

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：34504

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24310015

研究課題名(和文) 海洋性珪藻における無機炭素獲得分子動態のモデリング

研究課題名(英文) Modeling of molecular dynamism governing inorganic carbon acquisition system in marine diatoms

研究代表者

松田 祐介 (Matsuda, Yusuke)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号：30291975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：地球全体のCO<sub>2</sub>固定の約20%を担う海洋性珪藻類のCO<sub>2</sub>獲得機構(CCM)モデル化し、その環境変動に対する応答機構を解明して、CCM動態モデルの構築を目指した。珪藻は海水から「ポンプタンパク質」を使って重炭酸イオンを取り込み、葉緑体内に蓄積する機構の詳細が分かった。また、この機構がCO<sub>2</sub>、海の低い鉄濃度、光、および窒素源の変動に応答する仕組みを解析した結果、海洋性珪藻はCO<sub>2</sub>濃度が高いときにはエネルギーを使わずに無機炭素を獲得しようとするが、鉄濃度やCO<sub>2</sub>濃度が低いときにはポンプを初めとするCCMのシステムを最小限かつ有効に稼働して光合成を行うと共に、光エネルギーの解毒を行うことが示された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed at the construction of a dynamic environmental response model of the CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism (CCM) by elucidating the molecular mechanisms of the CCM and its environmental response in marine diatoms, a major marine photosynthetic organism, which is responsible for about 20% annual global CO<sub>2</sub> fixation. The mechanisms to take up bicarbonate using "pump proteins" from seawater and to accumulate inorganic carbon into the chloroplast were clarified. Further analyses of CCM response to ocean iron limitation, changing CO<sub>2</sub>, light, and nitrogen revealed that marine diatoms save energy to drive CCM when grown in high CO<sub>2</sub>, but they drive a minimum efficient CCM system to support photosynthesis under iron and/or CO<sub>2</sub> limitation. This minimum CCM system also works for dissipation of excess light energy by maintaining CO<sub>2</sub> cycle across plasma membrane.

研究分野：植物分子生理学

キーワード：海洋生態 環境変動 水圏現象 植物 海洋性珪藻

1. 研究開始当初の背景

近年、人工衛星によるクロロフィルのリモートセンシングと大規模な海洋調査により、海洋において珪藻類が、地球全体の一次生産の約 20% を受け持つことが証明された<sup>1,2)</sup>。この結果を受け、羽状目および中心目のモデル海洋性珪藻として、それぞれ *Phaeodactylum tricornutum* および *Thalassiosira pseudonana* のゲノム配列が決定された<sup>3,4)</sup>。同時にこれら珪藻細胞の遺伝子改変技術も進んでいる<sup>5)</sup>。珪藻類の無機炭素獲得の仕組みは、この生物による一次生産の原動力であり、海水に溶ける様々な溶存無機炭素 (Dissolved-inorganic carbon: DIC) の有効利用が生態学的にも有利であることが指摘されている<sup>6)</sup>。これまで、生理学的レベルで海水から取り込まれる DIC 種の同定やその取り込み機構 (CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism: CCM) の解析がなされている<sup>7)</sup>。しかし、これを担う分子は未同定である。この分子として、1. 細胞膜の CO<sub>2</sub> 透過性を制御する分子、2. 4 重に重層した二次共生藻の葉緑体胞膜の無機炭素透過性を制御する分子、3. 無機炭素を葉緑体まで送り届ける過程に与る、炭酸脱水素酵素 (Carbonic anhydrase: CA)、4. C<sub>4</sub> 型代謝経路に関わるような有機酸代謝酵素、5. 葉緑体内で無機炭素を捕集するタンパク質、などが考えられる<sup>8)</sup>。しかし、環境因子変動とこれらの関連性は、生理学的には指摘されているものの<sup>8)</sup>、分子機構に基づいたモデル化の段階にはない。この分子機構は環境予測アルゴリズムに組み込むべき重要因子である。

2. 研究の目的

研究期間中の達成目標を以下の 5 項目として研究を遂行した。

(1) 無機炭素輸送に関わると考えられるタンパクの機能同定、(2) 葉緑体内および周辺部に局在する CA、C<sub>4</sub> 関連酵素の機能解明、(3) これらタンパク質の CO<sub>2</sub>(pH)、温度、鉄濃度に対する応答の定量的解析、(4) 環境変動に伴う油脂、炭化水素、クロロフィルの相対比の動態解析、および(5) 総合的分子動態モデル構築。

上記(1-3)よりも、海洋性珪藻 CCM 分子モデル、環境応答モデルを構築し、(4)により環境変動下における生理状態との相関をモデルに組み込む。最終的にここから得た知見を野生種海洋性珪藻においても適用する段階に達することを目標とした。

3. 研究の方法

(1) 珪藻形質転換：局在決定のために、目的遺伝子を珪藻 cDNA よりクローニングし、緑色蛍光タンパク質 (GFP) 遺伝子 *egfp* と連結した。この融合 DNA を珪藻形質転換用ベクターに組み込み、分子銃によって、珪藻細胞に導入した。形質転換体の選抜には、まずベクターに装備されている抗生物質に対する耐性を用いた。GFP シグナルの有無による二次選抜を行った。取得した GFP 発現株を局

在決定に供した。また、これらの株は過剰発現株としても、その後の生理学的実験に供した。一方、標的遺伝子の発現抑制には、上記 GFP 融合配列に換えて、RNA 干渉用の反復配列 DNA をベクターに組み込み、同様に形質転換した。

(2) 顕微鏡観察：GFP シグナルおよび葉緑体自家蛍光の検出と GFP 局在解析には通常の蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、および超解像顕微鏡 N-SIM を用いた。

(3) 生育および光合成パラメーターの測定：形質転換による生育および光合成特性の変化を野生型と比較し、標的となるタンパク質の機能を同定した。

(4) 発現定量：標的となる遺伝子の発現定量は原則的に定量的逆転写 PCR を用いて、mRNA 量の比較を行った。

(5) 炭酸脱水素酵素 (CA) の活性測定：本酵素が CO<sub>2</sub> を水和して重炭酸イオンを生成する際に発生する水素イオン生成速度を pH 変化によって定量する手法を用いた。

4. 研究成果

(1) 無機炭素輸送に関わると考えられるタンパクの機能同定：珪藻ゲノムに存在する無機炭素輸送体タンパクをコードする可能性のある遺伝子を探索した。その結果、哺乳類などで重炭酸水素イオン輸送体とされる solute carrier (SLC) protein4 及び 26

ファミリーと考えられる膜蛋白質候補を少なくとも 10 種見いだした (図 1)。これらのうち、SLC4 ファミリーに属する PtSLC4-1, 4-2, 4-4 は 5%CO<sub>2</sub> 環境下で生育するとその mRNA 蓄積が見られないのに対して、大気レベル CO<sub>2</sub> 環境で生育すると、mRNA 蓄積が大幅に増加した (図 1)。分子系統を比較した結果、これら CO<sub>2</sub> 応答性 PtSLC4 は一つの特異的グループを形成していた (図 1)。

これら 3 つの CO<sub>2</sub> 応答性 PtSLC4-1, 4-2, および 4-4 の遺伝子をクローニングし、GFP 遺伝子と融合したうえで *P. tricornutum* 細胞に形質転換し局在解析を行った。その結果、これら 3 つは、そのトポロジーからも予測されたように、い

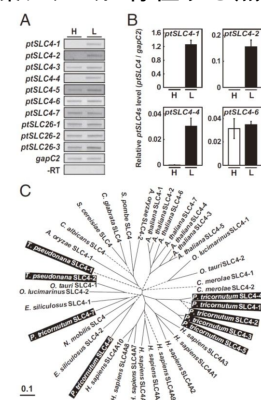


図1 海洋性珪藻SLC型HCO<sub>3</sub>輸送体候補の発現状態と系統樹  
A. 判定的RT-PCRによる*P. tricornutum* SLC4及び26の発現状態。B. AでCO<sub>2</sub>応答性が認められた3つのPtSLC4の定量的PCR。C. *P. tricornutum* および *T. pseudonana* のSLC4および26の分子系統樹。H: 高CO<sub>2</sub>; L: 大気レベルCO<sub>2</sub>。

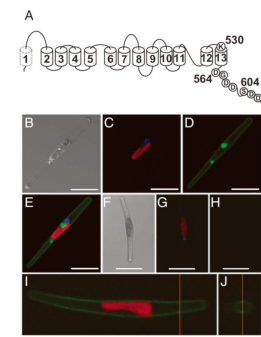


図2 海洋性珪藻細胞膜型HCO<sub>3</sub>輸送体PtSLC4-2の構造及び局在  
A. 海洋性珪藻PtSLC4-2の膜トポロジー; B-J. PtSLC4-2::GFP定常発現*P. tricornutum* 細胞 (SLC4G細胞) の光学および共焦点レーザー顕微鏡像。

これら 3 つの CO<sub>2</sub> 応答性 PtSLC4-1, 4-2, および 4-4 の遺伝子をクローニングし、GFP 遺伝子と融合したうえで *P. tricornutum* 細胞に形質転換し局在解析を行った。その結果、これら 3 つは、そのトポロジーからも予測されたように、い

ずれも形質膜状に局在した（図 2：PtSLC4-2 のデータのみを示す）。

この GFP 融合タンパク質発現細胞を過剰発現株として、100  $\mu\text{M}$  DIC を加えた培地から細胞が DIC を吸収する速度を定量することによって、過剰発現した PtSLC4 の機能を決定した。その結果、これら 3 つの PtSLC4 は全て  $\text{HCO}_3^-$  を培地から吸収することが分かった（図 3：PtSLC4-2 のデータのみを示す）。また、 $\text{HCO}_3^-$  吸収は PtSLC4-1, 2, 4 のいずれにおいても、培地中のナトリウムイオンに強い依存性を示した。

これらの結果から、本研究では珪藻形質膜で海水からの  $\text{HCO}_3^-$  取り込みを担う輸送体が初めて同定された。同時に、葉緑体包膜で  $\text{HCO}_3^-$  輸送に関わると予測される複数の SLC4 型輸送体も発見され、現在機能解析を行っている。

**(2) 葉緑体内および周辺部に局在する CA、 $\text{C}_4$  関連酵素の機能解明**：CCM に最も重要な役割を担うと考えられる葉緑体型 CA の機能解析を行うために、2 種の珪藻に発現する CA 候補タンパク質をゲノム情報から網羅した。その結果、*P. tricornutum* ではこれまでに知られているピレノイド型  $\beta\text{CA}$ 、PtCA1 および PtCA2 以外に、5 種の  $\alpha\text{CA}$  および 2 種の  $\gamma\text{CA}$  候補タンパク質が見つかった。一方、*T. pseudonana* では、3 種の  $\alpha\text{CA}$ 、5 種の  $\gamma\text{CA}$ 、4 種の  $\delta\text{CA}$ 、および 1 種の  $\zeta\text{CA}$  候補遺伝子が発見されたが、 $\beta\text{CA}$  は存在せず、珪藻における炭酸脱水酵素起源の多様性が強く示唆された。

これら CA 候補遺伝子を *egfp* 遺伝子と連結し、それぞれの珪藻に形質転換した。*T. pseudonana* における局在解析の一例を図 4 に示す。*P. tricornutum* および *T. pseudonana* の CA 候補タンパク質は、*T. pseudonana* 一部の  $\alpha\text{CA}$  と  $\delta\text{CA}$  を除き、ほぼ全て局在解析が成された。その結果、*P. tricornutum* では  $\alpha\text{CA}$  が全て葉緑体周辺膜区画、 $\beta\text{CA}$  が全てピレノイド、および  $\gamma\text{CA}$  が全てミトコンドリア局在であることがわかり、CA の局在と起源に強い相関があることがうかがわれた（図 5）。一方 *T. pseudonana* では、このような相関は比較的弱いものと思われた。すなわち、 $\alpha\text{CA}$  はストロマに、 $\gamma\text{CA}$  はミトコンドリアと細胞質に、 $\delta\text{CA}$  は葉緑体周辺膜区画、ミトコンドリアおよび細胞外に、そして  $\zeta\text{CA}$  は細胞外に局

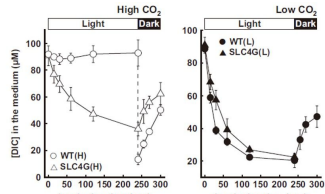


図3 海洋性珪藻細胞膜型  $\text{HCO}_3^-$  輸送体 PtSLC4-2 の機能発現細胞による培地からの DIC 取り込み活性。(左) 高  $\text{CO}_2$  生育細胞、野生型 (○) は 100  $\mu\text{M}$  の DIC をほとんど取り込まないのに対し、SLC4G 細胞 (△) は高い取り込み活性を示す。(右) 低  $\text{CO}_2$  生育細胞、野生型 (●)、SLC4G (▲) 共に内在 CCM が高発現するため差が見えない。

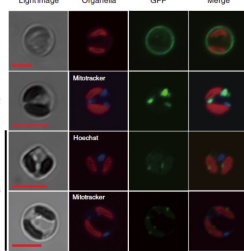


図4 CA 局在解析データの一例  
*T. pseudonana* の CA を C 形質転換 GFP 融合体として *T. pseudonana* 細胞に発現し、その GFP 局在を見た。本図は  $\delta\text{CA}$  の例。

在した（図 5）。これら局在を両珪藻細胞で比較すると、*P. tricornutum* には細胞外と細胞質の CA はなかったのに対し、*T. pseudonana* では *P. tricornutum* には見られない細胞外、細胞質、およびストロマに CA が存在することが分かった（図 5）。このことから、珪藻の CA はその起源だけでなく多様であり、従って DIC の取り込みと細胞内での流路制御にも多様性があることが強く示唆された。現在葉緑体型 CA のサイレンシングなどによって、機能の最終的な同定を試みている。

珪藻における、もう一つの潜在的  $\text{CO}_2$  濃縮機構である  $\text{C}_4$  型代謝因子についても同様の局在・機能解析を行った。その結果、*T. pseudonana* においてホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ 1 (PEPC1) は葉緑体包膜区画に、NAD リンゴ酸酵素 (NAD-ME) とピルビン酸ホスホジキナーゼ (PPDK) は細胞質に局在した。また、PEPC2 とホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) はいずれもミトコンドリアに局在した。これらの局在性は  $\text{C}_4$  化合物代謝経路が葉緑体における  $\text{CO}_2$  濃縮に関与するためには理想的なものとは言えなかった。事実、炭酸固定および脱炭酸に関わる酵素を特異的阻害剤で不活化したところ、光合成の無機炭素親和性はほとんど影響を受けていなかったが、最大光合成活性は大きく減少する結果となった（図 6）。これは  $\text{C}_4$  代謝経路が  $\text{CO}_2$  濃縮に関与しないことを示している。

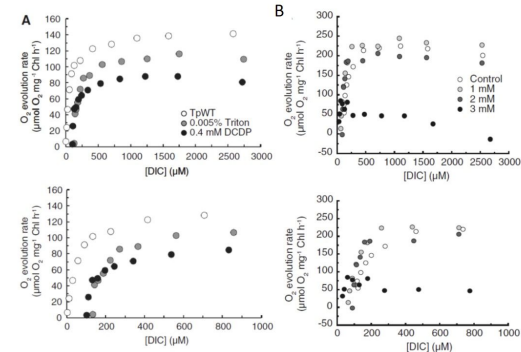


図6 *T. pseudonana* における炭酸固定酵素と脱炭酸酵素阻害と光合成 PEPC 阻害剤 3,3-Dichloro-2-(dihydroxyphosphinoylmethyl)propionate (DCDP) および NAD(P)-ME 阻害剤 3-Mercaptopicolinic acid (3-MPA) の光合成パラメーターに対する影響を解析した。細胞は低  $\text{CO}_2$  で生育し、CCM を最大に発現している。

CA とは対照的に、*P. tricornutum* における  $\text{C}_4$  代謝経路関連酵素の起源や局在は *T. pseudonana* とほぼ同様であった。これは、石炭紀以降の  $\text{CO}_2/\text{O}_2$  比の極端な減少に対する適応として、多様な起源から CCM が収斂進化したというシナリオに珪藻  $\text{C}_4$  代謝経路は関連しないことを示す。すなわち、 $\text{C}_4$  経路は

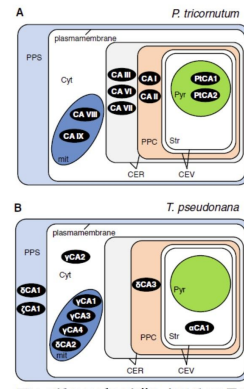


図5 2 種のモデル珪藻における CA 局在それぞれの細胞を模式的に示している。PPS: ペリプラズム; Cyt: 細胞質; CER: 葉緑体ER; PPC: ペリプラステダル区画; CEV: 葉緑体包膜; Str: ストロマ; Pyr: ピレノイド



CCM 進化や珪藻の多様化より以前に TCA 回路補充経路のような基本代謝因子として獲得され、その後、他の代謝に転用はされていないと考えられる。

(3) これらタンパク質の CO<sub>2</sub>(pH)、温度、鉄濃度に対する応答の定量的解析：当初予定を一部変更し、本実験では温度変化に換えて光応答を加えた。ピレノイドに局在する因子、各 CA を中心として、その発現量を定量的 PCR で定量し、環境変化と関連付けた。その結果、鉄制限環境下では 全体的に mRNA 蓄積量が減少したが、ピレノイドに局在する *FbaCs* や *PtSLC4-4* 及び *PtAQP2* mRNA は増加した(図7)。鉄制限環境下で葉緑体はカルビン回路の一部を使って、三炭糖を産生し、葉緑体外へ供給している可能性が考えられた。また、*PtSLC4-4* 及び *PtAQP2* などの細胞膜型無機炭素輸送システムが鉄飢餓環境下光エネルギーを消費していることが考えられた。

一方、高 CO<sub>2</sub> 環境下においては *Ptcas* 及び細胞膜型の *PtSLCs* などの CCM 因子が顕著に抑制されていたが、*FbaCs* 及び *PtcbbXs* などのカルビン回路因子の mRNA 量は増加した(図7)。このことから、高 CO<sub>2</sub> 環境において CCM に依存しない CO<sub>2</sub> 獲得が行われていることが示された。また、鉄応答性プロモーターが鉄のみならず CO<sub>2</sub> に応答することも本研究で明らかになった。海洋は慢性的な鉄飢餓環境下であるが、高 CO<sub>2</sub> 環境においては ある程度鉄不足が緩和される重要な可能性が示唆された。

暗環境下においては、鉄制限環境下と同様に全体的に mRNA 蓄積量が減少していた(図7)。このことから、ピレノイド及び CCM 因子は光特異的に機能することが示された。

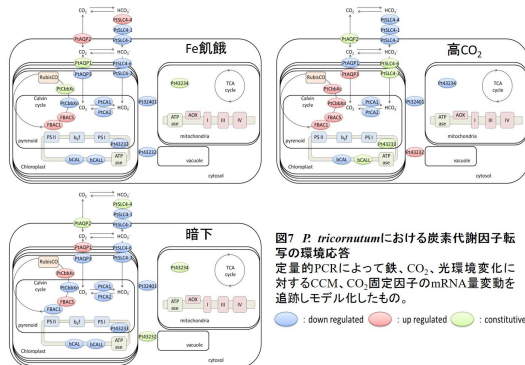


図7 *P. tricornutum*における炭素代謝因子転写の環境応答。定量的PCRによって鉄、CO<sub>2</sub>、光環境変化に対するCCM、CO<sub>2</sub>固定因子のmRNA量変動を追跡しモデル化したもの。

一方、*P. tricornutum* のピレノイド構成因子である PtCA1 および PtCA2 が葉緑体環境の変動によってタンパク質レベルで迅速な活性制御を受けていることを確認した。すなわち、これら CA 活性はチオレドキシン (Trx) の存在下で特異的に還元されて活性化し(図8)

大気レベルの 2 倍程度の分子酸素で不活性化されることが分かった。このことから葉緑体内では、光還元力で CA は活性化し、

水分分解系の活性が亢進することで拮抗的に不活性化されることが予測される。この酸化還元調節には PtCA 分子内で形成されるジスルフィド結合が関与することも示された(図9)。このような活性調節系の存在は、珪藻 CCM が光化学系 I と II のエネルギーバランスとも密接に関わって調節されることを強く示唆するものである。

PtCA1 および PtCA2 の転写制御についても CO<sub>2</sub> と光に応答する仕組みの有無を調べた。その結果、両酵素の遺伝子共にプロモーター領域に存在する CO<sub>2</sub>/cAMP response element (CCRE)によって CO<sub>2</sub> 濃度に応答するが、光応答領域も全く同一のプロモーターによって制御される、すなわち、CO<sub>2</sub> と光シグナルは、どこかでクロストークし、伝達経路である cAMP 代謝経路に伝えられていることが示された。

この光シグナルの発生点を探るため、本プロモーター応答に対する光化学系阻害剤の影響を調査した。その結果、光化学系 II から I への電子伝達阻害によって本プロモーター活性はほとんど影響を受けなかったが、光化学系 I 還元側の電子トラップによって極めて効果的に転写活性が抑制されることが分かった。このことは、光化学系 I の還元レベルが高くなることによって、PtCA1,2 の発現を促進するシグナルが光化学系 I から発生し、CO<sub>2</sub> シグナルとクロストークすることによってピレノイドにおける CO<sub>2</sub> 供給力を高める働きがあることを示している。

(4) 環境変動に伴う油脂、炭化水素、クロロフィルの相対比の動態解析：CCM 変動による CO<sub>2</sub> 供給変化は上記産物の含有比に大きな影響を与えたと考えられた。クロロフィル含量については窒素飢餓で細胞あたりの含量の若干の減少、および高 CO<sub>2</sub> 環境での微増が確認されたが、鉄環境の変動では含有量の変化はほとんど見られなかった。

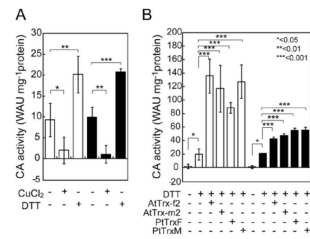


図8 *P. tricornutum*ピレノイドCAにおける酸化還元調節。PtCA1 および PtCA2 はチオレドキシン(Trx)の存在下で特異的に還元され、活性化する。

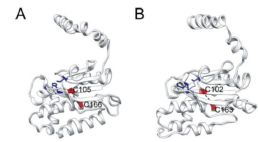


図9 PtCA1 および PtCA2 における酸化還元調節。PtCA1 および PtCA2 の Trx ターゲットとなるシステインは酸化環境で分子内ジスルフィドを形成する。

一方、振動分光技術を用いて、短時間で非破壊的に定量する技術を開発した。珪藻細胞からラマンスペクトルを取得し、脂肪酸標品単体および混合体スペクトルと比較し、珪藻生体内の脂肪酸組成を算出するアルゴリズムを開発した。その後、鉄、

CO<sub>2</sub>、および窒素環境変動下でラマンスペクトルを取得し比較した。その結果、*P. tricornutum* では環境変動による脂肪酸組成の大幅な変化が見られなかったが、中心目の *C. muelleri* および *T. pseudonana* では低 CO<sub>2</sub> で不飽和型脂肪酸の増加、窒素飢餓で飽和型脂肪酸の増加が観察された (図 10)。

総合的分子動態モデル構築：上記 (1, 2) よりまず、海洋性珪藻 CCM 分子モデルを構築した (図 11)。海洋性珪藻に於いて、海水からの DIC 取り込みは SLC4 型の形質膜輸送体群によって担保され、取り込まれた DIC は細胞質で主に重炭酸イオンとして保持されたまま葉緑体包膜でさらに濃縮されてストロマで維持される。この濃縮 DIC はピレノイドで特異的に CO<sub>2</sub> に変換されて RubisCO によって固定される。

図 11 において、CO<sub>2</sub> 濃度が高まるとアクアポリンのようなチャンネルタンパクが CO<sub>2</sub> を受動的に獲得するモードになると考えられる。一方で表層海水に蔓延する鉄飢餓環境では、CCM の主要経路は一部の DIC 輸送体と CO<sub>2</sub> チャンネルを除き抑制的に調節され、重炭酸イオンの取り込み CO<sub>2</sub> 漏出による CO<sub>2</sub> サイクルが細胞膜上で起こる。この仕組みは過剰な光エネルギーを散逸させる安全装置の役割を果たしている可能性が考えられる。

総合的な環境応答動態モデルの構築には生理的データの充実およびピレノイド機能の詳細を明らかにする必要があるが、本研究を通じ、海洋性珪藻の CCM の基礎分子・動態モデルを示すことができた。

#### < 引用文献 >

- Falkowski and Raven (1997) Aquatic Photosynthesis, Blackwell Scientific  
 Falkowski et al (2000) *Science* **290**: 291-296  
 Armbrust et al (2004) *Science* **306**: 79-85  
 Bowler et al (2008) *Nature* **456**: 239-244  
 De Riso et al (2009) *Nuclei Acid Res* **12**: 1-12

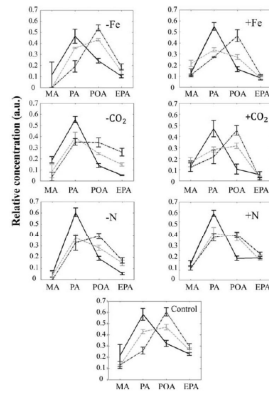


図10 3種における細胞内脂質変動と鉄、CO<sub>2</sub>、窒素環境の相関  
 ラマン分光法を珪藻に規格化し、それぞれの環境下で珪藻細胞内の脂肪酸を定量した。P. tricornutum (太線); Chaetoceros muelleri (灰色破線); T. pseudonana (黒破線)

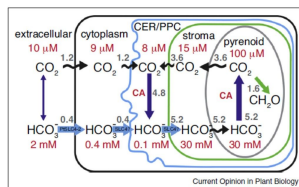


図11 海洋性珪藻CCMの葉緑体ポンプモデル  
 本研究から、細胞膜におけるHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>輸送体とSLC4タンパク質群が海水からの無機炭素取り込みを担い、その産物葉緑体包膜を経てストロマ内への強力な無機炭素濃縮をおこなっていることが予測された。

- Matsuda et al (2011) *Photosynth Res* **109**: 191-203  
 Matsuda et al (2001) *Plant Cell Environ* **24**: 611-620  
 Raven et al (2011) *Photosynth Res* **109**: 281-296

#### 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 41 件)

Hopkinson BM, Dupont CL, Matsuda Y, The physiology and genetics of CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in model diatoms. *Current Opinion in Plant Biology*, 査読有, 31 巻, 2016, 51-67, DOI:http://dx.doi.org/10.2016/j.pbi.2016.03.013

Tanaka A, Ohno N, Nakajima K, Matsuda Y, Light and CO<sub>2</sub>/cAMP signal crosstalk on the promoter elements of chloroplastic β-carbonic anhydrase genes in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Plant Physiol*, 査読有, 170 巻, 2016, 1105-1116

Mekiarun P, Spegazzini N, Matsui H, Nakajima K, Matsuda Y, Sato H, In vivo study of lipid accumulation in the microalgae marine diatom *Thalassiosira pseudonana* using Raman spectroscopy. *Appl Spectroscopy*, 査読有, 69 巻, 2015, 45-51, DOI:10.1366/14-07598

Yoshinaga R, Niwa-Kubota M, Matsui H, Matsuda Y, Characterization of iron-responsive promoters in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Genomics*, 査読有, 16 巻, 2014, 55-62, DOI:http://dx.doi.org/10.1016/j.margen.2014.01.005

松田祐介, 中島健介, 菊谷早絵, 海洋性珪藻の炭素固定機構-海洋の食物生産を維持・制御するメカニズム-, *化学と生物*, 査読有, 52 巻, 2014, 519-529

Samukawa M, Shen C, Hopkinson BM, Matsuda Y, Localization of putative carbonic anhydrases in the marine diatom, *Thalassiosira pseudonana*. *Photosynth Res*, 査読有, 121 巻, 2014, 235-249 10.1007/s11120-014-9967-x

Tanaka R, Kikutani S, Mahardika A, Matsuda Y, Localization of enzymes relating to C4 organic acid metabolisms in the marine diatom, *Thalassiosira pseudonana*. *Photosynth Res*, 査読有, 121 巻, 2014, 251-263, DOI:10.1007/s11120-014-9968-9

Nakajima K, Tanaka A, Matsuda Y SLC4 family transporters in a marine diatom directly pump bicarbonate from seawater. *Proc Natl Acad Sci USA*, 査読有, 110 巻, 2013, 1767-1772, DOI: 10.1073/pnas.1216234110

Kikutani S, Tanaka R, Yamazaki Y, Hara S, Hisabori T, Kroth PG, Matsuda Y, Redox regulation of carbonic anhydrases via thioredoxin in the chloroplast of the marine

diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *J Biol Chem*, 査読有, 287 巻, 2012, 20689-20700, DOI:10.1074/jbc.M111.322743

Ohno N, Inoue T, Yamashiki R, Nakajima K, Kitahara Y, Ishibashi M, Matsuda Y, CO<sub>2</sub>-cAMP responsive cis-elements targeted by a transcription factor with CREB/ATF-like basic zipper domain in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *Plant Physiol*, 査読有, 158 巻, 2012 499-513, DOI: 10.1104/pp.111.190249

〔学会発表〕(計 122 件)

Matsuda Y, Light and CO<sub>2</sub>/cAMP signal crosstalk on the promoter elements of two chloroplastic β-carbonic anhydrase genes in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*., EMBP/EMBL Symposium: A new Age of discovery for Aquatic Microeukaryotes. 2016 年 1 月 27 日, EMBL Heidelberg, Germany

Kikutani S, Yamazaki Y, Matsuda Y, The novel protein localized in pyrenoid-penetrating thylakoid in a marine diatom, *Phaeodactylum tricorutum*., The 3rd Molecular Life of Diatoms, 2015 年 7 月 8 日, University of Washington Seattle, Washington, USA

Oi T, Mizutani S, Matsuda Y, Detection of meiosis and the allelic recombination by molecular marker in *Phaeodactylum tricorutum*., The 3rd Molecular Life of Diatoms, 2015 年 7 月 8 日, University of Washington Seattle, Washington, USA

Ishida S, Chishiro A, Nagasato C, Kikutani S, Matsuda Y, Two RubisCO activases in marine diatoms. 2015 年 1 月 19 日, Gordon Research Conference, Chloroplast Biotechnology, Ventura Beach Marriott, Ventura, CA, USA

Meksiarun P, Spegazzhini N, Matsui H, Matsuda Y, Sato H, Raman spectroscopy for monitoring CO<sub>2</sub> effects on fatty acid synthesis of microalgal marine diatom *Thalassiosira pseudonana*., 2014 年 5 月 31 日, The 2<sup>nd</sup> international conference on science and engineering in biology, medical and public health. Dynasty Resort, Kuta Bali, Indonesia

Matsuda Y, Molecular aspects of carbon acquisition mechanisms in marine diatoms. 2013 年 8 月 9 日, 10<sup>th</sup> International Phycological Congress, (招待講演), Orlando, Florida, USA

Yoshinaga R, Niwa M, Matsui H, Matsuda Y, Determination of iron responsive *Cis*-element in the marine diatom, *Phaeodactylum tricorutum*., 2013 年 6 月 25 日, EMBO Workshop The Molecular Life of Diatoms, Paris, France (ベストポスター賞受賞)

Matsuda Y, SLC4 family bicarbonate transporters in marine diatoms., 2013 年 6 月 25 日, EMBO Workshop The Molecular Life of Diatoms, Paris, France

Nakajima K, Tanaka A, Matsuda Y, SLC4

family transporters in a marine diatom directly pump bicarbonate from seawater., 2013 年 5 月 30 日, The 8th International Symposium on Inorganic Carbon Utilization by Aquatic Photosynthetic Organisms, New Orleans, Louisiana, USA

Matsuda Y, CCMs in two model strains of marine diatom., 2013 年 5 月 30 日, The 8th International Symposium on Inorganic Carbon Utilization by Aquatic Photosynthetic Organisms, New Orleans, Louisiana, USA

Matsuda Y, Kikutani S, Hara S, Hisabori T, Kroth PG, Redox regulation of plastid metabolism by thioredoxin in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*., 2012 年 8 月 28 日, 22<sup>th</sup> International Diatom Symposium. Ghent, Belgium

〔図書〕(計 3 件)

Matsuda Y, Kroth PG, Carbon fixation in diatoms. In Martin Hofmann-Marriott Ed. The Structural Basis of Biological Energy Generation, Advances in Photosynthesis and Respiration, The Structural Basis of Biological Energy Generation, 査読有, 39 巻, 18 章, 2014, 335-362, Martin Hohmann-Marriott Ed. Springer, DOI: 10.1007/978-94-017-8742-0\_18

藤原伸介, 松田祐介, 遺伝子工学の原理, 三共出版, 2012 年, 総ページ数 201

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 板状バイオシリカの製造方法

発明者: 松田祐介, 村上慶如

権利者: 学校法人関西学院

種類: 特許

番号: 特願 2015 - 61592

出願年月日: 2015 年 3 月 24 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 祐介 (MATSUDA, Yusuke)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号: 30291975

(2) 研究分担者

藤原 伸介 (FUJIWARA, Shinsuke)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号: 90263219

研究分担者

佐藤 英俊 (SATO, Hidetoshi)

関西学院大学・理工学部・教授

研究者番号: 10300873