

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03968

研究課題名(和文) 葉緑体によるCa²⁺シグナル制御の新機構研究課題名(英文) New regulatory mechanisms of cellular Ca²⁺ signaling by chloroplasts

研究代表者

椎名 隆 (Shiina, Takashi)

摂南大学・農学部・教授

研究者番号：10206039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：植物細胞のCa²⁺シグナル伝達における葉緑体やミトコンドリアの役割はよくわかっていない。この研究では、葉緑体に局在する2つのCa²⁺結合タンパク質CASとCRSHの特性を解析し、チラコイドのプロテインキナーゼSTN8によるCASの光依存的リン酸化が気孔開口制御に重要であること、CRSHが暗所で起こる葉緑体中の(p)ppGppの蓄積とプラスチド遺伝子の発現抑制に関係することを示した。さらに、葉緑体包膜に局在する機械刺激チャネルが細胞のROS局在の調節に関与していることや、ミトコンドリアの機能障害が細胞質ゾルのCa²⁺信号の生成とCa²⁺依存性ストレス遺伝子発現につながることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の環境応答やストレス応答で、細胞内のCa²⁺シグナルと活性酸素種(ROS)シグナルは相互に作用しながら重要なシグナル伝達の役割を果たしている。植物細胞には葉緑体やミトコンドリアなどの細胞小器官が存在し、細胞質との間でCa²⁺やROS信号の伝達をしていると考えられるが、その分子機構はわかっていない。本研究では、葉緑体内でCa²⁺やROSシグナルに関わる遺伝子の機能を解析し明らかにした。また、ミトコンドリアによるCa²⁺シグナル制御の可能性も示した。

研究成果の概要(英文)：In mammalian cells, mitochondria play a vital role in maintaining intracellular calcium(Ca²⁺) homeostasis. In contrast, the role of symbiotic organelles such as chloroplasts and mitochondria in plant cellular Ca²⁺ signaling remains elusive. In this study, we characterized two chloroplast-localized Ca²⁺-binding proteins CAS and CRSH. We found that light-dependent phosphorylation of CAS mediated by thylakoid protein kinase STN8 is critical for the light-induced opening of stomata. In addition, CRSH is responsible for the darkness-induced accumulation of (p)ppGpp, which is necessary to downregulate some plastidial gene expression. Furthermore, we found that chloroplast-localized mechano-sensitive channels are involved in the regulation of cellular ROS localization. Moreover, we found that mitochondrial dysfunction leads to the generation of a cytosolic Ca²⁺ transient and subsequent activation of Ca²⁺-dependent stress gene expression.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：葉緑体 ミトコンドリア Ca²⁺ ROS シグナル伝達 ストレス応答 気孔

葉緑体による Ca²⁺シグナル制御の新機構

1. 研究開始当初の背景

カルシウム(Ca²⁺)は、気孔制御や感染防御応答、傷害応答など、植物の様々な細胞応答で重要な細胞内シグナルとして働く。フェラジェリンペプチド (flg22) などの病原体特異的分子パターンやアブシシン酸などは、細胞質ゾル Ca²⁺濃度の一過的上昇を起こし、引き続き気孔閉口が生じる。しかし、植物細胞の Ca²⁺シグナルの発生機構や制御機構については、多くのことがわかっていなかった。また、植物細胞の Ca²⁺制御における葉緑体やミトコンドリアなどのオルガネラの役割についても、知見は少なかった。

一方、葉緑体 Ca²⁺応答に関係する葉緑体の Ca²⁺結合タンパク質の CAS や CRSH が同定されており、本研究でも、それらの機能解析を進めた。また、葉緑体と細胞質基質のコミュニケーションには、オルガネラに局在するチャネルや輸送体が重要な働きをされると考えられるが、葉緑体膜に存在するチャネルや輸送体の多くは解析されていなかった。本研究では、葉緑体包膜の機械受容チャネル MSL2 と MSL3 に注目し、それらの解析を進めた。また、動物細胞ではミトコンドリアが Ca²⁺/ROS シグナリングで重要な働きをしている。一方、植物細胞のミトコンドリアの役割は十分に解明されていなかった。そこで、ミトコンドリアにも注目し、植物細胞の Ca²⁺/ROS シグナリングにおけるミトコンドリアの役割の解析を進めた。

2. 研究の目的

植物細胞の Ca²⁺シグナルネットワークにおける葉緑体やミトコンドリアなどのオルガネラの役割を明らかにすることを目的に研究を進めた。葉緑体については、(1)葉緑体ストロマに Ca²⁺応答を引き起こすメカニズムの解明を目指すとともに、(2)葉緑体に局在する Ca²⁺結合タンパク質である CRSH と CAS に焦点を当て、その制御と機能の解析を進めた。さらに、(3)葉緑体包膜の機械刺激チャネルが Ca²⁺や ROS シグナリングに関係している可能性を考え、その機能解明を目指した。ミトコンドリアについても、植物細胞の Ca²⁺ネットワークとの関係を明らかにすることを目的に研究を進めた。また、植物細胞は接触刺激に対して敏感な Ca²⁺応答をすることから、植物の接触刺激応答の初期過程の解析も行った。

3. 研究の方法

植物材料 シロイヌナズナの野生型(Col-0 株)および各種変異体を用いた。生育は 1/2MS 培地 (1% ショ糖) で無菌的に行い、主に 2 週齢の植物を実験にもちいた。あるいは、土に移植し育成した 3 ~ 4 週齢の植物を用いた。生育は 22 °C、100 μmolm⁻²s⁻¹ の光強度 (16 時間明/8 時間暗) で行った。

細胞内 Ca²⁺濃度測定 Ca²⁺センサーであるイクオリンを細胞質基質あるいは葉緑体ストロマに発現させた植物を用いた。発光測定はルミノメーターで行った。また一部の解析は、GCaMP を細胞質に発現させた植物を用い、Ca²⁺応答を共焦点レーザー顕微鏡で解析した。

細胞内 ROS 測定 細胞内 ROS センサーの H₂-DCF-AM で植物体を処理し、細胞内の ROS 発生を共焦点レーザー顕微鏡で解析した。または DAB 染色あるいは NBT 染色で ROS を解析した。
遺伝子発現解析 植物体から抽出した RNA をリアルタイム PCR によって定量解析した。
RNAseq 解析 NextSeq500 で行った。解析は、最低 3 回の生物反復で行った。1 回のサンプルは、2-3 個体から RNA を抽出した

統計解析 t 検定または 1 元配置分散分析 (One-way ANOVA) で統計解析を行った。

4. 研究成果

(1) 葉緑体ストロマの Ca²⁺応答と葉緑体遺伝子発現制御

葉緑体ストロマの Ca²⁺濃度は細胞質基質と同じく 0.5 μM 前後の低いレベルに維持されており、環境変化に応答して一過的な変化をする。これまでに、高塩濃度ストレス、高浸透圧ストレス、過酸化水素その他、病原体感染応答を引き起こす PAMP のフラジェリンペプチド (flg22) やキチンに応答して、葉緑体ストロマで刺激特異的な Ca²⁺応答が生じることがわかっている。本研究では、ストロマ Ca²⁺応答の発生機構を探るとともに、その生理的役割を探る研究にも取り組んだ。

葉緑体ストロマの Ca²⁺応答とその役割

フラジェリンペプチド (flg22) は細胞膜の受容体 FLS2 に結合し、細胞質基質 Ca²⁺濃度の素早い上昇を引き起こすとともに、葉緑体ストロマの Ca²⁺濃度上昇も引き起こす。ストロマ Ca²⁺の応答は、細胞質基質の Ca²⁺応答に明らかに遅れており、細胞質から何らかのシグナルが伝達されて応答していると考えられる (図 1 A)。細胞シグナル伝達阻害剤の影響を詳細に調べた結果、細胞質基質の Ca²⁺応答は細胞外からの Ca²⁺流入に依存しており、ROS シグナリングは関与しない一方、ストロマ Ca²⁺応答は ROS に強く依存していた。これらの研究は、細胞質基

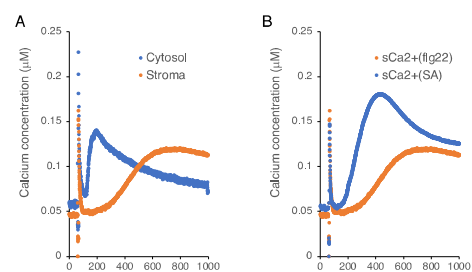


図 1 flg22(A)および SA(B)に対する細胞質基質及びストロマの Ca²⁺応答

質 Ca^{2+} 濃度上昇に引き続いて、細胞膜局在 ROS 生成酵素の Rboh が活性化され、その結果生じた ROS が細胞内さらには葉緑体に作用してストロマ Ca^{2+} 応答を引き起こしていることを示唆する。また、Rboh 阻害剤の DPI を処理すると、ストロマの静止 Ca^{2+} 濃度が $1 \mu M$ 程度に上昇することがわかった。一方、DPI は細胞質基質の Ca^{2+} 濃度には影響しなかった。このことは、細胞膜の Rboh 活性がストロマの静止 Ca^{2+} 濃度の制御に関係することを示唆しており、細胞膜と葉緑体のコミュニケーションに何らかの形で ROS が働いている可能性が考えられた。

最近の研究から、葉緑体の Ca^{2+} 結合タンパク質 CAS は、植物の感染防御におけるサリチル酸(SA)応答で重要な役割を果たしていることが明らかになっている(1-3)。そこで、外部から与えた SA がストロマ Ca^{2+} 濃度に及ぼす影響を評価した。その結果、図 1B に示すように、SA は flg22 に対する応答よりも早くストロマ Ca^{2+} 濃度の上昇を引き起こし、高い Ca^{2+} 濃度が 10 分以上続くことがわかった。一方、細胞質基質の Ca^{2+} 濃度はストロマに比較して小さな応答を示した。さらに細胞内シグナル伝達阻害剤の影響を解析し、ストロマ Ca^{2+} の SA 応答には、細胞外からの Ca^{2+} 流入や SHAM 依存のペルオキシダーゼが関与する可能性が示唆された。現在、SA が誘導するストロマ Ca^{2+} 濃度の大きな上昇を引き起こす生理応答について研究を進めている。

CRSH は Ca^{2+} 結合ドメインの EF ハンドを 2 つ持つタンパク質で、葉緑体ストロマに局在する。また、CRSH はバクテリアの緊縮応答シグナルである ppGpp を合成する RelA-SpoT のホモログ(RSHs)の一つで、葉緑体における Ca^{2+} 依存の ppGpp 合成に関わる可能性が考えられる。ストロマ Ca^{2+} 濃度は光照射条件から暗条件に移すことで一過的に上昇することが知られており、同時に ppGpp 濃度の上昇も見られる。本研究では、*crsh* ノックアウト変異体の解析から、CRSH が葉緑体での暗誘導の ppGpp の増大に重要な働きをしていることを示した。さらに、他の RSHs の変異体の解析から、ppGpp が葉緑体コードの遺伝子の発現制御に関係することもわかり、葉緑体 Ca^{2+} による葉緑体制御の一端が明らかになった。

CAS のリン酸化と気孔制御

CAS は葉緑体のチラコイド膜のストロマ側に結合したタンパク質で、光依存的なリン酸化を受ける。また、CAS は気孔制御で重要な働きをすることも知られている。CAS のリン酸化には、チラコイド膜局在タンパクキナーゼ STN8 が関与するが(図 2)、CAS リン酸化制御の役割についてはよくわかっていない。本研究では、CAS リン酸化の役割を明らかにするために、*stn8* ノックアウト変異体を用い、光依存的気孔開口について解析した。その結果、*stn8* 変異体では光依存的気孔開口が抑制され光照射下でも気孔が閉じていることがわかった。*stn8* 変異体の気孔開口はアニオンチャネル阻害剤で抑制され、フシコクシンによって回復することから(図 3)、葉緑体チラコイド膜蛋白キナーゼの STN8 が光依存的気孔開口で重要な働きをしており、その制御に細胞膜のアニオンチャネルが関与することが示された。続いて、光依存的にリン酸化を受ける CAS の 380 残基目のスレオニンをアラニンに置換した疑似非リン酸化変異体(T380A)を作成し、気孔応答への影響を評価した。その結果、*stn8* 変異体と同様の結果が得られ、光照射光での STN8 による CAS リン酸化が気孔開口制御に関係することが示唆された。

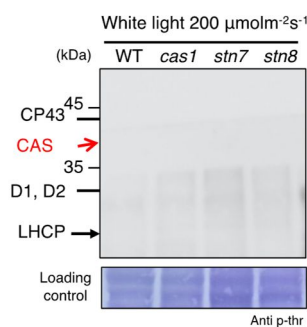


図 2 光依存的 CAS リン酸化は STN8 に依存する

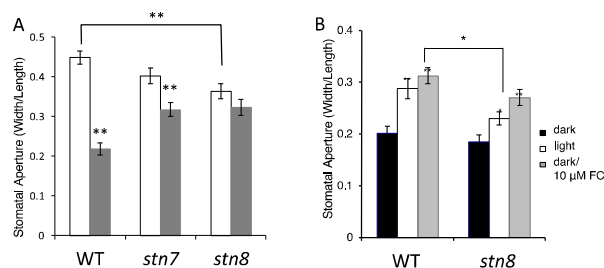


図 3 光依存的気孔開口と STN8
(A) *stn8* 変異体と光依存的気孔開口 (B) 光依存的気孔応答に対するフシコクシンの効果

(2) 葉緑体局在機械受容チャネル MSL2 および MSL3 の機能解析

大腸菌の機械受容チャネル MscS は、低浸透圧ショックにさらされた細菌を保護するチャネルで、膜の伸展を感知して開き細胞内低分子を排出することで細胞の破裂を防いでいる。MscS のホモログが植物に存在し(MSL1~MSL10)、細胞膜やオルガネラ膜で機械受容チャネルとしてはたらいている。これまでの研究で、MSL2 と MSL3 は葉緑体の内包膜に局在し、葉緑体の浸透圧調整に働いていることがわかっている。孔辺細胞は、気孔の開閉に伴って急激

な浸透圧変化を起こすが、その制御には Ca^{2+} シグナルや ROS シグナルが重要な役割を果たしている。そこで、まず孔辺細胞の ROS シグナリングにおける MSL2 と MSL3 の役割を解析した。剥離表皮切片に光照射を行い、細胞内の ROS 分布を ROS センサーの $\text{H}_2\text{-DCF}$ で可視化したところ、WT で ROS は主に細胞質に蓄積しているのに対し、*ms12/ms13* の二重変異体では ROS の主要な蓄積部位が葉緑体に変化することがわかった。葉緑体局在の ROS は暗所や DCMU 処理で消失することから、光合成に依存して葉緑体で発生した ROS と考えられる。同様の現象は孔辺細胞以外の表皮細胞でも観察されたが、プロトプラスト化した葉肉細胞では見られなかった。MSL2 と MSL3 は機械刺激にตอบสนองするアニオンチャネルであると考えられている。これらの結果は、葉緑体包膜の機械受容チャネル MSL2 と MSL3 が葉緑体の浸透圧調節および細胞内の ROS 分布の制御に関係していることを示唆している。

(3) ミトコンドリアによる細胞内 Ca^{2+} シグナリングおよび ROS シグナリングの制御

本研究では、葉緑体に加えてミトコンドリアが細胞内 Ca^{2+} シグナリングや ROS シグナリングに関係する可能性についても解析した。電子伝達阻害剤の 2,5-dibromo-3-methyl-6-isopropyl-p-benzoquinone (DBMIB) は、光合成のシトクロム b_6/f 複合体とミトコンドリアの bc_1 複合体に作用する。そこで、葉緑体の存在しない根に DBMIB を作用させ、ミトコンドリア電子伝達阻害が Ca^{2+} シグナリングと遺伝子発現に与える影響を評価した。図 4 に示すように、DBMIB を根に処理すると、1分以内に細胞質基質 Ca^{2+} 濃度の素早い一過の上昇が観察された。この Ca^{2+} 濃度上昇は Ca^{2+} キレート剤の BAPTA で抑制されることから、細胞外からの流入によるものと考えられる。続いて、DBMIB に対する遺伝子発現応答を解析した結果、DBMIB 処理後 30 分で多数の防御・ストレス応答遺伝子の発現が誘導され、その約半数が Ca^{2+} 依存性の発現制御を受けていることがわかった。一方、DBMIB はキノンの結合部位に結合することが予想される。最近、細胞膜にキノン受容体 CARD1 が存在し植物免疫に関係する可能性が報告されているので、DBMIB に対する応答に CARD1 が関係する可能性も検討した。しかし、DBMIB 応答は *card1* 変異体で抑制されなかったことから、DBMIB 応答と CARD1 は関係しないと考えられた。これらの結果から、DBMIB によるミトコンドリアの電子伝達阻害が未同定のシグナルを介して細胞膜の Ca^{2+} チャネルを制御することで細胞質基質の Ca^{2+} 濃度が上昇し、続いて Ca^{2+} 応答性の防御・ストレス応答遺伝子の発現が誘導される経路を明らかにすることができた。

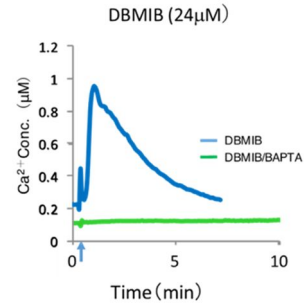


図 4 DBMIB に対する細胞質基質 Ca^{2+} 応答

先述した機械受容チャネル MSL2/MSL3 のホモログ MSL1 は、ミトコンドリア内膜に局在する。そこで、MSL1 が細胞質 Ca^{2+} 濃度制御や活性酸素種 (ROS) 制御に関わっている可能性を検討した。接触刺激、塩ストレス、*flg22* に対する細胞質 Ca^{2+} 応答は、*ms11-1* ノックアウト変異体および過剰発現体で WT との違いは見られなかった。一方、*ms11-1* ノックアウト変異体では孔辺細胞細胞質の ROS 量が低下していることを見出した。この結果は、ミトコンドリアの MSL1 が細胞質 ROS レベルの制御に関わっていることを示している。

先述した機械受容チャネル MSL2/MSL3 のホモログ MSL1 は、ミトコンドリア内膜に局在する。そこで、MSL1 が細胞質 Ca^{2+} 濃度制御や活性酸素種 (ROS) 制御に関わっている可能性を検討した。接触刺激、塩ストレス、*flg22* に対する細胞質 Ca^{2+} 応答は、*ms11-1* ノックアウト変異体および過剰発現体で WT との違いは見られなかった。一方、*ms11-1* ノックアウト変異体では孔辺細胞細胞質の ROS 量が低下していることを見出した。この結果は、ミトコンドリアの MSL1 が細胞質 ROS レベルの制御に関わっていることを示している。

(4) 接触刺激に対する Ca^{2+} 応答と遺伝子発現制御

植物に触れたり一定の圧力を加えると、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇や ROS 生成、防御関係遺伝子の発現誘導が見られる。本研究では、 Ca^{2+} 濃度上昇や ROS 生成が主に表皮細胞と孔辺細胞で生じることを見い出すとともに、細胞膜の Rboh 生成酵素 RbohF が接触刺激にตอบสนองした ROS 生成に関わることを明らかにした(図 5)。また、機械刺激に対する RbohF の活性化に、 Ca^{2+} 依存タンパクキナーゼの CPK1 と CPK2 が関与することを明らかにした。さらに、接触刺激が引き起こす成長抑制に RbohF が関わることも見出している。これらの結果は、接触刺激応答における Ca^{2+} シグナルの重要性を示している。また、接触刺激に伴い、葉緑体ストロマの Ca^{2+} 濃度も上昇することから、接触刺激応答の初期過程に葉緑体に関与する可能性も示唆された。

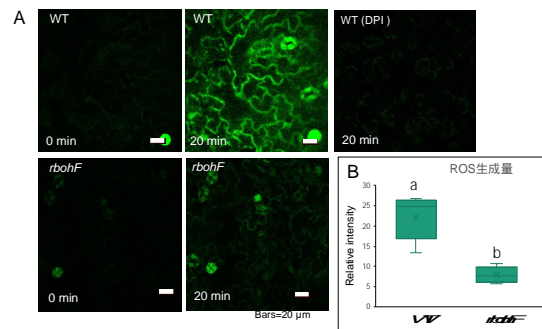


図 5 接触刺激にตอบสนองした ROS 生成

文献

- (1) Nomura et al., 2012 Nature Commun.
- (2) Tang et al., 2020 Mol. Plant Pathol.
- (3) Medina-Puche et al., 2021 Cell

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mikio Nozoe, Yuichi Tsunoyama, Yoko Ishizaki, Yoichi Nakahira, Takashi Shiina	4. 巻 27
2. 論文標題 Selective Activation of Chloroplast psbD Light-Responsive Promoter and psaA/B Promoter in Transplastomic Tobacco Plants Overexpressing Arabidopsis Sigma Factor AtSIG5	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Protein & Peptide Letters	6. 最初と最後の頁 168-175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/0929866526666191014130605	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 Suwastika, I. N.; Cruz, A. F.; Pakawaru, N. A.; Wijayanti, W.; Muslimin; Basri, Z.; Ishizaki, Y.; Tanaka, T.; Ono, N.; Kanaya, S.; Shiina, T.	4. 巻 52
2. 論文標題 Characterization of Bacterial and Fungal Communities in Soils under Different Farming Systems. The Cacao Plantation in Sulawesi Island Indonesia	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Eurasian Soil Sc.	6. 最初と最後の頁 1234-1243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1134/S1064229319100144	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 該当する
1. 著者名 Andre; Freire Cruz, I Nengah Suwastika, Hayao Sasaki, Tomoharu Uchiyama, Nurul Aisyah Pakawaru, Wahyuningsih Wijayanti, Muslimin, Zainuddin Basri, Yoko Ishizaki, and Takashi Shiina	4. 巻 9
2. 論文標題 The Cacao plantation in Sulawesi Island, Indonesia: I an agro-ecological analysis of conventional and organic farms	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Organic Agriculture	6. 最初と最後の頁 225-234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13165-018-0224-z	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 該当する
1. 著者名 Kikuchi S, Asakura Y, Imai M, Nakahira Y, Kotani Y, Hashiguchi Y, Nakai Y, Takafuji K, Bedard J, Hirabayashi-Ishioka Y, Mori H, Shiina T, Nakai M	4. 巻 30
2. 論文標題 A Ycf2-FtsHi Heteromeric AAA-ATPase Complex Is Required for Chloroplast Protein Import	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Cell	6. 最初と最後の頁 2677-2703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1105/tpc.18.00357	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 I Negah Suwastika, Andre; Freire Cruz, Nurul Aisyah Pakawaru, Wahyuningsih Wijayanti, Muslimin, Zainuddin Basri, Yoko Ishizaki, Tetsushi Tanaka, Naoaki Ono, Shigehiko Kanaya, Takashi Shiina	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 The Cacao plantation in Sulawesi Island Indonesia: ;Characterization of the soil microbial community.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 urasian Soil Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する
1. 著者名 Kitajima, S., Imamura, T., Iibushi, J., Ikenaga, M., Tachibana, Y., Andoh, N., Oyabu, H., Hirooka, K., Shiina, T., Ishizaki, Y.	4. 巻 81
2. 論文標題 Ferritin 2 domain-containing protein found in lacquer tree (<i>Toxicodendron verniciflum</i>) sap has negative effects on laccase and peroxidase reactions.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 1165-1175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09168451.2017.1289814.	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 Shimmura S., Nozoe, M., Kitora, S., Kin S., Matsutani, S., Ishizaki, Y., Nakahira, Y. and Shiina, T.	4. 巻 8
2. 論文標題 Comparative analysis of chloroplast psbD promoters in terrestrial plants	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Front. in Plant Sci.	6. 最初と最後の頁 1186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2017.01186.	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 Ono, S., Suzuki, S., Ito, D., Tagawa, S., Shiina, T. and *Masuda, S.	4. 巻 61
2. 論文標題 Plastidial (p)ppGpp synthesis by the Ca ²⁺ -dependent Re;A-SpoT homolog regulates the adaptation of chloroplast gene expression to darkness in <i>Arabidopsis</i> .	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 2077-2086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcaa124.	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 Nakahira Y, Mizuno K, Yamashita H, Tsuchikura M, Takeuchi K, Shiina T, Kawakami H	4. 巻 12
2. 論文標題 Mass Production of Virus-Like Particles Using Chloroplast Genetic Engineering for Highly Immunogenic Oral Vaccine Against Fish Disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Plant Sci.	6. 最初と最後の頁 717952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2021.717952	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 -

[学会発表] 計30件(うち招待講演 0件/うち国際学会 7件)

1. 発表者名 藤森 達郎, 泉田 颯太, 渡辺 健太, 椎名 隆
2. 発表標題 気孔応答におけるミトコンドリア機械受容チャネル MSL1 の役割
3. 学会等名 第83回植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 後藤 遼子, 高尾 実波, 北島 佐紀人, 石崎 陽子, 椎名 隆
2. 発表標題 マイハギ托葉の自律的旋回運動機構の解析
3. 学会等名 第83回植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐伯 雄亮, 尾上 真里奈, 水野 公貴, 村田 鷹規, 石崎 陽子, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの気孔応答における Ca ²⁺ チャネル CNGC5 の役割の検証
3. 学会等名 第83回植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水野 公貴, 上村 優奈, 椎名 隆
2. 発表標題 葉緑体タンパク質CASによる気孔免疫応答の制御
3. 学会等名 第82回日本植物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 尾上 真里奈, 村田 鷹規, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの CNGC 変異体の表現型解析
3. 学会等名 第82回日本植物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田川 翔大, 山岡 征矢, 渡辺 拓也, 朽津 和幸, 椎名 隆
2. 発表標題 機械刺激による表皮細胞での ROS 生成の解析
3. 学会等名 第82回日本植物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 健太, 泉田 颯太, 椎名 隆
2. 発表標題 ミトコンドリア内膜に局在する機械受容チャネル MSL1 の 気孔応答における役割
3. 学会等名 第82回日本植物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桐島 祐貴, 上村 優奈, 水野 公貴, 石崎 陽子, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの CAS リン酸化部位置換変異体におけるフ ラジェリン応答遺伝子の発現解析
3. 学会等名 第82回日本植物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石崎 陽子, 桐島 祐貴, 菅 裕, 椎名 隆, 北島 佐紀人
2. 発表標題 ウルシ及び近縁種の葉緑体ゲノムシーケンス
3. 学会等名 第82回日本植物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takaki Murata, Takanori Iwaki, Koji Shimotani, Miho Kotani, Kanako Yamasaki, Satoshi Sano, Takashi Shiina
2. 発表標題 DBMIB induced mitochondrial Ca ²⁺ release and stress/defense gene expression
3. 学会等名 ISPCB2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuna Uemura, Yuki Kirishima, Masaki Mizuno, Koji Shimotani, Kanako Yamasaki, Yoko Ishizaki, Takashi Shiina
2. 発表標題 Role of Phosphorylation of Chloroplast Ca ²⁺ Binding Protein CAS in the Regulation of Stomatal Movement
3. 学会等名 ISPCB2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masaki Mizuno, Yuna Uemura, Takashi Shiina
2. 発表標題 Regulation of PAMP-induced ROS burst in stomatal immunity by Chloroplast protein CAS
3. 学会等名 ISPCB2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上村優奈, 桐島祐貴, 水野公貴, 石崎陽子, 椎名隆
2. 発表標題 光依存的気孔開口における葉緑体 Ca ²⁺ 結合タンパク質 CAS のリン酸化の役割
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田鷹規, 下谷紘司, 小谷美穂, 尾上真里奈, 山崎加奈子, 佐野智, 椎名隆
2. 発表標題 ミトコンドリア阻害が誘導する細胞質ゾルの Ca ²⁺ 濃度上昇による防御関連遺伝子の発現誘導
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村田 鷹規, 下谷紘司, 岩城 宇律, 小谷 美穂, 山崎 加奈子, 佐野 智, 椎名 隆
2. 発表標題 オルガネラ電子伝達阻害と遺伝子発現応答
3. 学会等名 第81回日本植物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田川 翔大, 山岡 征矢, 渡辺 拓也, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの機械刺激応答時におけるRbohの役割
3. 学会等名 第81回日本植物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水野 公貴, 小谷 美穂, 上村 優奈, 椎名 隆
2. 発表標題 葉緑体タンパク質CASによる細胞内Ca ²⁺ ; 応答の制御
3. 学会等名 第81回日本植物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上村 優奈 水野 公貴, 下谷 紘司, 山崎 加奈子, 椎名 隆
2. 発表標題 葉緑体Ca ²⁺ 結合タンパク質CASのリン酸化と気孔開閉制御
3. 学会等名 第81回日本植物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 泉田 颯太, 艾原 佐紀, 濱谷 昭寿, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナにおけるミトコンドリア機械刺激受容チャネルMSL1の解析
3. 学会等名 第81回日本植物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 久保 有沙, 小谷 美穂, 上村 優奈, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの葉緑体カルシウムの役割
3. 学会等名 第81回日本植物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuna Uemura, Masaki Mizuno, Koji Shimotani, Kanako Yamasaki, Yoko Ishizaki, Takashi Shiina
2. 発表標題 Possible role of phosphorylation of chloroplast Ca ²⁺ binding protein CAS in the regulation of stomatal opening.
3. 学会等名 TJPB2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Takaki Murata, Takanori Iwaki, Koji Shimotani, Miho Kotani, Kanako Yamasaki Satoshi Sano, Takashi Shiina
2. 発表標題 Organelle electron transfer inhibition and gene expression response
3. 学会等名 TJPB2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Souta Izumida, Saki Yomogihara, Akitoshi Hamatani and Takashi Shiina
2. 発表標題 The role of mitochondrial mechanosensitive receptor channel MSL1 in seed germination in Arabidopsis thaliana
3. 学会等名 TJPB2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoko Ishizaki Sakito Kitajima Yuki Kirishima Takashi Shiina
2. 発表標題 Tissue specific transcriptome analyses of Asian Lacquer tree
3. 学会等名 TJPB2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田川翔大, 山岡征矢, 渡辺拓也, 椎名隆
2. 発表標題 機械刺激に対する局所的な防御遺伝子の発現におけるNADPOHオキシダーゼの役割
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村田 鷹規, 岩城 宇律, 下谷紘司, 小谷 美穂, 山崎 加奈子, 佐野 智, 椎名 隆
2. 発表標題 Ca ²⁺ 依存のミトコンドリアから核への レトログレードシグナルは防御関連応答の制御
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 久保有沙, 小谷美穂, 村田鷹規, 椎名隆
2. 発表標題 Ca ²⁺ による葉緑体機能制御の検討
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水野公貴, 上村優奈, 小谷美穂, 椎名隆
2. 発表標題 flg22誘導の気孔閉口における葉緑体タンパク質の役割
3. 学会等名 第59回日本植物生理学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田川 翔大, 山岡 征矢, 渡辺 拓也, 豊田 正嗣, 朽津 和幸, 椎名 隆
2. 発表標題 シロイヌナズナの機械刺 激応答における活性酸素生成誘導
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石崎 陽子, 椎名 隆, 北島 佐紀人
2. 発表標題 Toxicodendron 属の葉緑体ゲノム塩基配列の解析と比較
3. 学会等名 日本植物学会 第84回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Nomura, H., Shiina, T.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 464 (337-371)
3. 書名 Calcium transport elements in plants	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	野村 裕也 (Nomura Hironari) (00547028)	岐阜女子大学・家政学部・准教授 (33702)	
研究分担者	熊崎 茂一 (Kumasaka Shigeiti) (40293401)	京都大学・理学研究科・准教授 (14301)	
研究分担者	石崎 陽子 (Ishizaki Yoko) (50423869)	摂南大学・農学部・助手 (34428)	

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