでに報告はなく、データベースにも記載されていない。この新奇な遺伝子は、核移行シグナルを持っているので、何らかの遺伝子発現を制御していると予想される。この遺伝子は、これまで全く解析されていないので、今後の研究が期待される。

図１　SGk 株のバイオマス

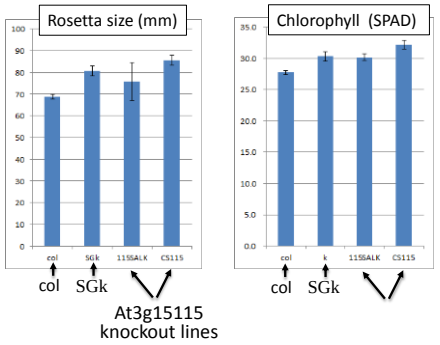


図２　変異株のクロロフィル量とロゼッタサイズ。At3g15115 の欠損変異株はクロロフィル量とロゼッタサイズの増加がみられた。

２．光化学系の改変とステイグリーン誘導とその技術の一般化

①ステイグリーンに関連するクロロフィル分解機構の解明

本プロジェクトの開始にあたり、「プロジェクト終了までに、葉緑体の形成や機能維持、分解系に関わる新たな因子を同定し、それらの調節機構を解明する」との目的を掲げた。その中でも、クロロフィル*b*還元酵素 NYC1 と Mg-脱離酵素は、それぞれクロロフィル *b* とクロロフィル *a* 分解の最初のステップを担うクロロフィル分解の鍵となる酵素である。そこで、この二つの課題に取り組んだ。

1)クロロフィル*b*還元酵素 NYC1 の制御機構

クロロフィル *b* は直接分解経路に入ることはできず、分解のためには一度クロロフィル *a* に転換されなければならない。クロロフィル *b* をクロロフィル *a* に転換する最初の酵素は NYC1 が触媒する。本プロジェクトで、NYC1 の活性は細胞死と密接に関連していることを明らかにした。そこで、NYC1 の制御機構の解明に取り組んだ。最初に、35S プロモーターを用いて NYC1 の遺伝子の発現を試みたが、NYC1 タンパク質の増加は見られなかった。そこで翻訳後制御が NYC1 の主要な制御機構と考え、特に NYC1 の基質であるクロロフィル *b*(LHC)との関連を調べた。興味深いことに、クロロフィル *b* 欠損株 *ch1-1* では、NYC1 はいかなる環境、生育段階でも蓄積することはなかったため、NYC1 の蓄積にはその基質であるクロロフィル *b* が必須であることが分かった。さらに、クロロフィル蛍光等の解析を進めたところ、光合成として機能していない不要なクロロフィル*b*(機能していない LHC)は NYC1 の蓄積量と密接に関連していた。以上の結果から、NYC1 は LHC による Feedforward な制御を受けていることが明らかになった(図3)。これはクロロフィル *a* をクロロフィル *b* に転換する CAO がプロダクト(クロロフィル *b*)による Feedback 制御を受けているのとは対照的である。(Plant J, 2015)

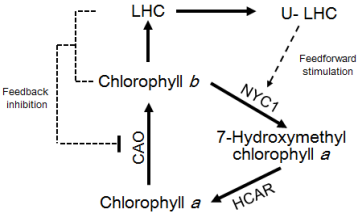


図3　NYC1 の制御機構
NYC1 の制御は、基質である LHC による NYC1 の安定化によって行われる Feedforward 制御である。

2)Mg-脱離酵素の同定

クロロフィル *b* はクロロフィル *a* に転換されたのち分解されるので、クロロフィル *a* の分解機構の解明が重要な課題である。クロロフィル分解の最初の反応は、クロロフィル *a* から中心金属の Mg が脱離することである。その後、いくつかの反応によってフィトールが切断され、クロロフィルは安全な分子に転換される。多くの研究によって、これらクロロフィル分解に関わる酵素はほぼ全て同定された。しかし、多くの研究者の努力にもかかわらず、ただ一つ Mg-脱離酵素だけは同定されなかった。Mg-脱離酵素はクロロフィル分解の最初を担うので、クロロフィル分解を制御するには最も大切な酵素であり、ステイグリーン研究の進展にとって欠くことのできない知見である。

そこで、我々はこの酵素の同定に取り組んだ。Mg-脱離酵素はクロロフィル *a* から Mg を抜き取りフェオフィチン *a* に転換する。フェオフィチン *a* は分解の最初の中間体であると同時に、光化学系 II の反応中心で電荷分離を担う重要な分子でもある。我々は、もし、この Mg-脱離酵素がなかったら、光化学系 II の形成が進まないと考えた。そこで、光合成をしなくとも生育できるクラミドモナスを用いて、光化学系 II の活性が低下した 100 株を

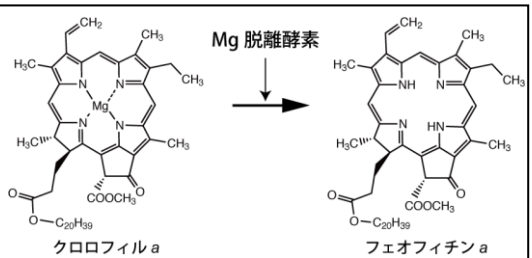


図4　Mg-脱離酵素の反応機構
ステイグリーンを誘導する遺伝子として報告されている SGR は Mg のクロロフィルからの脱離を触媒する。この反応はクロロフィルの分解と光化学系の形成分解に関わることが予想される。

単離した。これらの株において、タグの挿入された場所を調べた結果、予想された原因遺伝子の一つに SGR と呼ばれている遺伝子があった。この SGR はメンデルの緑豆の原因遺伝子であり、この遺伝子の発現が抑制されるとステイグリーンになることが報告されていた。

我々は、小麦胚芽無細胞系でシロイヌナズナの SGR（SGR1, SGR2, SGRL）の組み換えタンパク質を作成し、その活性を調べた。その結果、SGR はクロロフィル *a* から Mg を引き抜く活性があることが示された。この SGR はクロロフィル *b* を基質とはせず、このことはクロロフィル *b* がクロロフィル *a* に転換されてから分解されることと一致した。一方、SGR1 と SGR2 はクロロフィリド *a* を基質にしなかったが、SGRL はクロロフィリド *a* に対して高い活性が見られた。これは、従来知られていないクロロフィリド *a* 経由の分解系の存在を示している。

また、クロロフィルは葉緑体内ではタンパク質と結合し、クロロフィルータンパク質複合体を形成している。そこで、この複合体を基質にしたところ、効率よく Mg を引き抜いた。さらに、シロイヌナズナの老化前の緑葉において、SGR の発現を一過的に誘導したところ、クロロフィルが減少し、誘導2日目にはほとんどのクロロフィルが分解された。これらの結果から、実際の葉緑体内では、SGR はタンパク質に結合したクロロフィルを基質にしており、光化学系の分解を直接制御していることが予想された。

このように、本プロジェクトによってクロロフィル分解の制御にとって最も重要な酵素、Mg-脱離酵素の同定に初めて成功した。(Plant Cell 2016)

②バイオマスとステイグリーンに寄与する窒素代謝調節機構の解明

葉の老化や光合成は窒素量と密接な関係にあり、窒素施肥を続けられる現代農業においては、窒素同化能を長く維持することで、ステイグリーン株を作出できる可能性がある。

本研究では、葉緑体の網羅的なタンパク質複合体解析の結果、フェレドキシン依存的なグルタミン酸合成酵素（Fd-GOGAT）の新規制御因子 ACR11 を見出した。ACR11 は Fd-GOGAT と直接相互作用しており、アミノ酸結合モチーフ（ACT モチーフ）を2つ有することから、Fd-GOGAT のアロステリック制御に関わっていると予想された。、

acr11 の T-DNA 挿入変異株の表現型を解析した結果、Fd-GOGAT の蓄積量が顕著に減少しており、しかも、遊離アミノ酸の蓄積プロファイルは野生型と *acr11* で大きく異なっていた。また、野生型で見られた Fd-GOGAT タンパク質の日周サイクルや窒素添加に伴う Fd-GOGAT の一過的な蓄積量の上昇は *acr11* では見られなかった。一方、BN-PAGE の結果などから、ACR11 の 4 量体に Fd-GOGAT の 4 量体が結合して ACR11-Fd-GOGAT 複合体を形成していることが明らかになった。さらに単粒子解析で 2D 構造を予測したところ、回転対称な構造が得られた（図5）。現在は 3D 構造の予測を試みている。

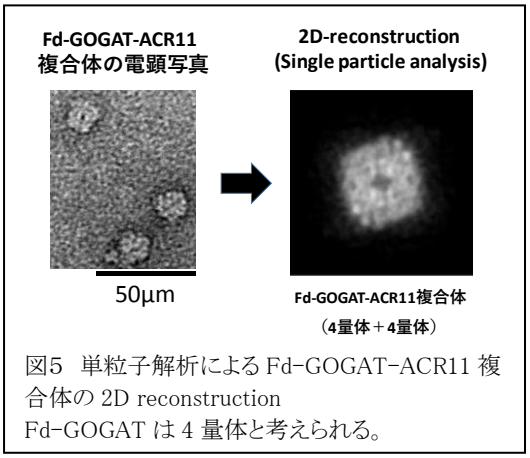


図5　単粒子解析による Fd-GOGAT-ACR11 複合体の 2D reconstruction
Fd-GOGAT は 4 量体と考えられる。

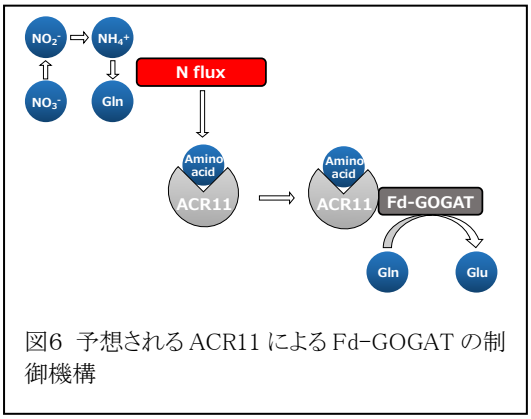


図6　予想される ACR11 による Fd-GOGAT の制御機構

これらのデータから、ACR11 は葉緑体内の窒素量、おそらくはグルタミン量をモニターし、その量の変動に応じて Fd-GOGAT 量を調節していることが明らかになった（図6）。

窒素同化能を長く維持することでステイグリーン株を作出するためには、Fd-GOGAT 活

性を長く維持する必要がある。そのためには、ACR11 の制御を受けない Fd-GOGAT を発現させるというアプローチが可能であることが明らかになった。今後はその方向性を進めていきたい。

3. 光化学系の改変と品質保持に関連するその他の成果

ステイグリーンとは直接関係しないが、光化学系の改変と品質保持に関連する以下の成果を挙げた。

①集光装置の大きさの制御

CAO を一過的に誘導することで、LHC の蓄積を誘導し、集光装置の大きさを自由に制御することに成功した。この技術は、制限された環境下で光合成を効率的に行う植物の作製に貢献すると思われる。(Planta 2016)

②光化学系の基本構造の解明

従来は、光化学系 II はグラナラメラ、光化学系 I はストロマラメラにあり、両者は分かれて存在すると考えられてきた。非変性の電気泳動や蛍光解析を行うことで、光化学系 I と光化学系 II が一つの超複合体を形成していることを発見した(図7)。これらの超複合体間では、光化学系 I と II が光エネルギーをお互いに共有する(移動する)ことが可能であった。これらの結果は、今までの光合成の考え方を根本的に変えるものであり、この新しい光化学系像に沿った光合成の改変が大切であることを示した。この超複合体が強光処理で増加すること、光化学系 I は過剰エネルギーを効率よく散逸できることを考えると、この超複合体は光合成や葉緑体の品質保持に重要な役割を担っていることが推測される。本プロジェクトの一つの柱である葉緑体の品質維持機構の解明と強化につながることが期待される。(Nature communications 2015)

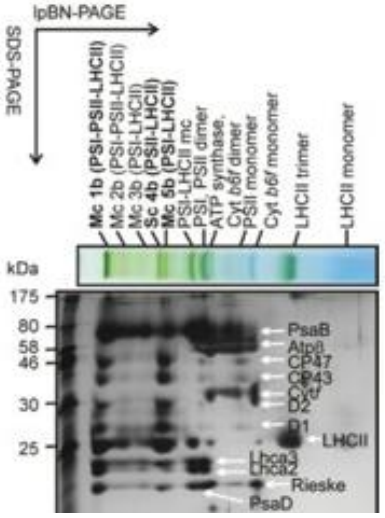


図7 Large Pore PAGE による複合体の分離と2次元電気泳動による構成タンパク質の解析。PSI-PSII-LHCII 超複合体が分離された。

3. 2 ステイグリーン系統の単離・解析と作出(広島大学 草場グループ)

(1)研究実施内容及び成果

本グループでは、様々な植物種を用いたステイグリーン突然変異体の単離と原因遺伝子の同定・機能解析を基盤として、ステイグリーン誘導の分子メカニズムと遺伝子ネットワークの解明を目指した。イネにおいては *nyc4*、*dcd1* 突然変異体、ダイズでは *cytG* などのステイグリーン突然変異体の解析を行ったが、全て光化学系に関連した葉緑体に局在するタンパク質の機能喪失が原因であったことは興味深い。これらの結果は光化学系改変によるステイグリーン誘導基盤技術の開発に結びつく成果と考えられる。一方、シロイヌナズナのステイグリーン突然変異体の原因遺伝子は、光受容や植物ホルモンの信号伝達系遺伝子であった。それぞれの遺伝子の機能解析と関連するシグナル伝達経路の解析結果を統合することによりステイグリーン遺伝子ネットワークの一端を明らかにすることができた。なお、ソルガムにおけるステイグリーン遺伝子については、坂本グループとの共同で *SGR*・*VIPP1* オルソログや QTL 関連遺伝子について解析した(坂本グループ参照)。

1. イネステイグリーン突然変異体の原因遺伝子単離と葉緑体機能改変

① PSII コアタンパク質の分解抑制が顕著なステイグリーン突然変異体 *nyc4*

nyc4 は暗黒処理あるいは自然老化においても葉の緑色を保つイネのステイグリーン突然変異体である(図1 A)。*sgr* などの他のステイグリーン突然変異体と違い、暗黒処理時に Fv/Fm 値の低下抑制が顕著である点がひとつの特徴である(図1 B)。マップベースクローニングの結果、*NYC4* はシロイヌナズナでは斑入り突然変異の原因遺伝子として知られる葉緑体局在タンパク質遺伝子 *THF1* のオーソログであることが分かった。*nyc4* は強光に感受性が高く、特定の生育ステージで葉の白化が起こることから、強光適応にも役割を果たしていると考えられる。*NYC4*は明条件下で発現が高く、暗黒処理により発現が低下するが、葉の老化が進行すると再び発現量が上昇する。このことは、*NYC4*が強光ストレスに対する適応と葉老化時におけるクロロフィル分解制御の二つの機能を持つことに符合する。

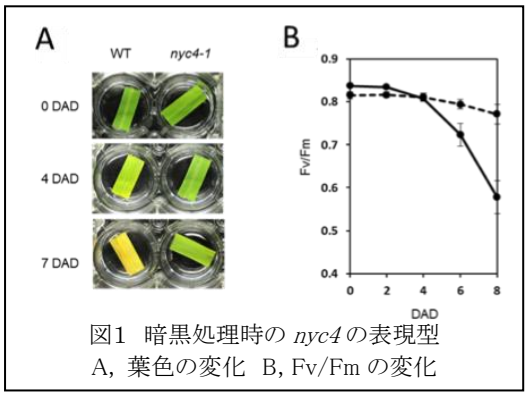


図1 暗黒処理時の *nyc4* の表現型
A, 葉色の変化 B, Fv/Fm の変化

また、光化学系タンパク質の消長を調べたところ、*sgr* では Lhca や光化学系 I サブユニットがより分解抑制を受けていたのに対し、*nyc4* では光化学系 II サブユニットの分解抑制が顕著であった(図2)。*nyc4*で葉老化時のFv/Fm値の低下が強く抑制されていたのは、このためと考えられた。*NYC4* がクロロフィル結合タンパク質、特に光化学系 II の分解を制御するメカニズムの解明は今後の課題として残った。

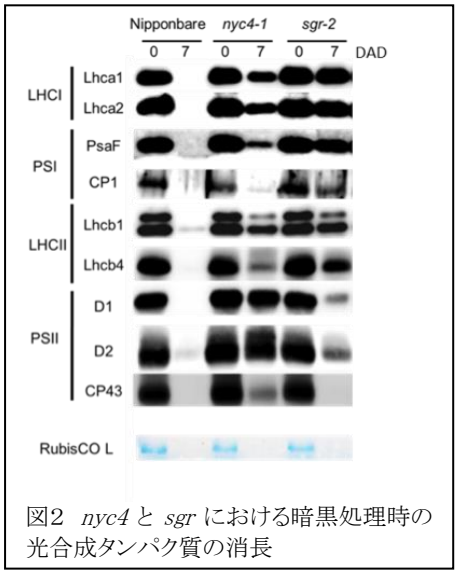


図2 *nyc4* と *sgr* における暗黒処理時の光合成タンパク質の消長

sgr は主に光化学系Iコアタンパク質および LHCI、*nyc4* は光化学系IIコアタンパク質の安定化に関与していることから、両者を組み合わせることで、光化学系全体を安定化させることが可能になると考えられる。(Plant J. 2013)

② LHCII が特異的に分解抑制される細胞質遺伝ステイグリーン突然変異体

ダイズには核遺伝のステイグリーン突然変異体と細胞質遺伝のステイグリーン突然変異体が知られている(図3A)。興味深いことに核遺伝型ステイグリーン突然変異体はダイズが持つ二つの *SGR* パラログ *GmSGR1* と *GmSGR2* の二重突然変異体であることが判明した。(Plant Cell Physiol. 2014)

一方、細胞質遺伝ステイグリーン突然変異体(*cytG*)は葉緑体ゲノムにコードされる光化学系 II の小サブユニット psbM に 5 塩基の挿入があり、この挿入により PsbM の C 末端が truncate がされる構造になっていることが分かった。*psbM* が *cytG* の原因遺伝子であること明らかにするために、葉緑体形質転換系によりタバコの *psbM* の同じ場所に 5 塩基の挿入を導入した系統および完全な PsbM ノックアウト系統を作製した。その結果、いずれもステイグリーン形質を示した。*cytG* では、クロロフィルのうち、Chl*a* より Chl*b* の分解抑制の方が著しく、最終的な Chl*a*/*b* 比はおよそ 1 になる(図3B)。また、LHCII が特異的に分解抑制を受けるという特徴を持つ。*psbM* ノックアウトタバコの老化葉も Chl*a*/*b* 比がおよそ 1 になり、LHCII が特異的に分解抑制を受けていた(図3C)。このことは *cytG* の原因遺伝子が *psbM* であることを示唆する。これらの特徴はクロロフィル *b* リダクターゼ(CBR)の突然変異体 *nyc1* に表現型が酷似する。そこで暗黒芽生えの CBR 活性を測定したところ、*cytG*、psbM

ノックアウトともに、野生型に比べて活性が低いことがわかった(図4)。このことは PsbM は CBR 活性を制御する因子であることを示唆する。

次に他の光化学系 II 小サブユニットである *psbI* のノックアウト形質転換体を作成し、CBR 活性を調べた(図4B)。その結果、CBR 活性は野生型と有意差は無かったことから、光化学系 II の活性が低下すること自体は CBR 活性を低下させる原因ではなく、CBR 活性を制御する機能は PsbM に特異的であると考えられた。

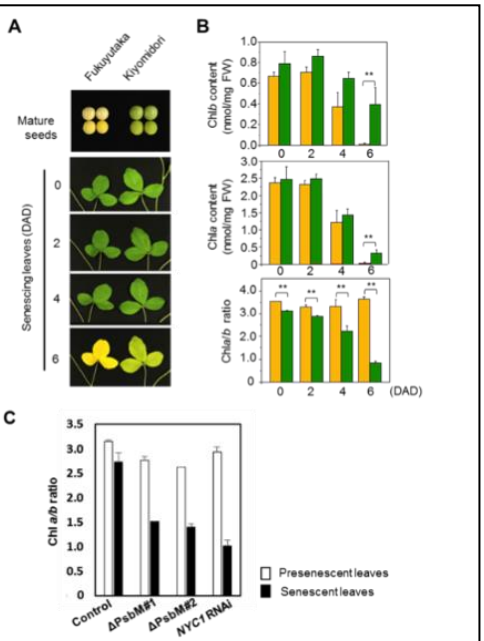


図3　*cytG* のステイグリーン表現型
A, *cytG* の種子色と老化時の葉色
B, 暗黒処理時のクロロフィル含量の変化
C, タバコ老化葉の Chl *a*/*b* 比

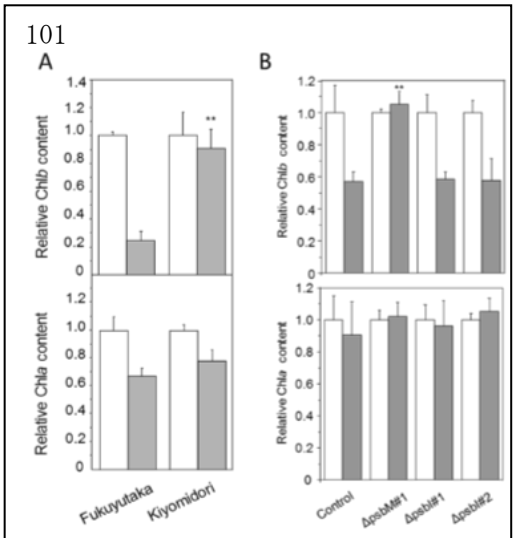


図4　暗黒芽生えのクロロフィル *b* 分解活性
A, Fukuyutaka（野生型ダイズ）と Kiyomidori（*cytG*）
B, *psbM* および *psbI* ノックアウトタバコ
白色が暗黒処理前、灰色が暗黒処理 24 時間後のクロロフィル含量。クロロフィル *b* の分解量がクロロフィル *b* リダクターゼ活性を示す。

2. シロイヌナズナにおけるステイグリーン遺伝子ネットワークの解析

①植物ホルモン・ストリゴラクトンによる葉老化制御

ストリゴラクトンは植物ホルモンとして同定されてから間もないことから、その生理機能が十分に解明されているとは言えない。複数のストリゴラクトン生合成突然変異体・非感受性突然変異体の葉を暗黒処理し、葉の老化過程を観察したところ、全てステイグリーン表現型を示すことがわかった（図5A）。このことは、ストリゴラクトンは葉の老化を正に制御する作用があることを示す。老化を促進する植物ホルモンとして、エチレンが良く知られているが、我々は暗黒処理時にエチレン合成が促進されることを確かめた。また、ストリゴラクトン欠損突然変異体 *max1* しにおいてもエチレン合成に変化がなかったことから、ストリゴラクトンは暗黒処理によるエチレン合成促進

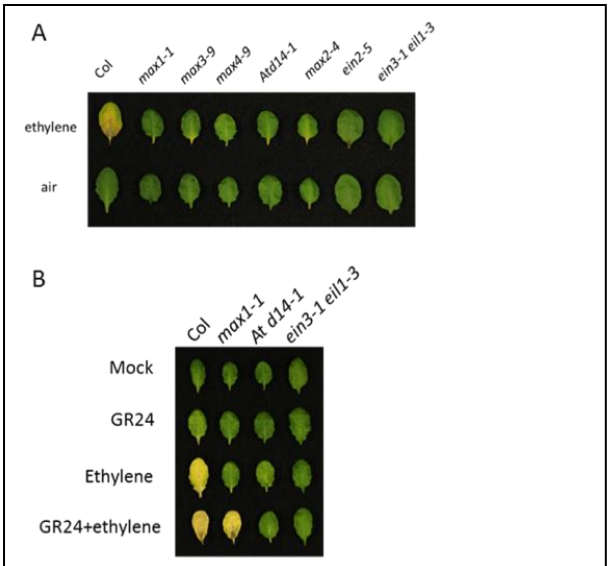


図5　ストリゴラクトンの葉老化促進効果
A, ストリゴラクトン関連突然変異体のエチレン応答性
B, ストリゴラクトン関連突然変異体のエチレン感受性
明条件下でストリゴラクトン（GR24）・エチレンを7日間処理した。Ein2 と ein3 eil1 はエチレン非感受性突然変異体

には関与していないと考えられた。 一方、ストリゴラクトン単独処理では葉の老化を促進しないが、ストリゴラクトン生合成突然変異体が老化促進においてエチレンに対して低感受性であることなどから、ストリゴラクトンはエチレンの作用を亢進することで老化を促進している可能性が示された（図5B）。ストリゴラクトン合成酵素遺伝子 *MAX3* および *MAX4* は老化前の葉ではほとんど発現していないが、老化進行とともに急激に誘導される（図6）。一方、その発現誘導はエチレン悲感受性突然変異体 *ein2* では起こらない。このことは葉老化時のストリゴラクトン合成には、エチレンあるいはその下流のシグナル伝達経路の活性化が必要であることを示している。

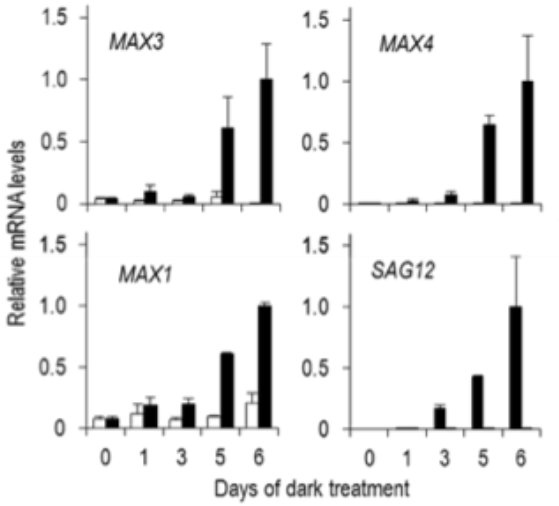


図6 暗黒処理時のストリゴラクトン合成酵素遺伝子の発現変化
MAX1,3,4 ストリゴラクトン合成酵素遺伝子
SAG12 老化誘導性遺伝子
黒：野生型、白：*ein2*

3．3 葉緑体機能強化因子の同定とステイグリーンの作出（岡山大学 坂本グループ）

(1)研究実施内容及び成果

本グループでは、ステイグリーンを実現するための要因としてまず、（1）品質管理など葉緑体の機能維持に必要な重要因子の同定を進めた。光合成装置は、極端に高い（あるいは極端に低い）酸化還元電位を扱うため、さらに過剰な光エネルギーによる酸化ストレスのため損傷されやすく、常に損傷と修復を繰り返している。光合成装置の品質管理システムは、光合成能の維持には最も重要であり、このシステムなしにはたちまち光合成活性の低下を招く。本研究では葉緑体品質管理の重要因子を分子レベルで解明し、得られた因子の強化により、環境ストレスによる光合成活性の維持やステイグリーン形質を強化できることを明らかにした。

これらの研究に加えて、本グループではステイグリーンをバイオマス作物で実装するために、（2）ソルガムを用いた研究を田中グループ、草場グループと連携して開始した。ソルガムにおける新たなステイグリーン因子同定のための遺伝解析を進めるとともに、ソルガムステイグリーンのバイオマス生産性、環境適応性への寄与度を圃場で調査した。これら2つの研究に大別して、それぞれの研究内容と成果を以下に報告する。

1．葉緑体品質管理と機能向上によるステイグリーン技術の確立

光合成を維持してファンクショナルステイグリーンを実現するための重要因子として、①損傷と修復を常時動かしながら光合成装置を維持する光化学系 II 修復サイクル、②葉緑体の膜ポテンシャル維持に働く VIPP1 タンパク質、の2つを主なターゲットとして研究し、これらの機能の解明と、過剰発現による光合成活性の向上や強光ストレス耐性、その他のストレス耐性などの向上について詳細に研究を行った。上記以外の葉緑体機能因子として、③オルガネラ DNA の品質管理に関わると考えられる DPD1 ヌクレアーゼに着目した研究も進めステイグリーンとの関連性を明らかにした。

① 光化学系 II 修復サイクルにおける D1分解現象の解明とステイグリーン（FtsH プロテアーゼ）

光合成における光エネルギー変換では、PSII における水分解と電荷分離過程における損傷が最も甚大で、かつ電子伝達に致命的な影響を及ぼすため、この阻害を最小限に抑える必要がある。PSII 光阻害のターゲットは反応中心タンパク質 D1 であり、葉緑体では D1 の特異的な分解と PSII の再構成による修復作用が機能維持に強く関与する。坂本グループではこれまでに D1 分解に中心的な役割を担う FtsH 膜プロテアーゼを明らかにしている。24 年度には、FtsH のプロセッシブな末端からの分解に加え、Deg と呼ばれるセリンエンドプロテアーゼが D1 分解に付加的に作用することをシロイヌナズナ変異体を用いた生化学的解析で明らかにした。さらに本研究では FtsH の過剰発現体を作成して光阻害緩和作用について H23 年度から解析した。FtsH は FtsH2 および FtsH5 のサブユニットからヘテロ6量体を形成するため、両者を高発現するコンストラクトを構築して形質転換体を解析した。約2倍程度の FtsH 蓄積増加が見られたが、これらの個体で強光耐性を調べたところ、有意な改善が見られなかった。当初の計画通り、この研究は H25 年度で終了した。

②光合成膜の修復と維持に関わる現象の解明とステイグリーン（VIPP1 タンパク質）

葉緑体では、チラコイド膜における光合成電子伝達とそれに伴って膜間で形成されるプロトン勾配が ATP 合成の駆動力となるため、包膜を含めた膜の機能維持が致命的に重要である。一方で、それらの維持に関わるメカニズムは殆ど知られていなかった。本グループでは、チラコイド膜形成に関わると考えられてきた VIPP1 タンパク質が、膜形成ではなくむしろ膜維持に関わることをシロイヌナズナの *vipp1* 変異体と VIPP1-GFP によるタンパク質の可視化により H24 年度までに明らかにした(図 1)。シロイヌナズナでは VIPP1 タンパク質の約 80%が葉緑体包膜に巨大な複合体として結合している。本グループではこれらをライブイーメジングで観察することに成功し、低浸透圧などのストレスに応答して VIPP1 は膜から解離して脱会合し、さらに再会合を繰り返すことを明らかにした。

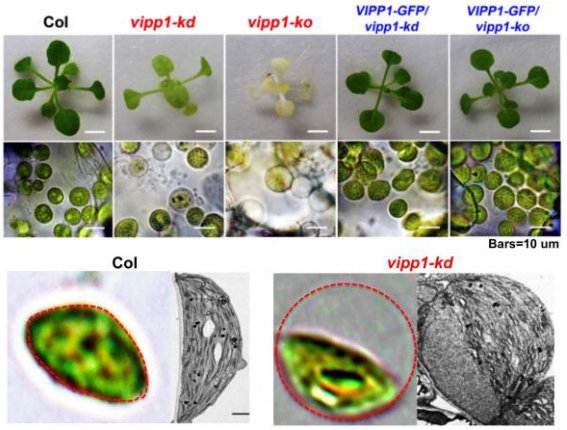


図 1　*vipp1* 突然変異体で新たに観察された葉緑体包膜の膨張作用
VIPP1 レベルの減少により、包膜が膨張して低浸透圧ストレスを受けた状態になる。これらの包膜異常は、VIPP1-GFP の発現により回復した（Zhang et al., 2012,本論文は Plant Cell 誌の表紙に採用された)。

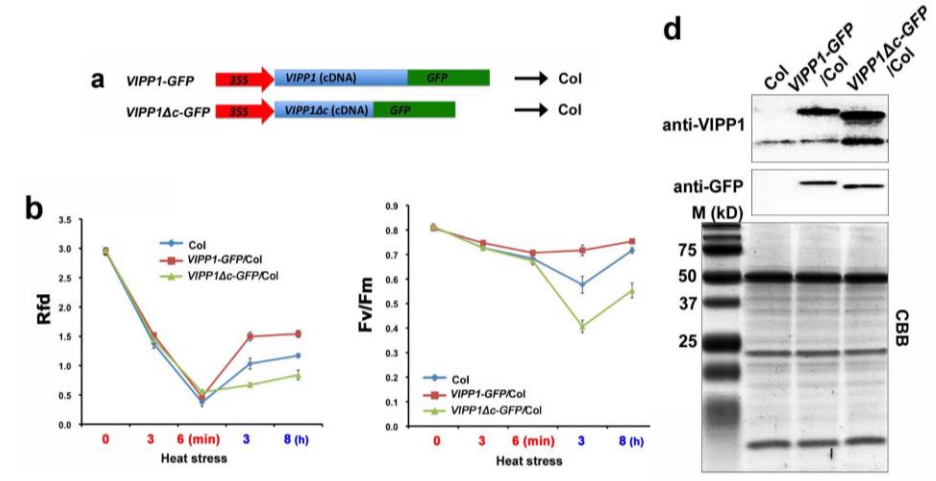


図2 VIPP1 の過剰発現による高温耐性の上昇
VIPP1-GFP を過剰発現発現する個体では(右図ウエスタンブロット)、高温処理(45℃, 6 min)において光合成活性(rfd, Fv/Fm)が野生型より早く回復することが明らかとなった。この高温耐性は VIPP1 の C 末端配列とも関係していた (Zhang et al., 2016)。

VIPP1 タンパク質は原核生物の PspA タンパク質に由来する光合成生物固有のタンパク質で、上述した葉緑体での膜傷害を緩和する因子として進化的に発達したと考えられる。VIPP1 の特徴として、C 末端側に PspA には存在しない 40 アミノ酸の付加配列(Vc)がある。本研究では、Vc がランダムコイル構造を取り、この構造により VIPP1 タンパク質複合体の会合・脱会合を補助して膜修復機能に関わることを明らかにした。

以上の結果から、VIPP1 により葉緑体膜機能の強化が可能と考え、本研究では VIPP1 過剰発現体を作製して解析を行ったところ、実際に VIPP1 の高発現により植物の生育が改善されることが示唆された。特に、葉緑体膜の損傷が最も助長される高温ストレス条件で光合成活性の増強が見られることを H25 年度から明らかにし、H28 年度に論文として成果発表した(図 2)。

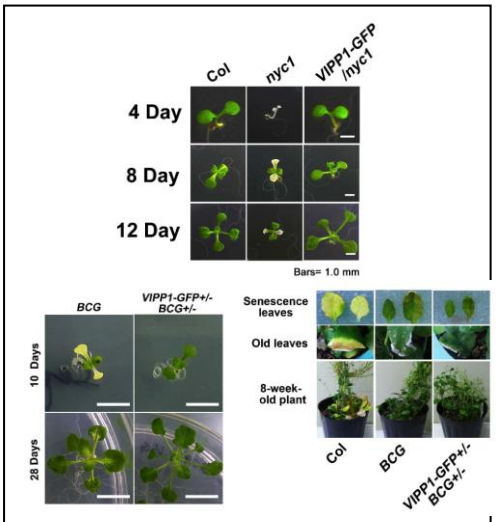


図3. VIPP1 の過剰発現によるステイグリーン安定化
nyc1 突然変異体(上)、CAO 過剰発現株(下)における初期生育の阻害が VIPP1 により回復することが明らかとなった(Zhang et al., 2016)

本研究で明らかにした VIPP1 の葉緑体機能強化作用は、既知のステイグリーンに応用して安定なステイグリーン株を創出できる可能性が考えられた。そこで田中グループが同定したステイグリーン株について H24 年度からこれらを検討することにした。田中グループは、クロロフィル *b* レベルを改変させた CAO 過剰発現シロイヌナズナ(BCG)がステイグリーン形質を示すことを明らかにしているが(Sakuraba et al., Plant and Cell Physiology, 2012)、BCG では初期成長に子葉が白化するなど生育障害が見られることが問題となっていた。そこで BCG に VIPP1 を過剰発現させる個体を作製しそれらの生育を調べたところこれらの初期成長の障害が克服されることが明らかとなり、VIPP1 による機能向上がステイグリーンに有効であることが明らかとなった(図3)。BCG では CAO の活性向上によりクロロフィル *b* レベルを向上させているが、クロロフィル *b* 還元酵素活性が低下した *nyc1* 変異体

でも同様なクロロフィル *b* の蓄積によるステイグリーンと生育初期障害が報告されている(Nakajima et al., Plant Physiology, 2012)。そこで *nyc1*でも同様にVIPP1を過剰発現させたところこれらの生育障害が改善され、安定なステイグリーンを示すことが明らかとなった(図3)。この解析では *nyc1* のVIPP1による生育改善は光依存的であることがわかり、VIPP1の高温ストレス耐性だけでなく、VIPP1 が葉緑体における光酸化ストレスの改善にも有効であることがわかった。これらの結果はH28 年度に論文として成果発表した。

③ 葉緑体 DNA 分解現象の解明とステイグリーン(DPD1 ヌクレアーゼ)

DPD1 は細胞内共生に由来するオルガネラである葉緑体とミトコンドリアに共局在するタンパク質で、Exo ドメインを有し Mg 要求性のエキソヌクレアーゼ活性を持つ。DPD1 はシロイヌナズナの花粉成熟過程においてオルガネラ DNA を分解しない変異体から同定されたが、最近、葉の老化過程でも誘導されることが明らかにされており、ステイグリーン形質との関係性が示されたため、本研究では新たな因子としての解析を行った。

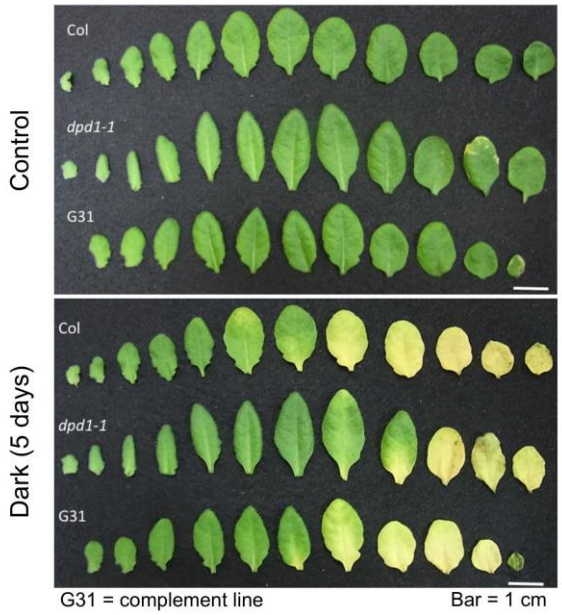


図4 オルガネラヌクレアーゼ DPD1 を欠損する突然変異体 *dpd1* はステイグリーン形質を示す(論文準備中)。

DPD1 タンパク質の発現をマイクロアレイデータベースで解析すると葉の老化で顕著に誘導されること、共発現データベースではオートファジー関連遺伝子との 相関があることなどから(Sakamoto and Takami, Journal of Experimental Botany, 2014)、DPD1 とステイグリーンとの関連性を H24 年度から解析した。切除葉の暗黒老化誘導系を確立して調べたところ、DPD1 が実際に誘導されることが検証された。また、DPD1 発現に呼応して葉緑体 DNA の分解が進むことがわかり、葉老化で葉緑体 DNA が積極的に分解されて再利用される可能性が強く示唆された。興味深いことに *dpd1* 変異体は暗黒老化でステイグリーン形質を示すことが H26 年度までの研究で明らかとなった(図4)。加えて、*dpd1* 変異体では光合成活性が維持される機能的ステイグリーンである一方で、水耕栽培でリン酸欠乏条件にすると生育阻害を示す結果も得られている。今後はDPD1が葉老化の point of no return を規定する因子と考えて、ステイグリーン強化への利用を検討する予定である。

2. ソルガムにおけるステイグリーン利用の実践と CO2 資源化への基盤整備

本グループでは、ステイグリーンをバイオマス作物へ利用するための試みとしてソルガム(*Sorghum bicolor* (*L.*) Moench)を用いた研究を進めた。ソルガムやトウモロコシなどのC4 作物ではステイグリーン形質が収量向上に寄与し、ソルガムでは出穂時のステイグリーン形質が乾燥耐性を示すなどの報告があるがそれらの分子機構については明らかとなっていない。本研究では、ソルガムのステイグリーン形質を遺伝的に解明するための研究材料を H23 年から整備するとともに、①ステイグリーン評価法の確立、②たかきびを用いた組換え純系系統(Recombinant Inbred Lines: RIL)の確立、③ソルガム QTL 解析を行い、ステイグリーンとバイオマス生産性について解析を進めた。

① ソルガムステイグリーン形質評価法の確立

ソルガムは、イネ科の中でもゲノムサイズが 760Mb と小さい上に、イネとのシンテニーが非常に高く包括的なゲノム解析が期待できる。本研究では、ゲノム配列決定に使われた BTx623 系統がステイグリーン形質を示すことから、この系統を用いた研究を当初から進めた。一方で、ソルガムの在来種であるたかきび(NOG)は育種が進まないランドレースで非ステイグリーンであること、アメリカ大陸由来である BTx623 とも多様性が高いことなどからこの両系統を用いてステイグリーンを評価する実験系を確立させた。ステイグリーンは環境による表現型の変動が大きく正確な遺伝解析が難しい点を考慮し、本研究では人工気象室を用いた評価系を確立すること H25 年度から試みたが、安定に評価することができていなかった。H26 年度から岡山大学資源植物科学研究所にある LED による人工光型グロースチャンバーを本研究専用に利用し、あらゆる設定条件を再検討してステイグリーン形質の評価と再現性を検討した。その結果、トレイに灌水してポット栽培し、日長・温度だけでなく土壌の質量や培土含量、密植度などがステイグリーン形質に影響することがわかってきた。栽培条件として、現在用いている培土(タキイ種まき培土)顔料を 15%あるいは 30%、水やり 1L/4 日/トレイ、密植度 5 個体/ポットあるいは 10 個体/ポットなどを検討した結果、図5に示す結果が比較的安定して得られることがわかった。配置するトレイの量によりチャンバー内の湿度が変動しステイグリーン形質に影響することが現在懸案となっているが、概ねこの条件で約 22 日後の第2葉あるいは第3葉を測定することで QTL 解析が可能であることがわかった。これらの結果に基づき、H26 年以降に以下に述べる RIL を用いた研究を進めてステイグリーン QTL を同定した。

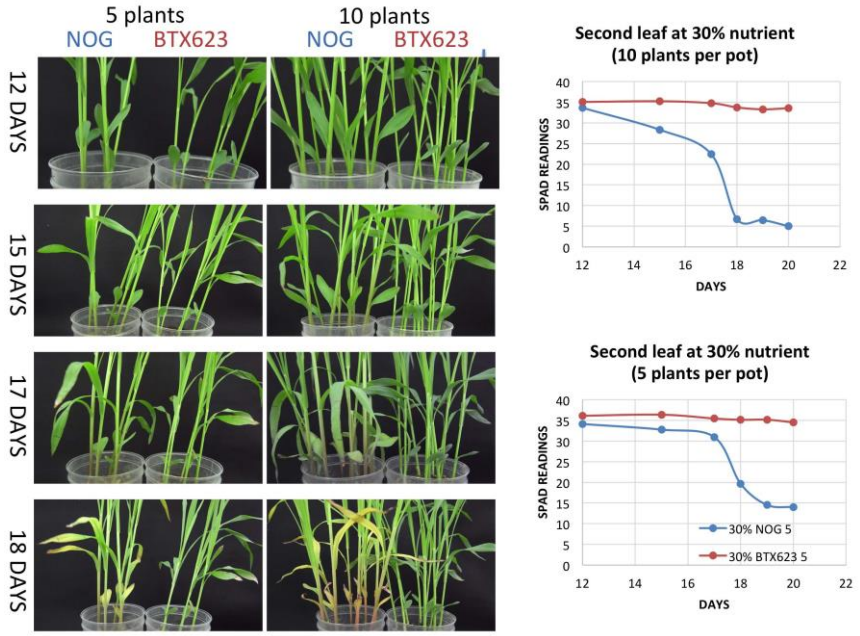
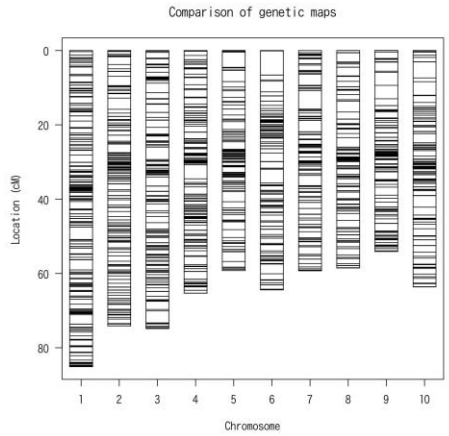


図5 ソルガムステイグリーン評価系の確立
培土 30%で密植を 5 個体/ポット、あるいは 10 個体/ポットとした第2葉のクロロフィル含量(SPAD 値)。トレイの配置数により庫内湿度が上昇しステイグリーン形質が遅れることがわかり、22 日目を測定基準としている。

② たかきび x BTx623 の交雑による RIL 系統の確立とジェノタイピング

本研究ではソルガム解析の根幹となる、たかきび(NOG)x BTx623 の RIL 系統作出を H23 年度から 2 世代/年の計画で進め、H26 年度までに F6 系統 252 個体の育成を完了した。これらの個体集団を以後の遺伝解析に用いた。F6 世代の個体から DNA を抽出して RAD-seq 法を用いた NGS 解析(CREST 堤チームとの共同研究)を 27 年までに進めており、

gene model sbi2.1 あるいは sbi3.1 を用いた遺伝子地図作製を試み、最終的に sbi3.1 を用いて計 3,710 個のマーカーによるゲノム全体で 658cM（平均マーカー間距離 0.2 cM)の高密度マップを作ることができた（図6）。これらの RIL 系統については継続して栽培を続けており、28 年度までに F9 集団を得ている。ソルガムのゲノム配列は BTx623 をリファレンスとしているのでこれらの情報がそのまま利用でき、本研究では NOG についても全ゲノム配列を決定済みである。H27 年以降に、得られた F7 もしくは F8 集団を用いて形質を調べることで連鎖分析を行い、精密な QTL 解析を行った。なお、得られた集団では、ステイグリーンだけでなく、草丈、穂形態、着色、乾燥耐性など多くの形質が分離しており、様々な重要形質を遺伝子レベルで同定できるリソースとなることも明らかになった。



	n.mar	length	ave.spacing	max.spacing
1	432	85.1	0.2	3.3
2	420	74.1	0.2	3.0
3	221	74.8	0.3	3.3
4	486	65.3	0.1	3.8
5	315	59.2	0.2	4.1
6	441	64.4	0.1	6.5
7	349	59.3	0.2	4.9
8	380	58.5	0.2	2.9
9	375	54.1	0.1	3.6
10	291	63.6	0.2	4.3
overall	3710	658.4	0.2	6.5

図6 ソルガム gene model sbi3.1 を用いて作製された RIL 集団の高密度マップ

③ ソルガムステイグリーンの QTL 解析と関連形質の同定

H26 年度までに SPAD メータによるクロロフィル測定を指標にしたステイグリーン形質の評価法を確立したので、この方法で人工気象室を用いて播種後3週間の幼苗 RIL 系統（10 個体/ポット、4 ポット/ライン）で第2葉および第3葉でステイグリーン形質の評価を行い、QTL 解析を行った。また、自然条件として網室栽培の F7 個体についても出穂後の止葉でクロロフィル測定を行い、これも QTL 解析に用いた。その結果、LOD 値が3以上となる QTL がいくつか観察された。実験ごとの SPAD にばらつきが生じており、他のバイオマス形質と比較して安定した結果が得られなかった。人工気象室では1回の実験に供する個体数が20程度で数値にばらつきが大きいことから、H28 年度は1実験あたりの反復をなくして全個体を一度に用いる測定を現在継続して行っている。これまでに、2番染色体および6番染色体に再現性のある QTL が得られ（図7）、H28 年度の解析結果とも合わせて重要な QTL を特定する作業を進めている。

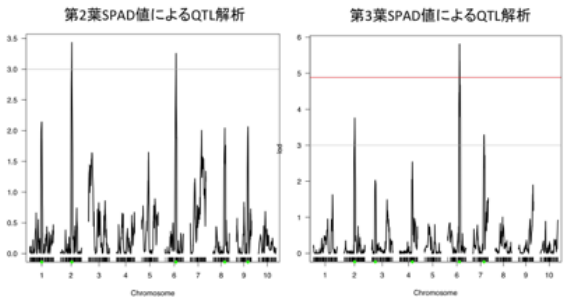


図7 全個体一括測定によるステイグリーンの QTL 解析
人工気象室を用いた実験でも、実験ごとにデータにばらつきが生じるため、全個体を一括してステイグリーンを評価し QTL 解析を行ったところ、2 番染色体と 6 番染色体に再現性のある QTL が検出された（未発表）。

本研究で確立した RIL 系統においてステイグリーンとバイオマスの関係を調べるため、H27、H28 年度は岡山大学資源植物科学研究所の植物育成網室での栽培（F7 および F8、ポット植、4 個体/ポット）で種子採取を試みるとともに、バイオマス関連形質調査を行った。さらに、広島大学植物遺伝子保管実験施設の試験圃場で F7、F8 集団を栽培し（4個体/

ライン)、バイオマス関連形質を調査した(8 月)。これらの形質調査に際しては、CREST 堤チームの研究グループ(堤グループ、岩田グループ)と本研究の草場グループの協力を得て行った。バイオマス関連形質として調査した中では、稈長、全重、出穂期など調べた形質のほとんどで比較的高い QTL を得ることができた(図8)。稈長では 2 つの有意な LOD 値を持つ QTL が検出され、それぞれが *dw3*(7番染色体)、*dw1*(9番染色体)に相当すると推定された。実際に BTx623 では *dw3* アリルとして報告されている 882bp のゲノム重複があることがゲノム配列で確認された。全重では3つの QTL が有意な LOD 値を示したが、その中でもっとも高い QTL は *dw3* とほぼ同位置に存在することから、本研究で用いる RIL 集団のバイオマスは NOG の持つ *DW3* 遺伝子の寄与度が高いことが明らかとなった。出穂期でも 8 番染色体に顕著な QTL が観察された。これらの形質とステイグリーンに高い相関は見られなかったが、本研究で育成された RIL を用いて、様々な形質を今後遺伝子レベルで同定できることが明らかとなった。

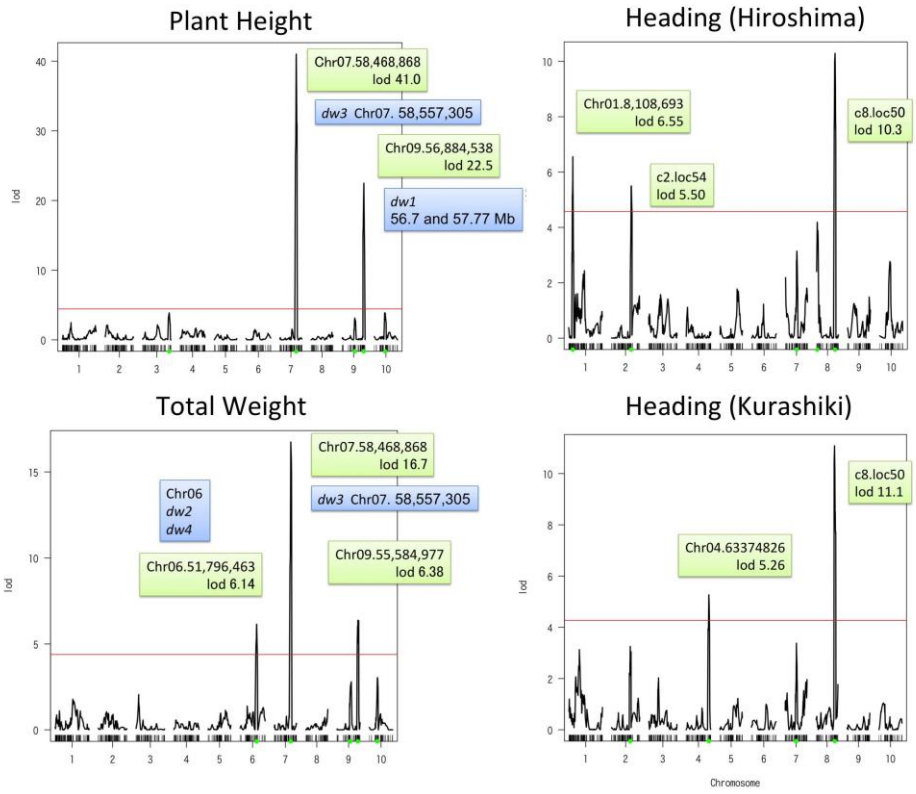


図8 圃場栽培(広島)および網室栽培(倉敷)におけるバイオマス関連形質の QTL 解析
H27 年度に行った形質調査では、稈長、全重、出穂期など調べた形質のほとんどで寄与度の高い QTL が検出された。これらの形質以外にも、穂形、種子形、芒長、もち性、根の形態などに関する QTL も検出することができ、RIL が遺伝子解析に利用可能であることが明らかとなった。

§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 31 件)

＜国内(和文)誌＞

なし

＜国際(欧文)誌＞

1. Yasuhito Sakuraba, Salma Balazadeh, Ryouichi Tanaka, Bernd Mueller-Roeber and Ayumi Tanaka, “Overproduction of chlorophyll *b* retards senescence through

transcriptional re-programming in Arabidopsis", Plant and Cell Physiology. Vol. 53, No. 5, pp 505-517, 2012 (doi: 10.1093/pcp/pcs006)
2. Yusuke Kato, Xuwu Sun, Lixin Zhang, and Wataru Sakamoto, "Cooperative D1 degradation in the photosystem II repair mediated by chloroplastic proteases in Arabidopsis", Plant Physiology, Vol. 159, pp.1428-1439, 2012 (doi: 10.1104/pp.112.199042)
3. Lingang Zhang, Yusuke Kato, Stephanie Otters, Ute C. Vothknecht, and Wataru Sakamoto, "Essential role of VIPP1 in chloroplast envelope maintenance in Arabidopsis", The Plant Cell, Vol. 24, pp. 3695-3705, 2012 (doi: 10.1105/tpc.112.103606)
4. Saori Nakajima, Hisashi Ito, Ryouichi Tanaka and Ayumi Tanaka, "Chlorophyll *b* Reductase Plays an Essential Role in Maturation and Storability of *Arabidopsis thaliana* Seeds", Plant Physiology, vol.160, No.1, pp.261-273, 2012 (doi: 10.1104/pp.112.196881)
5. Yousuke Shimoda, Hisashi Ito and Ayumi Tanaka, "Conversion of chlorophyll *b* to chlorophyll *a* precedes magnesium dechelation for protection against necrosis in Arabidopsis", Plant J. vol. 72, No.3, pp.501-511, 2012 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2012.05095.x.)
6. Lingang Zhang and Wataru Sakamoto, "Possible function of VIPP1 in thylakoids. Protection but not formation?", Plant Signalling & Behavior, vol. 8, e22860, 2013 (doi: 10.4161/psb.22860)
7. Yusuke Kato and Wataru Sakamoto, "Possible compensatory role among chloroplast proteases under excess-light stress condition", Plant Signalling & Behavior, Vol. 8, e23198, 2013 (doi: 10.4161/psb.23198)
8. Hiroshi Yamatani, Yutaka Sato, Yu Masuda, Yusuke Kato, Ryouhei Morita, Kenji Fukunaga, Yoshiaki Nagamura, Minoru Nishimura, Wataru Sakamoto, Ayumi Tanaka, Makoto Kusaba, "*NYC4*, the rice ortholog of Arabidopsis *THF1*, is involved in the degradation of chlorophyll-protein complexes during leaf senescence", Plant J. vol.74, No.4, pp.652-662, 2013 (doi: 10.1111/tpj.12154)
9. Jiro Harada, Tadashi Mizoguchi, Souichirou Satoh, Yusuke Tsukatani, Makio Yokono, Masato Noguchi, Ayumi Tanaka, Hitoshi Tamiaki, "Specific Gene *bciD* for C7-Methyl Oxidation in Bacteriochlorophyll *e* Biosynthesis of Brown-Colored Green Sulfur Bacteria", PLoS ONE 8(4): e60026, 2013, (doi: 10.1371/journal.pone.0060026)
10. Motoshi Kunugi, Atsushi Takabayashi, and Ayumi Tanaka, "Evolutionary changes in chlorophyllide *a* oxygenase (CAO) structure contribute to the acquisition of a new light-harvesting complex in Micromonas", J. Biol. Chem. vol.288, No.27, pp.19330-19341, 2013 (doi:10.1074/jbc.M113.462663)
11. Atsushi Takabayashi, Ryosuke Kadoya, Masayoshi Kuwano, Katsunori Kurihara, Hisashi Ito, Ryouichi Tanaka and Ayumi Tanaka, "Protein co-migration database (PCoM -DB) for Arabidopsis thylakoids and Synechocystis cells", SpringerPlus, 2:148, 2013 (doi: 10.1186/2193-1801-2-148)
12. Kaori Takahashi, Atsushi Takabayashi, Ayumi Tanaka, and Ryouichi Tanaka, "Functional analysis of light-harvesting-like protein 3 (LIL3) and its light-harvesting chlorophyll-binding motif in *Arabidopsis*." J. Biol. Chem. vol.289, No.2, pp.987-999, 2014 (doi:10.1074/jbc.M113.525428)
13. Hisashi Ito and Ayumi Tanaka, "Evolution of a new chlorophyll metabolic pathway driven by the dynamic changes in enzyme promiscuous activity." Plant Cell Physiol, vol.55, No.3, pp.593-603, 2014, (doi: 10.1093/pcp/pct203)
14. Minoru Ueda, Ayumi Tanaka, Kazuhiko Sugimoto, Toshiharu Shikanai and Yoshiki Nishimura, "chlB requirement for chlorophyll biosynthesis under short photoperiod in Marchantia polymorpha L.", Genome Biol Evol. vol.6, No.3, pp.620-628, 2014 (doi: 10.1093/gbe/evu045)
15. Jiro Harada, Tadashi Mizoguchi, Yusuke Tsukatani, Makio Yokono, Ayumi Tanaka and Hitoshi Tamiaki, "Chlorophyllide *a* oxidoreductase works as one of the divinyl reductases specifically involved in bacteriochlorophyll *a* biosynthesis." J. Biol. Chem. vol.289, No.18, pp.12716-12726, 2014 (doi: 10.1074/jbc.M113.546739.)

16. Yao-Pin Lin, Tsung-yuan Lee, Ayumi Tanaka and Yee-yung Charng, “Analysis of an Arabidopsis heat-sensitive mutant reveals that chlorophyll synthase is involved in reutilization of chlorophyllide during chlorophyll turnover.” Plant J. vol.80, No.1, pp.14-26, 2014 (doi: 10.1111/tpj.12611.)
17. Michiharu Nakano, Tetsuya Yamada, Yu Masuda, Yutaka Sato, Hideki Kobayashi, Hiroaki Ueda, Ryouhei Morita, Minoru Nishimura, Keisuke Kitamura and Makoto Kusaba, "A green-cotyledon/stay-green mutant exemplifies the ancient whole-genome duplications in soybean", Plant Cell Physiol. vol. 55, No.10, pp1763-1771, 2014 (doi: 10.1093/pcp/pcu107)
18. Ting Jia, Hisashi Ito, Xueyun Hu and Ayumi Tanaka, "Accumulation of NON-YELLOW COLORING 1 protein of the chlorophyll cycle requires chlorophyll b in Arabidopsis thaliana" Plant J. vol. 81, No.4, pp.586-596, 2015 (doi: 10.1111/tpj.12753)
19. Makiko Yokono, Atsushi Takabayashi, Seiji Akimoto and Ayumi Tanaka, "A megacomplex composed of both photosystem reaction centres in higher plants." Nat. commun. vol. 6, No. 6675, 2015 (doi: 10.1038/ncomms7675)
20. Xueyun Hu, Satoru Makita, Silvia Schelbert, Shinsuke Sano, Masanori Ochiai, Tohru Tsuchiya, Shigeaki F. Hasegawa, Stefan Hörtensteiner, Ayumi Tanaka, and Ryouichi Tanaka, “Reexamination of Chlorophyllase Function Implies Its Involvement in Defense against Chewing Herbivores.” Plant Physiol. vol.167, No.3, pp.660-670, 2015 (doi:10.1104/pp.114.252023)
21. Ting Jia, Hisashi Ito and Ayumi Tanaka, “The Chlorophyll *b* Reductase NOL Participates in Regulating the Antenna Size of Photosystem II in *Arabidopsis Thaliana*.” Procedia Chemistry vol.14, pp. 422-427, 2015 (doi:10.1016/j.proche.2015.03.057 3)
22. Rei Sato, Hisashi Ito and Ayumi Tanaka, “Chlorophyll *b* degradation by chlorophyll *b* reductase under high-light conditions.” Photosynth. Res. vol.126, pp.249-259, 2015 (doi:10.1007/s11120-015-0145-6)
23. Hiroaki Ueda and Makoto Kusaba, “Strigolactone regulates leaf senescence in concert with ethylene in Arabidopsis”, Plant Physiol. vol. 169, pp138-147, 2015 (doi: 10.1104/pp.15.00325)
24. Yusuke Kato, Shin-ichiro Ozawa, Yuichiro Takahashi, Wataru Sakamoto, “D1 fragmentation in photosystem II repair caused by photo-damage of a two-step model”, Photosyn. Res. vol. 126, pp409-416, 2015 (doi: 10.1007/s11120-015-0144-7)
25. Peter K. Kamau, Shingo Sano, Tsuneaki Takami, Ryo Matsushima, Masahiko Maekawa, Wataru Sakamoto, “A mutateon in GIANT CHLOROPLST encoding a PARC6 homolog affects spikelet fertileity in rice”, Plant Cell Physiol. vol. 56, No. 5, pp977-991, 2015 (doi: 10.1093/pcp/pcv024)
26. Motoshi Kunugi, Soichirou Satoh, Kunio Ihara, Kensuke Shibata, Yukimasa Yamagishi, Kazuhiro Kogame, Junichi Obokata, Atsushi Takabayashi and Ayumi Tanaka, “Evolution of Green Plants Accompanied Changes in Light-Harvesting Systems.” Plant Cell Physiol. vol.57, No.6, pp.1231-1243, 2016 (doi: 10.1093/pcp/pcw071)
27. Ting Jia, Hisashi Ito and Ayumi Tanaka, “Simultaneous regulation of antenna size and photosystem I/II stoichiometry in *Arabidopsis thaliana*.” Planta 2016 Jul 9. (doi: 10.1007/s00425-016-2568-5)
28. Atsushi Takabayashi, Akihiro Niwata and Ayumi Tanaka, “Direct interaction with ACR11 is necessary for post-transcriptional control of GLU1-encoded ferredoxin-dependent glutamate synthase in leaves.” Scientific Reports 2016; 6: 29668., 2016 (doi:10.1038/srep29668)
29. Lingang Zhang, Makoto Kusaba, Ayumi Tanaka, and Wataru Sakamoto, “Protection of chloroplast membranes by VIPP1 rescues aberrant seedling development in Arabidopsis nyc1 mutant”, Frontiers in Plant Science, 7: 533, 2016 (doi: 10.3389/fpls.2016.00533).
30. Lingang, Zhang, Hideki Kondo, Hironari Kamikubo, Mikio Kataoka, and Wataru Sakamoto, “VIPP1 has a disordered C-terminal tail necessary for protecting photosynthetic membranes against stress”, Plant Physiology, vol.171, pp.1983-1995, 2016 (doi: 10.1104/pp.16.00532).
31. Yousuke Shimoda, Hisashi Ito and Ayumi Tanaka,” Mendel’s Green Cotyledon Gene in

Arabidopsis Encodes Magnesium-Dechelatase." Plant Cell, vol.28, pp.2147-2160, 2016 (doi: http://dx.doi.org/10.1105/tpc.16.00428)

32. Kaori Matsuda, Yousuke Shimoda, Ayumi Tanaka and Hisashi Ito, "Chlorophyll *a* is a favorable substrate for Chlamydomonas Mg-dechelatase encoded by STAY-GREEN." Plant Physiol Biochem vol.109, pp. 365-373, 2016 (doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.10.020)
33. Atsushi Takabayashi, Saeka Takabayashi, Kaori Takahashi, Mai Watanabe, Hiroko Uchida, Akio Murakami, Tomomichi Fujita, Masahiko Ikeuchi and Ayumi Tanaka, "PCoM-DB Update: a Protein Co-Migration Database for photosynthetic organisms." Plant Cell Physiol. 58 (1): e10., 2017 (doi: https://doi.org/10.1093/pcp/pcw219)
34. Ryo Furukawa, Motoshi Kunugi, Kunio Ihara, Atsushi Takabayashi and Ayumi Tanaka, "Complete Chloroplast Genome Sequence of the Early Diverging Green Alga *Palmophyllum crissum*" Genome Announc. 5(10): e01745-16., 2017 (doi: 10.1128/genomeA.01745-16)
35. Xueyun Hu, Mike T. Page, Akihiro Sumida, Ayumi Tanaka, Matthew J. Terry and Ryouichi Tanaka, "The iron–sulfur cluster biosynthesis protein SUFB is required for chlorophyll synthesis, but not phytochrome signaling." Plant J. vol.89, No.6, pp.1184-1194, 2017 (doi: 10.1111/tpj.13455)
36. Xueyun Hu, Yukako Kato, Akihiro Sumida, Ayumi Tanaka and Ryouichi Tanaka, "The $SUFBC_2D$ Complex is Required for the Biogenesis of All Major Classes of Plastid Fe-S Proteins." Plant J. in press. (doi: 10.1111/tpj.13483.)
37. Kaori Kohzuma, Yutaka Sato, Hisashi Ito, Ayako Okuzaki, Mai Watanabe, Hideki Kobayashi, Michiharu Nakano, Hiroshi Yamatani, Yu Masuda, Yumi Nagashima, Hiroyuki Fukuoka, Tetsuya Yamada, Akira Kanazawa, Keisuke Kitamura, Yutaka Tabei, Masahiko Ikeuchi, Wataru Sakamoto, Ayumi Tanaka and Makoto Kusaba, "The non-Mendelian green cotyledon gene in soybean encodes a small subunit of photosystem II." Plant Physiol. in press. (doi: 10.1104/pp.16.01589)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 伊藤　寿、田中　歩、田中亮一;クロロフィル合成系の多様性はいかにして生まれたか？、光合成研究 vol. 22, No.2, pp.98-105, 2012
2. Ryouichi Tanaka, Atsyshi Takabayashi, Hisashi Ito, Ayumi Tanaka; "Chlorophyll metabolism in photosynthetic organisms", Handbook of Porphyrin Science, edited by Karl M Kadish, Kevin M Smith and Roger Guilard, World Scientific, Singapore vol.20, pp.213-242, 2012
3. Yusuke Kato and Wataru Sakamoto; "Plastid protein degradation during leaf development and senescence: Role of protease and chaperones" In Chloroplast Development during Leaf Growth and Senescence, Advances in Photosynthesis and Respiration Series (Ed. Govindjee), Springer, Vol 36, pp.453-477, 2013
4. Wataru Sakamoto and Tsuneaki Takami; "Nucleases in higher plants and their possible involvement in DNA degradation during leaf senescence", Journal of Experimental Botany, 2014 (doi:10.1092/jxb/eru091)
5. Makoto Kusaba, Ayumi Tanaka and Ryouichi Tanaka; "Stay-Green Plants: What do they tell us about the molecular mechanism of leaf senescence", Photosynth Res, 117, pp.221-234, 2013(doi: http://dx.doi.org/10.1007/s11120-013-9862-x)
6. 加藤裕介、坂本　亘;光阻害における光化学系 II 反応中心タンパク質 D1 の分解と葉緑体プロテアーゼ、光合成研究 23 (2): 79-85, 2013.
7. Zhang L and Sakamoto W, "Possible function of VIPP1 in maintaining chloroplast membranes", Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics, vol. 1847, pp831-837., 2015 (doi: 10.1016/j.bbabio.2015.02.013)
8. 田中　歩、田中亮一、高林厚史、伊藤　寿、横野牧生;第 16 章　低温下の光合成、低温科学便覧、北海道大学低温科学研究所　編、丸善出版、2015
9. 田中　歩;光と生命の事典、朝倉書店、2016
10. Kenji Nishimura, Yusuke Kato, and Wataru Sakamoto; "Chloroplast proteases: updates

on proteolysis within and across suborganellar compartments", Plant Physiology, vol.171, pp.2280-2293, 2016 (doi: 11.1104/pp.16.00330).

11. Kenji Nishimura, Yusuke Kato, and Wataru Sakamoto; "Essentials of proteolytic machineries in chloroplasts", Molecular Plant, 2016, accepted.
12. 坂本　亘;光合成の効率向上とスーパーバイオマス．スーパーバイオマス:植物に学ぶ、植物を活かす(福田裕穂、稲田のりこ編)．pp19-39 慶應大学出版会、2016
13. 横野牧生、高林厚史、秋本誠志、田中　歩;光化学系 I-光化学系 II超複合体の発見と機能　化学と生物 vol.55, No.2, pp.78-80、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 14 件、国際会議 30 件)

＜国内＞

1. Lingang Zhang, Yusuke Kato, Stephanie Otters, Ute C. Vothknecht, and Wataru Sakamoto;VIPP1 による葉緑体包膜の維持、第 15 回植物オルガネラワークショップ「オルガネラの進化とダイナミズム」、オルガホール、岡山市、2013 年 3 月 20 日
2. Wataru Sakamoto and Yusuke Kato;Cooperative protein degradation in photosystem II repair、日本植物生理学会第 54 回年会シンポジウム、岡山大学津島キャンパス、岡山市、2013 年 3 月 23 日
3. 田中　歩;植物を創る、第 137 回顕真館公開講演会、龍谷大学、京都市、2013 年 10 月 15 日
4. 田中　歩;光をキャッチー藻類から陸上植物までの光補足装置の進化、第 13 回 RIBS バイオサイエンスシンポジウム＆日本光合成学会公開講座、岡山国際交流センター、岡山市、2013 年 11 月 15 日
5. 坂本　亘;葉緑体におけるホメオスタシスとストレス応答、粟井研主催第 20 回セミナー、静岡大学理学部、静岡市、2013 年 12 月 13 日
6. 加藤裕介;光化学系 II 修復における D1 タンパク質分解メカニズム、粟井研主催第 20 回セミナー、静岡大学理学部、静岡市、2013 年 12 月 13 日
7. 坂本　亘;光合成と葉緑体:機能分化と制御の遺伝生理学的解析、国際基督教大学セミナー、国際基督教大学、東京都、2014 年 5 月 15 日
8. 坂本　亘;東アフリカにおける植物生理学と作物ストレス科学研究の展開　−アフリカ起源作物ソルガムのストレス耐性研究について−、日本アフリカ学会第 51 回学術大会、京都大学稲盛財団記念館、京都市、2014 年 5 月 24 日
9. 坂本　亘;葉緑体ゲノムの母性遺伝と組織特異的ゲノム分解:植物の多様な生存戦略、大阪市立大学理学部セミナー、大阪市立大学、大阪市、2014 年 10 月 23 日
10. 坂本　亘;被子植物のオルガネラゲノムは組織特異的に分解される、国立遺伝学研究所研究集会　〜オルガネラゲノムに支配される生命現象〜、国立遺伝学研究所、三島市、2014 年 11 月 7 日
11. 坂本　亘;VIPP1 タンパク質による葉緑体の膜保護機能、第 27 回植物脂質シンポジウム特別講演、静岡市産学交流センター、静岡市、2014 年 11 月 28 日
12. 田中　歩;葉緑体機能改変によるステイグリーン植物の創出、2015 年度生物工学会北日本支部仙台シンポジウム「北日本から世界に発信する環境保全のためのバイオテクノロジー」、エルパーク仙台、仙台市、2015 年 9 月 4 日
13. 坂本　亘;葉緑体ゲノムの組織特異的分解:なぜ葉緑体が DNA を維持するのか、大阪大学理学研究科第 310 回生物科学セミナー、大阪大学、大阪市、2015 年 9 月 30 日
14. 伊藤　寿;クロロフィル代謝による光化学系の集光アンテナの制御、第 7 回日本光合成学会年会およびシンポジウム「光合成色素代謝と光化学系構築のダイナミックな関係」、東京理科大学葛飾キャンパス、東京都、2016 年 5 月 28 日

＜国際＞

1. Ayumi Tanaka, “Genetic engineering of photosystems by the modification of chlorophyll metabolism”, Agricultural Biotechnology Research Center Academia Sinica 2012 Seminar, Institute of Plant and Microbial Biology, Taipei, Taiwan, April 23, 2012
2. Wataru Sakamoto, “Prokaryotic factors in the biogenesis and continuity of chloroplasts: Focus on DNA, protein, and membrane”, Society for Experimental Biology Annual Main Meeting, Salzburg, Austria, July 1, 2012
3. Ayumi Tanaka, “Degradation of chlorophyll and chlorophyll-protein complexes”, Okayama University International Symposium “Structure and Dynamics of Photosynthetic Systems”, Okayama University, Okayama, Japan, October 22, 2012
4. Yusuke Kato, Xuwu Sun, Lixin Zhang, and Wataru Sakamoto, “Cooperative D1 degradation in the photosystem II repair mediated by chloroplastic proteases in Arabidopsis”, Okayama University International Symposium “Structure and Dynamics of Photosynthetic Systems”, Okayama, Japan, October 23, 2012.
5. Ryouichi Tanaka, “Seeking the true function of chlorophyllase after one hundred years of discovery”, The second international symposium on biosynthesis of tetrapyrroles. Kusatsu, Shiga, Japan, Nov. 30-Dec. 2, 2012
6. Wataru Sakamoto, “Essential role of VIPP1 in chloroplast envelope maintenance and stress tolerance”, BTI Seminar, Boyce Thompson Institute, Cornell University, Ithaca, New York, USA, July 25, 2013
7. Wataru Sakamoto, “Organelle DNA degradation during leaf senescence”, 6th European Workshop on Leaf Senescence. INRA, Versailles, France, October 15, 2013
8. Wataru Sakamoto, “Essential role of VIPP1 in chloroplast envelope maintenance and stress tolerance”, Special Seminar, Institut de Biologie Physico0Chimique, CNRS, Paris, France, October 21, 2013
9. Ayumi Tanaka, Hisashi Ito; ,Evolution of chlorophyll metabolic pathway by enzyme promiscuity, The 6th Asia & Oceania Conference on Photobiology, Novotel Sydney Central, Sydney, Australia, November 10-13, 2013
10. Ayumi Tanaka ; Regulation of the Chlorophyll Cycle by the Feed-Back and Feed-Forward Mechanism, INTERNATIONAL CONFERENCE ON NATURAL SCIENCES (ICONS) 2014, Jambuluwuk, Batu, Indonesia, September 26, 2014
11. Wataru Sakamoto, "Biogenesis and continuity of chloroplasts require various prokaryotic factors: Focus on DPD1, FtsH and VIPP1", IMB special seminar, Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, April 24, 2014
12. Wataru Sakamoto, "Versatile role of VIPP1 in chloroplast function and stress resistance", Special Seminar, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institute of Biological Sciences, Chinese Academy of Science, Shanghai, China, August 14, 2014.
13. Yusuke Kato and Wataru Sakamoto, "Characterization of a protein interacting with FtsH protease involved in D1 degradation", International Symposium on the Regulation of Photosynthetic Function, Guilin, China, August 18, 2014.
14. Lingang Zhang and Wataru Sakamoto, "Peripherally-attached membrane protein VIPP1 forms a large complex and protects photosynthetic membranes", International Symposium on the Regulation of Photosynthetic Function, Guilin, China, August 18, 2014.
15. Ayumi Tanaka, "Regulation of the Chlorophyll Cycle by the Feed-Back and Feed-Forward Mechanism", INTERNATIONAL CONFERENCE ON NATURAL SCIENCES (ICONS) 2014, Jambuluwuk, Batu, Indonesia, September 26, 2014.
16. Ayumi Tanaka, "Evolution of chlorophyll metabolism and light-harvesting system in cyanobacteria and green algae", 3rd Asia-Oceania Algae Inovation Summit, Daejeon, Korea, November 20, 2014.
17. Ryouichi Tanaka, "Light-harvesting-like proteins support photosynthesis in multiple ways", The German-Japanese Binational Seminar 2015 "Harvesting Light: From light to biotechnological products", Atami, Japan, March 21-26, 2015
18. Makio Yokono, Atsushi Takabayashi, Seiji Akimoto, Ayumi Tanaka, “Interspecies distribution of PSI-PSII megacomplex may relate to quenching ability of PSI” Gordon

Research Seminars、Bentley University、2015.8.2-7

19. Ayumi Tanaka, “Identification of Mg-dechelatase essential for the degradation of photosystems.”Yamada Conference International Symposium on Dynamics and Regulation of Photosynthesis, Nara, Japan, October 29-31, 2015.
20. Makoto Kusaba, “Gene isolation: From mutants to natural variation” Evolutionary Biology Forum, Chinese Academy of Science, Beijing, China, July 14, 2015
21. Makoto Kusaba, ”Nuclear and cytoplasmic stay-green genes in legume” Yamada Conference International Symposium on Dynamics and Regulation of Photosynthesis, Nara, Japan, October 29-31, 2015
22. Wataru Sakamoto, Tsuneaki Takami, “Regulation of organelle DNA levels and gene expression by organelle nuclease DPD1”, 9th International Conference for Plant Mitochondrial Biology, Wrocław, Poland, May 17-22, 2015.
23. Wataru Sakamoto, “Versatile role of VIPP1 in protecting photosynthetic membranes in chloroplasts”, 2nd FEBS workshop on Plant Organellar Signaling, Primošten, Croatia, September 16-20, 2015.
24. Wataru Sakamoto, “Regulation of chloroplast DNA levels and gene expression by organelle nuclease DPD1: influence on leaf longevity and photosynthesis”, Yamada Conference International Symposium on Dynamics and Regulation of Photosynthesis, Nara, Japan, October 29-31, 2015.
25. Ayumi Tanaka, "Mg-dechelatase initiates chlorophyll degradation and controls the gene expression of chlorophyll metabolism." International Symposium on Plant Signaling and Behavior 2016, Saint Petersburg, Russia, June 19- 23, 2016
26. Makio Yokono, "Photosystem I - Photosystem II megacomplex in the green lineage.", Finnish-Japanese symposium 2016 "JF-2016 Integration of photosynthesis with cellular metabolism: towards sustainable bioeconomy", Saariselkä, Finland, September 5-10, 2016
27. Ryouichi Tanaka, "Chlorophyll metabolism: a crossroad of photosynthesis and plant defense against insect herbivores", Finnish-Japanese symposium 2016 "JF-2016 Integration of photosynthesis with cellular metabolism: towards sustainable bioeconomy", Saariselkä, Finland, September 5-10, 2016
28. Wataru Sakamoto, “Tissue-specific DNA degradation in organelles: Why chloroplasts retain DNA”, Plant Sciences Seminars, University of California, Davis, USA, March 30, 2016.
29. Wataru Sakamoto, “Organelle DNA degradation in leaf senescence: a possible role of organelle DNA as nutrient reservoir?”, Kyoto Sangyo University International Symposium on Frontiers in Plant Mitochondrial Genome Research, Kyoto, Japan, July 7, 2016.
30. Wataru Sakamoto, “Protein degradation machineries in Arabidopsis chloroplasts: summary and focus on FtsH”, Finnish-Japanese Symposium 2016, Integration of photosynthesis with cellular metabolism: towards sustainable bioeconomy, Saariselka, Finland, September 5-10, 2016.
31. Ayumi Tanaka, “Acclimation of the photosynthetic apparatus.” 17th International Congress on Photosynthesis Research, Maastricht, The Netherlands, August 1-10, 2016

② 口頭発表　　（国内会議 48 件、国際会議 4 件）

＜国内＞

1. 高橋香織、高林厚史、田中　歩、田中亮一；Light-harvesting chlorophyll-binding protein と共通するモチーフを持つタンパク質、LIL3 の機能解析、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 16 日
2. 下田洋輔、伊藤　寿、田中　歩;シロイヌナズナのクロロフィル *b* 分解における複数経路の検証、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 16 日
3. 加藤由佳子、高林厚史、田中　歩、田中亮一；シロイヌナズナにおける新規 Light-harvesting-like タンパク質の機能解析、第 53 回日本植物生理学会年会、京都

産業大学、京都市、2012 年 3 月 16 日

4. Lingang, Zhang, Yusuke Kato, Koji Saigo, Stephanie Otters, Ute C. Vothknecht, and Wataru Sakamoto;Essential role of VIPP1 in chloroplast envelope maintenance rather than thylakoid membrane biogenesis in Arabidopsis, 第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 16 日
5. 加藤裕介、坂本 亘;FtsH, DEG プロテアーゼによる光化学系 II 反応中心タンパク質 D1 の協調的分解、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 16 日
6. 山谷浩史、佐藤 豊、増田 優、森田竜平、西村 実、草場 信;イネ stay-green 遺伝子 NYC4 の単離と機能解析、日本育種学会、宇都宮大学、宇都宮市、2012 年 3 月 30 日
7. 伊藤 寿、田中 歩;珪藻のクロロフィル合成の解析、日本藻類学会第 36 回大会、北海道大学学術交流会館、札幌市、2012 年 7 月 14 日
8. 伊藤 寿;クロロフィル分解酵素の獲得と色素タンパク質複合体の分解、日本植物学会第 76 回大会、兵庫県立大学姫路書写キャンパス、姫路市、2012 年 9 月 17 日
9. 高橋香織、高林厚史、田中 歩、田中亮一;light-harvesting-like protein による geranylgeranyl reductase の安定化、ドリコールおよびイソプレノイド研究会例会、新潟大学、新潟市、2012 年 9 月 29 日
10. 佐藤玲惟、伊藤 寿、田中 歩;シロイヌナズナのクロロフィル *b* 還元酵素の強光適応における機能解析、第 54 回日本植物生理学会、岡山大学、岡山市、2013 年 3 月 22 日
11. 高橋香織、高林厚史、田中 歩、田中亮一;シロイヌナズナにおける light-harvesting-like protein, LIL3 の機能解析、第 54 回日本植物生理学会、岡山大学、岡山市、2013 年 3 月 22 日
12. 加藤由佳子、高林厚史、田中 歩、田中亮一、“シロイヌナズナにおける light-harvesting-like タンパク質 LIL8 の機能解析”、第 54 回日本植物生理学会、岡山大学、岡山市、2013 年 3 月 22 日
13. Xueyun Hu, Masanori Oshiai, Tohru Tsuchiya, Stefan Hortensteiner, Ayumi Tanaka, Ryouichi Tanaka;Possible involvement of chlorophyllase in a plant defense system、第 54 回日本植物生理学会、岡山大学、岡山市、2013 年 3 月 22 日
14. Lingang Zhang, Wataru Sakamoto;葉緑体包膜の維持における VIPP1 の機能と C 末端配列の役割、日本植物生理学会第 54 回年会、岡山大学、岡山市、2013 年 3 月 23 日
15. 山田規子、田中 歩、 Stuart D. Sym、堀口健雄;渦鞭毛藻の光合成色素組成は生活形態に応じて獲得される、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日
16. 下田洋輔、伊藤 寿、高林厚史、田中 歩;クラミドモナスにおける光化学系 II 欠損体の機能解析、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
17. 原田二朗、溝口正、塚谷祐介、横野牧生、田中 歩、民秋 均;Chlorophyllide *a* 還元酵素で新たに見出された C8 位ビニル還元活性の進化的意義、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
18. 木幡亮哉、村上明男、藤田祐一、伊藤 寿、田中 歩、田中亮一;ラン藻における Protoporphyrinogen IX oxidase 遺伝子の多様性、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
19. 秋山 雄希、田中 歩、田中 亮一;Characterization of a HemN homolog encoding an oxygen-independent coporoporphyrinogen III oxidase-related protein in *Arabidopsis thaliana*、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
20. 佐藤玲惟、伊藤 寿、田中 歩;The Role of NOL and NYC1 in the Acclimation to High Light Conditions in *Arabidopsis thaliana*、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学

五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日

21. 加藤裕介、坂本　亘;葉緑体プロテアーゼ FtsH と共精製されるタンパク質の探索と解析、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
22. 羽田野和実、加藤裕介、坂本　亘;FtsH プロテアーゼ高発現植物における光合成機能とストレス耐性に関する研究、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 19 日
23. Lingang Zhang and Wataru Sakamoto; VIPP1 is a partially disordered protein at the C-terminal extension that confers structural flexibility at the chloroplast envelope upon stress、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 19 日
24. 井上良平、宮田麗香、高木　優、草場　信;暗黒による葉老化制御の分子遺伝学的解析、日本育種学会 125 回講演会、東北大学川内北キャンパス、仙台市、2014 年 3 月 21 日
25. 高橋香織、高林厚史、田中　歩、田中亮一;Light-harvesting-like protein による geranylgeranyl reductase の局在化、第 24 回イソプレノイド研究会例会、岡山大学津島キャンパス 50 周年記念館、岡山市、2014 年 9 月 12 日
26. 坂本　亘;ソルガムステイグリーン形質の解析、第 5 回ソルガムワークショップ、東京大学、東京都、2014 年 9 月 22 日
27. 高林厚史、田中　歩;Comprehensive detection of chloroplastic protein complexes revealed the novel regulator of nitrogen metabolisms、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 16 日
28. JIA Ting、伊藤　寿、田中　歩;Chlorophyll *b* Can be Synthesized from Pre-existing Chlorophyll *a* in Photosystems in *Arabidopsis thaliana*、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 16 日
29. 胡　学運、田中　歩、田中亮一;A chemical-inducible gene silencing system reveals the essential role of the SufBC2D complex for iron-sulfur cluster assembly in plastids、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 17 日
30. 井上良平、宮田麗華、山谷浩史、高木　優、草場　信;Phytochrome Interacting Factor4・5による葉老化制御機構の解析、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 16 日
31. 加藤裕介、森満莉恵、坂本　亘;葉緑体プロテアーゼ FtsH と共精製された EngA の機能解析、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 17 日
32. 上田浩晶、草場　信;シロイヌナズナにおけるストリゴラクトンを介した葉老化制御の解析、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 18 日
33. 上田浩晶、草場　信;エチレン合成とストリゴラクトン合成の二段階制御を介した葉老化促進、日本育種学会第 127 回講演会、玉川学園大学、東京都、2015 年 3 月 21 日
34. 加藤裕介、小澤真一郎、高橋裕一郎、坂本　亘;光色の違いによる D1 タンパク質分解過程の変化、第 6 回日本光合成学会年会、岡山交流センター、岡山市、2015 年 5 月 22-23 日
35. 高見常明、坂本　亘;葉の老化過程において葉緑体 DNA 分解は光合成能低下に影響する. 第 6 回日本光合成学会年会、岡山交流センター、岡山市、2015 年 5 月 22-23 日
36. 伊藤　寿、下田洋輔、 松田香織、田中　歩;酵素によるクロロフィルからの Mg の脱離について、第 23 回光合成セミナー、龍谷大学大宮キャンパス、京都市、2015 年 7 月 12 日

37. 藤田拓矢、鈴木雄大、高林厚史、坂田洋一、田中　歩、藤田知道;ヒメツリガネゴケにおけるアブシジン酸による熱放散の制御、日本植物学会第 79 回大会、朱鷺メッセ:新潟コンベンションセンター、新潟市、2015 年 9 月 6-8 日
38. Fiona Wacera、小童谷利恵、高梨秀樹、藤本　優、鐘ケ江弘美、石森元幸、小林正明、矢野健太郎、大西紀和、岩田洋佳、堤　伸浩、坂本　亘;ソルガム RIL 集団を用いたステイグリーン形質評価法の確立とQTL マッピング、第128回日本育種学会秋季講演会、新潟大学、新潟市、2015 年 9 月 11-12 日
39. 上妻馨梨、佐藤　豊、奥崎文子、増田　優、福岡浩之、金澤　章、田部井豊、草場信;ダイズ非メンデル遺伝ステイグリーン遺伝子の単離、第 128 回日本育種学会秋季講演会、新潟大学、新潟市、2015 年 9 月 11-12 日
40. 伊藤　寿;クロロフィル合成系の酵素と基質の多様性、藍藻の分子生物学 2015、かずさアカデミアホール、木更津市、2015 年 11 月 16 日
41. Fiona Wacera、小童谷利恵、高梨秀樹、藤本　優、鐘ケ江弘美、石森元幸、小林正明、矢野健太郎、大西紀和、岩田洋佳、草場　信、堤　伸浩、坂本　亘;ソルガム RIL 集団の高密度マップを用いたステイグリーン QTL の解析、第 6 回ソルガムワークショップ、名古屋市、 2015 年 11 月 30 日
42. 田中　歩;マグネシウム脱離酵素による植物の発育と遺伝子発現制御、第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会合同大会、神戸ポートアイランド、神戸市、2015 年 12 月 1-4 日
43. 上妻馨梨、伊藤　寿、渡辺麻衣、永峰茉奈、田中啓介、亀山昭彦、池内昌彦、坂本亘、田中　歩、矢追克郎、海田るみ、太治輝明、草場　信;葉老化時における LHCII 分解への光化学系 II 小サブユニットの関与、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
44. 松田香織、下田洋輔、伊藤　寿、田中　歩;クラミドモナスのクロロフィル分解酵素 SGR の機能解析、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
45. 庭田章弘、高林厚史、田中　歩:グルタミン酸合成を制御するタンパク質複合体の解析、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
46. 古川　亮、功刀　基、井原邦夫、高林厚史、田中　歩;緑色植物における光捕集系の進化、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
47. Xueyun Hu, Mike T. Page, Ayumi Tanaka, Matthew J. Terry, Ryouichi Tanaka; Is the iron-sulfur cluster biosynthesis protein SufB involved in chlorophyll synthesis and phytochrome signaling? 第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
48. 佐藤智亮、高林厚史、田中　歩;シロイヌナズナにおける高バイオマス変異体の解析、第 34 回日本植物細胞分子生物学会(上田)大会、信州大学繊維学部、上田市、2016 年 9 月 3 日
49. 秋山雄希、横野牧生、秋本誠志、田中　歩、田中亮一;シロイヌナズナにおける ELIP の 機能解析、第 58 回日本植物生理学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島市、2017 年 3 月 16-18 日
50. 小畑大地、下田洋輔、田中歩、伊藤寿;SGRL は光阻害を抑制することで 黄化芽生えの緑化に寄与する、第 58 回日本植物生理学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島市、2017 年 3 月 16-18 日
51. 坂田　啓、秋山雄希、高林厚史、明賀史純、篠崎一雄、田中　歩、田中亮一;光化学系 II アセンブリー因子 HCF173 および LIL6 は光化学系 II の修復に関与するか? 、第58回日本植物生理学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島市、2017 年 3 月 16-18 日

52. 高林厚史、庭田章弘、永森彩奈、田中 歩;窒素代謝制御因子 ACR11 の生理的機能の解析、第 58 回日本植物生理学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島市、2017 年 3 月 16-18 日
53. 山谷浩史、上妻 馨、中野道治、林 依子、高見常明、門田有希、奥本 裕、坂本 亘、阿部知子、草場 信;イネ stay-green 遺伝子 DCD1 の単離と機能解析、日本育種学会第 131 回講演会、名古屋大学、名古屋市、2017 年 3 月 29-30 日

＜国際＞

1. Ayumi Tanaka; Evolutionary modification of chlorophyllide a oxygenase in Micromonas, The 16th International Congress on Photosynthesis Researc, Washington University, St. Louis,MO, USAh, August 11-16,2013
2. Wataru Sakamoto, “Improvement of photosynthesis and chloroplast function for food and biomass production”, The 9th JKUAT Scientific, Technological and Industrialization Conference, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, Nairobi, Kenya, November 14, 2014
3. Makio Yokono, “PSI-PSII megacomplex in evergreen plants.” ILTS International Symposium on Low Temperature Science, Sapporo, Japan, December 1, 2015
4. Ryouichi Tanaka, Fumiyoshi Myouga, Kazuo Shinozaki, Yukako Kato, Kaori Takahashi, Yuki Akiyama, Kei Sakata, Makio Yokono, Atsushi Takabayashi and Ayumi Tanaka, “Photosynthesis at low temperatures: The roles of light-harvesting- like proteins in the biogenesis and protection of photosystems,” ILTS International Symposium on Low Temperature Science, Sapporo, Japan, December 1, 2015

③ ポスター発表 （国内会議 35 件、国際会議 7 件）

＜国内＞

1. 高林厚史、栗原克宜、田中亮一、田中 歩;新規手法による葉緑体タンパク質複合体の網羅的検出、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 18 日
2. 伊藤 寿、田中 歩;Divinyl Chlorophyllide Reductase の性質、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 18 日
3. 横野牧生、高林厚史、栗原克宜、田中歩、秋本誠志;BN-PAGE により精製された光合成反応中心の時間分解蛍光スペクトルの測定、 第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学、京都市、2012 年 3 月 18 日
4. 功刀 基、高林厚史、田中 歩;クロロフィル *b* 合成酵素 CAO のユニークな分子進化と光合成の多様化、第3回日本光合成学会年会、東京工業大学すずかけキャンパス、横浜市、2012 年 6 月 1 日
5. 功刀 基、高林厚史、田中 歩;緑藻の色素タンパク質複合体の生化学的手法を用いた網羅的解析、化学工学会第 44 回秋季大会、東北大学川内北キャンパス、仙台市、2012 年 9 月 20 日
6. 高見常明、坂本 亘;老化葉におけるオルガネラヌクレアーゼ DPD1 の発現解析、日本植物生理学会第 54 回年会、岡山大学津島キャンパス、岡山市、2013 年 3 月 21 日
7. 伊藤 寿、田中 歩;ラン藻のクロロフィル代謝系酵素の進化、第4回日本光合成学会年会、名古屋大学、名古屋市、2013 年 5 月 31 日
8. 功刀 基;Chlorophyllide *a* oxygenase (CAO)の制御ドメインは反応中心への Chl *b*の取り込みを制御しているのか？、第4回日本光合成学会年会、名古屋大学、名古屋市、2013 年 5 月 31 日
9. 伊藤 寿、田中 歩; 3,8-Divinyl Chlorophyllide Reductase から見たクロロフィル代謝系の進化、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日-15 日
10. 佐藤 玲惟、伊藤 寿、田中 歩; シロイヌナズナのクロロフィル *b* 還元酵素を用いた強光適応、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日-15 日

11. 功刀 基、高林 厚史、田中 歩; クロロフィル合成酵素の光化学系の進化への寄与、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日−15 日
12. 増田 建、Espinas Nino、小林 康一、佐藤 康、 高橋 香織、田中 亮一、望月 伸悦; シロイヌナズナにおける 2 つのフェロキラターゼアイソフォームによるヘム分配機構の解析、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日−15 日
13. Jia Ting、伊藤 寿、田中 歩; Co−regulation of the enzymes of the chlorophyll cycle in Arabidopsis、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日−15 日
14. 胡 学運、田中 歩、田中 亮一; Simple extraction methods that prevent the artifactual conversion of chlorophyll to chlorophyllide during pigment isolation from leaf samples、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日−15 日
15. 木幡亮哉、伊藤 寿、藤田祐一、田中 歩、 田中亮一; ラ ン 藻 に お け る Protoporphyrinogen IX oxidase 遺伝子の多様性、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日−15 日
16. 秋山雄希、田中 歩、田中亮一; 植 物 に 嫌 気 型 Coproporphyrinogen III oxidase は存在するか、日本植物学会第 77 回大会、北海道大学、札幌市、2013 年 9 月 14 日 −15 日
17. 前川修吾、高林厚史、山本宏子、田中 歩、佐藤長緒、山口 淳二;ユビキチンリガーゼ ATL31 及び ATL6 の二重変異体は光強度依存的な HemA1 の転写抑制による黄化現象を呈する、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
18. 村上華穂、高見常明、坂本 亘;オルガネラヌクレアーゼ DPD1 は老化葉において葉緑体 DNA 分解に関与する、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 18 日
19. 高見常明、村上華穂、坂本 亘;DPD1 の機能欠損は老化葉の葉緑体遺伝子発現に影響する、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 19 日
20. 高橋香織、高林厚史、田中 歩、田中亮一;Light−harvesting like protein 3 (LIL3) がもつ LHC motif のクロロフィル結合能の解析、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 20 日
21. 上田浩晶、草場 信;ストリゴラクトンを介した葉老化制御の分子遺伝学的解析、第 55 回日本植物生理学会年会、富山大学五福キャンパス、富山市、2014 年 3 月 20 日
22. 井上良平、宮田麗香、高木 優、草場 信;暗黒による葉老化制御の分子遺伝学的解析、日本育種学会 125 回講演会、東北大学川内北キャンパス、仙台市、2014 年 3 月 21 日
23. 加藤裕介、森 満莉恵、坂本 亘;葉緑体プロテアーゼ FtsH と共精製されたタンパク質 EngA 高発現植物体の表現型解析、第 5 回日本光合成学会年会、近畿大学農学部、奈良市、2014 年 5 月 31 日
24. 森 満莉恵、加藤裕介、坂本 亘;葉緑体 FtsH の相互作用候補因子 EngA を高発現するシロイヌナズナの解析、第 5 回日本光合成学会年会、近畿大学農学部、奈良市、2014 年 5 月 31 日
25. 功刀 基、高林厚史、田中 歩;環境適応のための光化学系の進化とクロロフィル合成酵素(CAO)の進化は関係しているのか？、第 5 回日本光合成学会年会、近畿大学農学部、奈良市、2014 年 5 月 31 日
26. 佐藤智亮、高林厚史、田中 歩;シロイヌナズナ完全長 cDNA 高発現系による新規ステイグリーンの探索と解析、第 5 回日本光合成学会年会、近畿大学農学部、奈良市、2014 年 5 月 31 日
27. 功刀 基、高林厚史、田中 歩;Evolution of green plants accompanied the changes in light−harvesting systems、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャ

ンパス、東京都、2015 年 3 月 16 日
28. 松田香織、下田洋輔、伊藤 寿、田中 歩;シロイヌナズナにおける Chl *b* 分解に対する SGR の機能検証、第 56 回日本植物生理学会年会、東京農業大学世田谷キャンパス、東京都、2015 年 3 月 16 日
29. 大野滉平、下田洋輔、伊藤 寿、田中 歩;シロイヌナズナの SGR によるクロロフィル分解制御、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
30. 西村健司、加藤裕介、坂本 亘;シロイヌナズナ葉緑体 ABC トランスポーターの解析、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
31. 大西紀和、高見常明、坂本 亘;老化葉で発現するヌクレアーゼ DPD1 は RNA ではなく二本鎖および一本鎖 DNA を分解する、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
32. 高見常明、坂本 亘;オルガネラヌクレアーゼ DPD1 の欠損は成長に影響する、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
33. ワヒンヤフィオナワセラ、小童谷利恵、鐘ケ江弘美、高梨秀樹、藤本 優、石森元幸、小林正明、矢野健太郎、大西紀和、岩田洋佳、草場 信、堤伸浩、坂本 亘;RIL を用いたソルガムステイグリーン QTL の解析、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
34. 坂本 亘、Fiona Wacera、小童谷利恵、鐘ケ江弘美、高梨秀樹、藤本 優、石森元幸、小林正明、矢野健太郎、大西紀和、岩田洋佳、草場 信、堤 伸浩;ソルガム RIL の高密度マップデータの作製とステイグリーン他 QTL の解析、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
35. 加藤裕介、森満莉絵、坂本 亘;葉緑体プロテアーゼ FtsH の相互作用候補因子 EngA の機能解析、第 57 回日本植物生理学会大会、岩手大学上田キャンパス、盛岡市、2016 年 3 月 18-20 日
36. 古川亮、高林厚史、田中歩;クロロフィル *b* 過剰蓄積植物株における細胞死の解析、第 58 回日本植物生理学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島市、2017 年 3 月 16-18 日
37. Ying Chen, Yousuke Shimoda, Hisashi Ito, Ayumi Tanaka; The function of SGR in the formation and degradation of photosystem II in Chlamydomonas reinhardtii. 、第 58 回日本植物生理学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島市、2017 年 3 月 16-18 日

＜国際＞

1. Wataru Sakamoto and Lingang Zhang; Essential role of VIPP1 in chloroplast envelope maintenance and stress tolerance, Plant Biology 2013, Providence, Rhode Island, USA, July 22, 2013
2. Yusuke Kato and Wataru Sakamoto; Effect of phosphorylation on the degradation process of D1 protein in Photosystem II, 16th International Congress on Photosynthesis Research, St. Louis, Missouri, USA, August 13, 2013
3. Ayumi Tanaka; Evolutionary modification of chlorophyllide a oxygenase in Micromonas, The 16th International Congress on Photosynthesis Researc, Washington University, St. Louis,MO, USAh, August 11-16,2013
4. Wataru Sakamoto and Tsuneaki Takami, “Regulation of chloroplast DNA levels and gene expression by organelle nuclease DPD1”, Gordon Conference on Chloroplast Biotechnology, Ventura, California, USA, January 20, 2015
5. Atsushi Takabayashi;"Evolution of photosystems in green algae through ice ages." ILTS International Symposium on Low Temperature Science, Sapporo, Japan, December 1, 2015
6. Hiroaki Ueda and Makoto Kusaba, Strigolactone synthesized in the leaves regulates leaf

senescence in cooperation with ethylene in Arabidopsis. Plant Biology 2016, Austin, Texas, USA, July 9-13, 2016

7. Ryouichi Tanaka; Functional analysis of OHP1 and LIL8 (PSB33): Two LIL proteins involved in the assembly of photosystem II and in the connectivity of LHCs to the core complexes., 17th International Congress on Photosynthesis Research, Maastricht, The Netherlands, August 1-12, 2016
8. Kaori Kohzuma, Hisashi Ito, Mai Watanabe, Masahiko Ikeuchi, Wataru Sakamoto, Ayumi Tanaka, Makoto Kusaba,"A photosystem II subunit is required for LHCII degradation during leaf senescence." The 17th International Congress on Photosynthesis Research, Maastricht, The Netherlands, August 7-12, 2016

(4)知財出願

①国内出願 (0 件)

該当無し

②海外出願 (0 件)

該当無し

③その他の知的財産権

該当無し

(5)受賞・報道等

① 受賞

該当無し

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 朝日新聞、暗くても光合成できるラン藻　北大、開発に成功、2012 年 2 月 19 日
2. 北海道新聞、植物の葉緑素　虫から身守る働き、2015 年 3 月 9 日
3. 北海道新聞(夕刊)、光合成メカニズムに新発見、2つの光化学系　実は複合体、2016 年 4 月 6 日
4. 山陽新聞、葉緑体守るタンパク質、岡山大・坂本教授ら発見、2016 年 8 月 28 日

③その他

該当無し

(6)成果展開事例

・ なし

②社会還元的な展開活動

・ 田中チームと本領域の田口チームが協力し、紀伊國屋書店札幌本店で「夢のプラライフ－二酸化炭素を資源に－」についてサイエンスカフェを行った。一般市民が約 60 名参加した。
・ 田中が龍谷大学公開講座で「植物を創る－地球と研究者の挑戦－」のタイトルで、CREST の試みを紹介した。学生・教員と一般市民約 200 名が参加した。
・ 岡山大学資源植物科学研究所一般公開において、本研究で行っているソルガムステイグリーンの圃場栽培を一般市民に公開して紹介した。一般市民約 300 名が参加した。
・ 広島大学においてサイエンスカフェを行い、「植物の老化戦略」のタイトルで CREST の研究について紹介した。約 50 名が参加した。

§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
2012 年 9 月 27 日-28 日	CREST・さきがけ合同班会議	北海道大学	30 人	関連する CREST3チームとさきがけ1名の合同会議
2014 年 2 月 16 日	第74回サイエンスカフェ「夢のプラライフ－二酸化炭素を資源に－」	紀伊国屋書店札幌本店 1 階インナーガーデン	60 人	CREST プロジェクトの紹介
2015 年 9 月 26 日	広島大学サイエンスカフェ「植物の老化戦略」	広島大学	50 人	CREST プロジェクトの紹介
2015 年 10 月 17 日	北海道環境学習フェア 2015「光合成の進化と地球環境の形成」	北海道岩見沢農業高等学校	200 人	小・中・高校生向け基調講演
2016 年 1 月 6 日	平成 27 年度ハイレベル学習セミナー「光合成の進化と地球環境の形成」	ネイパル深川	120 人	高校生向けの講義
2016 年 10 月 3 日（開催予定）	北海道大学低温科学研究所平成 28 年度公開講座　広がる低温の魅力～低温科学の最前線第２回「クロロフィルと生物の進化」	北海道大学	未定	CREST プロジェクトの紹介

§６ 最後に

本プロジェクトの最大の目的は、ステイグリーン植物の作製技術を開発することである。植物が長く緑色を保つには、光化学系が長く保持されなくてはならない。そこで、光化学系そのものを改変して光化学系を安定化させ、ステイグリーン植物を作製するという挑戦的な課題を設定した。戦略は単純であるが、プロジェクトを開始した時点では、必ずしも成功する見通しはなかった。しかし幸運なことに、結果的には、光化学系の改変がステイグリーンの作製に有効な手段であることを示すことができた。このことは大変大きな成果と考えている。しかし、なぜ光化学系を改変したらステイグリーンになるのかは、残念ながら本プロジェクトの期間では解明できなかった。この機構が解明できたら、今後のさらなる展開が期待されるだろう。

一方本研究では、クロロフィル分解を抑制してもステイグリーンになることを示した。従来、クロロフィル分解は老化の最後の応答（過程）と考えられてきた。しかし、クロロフィル分解を誘導すると老化関連遺伝子の誘導が見られた。今までクロロフィル分解は老化の最終プロセスの一つと考えられてきたが、クロロフィル分解そのものが老化のシグ

ナルとなりうるという新しい考え方を提案した。これは、ステイグリーン作製のための新たな考え方を提供していると考えている。また、クロロフィル分解や葉緑体機能維持に関する基礎的な研究は大いに進展し、今後のこの分野の発展に大いに貢献したと評価している。

さらに、バイオマス利用が期待されるソルガムの組み換え純系系統の作製と育成に成功し、ステイグリーンや収量以外にも多くの重要形質の単離に道を拓き、二酸化炭素の資源化という本領域の目的に貢献できる基盤が作られた。この資源を利用して、研究が多くの分野に展開していくと確信している。

このように、本プロジェクトの重要な部分は期待以上に達成できたと考えている。一方不十分な結果に終わったものもある。バイオマスが増加し、ハーベストインデックスが向上した株を得ることはできたが、これらの成果を応用し、バイオマスの増加したステイグリーン株作製技術として確立するという目的は、残念ながら達成することができなかった。この理由は、バイオマスの増加したステイグリーン株の単離が期待以上には進まなかったこと、光化学系を安定化しても光合成の持続にはつながらなかったこと、バイオマス増加のメカニズムの詳細な解明まで至らなかったことにある。この点が極めて心残りである。

本研究では、様々な理由により、研究目的が達成できる必要最小限の経費で遂行することにした。そのため、大型の備品等の購入は控え、消耗品と人件費に充てた。この方針は、正しかったと判断しているが、各グループの研究遂行には少し不自由を与えたかもわからない。研究費の適切な申請は難しいものである。

本プロジェクトはバイオマスの増加という応用を一つの出口としている。研究を進める中、応用研究は大変難しいと認識した。一度決めた目的は変えることはできず、また結果に対する評価も極めて明確であり、言い訳は通用しない。基礎研究の様に面白い現象が見つかったら、方針を自由に変えることはできない。5 年間強制的にある課題に取り組むことになる。しかしながら、この持続的な強制力が結構重要な役割を果たしているように感じた。この強制力は初めての経験であったが、多くを学ぶことができた。研究姿勢としても、興味深いプロジェクトであった。

田中グループ（北大）

作業中の草場グループと坂本グループ（広島大）