

令和 3 年 5 月 19 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19337

研究課題名(和文)機能性ポリアミドによる緑藻の生殖プログラムのハッキング

研究課題名(英文)Hacking the sexual program of green algae by functional polyamides

研究代表者

西村 芳樹(Nishimura, Yoshiki)

京都大学・理学研究科・助教

研究者番号：70444099

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：機能性ポリアミドは狙った特定塩基配列に直接結合する人工化学物質である。その標的配列は任意にデザインでき、目的遺伝子の発現抑制に応用できる。この技術により単細胞緑藻クラミドモナスの接合子特異的遺伝子群のcis-elementであるZYREの解析をおこなった。まず実験の最初の障壁は細胞透過性の向上であった。様々な条件を検証した結果、ポリアミドをアルギニン(R)およびTAMRAで修飾すると細胞透過性が向上することが判明した。RT-qPCR解析により、ZYREを標的としたポリアミド処理による接合子特異的遺伝子の発現抑制が確認され、ZYREの重要性が支持された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

機能性ポリアミドは狙った特定塩基配列に直接結合する人工化学物質であり、その標的配列は任意にデザインでき、目的遺伝子の発現抑制や活性化に応用できる。しかし細胞透過性の問題が、これまで一つの障壁であった。今回の研究から、ポリアミドにアルギニンを付加したり、TAMRAで修飾することにより、その細胞透過性を向上させて遺伝子発現の抑制効果を検証できるようになったことから、より多くの生物種への応用の糸口が得られた。また、今回の解析の方法論は、様々な生物種におけるcis-elementの遺伝子発現制御における機能解析に応用できると期待される。

研究成果の概要(英文)：Functional polyamide is an artificial chemical that binds directly to a specific target sequence. The target sequence can be arbitrarily designed and applied to suppress the expression of target genes. Using this technology, we analyzed ZYRE, a cis-element of the zygote-specific genes of the unicellular green alga Chlamydomonas. The first barrier in this research was the improvement of cell permeability, which was solved by the addition of Arginine and TAMRA. RT-qPCR analysis confirmed the repression of zygote specific gene expression by polyamide treatment targeting ZYRE, supporting the importance of ZYRE in the zygote-specific gene expression in Chlamydomonas.

研究分野：植物分子遺伝学

キーワード：機能性ポリアミド 緑藻クラミドモナス 接合 細胞透過性

1. 研究開始当初の背景

機能性ポリアミドは狙った特定塩基配列に直接結合する人工化学物質である(図1)。その標的配列は任意にデザインでき、目的遺伝子の発現抑制や、さらには蛍光物質や遺伝子発現活性化因子との複合体を合成することで、特定配列の可視化や目的遺伝子の過剰発現にも応用できる。この技術はこれまで再生医療やガン治療など主に医療分野で応用されてきたが、本研究ではこれを基礎科学の分野、具体的には単細胞生物における生殖プログラムのハッキングへの応用に挑みた。

単細胞緑藻クラミドモナスは雌雄(mating type plus/minus)の性を持ち、約半世紀にわたり生殖のモデルとして研究されてきた。クラミドモナスでは接合子形成とともに数百の遺伝子群が活性化され、それらが胞子形成、細胞核融合、葉緑体母性遺伝、ミトコンドリア父性遺伝、鞭毛の縮退、細胞壁合成など多岐にわたるイベントを時空間的スケジュールに則って整然と進行させる。これまでに接合子特異的遺伝子群に共有される cis-element (Zygote response factor: ZYRE) がみえてきたが、生殖プログラムの全体構造やそこにおける ZYRE の実際の役割は謎のままであった。ZYRE のように多数の遺伝子に共有される cis-element について、ゲノム編集技術や順遺伝学などで解析することは困難である。そこで ZYRE 特異的な機能性ポリアミドをデザインし、接合子形成前後の様々な段階で一過的に投与して、その効果について表現型観察および RNAseq 解析をおこなうことで、生殖プログラムの制御において ZYRE が果たす役割、生殖プログラム全体構造の解明をめざした。

2. 研究の目的

機能性ポリアミドは、任意の塩基配列に可逆的に結合し、遺伝子発現抑制を引き起こす人工的化学物質である(図1)。脱アセチル化酵素阻害剤や蛍光色素など、様々な化学物質との複合体として合成することもでき、人為的遺伝子発現活性化や染色体上の遺伝子配列の位置の可視化など、多様な目的に応用できる潜在性を秘めている。機能性ポリアミドはこれまでに再生医療やガン治療など主に医学分野において活用されてきたが、本研究課題において我々は、緑藻の生殖プログラムの解析に注目した。

単細胞緑藻クラミドモナスでは、接合子形成とともに数百の遺伝子群が活性化され、胞子形成、細胞核融合、葉緑体母性遺伝、ミトコンドリア父性遺伝、鞭毛の縮退、細胞壁合成など多岐にわたるイベントが時空間的スケジュールに則って整然と進行する。これまでに、接合子特異的遺伝子群に共有される cis-element (Zygote response factor: ZYRE) がみえてきたが、プログラム全体において ZYRE が果たす役割は謎のままである。数百の遺伝子に存在する cis-element の機能について、ゲノム編集技術や順遺伝学などで解析することは困難である。そこで ZYRE 特異的なポリアミドをデザイン、検証し、接合子形成前後の様々な段階で一過的に投与し、その効果を RNAseq で検証することにより、ZYRE の機能および生殖プログラム構造の解明をめざした。

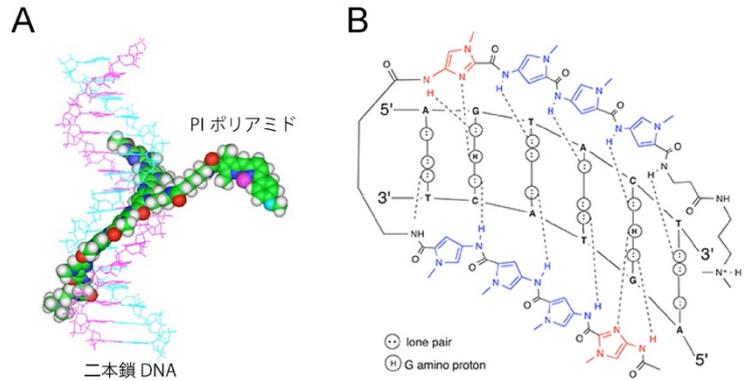


図1 機能性ポリアミドの作用機序

機能性ポリアミド(ピロール(Py)-イミダゾール(Im)ポリアミド)は、DNAのマイナージループに塩基配列特異的かつ可逆的に結合する(A)。PyとImの逆平行対を調節することで任意の塩基配列を認識する様にデザインできる(B)。結合のKm値は転写因子に匹敵し、遺伝子発現の阻害に十分である。さらに蛍光色素や遺伝子発現活性化に関する阻害剤(ヒストン脱アセチル酵素阻害剤)など様々な化学物質との複合体を合成することにより、多様な用途に応用可能な技術である。

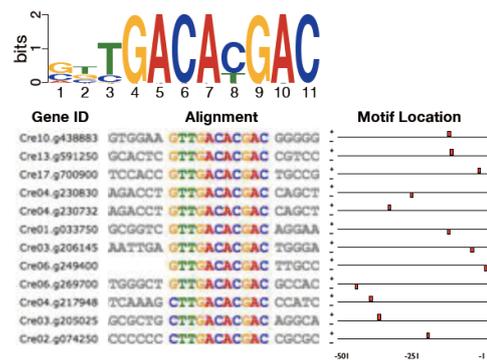


図2 接合子特異的遺伝子の5'UTRに共通するモチーフ: ZYRE

接合子特異的に発現が上昇する遺伝子群について、その上流に共通のモチーフがMEME(Bailey and Elkan 1994)により検出された(上図)。下図は遺伝子間のアラインメントと開始コドンに対する相対的位置を示す。

3. 研究の方法

(1) ポリアミドの細胞透過性の検証：まず機能性ポリアミドの細胞透過性を検証するために、蛍光物質との複合体を合成し、それが単細胞緑藻の細胞内、細胞核内に蓄積するかどうかを顕微鏡により検証する。ポリアミドの透過性が確認できなかった際には、界面活性剤など細胞透過性を向上させる処理条件の検討、およびポリアミドの化学修飾により疎水性を上げる工夫をした。

(2) ポリアミド処理条件の最適化：ポリアミドの細胞内局在が確認できたら、次に様々な濃度や時間スケールで機能性ポリアミド処理をおこない、その効果を検証して処理条件の最適化をおこなう。ポリアミド処理の効果の検証にあたっては、顕微鏡による表現型の詳細な観察、および ZYRE をプロモーター部位に挿入したレポーター（ルシフェラーゼ）遺伝子コンストラクトを用いた定量的な解析を試みた。

(3) ポリアミドによる ZYRE 抑制効果の検証および遺伝子ターゲティング：ポリアミド処理のレポーター遺伝子に対する抑制効果が確認され、その処理条件の最適化ができれば、実際にポリアミドによる遺伝子抑制実験、および ZYRE 抑制実験を試みた。配偶子誘導から接合、接合胞子形成の各段階で RNAseq 解析をおこない、ZYRE を標的としたポリアミド処理がトランスクリプトームに与えるインパクトを明らかにすることを目指した。

4. 研究成果

(1) ポリアミドの細胞透過性の検証：

動物細胞においては、機能性ポリアミドは細胞透過性であり、培地に添加するだけで生きた細胞にとりこまれ、その遺伝子発現を制御できる。緑藻クラミドモナスでの効果を検証するため、蛍光物質（Fluorescein isothiocyanate）を付加したポリアミドを作成し、クラミドモナスの培地に添加して蛍光顕微鏡で観察したところ、予想に反し全く細胞に取り込まれなかった。

まずクラミドモナスの細胞壁がポリアミドの取り込みを阻害している可能性について検証した。そのために、クラミドモナスの細胞壁欠損株、細胞壁除去処理株、および接合子（細胞壁を脱いでプロトプラスト状になる）をもちいてポリアミドの取り込みを観察したが、いずれの細胞においてもポリアミドは全く細胞に取り込まれなかった。このことは、ポリアミドの取り込みの律速が、細胞壁ではなく、細胞膜の特性にあることを示していた。

次に、FITC(Fluorescein isothiocyanate)がクラミドモナス細胞への取り込みを阻害した可能性を考え、別の蛍光色素である TAMRA、および無標識のポリアミドを合成し、その細胞への取り込みを検証した。無標識のポリアミドは、蛍光顕微鏡による細胞取り込みの検証ができないため、遺伝子発現解析の際にコントロールとして用いることにした。一方、TAMRA を付加したポリアミドはわずかに細胞への取り込みが顕微鏡で観察されたものの、依然として取り込み効率は非常に低かった。そこで、動物細胞で細胞への取り込みを促進する効果が報告されていた(Hidaka et al., Chem Commn 2020)、アルギニン修飾をおこなった

(図3)。ポリアミド-TAMRA に対しアルギニンを2箇所 (R2)、4箇所 (R4) 付加したものを調製し、それぞれの細胞取り込み効率を観察した。その結果、TAMRA およびアルギニン修飾したポリアミドについて、生きたクラミドモナスに対して効率の良い取り込みが観察された (図4)。しかし、細胞内のポリアミド-TAMRA の局在を蛍光顕微鏡でより詳細に観察したところ、細胞内の顆粒状構造として TAMRA の蛍光が観察されており (図4：矢印)、細胞核や葉緑体/ミトコンドリア核様体など、DNA 分子との共局在は観察されなかった。このことはすなわち、ポリアミド-TAMRA がエンドソームにトラップされてしまい、細胞核に効率よくアクセスできていない

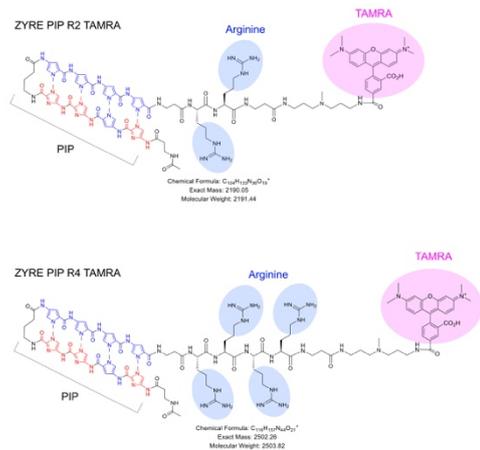


図3 アルギニン修飾ポリアミド

細胞透過性の向上のため、アルギニン (2 箇所 (R2)、4 箇所 (R4)) 修飾および蛍光色素 TAMRA を付加したポリアミドの化学構造。

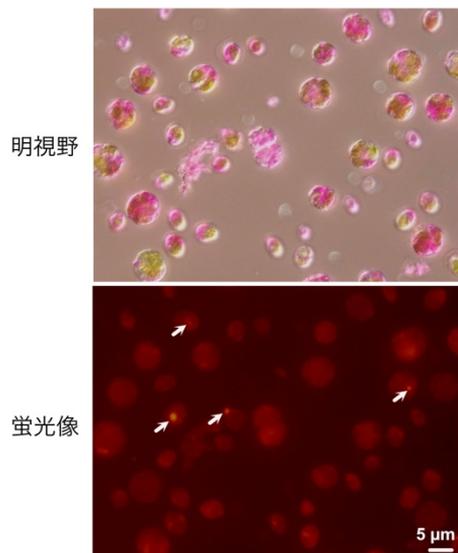


図4 アルギニン修飾ポリアミドのクラミドモナス細胞への取り込み

アルギニンを付加することで、細胞への取り込みが向上した (明視野)。TAMRA 修飾したポリアミドは、明視野顕微鏡でピンク色として観察された。しかし取り込まれたポリアミドの多くはエンドソームに蓄積していた (蛍光像：矢印)。

ことを示唆していた。

そこで、エンドソームからの物質の放出を促進するとされる Endoport^{er} の効果を検証した。Endoport^{er} は両親媒性ペプチドであり、まず疎水面で細胞膜に結合し、導入物質とともにエンドサイトーシスでエンドソームに取り込まれたのち、酸性環境で構造変化することでエンドソームの開裂を促進し、導入物質の細胞質への拡散を引き起こすとされる。これをクラミドモナスに添加してポリアミド-TAMRA の局在を観察した。その結果、Endoport^{er} の添加により、細胞内で顆粒状に観察されたポリアミド-TAMRA のシグナルが、Endoport^{er} 添加により細胞質に拡散した。

以上より、緑藻クラミドモナスを機能性ポリアミド処理のうえで、おそらく動物と緑藻の細胞膜特性の違いから、細胞への取り込みを促進するためのいくつかの工夫が必要であることが明らかになった。ポリアミドのアルギニン修飾により、細胞への取り込みは大幅に改善されたものの、細胞内においてポリアミドはエンドソームにトラップされてしまい、このままでは機能しないことが危惧された。一方、Endoport^{er} によってエンドソームからポリアミドが解放されたものの、細胞毒性や生殖プロセスへの影響について慎重に検証すべきであると考えた。

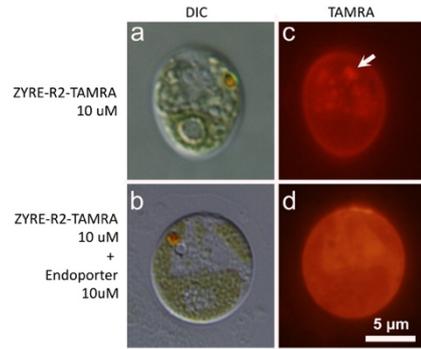


図5 Endoport^{er} によるポリアミドの細胞内での局在変化

Endoport^{er} を添加すると、細胞内に観察された顆粒状のポリアミド-TAMRA の蛍光 (c 矢印) が、細胞質に拡散した (d)。

(2) レポーター株をもちいたポリアミド処理条件の検討: ルシフェラーゼをレポーターとして、ポリアミド処理条件の検証を行う予定であったが、Umen 研より譲渡していただいたレポーター株 (Hamaji et al., G3 2016) が接合能力を失ってしまっていたことに加え、クラミドモナスにおいてルシフェラーゼをレポーターとして用いる場合、内在性のルシフェラーゼの mRNA/タンパク質量よりも、発光基質であるルシフェリンのエンドサイトーシスによる取り込みのほうが大きな律速因子となり、結果を攪乱するという情報を得た (personal communication)。そのため、この実験計画を修正し、直接 RT-qPCR や RNAseq によってポリアミドの影響を検証し、その処理条件の最適化をめざした。

(3) ポリアミドによる ZYRE 抑制効果の検証および遺伝子ターゲティング: 接合子特異的遺伝子群の cis-element ZYRE に対するポリアミドの抑制効果を検証するため、生殖の様々なタイミングでポリアミド処理をおこなった。配偶子、接合子を対象としてポリアミドを添加したが、接合子に対するポリアミド処理は接合子特異的な遺伝子群 (接合後 60 分) の発現を全く変化させなかった。このことは、ポリアミドが細胞に添加されてから細胞に浸透し、細胞核ゲノムに結合して遺伝子発現を変化させるまでにはかなり時間がかかることを示していた。そこで接合をさせる前の配偶子について、配偶子誘導開始から 4 時間にわたりポリアミド処理をおこなったが、今度は配偶子が Endoport^{er} 存在下で 4 時間培養すると死んでしまい、全く接合しなくなることが明らかになってしまった。Endoport^{er} の濃度を低くしてみても結果は変わらなかった。そこでポリアミド処理のみで接合を行うことにした。この条件では細胞毒性は観察されず、接合率もほとんど変化がなかったが (図 6)、前述のエンドソームによるポリアミドのトラップの問題を解決できず、その効果が限定的になることが推定された。少しでもエンドサイトーシスの活性が高い株を探し、ルシフェリンの取り込み活性が高い株を譲渡していただ

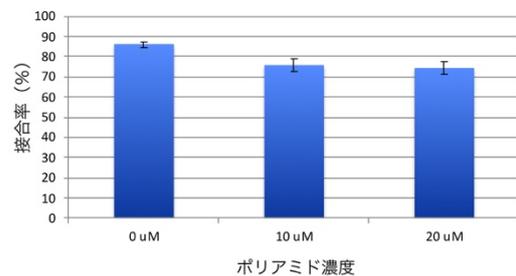


図6 ポリアミド処理濃度と接合率 (%)

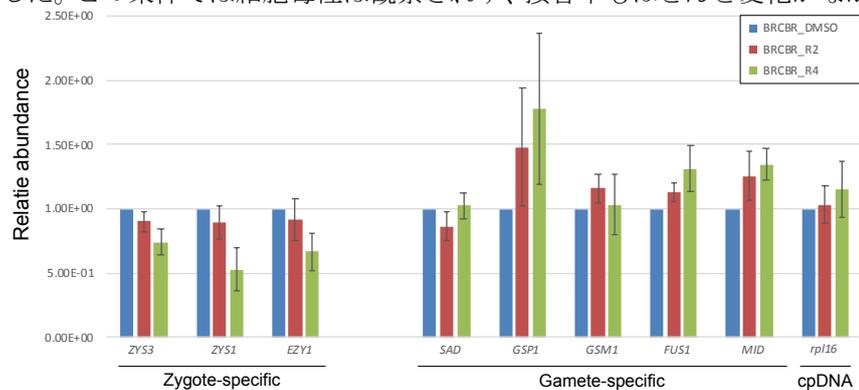


図7 ZYRE を標的としたポリアミド処理による接合子特異的遺伝子の発現抑制

き、用いることにした。この株を用いて RT-qPCR 解析をおこなったところ、接合子特異的遺伝子群に対する 50~80%程度の抑制効果が、DMSO<ZYRE-PIP-R2-TAMRA<ZYRE-PIP-R4-TAMRA の順に観察された。配偶子特異的遺伝子は、野生株接合子において発現抑制されるが、R2 や R4 存在下ではそれが観察されなかった。一方で、TAMRA やアルギニンなどによる修飾を行わなかったポリアミドでは遺伝子発現の抑制が観察されず、これらの修飾がポリアミドのクラミドモナス細胞への浸透性を高める上で重要であることが示された。またアルギニンは R2<R4 で効果が確認された。

以上より、ZYRE を標的とした R2/R4-TAMRA 修飾ポリアミドが接合子特異的遺伝子群の発現を部分的に抑制することができたことから、ZYRE による接合子特異的遺伝子発現制御機構の存在が支持された。また、R2/R4 による処理をおこなってその抑制効果が R2<R4 となる遺伝子群を抽出することで、ZYRE の標的遺伝子群を絞り込める可能性が示唆された。

次のステップとして、ポリアミド処理をおこなった接合子 total RNA について RNAseq 解析をおこなっており、その効果をゲノムワイドに検証中であり、それをまとめて論文としての発表を目指している。

今回、クラミドモナスは単細胞生物であることもあり、機能性ポリアミドによる処理は均質かつ容易であろうと期待していたが、実際には細胞透過性の向上が最大の障害となった。今回記述した以外にも、様々な界面活性剤や有機溶媒による処理、エレクトロポレーション、ヒートショック、細胞膜透過性ペプチドなどについても思いつく限り検討してきたが、いずれもクラミドモナスの細胞に対する毒性が高く、接合率の劇的な低下を引き起こしてしまった。結果として、ポリアミドのアルギニン-TAMRA 修飾が細胞透過性を向上させることが明らかになった。しかし機能性ポリアミドがエンドソームにトラップされてしまう問題は、今後の課題である (図5)。機能性ポリアミドの細胞内へのデリバリーの問題は、陸上植物のポリアミド処理の際にも最大の障害であった。今回のアルギニン修飾を含め、この問題の解決策についてはさらなる検証が必要である。もしこの問題が解決できれば、機能性ポリアミドの有用性は様々な生物種において格段に高まるだろう。一方で、R2/R4 の抑制効果の違いを利用して遺伝子発現制御における cis-element の機能を検証するなど、新しい方法論の可能性が見出された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takusagawa Mari, Kobayashi Yusuke, Fukao Yoichiro, Hidaka Kumi, Endo Masayuki, Sugiyama Hiroshi, Hamaji Takashi, Kato Yoshinobu, Miyakawa Isamu, Misumi Osami, Shikanai Toshiharu, Nishimura Yoshiki	4. 巻 118
2. 論文標題 HBD1 protein with a tandem repeat of two HMG-box domains is a DNA clip to organize chloroplast nucleoids in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2021053118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2021053118	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 Nishimura Yoshiki, Shikanai Toshiharu, Kawamoto Susumu, Toh-e Akio	4. 巻 10
2. 論文標題 Step-wise elimination of -mitochondrial nucleoids and mitochondrial structure as a basis for the strict uniparental inheritance in <i>Cryptococcus neoformans</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-59277-9	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 Kajikawa Masataka, Yamauchi Marika, Shinkawa Haruka, Tanaka Manabu, Hatano Kyoko, Nishimura Yoshiki, Kato Misako, Fukuzawa Hideya	4. 巻 60
2. 論文標題 Isolation and Characterization of <i>Chlamydomonas</i> Autophagy-Related Mutants in Nutrient-Deficient Conditions	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 126 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcy193	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 Kamimura Yoshitaka, Tanaka Hitomi, Kobayashi Yusuke, Shikanai Toshiharu, Nishimura Yoshiki	4. 巻 1:47
2. 論文標題 Chloroplast nucleoids as a transformable network revealed by live imaging with a microfluidic device	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-018-0055-1	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 Kajikawa Masataka, Yamauchi Marika, Shinkawa Haruka, Tanaka Manabu, Hatano Kyoko, Nishimura Yoshiaki, Kato Misako, Fukuzawa Hideya	4. 巻 60
2. 論文標題 Isolation and Characterization of Chlamydomonas Autophagy-Related Mutants in Nutrient-Deficient Conditions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiology	6. 最初と最後の頁 126 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pcp/pcy193	査読の有無 無
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 Kobayashi Yusuke, Misumi Osami, Nishimura Yoshiaki	4. 巻 30
2. 論文標題 Identification of Holliday junction resolvases crucial for the chloroplast nucleoid morphology and segregation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLANT MORPHOLOGY	6. 最初と最後の頁 73 ~ 81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5685/plmorphol.30.73	査読の有無 無
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 西村芳樹	4. 巻 76(5)
2. 論文標題 葉緑体DNAの分配を司るホリデイジャンクション解離酵素の発見	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリー	6. 最初と最後の頁 404
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 無
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 小林優介、三角修己、西村芳樹	4. 巻 56(10)
2. 論文標題 葉緑体核様体の進化と構造のダイナミクス	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 651-658
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 無
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 浜地貴志・西村芳樹	4. 巻 96(8)
2. 論文標題 ゲノム編集の時代における「緑の酵母」クラミドモナスの復権	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 生物学	6. 最初と最後の頁 475
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 無
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 -

〔学会発表〕 計25件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 西村芳樹、小林優介、三角修己
2. 発表標題 葉緑体核様体分裂のダイナミズム
3. 学会等名 第61 回日本植物生理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田草川真理, 浜地貴志, 深尾陽一郎, 日高久美, 小林優介, 遠藤政幸, 杉山弘, 鹿内利治, 西村芳樹
2. 発表標題 HMGタンパク質がクラミドモナスの葉緑体DNA 凝集をコントロールする
3. 学会等名 第61回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田草川真理, 浜地貴志, 日高久美, 遠藤政幸, 杉山弘, 鹿内利治, 西村芳樹
2. 発表標題 葉緑体核様体構造タンパク質と母性遺伝の関連性の発見
3. 学会等名 第14回京都大学植物縦横無尽の会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村芳樹
2. 発表標題 葉緑体の「染色体」が魅せるダイナミズム
3. 学会等名 第9回 機能制御学セミナー/第4回 新領域開拓セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mari Takusagawa, Takashi Hamaji, Kumi Hidaka, Masayuki Endo, Hiroshi Sugiyama, Toshiharu Shikanai and Yoshiki Nishimura
2. 発表標題 HMG1 has common domain structure to major mitochondrial nucleoid protein and controls the level of cpDNA compaction in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>
3. 学会等名 Japan-US binational meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi Hamaji, Yusuke Kobayashi, Shohei Yamaoka, Toshiharu Shikanai, Yoshiki Nishimura
2. 発表標題 Bacterial-to-eukaryotic takeover of chloroplast DNA ligase function in land plants
3. 学会等名 Marchantia Workshop 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村芳樹、小林優介、浜地貴志、松尾拓哉、鹿内利治
2. 発表標題 葉緑体局在型DNA リガーゼ の同定とその欠損株における葉緑体核様体異常
3. 学会等名 日本植物学会第83回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浜地貴志, 小林優介, 山岡尚平, 鹿内利治, 西村芳樹
2. 発表標題 緑色植物における葉緑体DNA リガーゼのバクテリア型から真核生物型への機能移譲
3. 学会等名 日本植物学会第83 回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村芳樹, 小林優介, 浜地貴志, 松尾拓哉, 鹿内利治
2. 発表標題 葉緑体核様体のかたちを司る DNA リガーゼの同定
3. 学会等名 第13回クラミドモナス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浜地貴志, 小林優介, 山岡尚平, 鹿内利治, 西村芳樹
2. 発表標題 緑色植物進化における葉緑体 DNA リガーゼのバクテリア型から真核生物型への機能移譲
3. 学会等名 第13回クラミドモナス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田草川真理, 浜地貴志, 鹿内利治, 西村芳樹
2. 発表標題 葉緑体核様体タンパク質HMG1 は2 つの DNA 結合ドメインで核様体のサイズを制御する
3. 学会等名 第13回クラミドモナス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshiki Nishimura
2. 発表標題 Chloroplast chromosomes on the move - Exploring the dynamics of chloroplast nucleoids -
3. 学会等名 理研/ERATO/CSRSセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村 芳樹, 浜地 貴志, 小林 優介, 鹿内 利治
2. 発表標題 葉緑体核様体ネットワークの動態制御機構
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiki Nishimura, Yusuke Kobayashi, Yoshitaka Kamimura, Osami Misumi, Toshiharu Shikanai
2. 発表標題 Dynamic network structure of chloroplast nucleoids.
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 西村芳樹
2. 発表標題 葉緑体核様体のダイナミクスと進化
3. 学会等名 SIC研究部セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshiki Nishimura, Yusuke Kobayashi, Yoshitaka Kamimura, Osami Misumi, Toshiharu Shikanai
2. 発表標題 Dynamic transformable network of chloroplast nucleoids
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 Yoshiki Nishimura, Yusuke Kobayashi, Yoshitaka Kamimura, Osami Misumi, Toshiharu Shikanai, Mari Takusagawa, Yusuke Kobayashi, Yoichiro Fukao, Isamu Miyakawa, Toshiharu Shikanai.
2. 発表標題 Dynamic Network Structure of Chloroplast Nucleoids.
3. 学会等名 18th International Conference on the Cell and Molecular Biology of Chlamydomonas (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 豊岡 博子, 浜地 貴志, 西村 芳樹, 宮城島 進也, 箕浦 高子, 野崎 久義
2. 発表標題 ボルボックス系列異型配偶ユードリナにおける配偶子誘導要因の解析
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 浜地 貴志, 山岡 尚平, 鹿内 利治, 西村 芳樹
2. 発表標題 母性遺伝メカニズムの解明に向けたクラミドモナス有性生殖のゲノム編集アプローチ
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本 荷葉子, 浜地 貴志, 豊岡 博子, 新垣 陽子, 野口 英樹, 豊田 敦, 水口 洋平, 野崎 久義
2. 発表標題 雌雄異株種・同株種ボルボックスの性染色体領域・相同領域における比較ゲノム解析
3. 学会等名 日本植物学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mari Takusagawa, Yusuke Kobayashi, Yoichiro Fukao, Isamu Miyakawa, Toshiharu Shikanai, Osami Misumi, and Yoshiki Nishimura.
2. 発表標題 Biological analysis of plastid nucleoid-associated HMG-box protein in <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> .
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 Mari Takusagawa, Yusuke Kobayashi, Yoichiro Fukao, Isamu Miyakawa, Toshiharu Shikanai, Osami Misumi, and Yoshiki Nishimura
2. 発表標題 第14回植物縦横無尽の会
3. 学会等名 Organelle nucleoid-associated HMG-box proteins may have been evolved independently through tandem domain duplications.
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Mari Takusagawa, Yusuke Kobayashi, Yoichiro Fukao, Isamu Miyakawa, Toshiharu Shikanai, Osami Misumi, and Yoshiki Nishimura.
2. 発表標題 Organelle nucleoid-associated HMG-box proteins may have been evolved independently through tandem domain duplications.
3. 学会等名 Gordon Research Conference, Mitochondria and Chloroplasts. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 西村芳樹、小林優介、浜地貴志、鹿内利治
2. 発表標題 葉緑体核様体のかたちを司るDNAリガーゼの同定
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田草川真理、小林優介、深尾陽一朗、日高久美、遠藤政幸、杉山弘、宮川勇、鹿内利治、三角修己、西村芳樹
2. 発表標題 核様体局在のHMGBタンパク質がDNA結合ドメインを2つもつ利点
3. 学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都大学大学院理学研究科植物分子遺伝学研究室 http://www.bot.kyoto-u.ac.jp/j/5_iden.html</p>
--

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	杉山 弘 (Sugiyama Hiroshi) (50183843)	京都大学・理学研究科・教授 (14301)	

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
---------	---------