

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26289309

研究課題名(和文) バイオシリカ工学に基づく有用珪藻の革新的な物質生産プロセスの創成

研究課題名(英文) Development of the innovative process for material production using functional diatoms based on the biosilica engineering

研究代表者

田中 剛 (Tanaka, Tsuyoshi)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：20345333

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では珪藻を有用物質生産ホストとして用い、その細胞を覆う珪殻の物性を改質するバイオシリカ工学を確立し、新規の効率的な有用物質生産プロセスの構築を目的とした。珪殻タンパク質を利用し、凝集性因子を珪殻表面に提示することで、凝集を誘起し、細胞回収が容易になる株の作出に成功した。更に有用物質生産ホストとしての利用拡充を目指し、細胞破碎効率の向上に向けた珪殻タンパク質のノックダウンにおける基盤技術を確立した。加えて、珪殻有機層の解析を実施し、珪殻有機層の化学組成とその構造を明らかにした。これらの結果は、効率的な有用物質生産プロセスの構築に資する基盤技術として期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop the innovative process for material production using functional diatoms based on the biosilica engineering, in which biosilica cell wall of diatoms were engineered via genetic manipulation. First, genetic manipulation technique for stable cell-surface display of recombinant proteins on the frustules was established in the pennate diatom, *Fistulifera solaris*. Subsequently, cell aggregation-inducible functional peptides were displayed on the surface of the cell walls (frustules), and the peptide-mediated cell harvesting was demonstrated. Gene knockdown technique was also established in this study in order to efficiently disrupt the cells for improved material extraction. Furthermore, structures and chemical compositions analyses for organic matrix associated with biosilica cell walls were carried out. These outcomes could pave the way to develop the novel bioprocesses for efficient material production in diatoms

研究分野：生物機能・バイオプロセス

キーワード：有用珪藻 バイオシリカ工学 自己凝集 有用物質生産

1. 研究開始当初の背景

微細藻類は、原料用オイル(油脂)やバイオ医薬品など多岐にわたる有用物質生産のホストとして注目が集まっている。現在、油脂蓄積能を有する微細藻類を利用して、次世代バイオ燃料や医薬品を始めとする有用物質の生産技術を開発する試みが国内外を問わず盛んに進められている。微細藻類の最大の利点は、CO₂、無機態窒素などの貧栄養培養によってコストが安価で済むことである。また細胞内の体積の多くを占める葉緑体内で目的タンパク質合成することで、タンパク質生産の効率化や油脂蓄積微細藻類は、オレオソームと呼ばれるオルガネラを貯蔵庫にして、高度な油脂蓄積を可能としている。このように、微細藻類の物質生産ホストとしての重要性が急速に拡大しているにもかかわらず、物質生産プロセスの効率化に適したホスト改変はほとんど進められていない。

しかしながら微細藻類を用いた物質生産プロセスの商業化を目指す上では、微細藻類の培養工程に加えて、藻体回収、生産物の精製などを含めた全工程を統合的に評価し、低エネルギー化、低コスト化することが重要である。微細藻類を用いたバイオディーゼル生産におけるライフサイクルアセスメントでは、細胞回収が全工程のエネルギー消費の大部分を占め、最も効率的であると試算される凝集剤を用いた沈殿法においては、低コスト化が課題となっている。このことから、藻体回収において現行の沈殿法に代わる、効率的な細胞回収方法の開発が望まれる。また、効率的な藻体破碎も求められるが、微細藻類は、植物細胞と同様に強固な細胞壁を有し、細胞破碎が困難である。緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* では細胞壁を持たない変異株の作出がなされているが、その他の実施例は報告されていない。これは、ホスト改変に必要な分子生物学的手法が十分に確立できていないためである。1989年に初めて真核の微細藻類の遺伝子組み換え技術が確立されて以降、そのモデル藻類である *C. reinhardtii* を中心に分子生物学的手法が確立されてきたが、その他の真核の微細藻類には適用できないことが多い。

これまでに当研究グループではオイル高蓄積珪藻 *Fistulifera* 属 JPCC DA0580 株の全ゲノム解読を完了し、トリグリセリド合成経路とその共役経路の特定を終えている。さらに、微細藻類では 18 例目、油脂蓄積微細藻類では初めてとなる遺伝子組換え系の確立に成功し、細胞質の他、バイオシリカ、葉緑体、小胞体などのオルガネラ特異的なタンパク質発現が可能となっている。そこで本研究では当該株を微細藻類ホストとして用い、世界先導的に確立してきた分子生物学的手法を活用し、珪殻の物性を改質する“バイオシリカ工学”を確立することで、油脂やタンパク質、

生理活性物質の生産を効率化する新たな物質生産プロセスを提案する。

2. 研究の目的

本研究では油脂肥大 phase と葉緑体肥大 phase が制御可能な有用珪藻 *Fistulifera* 属を有用物質生産ホストとして用い、その細胞を覆う珪殻の物性を改質するバイオシリカ工学の確立し、新規の効率的な有用物質生産プロセスの構築を目的とし、その中核を担うバイオシリカ工学の確立を実施する。

3. 研究の方法

本研究課題における基盤技術となる *Fistulifera* 属の珪殻表面における異種タンパク質提示技術の確立を目指した。まずは珪藻 *Fistulifera* 属のバイオシリカ表層に局在するタンパク質アンカーの分子設計を行った。全ゲノムにコードされる 20,455 遺伝子の中から、既知の *in silico* スクリーニング法に基づいてアミノ酸組成の偏りを解析し、バイオシリカ合成に関与することが予測される遺伝子の探索を行った。更に Signal P で移行シグナルが検出されるものを優先的にアンカー分子候補とし、GFP 融合発現による局在解析を行い、アンカーとしての有用性を評価した。

確立した珪殻表面提示技術及びアンカー分子を利用して、実際に細胞の凝集を誘導する凝集性タンパク質の提示を試みた。具体的には、凝集性タンパク質を細胞表面に提示した形質転換体の作出を行った。作出したこれらの形質転換体を培養し、凝集性の有無や凝集条件の検討を行った。更に細胞破碎工程の効率化を目指し、珪殻タンパク質遺伝子のノックダウンに向けた基盤技術の確立を行った。遺伝子ノックダウン効率を定量的に評価するために、恒常的に GFP を発現する形質転換体を用いた。この形質転換体に、GFP アンチセンス鎖発現カセットを追加で導入した。また原子間力顕微鏡などを用いた観察や、珪殻の構造や機械的強度の測定を試みた。珪殻下の有機層についても、構造と共に成分の解析を進めた。

Fistulifera 属をはじめとする多くの珪藻株の珪殻下に有機層が存在することを見出した。この有機層に含まれる成分の一部は珪殻を貫通する微細孔を通して細胞外に分泌され、細胞接着に関与する可能性がある。そのため、この有機層の構造を比較することで、珪殻との関わりや機能解明を試みた。

最後に遺伝子組み換え技術を用いて、*Fistulifera* 属の細胞内における有用物質生産についても研究を推進し、上記で確立したバイオシリカ工学との組み合わせによる有用物質生産プロセスの有用性を示した。

4. 研究成果

(1) アンカー分子の探索

前述した通り、まず初めに本研究課題における基盤技術となる *Fistulifera* 属の珪殻表面における異種タンパク質提示技術の確立を目指した。そこで珪藻 *Fistulifera* 属のバイオシリカ表層に局在するタンパク質アンカーの分子設計を探索した。全ゲノムにコードされる 20,455 遺伝子の中から、既知の *in silico* スクリーニング法に基づいてアミノ酸組成の偏りを解析した結果、これまで珪殻表面に存在するタンパク質と同様に Gly、Lys、Ser 残基の割合が多いことが確認された。以上より、バイオシリカ合成に関与することが予測される複数の遺伝子を絞り込むことに成功した (図 1)。

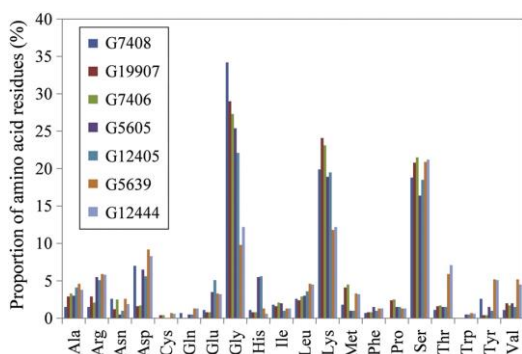


図 1 候補タンパク質のアミノ酸組成解析

絞り込んだ遺伝子群から更に Signal P で移行シグナルが検出されるものを優先的にアンカー分子候補とし、GFP 融合発現による局在解析を行った。GFP 融合発現ベクターを構築し、それぞれ形質転換を行い、各種形質転換体を作成した。その結果、珪殻表面上に GFP 蛍光が観察され、珪殻表面にアンカー分子が提示されていること及びアンカー分子としての有用性が確認された (図 2)。これに加え BLAST による珪殻タンパク質の探索も行い、同様に珪殻上での GFP 蛍光を確認した。

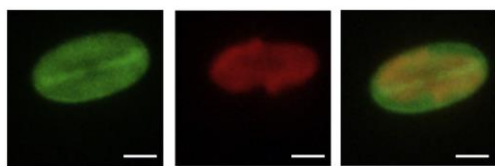


図 2 アンカー分子の細胞表面の局在観察

(2) アンカー分子を用いた凝集能の向上
 ここまでの検討において珪殻表面上に提示する為のアンカー分子の特定及び融合タンパク質を珪殻表面に提示する技術を隠した。続いて本技術及びアンカー分子を利用して、実際に細胞の凝集を誘導する凝集性タンパク質の提示を試みた。作出したこれらの形質転換体を培養し、凝集性の有無や凝集条件の検討を行った。その結果、シリカ結合分子を珪殻表面に提示した形質転換体を獲得出来た。この変異株にシリカ粒子を添加し、1 分間静置することで凝集が促進されること

が確認できた (図 3 上)。凝集効率を評価した結果、5 g/L のシリカ粒子で 80% 以上の凝集率を示した (図 3 下)。これらの変異株は回収プロセスの低コスト・低エネルギー化を見込める。

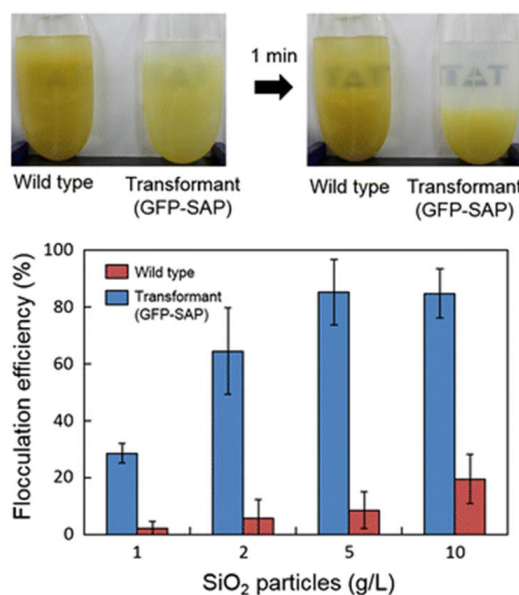


図 3 アンカー分子を提示した変異株の凝集性評価

(3) 珪殻タンパク質の改質及び構造解析
 更に細胞破碎工程の効率化を目指した珪殻表面の改変を行った。前述した複数の珪殻タンパク質遺伝子を同時にノックダウンすることのできるアンチセンス鎖を設計し、*Fistulifera* 属の細胞内で発現することを試みた。遺伝子ノックダウン効率を定量的に評価するために、恒常的に GFP を発現する形質転換体を用いた。この形質転換体に、GFP アンチセンス鎖発現カセットを追加で導入した。作出した変異株の GFP 蛍光強度を用いてノックダウン効率を評価した結果、98% 以上抑制されていることが確認された。これらの結果より、複数の珪殻タンパク質のノックダウンが可能であることが示唆され、細胞破碎効率の向上に寄与できることが考えられた。

以上の検討から珪殻表面提示技術に加え、珪殻表面の改変技術が確立出来、これらの技術は、共に珪藻を用いた有用物質生産プロセスのボトルネックである回収プロセス及び破碎・抽出プロセスの低コスト・低エネルギー化を見込める為、非常に有望な技術である。また本検討においてはアンカー分子のノックイン及び珪殻タンパク質のノックダウンに成功している。微細藻類においてノックイン及びノックダウンの両方に成功している例は、本株を含め数例のみの報告となっており、このことも本研究における大きな研究成果の一つであると考えられる。

更なる珪殻表面への提示技術及び改質に向けて、より詳細に珪殻下の有機層について、構造及びその成分解析を行った。これまでの報告より珪酸はガラス質細胞壁により細胞

を被覆し、その細胞壁を裏打ちする有機層 diatotepum の存在が多くの珪藻から認められ、珪藻防御への関与が考察されてきた。しかし、その詳細な観察例は少なく、役割も仮説の域に留まっている。そこで diatotepum の機能解明へ向けた基盤として、多様な珪藻種から詳細な構造観察を行った。

26種の珪藻から得られた diatotepum はトルイジンブルーで染色される多糖類で構成された構造であり、多くは細胞壁全体を裏打ちする袋状であった。そして、原子間力顕微鏡による観察の結果、diatotepum には細胞壁の内側に存在する凹凸を埋める立体構造が存在した。一方、粘液の分泌に関わる構造下では diatotepum に小孔やスリットが存在した。これらの構造から、diatotepum には細胞壁の薄く脆弱な部位を補助し、細胞を守る役割が考察された。更に汽水産珪藻 *Pseudostaurosira trainorii* において diatotepum の単糖組成解析を行った。その結果、処理方法によって組成にはわずかな変化が見られたが、主としてマンノースとガラクトロン酸が検出された。また、本種は有性生殖により形成された接合子からも diatotepum と構造が類似する筒状の有機層が得られた。それらは diatotepum と糖組成にも大きな差異は認められず、切片像から考察されていた二つの構造の同一性を示す結果であった。

(4) 有用物質生産性向上株の作出

最後に遺伝子組換え技術及び培養条件の最適化により、*Fistulifera* 属の細胞内における有用物質の生産性向上に関する研究も推進した。既に当該株の高度不飽和脂肪酸 (PUFA) 生産ホストとしての有用性が示されている。遺伝子組換え手法においては PUFA 生合成における律速因子を特定し、これらの遺伝子の強発現を試みた。獲得した変異株の PUFA 生産性は野生株の 1.7 倍まで向上することが確認された。一方で、培養条件の検討を実施したところ、PUFA の生産性が 2.3 倍向上することが確認された。これらはこれまでの微細藻類を用いた PUFA 生産において最大の生産性を示した。

(5) まとめ

本研究課題において珪殻タンパク質を同定し、バイオシリカ改質技術を開発した。本技術により珪藻珪殻表面の物性を改変し、様々な物質で凝集・沈殿を誘起する機能性ペプチドのディスプレイに成功したことから、より広範且つ効率的な細胞回収プロセスの構築に寄与可能であり、また細胞の表面や有機層の解析を行うことで、細胞破碎効率向上に向けた基礎的な技術及び知見を獲得した。また高度不飽和脂肪酸の生産においても遺伝子工学的及び培養工学的手法を用いることでこれまでの微細藻類を用いた高度不飽和脂肪酸生産の中で最大となる生産性を得ている。以上のことから、本研究で得られた知見は、バイオシリカ改変珪藻による新規有用物生産プロセスの開発に大きく寄与する

ものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

(査読あり国際論文)

(1) Mitsufumi Matsumoto, Daisuke Nojima, Tomomi Nonoyama, Kiichi Ikeda, Yoshiaki Maeda, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Outdoor Cultivation of Marine Diatoms for Year-Round Production of Biofuels” *Marine Drugs*, 15, p94, (2017) doi:10.3390/md15040094

(2) Kyoko Osada, Yoshiaki Maeda, Tomoko Yoshino, Daisuke Nojima, Chris Bowler, Tsuyoshi Tanaka, “Enhanced NADPH production in the pentose phosphate pathway accelerates lipid accumulation in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris*” *Algal Research*, 23, p126-134, (2017)

<https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.01.015>

(3) Nakamura, Noriaki, Yuasa Tomoko, Mayama Shigeki, “Morphology and phylogeny of the marine bipolar centric diatom *Pseudoleyanella lunata* (Cymatosiraceae) with special reference to the diatotepum” *Diatom*, 32, p1-10, (2016) <http://doi.org/10.11464/diatom.32.1>

(4) Tsuyoshi Tanaka, Yoshiaki Maeda, Alaguraj Veluchamy, Michihiro Tanaka, Heni Abida, Eric Maréchal, Chris Bowler, Masaki Muto, Yoshihiko Sunaga, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Takeaki Taniguchi, Yorikane Fukuda, Michiko Nemoto, Mitsufumi Matsumoto, Pui Shan Wong, Sachiyo Aburatani, Wataru Fujibuchi, “Oil accumulation by the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* as revealed by the genome and transcriptome” *The Plant Cell*, 27, p162-176, (2015) <http://dx.doi.org/10.1105/tpc.114.135194>

(5) Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Yue Liang, Tomoko Yoshino, Mitsufumi Matsumoto, Tsuyoshi Tanaka, “Enhancement of glycerol metabolism in the oleaginous marine diatom *Fistulifera solaris* JPC DA0580 to improve triacylglycerol productivity” *Biotechnology for Biofuels*, 8, p4, (2015) doi: 10.1186/s13068-014-0184-9

(6) Yoshihiko Sunaga, Yoshiaki Maeda, Takashi Yabuuchi, Masaki Muto, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Chloroplast-targeting protein expression in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* JPC DA0580 toward metabolic engineering” *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 119, p26-34, (2015) <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.06.008>

(7) Mitsufumi Matsumoto, Shigeki Mayama, Michiko Nemoto, Yorikane Fukuda, Masaki Muto, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga, Tsuyoshi Tanaka, “Morphological and molecular phylogenetic analysis of the high-triglyceride producing marine diatom, *Fistulifera solaris* sp.

nov. (Bacillariophyceae)” *Phycological Research*, 62, p257-268, (2014) doi: 10.1111/pre.12066

(8) Michiko Nemoto, Yoshiaki Maeda, Masaki Muto, Masayoshi Tanaka, Tomoko Yoshino, Shigeki Mayama, Tsuyoshi Tanaka, “Identification of a frustule-associated protein of the marine pennate diatom *Fistulifera* sp. strain JPCC DA0580” *Marine Genomics*, 6, p39-44, (2014)

<https://doi.org/10.1016/j.margen.2014.01.006>

(9) Masahito Hosokawa, Masahiro Ando, Shoichiro Mukai, Kyoko Osada, Tomoko Yoshino, Hiro-o Hamaguchi, Tsuyoshi Tanaka, “*In vivo* live cell imaging for the quantitative monitoring of lipids by using Raman microspectroscopy” *Analytical Chemistry*, 86, p8224-8230, (2014) doi: 10.1021/ac501591d

(10) Yoshiaki Maeda, Yoshihiko Sunaga, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Oleosome-associated protein of the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* contains an endoplasmic reticulum-targeting signal sequence” *Marine Drugs*, 12, p3892-3903, (2014) doi:10.3390/md12073892

〔学会発表〕 (計 27 件)

(国際学会)

(1) Takuma Tateishi, Yoshiaki Maeda, Masaki Muto, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Cell-surface display of interactive proteins on the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* for biomass harvesting” The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2015年12月15日, (Honolulu, USA)

(2) Yoshiaki Maeda, Masaki Muto, Yue Liang, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Molecular insights into oil accumulation in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* as revealed by the multi-omics approach” 5th International Conference on Algal Biomass, Biofuel & Bioproducts, 2015年6月7日, (Sun diego, USA)

(3) Takuma Tateishi, Yoshiaki Maeda, Masaki Muto, Yue Liang, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Cell surface display of heterologous protein onto the surface of *Fistulifera solaris* for the recovery of cells” 5th International Conference on Algal Biomass, Biofuel & Bioproducts, 2015年6月7日, (Sun diego, USA)

(4) Tsuyoshi Tanaka, “High rate of oil accumulation by the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* and Its biological mechanisms revealed with the proteomic analysis” 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit, 2014年11月18日, (Daejeon, Korea)

(5) Masaki Muto, Asuka Ujio, Masayoshi Tanaka, Hideyuki Kanehara, Hideaki Naruse, Tomoko Yoshino, Tadashi Matsunaga, Tsuyoshi Tanaka, “Biofuel production from the floating

microalgal biofilm: an easy method to harvest the microalgal biomass” 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit, 2014年11月18日, (Daejeon, Korea)

(6) Kyoko Osada, Yoshiaki Maeda, Yoshihiko Sunaga, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Rate-limiting factors of lipid accumulation in the oleaginous diatom *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 as revealed by the transcriptome analysis” 3rd Asia-Oceania Algae Innovation Summit, 2014年11月18日, (Daejeon, Korea)

(7) Yuta Niwa, Yoshiaki Maeda, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Incorporation of titanium into the diatom cell wall towards biosynthesis of photocatalytic materials” 10th International Symposium on Electrochemical Micro & Nanosystem Technologies, 2014年11月6日, (Okinawa, Japan)

(8) Shoichiro Mukai, Masahito Hosokawa, Yue Liang, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, Masahiro Ando, Hiro-o Hamaguchi, “Lipid compositional analysis of marine diatom *Fistulifera solaris* strain JPCC DA0580 using Raman microspectroscopy” The Second Taiwan International Symposium On Raman Spectroscopy, 2014年6月23日, (Hualien, Taiwan)

(9) Yoshiaki Maeda, Daisuke Nojima, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Identification of novel oleosome-associated proteins from the oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580” The 4th International Conference on Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts, 2014年6月17日, (New Mexico, USA)

(10) Tsuyoshi Tanaka, Masaki Muto, Daisuke Nojima, Yue Liang, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino, “Multi-omics approach to reveal the mechanisms of lipid accumulation in oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580” Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, 2014年5月6日, (Taipei, Taiwan)

(11) Daisuke Nojima, Tomoko Yoshino, Yoshiaki Maeda, Masayoshi Tanaka, Michiko Nemoto, Tsuyoshi Tanaka, “Identification of the oleosome-associated proteins from the marine oleaginous diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580 for elucidation of oleosome dynamics” Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, 2014年5月6日, (Taipei, Taiwan)

(12) Takuma Tateishi, Yoshiaki Maeda, Michiko Nemoto, Tomoko Yoshino, Tsuyoshi Tanaka, “Expression of heterologous protein onto the high triacylglyceride accumulating marine diatom *Fistulifera* sp. JPCC DA0580” Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference, 2014年5月6日, (Taipei, Taiwan)

(国内学会)

(1) 嶋田礼迪, 野島大佑, 吉野知子, 田中 剛, “海洋性珪藻 *Fistulifera solaris* における ω3

desaturase の強発現によるエイコサペンタエン酸 (EPA)の高生産” 日本化学会 第 97 春季年会, 2017 年 3 月 16 日 慶應義塾大学 (神奈川県横浜市)

(2) 中村憲章, 真山茂樹, 佐藤晋也, “汽水産珪藻 *Pseudostaurisira* の被殻を裏打ちする有機層の構造的, 生化学的特徴” 日本藻類学会 第 41 回大会, 2017 年 3 月 23 日 高知大学 (高知県高知市)

(3) 田中 剛, “海洋珪藻のバイオシリカ工学に基づくバイオプロセス創製” 第 18 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2016 年 5 月 28 日 北海道大学 (北海道札幌市)

(4) 鶴 雄基, 前田義昌, 吉野知子, 田中 剛, “シクロオキシゲナーゼ発現海洋珪藻 *Fistulifera solaris* におけるプロスタグランジンの生産” 第 18 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2016 年 5 月 28 日 北海道大学 (北海道札幌市)

(5) 丹羽祐太, 前田義昌, David Kisailus, 吉野知子, 田中 剛, “機能性ペプチドをディスプレイした珪藻珪殻上における無機ナノ結晶の合成” 日本化学会 第 96 春季年会, 2016 年 3 月 24 日 同志社大学 (京都府京都市)

(6) 丹羽祐太, “珪藻のシリカミネラルゼーションを利用した機能性金属材料の創製” 第 4 回日本生物工学会 東日本支部コロキウム, 2016 年 3 月 1 日 東京工業大学 (東京都目黒区)

(7) 中村憲章, 真山茂樹, Mathew Julius, “珪藻の殻を裏打ちする有機層の形態的多様性” 日本藻類学会第 39 回大会, 2015 年 3 月 22 日 九州大学 (福岡県福岡市)

(8) 真山茂樹, 松本光史, 根本理子, 福田頼謙, 武藤正記, 吉野知子, 松永 是, 田中 剛, “隠蔽種か別種か 一極微細珪藻 *Fistulifera* の進化” 日本珪藻学会 第 35 回大会, 2015 年 4 月 27 日 名古屋大学 (愛知県名古屋市)

(9) LIANG Yue, MUKAI Shoichiro, ANDO Masahiro, YOSHINO Tomoko, HAMAGUCHI Hiro-o, TANAKA Tsuyoshi, “Imaging analysis of biomolecules in a living microalga cell using confocal Raman microspectroscopy” 日本化学会 第 95 春季年会, 2015 年 3 月 26 日 日本大学 (千葉県船橋市)

(10) 野島大佑, 前田義昌, 吉野知子, 田中 剛, “オイル高蓄積珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 株のオイルボディのプロテオーム解析” 第 8 回バイオ関連化学シンポジウム 2014 年 9 月 11 日 岡山大学 (岡山県岡山市)

(11) 高橋知里, 武藤正記, 吉野知子, 田中 剛, “オイル高蓄積珪藻 *Fistulifera solaris* JPCC DA0580 株の遺伝子サイレンシング技術の確立” 第 8 回バイオ関連化学シンポジウム 2014 年 9 月 11 日 岡山大学 (岡山県岡山市)

(12) 武藤正記, 田中祐圭, 吉野知子, 松本光史, 田中 剛, “オイル高生産微細藻類 *Fistulifera solaris* JPCC DA580 株の glycerol 資化能の向上” 第 66 回日本生物工学会大会, 2014 年 9 月 9 日札幌コンベンションセンタ

ー (北海道札幌市)

(13) 前田義昌, 根本理子, 武藤正記, 吉野知子, 田中 剛, “油脂高蓄積珪藻からの新規珪殻タンパク質の同定” 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2014 年 5 月 31 日 三重大学 (三重県津市)

(14) 長田響子, 前田義昌, 須永吉彦, 吉野知子, 松本光史, 田中 剛, “栄養枯渇条件下における *Fistulifera solaris* のトランスクリプトーム解析” 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2014 年 5 月 31 日 三重大学 (三重県津市)

(15) 藪内貴史, 前田義昌, 吉野知子, 田中 剛, “油脂高蓄積珪藻の葉緑体への外来タンパク質輸送技術の確立” 第 16 回マリンバイオテクノロジー学会大会, 2014 年 5 月 31 日 三重大学 (三重県津市)

[図書] (計 0 件)

特になし

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

出願番号: 特願 2014-158749

発明者: 田中剛、吉野知子、前田義昌

立石卓馬、松本光史

発明の名称: 新規珪藻タンパク質

及びその利用

出願人: 国立大学法人 東京農工大学

電源開発株式会社

出願日: 平成 26 年 8 月 4 日

○取得状況 (計 0 件)

特になし

[その他]

ホームページ等

<http://web.tuat.ac.jp/~biomol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 剛 (TANAKA TSUYOSHI)

東京農工大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号: 20345333

(2) 研究分担者

真山 茂樹 (MAYAMA SHIGEKI)

東京学芸大学・教育学部・教授

研究者番号: 40199914

吉野 知子 (YOSHINO TOMOKO)

東京農工大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号: 30409750

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし