

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03699

研究課題名(和文) 葉緑体が獲得したプロセッシブな蛋白質・核酸分解と機能分化の統合理解

研究課題名(英文) Integrative studies on the processive degradation of macromolecules in chloroplasts

研究代表者

坂本 亘 (SAKAMOTO, Wataru)

岡山大学・資源植物科学研究所・教授

研究者番号：20222002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：シアノバクテリアの細胞内共生に由来する陸上植物の葉緑体は、光によりチラコイド膜を発達させ、光合成により有機物を合成するだけでなく、様々な物質合成を担うオルガネラである。また、葉緑体は光エネルギー変換の場として、過剰な光エネルギーによる障害を受けやすく、葉緑体維持に関わる品質管理と環境適応機能が植物の生育にも大きく影響する。これまでの我々の研究からは、葉緑体のホメオスタシスにはタンパク質や核酸など高分子をプロセッシブに分解する作用の重要性が顕在化してきた。本研究では、これらのプロセッシブな分解機構を通じた葉緑体の新たな機能を統合的に理解するための遺伝生理学的研究を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光エネルギーを利用して大気や海中の二酸化炭素を有機物に変換する光合成は、我々にとって最も重要な生体反応の1つである。陸上植物では、光合成はシアノバクテリアの細胞内共生に由来する「葉緑体」という植物細胞のオルガネラで行われている。葉緑体は光障害を受けやすく、それらを維持するためのメカニズムを分子レベルで解明することは、葉緑体機能の強化と光に強い作物の育成につながる。

研究成果の概要(英文)：Chloroplasts in land plants, which originate from endosymbiosis of cyanobacteria, are the organelles that develop thylakoid membranes in response to light and are responsible not only for the synthesis of photosynthates but also for the synthesis of various compounds like lipids, amino acids and phytohormones. As a site of light energy conversion, chloroplasts are susceptible to damage caused by excess light, and the quality control and environmental adaptation functions related to chloroplast maintenance also have a significant impact on plant growth. Our previous studies have revealed the importance of the processive degradation of macromolecules such as proteins and nucleic acids for chloroplast homeostasis. In this study, we conducted genetic and physiological studies to understand the new functions of chloroplasts through these processive degradation mechanisms.

研究分野：植物生理学

キーワード：植物生理 オルガネラ分化 プロテアーゼヌクレアーゼ 葉緑体 光合成

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

代表者が主宰する研究グループでは、葉緑体を持つ様々な環境適応や光合成維持の諸機構を明らかにし、植物のストレス、特に光ストレス耐性向上を可能にするための研究を行っている。プラスチドは、シアノバクテリアの細胞内共生により生じた葉緑体が起源であるが、陸上植物では葉緑体以外のプラスチドタイプに分化して生理機能を転換するようになったオルガネラである。言い換えれば、陸上植物進化の過程で、原始葉緑体がチラコイド膜の発達を欠失させた前駆体様の「プロプラスチド」となって成長点に維持されるようになった。プロプラスチドから分化した葉緑体では、光エネルギー転換反応により有機物を合成するだけでなく、アミノ酸、脂質、植物ホルモンなどの物質合成を担う。また、葉緑体は光エネルギー変換の場として、過剰な光エネルギーによる障害を受けやすく、葉緑体維持に関わる品質管理と環境適応機能が植物の生育にも大きく影響する。このように葉緑体が獲得した光合成を中心とする生体機能において、蛋白質・核酸など高分子の「プロセッシブな分解」を担う葉緑体プロテアーゼ・ヌクレアーゼが重要であることが明らかになってきた。

そこで本研究では、葉緑体分化と維持に必須なプロセッシブ分解の調節機構を明らかにし、葉緑体のホメオスタシス・機能転換と生体高分子分解の関係を統合的に理解するための研究を行うことを提案した。

2. 研究の目的

本研究では、上に述べた葉緑体が獲得したプロセッシブな分解について、代表者がこれまで研究を進めてきた①葉緑体プロテアーゼ FtsH によるタンパク質分解、②オルガネラヌクレアーゼ DPD1 による DNA の分解、に着目しそれぞれの活性制御に関する研究を行い、葉緑体ホメオスタシスにおける生体高分子分解の役割を解明する。

3. 研究の方法

①プロセッシブなタンパク質分解酵素 FtsH の制御機構

FtsH は N 末端に膜貫通領域を持ちチラコイド膜にアンカーされており、C 末端側の ATPase ドメインとプロテアーゼドメインをストロマ側に配向している。ストロマの Clp がそれぞれのドメインを別のサブユニットで構成する複雑な複合体であるのに対し、FtsH は 1 つのポリペプチドが両方のドメインを持ち、2 タイプのアイソフォームが 6 量体のヘテロ複合体を構成している。基質認識に不明の点が多いが、基質となるタンパク質の末端を認識して ATPase 活性でアンフォールドし亜鉛結合型プロテアーゼチャンバーに送り込んでプロセッシブな加水分解でオリゴペプチドに分解する。FtsH は葉緑体に必須のタンパク質で光化学系 II の反応中心 D1 タンパク質を高率で分解して光化学系の光阻害を回避することが我々の研究で明らかにされた。他にもチトクロム *b₆f* 複合体や光化学系 I, LHC などの分解に関与する重要なプロセッシブ酵素であることが示唆されているが、その制御は不明の点が多い。最近、質量分析による葉緑体リン酸化タンパク質の包括的な解析が複数のグループから報告されたが、そのどちらにも FtsH の構成サブユニットである VAR1(FtsH5), VAR2(FtsH2)が検出されている。興味深いことにこれらのリン酸化がカルシウム誘導性である可能性も報告されている。そこで本研究では、FtsH のリン酸化を突き止め、分解制御との関連を明らかにする。さらに、FtsH の翻訳後修飾に加え、本研究では FtsH の相互作用因子についても解析を進めた。

②プロセッシブな核酸分解酵素 DPD1 の制御機構

葉緑体ホメオスタシスの重要な要因として葉緑体 DNA(cpDNA)維持と分解について研究を進めてきた。cpDNA のコピー数については、一定レベルに維持される結果と、成熟葉や組織により分解されるという結果が報告されて長らく意見が対立していた。我々は花粉で cpDNA が分解される現象に着目し、シロイヌナズナ変異体を通してオルガネラ DNA を分解する DPD1 ヌクレアーゼを見出した。最近、DPD1 が花粉だけでなく葉の老化時に誘導されて DNA を分解すること、DPD1 によるプロセッシブな DNA 分解は陸上植物に広く保存されること、DPD1 を欠損する個体では葉の老化が遅れたステイグリーン形質を示し、リン酸欠乏症状を示すことなどが明らかとなっており、組織特異的なプロセッシブ DNA 分解が養分のリサイクルに関わる可能性が示唆されている。本研究ではこれらの解析を進めるとともに、生成した DPD1 による生化学的解析を行い、DPD1 発現の制御機構を調べる。すでに DPD1 ポリクローナル抗体を作製しているため、本研究ではこの抗体を用いたアフィニティ精製で DPD1 と相互作用するタンパク質の単離を試みる。DPD1 によるプロセッシブな DNA 分解はかなり特徴的で植物では他のエキソは報告がない。しかし葉の老化で誘導されるエンドヌクレアーゼの報告はあるので、これらが葉緑体に局在し、DPD1 との相互作用するかを同時に検討する。

4. 研究成果

①FtsH の解析

本研究ではまず、SDS-PAGE 内でリン酸化タンパク質のリン酸基に結合する Phostag を用いてリン酸タンパク質を検出できる実験系を確立し、FtsH のリン酸化を勘弁に検出することに成功した。次に、シロイヌナズナ葉緑体から精製した葉緑体タンパク質の MALDI-TOF MS/MS 解析により、リン酸化の可能性のあるアミノ酸残基の情報を得た(図 1)。これらのアミノ酸(Ser212, Thr337, Ser380, Ser393)は、リン酸化タンパク質データベースに登録されている情報とも一部合致

しており、構造上も ATPase のポア領域に位置する Ser が見つかった。これらのアミノ酸をそれぞれ Ala に置換した FtsH2 を、FtsH2 を欠損するシロイヌナズナ *var2* 変異体で発現させ、植物における葉緑体分化を観察した。その結果、Ser212 を Ala に変異させた変異では *var2* の斑入りが回復せず、FtsH の蓄積も回復しなかった。他の変異も含め、変異を導入した形質転換体では、FtsH のリン酸化の変化は観察されなかった (図 2) また、光化学系 II の強光感受性を指標とした FtsH の D1 修復への寄与度も、T337, S380, S393 に変異を導入した個体では変化が観察されなかった。これらの結果からリン酸化部位の 1 つである S212 の FtsH 複合体形成における重要性が示唆されたが、特定のアミノ酸のリン酸化が FtsH の活性制御に及ぼす影響は少ないと考えられた。今後、複数の変異を導入するなどの研究を行う必要がある。

次に本研究では、FtsH の相互作用因子を解析するため、FtsH 抗体を用いたアフィニティ精製を行った (図 2) 。本カラムを用いた溶出画分には、FtsH の主要アイソマー FtsH2, FtsH5 が溶出されることを確認されたので、FtsH も含め、溶出されたタンパク質を質量分析により同定した (図 2 および表 1) 。溶出されたタンパク質は、FtsH と比べて明らかにマイナーバンドとして検出されたが、それらは再現性があり、光化学系 II とアンテナタンパク質の他に、EngA と呼ばれる葉緑体タンパク質であった。光化学系 II のタンパク質、特に PsbB (CP47 と呼ばれる、図 1) が検出されたことは、FtsH が光阻害を受けた光化学系 II の分解において、CP43 を欠くが CP47 を保持する中間体 (RC47) に結合して D1 タンパク質を分解していることを惹起した。実際に、溶出タンパク質の Blue Native SDS-PAGE 分析では、実際に RC47 が検出されることがわかり、FtsH の結合は RC47 を介していることが明らかとなった。

②DPD1 の解析

N 末端のオルガネラ局在シグナルを欠失させた DPD1 タンパク質を T7 プロモーターの元でヒスタグ融合タンパク質として誘導発現させるベクターを構築し (図 3A)、BL21 細胞で IPTG により誘導させたところ DPD1 に由来する 32 kDa のバンドを可溶性画分に検出し、これをニッケル NTA カラムにより精製した。この標品と人工合成した 5' 末端標識オリゴヌクレオチドを用いて *in vitro* ヌクレアーゼ活性を測定したところ、まず、二本鎖あるいは一本鎖 DNA を用いると分解が検出されたが、一本鎖 RNA を基質とすると分解活性がないことがわかり、DPD1 は DNase であることがわかった (図 3B)。DPD1 のヌクレアーゼ活性は Mg イオン要求性であり (図 3C)、至適温度および pH についても今回調べた。さらに、一本鎖 DNA を用いた分解で 5' 末端あるいは 3' 末端を別々に標識した DNA を基質に用いると、5' 末端ラベルの DNA のみが分解されて 3' 末端ラベルの DNA は分解されな

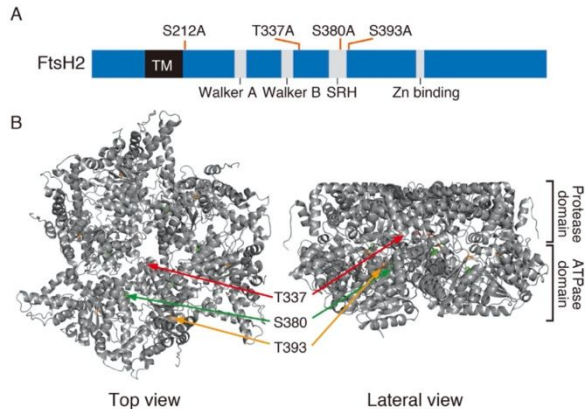


図 1. FtsH で検出されたリン酸化部位。A では FtsH2 のタンパク質モチーフとリン酸化部位、B では立体構造に基づくリン酸化部位を示した。

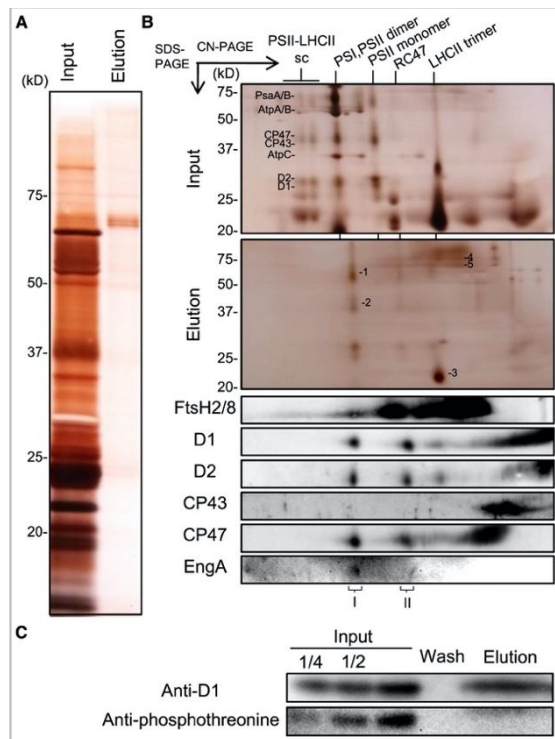


図 2. 抗 FtsH2 アフィニティカラムによる相互作用タンパク質の単離と解析。(A) 精製に用いたチラコイド膜タンパク質 (Input) と溶出されたタンパク質 (Elution) の SDS-PAGE 銀染色像。(B) Input および Elution の BN SDS-PAGE 銀染色像 (上) と、Elution を用いたウエスタンブロット (中)。溶出タンパク質には RC47 中間体が蓄積していることが明らかとなった。Elution された D1 のほとんどがリン酸化されておらず (下) RC47 が濃縮されたことを支持する結果が得られている。表 1 (下) では、溶出されたタンパク質の一覧を示した。

Table 1. MALDI-TOF-MS identification of proteins purified by anti-VAR2 affinity column

Spot	Protein Identifier	Protein Name	No. of Matched Peptides	Sequence Coverage	Score ^a	Comment
1	AT3G12080	GTP-binding protein (EngA)	6	% 14	62	
2	ATCG00680	PSII reaction center protein B	4	10	76	Interaction with PSII complex is reported (Kashino et al., 2002; Silva et al., 2003)
3	AT1G29910	Chlorophyll a/b-binding protein	4	32	64	Interaction with LHCII protein is reported (Yoshioka et al., 2010)
4	AT5G42270	FtsH5	10	23	90	
	AT1G50250	FtsH1	8	17	84	
5	AT2G30950	FtsH2	14	36	117	
	AT1G06430	FtsH8	14	36	83	

^aMascot-searched score against database NCBItr.

かった(図 3D)。以上の結果から、DPD1 は、マグネシウム依存性で 3' -5' エキソ活性を持つ DNA 分解酵素であることが明らかとなった。これまでに知られている DNA 分解酵素、特に葉の老化などに関連する酵素の多くが一鎖 DNA を切断するエンドヌクレアーゼ活性を持ち、RNA も基質とすることを考えると、DPD1 は直鎖状、あるいは 3' 末端を持った DNA のみを分解するユニークな酵素であることが明らかとなった。

これまでの研究から、DPD1 が花粉だけでなく、葉の老化で葉緑体 DNA を分解していることが明らかになっている。葉の老化において、葉緑体に蓄えられた多くの養分が分解して再利用されることを考えると、DPD1 による葉緑体 DNA 分解は、ヌクレオチドの転流によるリン酸の再利用と関連性がある可能性が推定された。そこで本研究ではこれらの仮説を検証するために、シロイヌナズナにおける水耕栽培法を確立し、*dpd1* 突然変異体をリン酸欠乏状態に晒した時の応答反応を調べた。その結果、リン酸欠乏状態にて培養を続けると、*dpd1* では Col に比べ、典型的なリン酸欠乏応答であるアントシアニンの蓄積が著しく観察されており、生殖成長でも種子形成が野生型に比べて低下していることが明らかとなった。

dpd1 におけるリン酸応答の変化を遺伝子発現レベルで解析するため、RNA seq による発現レベルの変化を本研究では調査した。上記の水耕栽培で 6 週間生育させた植物を通常栽培条件(1/4 MS 培地)とリン酸のみを欠乏させた 1/4 MS 培地に移して栽培を 2 週間続け、それぞれの植物から RNA を抽出し、サンプルを RNA seq 解析に委託した。得られたリードをシロイヌナズナゲノムにマッピングし、標準化した発現量により、リン酸欠乏処理により優位に変動する遺伝子を抽出した。その結果、野生型では 766 遺伝子の変動が検出され、うち 655 遺伝子がリン酸欠乏による発現の上昇、111 遺伝子が発現の低下を示した。一方、*dpd1* では変動した遺伝子が減少し、114 遺伝子のみであった。リン酸欠乏との関係を詳しく調べるために、リン酸欠乏に反応する遺伝子として報告されている遺伝子 193 を抽出し、それらの発現変動について Col と *dpd1* で比較した。その結果、これらの中で 192 遺伝子を抽出することができ、その中で有意(FDR<0.05)に変動する遺伝子が Col では 123 検出されるのに対し、*dpd1* で 40 のみに減少していた。リン酸欠乏において Col で誘導に差がある遺伝子を調べると、リン酸のトランスポーター、purple acid phosphatase、脂質合成に関わる遺伝子、RNase などの遺伝子が検出された。以上の結果から、DPD1 による葉緑体 DNA の分解は、葉の老化で誘導されつつリン酸の再利用を最適化している可能性が示唆された。本研究で得られたこれらの知見は、葉緑体における DNA がリン酸の有効利用に寄与するというこれまで考えられなかった新たな現象の解明につながることを期待された。

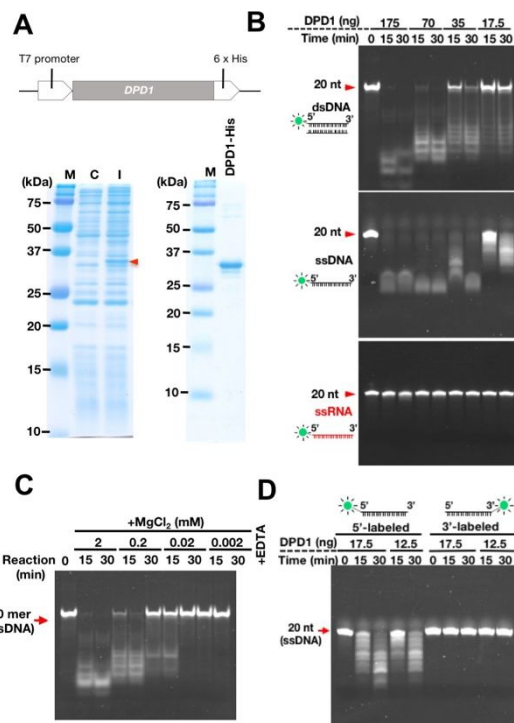


図3. DPD-His 融合タンパク質の精製とヌクレアーゼ活性の測定。(A) DPD1 発現コンストラクトの概略と誘導発現した大腸菌タンパク質 (I) の SDS-PAGE ゲル電気泳動像 (C は誘導前コントロール, M はマーカー), 右は Ni-NTA カラムにより精製した DPD1-His 標品。(B) 二本鎖 DNA, 一本鎖 DNA, 一本鎖 RNA を基質とした分解活性。(C) マグネシウム依存性。(D) 5'末端あるいは 3'末端をラベルした DNA の分解活性。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Kajiya-Kanegae Hiromi, Takanashi Hideki, Fujimoto Masaru, Ishimori Motoyuki, Ohnishi Norikazu, Wacera W. Fiona, Omollo Everlyne A, Kobayashi Masaaki, Yano Kentaro, Nakano Michiharu, Kozuka Toshiaki, Kusaba Makoto, Iwata Hiroyoshi, Tsutsumi Nobuhiro, Sakamoto Wataru	4. 巻 61
2. 論文標題 RAD-seq-Based High-Density Linkage Map Construction and QTL Mapping of Biomass-Related Traits in Sorghum using the Japanese Landrace Takakibi NOG	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1262 ~ 1272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcaa056	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishioka Keiji, Kato Yusuke, Ozawa Shin-ichiro, Takahashi Yuichiro, Sakamoto Wataru	4. 巻 147
2. 論文標題 Phos-tag-based approach to study protein phosphorylation in the thylakoid membrane	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Photosynthesis Research	6. 最初と最後の頁 107 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11120-020-00803-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Islam Md Sayeedul, Van Nguyen Toan, Sakamoto Wataru, Takagi Shingo	4. 巻 62
2. 論文標題 Phototropin and photosynthesis dependent mitochondrial positioning in Arabidopsis thaliana mesophyll cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Integrative Plant Biology	6. 最初と最後の頁 1352 ~ 1371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jipb.12910	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shin Taketa 1, Momoko Hattori 1, Tsuneaki Takami 1, Eiko Himi 1, Wataru Sakamoto 1	4. 巻 62
2. 論文標題 Barley albino lemma 1 resulted from mutations in a Golden2-like gene reduces seed weight	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant And Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcab001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kato Yusuke, Sakamoto Wataru	4. 巻 10
2. 論文標題 Phosphorylation of the Chloroplastic Metalloprotease FtsH in Arabidopsis Characterized by Phos-Tag SDS-PAGE	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 10:1080
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2019.01080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ohnishi Norikazu, Wacera W. Fiona, Sakamoto Wataru	4. 巻 60
2. 論文標題 Photosynthetic Responses to High Temperature and Strong Light Suggest Potential Post-flowering Drought Tolerance of Sorghum Japanese Landrace Takakibi	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 2086 ~ 2099
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcz107	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Duan Jianli, Lee Keun Pyo, Dogra Vivek, Zhang Siyuan, Liu Kaiwei, Caceres-Moreno Carlos, Lv Shanshan, Xing Weiman, Kato Yusuke, Sakamoto Wataru, Liu Renyi, Macho Alberto P., Kim Chanhong	4. 巻 180
2. 論文標題 Impaired PSII Proteostasis Promotes Retrograde Signaling via Salicylic Acid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 2182 ~ 2197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.19.00483	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 SAKAMOTO Wataru, TAKAMI Tsuneaki	4. 巻 57
2. 論文標題 Contribution of Organelle DNA Degradation to Nutrient Recycling: Adaptation Mechanism of Seed Plants Derived from Endosymbiosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 KAGAKU TO SEIBUTSU	6. 最初と最後の頁 478 ~ 483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1271/kagakutoseibutsu.57.478	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 坂本亘・高見常明	4. 巻 91
2. 論文標題 葉緑体DNA分解による種子植物のリン再利用戦略	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 785-789
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910785	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takami Tsuneaki, Ohnishi Norikazu, Kurita Yuko, Iwamura Shoko, Ohnishi Miwa, Kusaba Makoto, Mimura Tetsuro, Sakamoto Wataru	4. 巻 4
2. 論文標題 Organelle DNA degradation contributes to the efficient use of phosphate in seed plants	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 1044 ~ 1055
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41477-018-0291-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Yusuke, Hyodo Kiwamu, Sakamoto Wataru	4. 巻 178
2. 論文標題 The Photosystem II Repair Cycle Requires FtsH Turnover through the EngA GTPase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 596 ~ 611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.18.00652	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kato Yusuke, Sakamoto Wataru	4. 巻 9
2. 論文標題 FtsH Protease in the Thylakoid Membrane: Physiological Functions and the Regulation of Protease Activity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 855
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2018.00855	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Wataru, Takami Tsuneaki	4. 巻 59
2. 論文標題 Chloroplast DNA Dynamics: Copy Number, Quality Control and Degradation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1120 ~ 1127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcy084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohnishi Norikazu, Zhang Lingang, Sakamoto Wataru	4. 巻 328-338
2. 論文標題 VIIPP1 involved in chloroplast membrane integrity has GTPase activity in vitro	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 328-338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.18.00145	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishimura Kenji, Matsushita Tomonao, Shikanai Toshiharu, Sakamoto Wataru	4. 巻 59
2. 論文標題 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 Spotlight Issue: From Light Signals/Signaling to Photosynthesis and Chloroplast Development	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 1099 ~ 1103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcy077	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sallese Coralie, Sharwood Robert, Sakamoto Wataru, Stern David	4. 巻 175
2. 論文標題 The Rubisco Chaperone BSD2 May Regulate Chloroplast Coverage in Maize Bundle Sheath Cells	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 1624 ~ 1633
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.17.01346	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計28件（うち招待講演 10件 / うち国際学会 15件）

1. 発表者名 坂本亘、大西紀和
2. 発表標題 プロトン駆動力を維持するチラコイド 膜リモデリングのVIPP1による理解
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大西紀和、杉本学、張林剛、坂本亘
2. 発表標題 葉緑体膜の形成と機能維持に重要なVIPP1が示す新奇ATPaseおよびGTPase活性の異なる特徴
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高見常明、坂本亘
2. 発表標題 dpd1変異はオートファジー変異体の早枯れ表現型を抑制する
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小澤真一郎、Philipp Gabelein, Felix Buchert, Laura Mosebach, Susan Hawat, Martin Scholz, 坂本亘、Michael Hippler
2. 発表標題 緑藻クラミドモナスの外縁LHCI欠損による光捕集複合体再構成能力の生化学的解析
3. 学会等名 第62回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakamoto W.
2. 発表標題 Photo-oxidative damage of Photosystem II and specific degradation of D1 reaction center protein by FtsH protease.
3. 学会等名 The 9th Asia-Oceania Conference on Photobiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kato, Y. and Sakamoto, W.
2. 発表標題 Degradation of photo-damaged D1 in the PSII repair and FtsH.
3. 学会等名 Japan-America Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakamoto, W.
2. 発表標題 Inhibition and protection of photosynthetic components in chloroplasts.
3. 学会等名 2019 Taiwan Society of Plant Biologists Annual Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakamoto, W.
2. 発表標題 VIIPP1 Protein and its Possible Role in Chloroplasts.
3. 学会等名 Biogenesis of Thylakoid Membranes: Spatiotemporal Organization of Photosynthetic Protein Complex Assembly, 2nd International Meeting DFG, Research Unit FOR2092 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤裕介・Vivek Dogra・Mingyue Li・黒田洋詩・高橋裕一郎・斉藤圭亮・石北 央・Chanhong Kim・坂本 亘
2. 発表標題 D1タンパク質の酸化修飾がFtsHによる基質認識につながる可能性.
3. 学会等名 第10回日本光合成学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大西紀和、張林剛、坂本亘
2. 発表標題 葉緑体膜の形成および機能維持に重要なVIPP1が示す新奇ATPase活性の解析
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高見常明、坂本亘
2. 発表標題 var2変異体の斑入りセクタートランスクリプトームデータの再検討
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sakamoto W.
2. 発表標題 Possible role of protein degradation as a signaling mechanism in chloroplasts
3. 学会等名 1st Asia-Oceania International Congress on Photosynthesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kato, Y., Hyodo, K., and Sakamoto, W.
2. 発表標題 Regulation of FtsH function and proper FtsH turnover in the PSII repair cycle.
3. 学会等名 1st Asia-Oceania International Congress on Photosynthesis (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakamoto, W. and Takami, T.
2. 発表標題 Chloroplast DNA degradation serving as nutrient reservoir in plants.
3. 学会等名 Japan-Finland Seminar 2018-Shaping photosynthesis against climate change and toward efficient water and nutrient management. (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sakamoto, W., Nishimura K., and Kato, Y.
2. 発表標題 Chloroplast protein degradation and beyond: DtsH and a possible peptide export.
3. 学会等名 International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takami T. and Sakamoto W.
2. 発表標題 Contribution of chloroplast DNA degradation by DPD1 exonuclease under phosphate deficient condition
3. 学会等名 International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kato, Y., DOgra, V., Li, M., Kuroda, H., Takahashi, Y., Kim, C., and Sakamoto, W.
2. 発表標題 Effects of oxidative post-translational modification in PSII repair
3. 学会等名 International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ohnishi, N., Zhang, L., and Sakamoto, W.
2. 発表標題 VIPP1, the membrane integrity-maintaining protein in chloroplasts, has GTPase activity in vitro
3. 学会等名 International Symposium on Photosynthesis and Chloroplast Biogenesis (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大西紀和、坂本亘
2. 発表標題 ソルガムの在来種たかきびが出穂後に示す高温・強光耐性の光合成活性による評価
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Norikazu Ohnishi, Lingang Zhang and Wataru Sakamoto
2. 発表標題 VIPP1, a chloroplast membrane integrity-maintaining protein, has GTP-binding and hydrolysis activities in vitro
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kato Y, Sakamoto W.
2. 発表標題 Possible regulation mechanisms of chloroplastic FtsH metalloprotease by protein phosphorylation.
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Sakamoto, W., Ohnishi, N., Takami, T.
2. 発表標題 Chloroplast DNA and nutrient salvage: a new concept.
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nishioka, K., Kato, Y., Ozawa, S., Takahashi, Y., Sakamoto, W.
2. 発表標題 Comprehensive analysis of phosphoprotein in thylakoid membranes.
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nishimura, K., Ishimori, M., Sekiya, T., Watson, S., Takami, T., Miyaji, T., Sakamoto, W.
2. 発表標題 Nuclear transcriptome rewiring involving a peptide-exporting ABC transporter on chloroplast envelopes.
3. 学会等名 Taiwan-Japan Plant Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 西岡佳司、加藤裕介、小澤真一郎、高橋雄一郎、坂本 亘
2. 発表標題 Phos-tagを用いたチラコイド膜におけるリン酸化タンパク質の網羅的検出法
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤裕介、兵頭究、坂本 亘
2. 発表標題 光化学系II修復サイクルでのFtsHプロテアーゼ自身の品質管理の重要性
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高見 常明、大西 紀和、栗田 悠子、岩村 青子、大西 美輪、三村 徹郎 坂本 亘
2. 発表標題 葉緑体DNA分解を介したリン利用効率・分配の最適化
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村健司、関谷堂真、石森元幸、高見常明、加藤裕介、宮地孝明、坂本亘
2. 発表標題 シロイヌナズナ葉緑体ペプチドエクスポーターの解析
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

光合成の機能維持にはタンパク質分解酵素自身の品質管理が重要
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/researchactivity/20181213-1.html>
オルガネラDNAを自己分解してリン栄養分にする生命現象の発見
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/researchactivity/20181119-1.html>
葉緑体DNAダイナミクスの総説
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/researchactivity/20180628-2.html>
葉緑体の機能維持に重要な新奇GTPaseの発見
<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/researchactivity/20180521-1.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高見 常明 (TAKAMI Tsuneaki) (70614254)	岡山大学・資源植物科学研究所・技術職員 (15301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
フランス	National Center for Scientific Research	Institut de Biologie Physico-Chimique	
中国	Chinese Academy of Sciences	Shanghai Center for Plant Stress Science	
ドイツ	University of Munster	Inst of Plant Biology and Biotechnology	
フランス	CNRS-IBPC		
中国	Chinese Academy of Sciences		
中国	Chinese Academy of Sciences	Shanghai Center for Plant Stress Biology	