

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「植物栄養細胞をモデルとした藻類脂質  
生産系の戦略的構築」

## 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：太田啓之  
(東京工業大学生命理工学院、教授)

## § 1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

本研究では、当該領域の戦略目標である「藻類でのバイオエネルギー生産、有用物質生産の基盤構築」の一端として、太田、西田、和田らによる植物脂質代謝研究の最先端の知見を黒川、大林、佐藤らの最先端ゲノムインフォマティクス研究と融合することで、藻類脂質生産機構解明と脂質高生産系の構築を行った。特に植物栄養細胞の研究知見をもとに、それらに本研究でモデル藻類と位置付ける *Chlamydomonas*, *Klebsormidium* の研究成果を取り込むことで、瀧村(萩原・尾崎)らの解析から明らかになった油脂高生産藻 *Nannochloropsis* NIES-2145 と、日原らが中間評価以降に「さきがけ」から合流し新たなターゲットとして取り上げたシアノバクテリアで有用脂質の高生産系確立を進めた。

まず中間評価までに大きな目的とした藻類研究基盤プラットフォームの構築として、過去の植物における膨大な代謝研究と藻類研究を繋ぐモデル藻類として車軸藻類に着目し、太田、黒川らを中心に、その一つである *Klebsormidium flaccidum* の全ゲノムの決定を行った。また世界的にモデルとして利用されている *Chlamydomonas reinhardtii* などでの遺伝子発現情報や代謝情報の網羅的な取得を進めた。さらに黒川ら、大林らは、それらの情報をもとに藻類ゲノム情報やRNAseq などによる発現情報のデータの閲覧が可能なデータベース(DB)の整備を進め、ゲノム情報 DB として AlgaenomeDB、発現情報 DB として ALCOdb の構築をそれぞれ行った。藻類のゲノム情報を網羅する AlgaenomeDB についてはすでに 26 生物のゲノム情報を格納した DB として整備することでグループ内での活用を可能にし、ALCOdb については論文化を行い広く公開して、公開開始1年目で国内外から 13,000 アクセスの利用を得た。また佐藤らは、特にモデル藻類での脂質代謝フロー解析を進め、モデル藻類 *C. reinhardtii* の脂質精密分析の基礎を築くとともに、高等植物において TAG 合成の前駆体として重要な膜脂質ホスファチジルコリン(PC)を持たない *C. reinhardtii* の脂質代謝の特殊性を指摘し、他の *Chlamydomonas* 類の中には PC を持つ種が多数存在することを初めて示した。またそのような *Chlamydomonas* 類の代謝フロー解析を進めることで、PC をもつ *Chlamydomonas* NIES-2212 株は、窒素飢餓にしなくても定常期に大量の TAG を蓄積することを見出し、*C. reinhardtii* に PC 合成系を導入した西田らの成果と合わせ、藻類の効率的な TAG 合成における PC の重要性を示した[佐藤、西田らの成果参照]。

さらに太田、西田、和田の脂質代謝解析チームは、ゲノムインフォマティクスチームと協力して、モデル藻類と有用藻類の脂質代謝系の全容解明と有用脂質生産系の構築で大きな成果を上げた。特に太田らは、植物葉での TAG 蓄積増強の成果をモデルとし、*C. reinhardtii* で油脂合成遺伝子をリン欠乏応答性プロモーターと結合して高発現させ、栄養欠乏時の油脂生産強化を示した。さらにその *Chlamydomonas* 由来のキメラ遺伝子を *Nannochloropsis* NIES-2145 に導入して、有用藻類でも脂質蓄積の増強と、TAG の脂肪酸組成改変に成功した。また *N. NIES-2145* の TAG 合成系の概要を明らかにし、有用藻類での有用脂質生産の基盤を築いた。

以上、本チームの関連業績は原著論文だけでも50報を超え、*Nature Commun*, *PNAS*, *Plant Biotech J*, *Plant Physiol*, *Plant J*, *Nucl Acids Res* などの IF5 以上の国際的な一流誌に12報を出すなど、本領域の中核的な成果となる論文を多数報告した。特許申請は8件に上った。

### (2) 顕著な成果

< 優れた基礎研究としての成果 >

1. Hori, K., Maruyama, F., Fujisawa, T., Togashi, T., Yamamoto, N., Seo, M., Sato, S., Yamada, T., Mori, H., Tajima, N., Moriyama, T., Ikeuchi, M., Watanabe, M., Wada, H., Kobayashi, K., Saito, M., Masuda, T., Sasaki-Sekimoto, Y., Mashiguchi, K., Awai, K., Shimojima, M., Masuda, S., Iwai, M., Nobusawa, T., Narise, T., Kondo, S., Saito, H., Sato, R., Murakawa, M., Ihara, Y., Oshima, Y., Ohtaka, K., Satoh, M., Sonobe, K., Ishii, M., Ohtani, R., Kanamori, M., Honoki,

R., Miyazaki, D., Mochizuki, H., Umetsu, J., Higashi, K., Shibata, D., Kamiya, Y., Sato, N., Nakamura, Y., Tabata, S., Ida, S., Kurokawa, K. and Ohta, H. “*Klebsormidium flaccidum* genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation.” *Nature Communications* 5, 2014.

概要:

本プロジェクトを始め、これまでの植物代謝研究をモデルにして藻類で代謝研究の推進を行うためには、植物と藻類のゲノム情報を繋ぐモデル藻類の存在が不可欠である。本論文は、当研究チームがその重要なモデル藻類として位置付け、ゲノム解読を進めてきた車軸藻植物門 *Klebsormidium flaccidum* NIES-2285 (現在は詳細な系統解析により *Klebsormidium nitens* NIES-2285 と再分類されている) のゲノムを初めて明らかにしたものである。この成果は、車軸藻植物門として初のゲノム解読であり、藻類の基盤的研究、応用的研究すべてにおいて大きなインパクトをもたらす成果となった。

また *K. flaccidum* は、ストレス条件で顕著に脂質が蓄積することも明らかになり、藻類での脂質蓄積を解明するモデルとしても有用であることがわかった。出版後3年で Google Scholar で 132 回、Web of Science で 87 回の引用が記録され、高被引用論文として登録されている。

2. Awai K, Ohta H and Sato N, “Oxygenic photosynthesis without galactolipids”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 13571–13575, 2014 (DOI: 10.1073/pnas.1403708111)

概要:

シアノバクテリアは植物・藻類の葉緑体同様、光合成膜の成分としてガラクト脂質を例外なく含むが、その合成経路は両者で異なる。シアノバクテリアにおいて、グルコ脂質を異性化してガラクト脂質に変換する酵素の遺伝子を、バイオインフォマティクスの活用により発見した。さらにこの遺伝子の破壊により、酸素発生型光合成にはガラクト脂質が必要ではないことを証明した。

ガラクト脂質は油脂(トリアシルグリセロール)と同じグリセロ脂質の一種であり、シアノバクテリアや藻類、植物など、すべての酸素発生型光合成生物が光合成を盛んに行っているとき、共通に、かつ最も多量に含まれるグリセロ脂質である。油脂の蓄積は de novo 合成された脂肪酸の分配においてガラクト脂質の蓄積すなわち葉緑体膜形成と競合するので、シアノバクテリアや藻類で油脂を蓄積させるには、ガラクト脂質合成の仕組みの理解が不可欠である。特に本プロジェクトではシアノバクテリアでの油脂生産も目指していることから、本研究はそのガラクト脂質合成の仕組みと機能の解明に大きく道を拓いた。また本研究は「さきがけ」研究、栗井光一郎静岡大准教授との共同研究である。

3. Aoki Y, Okamura Y, Ohta H, Kinoshita K, Obayashi T. ALCOdb: Gene Coexpression Database for Microalgae. *Plant Cell Physiology*, 57, e3 (2016)

概要:

藻類研究の基盤プラットフォーム構築の一環として、微細藻類遺伝子共発現データベースを構築した。ゲノム情報に基づいた共発現データ評価の結果、特に緑藻クラミドモナスの共発現データは高等植物に匹敵する遺伝子機能予測力があり、微細藻類の実験計画、データ解釈に極めて有効であることが示された。すでにオープン1年で年間 13,000 回の閲覧を記録しており、海外からのアクセスは 80%を占め(スパムを除く)、その利用が世界的に進んでいる。本グループでもこの共発現情報を活用し、すでに複数のターゲット遺伝子の同定を行っている。

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

1. Iwai, M., Ikeda, K., Shimojima, M., Ohta, H. Enhancement of extraplastidic oil synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* using a type-2 diacylglycerol acyltransferase with a phosphorus starvation-inducible promoter *Plant Biotechnology Journal* 2014 12(6) 808-819 (DOI: 10.1111/pbi.12210).

概要:

本論文では、モデル藻類 *Chlamydomonas reinhardtii* の窒素欠乏とリン欠乏時に起こる TAG

の蓄積を比較し、対数増殖期の細胞を栄養欠乏条件にさらすことで、これまで藻類で広く知られている窒素欠乏時だけでなくリン欠乏時にも顕著に TAG が蓄積することを明らかにした。またこのリン欠乏における TAG 蓄積時には窒素欠乏時と異なりある程度細胞の増殖がおこることを示し、リン欠乏時のほうが培養液あたりの TAG 蓄積がより顕著に起こることを示した。またリン欠乏応答性プロモーターを *C. reinhardtii* から取得し、同じ *C. reinhardtii* から取得した TAG 合成遺伝子(DGAT2)と融合したキメラ遺伝子を導入することにより TAG の高生産化に成功した。この成果は藻類で脂質代謝系酵素のエンジニアリングによって TAG の高生産に成功した初めての例であり、その手法に関連した特許申請も行った(特願 2014-49651)。出版後 3 年で、すでに Google Scholar 引用数 48 回 Web of Science で 40 回引用されている。

2. Iwai, M., Hori, K., Sasaki-Sekimoto, Y., Shimojima, M., and Ohta, H. Manipulation of oil synthesis in *Nannochloropsis* strain NIES-2145 with a phosphorus starvation-inducible promoter from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 2015

概要:

海産性のオイル高生産性藻類ナンノクロロプシスで、リンの欠乏条件では窒素欠乏条件と比べ、生育を維持しながら油脂を高蓄積することを発見した。さらに、リン欠乏時に、細胞の膜中のリン脂質を糖脂質に転換する緑藻クラミドモナスと同様な仕組みがナンノクロロプシスで働いていることも見出した。そこで緑藻クラミドモナスから取得したリン欠乏応答性の糖脂質合成遺伝子プロモーターと油脂合成遺伝子を結合してナンノクロロプシスに導入した結果、脂質の蓄積を増強させるとともに、脂肪酸の組成を改変することに初めて成功した。本論文は微生物系のオンラインジャーナルに発表したが、発表後1年で、閲覧数は3,500回を超え、同時期に出た論文の中でも上位5%に入る注目度となっている。

また、前記1の成果によりクラミドモナスにおける油脂生産の特許申請を行ったが、本成果によって有用藻類ナンノクロロプシスで初めて脂質の高生産化、質的改変が可能になり、藻類の実用化の道を拓いたことから、新たに特許申請を行った(PCT/JP2015/057302)。

3. Shimojima, M., Madoka, Y., Fujiwara, R., Murakawa, M., Yoshitake, Y., Ikeda, K., Koizumi, R., Endo, K., Ozaki, K., and Ohta, H. An engineered lipid remodeling system using a galactolipid synthase promoter during phosphate starvation enhances oil accumulation in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 2015

概要:

植物葉においてリン欠乏応答性プロモーターと TAG 合成遺伝子との連結により、リン欠乏時における葉での油脂蓄積を 30 倍程度に増強できることを明らかにし、JST への支援申請が認められ国際特許を申請した(特許第 5835791 号)。この方法は上記1,2の藻類のリン欠乏条件におけるTAG蓄積の強化法のモデルともなった大きなイノベーションである。葉での脂質蓄積法の開発は藻類の場合とは異なり、世界各地に存在する未利用のリン欠乏土壌の活用にもつながる。本手法は葉での特殊脂肪酸生産にも活用でき、植物材料を用いた有用脂質生産に大きく貢献すると期待される。論文はオンラインジャーナルに掲載され、国内外のマスコミ等で報道されるとともに、1年で2,500回を超える閲覧があった。

4. Nobusawa T., Hori K., Mori H., Kurokawa K., Ohta H. (2017) Differently localized lysophosphatidic acid acyltransferases crucial for triacylglycerol biosynthesis in the oleaginous alga *Nannochloropsis*. *Plant J.* 90, 547-599. doi: 10.1111/tpj.13512.

概要:

バイオ燃料生産に最有望とされるオイル生産藻の一種ナンノクロロプシスの突出して高い油脂生産能力を可能にしている仕組みを解明した。生物が作り出す油脂は油滴という油脂蓄積に必要な細胞内構造に蓄積される。今回、ナンノクロロプシスの高い油脂生産能力には、この油滴の表面で直接的に油脂合成を行う仕組みが重要な役割を果たしていることを発見した。しかもこの仕組みは二次共生という複雑な進化過程において獲得したものであることを突き止めた。

藻類が高い油脂生産能力を発揮するうえで重要な仕組みを解明したことは、藻類改良のポイントを明示する成果といえる。ナンノクロプシス油滴表面での油脂合成能をさらに強化・改変させることで、藻類によるバイオ燃料などの有用脂質生産実用化に向けて大きく前進することが期待される。

## § 2 研究実施体制

### (1) 研究チームの体制について

#### ① 「太田」グループ

##### 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
太田 啓之	東京工業大学生命理工学院	教授	H23.10～
下嶋 美恵	同上	准教授	H23.10～
堀 孝一	同上	助教(H23.10～27.3まで研究員)	H23.10～
森 宙史	同上	助教	H24.4～
信澤 岳	同上	研究員	H24.7～H28.10
岩井 雅子	同上	同上	H25.7～
松村 有里子	東京医療保健大学大学院医療保健学研究科	講師	H27.4～
岡崎 久美子	東京工業大学生命理工学院	研究員	H27.4～H28.8
望月 仁志	同上	同上	H27.4～
佐々木 (関本) 結子	同上	同上	H28.4～

##### 研究項目

- ・植物葉での栄養飢餓による脂質蓄積機構解明
- ・藻類での栄養飢餓による脂質蓄積機構解明
- ・モデル藻類共発現情報の取得
- ・マスター制御因子の同定
- ・有用藻類共発現情報の取得
- ・有用脂肪酸高生産系構築
- ・バイオディーゼル生産技術基盤構築

#### ② 「西田」グループ

##### 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
西田 生郎	埼玉大学理工学研究科	教授	H23.10～
森安 裕二	同上	教授	H23.10～
藤木 友紀	同上	助教	H23.10～
栗田 朋和	同上	研究員	H24.4～
大鶴 真寿美	同上	D3	H24.4～H25.3
段 中瑞	同上	D1～D3	H24.4～H27.3
日原 由香子	同上	准教授	H26.4～
門脇 太朗	同上	D2～D3、研究員	H26.4～
鬼沢 あゆみ	同上	D2～D3	H26.4～H28.3

##### 研究項目

- ・藻類小胞体膜脂質合成と貯蔵脂質合成の分配機構解明
- ・藻類における貯蔵脂質蓄積機構の解明と制御
- ・小胞体脂質合成の改変に基づく有用藻類貯蔵脂質の高生産化
- ・*Synechocystis* 細胞内での TAG 高生産系の構築(日原サブグループ担当)

③「和田」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
和田 元	東京大学総合文化研究科	教授	H23.10～
小林 康一	同上	助教	H23.11～
齊藤 勝和	同上	研究員	H24. 4～H28.12
田上 遼	同上	D3	H23.10～H25.9
遠藤 嘉一郎	同上	D1～D3	H26.4～H29.3
藤井 祥	同上	D1	H28.4～

研究項目

- ・藻類脂肪酸合成制御機構の解明
- ・特殊脂肪酸合成藻類の脂肪酸合成機構解明
- ・有用脂肪酸高生産系構築
- ・バイオディーゼル生産技術基盤構築

④「黒川」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
黒川 顕	国立遺伝学研究所	教授	H23.10～
山田 拓司	東京工業大学	准教授	H25.4～
森 宙史	国立遺伝学研究所	助教	H23.10～
西山 依里	東京工業大学	GCOE 研究員	H23.10～H26.3

研究項目

- ・有用藻類の網羅的ゲノム解読
- ・藻類比較ゲノムデータベース(Algaenome)の構築

⑤「大林武」グループ（東北大学）

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
大林 武	東北大学大学院情報科学研究科	准教授	H23.10～
木下 賢吾	同上	教授	H23.10～
城田 松之	東北大学大学院情報科学研究科・大学院医学研究科	助教	H23.10～
Sawannee Sutheworapong	東京工業大学大学院生命理工学研究科	D3	H23.10～H25.10
青木 裕一	東北大学大学院情報科学研究科 東北大学東北メディカル・メガバンク機構	D 3 ・研究員・助教	H24.10～
岡村 容伸	同上	D1～3	H25.10～H28.3
田高 周	同上	D1～2	H26.10～
岡野 悠太郎	同上	D1	H27.10～

研究項目

- ・モデル藻類共発現データ作成法の開発
- ・植物-モデル藻類比較共発現データベースの構築
- ・藻類比較共発現データベースの構築

⑥「佐藤」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
佐藤 直樹	東京大学大学院総合文化研究科	教授	H23.10～
森山 崇	同上	助教	H23.10～
豊島 正和	同上	特任研究員	H26.7～
田島 直幸	同上	大学院生	H23.10～H27.3
毛利 奈津美	同上	大学院生	H26.4～
平嶋 孝志	同上	大学院生	H27.4～

研究項目

- ・モデル藻類脂質代謝フローの解析
- ・モデル代謝情報データベース構築
- ・有用藻類脂質代謝フローの解析と代謝情報データベース構築

⑦「瀧村」グループ(花王株式会社)

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
尾崎 克也	花王株式会社 生物科学研究所		H23.10～H27.6
渋谷 祐輔	同上	室長	H23.10～H24.2
萩原 浩	同上	室長	H27.4～H28.12
影山 泰	同上	GL	H23.10～H24.9
楠奥 比呂志	同上	GL	H23.10～H27.3
瀧村 靖	同上	室長	H27.4～
小川 晃範	同上	主任研究員	H23.10～H27.6
藤森 久美子	同上	研究員	H23.10～H24.9
松浦 正憲	同上	研究員	H24.10～H25.2
末次 舞	同上	研究員	H24.4～H27.6
川原 彰人	同上	研究員	H27.4～
漁 慎太郎	同上	研究員	H27.4～
大貫 有美	同上	派遣技術員	H24.2～H27.3
湯川 めぐみ	同上	派遣技術員	H27.4～

研究項目

- ・有用脂肪酸高生産藻類の探索・選定
- ・各種脂肪酸合成遺伝子の同定
- ・有用脂肪酸高生産系構築

(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

太田グループ

太田Gは、海外の *Nannochloropsis* 研究グループと緊密な関係を保ち、国際植物脂質シンポジウム等で頻繁に情報交換している。

また太田Gはモデル藻類 *Chlamydomonas* の研究では、京都大学福澤秀哉教授のグループと共同研究を行っている。モデル藻類 *Klebosormidium flaccidum* の研究では、ゲノム解読の段階からかざさ DNA 研究所田畑哲之所長、国立遺伝学研究所中村保一教授や理化



学研究所・環境資源科学研究センター瀬尾光範ユニットリーダーと緊密な共同研究を進め、現在に至っている。

以上の連携や共同研究に加え、平成27年から広島大学とも藻類に関する共同研究を開始した。平成28年初めに、広島大学を拠点とした種々の有用生物でのゲノム編集技術の確立を目的とする研究プロジェクトの立ち上げに(株)マツダとともに参画しJSTプログラム産学共創プラットフォーム(OPERA)に申請、「藻類でのゲノム編集技術の確立」を本グループの課題として採択された。またその他、2企業と藻類に関する共同研究を新たに開始している。

#### 西田グループ

JSTのH25国際強化支援の予算により2013年12月から2014年2月まで埼玉大学大学院理工学研究科・産学連携研究員である栗田朋和を大韓民国・浦項工科大学のYoungsook Lee教授の研究室に派遣し、相同組換え効率の高く部位特異的な遺伝子破壊が可能な緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の変異株の取得を試みた。研究を通じてLee研究室との研究交流を深め、現在も継続して協力関係を維持しているほか、浦項工科大学を訪問している国外の高等植物、藻類の研究者との交流も実現し、バイオエネルギー研究ネットワークの形成に成功した。

#### 佐藤グループ

宮城島チームの三角修己氏(山口大学)とは、紅藻の脂質蓄積に関して共同研究を行い、論文を発表した。栗井光一郎氏(静岡大学)とは、シアノバクテリアの脂質合成系に関して共同研究を行い、論文を発表した。梶川昌孝氏・福澤秀哉氏(京都大学)とは、クラミドモナスの脂質合成の転写因子に関する共同研究を行い、論文を発表した。岡咲洋三氏・斎藤和季氏(理化学研究所環境資源科学研究センター)とは、<sup>13</sup>Cラベル化合物の詳細な質量分析に関して共同研究を行い、すでに学会発表を行っているが、論文は現在審査中である。

### § 3 研究実施内容及び成果

#### 3. 1. 1 植物葉・藻類での栄養飢餓による脂質蓄積機構解明(東京工業大学 太田 G) (サブテーマ1)

##### (1)研究実施内容及び成果

##### 研究実施方法

太田らがすでに植物で明らかにしたデンブリン合成変異体など TAG 蓄積が顕著に起こる変異体の解析を進めると同時に、植物でTAG蓄積との関連が明らかになった遺伝子の変異体を藻類でも単離し、TAG蓄積の有無を明らかにする。また、栄養欠乏条件(特にリン欠乏時)における藻類のTAG蓄積に関わるキー酵素、マスター制御因子を同定するため、既知のTAG合成遺伝子と共発現する遺伝子群の新型シークエンサーによる網羅的検索(サブテーマ2,7と連動)とその結果を活用したTAG蓄積や有用脂肪酸合成のキー遺伝子の同定、TAG蓄積や特殊脂肪酸の生産に異常を示す変異体の単離を行い栄養欠乏時の脂質生産機構解明を行う。

##### 実施内容・成果

藻類脂質蓄積のモデルとなる葉における脂質蓄積の機構解明に関しては、デンブリン合成変異体 *pgm1* で、特にリン欠乏時に顕著に脂質蓄積が起こることを明らかにした[23]。また、葉でリン欠乏時にTAGが顕著に蓄積することから、植物でTAGの合成の最終ステップに関わる diacylglycerol acyltransferase1(DGAT1), diacylglycerol acyltransferase1(DGAT2), phospholipid: diacylglycerol acyltransferase(PDAT)の3つの遺伝子(図1-1参照)のリン欠乏時における発現を調べたところ、これらの遺伝子はリン欠乏時に発現誘導されないことがわかった。そこで、葉のリン欠乏時に強く誘導される遺伝子のプロモーター領域をこれらの遺伝子と結合させ、リン欠乏特異的に発現誘導を行ったところ、3つの遺伝子すべてでリン欠乏時のTAG蓄積が顕著に増加した[23]。この成果は、すでに国際特許の出願を完了した(特許出願番号 PCT/JP2014/72296,イノベーションに寄与する顕著な成果3)。

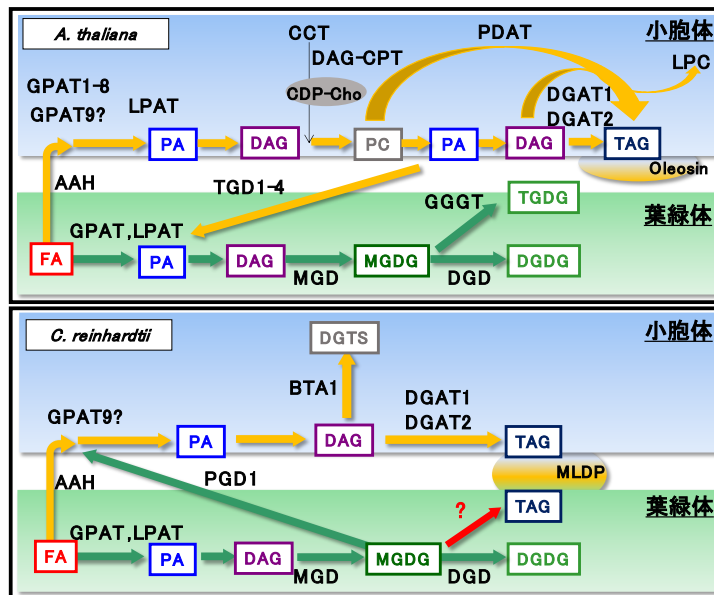


図 1-1. シロイヌナズナとクラミドモナスの脂質合成経路 AAH; acyl-ACP hydrolase, GPAT; glycerol-3phosphate acyltransferase, LPAT; lysophosphatidic acid acyltransferase, DGAT; diacylglycerol acyltransferase, PDAT; phospholipid acyltransferase,

植物葉での結果から油脂蓄積にリン欠乏条件が有用であることが分かったため、モデル藻類 *Chlamydomonas reinhardtii* でリン欠乏時における油脂蓄積を詳細に解析した。その結果、*C. reinhardtii* において世界中で広く研究されてきた窒素欠乏条件だけでなく、リン欠乏条件でも藻体を対数増殖期から栄養欠乏培地に移すことにより顕著に油脂蓄積が起こること、またその際、光合成をある程度維持しながら油脂蓄積を行うことが分かった[9](イノベーションに寄与する顕著な成果1)。そこで特にリン欠乏時の油脂蓄積の違いに着目し、それらの条件での次世代シーケンサーによる網羅的発現解析を *C. reinhardtii* で実施した。この解析はサブテーマ2の共発現データベースの構築にも活用した。本プロジェクトでもう一つのモデル藻類とした *Klebsormidium flaccidum* の基盤情報整備についてはサブテーマ2に示すが、モデル藻類 *K. flaccidum* の脂質合成経路について明らかにするとともに[37]、乾燥条件でTAGを顕著に蓄積することを見出し、論文化した[38]。TAG蓄積のモデルとしてゲノム情報が活用できると考えられる。

### 3.1.2 有用藻類共発現情報の取得(東京工業大学 太田 G)(サブテーマ6, 7)

本プロジェクトでドラフトゲノム解析を完了した *Klebsormidium flaccidum* について、通常培養条件と、油脂蓄積が起こる乾燥条件でRNAseqデータを取得した。また *Nannochloropsis* NIES-2145のRNAseqデータを用いた共発現解析から、*Nannochloropsis* のTAG蓄積に関わると期待される複数の遺伝子を同定した。それらの遺伝子については現在ノックアウトと過剰発現体の解析を推進している。

### 3.1.3 有用脂肪酸高生産系構築とバイオディーゼル生産技術基盤構築(東京工業大学 太田 G)(サブテーマ9)

研究実施方法

プログラムの開始時、瀧村・尾崎・萩原らのスクリーニング結果から、TAGの生産能が高く、特殊脂肪酸の高生産やバイオディーゼル高生産の基盤となる藻類の候補として *Nannochloropsis* N-2145を選抜した。サブテーマ9では、特に *Nannochloropsis* N-2145の脂質高生産性の評価と代謝系エンジニアリングに必須の情報となる主要脂質合成系の解明を進め、*Nannochloropsis* における脂質生産のキー酵素、マスター制御因子を同定するとともに、それらの知見をもとに脂質高生産系の構築を行った。さらに、他のサブテーマから得られた知見を統合し、それらの技術の融合からそれぞれの特殊脂肪酸、有用脂肪酸の合成に適した生産系の構築も行った。

黒川らと推進した *Nannochloropsis* NIES-2145ゲノム解析の結果から、NIES-2145株における脂質合成経路とそれに関わる主要酵素遺伝子を図1-6のように推定した。TAG生産において、グリセロール骨格への3つの脂肪酸の取り込みに直接関与すると考えられるGPAT, LPAT, DGAT1について、相同組換えによるノックアウト体作成と過剰発現体の作成によりその機能の解析を進めた。

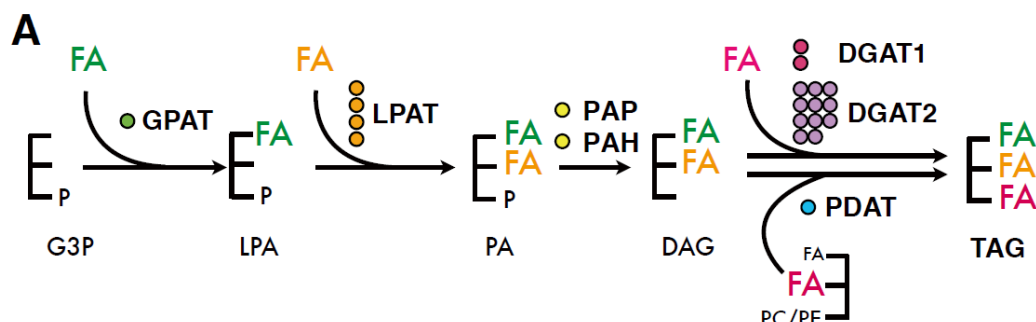


図1-6 *Nannochloropsis* N-2145で推定されるTAG合成経路

図のそれぞれの反応ステップに記した○印は *Nannochloropsis* N-2145のゲノム中にコードされているそれぞれの反応を担う酵素遺伝子の数を示す。

グリセロール骨格に1つ目の脂肪酸を導入する GPAT については、現在までのところ相同組換えによる遺伝子破壊株は取れていない。1 遺伝子であることから遺伝子破壊は致死になると考えている。また、最終ステップの主要酵素である DGAT1 については2 遺伝子存在するが、それぞれの相同組換えによる破壊株はTAG 蓄積には全く影響がなかった。遺伝子数の多いDGAT2などが協調的に機能している可能性が高いと考えている。

そこでTAG の合成経路を推定するため、遺伝子数が比較的少ないLPAT を中心に研究を進めた。それぞれの単一破壊株ではLPAT3 のみがTAG 含量の低下を示した。また、LPAT1 の破壊株は膜脂質に大きな影響がみられたことから、LPAT1 は膜脂質の合成に主に寄与していると考えられる。LPAT2,3,4 についてそれぞれの2 重変異体を作成したところすべての組み合わせでTAG 含量の顕著な低下がみられた。このことから、LPAT2,3,4 が協調的に TAG の合成に寄与していると推定される。

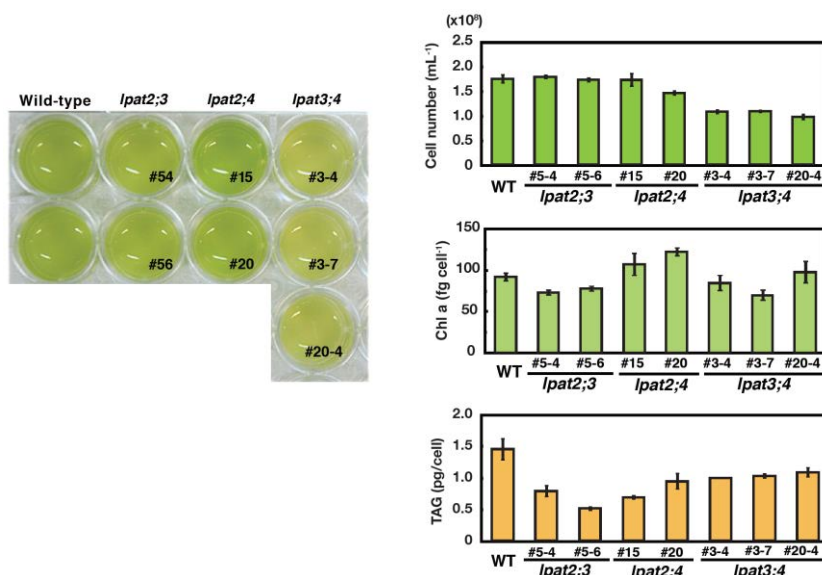


図 1-7 LPAT2, 3, 4 の 2 重変異体の表現型

左の図は細胞の生育の様子で、LPAT3,4 の 2 重変異体は生育にも影響がみられる。右図は、上から、細胞数、クロロフィル含量、TAG 含量を示す。これらの結果とTAG の脂肪酸組成の詳細な解析から、現在TAGの合成経路を以下のように考えている。

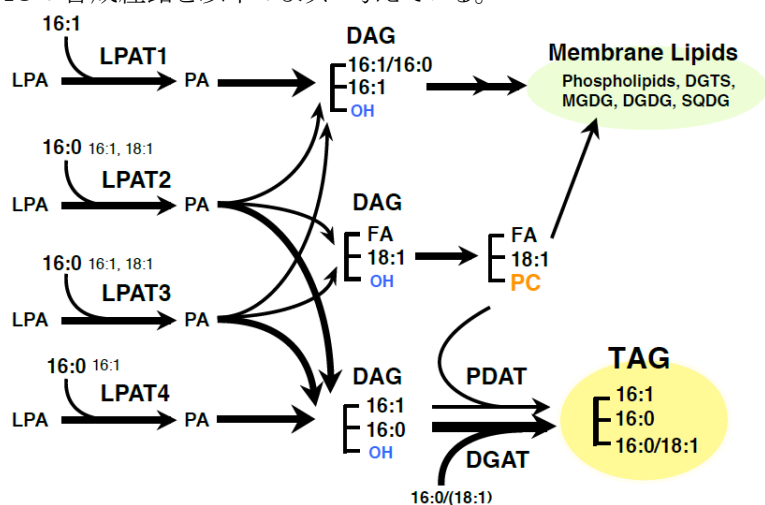


図 1-8 *Nannochloropsis* NIES-2145 で推定される TAG の合成経路

また、興味深いことに TAG 蓄積に大きな寄与をしている LPAT3, LPAT4 は、いずれも油滴表面上に局在していることが明らかになった。これは油滴に蓄積する脂質の合成が油滴膜上でも行われていることを示している。

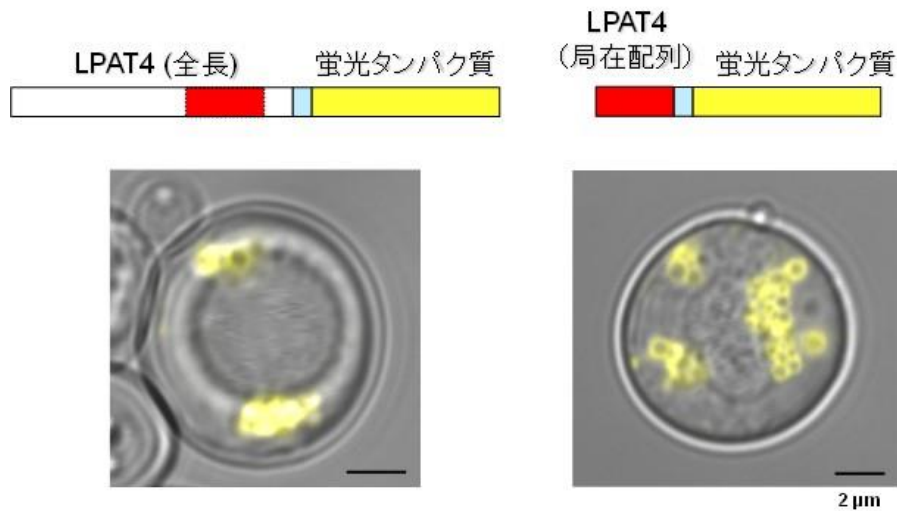


図 1-9 ナンノクロプシス LPAT4 の酵母での油滴表面への局在

以上の結果は、*Nannochloropsis* で油脂の増産と質的改変を目指すうえで、大きな基盤となる成果であり、最終年度に *Plant J* に採択され、結果を報告した[52]。

先に示したように *Nannochloropsis* での窒素欠乏条件とリン欠乏条件の比較(図 1-3)から、*Nannochloropsis* のリン欠乏下では光合成の場である葉緑体を維持したまま TAG を蓄積することを見出した。そこでクラミドモナスなどの藻類や植物がリン欠乏に適応する際に起こすリン脂質から糖脂質への膜脂質の転換が、クラミドモナスとは異なり二次共生藻に属する *Nannochloropsis* でも機能していると予測し、リン欠乏時の膜脂質の変動や膜脂質転換に関わる遺伝子の応答を調べた。その結果、*Nannochloropsis* でもリン欠乏時に糖脂質合成酵素遺伝子の発現が誘導され、リン脂質と糖脂質が置き換わることでリン欠乏に適応することを見出した。

図 1-10 の通常培養条件に示すように、リンを十分含む条件では葉緑体や細胞の膜脂質(図の MGDG や DGDG、PC など)が細胞に含まれる脂質の多くを占めるが、リン欠乏条件では TAG の含量が著しく増大する。また、リン欠乏条件では TAG の増大と同時に葉緑体の糖脂質の一つである SQDG が増加しており、別の実験から SQDG の合成にかかわる *SQD2* 遺伝子の発現が顕著に誘導されていることも分かった。そこで、その仕組みを活用して新規脂肪酸を合成させながら TAG 蓄積を増強するため、先の *Chlamydomonas reinhardtii* の研究で取得したリン欠乏条件下で発現上昇する *Chlamydomonas* SQDG 合成遺伝子 (*CrSQD2*) のプロモーター「pCrSQD2」と *Chlamydomonas* の TAG 合成酵素「CrDGTT4」の利用を試みた。pCrSQD2 と CrDGTT4 のセットを *Nannochloropsis* NIES2145 に導入したところ、遺伝子を導入した形質転換株では、CrDGTT4 遺伝子を導入していない比較対照株(コントロール株)と比べ、リン欠乏条件下での TAG 蓄積がさらに増加した(図 1-10 形質転換株参照)。また TAG 中の脂肪酸には CrDGTT4 が基質として好むオレイン酸 (C18:1) がコントロール株の約 2 倍含まれていた(図 1-11)。これらの結果は、二次共生藻として緑藻とは分類上も全く異なる油脂高生産藻ナンノクロプシスで、緑藻クラミドモナス由来のリン欠乏応答性プロモーターを用いることにより TAG 蓄積の増強と脂肪酸組成の改変ができることを示している[22]。

またこの結果は、リン欠乏条件に適応する仕組みそのものが種の異なる緑藻と二次共生藻の間で広く保存されていることを示しており、進化的な観点からも興味深い[22]。



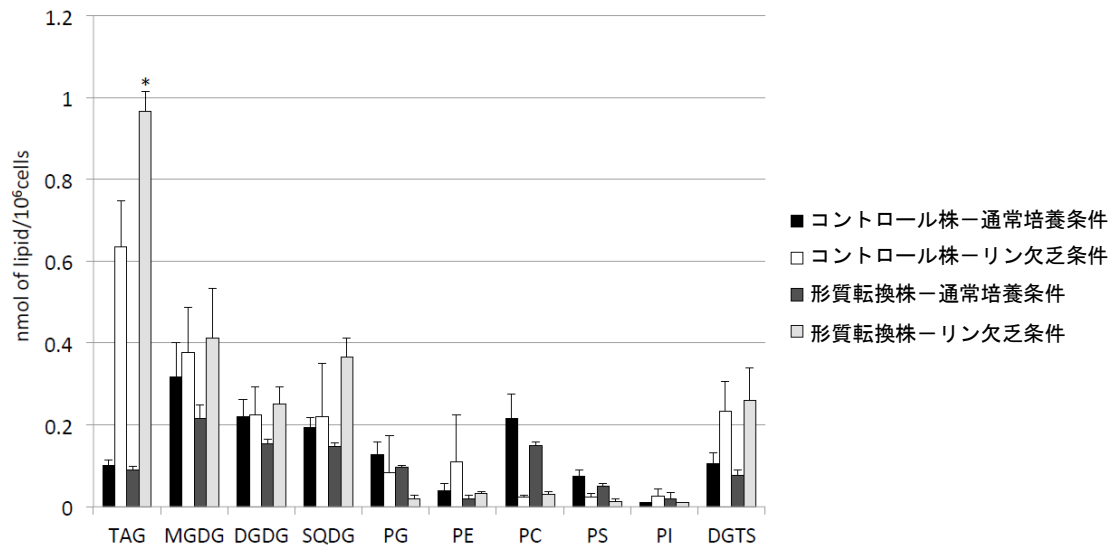


図 1-10. 細胞中に含まれる TAG と膜脂質の量 全て培養 4 日目。MGDG, DGDG, SQDG は葉緑体の膜に含まれる糖脂質。PG, PE, PC, PS, PI は葉緑体や細胞の膜に含まれるリン脂質。DGTS は藻類細胞の膜に特有のベタイン脂質。リン欠乏時に細胞中のリン脂質が減少し、TAG や SQDG、DGTS が増加する。特に TAG の増大が顕著で、形質転換株ではコントロール株に比べその増大がさらに強化されているのが判る。

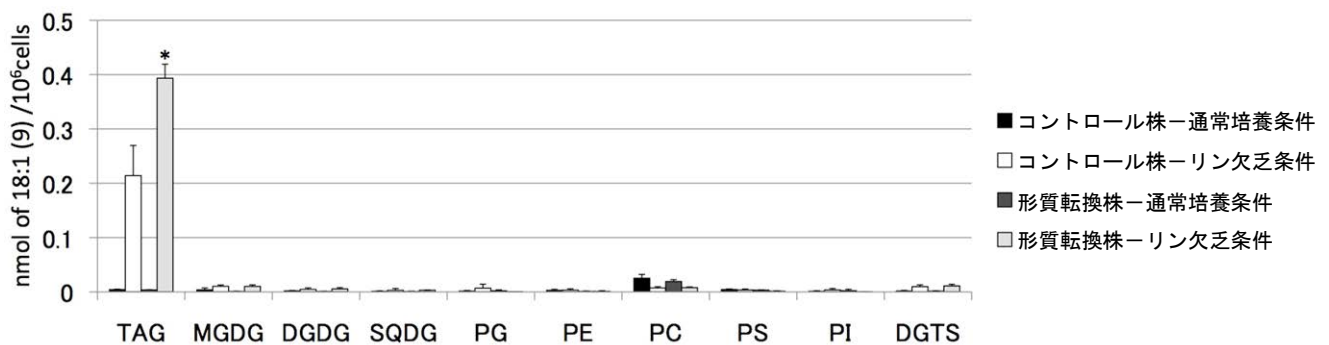


図 1-11. 形質転換株とコントロール株のそれぞれの脂質に含まれるオレイン酸 (C18:1) の量 (培養 4 日目)。オレイン酸は通常培養条件では細胞中にあまり見られないが、リン欠乏時に TAG に蓄積する。形質転換株のオレイン酸はコントロール株の更に 2 倍に増加した。

### 3.2 小胞体膜脂質合成と貯蔵脂質合成の分配機構解明 (埼玉大学 西田グループ) (サブテーマ3)

#### (1) 研究実施内容及び成果

西田グループでは、高等植物の油脂 (Triacylglycerol; TAG) 合成の場が小胞体であることに注目し、光合成生物としての共通点をもつモデル藻類 *Chlamydomonas* においても小胞体における油脂合成を活性化することにより油脂生産性を高めることを目標に研究を進めた。具体的には、*Chlamydomonas* における脂肪酸の小胞体膜脂質への取り込み機構および膜脂質 (PE および DGTS) から TAG への変換機構を明らかにすると共に、異種生物遺伝子を利用した PC→TAG 合成経路の新規構築を行い、TAG 合成機能の強化をはかった。また、モデル藻類で得られた知見を *Hibberdia magna* などの有用藻類にも応用し、TAG 合成の強化を目指した。

#### 1. 小胞体膜脂質合成と貯蔵脂質合成の分配機構解明

① *Chlamydomonas* ゲノムよりシロイナズナの ER 型グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼ遺伝子 (*GPAT*) のホモログ (以下、*CrGPAT* と命名) および出芽酵母の ER 型リゾホスファチ

ジン酸アシルトランスフェラーゼ遺伝子 (LPAAT) のホモログ (以下、*CrLPAAT*) を取得し、それぞれ対応する酵母及び大腸菌の変異株の相補性試験により機能を検討した。その結果、*CrLPAAT* は大腸菌の LPAAT 変異株 *plsC* の温度感受性を相補した。また、*CrLPAAT* 発現 *plsC* 菌の細胞破碎液を調製し LPAAT の酵素活性測定にも成功した。一方、酵母の GPAT 変異株を用いた変異相補実験により初めて *CrGPAT* の機能を証明することに成功した。

これまで、シロイヌナズナの小胞体型 GPAT をコードする *AtGPAT9* や、そのオルソログである *CrGPAT* について、その遺伝子産物の酵素活性の証明は成功した例が無かった。また、GPAT 変異株については、これまで異種生物 GPAT による相補が成功した例はほとんど無かったが、われわれの発見した方法は GPAT 変異株をもちいた異種生物の GPAT 研究に新たな道を拓くものである。

② 外来遺伝子が発現しやすい株とされる UVM 株を用いて PC 合成 *Chlamydomonas reinhardtii* 株の構築を試みた。シロイヌナズナの TAG 合成は PC を供給源としているため PC に特異的な TAG 合成系遺伝子を多く持つ。PC は MGDG などの糖脂質と異なり TAG の供給源として分解されても生育や光合成に影響を及ぼさないため、*Chlamydomonas* でも PC を合成できるようにすれば糖脂質を介さない TAG 合成が可能になり、油脂生産の増強が期待できる。そこで、PC 合成に関わる異種生物の各種遺伝子を *C. reinhardtii* に導入し、PC を介した TAG 増産株の作出を試みた。まず、根粒菌 *Sinorhizobium meliloti* 由来のホスファチジルコリン合成酵素 (PCS) およびホスホリピッドメチルトランスフェラーゼ (PLMT) を発現する *C. reinhardtii* UVM 株を作出し、その生育と脂質の解析を行った。その結果、PCS あるいは PLMT 導入株のいずれも、コントロール株に較べて生育が低下し、PC の蓄積は検出できなかった。

③ *C. asymmetrica* は *C. reinhardtii* の近縁種であるが、*C. reinhardtii* と異なり PC を蓄積することを本研究課題中で佐藤グループが発見した。そこで、*C. asymmetrica* における PC 代謝を改変し TAG 蓄積を促進することを試みた。脂質解析の結果、*C. asymmetrica* は、通常の培養条件でも定常期になると TAG を蓄積し、そのレベルは窒素あるいはリンを欠乏させた条件と同程度であることを見いだした。TAG の脂肪酸組成の検討から *C. asymmetrica* は *C. reinhardtii* と同様に葉緑体脂質を介した TAG の合成を行っていることが推定された。一方、これに較べてわずかではあるが ER 由来の脂質も TAG へ変換されていることが示唆された。次に、*C. asymmetrica* に葉緑体外の膜脂質である PC、PE を基質とする TAG 合成酵素であるシロイヌナズナの *AtPDAT1* を発現させることにより、葉緑体脂質を介さない TAG 合成経路の強化を試みた。まず、*C. asymmetrica* の形質転換法を新規に開発したのち、*C. reinhardtii* の翻訳コドンを参考にコドン改変した *AtPDAT1<sup>CR</sup>* を *C. asymmetrica* に導入した (以下、*AtPDAT1<sup>CR</sup>* 発現株と呼ぶ)。*AtPDAT1<sup>CR</sup>* 発現株は、定常期でコントロール株の 2 倍の TAG を蓄積したため、この手法を特許出願した (特願 2016-85912「藻類における油脂蓄積量の増加方法」出願人 国立大学法人埼玉大学、発明者 西田生郎・栗田朋和・山田達也・佐藤直樹 平成 28 年 4 月 22 日)。本手法の新規性は、*Chlamydomonas* でストレス処理を行うことなしに比較的少量の TAG を蓄積させることができる点にある。今後は、*C. asymmetrica* 以外の緑藻類での応用が期待される。佐藤グループは、PC 蓄積緑藻類の *C. debaryana* では通常条件の対数期に比較的少量の TAG を蓄積すると報告している[36]ので、このような株にもわれわれの開発した *AtPDAT1* 過剰発現法が TAG のさらなる増産に有効である可能性がある。

④ 相同組み換え阻害因子である KU protein を破壊すると相同組み換え効率が向上する例が主に菌類を用いた研究で報告されている (Ninomiya *et al.*、Mizutani *et al.*、Ishibashi *et al.*)。そこで、JST の H25 国際強化支援を受けて大韓民国・浦項工科大学の Youngsook Lee 教授と共同研究を行い、*C. reinhardtii* で *KU* 遺伝子破壊株を作成し、相同組換え効率の向上を検討した。*C. reinhardtii* CC400 株を用いて、その *KU80* 遺伝子の破壊に成功した (以下、*ku80* 株と呼ぶ)。しかし、*ku80* 株の相同組換え効率は、ほぼ CC400 株のものと同程度であった (非同相組み換え株の ~0.3%)。しかし、*ku80* 破壊株の作出効率が比較的高かったため、*C. reinhardtii* の DGTS 合成酵素遺伝子である *BTA1* の内在性のプロモーターを、アンモニア抑制性の硝酸還元酵素遺伝子 *NIT1* のプロモーターに相同組換えにより置換することを試み、組換え株の単離

に成功した。しかし、この組換え株ではアンモニアイオンの添加に応答した *BTAI* 遺伝子の発現抑制がおこらなかった。mRNA レベルの解析から、その原因として、*NITI* プロモーターへの置換だけでは *BTAI* の mRNA の安定性までは制御できない可能性や、*NITI* プロモーターに置換後も潜在的なプロモーター活性による転写が継続している可能性が考えられた。本研究は、これまでの研究例でもわずかに報告されている(Sodeinde *et al.*, Gumpel *et al.*, Plecenkova *et al.*)が、*C. reinhardtii* でも現実的に相同組換え株の取得が可能であることを示したが、遺伝子破壊による効果が見られなかったことから、生育に必須な遺伝子を破壊するにはさらなる工夫が必要であると思われる。Lee 教授との共同研究では、藻類における TAG 蓄積に関わる成果として2つの論文を出版した。[24,39]

Ninomiya *et al* (2004) *PNAS*, 101(46), 12248-12253, Ishibashi *et al* (2006) *PNAS*, 103(40), 14871-6, Mizutani *et al.*(2008)*Fungal Genet Biol* 45(6), 878-89, Sodeinde *et al*(1993), *PNAS*, 90, 9199-9203, Gumpel *et al*(1994), *Curr Genet* 26, 438-442, Plecenkova *et al*(2013), *Protist* 164 570-580.

## 2. 藻類における貯蔵脂質蓄積機構の解明と制御

オレオシン(OLE)は高等植物のオイルボディの安定化やサイズ制御に関わるオイルボディのコートタンパク質である。シロイヌナズナには、主に *OLE1*, *OLE2*, *OLE3*, *OLE4* の4つの遺伝子が知られている。一方、*Chlamydomonas* では major lipid droplet protein (MLDP) と呼ばれるタンパク質がオレオシン様のはたらきをして、lipid droplet (LD)を安定化とサイズ制御に関わることが知られている。ここで、OLE と MLDP はタンパク質の一次配列が全く異なるため、*Chlamydomonas* で OLE を発現させれば、MLDP による制御とは独立に LD の安定化やサイズ制御が可能になるのではないかと考えた。われわれは、シロイヌナズナの *OLE2* を *C. reinhardtii* の翻訳コドンで参考にしてコドン改変した *AtOLE2\** を合成し、*C. reinhardtii* で発現させたところ、コドン改変によって不完全なイントロンスプライシングモチーフが作成された結果、発現した *OLE2\** の一部がスプライシングを受け、*OLE2* の N 末端 54 アミノ酸残基からなるポリペプチド *OLE2N* が合成されることを見いだした。このとき、*OLE2N* をコードすると思われる転写産物レベルに相関して LD の蓄積が観察された(Nile red 染色法による)。そこで、*OLE2N* のみを発現させた *C. reinhardtii* を作出し、*OLE2N* 発現の TAG 蓄積に対する効果を評価した。その結果、*OLE2N* 発現株では、窒素欠乏条件から通常条件に戻した時に LD が安定化することを発見した。また、*OLE2N* の効果は、*OLE2* の全長のみを発現させた株では見られなかったため、*OLE2N* 発現法と *OLE2N* 配列を特許出願した(特願 2016-032608「藻類に貯蔵される油脂の蓄積量を増大させるペプチドおよびその使用」出願人 国立大学法人埼玉大学、発明者 西田生郎・栗田朋和・石塚高広 平成 28 年 2 月 24 日)。*Chlamydomonas* の MLDP は LD の分解に必要な因子をリクルートすると考えられているので(Tsai *et al*)、*OLE2N* の過剰発現は、LD から MLDP を効率よく排除した、あるいは、MLDP と分解酵素の相互作用を阻害した結果、LD の安定性が増加したと考えている。本研究において *OLE2N* 発現による LD の安定化が示されたが、*C. reinhardtii* に TAG 合成酵素と *OLE2N* を共発現させることにより、さらなる TAG 蓄積の強化が期待できると考えている。

## 3. 小胞体脂質合成の改変に基づく有用藻類貯蔵脂質の高生産化

*Hibberdia magna* は有用脂質であるドコサヘキサエン酸(DHA)を蓄積するのでそのドラフトゲノムを決定し、DHA 合成に関与する遺伝子群を同定することは重要である。この研究は、*H. magna* のゲノムおよび転写産物の抽出を西田グループが、配列解析を黒川グループが、アノテーションを太田グループが担当することとして計画した。しかし、入手した *H. magna* は藻体の純化が不完全で、多くのバクテリアを含んでいた。また、これらのバクテリアは各種抗生物質による除菌によっても除くことが困難で、結果的には *H. magna* の純化は不成功に終わった。以下に、われわれの実行した *H. magna* の純化実験をまとめ、今後の研究の参考にしたい。われわれの入手した *H. magna* を LB プレートで生育させると、外見上判別できる少なくとも3種のバクテリアが観察された。そこで抗生物質を用いた除菌を試みたが、カナマイシンやクロラムフェニコールなど



のタンパク合成阻害剤は、除菌に高い効果をみせたが、*H. magna* の生育にも強い阻害が見られた。そのため、細胞壁合成阻害剤であるアンピシリン(100・g ml<sup>-1</sup>)、カルベニシリン(250・g ml<sup>-1</sup>)、セフトキシム(250・g ml<sup>-1</sup>)を試した。セフトキシムは、最も有効で 1/1000 まで、除菌が可能であったが、長期のセフトキシム処理やセフトキシムを含む培地に継代培養を続けても完全にバクテリアを除去するに至らなかった。抗生物質以外の除菌方法としては、Ficoll 層を用いた物理的精製法も試みたが、完全に単離することはできなかった。また、*H. magna* とバクテリアが細胞表層で強固に結合している可能性を考え、SDS などの界面活性剤で処理してから Ficoll を用いた物理的精製法を試みたが、やはり完全にバクテリアを除去することはできなかった。精製を施すと *H. magna* が DYIII プレート培地上でシングルコロニーを形成しにくくなる一方、バクテリアの夾雑する場合はバクテリアのコロニーの周りにパッチを形成するなど、バクテリアとの共存は *H. magna* の生育にとって不可欠なのかも知れない。

## 日原サブグループ

日原サブグループでは、本来 TAG を生産しないシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 に他生物種の TAG 合成酵素遺伝子を導入し、培養条件を検討することにより、TAG 高生産系の確立を目指した。また、脂肪酸生合成関連遺伝子のリプレッサーとして働く転写因子を同定し、この転写因子を欠損させることにより、TAG の増産を目指した。これまでに *Synechocystis* sp. PCC 6803 に TAG を蓄積させたという原著論文は発表されておらず、本研究での成功は、*recJ* 遺伝子の破壊による可能性がある。

### 1. 脂肪酸生合成関連遺伝子の発現制御に関わる転写因子の単離

脂肪酸生合成の増強による TAG の高生産を目指し、脂肪酸生合成関連遺伝子(*fab*)の上流域に結合する転写因子の単離を試みた。ビオチン化した *fabI* および *acpP-fabF* 上流域配列をストレプトアビジンビーズに固定し、DNA アフィニティークロマトグラフィーの手法を用いて、*Synechocystis* sp. PCC 6803 の可溶性画分からこれらの上流域に結合する因子を精製したところ、両領域に結合するタンパク質として、約 27 kDa の LexA (Sl11626) が同定された。LexA 組換えタンパク質を大腸菌内で大量発現・精製し、DNA ゲルシフトアッセイを行うと、*fabD*、*fabG*、*acpP-fabF*、*fabH*、*fabI*、*fabZ* の *fab* 遺伝子群のみならず、アセチル CoA カルボキシラーゼをコードする *accC*、*accD*、アシル ACP 合成酵素をコードする *aas* 遺伝子の上流域にも LexA タンパク質の結合が検出されたことから、*Synechocystis* sp. PCC 6803 においては、LexA が脂肪酸代謝関連遺伝子の統一的な転写制御に関与することが強く示唆された。

LexA の脂肪酸合成への関与を調べるために、*lexA* 遺伝子破壊株を作製した。細胞内に存在する複数コピーのゲノムの全てで *lexA* 遺伝子が破壊された完全破壊株は得られなかったものの、LexA タンパク質の発現量が検出限界以下となった株を得ることができた。この *lexA* 株は、通常培養条件下で生育遅延、不均一な細胞サイズ、光合成色素含量の低下等の特徴的な表現型を示した。RNA-seq 解析を行ったところ、繊毛運動、適合溶質であるグルコシルグリセロールの蓄積、双方向性ヒドロゲナーゼ等に関連する遺伝子の発現が、*lexA* 破壊により大きな影響を受けていることが明らかになった。RNA-seq 解析では、野生株と *lexA* 株間で *fab* 遺伝子群の発現量の差異は明確に観察できなかったため、リアルタイム PCR により、さらに発現解析を行ったところ、通常培養条件下での *lexA* において、*fabD*、*fabH*、*fabF*、*fabG* の発現レベルが野生株より高いことが分かった。次に、細胞内の脂質組成に影響を与えることが広く知られている窒素欠乏条件とリン欠乏条件に着目して解析を行った。野生株の *fab* 遺伝子転写産物量は、窒素欠乏条件では通常培養条件に比べて減少するが、リン欠乏条件では、通常培養条件に比べて増加傾向を示した。*lexA* 株では、異なる栄養条件下での *fab* 遺伝子転写産物量の変動幅は野生株に比べて小さかった。以上の個別発現解析結果から、LexA は通常培養条件で脂肪酸伸長反応の初期段階にかかわる *fabD*、*fabH*、*fabF*、*fabG* に対してリプレッサーとして働くこと、そのリプレッサーとしての効果は窒素欠乏条件下で強まり、リン欠乏条件下で弱まる可能性が示唆された。*lexA* 遺伝子破壊が細胞内の総脂肪酸量に及ぼす影響を知るため、通常培養条件で脂質解析を行ったが、野生株と破壊株の間に有

意な差は観察されなかった。それに対して、脂肪酸を細胞外に放出する代謝改変を施した株において *lexA* を破壊した場合には、放出脂肪酸量の増加が観察された。これは、生成したアシル ACP によるフィードバック阻害が解除された結果と考えられる。今後、TAG 産生株において *lexA* を破壊し、TAG 蓄積量の増加に効果があるかを試したい。

### 3.3 藻類脂肪酸合成機構、特殊脂肪酸合成機構の解明(東京大 和田グループ) (サブテーマ4)

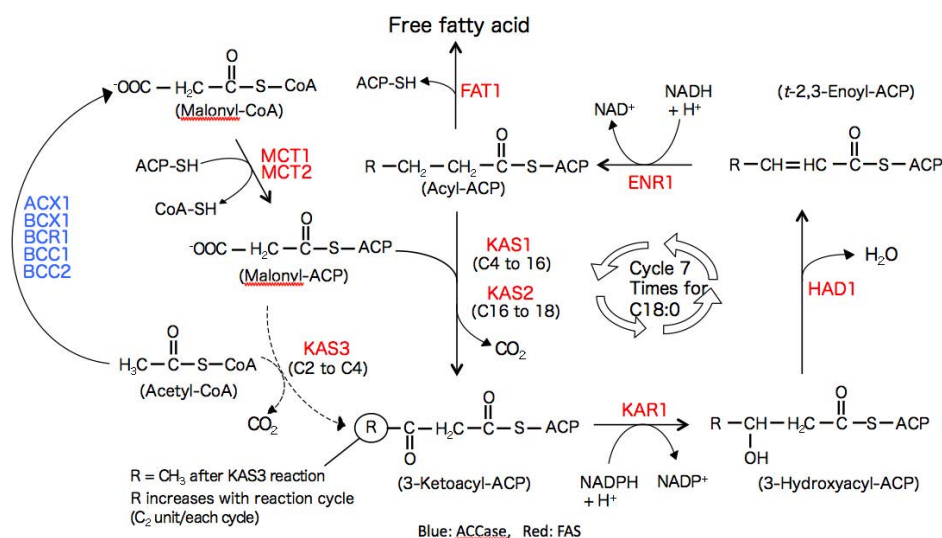
#### (1)研究実施内容及び成果

藻類有用脂肪酸を高生産するためには、藻類の脂肪酸合成機構を明らかにすると共に、脂肪酸の不飽和度や鎖長、修飾をコントロールしている不飽和化酵素や伸長酵素等の遺伝子を同定し、それらの遺伝子を用いた生産システムを構築する必要がある。本研究グループでは、藻類を用いた脂質生産システムを構築する上で必要不可欠な脂肪酸合成系に関する基盤情報を提供すると共に、さらにそれらの知見を活用して特殊脂肪酸の高生産に必要な技術基盤の構築を行った。

#### 1. モデル藻類脂肪酸合成機構の解明

##### (1) Chlamydomonas での脂肪酸合成経路およびその経路に関わる遺伝子

モデル藻類 *C. reinhardtii* に存在する脂肪酸の合成や分配に関わる遺伝子をゲノムから探索し、得られた遺伝子の情報をもとに脂肪酸合成の代謝経路を推定した。*C. reinhardtii* のゲノムには、アセチル-CoA カルボキシラーゼ (ACCase) の成分をコードした遺伝子が5個 (ACX1, BCX1, BCR1, BCC1, BCC2)、脂肪酸合成酵素 (FAS) の成分をコードした遺伝子が11個 (ACP1, ACP2, MCT1, MCT2, KAS1, KAS2, KAS3, KARI, HAD1, ENR1, FAT1) 見出された。これらの遺伝子の情報に基づいて、*C. reinhardtii* での脂肪酸合成は、**図 3-1** の経路でおこなうことを推定した。まず、アセチル-CoA が ACCase によってマロニル-CoA に変換され、次にマロニル基が MCT によってアシルキャリアータンパク質 (ACP) に転移してマロニル-ACP となる。合成されたマロニル-ACP は、アセチル-CoA と縮合して 3-ケトブチリル-ACP となり、還元、脱水、還元を経て C4 の脂肪酸が生じ、さらに反応のサイクルを繰り返すことで炭素鎖が2個ずつ伸長されて長鎖の脂肪酸が合成される。最終的にパルミトイル-ACP やステアロイル-ACP が合成され、葉緑体での脂質合成に利用される。また、合成された脂肪酸の一部はチオエステラーゼ (FAT1) の働きで ACP から切断されて遊離の脂肪酸となり、その後、アシル-CoA となってから小胞体に運ばれて脂質合成に利用される。



**図 3-1 クラミドモナスの脂肪酸合成経路**

青は Acetyl-CoA carboxylase (ACCase), 赤が脂肪酸合成酵素 (FAS)

(2) 脂肪酸の合成や分配に関わる遺伝子を過剰発現する *Chlamydomonas* と *Nannochloropsis* の形質転換体の作製

脂肪酸合成の活性化および TAG 合成への脂肪酸のフラックスを増加させるために、アセチル CoA カルボキシラーゼおよび脂肪酸合成酵素のコンポーネントをコードする遺伝子を過剰発現させる形質転換体の作製を進めた。各遺伝子について、プラスミドコンストラクトを作製し、*C. reinhardtii* に導入することで形質転換体を得た。しかし、得られた形質転換体において遺伝子の発現を qRT-PCR で確認したところ、遺伝子の過剰発現がおこっていないことが明らかとなった。遺伝子を発現するためのプロモーターを他のプロモーターに替えるなど、条件検討を行ったが、それでも遺伝子を過剰発現する形質転換体を得ることができなかった。そこで、*C. reinhardtii* の遺伝子発現を諦め、*Nannochloropsis* NIES-2145 において遺伝子を過剰発現させることにした。太田グループでは、この *Nannochloropsis* において *C. reinhardtii* の遺伝子を過剰に発現させることに成功しているため、プラスミドコンストラクトを作製して同グループと共同で、*Nannochloropsis* N-2145 に導入した。BCX1、FAT1、KASIII については形質転換体を得られ、導入した遺伝子が発現していることを qRT-PCR で確認した。現在、得られた形質転換体について、脂肪酸合成や TAG の合成能が増加しているかどうか調べている。また、*Nannochloropsis* N-2145 が本来もっている遺伝子やシアノバクテリアから得られた LPAAT 遺伝子 (有用脂肪酸高生産シアノバクテリアの探索および有用遺伝子の同定の項目に記載) を過剰発現させる形質転換体の作製も同様に進めている。

(3) リン脂質の合成に関わっている遺伝子の同定

藻類の葉緑体には、MGDG などの糖脂質の他に、リン脂質としてホスファチジルグリセロール (PG) が存在し、葉緑体で合成された脂肪酸の一部は PG の合成にも利用される。葉緑体で合成された脂肪酸を効率よく TAG の合成に振り分けるためには、PG などの合成に関わっている遺伝子の発現を抑える必要がある。しかし、藻類において PG の合成に関わっている遺伝子はまだ同定されていない。そこで、台湾の Academia Sinica の中村友輝博士と共同で、*C. reinhardtii* において PG の合成に関わっている遺伝子の同定を行った。PG はホスファチジン酸 (PA) から図2のような経路で合成される。PA はまず CDP-DG 合成酵素の働きで CDP-DG に変換され、その後、PG リン酸 (PGP) 合成酵素と PGP ホスファターゼの働きで PG に変換される。PG の合成に関わっている遺伝子を同定するために、まず、シアノバクテリアや植物ですでに同定されている PGP 合成酵素の遺伝子と相同性のあるものを *C. reinhardtii* のゲノムにおいて検索し、3つの候補遺伝子を見出した。これらのうちの2つの遺伝子 (PGP1 と PGP2) は、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の PGP 合成酵素遺伝子の破壊株を相補することから、PGP 合成酵素遺伝子であることが判明した。残りの1つの遺伝子は、*Synechocystis* sp. PCC 6803 の PGP 合成酵素遺伝子の破壊株を相補せず、酵母のカルジオリピン (CL) 合成酵素 (CLS) の遺伝子破壊株を相補することから、CLS 遺伝子であることが明らかとなった。また、PGP ホスファターゼの遺伝子も探索し、*C. reinhardtii* と高等植物の *Arabidopsis thaliana* から、それぞれ1つの候補遺伝子を見出した。それらの遺伝子を酵母の PGP ホスファターゼ (Gep4p) の遺伝子破壊株に導入すると、同株の表現型を相補することから、候補遺伝子が PGP ホスファターゼの遺伝子であることが明らかとなった。以上の遺伝子の同定に関する成果を、4つの論文にまとめて発表した[27,29,40,42]。

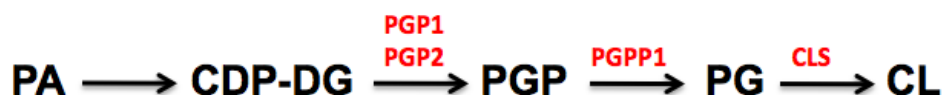


図 3-2 PG の合成経路

PG の合成は葉緑体だけでなく、ミトコンドリアでもおこり、ミトコンドリアで合成された PG は、CL の合成に利用される。本研究で同定した遺伝子にコードされた酵素を赤字で示した。

## 2. 特殊脂肪酸合成藻類の脂肪酸合成機構解明

### (1) ペラゴ藻 *Sarchinochrysis marina* のゲノム解析

ペラゴ藻の一種である *S. marina* は、有用な脂肪酸の一つであるドコサヘキサエン酸(DHA)を蓄積することが瀧村・尾崎・萩原グループの研究によって明らかになっている。また、我々のグループによる脂質分析の結果から、この株はDHAだけでなく、ドコサペンタエン酸(DPA)も蓄積することがわかった(表 3-1)。

表 3-1 ペラゴ藻 (*Sarchinochrysis marina*) に存在する各脂質の脂肪酸組成

Fatty Acid	MGDG	DGDG	SQDG	PG	PA	PE	DGTS	TAG	PI
14:0	6.0	7.7	2.6	10.5	7.5	5.0	7.3	3.1	15.0
16:0	17.6	53.0	56.2	42.5	46.9	61.6	32.3	28.8	53.3
16:1(9)	3.0	17.4	31.6	9.2	3.7	4.1	6.6	8.5	8.7
18:0	2.6	1.3	0.2	10.1	26.5	3.8	20.3	5.0	17.7
18:1(9)	0.6	1.0	0.3	3.4	2.4	0.9	3.6	1.0	2.3
18:1(11)	0.9	0.9	0.4	2.7	0.0	1.0	1.6	1.1	0.0
18:2(9,12)	0.9	0.7	0.3	5.6	1.8	3.8	0.5	1.7	0.0
18:3(6,9,12)	5.0	0.6	0.4	3.0	0.0	0.8	4.7	0.4	2.0
18:3(9,12,15)	13.7	11.8	5.6	6.3	0.0	5.4	2.5	8.4	1.0
18:4(6,9,12,15)	48.7	5.6	2.5	6.8	0.0	1.4	5.7	1.7	0.0
22:1(13)	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	6.0	0.0	4.2	0.0
22:5(7,10,13,16,19)	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7	1.2	9.7	21.7	0.0
22:6(4,7,10,13,16,19)	0.6	0.0	0.0	0.0	8.4	5.0	5.2	14.4	0.0

この藻類からDHAやDPAを含む有用脂肪酸の合成に関わっている遺伝子を同定するために、NBRC (Biological Resource Center, NITE)から入手して純化(バクテリアフリー)することのできたLB1720株について、細胞からゲノムDNAとRNAを調製し、新型シーケンサーGAIIxによるシーケンスデータの取得を行った。さらに太田グループおよび黒川グループと共同でシーケンスデータのアセンブリと遺伝子予測を行っており(黒川らの項参照)、有用脂肪酸の合成や脂質の合成に関わっている遺伝子群が同定され次第、それらの遺伝子を *Nannochloropsis* N-2145 に導入して有用脂肪酸を多量に生産するシステムの構築を行う。

### (2) 有用脂肪酸高生産シアノバクテリアの探索および有用遺伝子の同定

シアノバクテリアは、C16やC18の脂肪酸を主要な脂肪酸として含有することがよく知られているが、それらの脂肪酸よりも炭化水素鎖が短い中鎖脂肪酸を多量に蓄積するシアノバクテリアについての報告はほとんどない。中鎖脂肪酸はジェット燃料として注目されており、中鎖脂肪酸を多量に蓄積するシアノバクテリアが見つかり、そのゲノム情報から中鎖脂肪酸の蓄積に関わっている遺伝子を同定できれば、それらを藻類において発現させることで中鎖脂肪酸を大量に生産できるシステムを構築することができるものと期待される。そこで、すでにゲノムが解読されているシアノバクテリアについて脂質分析を行い、中鎖脂肪酸を多量に蓄積するシアノバクテリア株を探索したところ、3種のシアノバクテリア(*Synechococcus* sp. CC9311, *Synechococcus* sp. WH7803, *Cyanotheca* sp. PCC 8801)には全脂肪酸の約50%にもものぼる多量のミスチン酸(14:0)が含まれていることを発見した。また、ポジション分析の結果、ミスチン酸は各脂質のsn-2の位置に結合していることが明らかとなった。

これらの知見から、リゾホスファチジン酸(LPA)へ脂肪酸を転移するLPAアシルトランスフェラーゼ(LPAAT)がミスチン酸に対して特異性を持ち、そのためにミスチン酸が多量に蓄積するものと考えられた。このミスチン酸に対して特異性をもつLPAATの遺伝子を同定するために、*Cyanotheca* sp. PCC 8801のゲノムを検索したところ、5つの候補遺伝子が存在することがわかった。それらの遺伝子の中からミスチン酸に対して特異性をもつLPAATの遺伝子を選別するた



めに、*Synechocystis sp.* PCC 6803 の野生株および LPAAT 遺伝子の破壊株に候補遺伝子を導入したところ、1つの特定の遺伝子を導入したときのみ、ミスチン酸の含量が増加すること、そのミスチン酸は sn-2 のポジション位置に結合していることがわかった。これらの結果から、この遺伝子がミスチン酸に対して特異性をもつ LPAAT であることが判明した。海洋性のシアノバクテリアである *Synechococcus* WH8102 と *Synechococcus sp.* CC9311 についても、ゲノムを検索したところ、*Cyanotheca sp.* PCC 8801 の LPAAT 遺伝子と相同性のある遺伝子が1つずつ存在することが明らかとなった。これらの遺伝子についても *Synechocystis sp.* PCC 6803 の LPAAT 遺伝子破壊株に導入することで、当該遺伝子であることを確認した。さらに、同定した LPAAT 遺伝子を *Nannochloropsis* N-2145 に導入した形質転換体の作製を行い、得られた形質転換体について脂質分析を行うなど、ミスチン酸を多量に生産するシステムの構築も進めている。

### 3-4 有用藻類の網羅的ゲノム情報解析と比較ゲノムデータベースの構築(国立遺伝学研究所黒川グループ) (サブテーマ6)

#### (1)研究実施内容及び成果

##### 1. 有用藻類の網羅的ゲノム情報解析

有用藻類のドラフトゲノム配列を得るために、H23 年度に太田グループで導入した新型シーケンサー Illumina GAIx を活用し、対象とする藻類のゲノム解読および RNA-Seq 解析を太田グループと共同で実施し、ドラフトゲノム配列や全 RNA 情報等を取得する。得られたドラフトゲノム配列からは、遺伝子予測ソフトウェア Augustus により遺伝子予測をし、すでに公開されている他の近縁種とのゲノムレベルでの比較ゲノム解析を実施する。

これまで黒川らが構築してきた次世代シーケンサーデータの高効率解析パイプラインを活用し、太田グループと共同で *Klebsormidium* の完全ゲノム配列を構築するとともに発現解析も実施した[6]。さらに、*Nannochloropsis* N-2145 のドラフトレベルでのゲノム配列完成を目指してきた。*Nannochloropsis* においては、Scaffold 数が 145、Scaffold N50 値が約 560kb となり、ドラフトゲノム配列の完成とし、太田グループにデータを提供した。H25 年度からは、太田グループとともに遺伝子予測を完了し(8,357 遺伝子)、アノテーションおよび比較ゲノム解析、さらには RNA-Seq 解析を実施した[52]。さらに、H25 年度から *Sarcinochrysis marina* のゲノム解読も開始し、現在のところ Scaffold 数が 3,022、Scaffold N50 値が約 17kb となっており、継続してシーケンシングおよびアセンブリングを実施し、ドラフトゲノム配列完成を目指している。

##### 2. 藻類オミックスデータベース「AlgaenomeDB」の構築

完全ゲノム配列および遺伝子発現情報が得られた *Klebsormidium* を藻類データベース AlgaenomeDB の基盤データとし、他のゲノム配列と比較解析を実施する。具体的には、すでに公開されている他の藻類(Green Algae:11 種, *Rhodopyta*:2 種, *Cercozoa*:1 種, *Stramenpiles*:8 種, *Hacrobia*:2 種)や陸上植物(Land Plant:5 種)とゲノムレベルで相互に比較し、オーソログ遺伝子解析から得られた結果をデータ間リンクとして、全データを統合化したデータベースを構築する。

藻類オミックスデータを統合したデータベースシステム「AlgaenomeDB (<http://evolve.bio.titech.ac.jp/>)」を構築した。現在、AlgaenomeDB には、Genome Portal と Phytozome.10(ともに JGI)、Oracae(VIB)、本プロジェクトでゲノム解析を行った *Klebsormidium flaccidum* 及び *Nannochloropsis* のゲノムデータを含む計 26 種の真核藻類のゲノムデータを収録している。また、陸上植物を含めた 15 生物種の全てのタンパク質のアミノ酸配列を相互に相同性検索し、OrthoMCL にてオーソロググループを構築し比較ゲノムデータベースの基盤とした。このオーソロググループは、大林グループが構築している「ALCOdb」データベースにも提供し、両データベース間で ID を共有することで連携を可能としている。

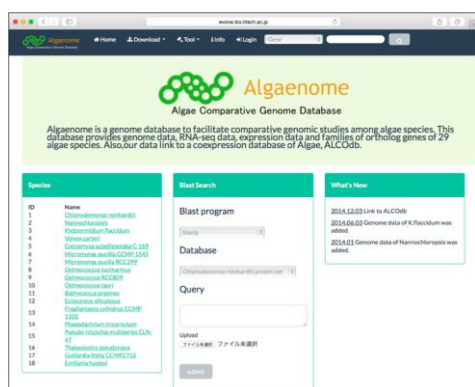
発現データは、NCBI SRA (Sequence Read Archive)より藻類 16 種の RNA-seq の配列データ(SRR)と XML 形式により記述されたそのメタデータ(SraExperimentPackage.xml)を取得した。取得したメタデータから、配列データ、サンプル、スタディ、プロジェクトに関するデータを抽出し、それらの記述及び関連論文より培養時間、培地条件、栄養条件などの実験条件のメタデータを

整理した。特に研究の進んでいる *Chlamydomonas reinhardtii* においては、22 プロジェクト、28 Strains、315 サンプルの RNA-Seq データを取得し、これらサンプルにおける環境条件を徹底的に抽出し(表 4-1)、RNA-Seq データに紐付けて AlgaenomeDB に収録した。

表 4-1. AlgaenomeDB に収録されたクラミドモナスの RNA-Seq データのメタデータ

Light intensity	dark / light
Concentration of Chemical Compound	deprivation (O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> , S, N, Cu, Fe)
Chemical Shock	hydrogen peroxide
Cell type	gametes / zygotes / vegetative
Biological Event	Deflagellation
Mutant	wild type / mutant

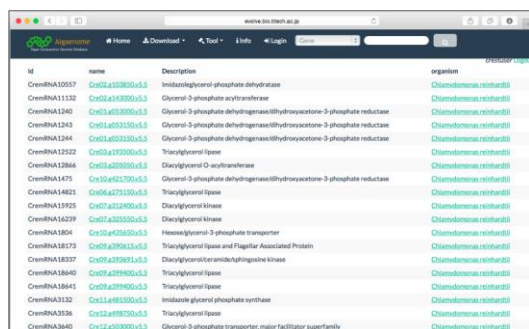
クラミドモナスの RNA-seq の配列データを SRR 毎に、DNA 配列に対して tophat2.0.13 を用いてマッピングを行った。tophat によるマッピング結果をインプットデータ、既知のアノテーションファイルをリファレンスデータとして、Cufflinks v.2.2.1 を用いて遺伝子毎の発現量である FPKM 値を得た。Cufflinks パッケージの Cuffdiff プログラムを用いて、同一生物種のマッピングデータの全組合せに対して、発現変動遺伝子を検出した。同様の発現情報解析を RNA-seq データを取得できたクラミドモナス以外の生物種に対しても行い、すべての解析結果を AlgaenomeDB に格納した。これらゲノム情報および RNA-Seq 情報はウェブブラウザ上にて JBrowse を通して閲覧でき、遺伝子による検索や複数のサンプル間の比較解析も可能である(図 4-1)。



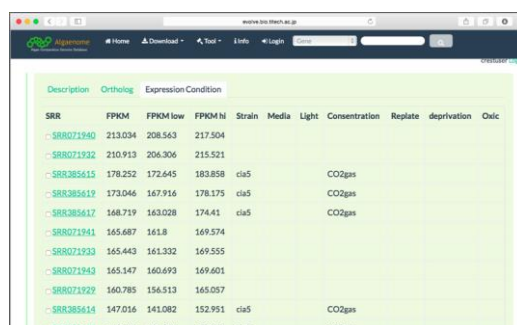
1. AlgaenomeDB のトップ画面



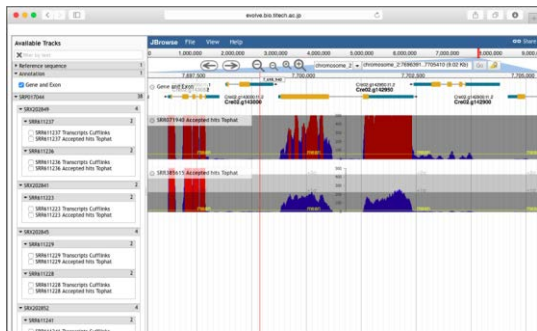
2. *C. reinhardtii* ゲノムの情報提供画面



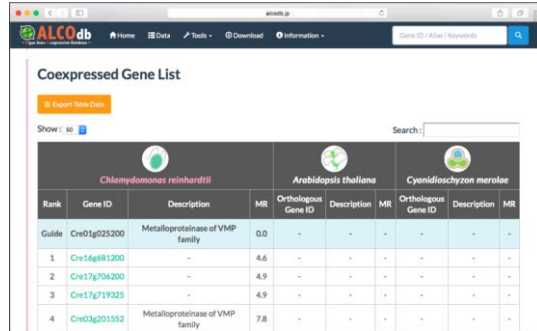
3. 遺伝子名等による検索



4. RNA-Seq 情報閲覧



5. JBrowse による発現プロファイル



6. ALCOdb へのリンク

図 4-1. DB システム「AlgaenomeDB (<http://evolve.bio.titech.ac.jp/>)」の概要

黒川らは、H23 年度から開始した JST NBDC 統合化プロジェクトにて、微生物のゲノム・メタゲノムデータを核とした統合データベース「MicrobeDB.jp」の開発に世界で初めて成功した。本統合データベースはセマンティックウェブ技術を徹底的に利用する事で、多様なデータをシームレスにリンクし、横断的な検索のみならず、統計的解析や比較解析なども可能とするシステムとなっている。ここで培われた技術を、本課題にも応用すべく、H26 年度から Algaenome のセマンティックウェブデータベース化を計画し、平成 28 年前期には必要となるオントロジーおよび RDF モデルの開発が完了した。現在、データベース間を統合するために、オーソログ遺伝子群の再計算を実施しており、完了次第、収録している全データを RDF 化し、トリプルストアに実装する予定である。

### 3.5 微細藻類共発現データベース（東北大学 大林グループ）(サブテーマ2, 7)

#### (1) 研究実施内容及び成果

微細藻類における代謝工学を進める上で、標的とするパスウェイを形成する酵素遺伝子や制御遺伝子の同定が必須となる。そこで高等植物において遺伝子機能予測、パスウェイ予測で広く利用されている遺伝子共発現法を、モデル微細藻類を軸に、有用微細藻類でも利用できるように整備した。多くの有用藻類では、ゲノムワイドな遺伝子発現情報や遺伝子機能アノテーションが整備されていないため、それを前提とした遺伝子共発現法は適用できない。そのため、トランスクリプトームデータのみから共発現解析を行うスキームを開発し、それに基づく微細藻類比較共発現データベースを構築、公開した。

#### 3.5.1 微細藻類共発現データの構築

表 5-1 に示すデータを用いて微細藻類の遺伝子共発現データを構築した。モデル植物で広く利用されている共発現データが、大方 1000 サンプル以上から構築されていることと比較すると、小サンプルでの共発現利用となる。

表 5-1 : 遺伝子共発現データ構築に用いたデータセットの概要

生物種	トランスクリプトームデータ			ゲノムデータ	
	手法	データソース	サンプル数	有効遺伝子数	
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	RNAseq	太田チーム SRA*1	180	15519	JGI v5.5*3
<i>Nannochloropsis</i>	RNAseq	SRA*1	68	8145	太田チーム
<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	microarray	NCBI GEO*2	48	6506	<i>C. merolae</i> Genome Project*4

\*1: [<http://trace.ddbj.nig.ac.jp/dra/>]. \*2: [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>]. \*3: [<http://genome.jgi.doe.gov/>]. \*4: [<http://merolae.biol.s.u-tokyo.ac.jp/>].

RNAseq を用いた遺伝子共発現データの構築の例はなかったため、すでにマイクロアレイで高精度な共発現データが利用できたモデル植物を用いて、RNAseq に基づく遺伝子共発現法の

条件検討を行ったところ、遺伝子発現量の分布を実験内で揃える正規化が最も効果的であり、十分なサンプル数がある場合には RNAseq からでもマイクロアレイからでも、ほぼ同じ遺伝子間関係を導出することができた。一方で非モデル生物である有用藻類の場合には、マイクロアレイがあっても目的に応じたカスタムデザインであり、同一のプラットフォームを多くの研究者が利用する構図になっていない。そのため、少なくとも当 CREST 研究の後半には、解析対象遺伝子数の観点からも、サンプル数の観点からも、マイクロアレイより RNAseq が共発現解析に適したプラットフォームになった。

### 3. 5. 2 微細藻類に適用可能な遺伝子共発現データ品質評価法の確立

「遺伝子共発現データ」を「細胞機能から見た遺伝子の類似性情報」として利用するにあたり、計算で得られた遺伝子共発現データの遺伝子機能予測力を見積もる必要がある。一般に遺伝子共発現データの質は、遺伝子発現データの正確さ、量とバリエーションに依存するため、予測力の高い(正確な)遺伝子共発現データを得るためには、大量の実験サンプルを、均一で高精度な技術を用いて収集された遺伝子発現データが必要になる。ところが、非モデル生物種ではそのような条件は整わないため、計算で得られた遺伝子共発現データを各々評価することで、各共発現データの持つ情報量に見合った利用を行うことになる。我々の開発している植物の共発現データベース ATTED-II (<http://atted.jp>)の場合においても、**表 5-2** に示す通り、計算に用いるサンプル数と、遺伝子機能との無矛盾性と示す「GO スコア」(高い方が良い)が相関していることがわかる。

**表 5-2 : 植物の共発現データの品質評価**

生物種	共発現データ		遺伝子機能に基づく評価			代替評価
	バージョン	サンプル数	有効GOターム数 <sup>*1</sup>	評価遺伝子数 <sup>*2</sup>	GOスコア	コドンスコア
シロイヌナズナ	Ath-m.c5-0	11171	2785	3410	7.3	4.0
シロイヌナズナ	Ath-m.c4-1	1388	2950	3613	6.0	2.5
シロイヌナズナ	Ath-r.c1-0	328	2950	4058	4.9	2.6
イネ	Osa-m.c3-0	1214	679	203	3.7	2.4
イネ	Osa-m.c2-0	310	690	193	3.6	2.2

\*1: GOスコアを計算に用いた情報量の高いGOターム数。20遺伝子以下に付いているGOタームのみを用いている。  
\*2: GOスコアの計算に用いた遺伝子数。有効GOタームを1つ以上持つ遺伝子。

ところが遺伝子オントロジー(Gene Ontology: GO)による機能アノテーションの付与の傾向は生物種ごとに異なる。シロイヌナズナとイネを比較すると、情報量の高い GO タームの数(GO の階層の深さと相関している)はシロイヌナズナの方が多い(**表 5-2**)。評価遺伝子数が 200 あれば、遺伝子ペアは 40000 になるため、安定した評価が可能であるが、多くの有用生物における遺伝子機能アノテーションは、量も質も極めて制限されたものになる。そのため、遺伝子機能アノテーションを用いた共発現の評価はできない。

そこで、非モデル生物における遺伝子共発現の評価法の開発を行った。有用生物の共発現解析においては、トランスクリプトームデータは必ずある(そうでないと共発現解析はできない)が、ゲノム情報まで利用できるとは限らない。確実に利用できるデータは、遺伝子の配列(トランスクリプトームデータのみからでも de novo アセンブルを行うことができる)となる。すなわち、遺伝子配列の情報を用いて遺伝子共発現を評価することができれば、あらゆる有用生物について、共発現データ自体の良し悪しはあれども、その共発現データが持つ情報量にあった利用が可能になる。検討を進めた結果、各々の遺伝子が発現する組織や時期とその遺伝子のコドン使用頻度には関係があり、特に発現量の高い遺伝子について、コドン使用頻度ベクトルを遺伝子発現パターンの代わりに利用できることを見出した。そこで、遺伝子共発現データと各遺伝子のコドン使用頻度の無矛盾性を評価した「コドンスコア」(高い方が良い)を遺伝子共発現の品質評価として利用するスキームを確立した。**表 5-2** のコドンスコアは、大方、GO スコアと相関していることがわかる。この傾向は酵母や動物の共発現データでも確認できたため、微細藻類の共発現データにおいても、コドンスコアは共発現の品質を反映していると判断できる。



コドンスコアを用いた、緑藻クラミドモナスと紅藻シアニディオシゾンの共発現データの品質を図 5-1 に示す。クラミドモナスは多くの高等植物の共発現データと同等の品質であり、十分に研究用途に耐える事が示された。一方でシアニディオシゾンについては現状では部分的な活用にとどめておいた方が良いと判断できる。また、この共発現精度を用いて、複数の近縁種を統合したメタ生物種の共発現の導出も可能になった。また、サンプル数が同数の場合には、RNAseqに基づく共発現は、マイクロアレイによる共発現と比較して共発現の品質が良いことが判明した。

同じ実験サンプル群から計算された共発現遺伝子データであっても、発現量の低い遺伝子の発現パターンは、発現量の高い遺伝子の発現パターンよりも、正確性に欠ける。また発現量以外にもCG含量のような配列要素によっても発現量の計測値は影響を受ける。そのため、共発現情報は、遺伝子データ全体だけでなく、遺伝子ペアごとにも異なることになる。遺伝子ペアごとの共発現度の信頼性は、共発現関係の種間保存度で判断できる。すなわち、生物種を超えて共発現関係が支持されれば、遺伝子発現データの不確実性に起因するテクニカルアーティファクトを排除でき、さらに進化的に保存している安定な共発現関係を検出しやすくなる。ところが、現状の微細藻類においては、近縁で高品質の共発現データとの比較は難しい。そこで、再び個々の共発現遺伝子リストの再現性(信頼性)を他の共発現データと比較することなく見積もる必要がある。検討を進めた結果、共発現遺伝子ネットワークの中心性が各共発現遺伝子リストの信頼性の代替として用いることができることを見出した。

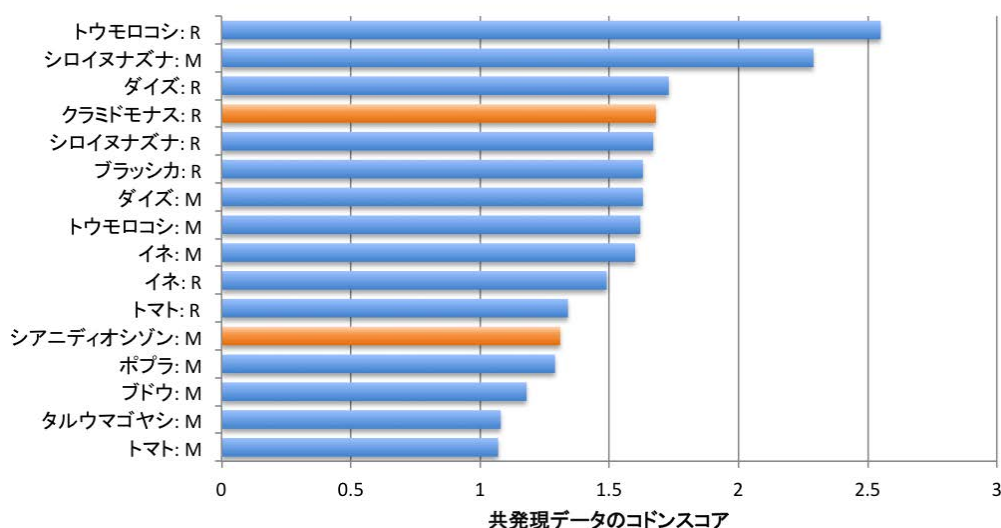


図 5-1 : 微細藻類共発現データのコードンスコア (赤)。比較のため、高等植物共発現データのコードンスコア (青) と共に示した。R は RNAseq に基づく共発現データ。M はマイクロアレイに基づく共発現データである。

### 3. 5. 3 微細藻類比較共発現データベース ALCOdb の構築

クラミドモナス、シアニディアシゾンならびにナンノクロロプシスの共発現データにより、微細藻類共発現データベースALCOdb (<http://alcoodb.jp>) を構築した(図 5-2A)。特にクラミドモナスの共発現の信頼性が高いことから(図 5-1)、クラミドモナスで遺伝子を絞り込み、他の微細藻類に展開する解析フローを構築した。構築においては、まずクラミドモナスの遺伝子発現データを手動で構造化し、個々の実験条件における発現変動遺伝子群の検出を可能にした (DEG Finder)。検出した個々の遺伝子についてモデル植物のシロイヌナズナと比較しながら共発現遺伝子を吟味し(図 5-2B)、あるいは検出した遺伝子群をまとめてネットワークの描画を行う(図 5-2C: Network Analyzer)。共発現モジュールの解釈を行うために各遺伝子の発現パターンの表示(図 5-2D: Expression Profiler)もできるようになっている。全ての共発現データはリスト形式、ネットワーク形式で解析できる他、二次利用のための一括ダウンロードも可能であるほか、関連データと

してラン藻版の遺伝子共発現情報の提供も行っている(ALCOdb cyano, <http://alcoodb.jp/cyano/>)。

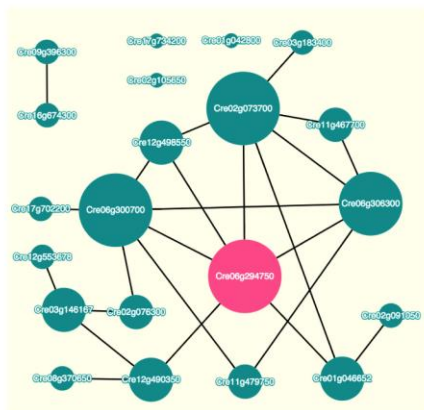
(A)



(B)

Chlamydomonas reinhardtii		A. thaliana		C. merolae					
Rank	Gene ID	Description	MR	Orthologous Gene ID	Description	MR	Orthologous Gene ID	Description	MR
Guide	Cre01g294750	Chlorophyll synthetase [ATh; UbaA, prenyltransferase family protein]	0.0	At3g51820	UbaA prenyltransferase family protein	0.0	CM1220C	Chlorophyll a synthase	0.0
1	Cre02g073700	Uroporphyrinogen decarboxylase [ATh; Uroporphyrinogen decarboxylase]	1.0	-	-	-	-	-	-
2	Cre12g498550	Magnesium protoporphyrin IX methyltransferase [ATh; magnesium protoporphyrin IX methyltransferase]	2.0	At3g52060	magnesium protoporphyrin IX methyltransferase	107.8	CM1038C	Mg protoporphyrin IX methyltransferase	4443.0
3	Cre12g499350	1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl 4-diphosphate synthase [ATh; 4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate synthase]	3.0	At3g60000	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate synthase	353.7	CM1294C	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate synthase	1678.1
4	Cre01g046650	[ATh; Nucleic acid-binding, OB-fold like protein]	3.7	At3g59980	Nucleic acid-binding, OB-fold like protein	497.1	-	-	-
5	Cre01g300700	[ATh; NAD(P) <sub>+</sub> binding Rossmann-fold superfamily protein]	3.9	-	-	-	CM1033C	hypothetical protein, conserved	2647.1

(C)



(D)



図 5-2: 微細藻類共発現データベース ALCOdb [45] (A)トップページ。(B)オーソログ関係で種間を比較する共発現遺伝子リスト。(C)可変閾値の遺伝子ネットワーク描画ツール Network Analyzer。(D)遺伝子発現情報表示ツール Expression Profiler。

### 3. 6. 1 モデル藻類脂質代謝フローの解析(東京大学 佐藤グループ)(サブテーマ8)

#### (1)研究実施内容及び成果

モデル藻類として、紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* と *Chlamydomonas reinhardtii* を選び、これらについて、ゲノム情報に基づく脂質代謝系の推定(研究項目2)と並行し、脂質の詳細な分析、窒素飢餓等の条件下における脂質蓄積の量的・質的な解析を行った。さらに代謝フローを解析するために、安定同位体 <sup>13</sup>C を用いる細胞標識方法、脂質の分析方法、データ解析方法の開発を行った。これらに先立って、光合成によって脂質をつくるということはどういうことなのかということについての理論的考察を行った。

#### (a) 光合成による脂質生産に関する理論的考察

バイオ燃料関連の研究では、ただ単にオイルができればよいかの研究も多い。特に、微生物を糖を使って培養しながら、脂質をつくらせるというタイプの研究が行われている。確かに糖よりも油脂の方が利用しやすいであろうが、エネルギー効率を考えると、とてもありえない話である。やはりこのバイオ燃料プロジェクトの本質は、太陽光をいかに効率よく利用して、油脂などの人類が利用できる資源を生産することである。光合成の場合、光エネルギーによって強力な還元剤を生成できるので、これを上手に炭素の還元にあてればよい。

このような基本的考察は、二冊の著書[1,4]としても、また、論文[1]および解説[3]としても公表した。特に2013年の解説では、藻類によるバイオ燃料の生産における理論的な考察を易しく説明し、太陽光によってエタノールをつくるのが最も効率がよいこと、糖から脂質に変換する

のはエネルギー的に無駄が多いことなどを指摘した(表 6-1)。

本研究では、こうした考察に基づき、藻類を光独立栄養条件下で培養することを基本とした。クラミドモナスではアンモニアを用いる場合もあるが、アンモニアはすでに還元された物質であるとの考えから、硝酸イオンを用いた。このため、一般に野生型として用いられている CC125 などの硝酸還元能力のない株(*nit<sup>-</sup>*)ではなく、CC1010 という本来の野生型を実験に用いることとした。ただし、もう一つのモデル藻類である *Cyanidioschyzon merolae* の場合には、もともとイオウ泉から得られたということもあり、硫酸アンモニウムを含む培地で、光独立栄養的に培養することとした。

表 6-1 いろいろな物質を光合成により合成する際のコストと得られるエネルギー数字は、それぞれの物質の炭素 1 モルあたりの値である。

物質	所要 ATP モル	所要 NAD(P)H モル	燃焼熱 MJ	コスト比 モル ATP / MJ
エタノール	3.5	3.0	0.690	18.1
デンプン	3.16	2.0	0.459	20.3
油脂	3.89	2.86	0.578	21.6

なお、コスト比は、1モルの NAD(P)H を3モルの ATP とみなして計算した。これは、好氣的呼吸の呼吸鎖での変換効率に基づく。油脂は、炭素 18 個からなる飽和脂肪酸であるステアリン酸を3個結合したものとして計算したが、不飽和脂肪酸を含む場合には、コスト比がもう少し悪くなる。エタノールを光合成によって直接合成することは、通常はできない。また、エタノールの場合、嫌気発酵条件に関して、NADH と ATP の換算をする意味はないので、あくまでも、参考数値である(解説[3]を一部修正)。

#### (b) モデル藻類 *Chlamydomonas reinhardtii* に関する脂質蓄積の研究

通称クラミドモナスと呼ばれる標記藻類については、1980 年代における佐藤の研究によって、脂質成分の概要が明らかにされていたが、脂質蓄積実験を本格的に行うにあたって、さらに厳密な脂質・脂肪酸組成を確定し、ゲノム情報と対応させておくことが、重要と考えられた。本研究開始時において、すでに多くの応用的研究も行われていたが、どれも物質を厳密に同定するという基本的な手続きを踏まないまま、見かけの脂質蓄積を現象論として最適化しようとするものであった。本プロジェクトは、こうした表面的な応用研究に走らずに、しっかりと基礎を築きながら、脂質蓄積の研究を進めるという正統派の研究方針をとることが認められているとの認識から、すべての脂質成分の構造を確定することからスタートすることとした。植物脂質の基本的な分析法は、やはり1980年代に佐藤が確立した方法(蛋白質核酸酵素別冊 30 巻 163-170, 1987 年など)が広く用いられているが、これをさらに改良することも進めた。

#### (b-1) 構造解析

クラミドモナスのような単細胞藻類は、脂質を抽出する際に溶媒がすぐに浸み込むため、特に熱処理などをする必要はない。近年では機器分析が発達し、液体クロマトグラフィー(HPLC)による一斉分析が用いられることも増えてきたが、伝統的な、脂質クラスを分画してから、分子種を同定することのメリットは変わらない。逆相カラムを用いた HPLC を使ってすべての分子種を質量分析により同定・定量するという手法では、同じ脂質クラスの分子種が多数のピークとして分布してしまう。異なる脂質クラスのさまざまな分子種が重なりあっている状況で、質量数の差を見分けて、重なったピークを定量していくのである。ところが、本研究のように安定同位体による標識を行う場合には、標識によって生じたさらにさまざまな質量数のピークが重なってくるため、このような手法を用いることはできない。こうした考えから、あえて旧来の手法である薄層クロマトグラフィー(TLC)を利用して脂質クラスを分離することとした。すでに開発した二次元 TLC において、溶媒系を工夫することにより、クラミドモナスの全脂質クラスを一度に分析できるようにした。検出されたスポットは、吸着剤に結合したまま、HCl/メタノールによるトランスエステル化反応に供することができ、生成した脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーによって分析することで、比較

的簡便に、すべての脂質の定量と脂肪酸組成を求めることができる。今回、こうして検出される脂質クラスのすべてについて、あらたに MALDI-TOF-MS(マトリクス支援レーザー脱離イオン化法—飛行時間型質量分析計)を用いて、クラスの同定を再確認した。また、脂肪酸に関しては、上記のようにして得られるメチルエステルと、それから生成されるピロリジン誘導体、さらに、オスミウム酸による二重結合の酸化の後にトリメチルシリル化(TMS 化)することによって、すべての脂肪酸の構造を、GC-MS(ガスクロマトグラフ・質量分析計)により、すべての脂肪酸の二重結合位置を厳密に決め直した。このようにして、現在の技術でできる「決定版」の脂質成分リストを確定した。この結果は論文として公表した[18]。

これに基づき、脂肪酸の種類と不飽和化・鎖延長の経路などをまとめた(図 6-1)。

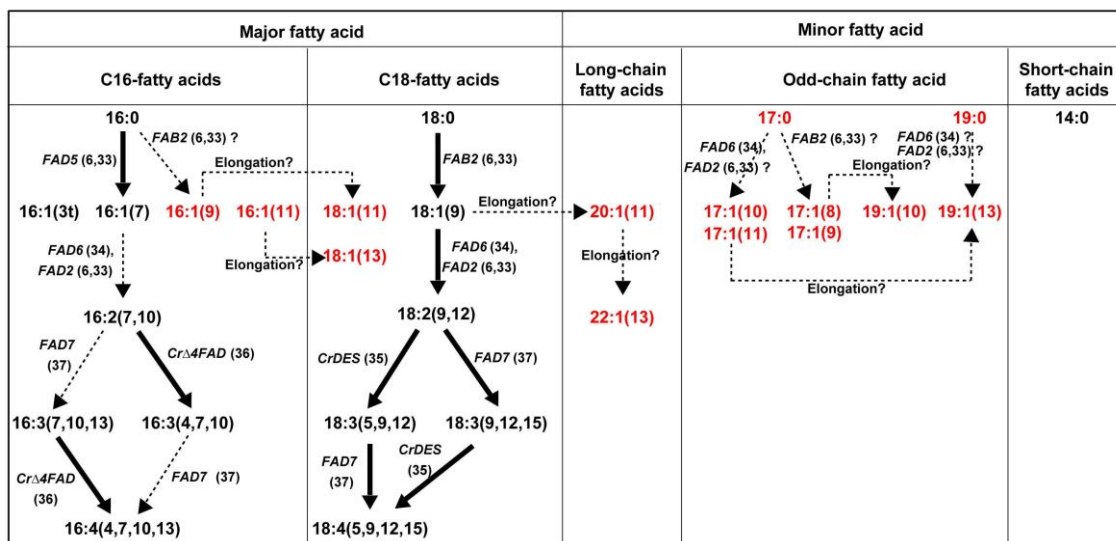


図 6-1 *Chlamydomonas reinhardtii* (CC1010)に含まれるすべての脂肪酸の種類と、推定される合成経路。後に[47]で判明したように、18:4(6, 9, 12, 15)は存在しないので、この修正を加えてある。[18]

#### (b-2) 窒素源欠乏と二酸化炭素供給による脂質蓄積の解析

本研究開始時点で、クラミドモナス(*nit1*変異をもつ株)を酢酸塩を含む培地(TAP培地)で育てた場合、窒素源をなくすとトリアシルグリセロール(TAG)が蓄積することが知られていた。しかし、本当の意味で光独立栄養条件での実験は行われていなかった。そこで、硝酸塩を窒素源として、二酸化炭素を供給しながら光独立栄養的に培養し、その後、硝酸塩を含まない培地に入れ替えて培養を続けた。その結果、約一日で光合成活性は大きく減少したがゼロにはならず、低い値を維持した。蛍光顕微鏡観察の結果、TAG蓄積は約4.5日目から顕著になった。5.5日目において、TAGは総脂質の57%を占めるまでに至った。TAGには、通常、葉緑体の脂質であるMGDGに含まれる16:4や18:3(9,12,15)も、また、小胞体脂質であるDGTSに含まれる18:3(5,9,12)や、PIに含まれる18:1(11)なども含まれていた。これらの結果から、TAGの合成には、窒素飢餓処理以前に存在していた葉緑体や小胞体の脂質を分解して得られる脂肪酸が利用されることがわかった。従来の研究では、葉緑体脂質の寄与が強調されていたが、必ずしもそれだけではないことがわかった。

炭素源として供給する二酸化炭素の濃度を変えた場合、通常培地では、確かに二酸化炭素濃度を5%に上げると、蓄積されるTAGの含量が約5%まで増加した。しかし、窒素飢餓条件では、二酸化炭素を増やすと、かえってTAG蓄積量は減少した(図 6-2)。脂肪酸の新規合成が高まることにより、TAGを作らなくなると考えられる。



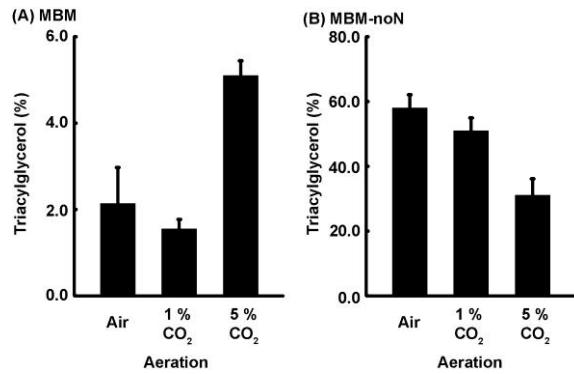


図 6-2 二酸化炭素濃度と TAG 蓄積量の関係

(b-3) 電子顕微鏡による脂質顆粒の観察

本研究開始時には、クラミドモナスの脂質顆粒が細胞質の他、葉緑体にも存在するという論文があったため、電子顕微鏡観察により、光独立栄養条件下で蓄積する脂質顆粒の局在を確認した。その結果、蓄積した脂質顆粒はすべて、細胞質内に存在し、これまで提唱されているような葉緑体内での蓄積は全く見られなかった。デンプン粒が多量にたまった葉緑体に囲まれた脂質顆粒はあるが、葉緑体包膜の位置をよく見ると、デンプン粒は葉緑体内部、脂質顆粒は葉緑体の外と、はっきりと分かれていることがわかった(図 6-3)。これに基づいて考えると、TAG 合成はすべて ER で行われていると考えてよいと思われる。

Oil body and chloroplast envelope in CC1010 cells grown on MBM-noN in 1% CO<sub>2</sub>

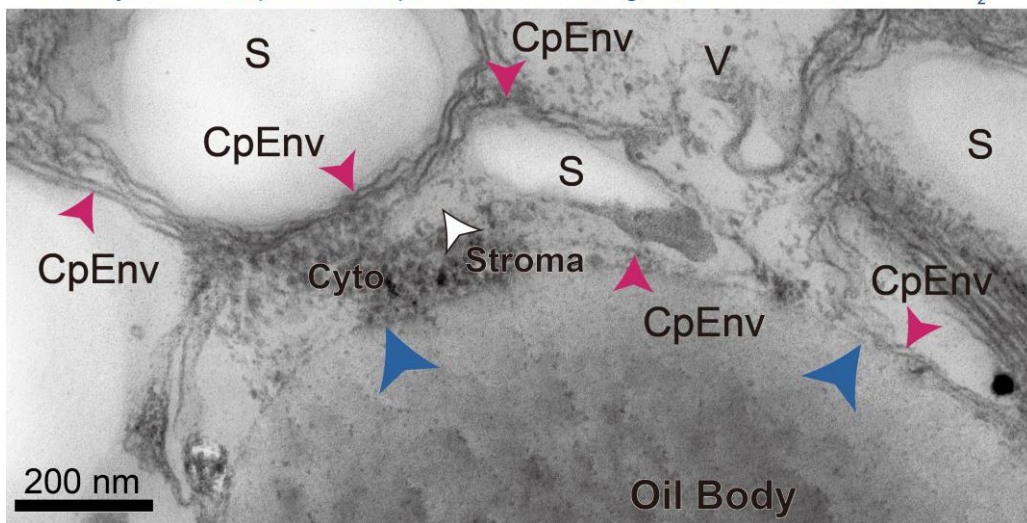


図 6-3 脂質顆粒とそれを囲むデンプン粒との関係を示す電子顕微鏡像

葉緑体包膜(CpEnv)をたどっていくと、脂質顆粒(Lipid Body)は葉緑体の外に、デンプン粒(S)は葉緑体の内部に存在する。Vは液胞、Cytoは細胞質、Stromaは葉緑体ストロマ。

(b-4) ホスファチジルコリンを含む近縁種の探索

PCをもつクラミドモナスの発見

西田グループの研究にもあるように、通常の植物であれば、ホスファチジルコリン(PC)がTAG合成の重要な前駆体となっている。ところが通常のクラミドモナス *C. reinhardtii*にはPCがないことが知られている。これは佐藤が1980年代に明らかにしていたことである。しかしクラミドモナスにはPDAT(リン脂質からDAGに脂肪酸を転移する酵素)が存在する。これまで、この酵素はリン脂質ではなくDGTSを基質としていたと考えられていた。

西田グループでは外来のPC合成系遺伝子を導入して、クラミドモナスにPCを作らせ、それによるTAG合成促進効果を調べようとしていた。しかし別の考えとしては、クラミドモナス属に

は元来 PC があり、それが進化の過程で、いくつかの系統で失われたとも考えられた。PC をもともと保持する株を用いれば、このような実験もうまくいくと考えられた。それを実証するため、国立環境研究所にある約 70 のクラミドモナス属の保存株のうちで、さまざまな系統に属する細菌が含まれていないと思われる 13 株について、脂質組成の分析を行い、PC をもつ株を 4 種発見した。これにより、従来クラミドモナスでの機能がわからなかった PDAT の存在理由が明確になった。これについては、[19]として発表した。

PC を保持している株は、*Chlamydonomas asymmetrica* NIES-2207, *C. sphaeroides* NIES-2242, *C. applanata* NIES-2202, *C. debaryana* NIES-2212 である。これら 4 株のゲノム情報については、項目 2 で述べる。ここでは、これらの株の脂質組成と脂質代謝系について述べる。発表論文が分散しているため、脂質組成だけはここでまとめておく。これら 4 株と *C. reinhardtii* は、基本的な脂質クラスの組成に関して、PC の有無を除くと大きな違いはなかった。しかし脂肪酸組成に関しては明確に違いが見られ、18:3 脂肪酸の二重結合位置が 5,9,12 のものと、6,9,12 のものがあつた(図 6-4)。通常のクラミドモナスは前者である。これを系統樹にマッピングすると、明確な系統特異性が判明した(図 6-5)。すなわち、18:3(5,9,12)は、*C. reinhardtii* に近い特定のクレードにのみ検出され、それ以外の藻類は調べた限りすべて 18:3(6,9,12)をもっていた。なお、通常の  $\alpha$  リノレン酸である 18:3(9,12,15)は、調べたすべての株に存在していた。

Mass spectral comparison of  $\Delta 5$ ,  $\Delta 6$  and  $\Delta 9$  isomers of 18:3Me

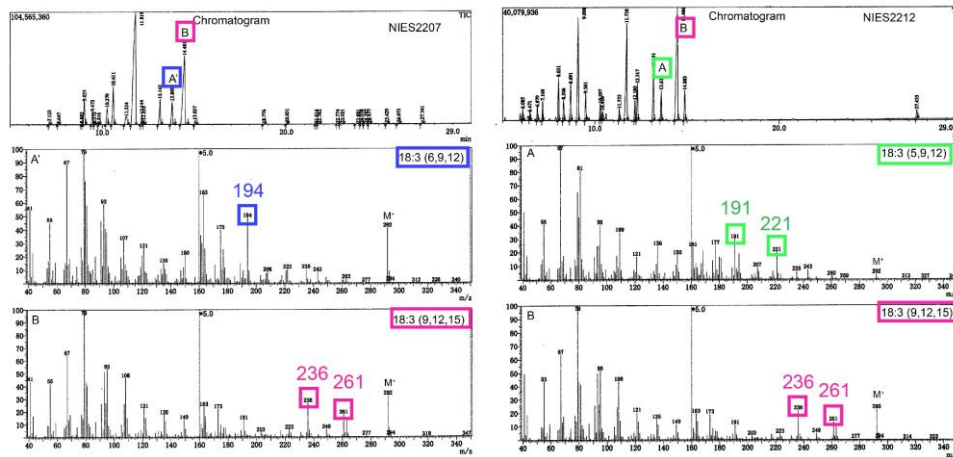


図 6-4 18:3 脂肪酸の二重結合位置の GC-MS による解析 [19]

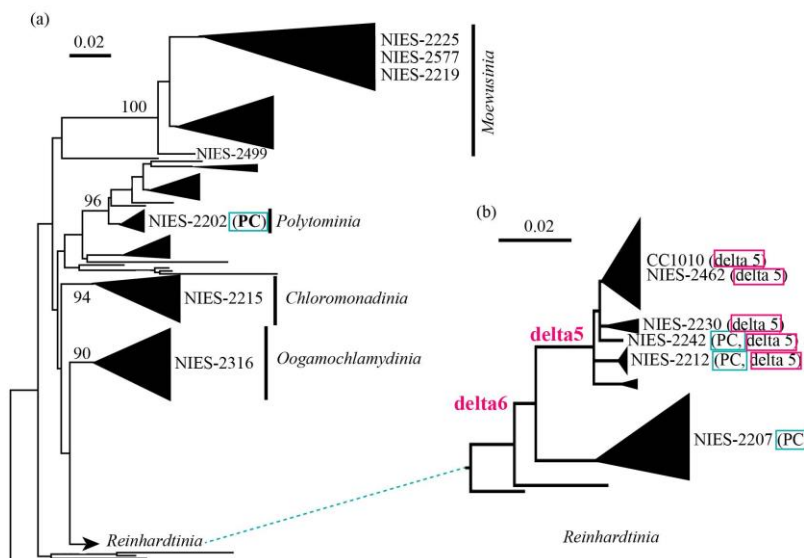


図 6-5 クラミドモナス属の系統と PC, 18:3 脂肪酸の種類の関係 [19]

### *C. asymmetrica* NIES-2207 と *C. sphaeroides* NIES-2242 における脂質代謝経路の解析

この2株を用いて、15分間の  $^{32}\text{P}$  ラベルとチェースの実験を行った。ホスファチジルグリセロール(PG), ホスファチジリエタノールアミン(PE), ホスファチジルイノシトール(PI)へのラベルの取り込みは、15分間でも検出されたが、PC への取り込みは極めて低かった。その後チェースとともに PC へのラベルが増加した。その際、NIES-2207 株では、2時間でも顕著に PC がラベルされたのに対し、NIES-2242 株では、PC へのラベルは24時間にわたり、徐々に増加した。これらの結果は、PC の合成経路が両者で異なることを示唆しており、項目2の解析で得られたゲノム情報もこれを支持している(図 6-6)。なお、NIES-2207 株を用いた TAG 蓄積実験については、西田グループにおいて行った。

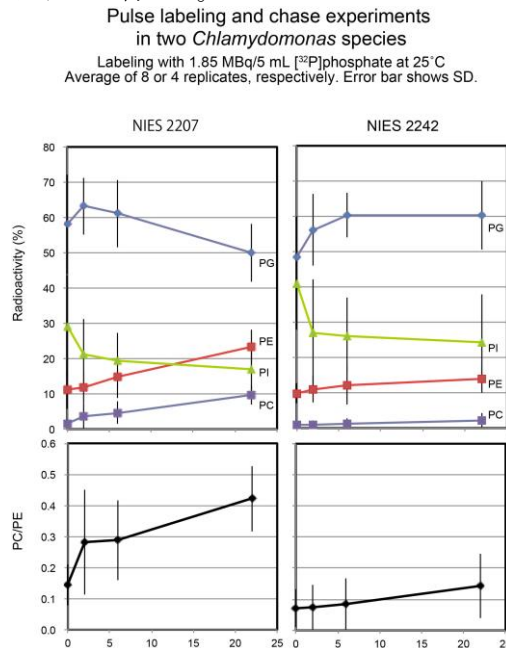


図 6-6 クラミドモナス属の2つの株における、リン脂質のラベル実験 上はそれぞれの脂質クラスへの  $^{32}\text{P}$  の取り込み量(リン脂質全体を 100%とする), 下は PC と PE のラベル量の比率を示す。定常状態での PC/PE の比は、NIES-2207 が 0.65, NIES-2242 が 0.23 であった。[47]

### PC をもつクラミドモナスにおける PC 合成系の同定

ゲノム解析の結果から、NIES-2202 と NIES-2207 はホスホエタノールアミン・メチルトランスフェラーゼ(PEAMT)をもつことが推定された。また PC をもつ4株とも、ホスファチジリエタノールアミン・メチルトランスフェラーゼ(PEMT)をもつことが推定された。まず、PEAMT に関しては、細胞破碎液を用いて酵素活性を測定した結果、上記2株において、活性が検出された。また、両株から PEAMT をコードすると思われる cDNA を単離し、大腸菌で発現して、酵素を得た。得られた酵素は PEAMT 活性を示した。不思議なことに、NIES-2207 株の酵素は、途中に余分な挿入配列を含んでいた。この配列はイントロンではなく、この配列を含む酵素を大腸菌で発現した場合にも、酵素活性が検出された。

つぎに PEMT についても同定を行った。ゲノム配列中から既知の PEMT 配列と相同なドメインを同定し、それに基づいて cDNA の単離を進めているが、完了していない。図 6-8 には推定されるドメインの部分を用いた系統樹を示す。植物の姉妹群になるので、おそらくもとと緑藻がもっている酵素であり、これが垂直伝達により植物にも分布するようになったものと思われる。酵素活性を直接調べることは難しかったが、NIES-2202 株がもつ PEMT の cDNA を通常のクラミドモナスに導入することにより、もともと PC をもたなかった細胞が PC をもつようになることがわかった。このため、この酵素が確かに PC 合成酵素として機能していることが確かめられた。



ML tree of phosphatidyl-(N-methyl- ?)ethanolamine  
N-methyltransferases

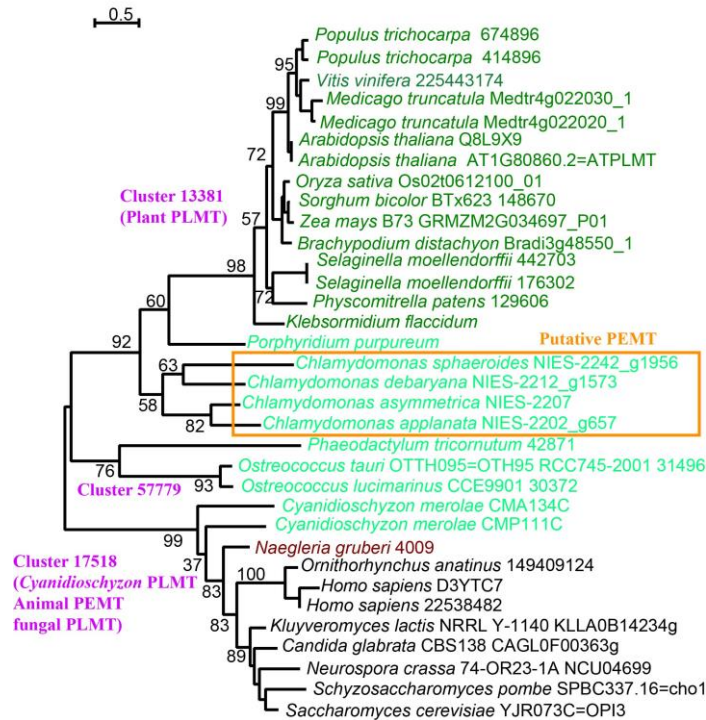


図 6-8 推定 PEMT の系統樹 部分配列に基づく共通ドメインを用いて、最尤法で計算した。

以上の実験により、PCをもつことがわかった4株がPEMTをもつこと、そのうちの2株はさらにPEAMTをもつことがわかった。NIES-2207株についての西田グループの研究結果からわかるように、PCを含むことによってTAG生産が高くなるとすれば、これらの遺伝子は、今後、さらにTAG含量を高めることにも利用できると思われる。

(b-6) クラミドモナスにおける脂質合成を制御する新規転写因子の発見

論文[33]は、京大福澤研との共同研究で、クラミドモナスの栄養飢餓とTAG蓄積との間をつなぐ転写因子TAR1を発見した。これについては、主に京大の業績で、こちらは分析の手伝いをした程度であるので、このことを記すにとどめる。

(c) モデル藻類 *Cyanidioschyzon merolae* に関する脂質蓄積の研究

紅藻におけるTAG蓄積の研究は、本研究のテーマである脂質代謝系のデータベース構築とセットになっている。紅藻と緑藻は代表的な一次共生生物として、光合成生物進化の最初に分かれたが、それぞれに独自の代謝系を維持している。有用藻類の多くが褐藻・珪藻など、二次共生生物であり、それらが紅藻由来の葉緑体をもつことから、モデル紅藻の研究が重要である。モデル藻類 *Cyanidioschyzon merolae* は、ゲノムサイズが16.5 Mbpとクラミドモナスなどに比べてずっと小さく、我々を含む紅藻ゲノムグループの研究によって、2004年に光合成真核生物としては2番目にゲノム解読が完成したものである。宮城島チームはこの藻類を重点的に研究しているが、以前から緊密な共同研究関係を保ってきており、今回も、山口大学の三角修己氏から、デンブンの染色法などに関する協力を得た。しかし、宮城島チームは基本的に細胞生物学者の集まりなので、脂質成分に関する詳細な解析をすることは難しい。

むしろこれに関しては、佐藤グループがもっとも得意とするところであり、すでに2007年にも脂質分析と代謝解析の論文を発表している(Sato and Moriyama (2007) Eukaryot. Cell)ので、



今回は、特に微量脂質成分の完全な分析と TAG 合成に関連した点を中心として、実験を行った。脂肪酸として、18:1 や 18:2 などが検出されたが、18:3 などの多価不飽和脂肪酸は検出されなかった。この点は、ゲノム解析の結果と一致する。さらに、18:1(11)がほとんど検出されないことも特徴で、クラミドモナスでは PI に多量の 18:1(11)が含まれることを考えると、緑藻では脂質結合型の特殊な 11-不飽和化酵素が存在することが推定された。このシス-バクセン酸は、通常の食品にはあまりなく、藻類由来の油脂を食品に利用する場合には、留意すべき点である。この発見は同時に、緑藻において、PI (ホスファチジルイノシトール)が細胞内で、特異な代謝を行っていることを伺わせる。

また、PC 合成に関しても、クラミドモナスと異なり、*C. merolae*は酵母と類似した経路でPC合成を行うと推定された。これについても、詳細な解析を行うこととした。特に、2007年の炭素ラベルの実験とは異なり、リン酸ラベル実験により、PCの極性基部分と脂肪酸部分の代謝がまったく異なること、このことが、TAG合成において、脂肪酸供給系としてのPCの役割につながることなどを考察することとした。

#### (c-1) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における脂肪酸合成の解析

脂質代謝データベースの構築によって、*C. merolae*の脂質合成系の概要が推定された。これに基づき、単離葉緑体を用いた<sup>14</sup>Cラベル実験を行った。トレーサーとして、酢酸と炭酸水素ナトリウムの両方を用いた。酢酸は効率よく脂肪酸に取り込まれ、これは光に依存していた。合成された脂肪酸は14:0, 16:0, 18:0であり、不飽和脂肪酸は合成されなかった。このことは、この紅藻の葉緑体内に脂肪酸不飽和化酵素が存在しないことと一致する。また、生成される脂肪酸の大部分が遊離脂肪酸として存在し、複合脂質に取り込まれなかったことは、以前の研究で、ERで不飽和化されてできる18:2と葉緑体内でつくられる16:0が同時に供給されることによって、葉緑体での脂質合成ができるという結果とも矛盾しない。

炭酸水素ナトリウムからのラベルは、主に糖脂質の糖、グリセリン部分に取り込まれた。SQDGのスルフォキノボース部分にもきわめて効率よく取り込みがあり、このことは、この紅藻では、SQDGの合成がすべて葉緑体内で進行することを示している。また、MGDG, DGDGの糖部分にもラベルが入り、このことは植物とは異なり、紅藻では、UDGグルコースのエピマー化反応が葉緑体内でも起きることを示唆しているが、さらに検討が必要である。

#### (c-2) *C. merolae* における PC 合成系の解析

論文[46]では、PCをもつ4種のクラミドモナス属と並行して *C. merolae*のPC合成系も、トレーサー実験により調べた。リン酸ラベルのPCへの取り込みは、PEに比べて著しく遅かった(図6-9)。これは、計算機シミュレーションからも、PEのメチル化のみによるPCの合成と考えて矛盾のない結果であった(図6-10,6-11)。さらに、放射性PEを細胞に取り込ませる実験でも、PCへのラベルの移行が観察され、確かにPEメチル化経路が働いていることが確認された。

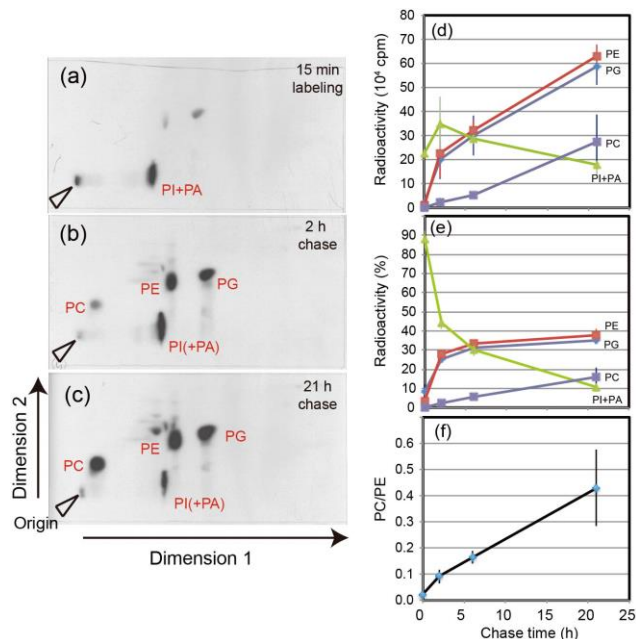


図 6-9 *C. merolae*における $[^{32}\text{P}]$ リン酸の取り込み実験

細胞に 15 分間、放射性リン酸を取り込ませた後、細胞を洗って、通常の培養条件で培養を続けた。(a)~(c)は二次元 TLC のオートラジオグラフィー、(d)は取り込みの絶対量、(e)は相対値、(f)は PC/PE のラベルの比率を示す。[46]

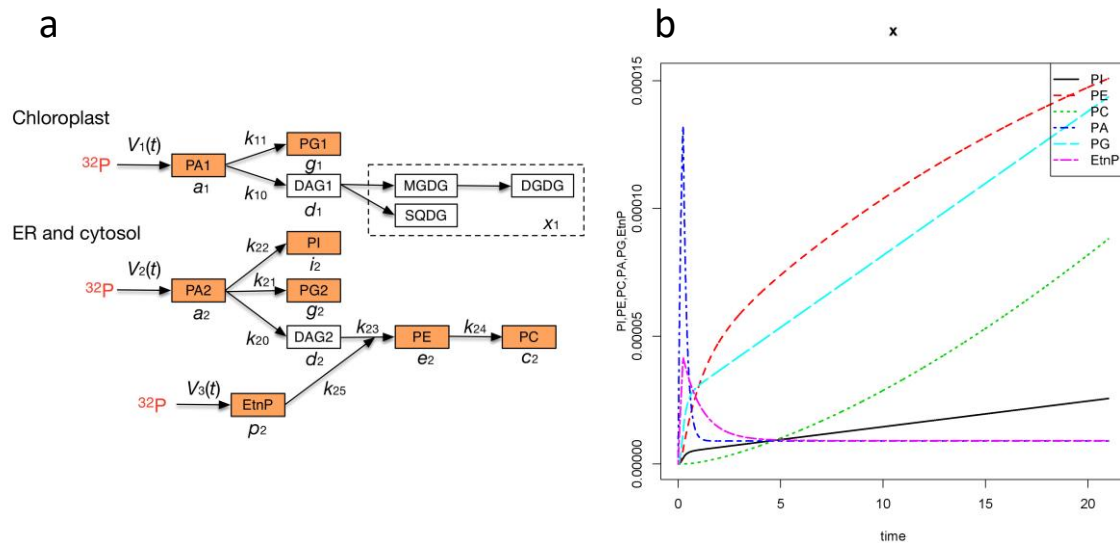


図 6-10 *C. merolae*におけるリン脂質代謝経路のモデル(a)とシミュレーション結果の例(b)  
 a. リン酸を含む物質に色を付けている。k は反応速度定数、a, g, d, e, p, c などはプールサイズ。  
 b. 左に示す代謝モデルに基づき、ラベルとチェースの実験におけるそれぞれの物質のラベル量の推移を推定した。計算は、R を利用した。[46]

(c-3) *C. merolae*における窒素飢餓による TAG 蓄積

通常の光独立栄養条件から窒素飢餓にすると、2 日後には総脂質の 20% 程度の TAG が蓄積された。TOF-MS 解析の結果、蓄積した TAG には 16:0/18:1/18:1, 18:0/18:2/18:2 などの分子種が主に含まれていることが分かった。

これまでこの紅藻におけるデンブリンと TAG の蓄積について詳しく調べた研究はなく、今回初めて、窒素飢餓によるこれらの蓄積を詳細に測定した。その結果、この紅藻は窒素飢餓によく

応答して、デンブンとTAGを蓄積することがわかった。デンブン検出については、山口大学三角修己氏の指導を受けた。すでに知られているように紅藻ではデンブンを細胞質で合成するため、デンブンも細胞質に蓄積された。TAG と PC の分子種の詳細な解析の結果から、TAG 蓄積には、PC が重要な役割を果たしていることが推定された(図 6-11)。この内容は Toyoshima et al. (2016) 論文[46]として発表し、Editor's choice に選ばれている。さらに最近のメールでは、月間ダウンロード数のトップ 10 にも入ったと連絡があった。

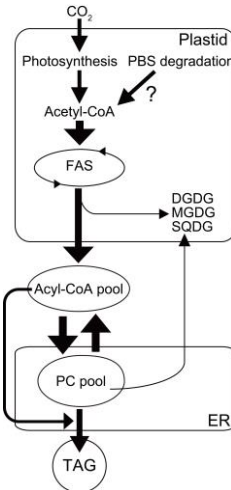


図6-11 *C. merolae*におけるTAG蓄積に対するPCの役割 [46]

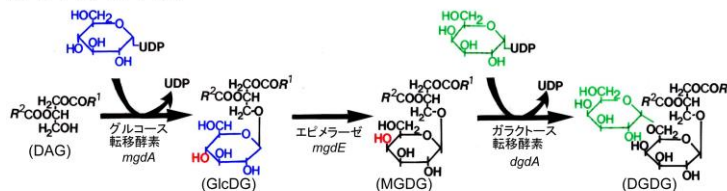
(d) 安定同位体標識による脂質代謝フロー解析法の開発

まず、比較的単純な系であるシアノバクテリアを用いて、実験方法、解析方法、ソフトウェアの開発を行った。シアノバクテリアの場合、細胞内区画を1つと考えてよいから、比較的単純な数学的取扱により、取り込まれた<sup>13</sup>Cが、飽和GlcDGから、MGDG、DGDGのさまざまな分子種へと流れていく速度を求めることができた。

(d-1) シアノバクテリアの糖脂質合成系における新規遺伝子の同定(太田グループおよびさきがけの栗井氏との共同研究)

シアノバクテリアは植物や藻類の葉緑体と同様、ガラクト脂質を主に含む。以前に行った代謝実験により、シアノバクテリアの糖脂質合成では、まずグルコ脂質ができ、それが異性化してガラクト脂質になると推定していた(図 6-12)。佐藤が共同主要寄与著者である論文において、この異性化に関わる酵素の遺伝子を同定し、*mgdE*と名付けた[20]。また、*mgdE*の破壊株ではガラクト脂質がすべてグルコ脂質に置き換わるものの、酸素発生型光合成ができることがわかった。すべての光合成膜に共通に保存されているために、酸素発生型光合成には必須と思われていたガラクト脂質が、必須ではないことが分かった。

A. シアノバクテリア



B. 陸上植物・緑藻

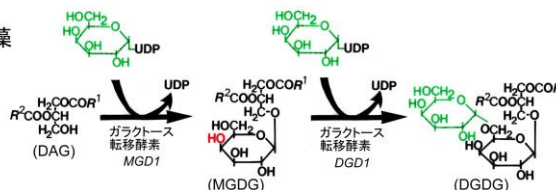


図 6-12 シアノバクテリアと緑色植物における糖脂質合成経路の比較

#### (d-2) 安定同位体を用いた脂質合成代謝フローの解析

$^{13}\text{C}$ と $^{14}\text{C}$ を用いたラベル実験により、細胞内脂質代謝フローの解析を進めた。

#### シアノバクテリアの糖脂質合成をモデルとした代謝フロー解析

まずモデル系として、シアノバクテリアを用いて $^{13}\text{C}$ ラベルを行うシステムの構築を行い、解析方法をほぼ完成した【50】。シアノバクテリアにおける糖脂質の合成系において、グルコ脂質GlcDGからガラクト脂質MGDGへの変換が起きる【総説11】。このとき、脂質に結合したままの状態ではグルコースの4位のOH基の立体配置が転換してガラクトースがつくられるエピマー化の可能性を以前から指摘していたが、先に発見した*mgdE*遺伝子がこれを1ステップで触媒する可能性が高まった【20】。しかし、グルコースをガラクトースに変換するエピマー化については、これまでUDPグルコースを基質とするものしか知られておらず、厳密に証明する必要がある。そこでこの変換が比較的遅いと思われる*Anabaena* sp PCC 7118株を用いて【33】、 $^{13}\text{C}$ ラベルとチェイスの実験を行った。考え方としては、分子全体がラベルされたものと分子全体にラベルのないものが同時にエピマー化を受けるとき、途中で糖部分が切り離されてエピマー化し、再度糖脂質が再構成されるならば、分子の一部がラベルされた分子種が生ずるはずである。これらの糖脂質は、*sn*-1位のC18脂肪酸、*sn*-2位のC16脂肪酸、グリセリン、ヘキソースの4つの構成成分からできている。それぞれの構成成分がラベルされている(L)かラベルがない(U)かによって、16通りのコンビナトマー (C18, グリセリン, C16, 糖の順にL状態かU状態かを記述することにより、UUUU, UUUL, . . . , LLLLとする)が存在する(図6-13)。

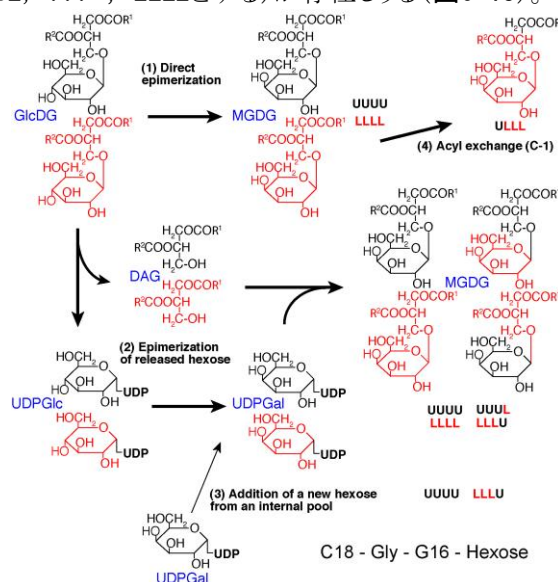


図6-13 コンビナトマー解析の原理の概要【50】

これを質量分析によって詳しく調べ、反応機構を解明しようとした。チェイス前後の細胞からGlcDGとMGDGを単離し、それぞれを分子種に分離した上で、質量分析を行った。さらに脂質をメタノリシスにより構成成分に分解し、それぞれの成分についても質量スペクトルを測定した。得られた質量スペクトルから、分子全体と構成成分のそれぞれについての $^{13}\text{C}$ 含量の分布(アイソポマー分布)を求めた。このデータに基づいて1次元のコンビナトマー解析を行った。さらに、理研の斎藤先生の協力をえて、MS/MS解析も行い、これをもちいて2次元のコンビナトマー解析も行った。結果はきわめて明瞭で、UUUUとLLLL以外のコンビナトマーはほとんど検出されず、グルコースからガラクトースへの変換が糖脂質分子上で起こっていることが証明された(図6-14)。同様の手法は、あとに記すような、藻類におけるPCからTAGの変換などにも応用できると考えられる。





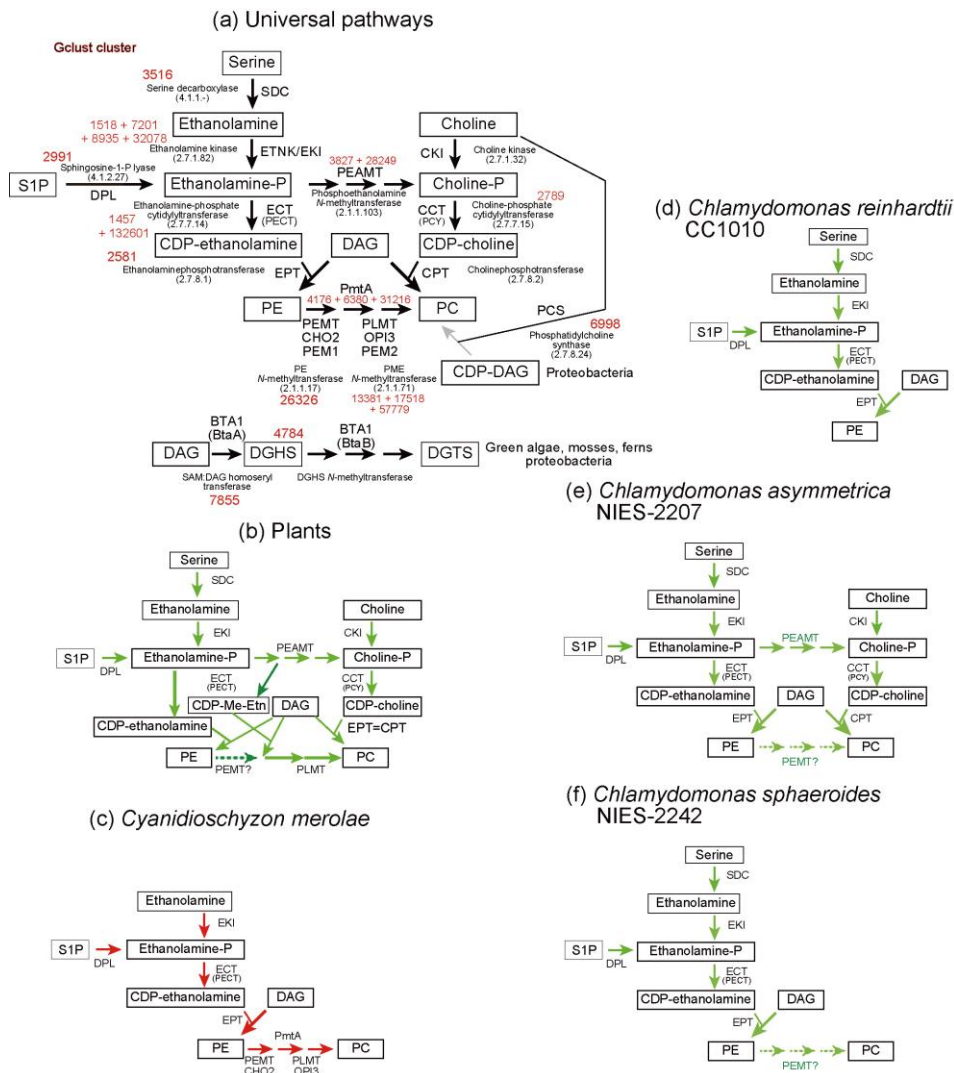


図6-15 各種藻類におけるPC合成系 [47]

表 6-2 クラミドモナス類のゲノム情報と脂質関連遺伝子の検出

Strain	Genome size (approx.)	Delta 5/6	PC	PEAMT	Delta5 desaturase
CC-503 (JGI ver. 5.3)	111 Mbp	Delta 5	none	none	E=0.0
CC-1010	107 Mbp	Delta 5	none	none	E=0.0
NIES-2242	122 Mbp	Delta 5	0.7%	none	E=e-121
NIES-2212	126 Mbp	Delta 5	3.8%	none	E=e-130
NIES-2207	144 Mbp	Delta 6	1.2%	present	none
NIES-2202	79 Mbp	Delta 6	4.0%	present	none

(b) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における脂質代謝関連酵素の細胞内局在

シロイヌナズナ、クラミドモナス、シアニジオシゾン、シアノバクテリアの間で脂質代謝関連酵素を比較したデータベースを完成した。その結果、シアニジオシゾンでは、124 個の脂質代謝関連酵素遺伝子が存在し、そのうち、8 個が葉緑体にコードされていることが分かった。そこで 116 個について、GFP を用いた局在解析を行った。すべての結果は、論文として発表した[48]。ほとんどの酵素の局在は、シロイヌナズナでのオーソログの局在と同じだったが、異なる点もあった。葉緑体での脂肪酸合成における縮合酵素として、KAS I だけが存在し、KAS III がいないこと、PC の合成経路として、PE のメチル化だけが働くことなどである。今後脂質蓄積系を構築する際に、どのように改変すれば良いのかという設計を助ける情報となる。

以上のように、脂質代謝関連酵素データベースを活用することにより、新たな遺伝子を次々と同定することができるようになった。

3. 6. 3 有用藻類脂質代謝フローの解析と代謝情報データベース構築(東京大学 佐藤グループ)

(1)研究実施内容及び成果

当初は他の研究室で利用している *Nannochloropsis* などを有用藻類として利用した研究を考えていたが、PC を含むクラミドモナスの中に興味深い株を発見したので、これを有用シーズと考え、詳しい検討を行った。なお、比較ゲノムとデータベースに関しては、項目2に記した。

(a) *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212 株における TAG 蓄積の解析

CC-1010 株と同様にして、光独立栄養条件下における脂質と脂肪酸の組成を詳しく解析した。従来他の株で知られていたのとは異なり、この株は、栄養飢餓にしなくても、定常期になると高レベルの TAG を蓄積することがわかった[36]。このとき窒素やリン酸などを追加しても、脂質蓄積に影響はなかったため、TAG 蓄積は栄養飢餓によってもたらされたものではないと考えられた。しかもその量は著しく多く、細胞あたり 20 pg と、これまでに報告された栄養飢餓状態で得られた他の株の値を超えるものだった。そのときデンプンの蓄積量は、細胞あたり 250 pg 程度と極めて多かった。脂肪酸組成を調べると、定常期ではリノレン酸などの多価不飽和脂肪酸の割合が減少し、オレイン酸など不飽和度の低い脂肪酸の割合が増加した。この結果は、定常期でも脂質の新規合成が続いていることを示し、不飽和度の低い良質の TAG が多量に蓄積する点で、バイオ燃料生産に好都合な条件が整っていると考えられた。興味深いことに、電子顕微鏡観察の結果、蓄積した脂肪は細胞膜からはみ出して、細胞壁の内側にたまることが分かった(図 6-16)。これが処理のアーティファクトである可能性も否定できないが、細胞から脂肪が抜け出しやすくなっていることはまちがいない。これも TAG の回収に有利な状況と考えられた。

NIES-2212株における定常期での脂質蓄積

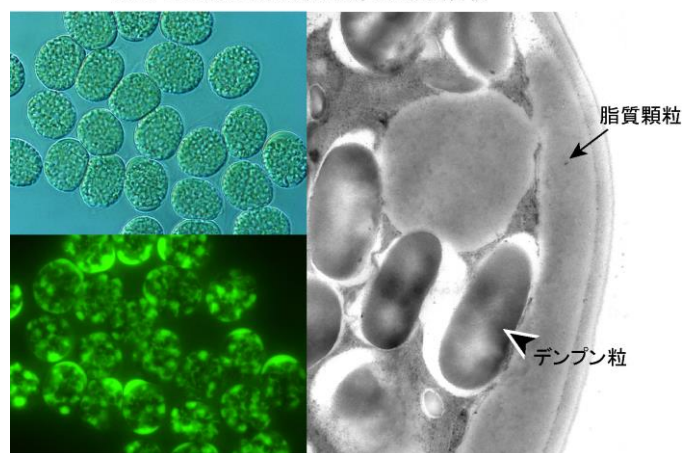


図6-16 *C. debaryana* NIES-2212株の定常期における脂質蓄積

左下はBodipy蛍光による脂質の染色像、右は電子顕微鏡像。灰色に見える大きなものが脂質顆粒。こ

ここではよく見えないが、デンプン粒との間には葉緑体包膜が存在する[36]。

### 3.7.1 有用藻類の選定(花王株式会社 瀧村グループ)(サブテーマ5)

#### (1)研究実施内容及び成果

本サブテーマでは、花王の保有する 600 株以上の藻類株ライブラリーから、超多価不飽和脂肪酸、極長鎖脂肪酸、水酸化脂肪酸、アセチレン脂肪酸など、生理活性素材や化学原材料として期待される各種脂肪酸類を探索し、その高生産株を選抜することを目的とした。

この目的のためにまず、化学反応性の高い水酸化脂肪酸などの特殊脂肪酸類を簡便かつ効率的に分析するため、水酸化脂肪酸やエポキシ脂肪酸の存在が知られる植物(*Dimorphotheca sinuate*; dimorphecolic acid, *Wrightia tinctoria*; isoricinoleic acid, *Stokesia laevis*; vernonic acid)の種子抽出物を用いて、GC/MS 分析条件の検討を行った。その結果、各種子クロロホルム・メタノール抽出物をナトリウムメキシド法(Runzhi Li, et al., *Lipids*(2010) 45, 145)によりエステル化した後、DB-WAX カラム(J&W scientific 社製)を用いて GC/MS 分析を行うことで、それぞれ含有する上記水酸化およびエポキシ脂肪酸と推定されるピークが検出できた。次に検出ピーク同定のために GC/MS データベースを検索したところ、American Oil Chemists' Society の Lipid Library (<http://lipidlibrary.aocs.org/ms/masspec.html>) のスペクトルライブラリーとの比較により検出ピークの同定が可能であることが明らかとなった。

そこで藻類株を C 培地(淡水藻類)または f/2 培地(海産藻類)にて20℃、約 4,000lux、明暗 12 時間周期の条件で生育度が最大になるまで培養を行い、上記の方法で藻体含有脂肪酸の GC/MS 解析を試みた。その結果、購入藻類 19 株、海洋分離藻類 7 株、さらに土壌分離藻類 6 株からエポキシ化や共役不飽和結合などの修飾脂肪酸と推定される GC/MS ピークが検出された。このうち、水酸化・エポキシ化脂肪酸を確認した土壌分離藻類 4 株は純化を行い、18S rRNA 配列を用いて同定した結果、それらは *Trebouxiphyte* 属、*Klebsormidium* 属、*Eustigmatos* 属および *Chlorosarcinopsis* 属藻類と推定された。

一方、特殊脂肪酸の高生産化を目指す上で重要となるのが TAG としての蓄積と考えられる。そこで上記純化株の抽出脂質の TLC 分画を行い、得られた各スポットの GC/MS 解析によって検出脂肪酸の存在形態の確認を試みた。その結果、いずれも TAG と推定されるスポットに水酸化およびエポキシ化脂肪酸と推定される化合物が検出され、これら特殊脂肪酸が TAG として生産されている可能性が示唆された。

*Chlorosarcinopsis bastropiensis* WA152 株については詳細解析を進め、水酸化脂肪酸(10-hydroxyoctadecanoate;10HSA)、エポキシ化脂肪酸(9,10-epoxyoctadecanoate)に加えて分岐鎖脂肪酸(20-methyl-heneicosanoate, 22-methyl-tricosanoate, 24-methyl-pentacosanoate)と推定される化合物も見出された。また、海外の藻類保存機関(University of Texas;UTEX)から入手した *Chlorosarcinopsis* 属近縁種複数株について生産脂肪酸の解析を行った結果、エポキシ化脂肪酸生産は WA152 株に特有の新規知見であると考えられた。さらに本検討において、水酸化およびエポキシ化脂肪酸生産藻に関する特許2件を出願した。

### 4.7.2 脂肪酸高生産系構築(花王株式会社 瀧村グループ)(サブテーマ9)

#### (1)研究実施内容及び成果

本サブテーマでは、これまでに見出した新たな有用藻類 *Chlorosarcinopsis bastropiensis* WA152 株などから特殊脂肪酸の生合成関連遺伝子を同定し、TAG 高生産藻類 *Nannochloropsis* での有用脂肪酸高生産系を構築することを目的とした。

まず、イルミナ社製 Miseq を用いて WA152 株の培養初期と後期、および WA152 株から自然変異により出現した 10HSA 非生産株の網羅的転写比較解析を行い、約 27,000 のコンティグ(遺伝子断片)配列を取得した。これらから 10HSA 生産株で脂肪酸生産が高まる培養後期で発現性が高い、または非生産株より発現性が高く、BRENDA、BLAST など既知の酵素遺伝子データベースで脂肪酸不飽和化酵素や水酸化、エポキシ化酵素遺伝子と高い相同性を示したコンティグを選抜し、脂肪酸水酸化およびエポキシ化酵素遺伝子の候補として新規 10 遺伝子を抽出した。また本検討で、脂肪酸の生産性向上に関与する遺伝子を見出し、脂肪酸生産性向上遺伝子に関する特許 1 件を



出願した。

現在、WA152 株、ならびに既知の植物等の遺伝子情報、共同研究グループ内で実施予定のゲノム解析情報などから取得した特殊脂肪酸の生合成関連候補遺伝子を大腸菌やモデル藻類 *Chlamydomonas* などに導入して発現検討を行い、特殊脂肪酸の合成に関わる候補遺伝子の特定化を進めている。また、水酸化脂肪酸をターゲットに設定し、TAG 高生産藻類株への導入・発現検討も開始した。まず oleate-hydratase、P450、oleate 12-hydroxylase、11R-lipoxygenase の導入を行ったが、現在までのところ水酸化脂肪酸は確認出来ていない。今後は *Nannochloropsis* への導入と発現・機能解析等を試み、知見獲得と共に有用脂肪酸高生産系の構築を目指す。

## § 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 53 件)

1. Sato N. (2012) Scientific élan vital: Entropy deficit or inhomogeneity as a unified concept of driving forces of life in hierarchical biosphere driven by photosynthesis. *Entropy* 14: 233-251; doi:10.3390/e14020233 (on-line journal)
2. Naoki Sato, Takashi Moriyama, Masakazu Toyoshima, Mika Mizusawa and Naoyuki Tajima “The all0458/lti46.2 gene encodes a low temperature-induced Dps protein homolog in the cyanobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120 and *Anabaena variabilis* M3”, *Microbiology* vol. 158, pp. 2527-2536, 2012 (DOI: 10.1099/mic.0.060657-0)
3. Shimojima M, Watanabe T, Madoka Y, Koizumi R, Yamamoto MP, Masuda K, Yamada K, Masuda S, Ohta H “Differential regulation of two types of monogalactosyldiacylglycerol synthase in membrane lipid remodeling under phosphate-limited conditions in sesame plants.” *Front. Plant Sci.*, 2013 (doi: 10.3389/fpls.2013.00469)
4. Kobayashi K, Narise T, Sonoike K, Hashimoto H, Sato N, Kondo M, Nishimura M, Sato M, Toyooka K, Sugimoto K, Wada H, Masuda T, Ohta H (2013) Role of galactolipid biosynthesis in coordinated development of photosynthetic complexes and thylakoid membranes during chloroplast biogenesis in Arabidopsis. *Plant J.* 73: 250-261.
5. Obayashi T, Okamura Y, Ito S, Tadaka S, Motoike IN, Kinoshita K. COXPRESdb: a database of comparative gene coexpression networks of eleven species for mammals. *Nucleic Acids Res*, 41, 1014-20 (2013) (DOI: 10.1093/nar/gks1014)
6. Hori, K., Maruyama, F., Fujisawa, T., Togashi, T., Yamamoto, N., Seo, M., Sato, S., Yamada, T., Mori, H., Tajima, N., Moriyama, T., Ikeuchi, M., Watanabe, M., Wada, H., Kobayashi, K., Saito, M., Masuda, T., Sasaki-Sekimoto, Y., Mashiguchi, K., Awai, K., Shimojima, M., Masuda, S., Iwai, M., Nobusawa, T., Narise, T., Kondo, S., Saito, H., Sato, R., Murakawa, M., Ihara, Y., Oshima, Y., Ohtaka, K., Satoh, M., Sonobe, K., Ishii, M., Ohtani, R., Kanamori, M., Honoki, R., Miyazaki, D., Mochizuki, H., Umetsu, J., Higashi, K., Shibata, D., Kamiya, Y., Sato, N., Nakamura, Y., Tabata, S., Ida, S., Kurokawa, K. and Ohta, H. (2014) *Klebsormidium flaccidum* genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation. *Nature Commun.* 5:3978 (1-9).
7. Murakawa M, Shimojima M, Shimomura Y, Kobayashi K, Awai K, Ohta H. (2014) Monogalactosyldiacylglycerol synthesis in the outer envelope membrane of chloroplasts is required for enhanced growth under sucrose supplementation. *Front Plant Sci.* 5:280. (DOI: 10.3389/fpls.2014.00280)
8. Yuzawa Y, Shimojima M, Sato R, Mizusawa N, Ikeda K, Suzuki M, Iwai M, Hori K, Wada H, Masuda S, Ohta H (2014) Cyanobacterial monogalactosyldiacylglycerol-synthesis pathway is involved in normal unsaturation of galactolipids and low-temperature adaptation of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochim Biophys. Acta* 1841(4):475-483
9. Iwai, M., Ikeda, K., Shimojima, M., Ohta, H. (2014) Enhancement of extraplastidic oil synthesis

- in *Chlamydomonas reinhardtii* using a type-2 diacylglycerol acyltransferase with a phosphorus starvation-inducible promoter *Plant Biotech. J.* 12(6) 808–819 (DOI: 10.1111/pbi.12210).
10. Transcriptomic and lipidomic profiles of glycerolipids during Arabidopsis flower development. (2014) Nakamura Y, Teo NZ, Shui G, Chua CH, Cheong WF, Parameswaran S, Koizumi R, Ohta H, Wenk MR, Ito T. *New Phytol.* 203(1):310–22.
  11. Kobayashi, K., Fujii, S., Sasaki, D., Baba, S., Ohta, H., Masuda, T. and Wada, H. (2014) Transcriptional regulation of thylakoid galactolipid biosynthesis with chlorophyll biosynthesis during chloroplast development in Arabidopsis. *Front. Plant Sci.* 55:272 (1–11).
  12. Kobayashi, K., Masuda, T., Tajima, N., Wada, H. and Sato, N. (2014) Molecular phylogeny and intricate evolutionary history of the three isofunctional enzymes involved in the oxidation of protoporphyrinogen IX. *Genome Biol. and Evol.*, 6:2141–2155.
  13. Tanoue, R., Kobayashi, M., Katayama, K., Nagata, N. and Wada, H. (2014) “Phosphatidylglycerol biosynthesis is required for the development of embryos and normal membrane structures of chloroplasts and mitochondria in *Arabidopsis*”, *FEBS Lett.* vol. 588, pp. 1680–1685, (doi:10.1016/j.febslet.2014.03.010)
  14. Kobayashi, K., Fujii, S., Sasaki, D., Baba, S., Ohta, H., Masuda, T. and Wada, H. (2014) “Transcriptional regulation of thylakoid galactolipid biosynthesis with chlorophyll biosynthesis during chloroplast development in Arabidopsis”, *Front. Plant Sci.*, vol. 5, 272, (doi:10.3389/fpls.2014.00272)
  15. Fujii, S., Kobayashi, K., Niyogi, K. K., Nakamura, Y. and Wada, H. (2014) “Inducible knockdown of the *MGDI* gene for monogalactosyldiacylglycerol synthase 1 reveals roles of galactolipid biosynthesis during initial growth in *Arabidopsis* seedlings” *Plant Physiol.* vol. 166, pp. 1436–1449, (doi:10.1104/pp.114.250050)
  16. Yano M, Mori H, Akiyama Y, Yamada T, Kurokawa K, (2014) “CLAST: CUDA implemented large-scale alignment search tool”, *BMC Bioinformatics*, 15:406, (DOI: 10.1186/s12859-014-0406-y)
  17. Obayashi, T., Okamura, Y., Ito, S., Tadaka, S., Aoki, Y., Shirota, M., and Kinoshita, K., (2014) “ATTED-II in 2014: Evaluation of Gene Coexpression in Agriculturally Important Plants”, *Plant Cell Physiol.*, vol. 55, pp.e6 (DOI: 10.1093/pcp/pct178)
  18. Sakurai, K., Moriyama, T., and Sato N. (2014) “Detailed identification of fatty acid isomers sheds light on the probable precursors of triacylglycerol accumulation in photoautotrophically grown *Chlamydomonas reinhardtii*”, *Eukaryot. Cell*, vol. 13, No. 2, pp. 256–266 (DOI: 10.1128/EC.00280-13)
  19. Sakurai K, Mori N and Sato N (2014) “Detection and characterization of phosphatidylcholine in various strains of the genus *Chlamydomonas* (Volvocales, Chlorophyceae)”, *J. Plant Res.*, vol. 127, pp. 641–650 (DOI: 10.1007/s10265-014-0644-0)
  20. Awai K, Ohta H and Sato N (2014) “Oxygenic photosynthesis without galactolipids” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 13571–13575, (DOI: 10.1073/pnas.1403708111)
  21. Moriyama T, Sakurai K, Sekine K and Sato N (2014) “Subcellular distribution of central carbohydrate metabolism pathways in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*”, *Planta*, vol. 240, pp. 585–598, (DOI: 10.1007/s00425-014-2108-0)
  22. Iwai, M., Hori, K., Sasaki-Sekimoto, Y., Shimojima, M., and Ohta, H. (2015) Manipulation of oil synthesis in *Nannochloropsis* strain NIES-2145 with a phosphorus starvation-inducible promoter from *Chlamydomonas reinhardtii*. *Front. Microbiol.* 6
  23. Shimojima, M., Madoka, Y., Fujiwara, R., Murakawa, M., Yoshitake, Y., Ikeda, K., Koizumi, R, Endo, K., Ozaki, K., and Ohta, H. (2015) An engineered lipid remodeling system using a galactolipid synthase promoter during phosphate starvation enhances oil accumulation in plants. *Front. Plant Sci.*, 6
  24. Kim H, Jang S, Kim S, Yamaoka Y, Hong D, Song W-Y, Nishida I, Li-Beisson Y and Lee Y

- (2015) The small molecule fenpropimorph rapidly converts chloroplast membrane lipids to triacylglycerols in *Chlamydomonas reinhardtii* *Front. Microbiol* doi.org/10.3389/fmicb.2015.00054
25. Jang, S., Yamaoka, Y., Ko, D., Kurita, T., Kim, K., Song, W.-Y., Jae-Ung Hwang, J.-U., Kang, B.-H., Nishida, I. and Lee, Y. Characterization of a *Chlamydomonas reinhardtii* mutant defective in a maltose transporter. *J. Plant Biol.* 58: 344-351 (2015). doi: 10.1007/s12374-015-0377-1
  26. Kobayashi, K., Fujii, S., Sato, M., Toyooka, K. and Wada, H. (2015) "Specific role of phosphatidylglycerol and functional overlaps with other thylakoid lipids in Arabidopsis chloroplast biogenesis" *Plant Cell Rep.* vol. 34, pp. 631-642, (doi:10.1007/s00299-014-1719-z)
  27. Hung, C.-H., Kobayashi, K., Wada, H. and Nakamura, Y. Isolation and characterization of a phosphatidylglycerophosphate phosphatase1, PGPP1, in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol. and Biochem.* 92:56-61, 2015.
  28. Endo, K., Mizusawa, N., Shen, J.-R., Yamada, M., Tomo, T., Komatsu, H. Kobayashi, M., Kobayashi, K. and Wada, H. Site-directed mutagenesis of amino acid residues of D1 protein interacting with phosphatidylglycerol affects the function of plastoquinone QB in photosystem II. *Photosynth. Res.* 126:385-397, 2015.
  29. Hung, C.-H., Endo, K., Kobayashi, K., Nakamura, Y. and Wada, H. (2015) Characterization of *Chlamydomonas reinhardtii* phosphatidylglycerophosphate synthase in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Front. Microbiol.* 6:842 (1-14).
  30. Okamura Y\*, Aoki Y\*, Obayashi T>(\*Co-First), Tadaka S, Ito S, Narise T, Kinoshita K. (2015) "COXPRESdb in 2015: coexpression database for animal species by DNA-microarray and RNAseq-based expression data with multiple quality assessment systems", *Nucleic Acids Res*, Vol 43, pp.D82-6, (DOI: 10.1093/nar/gku1163)
  31. Okamura Y, Obayashi T, Kinoshita K. (2015) Comparison of gene coexpression profiles and construction of conserved gene networks to find functional modules. *PLoS One*, 10, e0132039
  32. Moriyama T, Tajima N, Sekine K and Sato N (2015) Characterization of three putative xylulose 5-phosphate/fructose-6-phosphate phosphoketolases in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 79: 767-774 doi: 10.1080/09168451.2014.993357.
  33. Kajikawa M, Sawaragi Y, Shinkawa H, Yamano T, Ando A, Kato M, Hirono M, Sato N and Fukuzawa H (2015) Algal dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase, Triacylglycerol Accumulation Regulator 1, regulates accumulation of triacylglycerol in nitrogen or sulfur deficiency. *Plant Physiol.* 168: 752-764. doi: http://dx.doi.org/10.1104/pp.15.00319.
  34. Sato N (2015) Is monoglucosyl diacylglycerol a precursor to monogalactosyl diacylglycerol in all cyanobacteria? *Plant Cell Physiol.* 56: 1890-1899. doi: 10.1093/pcp/pcv116.
  35. Moriyama T, Mori N, Sato N (2015) Activation of oxidative carbon metabolism by nutritional enrichment by photosynthesis and exogenous organic compounds in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*: evidence for heterotrophic growth. *Springer Plus* 4: 559. doi: 10.1186/s40064-015-1365-0.
  36. Toyoshima M. and Sato N. (2015) High-level accumulation of triacylglycerol and starch in photoautotrophically grown *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212. *Plant Cell Physiol.* 56: 2447-2456. doi: 10.1093/pcp/pcv163
  37. Hori, K., Nobusawa, T., Watanabe, T., Madoka, Y., Suzuki, H., Shibata, D., Shimojima, M., and Ohta, H. (2016) Tangled evolutionary processes with commonality and diversity in plastidial glycolipid synthesis in photosynthetic organisms *Biochim. Biophys. Acta, Molecular*

- and Cell Biology of Lipids*,
38. Kondo S, Hori K, Sasaki-Sekimoto Y, Kobayashi A, Kato T, Yuno-Ohta N, Nobusawa T, Ohtaka K, Shimojima M, Ohta H, (2016) Primitive extracellular lipid components on the surface of the Charophytic alga *Klebsormidium flaccidum* and their possible biosynthetic pathways as deduced from the genome sequence. *Front Plant Sci* doi:10.3389/fpls.2016.00952.
  39. Yamaoka Y, Achard D, Jang S, Legéret B, Kamisuki S, Ko D, Schulz-Raffelt M, Kim Y, Song W-Y, Nishida I, Li-Beisson Y, Lee Y (2016) Identification of a *Chlamydomonas* plastidial 2-lysophosphatidic acid acyltransferase and its use to engineer microalgae with increased oil content *Plant Biotechnol. J* DOI: 10.1111/pbi.12572
  40. Hung, C.-H., Kobayashi, K., Wada, H. and Nakamura, Y. (2016) Functional specificity of cardiolipin synthase revealed by the isolation of a cardiolipin synthase CrCLS1 in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Front. Microbiol.* 6:1542 (1–8).
  41. Kobayashi, K., Endo, K. and Wada, H. (2016) Multiple impacts of loss of plastidic phosphatidylglycerol biosynthesis on photosynthesis during seedling growth of *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 7:336 (1–12).
  42. Lin, Y.-C., Kobayashi, K., Hung, C.-H., Wada, H. and Nakamura, Y. (2016) *Arabidopsis* phosphatidylglycerophosphate phosphatase1 (PGPP1) involved in phosphatidylglycerol biosynthesis and photosynthetic function. *Plant J.* 88:1022–1037.
  43. Endo, K., Kobayashi, K. and Wada, H. (2016) Sulfoquinovosyldiacylglycerol has an essential role in *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 under phosphate-deficient conditions. *Plant Cell Physiol.* 57:2451–2460.
  44. Aoki Y, Okamura Y, Tadaka S, Kinoshita K, Obayashi T. (2016) ATTED-II in 2016: a plant coexpression database towards lineage-specific coexpression. *Plant Cell Physiol*, 57, e5
  45. Aoki Y, Okamura Y, Ohta H, Kinoshita K, Obayashi T. (2016) ALCOdb: Gene Coexpression Database for Microalgae. *Plant Cell Physiol*, 57, e3
  46. Toyoshima M., Mori N., Moriyama T., Misumi O. and Sato N. (2016) Analysis of triacylglycerol accumulation under nitrogen deprivation in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Microbiology* 162:803–812 (Editor's Choice). doi: 10.1099/mic.0.000261
  47. Sato N., Mori N., Hirashima T. and Moriyama T. (2016) Diverse pathways of biosynthesis of phosphatidylcholine in algae as estimated by labeling studies and genomic sequence analysis. *Plant J.* 87: 281–292. doi: 10.1111/tpj.13199.
  48. Mori N., Moriyama T., Toyoshima M. and Sato N. (2016) Construction of global acyl lipid metabolic map by comparative genomics and subcellular localization analysis in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Front Plant Sci.* 7: 958 doi: 10.3389/fpls.2016.00958
  49. Hirashima T., Tajima N. and Sato N. (2016) Draft genome sequences of four species of *Chlamydomonas* containing phosphatidylcholine. *Genome Announcements* 4: e01070–16 (on-line journal). DOI:10.1128/genomeA.01070–16
  50. Sato, N., Okazaki, Y. and Saito, K. (2016) Isotopic combinator analysis provides in vivo evidence for the direct epimerization of monoglucosyl diacylglycerol in cyanobacteria. *Biochemistry* 10.1021/acs.biochem.6b00769.
  51. Kizawa A, Kawahara A, Takimura Y, Nishiyama Y, Hihara Y, (2016) "RNA-seq profiling reveals novel target genes of LexA in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803", *Front. Microbiol.*, vol 7, Article 193.
  52. Nobusawa T., Hori K., Mori H., Kurokawa K., Ohta H. (2017) Differently localized lysophosphatidic acid acyltransferases crucial for triacylglycerol biosynthesis in the oleaginous alga *Nannochloropsis*. *Plant J.* doi: 10.1111/tpj.13512.
  53. Sekine, K., Moriyama, T., Kim, J. Y., Hase, T. and Sato, N. (2017) Characterization of two ferredoxin-dependent sulfite reductases having different substrate specificity in the red alga

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 佐藤直樹, (2012)「エントロピーから読み解く 生物学—めぐりめぐむ わきあがる生命 裳華房, 232ページ. ISBN978-4-7853-5853-2, . (著書) (非公開)
2. Moriyama, T. and Sato, N. (2013) “The Plant and Protist Organellar DNA Replication Enzyme POP Showing Up in Place of DNA Polymerase Gamma May Be a Suitable Antiprotozoal Drug Target” In Stuart, D. (ed.), *The Mechanisms of DNA Replication*. Chapter 11, InTech, ISBN: 978-953-51-0991-4. (オンライン総説) (DOI: 10.5772/51975)
3. 和田元, 佐藤直樹 (2013)“脂質生産を微細藻類に託せるか? —脂質を貯めるわけと仕組み—”, *現代化学*, No. 506, pp. 24-28
4. 佐藤直樹, (2014) 「しくみと原理で解き明かす 植物生理学」. 裳華房, 202 ページ, ISBN978-4-7853-5229-5(著書)
5. 遠藤嘉一郎, 小林康一, 和田 元 (2015) 光合成タンパク質複合体と脂質, *光合成研究* vol. 25, pp. 116-125.(総説)
6. 小林康一 (2015) 植物のチラコイド膜脂質の合成と葉緑体発達における役割, *光合成研究* vol. 25, pp. 126-137.(総説)
7. Kobayashi, K., Endo, K. and Wada, H. (2016) Roles of lipids in photosynthesis. in *Lipids in plant and algae development*. *Lipids in plant and algae development*, pp. 21-49.(総説)
8. Kobayashi, K. and Wada, H. (2016) Roles of lipids in chloroplast biogenesis, in *Lipids in plant and algae development*, pp. 103-125.(総説)
9. 佐藤直樹 (2015) シアノバクテリアにおける糖脂質合成系と酸素発生型光合成の進化. *生化学* 87: 209-211. doi:10.14952/SEIKAGAKU.2015.870209
10. 岩井雅子, 太田啓之 (2016) リン欠乏応答性プロモーターを利用したナンノクロロプシス油脂合成の改変 *バイオインダストリー* 7月号 pp. 3-9.
11. Sato N. and Awai K. (2016) Diversity in biosynthetic pathways of galactolipids in the light of endo symbiotic origin of chloroplasts. *Front. Plant Sci.* 7: 117. doi: 10.3389/fpls.2016.00117 (総説)
12. Sato N. (2016) Conservation versus discontinuity in the genealogy of cyanobacteria and plastids: Fantasy and reality of the endosymbiogenesis theory of plastid origin. *Endocytobiosis Cell Res.*, 27: 33-36. (研究紹介)
13. Sato, N., Moriyama, T., Mori, N. and Toyoshima, M. (2017) Lipid metabolism and potentials of biofuel and high added-value oil production in red algae. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (in press) doi: 10.1007/s11274-017-2236-3(総説)

(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 12 件、国際会議 20 件)

1. 大林武 (2012) 遺伝子共発現とシス配列の関係、第三回アグリバイオインフォマティクス研究会、東京大学 10月3日
2. 大林武 (2012) 遺伝子共発現で探す有用遺伝子、生物学若手研究者の集い夏のセミナー2012、岩沼、7月1日(非公開)
3. 大林武 (2014) 遺伝子共発現に基づく遺伝子機能推定プラットフォームの開発、第 21 回日本植物生理学会、富山 3月19日
4. 大林武 (2014) ゲノムに基づく遺伝子共発現、第 30 回資源植物科学シンポジウム、倉敷、2014年3月6日
5. 大林武 (2014) サイエンスとエンジニアリングが織りなす遺伝子共発現、生命情報科学若手の会第5回研究会、検見川 2月18日
6. 小林康一 (2014) シロイヌナズナを用いた葉緑体発達制御機構の解明、日本植物学会、明



- 治大学、9月13日.
7. 大林武, 岡野悠太郎, 成瀬孝史, 青木裕一, 岡村容伸, 田高周, 木下賢吾. 「遺伝子共発現に基づくパラログ遺伝子群の機能多様性の予測」, 日本植物生理学会年会, 東京農業大学(東京), 2015年3月16日
  8. 西田 生郎 (2016) *Chlamydomonas reinhardtii*における相同組換えの改善と利用の試み、第12回クラミドモナス研究会、中央大学後楽園キャンパス6号館3階教室 9月3日
  9. 和田 元、(2016) 植物が行う光合成とそれを利用した物質生産について、触媒資源化協会、東京 2月5日.
  10. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾、NGS データを駆使した非モデル生物の遺伝子共発現解析、NGS 現場の会 第四回研究会、つくば国際会議場(茨城)、2015年7月2日
  11. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾 (2016) 「遺伝子共発現による機能モジュール探索手法のラン藻への応用」, ラン藻ゲノム交流会, 6月25日, 東京大学(東京)
  12. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. "Impact of Evolutionary Age on Gene Coexpression Network and Gene Functional Relationship", 第39回 日本分子生物学会年会, 2016年12月1日, パシフィコ横浜(横浜)
  13. Wada, H (2012) Biosynthesis and function of lipids in photosynthetic organisms. Japanese-Finnish Seminar, Naantali (Finland), September 8-13.
  14. Wada, H. (2012) Indispensable function of lipids in photosynthesis. Okayama University International Symposium, Okayama, October 22-23.
  15. Wada, H. (2013) Indispensable function of phosphatidylglycerol in photosynthetic organisms. International Symposium on Plant Lipid Metabolic Network and Switching, Yokohama, March 25.
  16. Shimojima, M. (2013) How can plants regulate oil accumulation in leaves? *Plant Lipid Metabolic Network and Switching -Research Frontier and Future Application for Energy Feedstock-* Yokohama, March 25.
  17. Hori, K. (2013) The genome of Charophyte *Klebsormidium flaccidum* reveals evolution of various metabolic pathways from algae to land plants. *Plant Lipid Metabolic Network and Switching*, Yokohama, March 25.
  18. Wada, H. (2013) Roles of lipids in photosynthesis, The 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Gwangju (Korea), November 29-December 1.
  19. Ohta, H (2014) "Evolutionary Implications of Glycolipid Biosynthesis in Cyanobacteria and Chloroplasts" Microbial Lipids 2014 Hamburg, May 28-31. Keynote speaker
  20. Ohta, H (2014) Lipid remodeling in response to various environmental changes in algae and higher plants XII France-Japan Workshop on Plant Science 2014 "Plant Responses to Environment", Oct 27-29 Tokyo
  21. Wada, H. (2014) Role of phosphatidylglycerol in development of chloroplast. 2014 BK21 Plus Mini International Symposium on Plant Development and Lipids, Gwangju (Korea), October 7.
  22. Kobayashi, K. (2014) Regulation of chloroplast differentiation in Arabidopsis roots. Japanese-Finnish Seminar 2014, Sapporo, October 9-14.
  23. Wada, H. (2014) Role of phosphatidylglycerol in development of chloroplasts. Japanese-Finnish Seminar 2014, Sapporo, October 9-14,.
  24. Hori K, Kondo S, Ohtaka K, Tounosu N, Watanabe T, Kurokawa K, Ohta H " *Klebsormidium flaccidum* genome reveals genome evolution for plant terrestrial adaptation" International Plant & Animal Genome XXIII / January 10-14, 2015 - San Diego, CA, USA
  25. Iwai M, Nobusawa T, Hori K, Shimojima M, Ohta H Lipid remodeling under nutrient starvation in microalgae and higher plants and its application for oil production 3<sup>rd</sup> Biosci & Biotech International Symposium, Jan 14 (2015) Tokyo
  26. Ohta, H (2015) Lipid remodeling under nutrient starvation in microalgae and higher plants and

its application for oil production Tokyo Tech-HHU Düsseldorf Joint Symposium on Photosynthesis as a New Chemical Resource, March 4 Tokyo

27. Ohta H, Iwai M, Nobusawa T, Hori K, and Shimojima M (2015) Lipid remodeling under nutrient starvation in microalgae and its application for oil production, Singapore, December 2-4.
28. Wada, H. (2015) Roles of phosphatidylglycerol in chloroplast development, The 6th Asian symposium on plant lipids, Singapore, December 2-4.
29. Sato, N., Mori, N., Hirashima, T., Moriyama, T., Toyoshima, M. (2015) Diversity in phosphatidylcholine biosynthesis pathways in algae. The 6th Asian Symposium on Plant Lipids. シンガポール, 12月2-4日
30. Nishida I (2016) Expression of an amino-terminal portion of *Arabidopsis* OLESIN2 stabilizes lipid droplets in *Chlamydomonas reinhardtii*, 22<sup>nd</sup> International Symposium on Plant Lipids, Göttingen, Germany, 7月3日-8日
31. Kobayashi, K. (2016) Glycerolipids: Specific roles and functional overlaps of thylakoid anionic lipids, The 22nd International Symposium on Plant Lipids, Göttingen (Germany), July 3-8.
32. Ohta H. (2016) Primitive adaptation mechanisms to land environments revealed by the genome of a charophyte alga *Klebsormidium flaccidum*, EMBO Workshop, June 22-24 Vienna, Austria

② 口頭発表 (国内会議 70 件、国際会議 16 件)

【国内会議】

1. 佐藤直樹 (2011) 遊泳藻類が示す生物対流に生命の創発性の表れを見る ユーグレナ研究会、名古屋、11月12日
2. 佐藤直樹 (2011) 創発過程モデルとしてのクラミドモナスの生物対流開始過程のダイナミクス クラミドモナス・ワークショップ、岡崎、11月25日
3. 下嶋美恵、円由香、山道桂子、小泉遼太、遠藤圭二、尾崎克也、太田啓之 (2012) リン欠乏生育条件下でのシロイヌナズナ葉における貯蔵脂質蓄積の解析 日本植物生理学会年会 京都 3月16日
4. 岩井雅子、下嶋美恵、堀孝一、太田啓之 (2012) 緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における栄養欠乏条件下での脂質蓄積 日本植物生理学会年会 京都 3月18日
5. 佐藤直樹 (2012) 安定同位体 C13 を用いた脂質代謝の解析、日本植物生理学会年会、京都、3月16日
6. 和田 元 (2012) 光化学系 II における DGDG の機能 植物脂質科学研究会、甲南大学 11月30日-12月1日
7. 下嶋美恵、円由香、太田啓之 (2013) リン欠乏条件を活用した植物葉における油脂増産系の構築、日本植物生理学会、富山、3月18-20日
8. 藤井祥、小林康一、Krishna K. Niyogi、中村友輝、和田元 (2013) シロイヌナズナにおける誘導的人工マイクロ RNA を用いた主要葉緑体膜脂質 MGDG の機能解析、日本植物生理学会、富山大学、3月18-20日。
9. 毛利奈津美、森山崇、櫻井健太、関根康介、佐藤直樹 (2013) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における脂質代謝関連酵素の網羅的な局在解析、日本植物生理学会、富山、3月18日~20日
10. 佐藤直樹、櫻井健太、毛利奈津美、森山崇、(2013) 藻類におけるリン脂質合成系の比較ゲノムによる再検討、日本植物生理学会、富山、3月18-20日。
11. 毛利奈津美、森山崇、櫻井健太、関根康介、佐藤直樹 (2013) 藻類における脂質代謝関連酵素のデータベース構築と局在解析、日本植物学会、札幌、9月13-15日
12. 毛利奈津美、森山崇、櫻井健太、関根康介、佐藤直樹 (2013) 藻類における脂質代謝関連酵素のデータベース構築と局在解析、第26回植物脂質シンポジウム、札幌、9月15-16日
13. 佐藤直樹 (2013) 光独立条件下で培養したクラミドモナスにおける脂肪蓄積クラミドモナス研究会、岡崎、11月29-30日

14. 大林武、岡村容伸、伊藤聡史、田高周、木下賢吾 (2013) 共発現ネットワークは実在するのか?、生命情報科学若手の会第4回研究会、岡崎、3月1日
15. 佐藤直樹、櫻井健太、岡咲洋三、斎藤和季、(2013) 光合成的に合成された脂質代謝の安定同位体による解析、日本植物脂質科学研究会、神戸、11月31日-12月1日
16. 櫻井健太、佐藤直樹 (2013) 藻類が持つ脂肪酸の二重結合位置の網羅的な決定方法の検討、日本農芸化学会 仙台 3月24-28日
17. 吉竹悠宇志、佐藤諒一、村川雅人、円由香、駿河航、中村友輝、下嶋美恵、太田啓之 (2014) シロイヌナズナにおけるホスファチジン酸ホスホヒドラーゼ過剰発現体における窒素欠乏耐性の解析 日本植物学会、明治大学、9月12日
18. 岩井雅子、下嶋美恵、太田啓之 (2014) 藻類におけるリン欠乏応答性プロモーターを用いた脂質蓄積強化 日本植物学会、明治大学、9月12日
19. 堀孝一、近藤智、大高きぬ香、唐司典明、渡邊汀、黒川顕、太田啓之 (2014) 車軸藻植物門クレブソルミディウムゲノムから見た植物の陸上進出 日本植物学会、明治大学、9月12日
20. 藤井祥、小林康一、中村友輝、和田元 (2014) 主要葉緑体膜脂質 MGDG は緑化初期の細胞小器官分化に広く影響する、日本植物学会、明治大学 9月13日
21. 小林康一、藤井祥、遠藤嘉一郎、堀遙香、和田元 (2014) 葉緑体機能における PG と糖脂質の関係、日本植物脂質シンポジウム、静岡市産学交流センター 11月28日
22. 氏原哲朗、和田元、三橋徹 (2014) アラキドン酸を生産する新規多価不飽和脂肪酸合成酵素の同定、日本植物脂質シンポジウム、静岡市産学交流センター 11月29日
23. 青木裕一、大林武、木下賢吾 (2014) 「ゲノム配列に基づく共発現遺伝子ペアの推定」、生命情報科学若手の会 第 6 回研究会、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター(兵庫県) 10月30日
24. 岡村容伸、大林武、木下賢吾 (2014) 「DEG.js : Streaming web-based differential expression genes analysis tool for RNA-seq」、生命情報科学若手の会 第 6 回研究会、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター(兵庫県) 10月30日
25. 成瀬孝史、大林武、木下賢吾、古俣麻希子、井原裕太、下嶋美恵、増田真二、白髭克彦、伊藤武彦、太田啓之 (2014) 「新たな統計量の導入による gene set enrichment analysis の改良」生命医薬情報連合大会 2014、仙台国際センター(宮城県) 10月3日
26. 佐藤直樹、毛利奈津美、森山崇 (2014) 藻類におけるリン脂質合成系の研究. 日本植物学会 明治大学 川崎 9月12-14日
27. 毛利奈津美、森山崇、関根康介、佐藤直樹 (2014) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の脂質代謝に関する研究 日本植物学会 明治大学 川崎 9月12-14日
28. 森山崇、佐藤直樹 (2014) *Anabaena* sp. PCC7120 におけるホスホトラーゼの同定 日本植物学会 明治大学 川崎 9月12-14日
29. 佐藤直樹 (2014) 「One strain, one genome sequence: 研究室株のシーケンス」ラン藻ゲノム交流会、東京都目黒区、7月19日
30. 佐藤直樹 (2014) シアノバクテリアにおける糖脂質合成系をめぐる問題点の検討. 日本植物脂質研究会. 静岡市産学交流センター, 静岡 11月28-29日
31. 遠藤嘉一郎、水澤直樹、沈建仁、山田聖人、靱達也、小松悠久、小林正美、小林康一、和田元、(2015) PSII のプラストキノン結合部位の近傍に存在するホスファチジルグリセロール分子の役割、日本植物生理学会、東京農業大学、3月16日
32. 藤井祥、小林康一、和田元 (2015) ホスファチジルグリセロールを欠損した葉緑体はなぜ発達が阻害されるのか、日本植物生理学会、東京農業大学、3月16日.
33. 堀遙香、小林康一、和田元 (2015) シロイヌナズナの葉緑体に存在する酸性膜脂質の機能に関する研究、日本植物生理学会、東京農業大学、3月16日.
34. 岩井雅子、佐々木結子、下嶋美恵、太田啓之 (2015) 緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 由来のリン欠乏応答性プロモーターを用いた脂質蓄積強化 日本植物生理学会、東京農大、3月16日
35. 吉竹 悠宇志、佐藤 諒一、円 由香、駿河 航、杉浦 大輔、中村 友輝、野口 航、下嶋

- 美恵, 太田啓之 (2015) シロイヌナズナにおけるホスファチジン酸ホスホヒドロラーゼ過剰発現体における窒素欠乏耐性機構の解析 日本植物生理学会 東京農大、3月16日
36. 青木裕一, 岡村容伸, 大林武, 木下賢吾 (2015) 「微細藻類の遺伝子共発現データベースALCOdbの開発」, 日本植物生理学会年会, 東京農業大学(東京) 3月16日
37. 毛利奈津美, 森山崇, 関根康介, 豊島正和, 佐藤直樹 (2015) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の脂質代謝関連酵素の網羅的解析. 日本植物生理学会. 東京農業大学, 東京, 3月16-18日
38. 平嶋孝志, 豊島正和, 森山崇, 佐藤直樹 (2015) 緑藻 *Chlamydomonas applanata* NIES-2202 における窒素・リン欠乏条件下での脂質蓄積および脂肪酸組成の解析 日本植物生理学会 東京農業大学, 東京, 3月16-18日
39. 豊島正和, 佐藤直樹 (2015) 光独立条件下でトリアシルグリセロールを多量に蓄積する *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212 の解析. 日本脂質生化学会. 一橋大学一橋講堂, 東京, 5月28-29日
40. 毛利奈津美, 森山崇, 豊島正和, 佐藤直樹 (2015) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の脂質代謝関連酵素における網羅的な細胞内局在解析. 日本脂質生化学会. 一橋大学一橋講堂, 東京, 5月28-29日
41. 佐藤直樹 (2015) シアノバクテリアの脂質分子種合成系の数理的モデリング. ラン藻ゲノム交流会. 東京大学総合文化研究科, 東京, 7月25日
42. 佐藤直樹 (2015) シアノバクテリアにおける糖脂質合成の検討. 日本植物学会. 朱鷺メッセ, 新潟, 9月6-8日
43. 森山崇, 毛利奈津美, 佐藤直樹 (2015) 紅藻シアニジオシゾンにおける添加有機物を用いた炭素代謝制御の解析. 日本植物学会. 朱鷺メッセ, 新潟, 9月6-8日
44. 豊島正和, 毛利奈津美, 森山崇, 三角修己, 佐藤直樹 (2015) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の窒素欠乏条件下におけるTAGの蓄積と脂肪酸組成の解析 日本植物学会 朱鷺メッセ, 新潟, 9月6-8日
45. 佐藤直樹, 森山崇, 豊島正和, 平嶋孝志 (2015) クラミドモナスの脂質合成系の多様性. 日本植物脂質研究会. 上智大学, 東京 9月9-10日
46. 小林康一, 遠藤嘉一郎, 和田 元, (2015) 光合成生物におけるPGとSQDGの機能、日本植物脂質シンポジウム、上智大学、9月9日.
47. 岩井雅子, 浅見航太, 下嶋美恵, 大林武, 太田啓之 (2016) *Chlamydomonas reinhardtii* のTAG合成酵素DGAT2と共発現する遺伝子の解析 日本植物生理学会第57回年会 岩手大学、3月18日
48. 佐々木(関本) 結子, 近藤智, 堀孝一, 小林厚子, 信澤岳, 下嶋美恵, 太田啓之 (2016) 気生藻類 *Klebsormidium flaccidum* が陸上条件で形成する表層脂質層の解析 日本植物生理学会、岩手大学、3月18日
49. 信澤岳, 堀孝一, 森浩史, 黒川顕, 太田啓之 (2016) ナンノクロロプシス油脂の質的改変を目指した油脂生合成系の解析 日本植物生理学会、岩手大学、3月18日
50. 遠藤嘉一郎, 小林康一, 和田 元 (2016) Functional analysis of anionic lipids with a sulfoquinovosyldiacylglycerol-deficient mutant of *Thermosynechococcus elongatus* BP1、日本植物生理学会、岩手大学、3月18-20日
51. 小林康一, 遠藤嘉一郎, 藤井祥, 和田 元 (2016) Specific roles and functional overlaps of thylakoid lipids in Arabidopsis、日本植物生理学会、岩手大学、3月18-20日
52. 藤井祥, 小林康一, 増田建, 和田 元 (2016) Monogalactosyldiacylglycerol synthesis in the dark contributes to etiolation and chloroplast differentiation of Arabidopsis、日本植物生理学会、岩手大学、3月18-20日.
53. 大林武, 青木裕一, 岡村容伸, 田高周, 木下賢吾 (2016) Meta-analysis of gene coexpression in ATTED-II toward species-specific coexpression analyses、日本植物生理学会年会、岩手大学(岩手) 3月17日

54. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾 (2016) Identification of Genomic Features Associated with Gene Coexpression in *Arabidopsis thaliana* 日本植物生理学会年会、岩手大学(岩手) 3月17日
55. 佐藤直樹, 柴崎祥太, 岡咲洋三, 斎藤和季 (2016)  $^{13}\text{C}$  を用いた細胞内脂質分子種代謝の研究. 日本植物生理学会. 岩手大学, 盛岡, 3月18-20日
56. 森山崇, 佐藤直樹 (2016) 紅藻シアニジオシゾンにおける従属栄養培養による生理的变化の解析. 日本植物生理学会. 岩手大学, 盛岡, 3月18-20日
57. 毛利奈津美, 森山崇, 豊島正和, 佐藤直樹 (2016) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* における単離葉緑体を用いた脂質合成系の解析. 日本植物生理学会. 岩手大学, 盛岡, 3月18-20日
58. 和田元, 小林康一, 遠藤嘉一郎, 安部真人, 三芳秀人 (2016) なぜ細胞には多種・多様な脂質分子種が存在するのか? 光合成の場であるチラコイド膜のPGに注目して. 植物脂質シンポジウム. 大阪大学, 大阪, 11月25日-26日
59. 藤井祥, 小林康一, 中村友輝, 小林恵, 永田典子, 増田建, 和田元 (2016) 脂質合成の人工制御により明らかとなった植物の色素体発達におけるガラクト脂質の役割. 植物脂質シンポジウム. 大阪大学, 大阪, 11月25日-26日
60. 佐藤直樹, 森山崇, 豊島正和, 齋藤勝和, 和田元 (2016) 非存在を証明するのは無理だが... クラミドモナスにおける脂質顆粒の局在. 日本植物脂質研究会. 大阪大学, 豊中 11月25-26日
61. 下嶋美恵 (2017) リン欠乏下の植物葉における油脂蓄積機構の解明とその応用 「光合成科学: エネルギーとバイオマス」 東京工業大学, 横浜 1月28日
62. 信澤岳 (2017) ナンノクロロプシスの油脂生合成において油滴表層が重要な場である 「光合成科学: エネルギーとバイオマス」 東京工業大学, 横浜 1月28日
63. 岩井雅子, 大島由衣, 下嶋美恵, 太田啓之 (2017) 栄養欠乏条件下での *Chlamydomonas reinhardtii* のTAG合成とリゾ脂質 日本植物生理学会, 鹿児島大学, 3月16日-18日
64. 遠藤嘉一郎, 小林康一, 安部真人, 三芳秀人, 和田元 (2017) PGにおける *sn-2* の脂肪酸の改変がシアノバクテリアの生育に及ぼす影響. 日本植物生理学会. 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
65. 大林武, 青木裕一, 岡村容伸, 田高周, 木下賢吾. 「Sample Alignment of Different Species toward Species-Specific Coexpression Analyses」, 日本植物生理学会年会, 2017年3月16日, 鹿児島大学(鹿児島)
66. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. Impact of Evolutionary Age on Gene Coexpression and Core Promoter Architecture in *A.thaliana*. 日本植物生理学会年会, 2017年3月16日, 鹿児島大学(鹿児島)
67. 佐藤直樹, 森山崇, 豊島正和, 齋藤勝和, 毛利奈津美, 平嶋孝志, 和田元 (2017) «Impossible de prouver la négative ... » Absence of oil body in the chloroplast in *Chlamydomonas reinhardtii*. 日本植物生理学会, 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
68. 豊島正和, 佐藤直樹 (2017) Metabolic analysis of lipids and starch in *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212. 日本植物生理学会, 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
69. 毛利奈津美, 森山崇, 豊島正和, 佐藤直樹 (2017) Lipid Synthesis from [ $^{14}\text{C}$ ]bicarbonate in isolated plastids in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. 日本植物生理学会, 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
70. 森山崇, 佐藤直樹 (2017) Characterization of Heterotrophic Growth in the Red Alga *Cyanidioschyzon merolae*. 日本植物生理学会, 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
- 【国際会議】
1. Shimojima, M., Madoka, Y., Shimomura, Y., Murakawa, M., Yamamichi, K., Koizumi R., Endo, K., Ozaki, K., Ohta, H. (2012) Dynamic changes in glycerolipid metabolism under phosphate-starved conditions. *The 20th International Symposium on Plant Lipids*, Seville (Spain), July 8-13.



2. Wada, H, Tanoue, R., Katayama, K., Tanabashi, S., Kobayashi, M, Nagata, N., Akbari, H. and Frentzen, M. (2012) Requirement of phosphatidylglycerol for development of embryo and chloroplast in *Arabidopsis*. The 20th International Symposium on Plant Lipids, Seville (Spain), July 8–13.
3. Sato, N., Sakurai, K., Okazaki, Y. and Saito, K. (2012) Refined isotopomer labeling analysis of lipid-linked epimerization and desaturation of glyceroglycolipids in cyanobacteria, *The 20th International Symposium on Plant Lipids*, Seville (Spain), July 8–13,.
4. Shimojima, M. (2013) The crucial role of phosphatidic acid phosphohydrolases PAH1/PAH2 in triacylglycerol accumulation in leaves. *Gordon Research Conference, Plant Lipids: Structure, Metabolism & Function*. Galveston, TX.
5. Sato, N. (2013) Discontinuity in cyanobacterial and plastid evolution: Lipids and DNA polymerase, International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis, Halifax (Canada), August 18–22.
6. Sato, N. (2013) Enigmatic origin and evolution of cyanobacterial photosynthesis: lipids vs photosystems and pigments, International Biogeoscience Conference, Nagoya, November 2–4.
7. Kobayashi, K. (2014) Coordination of galactolipid synthesis with formation of photosynthetic complexes and organelle differentiation. The 21st Symposium on Plant Lipids, Guelph (Canada), July 6–11.
8. Koichi Kobayashi, Sho Fujii and Hajime Wada, (2014) Role of phosphatidylglycerol in chloroplasts, The 21st Symposium on Plant Lipids, Guelph (Canada), July 6–11,.
9. Takeshi Obayashi, Satoshi Ito, Yuichi Aoki, Yasunobu Okamura, Shu Tadaka and Kengo Kinoshita (2014) "Codon-usage is a universal assessment measure of gene coexpression", ISMB 2014, Boston USA, July 13–15,
10. Yasunobu Okamura, Takeshi Obayashi and Kengo Kinoshita (2014) "Classify RNA-seq runs as origin organs or other features by using machine learning", ISMB 2014, Boston USA, July 13–15,.
11. Yasunobu Okamura, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita (2014) "RNA-seq profile classification by machine learning", GIW 2014, Tokyo, December 15–18
12. Shu Tadaka, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita (2014) "Detection of functional modules in protein networks by near-clique extraction", GIW 2014, Tokyo, December 15–18,
13. Natsumi Mori, Takashi Moriyama, Koh-suke Sekine and Naoki Sato (2014) "Analysis of subcellular localization of lipid metabolism enzymes in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*", International Symposium on Plant Lipids、グエルフ(カナダ)、7月6日–11日
14. Tomokazu Kurita, Takahiro Ishizuka, Won-Yong Song, Sunghoon Jang, Youngsook Lee, Ikuo Nishida (2015) An attempt to improve gene targeting by increasing homologous recombination efficiency in *Chlamydomonas reinhardtii*, Gordon Research Conference on Plant Lipids、Galveston、2月1-6日
15. Sato, N., Hirashima, T., Moriyama, T. and Toyoshima, M. (2016) Phosphatidylcholine biosynthesis in *Chlamydomonas*. The 22nd International Symposium on Plant Lipids, ゲッティンゲン(ドイツ)7月3–8日
16. Sato, N., Toyoshima, M., Hirashima, T., Mori, N., Saitoh, M., and Wada, H. (2016) Non-endosymbiotic origin of triacylglycerol accumulation: a model of "chloroplast oil body" in *Chlamydomonas reinhardtii*. The 13th International Colloquium on Endocytobiology and Symbiosis. 京都, 9月10–14日

③ ポスター発表 (国内会議 67 件、国際会議 36 件)

【国内会議】

1. 人見英敏、下嶋美恵、太田啓之 (2012) 緑藻クラミドモナスのホスファチジン酸ホスホヒドロラーゼの機能解析 日本植物生理学会年会 京都 3月18日

2. 森山崇、関根康介、佐藤直樹 (2012) 単細胞紅藻シアニジオシゾンにおける炭素代謝経路の解析 日本植物生理学会年会、京都 3月18日
3. 田上遼、小林恵、片山健太、永田典子、和田元 (2012) シロイヌナズナの胚におけるリン脂質の生合成  $^{32}\text{P}$ i用いたリン脂質標識による解析、植物脂質科学研究会、甲南大学、2012年11月30日-12月1日
4. Satoshi Ito, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita (2012) Discovery of cis-regulatory elements using a gene coexpression、生命医薬情報学連合大会 2012、船堀、10月15~17日
5. 佐藤直樹 (2012) 生命がもつ駆動力としての不均一性を物質生産につなげる鍵としての創発性、日本光合成学会、横浜、6月1日-2日
6. 櫻井健太、佐藤直樹 (2012) 独立栄養条件下で培養したクラミドモナスの脂質成分に対する窒素源の影響、日本光合成学会、横浜、6月1日-2日
7. 櫻井健太、佐藤直樹 (2012) 光独立栄養条件下で培養したクラミドモナスの脂質成分への窒素源の影響、日本植物脂質科学研究会、神戸、11月31日-12月1日
8. 佐藤直樹 (2012) 藻類による物質生産に創発性を如何に組み込むか「細胞を創る」研究会、横浜、11月21-22日
9. 田上遼、増田建、小林康一、和田元 (2013) シロイヌナズナにおけるホスファチジルグリセロールの合成以上が光合成に与える影響、日本植物生理学会、岡山大学、3月21日-23日
10. 遠藤嘉一郎、水澤直樹、和田元 (2013) ホスファチジルグリセロールの結合部位の改変が光科学系IIに及ぼす影響、日本植物生理学会、岡山大学 3月21日-23日
11. 山本弘貴、齋藤勝和、小林康一、和田元 (2013) クラミドモナスにおける脂質蓄積機構に関する研究、日本植物生理学会、岡山大学 3月21日-23日
12. 大林武、岡村容伸、伊藤聡史、田高周、青木裕一、木下賢吾. (2013) 「ATTED-II: 植物の遺伝子共発現データベース」トーゴの日シンポジウム2013. 年10月4日、時事通信ホール
13. Okamura, Y., Tadaka, S., Obayashi, T., Kinoshita, K., (2013) "Hyokai: The fast table viewer for big data analysis" 第2回生命医薬情報学連合大会、タワーホール船橋(東京)、2013年10月29-31日
14. Tadaka, S., Okamura, Y., Obayashi, T., Kinoshita, T., "ATTED-II meets the Semantic Web" 第2回生命医薬情報学連合大会、タワーホール船橋(東京)、2013年10月29-31日
15. Okamura, Y., Obayashi, T., Kinoshita, K. (2013) "Gene network and gene module prediction based on coexpression conservation" 第36回日本分子生物学会年会、神戸、2013年12月4日
16. Tadaka, S., Obayashi, T., Kinoshita, K. (2013) "NCMine: a novel method for exploring clusters in biological networks" 第36回日本分子生物学会年会、神戸、2013年12月3日
17. Hemmi, F., Okamura, Y., Numakura, K., Shirota, M., Obayashi, T., Kinoshita, K. (2013) "Characteristics of triplet repeat sequences produced by next generation sequencer" 第36回日本分子生物学会年会、神戸、2013年12月3日
18. Ito, S., Obayashi, T., Kinoshita, K. (2013) "Predicting gene coexpression from codon usage" 第36回日本分子生物学会年会、神戸、2013年12月5日
19. 紙透祥吾、山岡 靖代(ポハン工科大)、藤木 友紀(埼玉大学理工学研究科)、Youngsook Lee(ポハン工科大)、西田生郎 (2014) クラミドモナスにおける貯蔵脂質生合成関連遺伝子の同定と解析、第27回植物脂質シンポジウム、静岡市産業交流センター、6階プレゼンテーションルーム、2014年11月28日
20. 石塚 嵩広、西田生郎 (2014) Oleosin 発現クラミドモナスにおける Lipid Droplet の解析、日本植物学会第78回大会、明治大学、生田キャンパス、2014年9月12日
21. Kobayashi, K., Endo, K., Hori, H., Fujii, S., Niyogi, K. and Wada, H., (2014) "Photosynthetic characteristics of phosphatidylglycerol-deficient Arabidopsis mutant", 日本植物生理学会、富山大学、3月18日~20日
22. 遠藤嘉一郎、水澤直樹、沈建仁、山田聖人、鞆達也、小林康一、和田元、(2014) ホスファチ

ジルグリセロール結合部位の改変が光化学系 II に及ぼす影響、日本植物生理学会、富山大学、3月18日～20日

23. 小林康一、藤井祥、堀遙香、和田元 (2014) シロイヌナズナの葉緑体バイオジェネシスにおける酸性膜脂質の役割、日本植物学会、明治大学、9月13日
24. 遠藤嘉一郎、水澤直樹、沈建仁、山田聖人、鞆達也、小松悠久、小林正美、小林康一、和田元 (2014) ホスファチジルグリセロール結合部位の改変が光化学系 II に及ぼす影響、日本植物脂質シンポジウム、静岡市産学交流センター、11月29日.
25. 藤井祥、小林康一、中村友輝、和田元 (2014) MGDG 合成の誘導的抑制系を用いて緑化初期の植物の細胞内小器官分化を解明する 日本植物脂質シンポジウム、静岡市産学交流センター、11月29日
26. 青木裕一、伊藤聡史、岡村容伸、田高周、大林武、木下賢吾 (2014) 「ゲノム情報に基づく遺伝子共発現ネットワークの予測」、仙台国際センター(宮城県)、生命医薬情報連合大会 2014、年 10 月 03 日
27. 青木裕一、伊藤聡史、岡村容伸、田高周、大林武、木下賢吾 (2014) 「Exploring genomic features associated with the gene coexpression in *Arabidopsis thaliana*」、パシフィコ横浜(神奈川県)、第 37 回 日本分子生物学会、年 11 月 25 日
28. 岡村容伸、大林武、木下賢吾 (2014) 「機械学習を用いた遺伝子発現プロファイルの分類」、生命医薬情報連合大会 2014、仙台国際センター(宮城県)、10 月 03 日
29. 田高周、大林武、木下賢吾 (2014) 「NCMine: 相互作用ネットワーク内の機能モジュール検出のための新規手法の開発」、生命医薬情報連合大会 2014、仙台国際センター(宮城県)、10 月 03 日
30. 岡野悠太郎、青木裕一、大林武、木下賢吾 (2014) 「Elucidation of core-attachment structure in the human HPA-axis by interspecies comparison of CRF gene family from the viewpoints of genotypic composition and gene expression」、第 37 回日本分子生物学会、11 月 26 日
31. 櫻井健太、佐藤直樹 (2014) 緑藻クラミドモナスのホスファチジルコリンに関する研究、日本植物生理学会、富山、3月17-19日。
32. 森山崇、佐藤直樹 (2014) 紅藻シアニジオシゾンにおける細胞内局在解析に基づいた炭素代謝経路図の作製、日本植物生理学会、富山、3月17-19日。
33. 毛利奈津美、森山崇、関根康介、豊島正和、佐藤直樹 (2014) 紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の脂質代謝関連酵素の網羅的解析. 日本植物脂質研究会. 静岡市産学交流センター、静岡. 11月28-29日
34. 豊島正和、佐藤直樹 (2014) *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212 における脂質蓄積と脂肪酸組成の解析. 日本植物脂質研究会. 静岡市産学交流センター、静岡. 11月28-29日
35. 山田達也、栗田朋和、佐藤直樹、西田生郎 (2015) リン脂質ホスファチジルコリン蓄積緑藻 *Chlamydomonas asymmetrica* における油脂蓄積条件の検討と油脂増産株作出の試み、第 28 回植物脂質シンポジウム、上智大学、紀尾井坂ビル 5 階、2015 年 9 月 10 日
36. 栗田朋和、石塚嵩広、Won-Yong Song (ポハン工科大), Sunghoon Jang (ポハン工科大), Youngsook Lee (ポハン工科大), 西田生郎 (2015) *Chlamydomonas reinhardtii* における相同組み換えによる遺伝子破壊・改良と脂質合成系遺伝子破壊株単離の試み、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、2015 年 3 月 18 日
37. 紙透祥吾、栗田朋和、山岡靖代(ポハン工科大), Lee Youngsook (ポハン工科大), 西田生郎 (2015) Analysis of a gene for endoplasmic reticulum-localized lysophosphatidic acid acyltransferase in *Chlamydomonas reinhardtii*, 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、2015 年 3 月 18 日
38. 遠藤嘉一郎、小林康一、和田元 (2015) 好熱性シアノバクテリアにおける酸性脂質の機能、植物脂質シンポジウム、上智大学、9月9日
39. 藤井祥、小林康一、和田元 (2015) 植物の色素体分化における MGDG 合成の役割、植物脂質シンポジウム、上智大学、9月9日

40. 齊藤勝和, 遠藤嘉一郎, 小林康一, 渡辺麻衣, 池内昌彦, 村上明男, 村田紀夫, 和田元 (2015) ミリスチン酸を多量に含むシアノバクテリアに関する研究、植物脂質シンポジウム、上智大学、9月9日。
41. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾 (2015) 微細藻類の遺伝子共発現データベース ALCOdb の構築と光合成研究への応用、第6回日本光合成学会年会、岡山国際交流センター(岡山)、5月22日
42. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾、(2015) ALCOdb を用いたクラミドモナスの遺伝子共発現解析、第12回クラミドモナス研究会、中央大学理工学部(東京)、9月3日
43. Aoki, Y., Obayashi, T., Kinoshita, K. (2015) Relationship Analysis between 3D Genome Architecture and Gene Coexpression、生命医薬情報連合大会 2015、京都大学宇治キャンパス(京都)、10月30日
44. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾 (2015) 藍藻の遺伝子共発現データベース構築の現状と課題 藍藻の分子生物学 2015 かずさアカデミアホール(千葉) 11月16日
45. 青木裕一, 大林武, 木下賢吾 (2015) スクレオソーム配置状態の動的変化と遺伝子共発現の関係性 第38回日本分子生物学会年会 神戸ポートアイランド(神戸) 12月1日
46. 豊島正和, 佐藤直樹 (2015) *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212 における光独立栄養条件下でのトリアシルグリセロールの蓄積. 日本植物生理学会. 東京農業大学, 東京, 3月16-18日
47. 森山崇, 毛利奈津美, 佐藤直樹 (2015) 紅藻シアニジオシゾンにおける生理活性に対する有機物の添加効果の解析. 日本植物生理学会. 東京農業大学, 東京, 3月16-18日
48. 豊島正和, 佐藤直樹 (2015) 緑藻 *Chlamydomonas debaryana* NIES-2212 を用いた効率的な油脂生産のための培養条件の検討. 日本植物脂質研究会. 上智大学, 東京. 9月9-10日
49. 平嶋孝志, 森山崇, 豊島正和, 佐藤直樹 (2015) Analysis of a pathway for phosphatidylcholine biosynthesis in the green alga *Chlamydomonas applanata* NIES-2202. 日本生化学会. 神戸, 12月1-3日
50. 栗田朋和, 石塚嵩広, Won-Yong Song (ポハン工科大), Sunghoon Jang (ポハン工科大), Youngsook Lee (ポハン工科大), 西田生郎 (2016) An attempt to improve homologous recombination efficiency and its application to construction of DGTS synthase gene, *BTAI* suppression mutants in *Chlamydomonas reinhardtii*、第57回植物生理学会年会、岩手大学、上田キャンパス 3月16日
51. 石塚嵩広, 栗田朋和, 西田生郎 (2016) オレオシン発現クラミドモナスの解析、第57回植物生理学会年会、岩手大学、上田キャンパス 3月16日
52. 鬼沢あゆみ, 日原由香子 (2016) 「シアノバクテリアにおける LexA 転写因子による脂肪酸合成系制御機構」、第7回日本光合成学会、東京理科大学葛飾キャンパス、5月28日
53. 山田達也, 栗田朋和, 佐藤直樹, 西田生郎 (2016) *Chlamydomonas asymmetrica* の油脂生産におけるシロイヌナズナ *PDAT1* 遺伝子発現の効果、日本植物学会、沖縄、9月16日-19日
54. 栗本優美, 中村篤大, 田高周, 大林武, 木下賢吾. 「相対 BitScore を用いた分子共進化法の開発」 第16回日本蛋白質科学会、2016年6月8日、福岡国際会議場(福岡).
55. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. "Effect of Nucleosome Positioning on Gene Co-expression Network in *Arabidopsis thaliana*", 第34回日本植物細胞分子生物学会大会, 2016年9月3日, 信州大学(上田)
56. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. "Impact of evolutionary age on gene coexpression network architecture", 第5回生命医薬情報学連合大会, 2016年9月29日, 東京国際交流館プラザ平成(東京)
57. 信澤岳, 堀孝一, 森宙央, 黒川頭, 太田啓之 (2016) ナンノクロプシスの油脂生合成において油滴表層が重要な場である、日本植物脂質シンポジウム、大阪大学、11月25日-26日

58. 岩井雅子, 大島由衣, 下嶋美恵, 太田啓之 (2016) 栄養欠乏条件における緑藻クラミドモナスのリゾ脂質の変動、日本植物脂質シンポジウム、大阪大学、11月25日-26日
59. 栗田朋和, 村井将也, 紙透祥吾, 山岡靖代, Youngsook Lee, 西田生郎 (2016) 緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* の小胞体型 GPAT と LPAAT の解析、大阪、日本植物脂質シンポジウム、11月25日-26日
60. 山田達也, 栗田朋和, 佐藤直樹, 西田生郎 (2016) *Chlamydomonas asymmetrica* の油脂生産におけるシロイヌナズナ *PDAT1* 遺伝子発現の効果、大阪、日本植物脂質シンポジウム、11月25日-26日
61. 遠藤嘉一郎, 安部真人, 三芳秀人, 小林康一, 和田元 (2016) PG における *sn-2* の脂肪酸種の改変がシアノバクテリアの生育に及ぼす影響. 日本植物脂質シンポジウム. 大阪大学, 大阪, 11月25-26日
62. 平嶋孝志, 豊島正和, 森山崇, 佐藤直樹 (2016) 緑藻におけるホスファチジルコリン合成系とその進化. 日本植物脂質シンポジウム. 大阪大学, 豊中. 11月25-26日
63. 栗田朋和, 石塚嵩広, 三戸部耀太, 西田生郎 (2017) Expression of the amino-terminal portion of *Arabidopsis thaliana* Oleosin 2 (OLE2N) enhances TAG accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* under phosphorus-limited condition、日本植物生理学会、鹿児島、3月16日-18日
64. 山田達也, 栗田朋和, 西田生郎 (2017) Expression of Phosphatidylcholine (PC) biosynthesis genes in *Chlamydomonas reinhardtii* induces triacylglycerol (TAG) production、日本植物生理学会、鹿児島、3月16日-18日
65. 倉持里佳子, 片山光徳, 遠藤嘉一郎, 石井麻子, 河合(久保田)寿子, 小林康一, 皆川純, 和田元, 水澤直樹 (2017) His タグを付加した CP47 変異株を用いた *Anabaena* sp. PCC 7120 光化学系 II 複合体の精製とその特性. 日本植物生理学会. 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
66. 松原真由, 遠藤嘉一郎, 沈建仁, 石井麻子, 小林康一, 和田元, 水澤直樹 (2017) ホスファチジルグリセロール分子と相互作用する D1-R140 への部位特異的変異が光化学系 II の機能に与える影響. 日本植物生理学会. 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日
67. 平嶋孝志, 豊島正和, 森山崇, 佐藤直樹 (2017) Evolution of phosphatidylcholine biosynthetic pathway in green algae. 日本植物生理学会, 鹿児島大学, 鹿児島, 3月16-18日

【国際会議】

1. Kurita, T., Kamisuki, S., Ishizuka, Yuki Fujiki, Ikuo Nishida, Analysis of Genes Related to Storage Lipid Synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*, 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Gwangju, 11月29-12月1日 2013
2. Fujii, S., Kobayashi, K., Niyogi, K. K., Nakamura Y., and Wada, H., Inducible knockdown of MGD1 in Arabidopsis, The 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Gwangju (Korea), November 29-December 1, 2013.
3. Kobayashi, K., Endo, K., Hori, H., ShoFujii, Niyogi K., and Hajime Wada, Role of phosphatidylglycerol in Arabidopsis chloroplasts, The 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Gwangju (Korea), November 29-December 1, 2013.
4. Tanoue, R., Kobayashi, M., Katayama, K., Nagata, N. and Wada, H. (2012) Biosynthesis of phosphatidylglycerol is essential for the development of thylakoid membranes. *The 20th International Symposium on Plant Lipids*, Seville (Spain), July 8-13.
5. Okamura, Y., Obayashi, T., Kinoshita, K. "Functional gene network prediction based on conservation of gene expression patterns." 21st Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, 2013年7月23日, Berlin, Germany
6. Kurita T, Analysis of Genes Related to Storage Lipid Synthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*, 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Kimdeejung Convention center, Gwangju, Korea, 2013年11月29日-12月1日



7. Kizawa A, Kawahara A, Hihara Y “Identification of transcriptional factors regulating fatty acid biosynthesis in cyanobacteria” 15th International Symposium on Phototrophic Prokaryotes, Eberhard-Karls-Universität, Tübingen, Germany, 2015/8/4
8. Kurita T, Nishida I (2015) An attempt to improve gene targeting by increasing homologous recombination efficiency in *Chlamydomonas reinhardtii*, Gordon Research Conference on Plant Lipids, Hotel Galvez, Texas, 2015年2月2日-3日
9. Kizawa A, Kawahara A, Hihara Y “Identification of transcriptional factors regulating fatty acid biosynthesis in cyanobacteria” The German-Japanese Binational Seminar, Kampo no Yado Atami, Atami, Japan, 2015/3/24
10. Ryo Tanoue, Megumi Kobayashi, Kenta Katayama, Noriko Nagata and Hajime Wada, Biosynthesis of phosphatidylglycerol is essential for the development of thylakoid membranes. The 20th International Symposium on Plant Lipids, Seville (Spain), July 8-13, 2012.
11. Sho Fujii, Koichi Kobayashi, Krishna K. Niyogi, Yuki Nakamura and Hajime Wada, Inducible knockdown of MGD1 in Arabidopsis, The 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Gwangju (Korea), November 29-December 1, 2013.
12. Koichi Kobayashi, Kaichiro Endo, Haruka Hori, Sho Fujii, Krishna K. Niyogi and Hajime Wada, Role of phosphatidylglycerol in Arabidopsis chloroplasts, The 5th Asian Symposium on Plant Lipids, Gwangju (Korea), November 29-December 1, 2013.
13. Koichi Kobayashi, Sho Fujii and Hajime Wada, Role of phosphatidylglycerol in chloroplasts, The 21st Symposium on Plant Lipids, Guelph (Canada), July 6-11, 2014.
14. Kaichiro Endo, Koichi Kobayashi and Hajime Wada, Function of anionic lipids clarified with an SQDG-deficient mutant of *Thermosynechococcus elongatus* BP-1, The 22nd Symposium on Plant Lipids, Göttingen (Germany), July 3-8, 2016.
15. Sho Fujii, Koichi Kobayashi, Megumi Kobayashi, Noriko Nagata, Tatsuru Masuda and Hajime Wada, Role of MGDG in development of chloroplasts from etioplasts in Arabidopsis, The 22nd Symposium on Plant Lipids, Göttingen (Germany), July 3-8, 2016.
16. Yasunobu Okamura, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. “Functional gene network prediction based on conservation of gene expression patterns.” 21st Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, 2013年7月23日, Berlin, Germany
17. Takeshi OBAYASHI, Satoshi Ito, Yuichi Aoki, Yasunobu Okamura, Shu Tadaka and Kengo Kinoshita “Codon-usage is a universal assessment measure of gene coexpression”, ISMB 2014, Boston USA, July 13-15, 2014
18. Yasunobu Okamura, Takeshi OBAYASHI and Kengo Kinoshita “Classify RNA-seq runs as origin organs or other features by using machine learning”, ISMB 2014, Boston USA, July 13-15, 2014.
19. Yasunobu Okamura, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita, “RNA-seq profile classification by machine learning”, GIW 2014, Tokyo, December 15-18, 2014
20. Shu Tadaka, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita, “Detection of functional modules in protein networks by near-clique extraction”, GIW 2014, Tokyo, December 15-18, 2014
21. Y Aoki, T Obayashi, and K Kinoshita ALCOdb: a gene coexpression database for microalgal species. 23rd Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, Dublin, Ireland, 2015年7月13日
22. Obayashi T, Ito S, Aoki Y Okamura Y, Tadaka S, Kinoshita K “Codon-usage is a universal assessment measure of gene coexpression” 22nd Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, Boston, 2014年07月13-15日
23. Kurita T (2016) *Arabidopsis* Phospholipid: Diacylglycerol Acyltransferase Expression Enhances TAG Accumulation Under Non-stress Condition in *Chlamydomonas asymmetrica*, a Phosphatidylcholine-producing Green Alga, 22<sup>nd</sup> International Symposium on Plant Lipids, Göttingen, Germany, 7月3日-8日

24. Murai S, Nishida I Characterization of ER-localized GPAT and LPAAT in *Chlamydomonas reinhardtii*, 22<sup>nd</sup> International Symposium on Plant Lipids, Gottingen, Germany, 2016年7月3日-8日
25. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. 「Gene Coexpression Analysis of Chlamydomonas by Using ALCOdb」, 17th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas, 2016年6月28日, 京都国際会館(京都).
26. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. 「Involvement of evolutionary age in transcription factor mediated gene regulatory network」, Intelligent Systems for Molecular Biology 2016 RegGenSIG, 2016年7月8日, Orlando, Florida.
27. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. 「Gene age determines the fundamental structure of the gene coexpression network」, Intelligent Systems for Molecular Biology 2016, 2016年7月11日, Orlando, Florida.
28. Yuichi Aoki, Takeshi Obayashi, Kengo Kinoshita. 「Impact of Evolutionary Age on Gene Co-expression Network Architecture in Arabidopsis thaliana」, The 3rd CWRU-Tohoku Joint workshop Collaboration on Data Science Engineering, Tohoku University, 2016年8月9日
29. Toyoshima, M. and Sato, N. (2015) High production of TAG in photoautotrophically grown *Chlamydomonas debaryana*. The 6th Asian Symposium on Plant Lipids. シンガポール, 12月2-4日
30. Sato, N. and Toyoshima, M. (2016) Accumulation and localization of oil bodies in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Chlamydomonas debaryana*. The 17th International Conference on the Cell & Molecular Biology of *Chlamydomonas*. 京都, 6月26日-7月1日
31. Kurita T, Yamada T, Sato N, Nishida I, Arabidopsis Phospholipid: Diacylglycerol Acyltransferase Expression Enhances TAG Accumulation Under Non-stress Condition in *Chlamydomonas asymmetrica*, a Phosphatidylcholine-producing Green Alga, 22<sup>nd</sup> International Symposium on Plant Lipids, Gottingen, Germany, 2016年7月3日-8日
32. Murai S, Kamisuki S, Yamaoka Y, Kurita T, Youngsook Lee, Nishida I, Characterization of ER-localized GPAT and LPAAT in *Chlamydomonas reinhardtii*, 22<sup>nd</sup> International Symposium on Plant Lipids, Gottingen, Germany, 2016年7月3日-8日
33. Sato, N., Toyoshima, M., Saitoh, M. and Wada, H. (2016) Is oil body present within the chloroplast in *Chlamydomonas reinhardtii*? The 22<sup>nd</sup> International Symposium on Plant Lipids, ゲッティンゲン(ドイツ), 7月3-8日
34. Hirashima, T., Moriyama, T., Toyoshima, M. and Sato, N. (2016) Phosphatidylcholine biosynthetic pathways in four *Chlamydomonas* species. ゲッティンゲン(ドイツ), 7月3-8日
35. Kurita T, Ishizuka, Nishida I, Effect of expression of the amino-terminal portion of Arabidopsis thaliana Oleosin 2 (OLE2N) in *Chlamydomonas reinhardtii* for TAG accumulation under phosphorus-limited condition, Gordon Research Conference on Plant Lipids, Hotel Galvez, Texas, 2017年1月29日-2月3日

#### (4)知財出願

##### ① 国内出願 (8件)

1. 太田啓之、下嶋美恵、円由香 融合遺伝子、ベクター、トランスジェニック植物、植物油脂の製造方法、トランスジェニック植物の作出方法、およびトランスジェニック植物の作出用キット 特願 2013-177774
2. 岩井雅子、下嶋美恵、太田啓之 トリアシルグリセロール高生産性藻類の作製法 特願 2014-49651
3. 太田啓之、河野雅弘、岩瀬篤郎、天野有里子、下嶋美恵 藻類油脂の抽出方法、及び超音波処理装置 特願 2015-000784
4. 園池由香子・鬼沢あゆみ・川原彰人、改変シアノバクテリア、国立大学法人埼玉大学・花王(株)、H26.12.22、特願 2014-258493

5. 西田生郎、栗田朋和、石塚嵩広、藻類に貯蔵される油脂の蓄積量を増大させるペプチドおよびその使用、国立大学法人埼玉大学、2016年2月24日、特願 2016-32608
  6. 西田生郎、栗田朋和、山田達也、佐藤直樹、藻類における油脂蓄積量の増加方法、国立大学法人埼玉大学、2016年4月22日、特願 2016-85912
  7. 末次舞、小川晃範、花王株式会社、エポキシ脂肪酸化合物を生産する微細藻類、H26.11.26、特願 2014-238569
  8. 末次舞、小川晃範、大矢直樹、微細藻類を用いた水酸化脂肪酸化合物の製造方法、花王株式会社、H27.7.8、特願 2015-137279
- ② 海外出願 (3件)
1. 太田啓之、下嶋美恵、円由香 融合遺伝子、ベクター、トランスジェニック植物、植物油脂の製造方法、トランスジェニック植物の作出方法、およびトランスジェニック植物の作出用キット PCT/JP2014/72296
  2. 岩井雅子、太田啓之、下嶋美恵 トリアシルグリセロール高生産性藻類の作製法 PCT/JP2015/057302
  3. 微細藻類を用いた水酸化脂肪酸化合物の製造方法、末次舞、小川晃範、大矢直樹、花王株式会社、主張日 H26.12.29、主張番号 62/097,318、優先権主張国 US

(5)受賞・報道等

① 受賞

1. 大林武 Oxford Journals - Japanese Society for Bioinformatics Prize, 2013 「遺伝子共発現法を用いた遺伝子機能予測プラットフォームの開発」10月31日
2. 大林武 DBCLS オープン・サイエンス・アワード データベース部門 審査員特別賞, 2013 COXPRESdb / ATTED-II
3. T Obayashi, K Kinoshita, Most cited paper award 2013 “Takeshi Obayashi and Kengo Kinoshita (2010) Coexpression landscape in ATTED-II: usage of gene list and gene network for various types of pathways. J. Plant Res. 123: 311-319”, 9月14日
4. 大林武、日本植物生理学会奨励賞「遺伝子共発現法に基づく遺伝子機能推定プラットフォームの開発」、2014年3月19日
5. 小林康一、日本植物学会奨励賞、2014年9月13日
6. 大林武 2014年度船井学術賞「遺伝子発現量データに基づく遺伝子機能予測手法の開発と大規模実装」
7. 大林武 平成27年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞「遺伝子発現量データに基づく遺伝子機能の網羅的予測法の研究」2015年4月15日
8. 小林康一、文部科学大臣表彰（若手科学者賞）、2015年4月15日
9. 堀孝一 太田啓之 他 平成26年度手島精一記念研究賞(研究論文賞)  
Klebsormidium flaccidum genome reveals primary factors for plant terrestrial adaptation  
*Nature Commun*
10. 日原由香子 *Journal of Plant Research (JPR)* Most-Cited Paper 賞 日本植物学会  
2015年9月7日

② マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 講談社ヘルス&ビューティー・レビュー、植物がもたらす光と恩恵を知る、2012年3月号
2. 藻類から陸上植物への進化をつなぐ車軸藻植物のゲノム配列を解読 (記者発表)  
—植物の陸上進出の謎を解明するための大きな道開く—
3. 「Genome analysis reveals how algae evolved into land plants」Hiroyuki Ohta  
*Phys. org* May 28, 2014,
4. 「How algae evolved into green plants - new research」Hiroyuki Ohta, *Algae Industry Magazine.com* June 2, 2014,
5. 日経バイオテク ONLINE 平成26年5月30日

「藻類から陸上植物への進化をつなぐ車軸藻植物のゲノム配列を解説」 太田啓之、黒川顕

6. 財経新聞[ウェブ] 平成 26 年 5 月 31 日  
「藻類から陸上植物への遺伝子進化示す」 太田啓之、黒川顕
7. マイナビニュース 平成 26 年 6 月 1 日  
「藻類から陸上植物への遺伝子進化示す」 太田啓之、黒川顕
8. 化学工業日報 平成 26 年 6 月 6 日  
「藻類から陸上植物への遺伝子進化示す」 太田啓之、黒川顕
9. 日本経済新聞 平成 26 年 6 月 22 日  
ナゾ謎かがく「海から陸へ 植物どう進化」 太田啓之
10. NHK ラジオ第 1 平成 26 年 8 月 4 日 17:30~17:45  
私も一言！夕方ニュース「植物たちの上陸作戦 飛躍を実現した遺伝子とは」  
太田 啓之
11. 雑誌「ケトル」 VOL. 20 平成26年 8 月12日出版  
日本最先端の頭の中身 VOL. 19 太田啓之
12. 藻類の栄養欠乏応答性プロモーターによる脂質蓄積強化を実現（プレス発表）
13. 日経産業新聞 平成 26 年 6 月 16 日  
藻類油脂ためやすく-バイオ燃料効率生産に道- 太田啓之
14. 科学新聞 平成 26 年 6 月 26 日  
油脂蓄積と細胞増殖両立-遺伝子操作 形質転換で成功 太田啓之
15. 日本経済新聞 電子版 光合成の源「葉緑体」の分裂に脂質が関与～葉緑体が分裂する仕組みの一端を解明～ 2015 年 4 月 14 日 和田元
16. 化学工業日報 油脂高蓄積の植物開発 貧栄養土壌でも葉や根に リン肥料削減に貢献 2015 年 8 月 21 日 下嶋美恵 太田啓之
17. 日経産業新聞 葉に油脂蓄積 植物開発 2015 年 8 月 27 日 下嶋美恵 太田啓之
18. 東京工業大学 東京工業大学 地球生命研究所 科学技術振興機構（JST） 共同発表 2015 年 9 月 7 日 太田啓之
19. ITmedia 「最強植物のさらに 10 倍、狙った油を「藻」から得る」 2015 年 9 月 9 日 太田啓之
20. 化学工業日報 藻類由来油脂で新知見 有用脂肪酸の増産など 2015 年 9 月 10 日 太田啓之
21. 科学新聞 貧栄養土壌でも葉と根に油脂蓄積する植物を開発 2015 年 9 月 11 日 下嶋美恵、太田啓之
22. Phys.org “Genetic manipulation for algal biofuel production” MONDAY 7 SEPTEMBER 2015 10:22 AM
23. Green Car Congress “Tokyo Tech team engineers Nannochloropsis algae to boost oil production; method potentially applicable to other strains” TUESDAY 8 SEPTEMBER 2015 10:00 AM
24. THE HUFFINGTON POST 藻から油脂、バイオ燃料生産も 脂質蓄積増と組成改変技術開発 2015 年 9 月 15 日
25. 大量のオイルを生産する“最強藻類”の秘密を解明（プレス発表）
26. 日経 BP アカデミックオンライン版 2017 年 3 月 1 日  
東工大と遺伝研、油脂蓄積藻類は油滴表面で油を合成、JST の CREST の成果
27. 日経産業新聞 藻類オイル 効率生産の仕組み解明 2月24日朝刊
28. 化学工業日報 藻類オイル 効率生産の仕組み解明 東工大など バイオ燃料実用に弾み 3月15日朝刊
29. Nanowerk “Researchers uncover mechanisms of biofuel production in microalgae” 03 Mar 2017
30. Scicasts “Biofuel produced by microalgae” 03 Mar 2017

31. Phys.Org “Biofuel produced by microalgae” 28 Feb 2017  
 32. AZO cleantech “Scientists investigates lipid metabolism in Nannochloropsis oceanica for biofuel synthesis” 01 Mar 2017

## § 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
2013年2月23日	東京学芸大学付属高校特別授業「藻類ってこんなにおもしろい！！“進化からバイオエネルギー生産まで”	東京学芸大学付属高校	41人(高校生36名 保護者5名)	藻類研究の重要性、現在バイオエネルギー原材料として注目されている藻類研究の現状などを高校生やその保護者に分かり易く解説した。
2013年3月25日	GCOE&CREST シンポジウム	東京工業大学すずかけホール	70名	植物脂質関連の国際シンポジウム主催
平成26年9月11-12日	イノベーションジャパン2014 大学見本市 主催：独立行政法人科学技術振興機構 (JST)	：東京ビッグサイト 東1ホール		油脂生産性藻類における油脂生産強化法 Method for enhancement of oil synthesis in an algae which produces oil
平成26年10月10日	サイエンス・アゴラ ◆◇「注目！JST が導く環境技術革命への道～この技術が買いだ！！～」◇◆	科学未来館	多数	バイオマス・バイオオイルの利用 「油脂高生産藻を用いたバイオ燃料生産技術の開発」に関する発表 太田啓之、信澤岳
平成26年12月21日	東工大オリエンテーション in 広島	広島女学院 中学高等学校	40名	「藻類ってこんなにおもしろい！！～東工大教員が生物の魅力を伝えます～」模擬授業と実験 太田啓之
平成27年8月29日	厚木高校 SSH 実験教室	東工大すずかけ台キャンパスものづくりセンター	13名+教員1名	「身近な微細藻類から広がる生物進化研究とバイオエネルギー生産」講義と実験教室
平成28年9月10日	厚木高校 SSH 実験教室	東工大すずかけ台キャンパスものづくりセンター	10名+教員1名	「身近な微細藻類から広がる生物進化研究とバイオエネルギー生産」講義と実験教室

## § 6 最後に

本研究では、まず53報の原著論文(内12報が IF5.0 以上の国際一流誌に掲載)の成果が表すように、藻類脂質代謝の基盤研究とその成果をもとにした有用脂質生産のイノベーション的研究に置いて極めて大きなインパクトを上げることができた。ちなみに太田の本研究プロジェクト関連の論

文は16報であるが、CREST 研究以外の論文を同じ期間に24報出しており、53報はあくまでCREST に関連する内容について研究チームが上げた成果を示している。研究前半は基盤プラットフォーム形成においてゲノムインフォマティクスチームの貢献が顕著であったが、特に中間報告以降の後半には、脂質代謝チームから、それぞれの特徴を生かした顕著な成果を次々と上げることができた。チーム内の研究は、共同研究の有無にかかわらず有機的につながっており、このような緊密な連携が、相乗的な効果を生んだものと思う。前半にモデル藻類を中心に基盤プラットフォームの確立を進め、後半にそれらの成果をもとに有用藻類に力を入れる戦略もうまく機能した。

今回は紙面に制限があったため、チーム全員のすべての成果を記載することができず、幾つかの成果については割愛したことを述べておきたい。特に佐藤グループは、藻類における油滴の形成部位について極めて緻密でインパクトある研究成果を上げているが、未発表の成果で、短い記載ではその内容が伝えきれないと判断し、すべて割愛した。

ぜひ ACCEL や未来社会創造事業などの仕組みで、本研究チームの有機的な連携をもとに、さらに研究を発展させたいと考えている。

松永研究統括には研究開始当初から、研究の方向づけ、進め方などに多くのご助言をいただくとともに、研究の進展を常々励ましていただき、大変お世話になった。また本領域アドバイザーと和気領域参事からも多数の有益なご助言をいただいた。加えて、JST の松丸領域担当には、研究遂行の細部にわたって数々のご援助をいただいた。この場を借りてお礼を申し上げます。