

領域略称名：マトリョーシカ
領域番号：3308

平成25年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「マトリョーシカ型進化原理」

(領域設定期間)

平成23年度～平成27年度

平成25年 6月

領域代表者 国立感染症研究所・部長・野崎智義

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	3
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	5
3. 研究の進展状況	7
4. 若手研究者の育成に関する取組状況	11
5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	12
6. 総括班評価者による評価	13
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	15
8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開發表等）	18
9. 今後の研究領域の推進方策	23
10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画	25

1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

研究領域の目的

マトリョーシカ型進化原理—新たな学術領域の創成

真核生物の進化、及び、オルガネラ(細胞内小器官)の進化は、生物学の最も重要な基本命題である。一般に葉緑体・ミトコンドリアなど真核生物に固有のオルガネラの進化は、マーギュリスの細胞内共生説(Sagan Theor Biol. 14:255, 1967)により説明されている。この説では細胞に共生した細菌が宿主に支配され、自身のゲノムを失い「隷属」させられることにより、オルガネラが成立するとしている。しかしながら、原生生物や藻類のいくつかの例では、逆にオルガネラが宿主を支配する逆転現象が示されている(双方向的支配)。また、共生により生まれたオルガネラをもつ生物を、更に「二次的に」取り込むことにより生じる二次共生由来オルガネラ(二次色素体など)が存在する(多層性支配)。一部の原生生物では、いわば「入れ子」ともいふべき「オルガネラの二重構造」をもった上に、更に、哺乳動物などの真核生物細胞内に寄生している。

我々は、この現象をロシアのマトリョーシカ人形(箱根細工入れ子人形、愛媛県郷土玩具姫だるま)に例え、共生・寄生現象によって駆動されるオルガネラ創成と真核生物進化を多層的・空間的に理解することを目指し、マトリョーシカ型共生関係によりオルガネラが成立し真核生物が進化する過程を解析する。



我が国の学術の向上・強化に繋がる理由

共生と寄生に始まるオルガネラの成立と真核生物の多様化は、生物学の最も基本的な命題の一つであり、この分野における新しい問題提起、概念の提唱は生物学・進化学に新しい視点を与え、生物進化分野のパラダイムシフトを起こしうる。また、オルガネラの成立と進化の理解に根ざしたオルガネラの人為的操作は、光合成、無機物固定などの機能を付加した新しい有用生物の作出に繋がる技術基盤を提供し、新しい生命・生態系工学、バイオテクノロジーの創成に貢献する。また、オルガネラの機能不全による疾病の治療法の創出などの医学的側面への応用も可能である。従って、当該領域の推進は国内の生物学・進化学の学術水準を向上させるだけでなく、関連する感染症学、医学、海洋学、生態学、生物資源応用等に大きな波及効果を生むと期待される。以上、本領域の発展は我が国の複数の学術分野の向上・強化に繋がると確信する。

研究の学術的背景（応募の着想に至った経緯）

オルガネラ成立と進化に関する既存説の転覆

「オルガネラは、宿主が細胞内共生した寄生体を隷属・支配することによって生じる」との考え方は一般的に受け入れられており、多くの宿主-オルガネラ関係を説明することができる。一方で、上記の説で説明できない「逆向きの隷属化」現象が現存の生態系から観察される。これらの実例が「真核生物の活動・進化は共生体(=オルガネラ)に駆動される」ことを示唆している。以下に3つの例を挙げる。

(1) 動物の細胞内に寄生する原生生物トキソプラズマのもつ特殊に「進化」した色素体(アピコプラスト)

は植物様ホルモンを産生し、トキソプラズマの核とオルガネラの細胞周期・分裂を調節するとともに、感染した細胞からの脱出・再感染を制御している。更に、哺乳動物の中で、免疫による排除を回避して遷延的感染を可能にできるように、休眠状態へと細胞分化を誘導している(Nagamune Nature 451:207,2008)。

(2) 絨毛虫の一種であるミドリゾウリムシは緑藻クロレラを細胞内に取り込み、光合成をして ATP(=エネルギー)を合成するが、取り込んだクロレラに走光性を強要されている(Jejeley Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 364:2795, 2009)。

(3) 嫌氣的(酸素の存在しない)環境に適応したヒトの大腸寄生性原生生物赤痢アメーバのミトコンドリアは高等真核生物で見られる機能をほとんど欠損した上、他の原核・真核生物では細胞質或は葉緑体に存在する硫酸活性化経路を取り込み、ヒト感染に重要な硫酸化脂質を合成することによって腸管という生態ニッチでの生存を可能にさせている(Mi-ichi Proc Natl Acad Sci USA 106:21731, 2009)。

マトリョーシカ型進化生物学の領域の創成

以上の例から我々は、内部共生体を由来とするオルガネラの現在の有り様を見直し、内部共生体と宿主との相互作用と影響、それに伴って生じるオルガネラと宿主両者の進化を新しい角度から検証するために本領域を立ち上げ、学際的な総合研究を開始した。特に、本提案は「既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成を目指す」ため、領域内に、原生生物と藻類の生物学・進化学を専門とするグループ、環境での生物間共生・相互作用を専門とするグループ、それにヒトに感染する寄生性原生生物の病原機構を専門とするグループという、通常交わることの少ない異種グループを結集することによって、マトリョーシカ型進化原理という新しいパラダイムの創成に取り組む。40代以下の若手を中心とした研究力・創造力・相互影響力の強いメンバーで構成され、挑戦的仮説の証明の積み重ねにより、今後のオルガネラ進化学が大きく変貌を遂げるような画期的研究領域創成を目指す。

本研究領域の大目的

本領域の全体構想の中で具体的に解明しようとする一般的な命題は以下の4点である。

1. オルガネラ進化につながる一次・二次共生関係を生物界から広く検出し、共生を可能とする仕組みの解明
2. 進化過程にある共生・寄生オルガネラの維持機構の解明
3. 共生体・オルガネラに駆動される真核生物進化原理のパラダイムの確立
4. 共生オルガネラ移植による生物進化を試験管内で実現するための技術基盤の確立

これらの領域のゴールへの到達のために、共生に伴うオルガネラ創成を時間軸に従い分類し、領域を A-C の項目に分けた。領域の組織構成・個別の研究項目に関して 2 以下に述べる。

2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

研究組織（公募研究を含む）および研究組織と各研究項目との関係

本領域は、内部共生によるオルガネラの成立とその後の変化の過程（マトリョーシカ化過程）を3つの相（A 出会い、B 成立、C 発展）（下図）に分け、それぞれの項目を更に2-3の具体的な研究項目に便宜的に分けている。

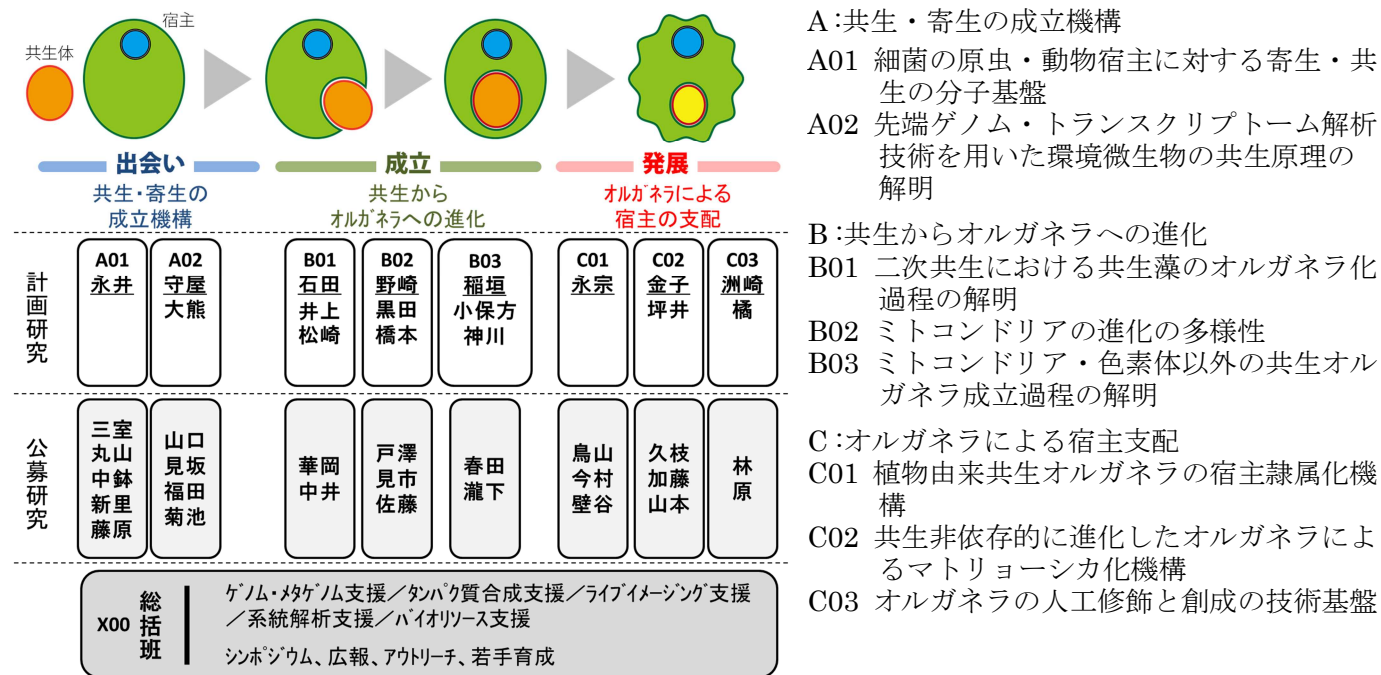
以下、各相（A-C）の研究内容の概要を説明する。

<研究項目 A：出会い＝共生・寄生の成立機構>細菌・藻類などの共生直後・初期の出来事の解析。

<研究項目 B：成立＝共生からオルガネラへの進化>共生生物のオルガネラ化後の色素体・ミトコンドリアなどの機能・分裂・輸送機構の解明。

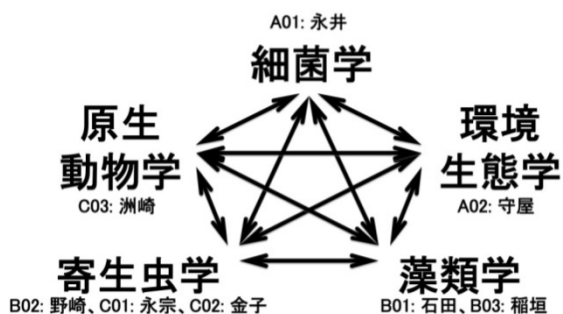
<研究項目 C：発展＝オルガネラによる宿主の支配>共生由来オルガネラが更に進化・発展して、宿主を支配する機構の解析、更に、今後のオルガネラ工学の基盤となる技術開発。

しかし、本領域が目指しているものは「既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成」であり、それぞれの相と項目が縦横無尽にコンセプトを交換し、共同研究を推進できるように、研究交流を意図的に推進している。

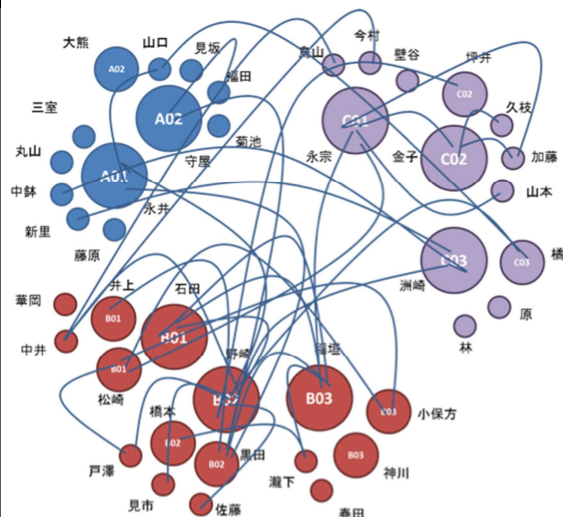


各研究項目の連携状況

班員間の共同研究の状況



本領域は、背景・方法論を異にする多数の研究分野の研究者が集結している。計画班員の専門分野を左図に示しているが、ここに示されている分野に、更に、植物学・海洋学・生物工学・医科学・感染症学・免疫学・昆虫生理学などを加え、異分野間の相互交流、共同研究の推進を行い、マトリョーシカ型進化原理という新しいパラダイムの確立を目指している。研究項目を超えて、同一の研究代表・分担者が複数の項目にまたが



って研究をする。左図に計画班員（研究代表者＝大丸、分担研究者＝中丸）、公募研究班員（小丸）の共同研究の実施状況を示す。この図には以下の支援班によるゲノム・メタゲノム、タンパク質合成、画像解析などに関する支援活動（以下詳述）は含まれていない。研究項目を超えた様々な共同研究が 30 件以上展開されていることがわかる。

総括班・支援班の活動

以下の活動を研究項目を超え領域全体で実施した。

1. 研究支援：

a. ゲノム・メタゲノム解析支援：領域内で重要研究項目を選定し、これまで 2 年間に 9 件を次世代シーケンシング解析支援（総括班予算より）、更に、5 件の共同研究を実施

b. 画像解析支援：ライブイメージング、電子顕微鏡解析に関して 5 件の共同研究を支援

c. タンパク質合成支援：12 件の組換えタンパク質合成をコムギ胚芽無細胞合成系により支援

d. 統計・系統解析支援、バイオリソース支援：支援班石田らから A01, B02, B03 に自由生活性 *Entamoeba* や *Paulinella chromatophora*, 新奇ストラメノパイル生物, *Acanthamoeba* 等の計 10 件を供与。

2. 領域全体班会議：年 2 回開催し、領域内連携の強化促進。

3. 若手育成：ゲノム・EST データ解析の研修会(H24.7)やライブイメージング解析の研修会(H24.7, H25.1)を通じた研究技術支援。領域内外の関連若手研究者間の交流を刺激する、シニア研究者の指導下でのブレインストーム合宿の開催。海外の関連合宿への若手派遣支援。

4. 広報：ホームページによるコンセプト・成果の発信、ニュースレター発行（既に 3 号を発行）、国際シンポジウム主催(H25.7)、公開国内研究会主催(H24.7)、アウトリーチ活動（筑波科学フェスティバル「生物広場」、筑波, H24.11; マトリョーシカ生物の観察会, 神戸, H24.11; サイエンスカフェ, 東京, H25.3)

5. 学会・シンポ等の企画：7 件の国際学会、8 件の国内学会にて、本領域主催または共催シンポジウム・ワークショップを開催。

共同研究のうち代表的なもの

a. A01 永井、A02 山口（公募）、B02 野崎、支援班黒田、アカントアメーバ内生存・増殖においてレジオネラとの競争関係にある共生菌 2 種のゲノム解析を行った。（共著論文 1 報）

b. B02 野崎、戸澤、B01 中井、C02 坪井、支援班と連携して、ミトコンドリア輸送体の精製、タンパク質合成による新規輸送体の機能解析を行っている。（論文準備中）

c. B01 井上、B02 野崎、橋本、B03 稲垣、支援班黒田、可逆的細胞内共生を示すハテナ・アレニコラや嫌気ミトコンドリアをもつ自由生活性新種エントアメーバのゲノム・EST 解析。（論文準備中）

d. B03 石田、小保方、松崎、B02 戸澤（公募）、ポーリネラ色素体ゲノム解読、色素体単離法確立の共同研究。

e. C01 永宗、C02 金子、加藤（公募）、B01 松崎、B03 稲垣、藻類・原虫の植物ホルモン、縮退化色素体機能の共同研究。（論文準備中）

f. C03 洲崎、A01 新里、中鉢（公募研究）、支援班黒田、アブラムシやトリミエマ原虫の共生細菌の微細構造、ゲノムに関する共同研究、更にミドリゾウリムシの細胞内クロレラ共生系の EST 解析を実施。

g. C03 洲崎、橋、B02 野崎の間で遺伝子改変アメーバ株への蛍光標識マイトソーム移植技術を共同開発。C03 洲崎、A02 山口（公募）、自由生活アメーバへの細菌の人工的移植を実施。他多数の領域内共同研究が展開している。

3. 研究の進展状況【設定目的に照らし、研究項目又は計画研究毎に整理する】（3ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究毎に記述してください。

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか
計画研究、公募研究のいずれもほぼ予定通り進展している。ここでは計画研究を中心に研究目的と進捗状況を概説し、特に重要な成果に関しては公募研究も含めて「成果ハイライト」として示した。

研究項目 A：共生・寄生の成立機構

A01 計画研究（永井）：「細菌の原虫・哺乳動物宿主に対する寄生・共生の分子基盤」

研究目的: マトリョーシカ化へつながる第一歩は、細菌の真核細胞への侵入とそれに続く潜伏・増殖可能なニッチの形成である。この第一歩は今日でも日常的に見いだされる現象であり、それを可能にする仕組みを理解することを目的とする。計画研究では、自由生活性アメーバをリザーバー宿主とする病原菌レジオネラを材料に、両者の攻防を双方の視点からのアプローチにより解析することにより、レジオネラのアメーバ中での生存戦略、およびアメーバの細菌感染に対する生存戦略を明らかにする。

進捗状況: アメーバ中での増殖に特異的なレジオネラ因子(エフェクタータンパク質)の網羅的同定を完了し、それらの機能解析を展開中である。一方、一般的なモデル生物ではないアカントアメーバの研究ツールとして、感染アメーバのイメージング系の構築等を完了した。アメーバ側の生存戦略の解析の一環として、領域内連携(A02 公募班山口、B02 計画班黒田・支援班)により、アメーバ内増殖においてレジオネラと拮抗するアカントアメーバ共生菌のゲノム解析を実施した

(Matsuno et al. PLoS One, 2013)。

A02 計画研究（守屋・大熊）：「先端ゲノム・トランスクリプトーム解析技術を用いた環境微生物の共生原理の解明」

研究目的: 生物間共生における「出会い」のフェーズにある複数の異なる共生系を研究対象として、主にゲノム・トランスクリプトーム解析技術を用いた網羅的な解析研究を行い、共生の仲立ちを行う物質的・遺伝的要因を探ることを目的としている。

進捗状況: 計画研究ではこれまでに、世界に先駆けたシングルセルゲノム・シングルセルトランスクリプトーム解析技術の開発・高度化を当初の予定に沿って着実に実施している。その上でそれらの手法を用いることで、シロアリ共生原生動物における水素を仲立ちとしたシステムを明らかにした他、現在運動共生に関わる細胞外共生系やバイオフィーム形成に関する解析を進めている。また、公募班ではそれぞれユニークな材料と技術を駆使した研究を展開している。

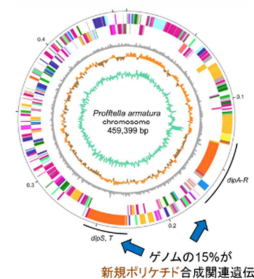
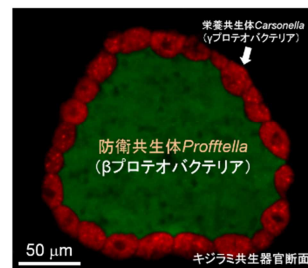
研究項目 B：共生からオルガネラへの進化

B01 計画研究（石田・井上・松崎）：「二次共生における共生藻のオルガネラ化過程の解明」

成果ハイライト-Nakabachi et al. Curr Biol, in press

A01 中鉢ら（公募）は進化的にきわめて安定な特徴を示すオルガネラ様「防衛共生体」*Profftella* を世界で初めて発見した。防衛共生体は二次代謝物を用いて宿主を天敵から守るが、一般に進化的に不安定である。しかし半翅目昆虫ミカンキジラミの共生器官に見出したβプロテオバクテリア *Profftella* は、永続的に垂直感染を繰り返していた。そのゲノムは460 kbと極端に縮小していたが、強い細胞毒性をもつ新規ポリケチド・デアフォリンの合成に15%にも及ぶ領域を費やしており、防衛共生体としての分子基盤が明らかになった。

極小ゲノムを持ち細胞毒を産生するオルガネラ様防衛共生体の発見

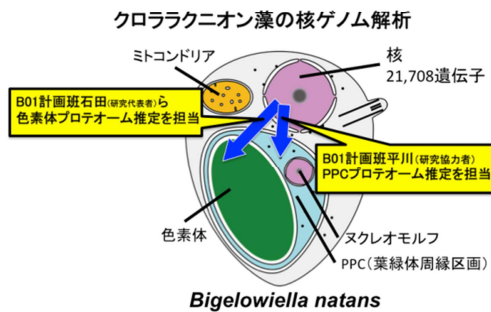


研究目的：葉緑体としての進化段階が異なる3つの生物群（盗葉緑体段階のハテナ・安定した葉緑体段階のクロララクニオン藻・縮退した葉緑体段階のパーキンサス）を材料とし、各進化段階における葉緑体維持機構と依存様式を解明することにより、二次共生による葉緑体獲得（共生藻のオルガネラとしての統合）が駆動する細胞進化のより深い理解を得ることを目的としている。

進捗状況：これまで計画班全体としてはほぼ順調に進んでおり、とくにクロララクニオン藻については系統的に離れた3種の共生藻核ゲノムの全配列を決定し、比較解析により共生藻核ゲノム進化の概要をほぼ解明できるなど予想以上の進展が得られている。また国際共同研究に参画して行った *Bigelowiella natans* の全ゲノム解読（Curtis et al. Nature, 2012・**成果ハイライト**）において、葉緑体へのタンパク質輸送推定シグナルの多様性からタンパク質輸送機構の多様性の存在を示唆することができた。

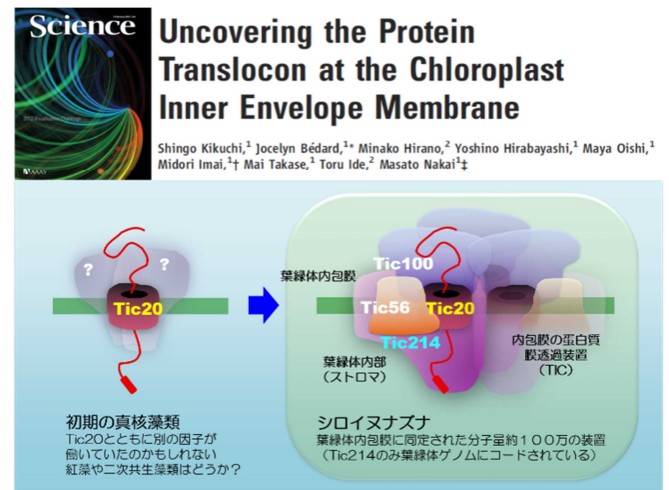
成果ハイライト—Curtis et al. Nature, 2012

B01 石田らは、全ゲノム情報からクロララクニオン藻の核ゲノムの中で色素体へ輸送されるタンパク質（色素体プロテオーム）を推定し、色素体輸送シグナルの多様性を示した。また、B01 平川（研究協力者）は、色素体の4枚の包膜の内側の2枚と外側の2枚の間にあるスペース（色素体周縁区画：PPC）へ輸送されるタンパク質のプロテオームを推定した。本研究は、二次共生によって色素体（葉緑体）を獲得した生物で初めての全ゲノム配列解析であり、二次共生における共生真核藻のオルガネラ化とそれに伴う細胞進化（つまり二次共生におけるマトリョーシカ型進化原理）の理解を飛躍的に進めた。



成果ハイライト—Kikuchi et al. Science, 2013

B01 中井ら（公募）は植物の一次共生葉緑体の内包膜におけるタンパク質膜透過装置(TIC translocon)を精製し、その全構成因子をはじめて同定した。なかでもTic214は緑色植物の葉緑体ゲノムに特異的で長らく機能不明とされてきた *ycf1* 遺伝子の発現産物であった。このことは、一次共生オルガネラのタンパク質輸送装置が核のみではなく葉緑体ゲノムの積極的な関与によって構築されており、一次共生葉緑体においても継続的にオルガネラ駆動型の進化が起きていることを示す画期的な成果である。



B02 計画研究（野崎・橋本・黒田）：「ミトコンドリア進化の多様性」

研究目的：土壌や消化管などの自由生活性および寄生性原生生物で見られるミトコンドリアの嫌気条件化での進化を構成因子、輸送・分裂の分子機構を詳細に明らかにする。また特殊進化型ミトコンドリアが寄生・病原性にどのように貢献しているかを解明する。更に、嫌気性原虫の進化に影響を与える共生を明らかにすることを目的として、次世代シーケンサーによる原生生物の全ゲノム解読により共生細菌・ウイルスを網羅的に同定し、進化における意義を解明する。

進捗状況：寄生性嫌気性原生生物である赤痢アメーバのマイトソームの代謝機能と輸送の分子機構を解明した（Makiuchi et al. Sci Rep, 2013・次ページ**成果ハイライト**; Mi-ichi et al. PLoS NTD, 2012）。他種生物に全く例を見ない新規の機能（硫酸活性化）をもつミトコンドリア由来オルガネラのタンパク質輸送装置の受容体サブユニットの同定、機能解析は、極めて重要な成果であった。分裂装置の解析についても順調に進捗している。自由生活性原生生物フォルニカータの4生物種のEST大量データの解析を終了し、MRO進化の概要、特に、嫌氣的ATP生成経路の縮退進化、アミノ酸代謝経路の進化、MROへのタンパク質輸送機構の進化様態を示し

た。3 種の新奇生物に関してミトコンドリア・核ゲノムの進化に関して、前例のないミトコンドリア DNA コード遺伝子などの知見が得られた (Nishimura et al. PLoS ONE, 2012)。

B03 計画研究 (稲垣・小保方) : 「ミトコンドリア・色素体以外の共生オルガネラ成立過程の解明」

研究目的: 真核生物進化の初期に確立されたミトコンドリア・色素体成立過程 (“古い”マトリョーシカ化イベント) の痕跡は、今日までの真核生物進化中で失われている。B03 研究計画では、ミトコンドリア・色素体よりも進化的に“若い”オルガネラをもつ真核生物種を探索し、宿主と共生体のゲノムなどを解析することで、マトリョーシカ化に関わる変革イベントの痕跡を検出し、その詳細を解明する。また“若い”オルガネラとして確立する以前のモデルとなる、細菌と真核生物の共生系の人工的な構築とその解明を目指す。

進捗状況: 一部の珪藻は窒素固定に特化したシアノバクテリア共生体 (楕円体) をもつ。我々は、これらの珪藻の一種 *Epithemia turgida* の楕円体ゲノムを、世界に先駆けて完全解読することに成功した。今後宿主側のゲノム情報を取得し、楕円体から宿主核へ移行した遺伝子群の同定を行う。色素体とは異なる光合成性シアノバクテリア共生体 (有色体) をもつ有殻アメーバ *Paulinella chromatophora* に関しては、宿主ゲノム情報を取得し、有色体ゲノムから宿主核へ移行した遺伝子の全体像を解明することに成功した。今後、宿主核へ移行した共生体遺伝子の発現が、宿主細胞によりどのように制御されているかを解明してゆく。

研究項目 C : オルガネラによる宿主の支配

C01 計画研究 (永宗) : 「植物由来共生オルガネラの宿主隷属化機構」

研究目的: オルガネラが本来自分のために使用していた植物ホルモンを利用して、宿主の増殖や分化を制御し、隷属化していった機構を理解しようとするを目的としている。

進捗状況: サイトカイニンの作用機序とその生合成経路を明らかにした (Andrabi et al. PLoS Pathog, under revision)。また、病原性の異なるトキソプラズマのクローン間および、トキソプラズマに近縁のマラリア原虫、アイメリアの産生する植物ホルモン産生性の異同を明らかにできた。さらにトキソプラズマやマラリア原虫において非常に高濃度に産生されている事を見出したサリチル酸の分解酵素発現マラリア原虫を確立した。

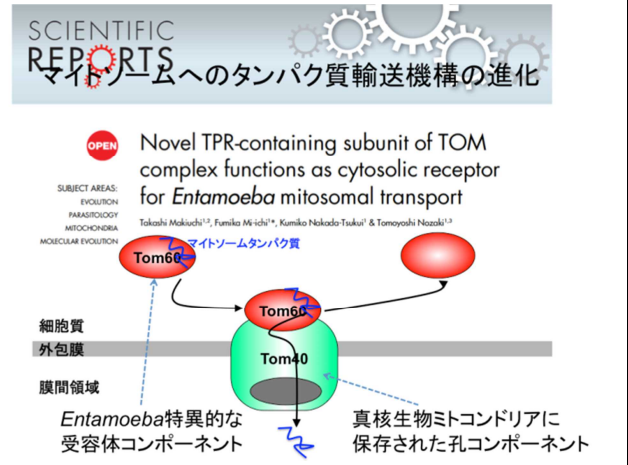
C02 計画研究 (金子・坪井) : 「共生非依存的に進化したオルガネラによるマトリョーシカ化機構」

研究目的: (A) 赤血球へ侵入するために特殊に進化したマラリア原虫オルガネラの役割と (B) マラリア原虫が感染赤血球内に新規オルガネラを作出し、自らの生存に適するように改変する機序を明らかにすることで、本原虫によるマトリョーシカ化機構を明らかにする事を目的とする。

進捗状況: (A) 侵入型原虫に発現する分子に対して 165 個の抗体を作製し、順にオルガネラ局在解析・侵入における機能解析を進めた。マイクロネームというオルガネラが複数の膜構造体の集合であることを見出した。マイクロネーム分子一つにつき輸送ドメインを決定した (Sakura et al. Parasitol Int, 2013)。赤血球侵入関連分子群を特定条件下でノックダウンできる組換え原虫の作製を開始した。また、赤血球侵入時に原虫分子の動態を可視化する系を確立した (Yahata et al. PLoS ONE, 2012)。 (B) 赤血球に放出される分子の赤血球移

成果ハイライト-Makiuchi et al. Sci Rep, 2013

B02 野崎、B02 見市 (公募) らは高度に進化した嫌気性ミトコンドリアのタンパク質外膜透過装置の構成因子を同定した。通常の好気性真核生物を含め他種生物に保存されない新規受容体 Tom60 の発見は共生体由来オルガネラが独自の進化を遂げたことを示した。



行シグナル配列および赤血球膜への移行シグナルを同定した(Zhu et al. Parasitol Int, 2013)。原虫から赤血球への輸送装置の分離を開始した。

C03 計画研究 (洲崎・橋) : 「オルガネラの人工修飾と創成の技術基盤」

研究目的: オルガネラの創成と進化の理解に根ざしたオルガネラ的人為的操作を通して有用生物を創出すること、すなわち人工マトリョーシカ創成への試みを実施することを目的としている。ここでは、共生体の遺伝子が共生体自身と核ゲノムとに分散して存在することのない単純な系 (遺伝子の移行が生じていないミドリゾウリムシ共生クロレラと、遺伝子が完全に核ゲノムに移行している赤痢アメーバのマイトソーム) を用いて、マイクロインジェクション法により細胞内共生系に必要な不可欠な因子を探索している。

進捗状況: 現在までに、それぞれの系において共生体の単離と純化に成功し、技術的基盤は確立した。既に、クロレラ包膜の構成分子解析を終えている。また、マイトソームの異種間移植実験にも着手し、これに関連して近縁の新種アメーバの分離とゲノム解読も実施している。

応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしてどのように発展したか

1. 既存の学問分野の枠に収まらない新興融合領域の創成に向けた成果

現在、各研究項目に関して共同研究に携わっている研究者の主たる専門分野を右表に示した (◎=研究代表者、○=分担研究者、△=公募研究者)。ヒアリングで提案した異分野間の研究交流は間違いなく展開されている。既存の学会等では通常遭遇しないような異分野間での共同研究により新たな学問領域が創成されつつある。

	A01	A02	B01	B02	B03	C01	C02	C03
細菌学	◎	△		○				
環境・生態学		◎			△			
藻類学			◎		◎			
原生動物学	△	○	○		△			◎
寄生虫学				◎		◎	◎	○
昆虫生理学	△	△						
海洋学	△							
医科学		△						△
植物学			△	○/△	○	△		
免疫学							△	
生物工学							○	△

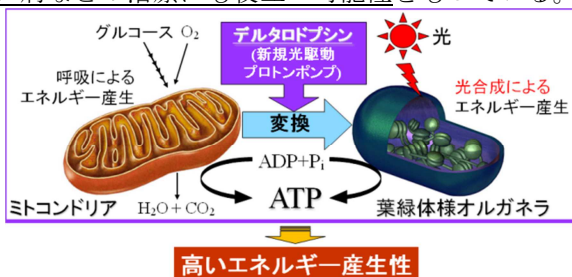
2. 他の研究領域に大きな波及効果をもたらす成果

限られた期間の中で得られた、他分野に波及効果をもたらすと期待される成果は以下の通りである。

- a. オルガネラ工学による光駆動エネルギー変換機能の追加 (Hara et al. Sci Rep, 2013・成果ハイライト)
- b. マトリョーシカ型生物によるセシウム除去 (特願 2012-252102・成果ハイライト)

成果ハイライト-Hara et al. Sci Rep, 2013

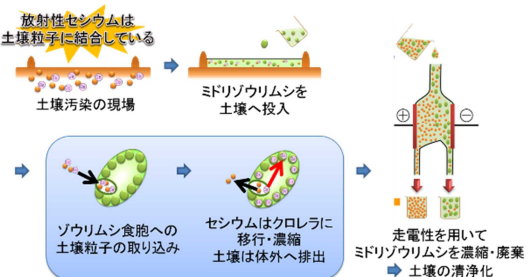
C03 原ら (公募) は、哺乳類培養細胞のミトコンドリアにデルタロドプシンを発現させ、光依存的にプロトン駆動力を生み出すことに成功した。この光駆動ミトコンドリアは、葉緑体のように光エネルギーを細胞内エネルギー(ATP)に変換することができ、植物で見られる光合成の一部を哺乳類細胞で再現した画期的な成果と言える。本研究成果は人工マトリョーシカの具体的な成果であり、再生医療技術との融合によりパーキンソン病などの治療にも役立つ可能性をもっている。



成果ハイライト-特願 2012-252102

C03 洲崎らは、人為的に操作可能なマトリョーシカ型生物であるミドリゾウリムシを利用し、土壌からの放射性セシウムの除去法を考案した。ミドリゾウリムシは粘土粒子を捕食し、セシウムのみを内部共生体であるクロレラに 300 倍以上濃縮した。土壌懸濁液中のミドリゾウリムシを走電性により分離することで、汚染土壌からの放射性セシウム除去が可能になると期待できる。

ミドリゾウリムシを用いたセシウム汚染土壌の新規処理法開発



4. 若手研究者の育成に係る取組状況（1 ページ程度）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

1. 技術研修セミナーの開催

班会議開催に併催する形で技術研修セミナーを実施し、方法論の共有と同時に、若手間での積極的な交流の促進を定期的に行っている。これまでに、共焦点レーザー顕微鏡の使用法と応用法に関する研修セミナー（H24.1.6）、次世代シーケンシングの大規模データの取り扱いとゲノム解析に関する研修セミナー（H24.7.20）を感染研で実施し、長崎大学で超解像顕微鏡の使用法と応用法に関する研修セミナーを行った（H25.1.11）。

2. 若手育成合宿の開催

第1回日本細胞共生学会若手の会（H24.11.7-9）：多分野の若手研究者・学生のブレインストーム合宿を筑波大学下田臨海実験センターにおいて開催した。若手参加者24名が10以上の大学研究機関等から集結し、3日間にわたって議論を深めた。参加者からは非常に高い評価を得ており、今後も定期的の実施する。第2回は関西地方で開催予定。

3. 海外で開催された研究集会への若手への直接的・間接的旅費支援

- (1) 分子系統学・細胞内共生学・微生物生態学分野の先導的研究者が多数参加している Canadian Institute for Advanced Research の Integrated Microbial Biodiversity プログラムの年次会議（H25.5.14-17, Wistler, Canada）に若手研究者3名の派遣を行い、学術的交流はもちろん人的交流拡大を促進した。
- (2) Protist2012（国際進化原生生物学会と国際原生生物学会共催による国際会議）、H24.7.29-8.3, Oslo にてシンポジウム”Matryoshka-type evolution of cells”を領域で主催した。複数の関連学生が領域より本会議へ参加したが、筑波大学の若手研究者2名が本シンポジウムの参加者を対象としたトラベルアワードを受賞した。

4. 若手支援の効果

こうした若手の活動促進策の実施により、若手のアクティビティーは高まりつつあり、各種の学会活動における受賞者を輩出しつつある。例えば、Zhu Xiaotong（長崎大学博士課程大学院生, C02）はタイのバンコクで開催された Joint International Tropical Medicine Meeting にて、Professor Sornchai Looareesuwan Award を受賞し、小松谷啓介（東京大学博士課程大学院生, B01）は第85回日本生化学会大会にて鈴木紘一メモリアル賞を受賞した他、多くの学生を含む若手研究者が各種学会活動等においてポスター賞や若手向けの賞を受賞しており、そのごく一例を下記に挙げる。

- (1) 優秀ポスター賞：木原久美子，小山純弘，守屋繁春，本郷裕一「シロアリ腸内から生きた共生細菌だけを電極基板で分けとる方法の開発」第28回日本微生物生態学会大会、豊橋技大、H24.9.20 (A02)
- (2) 日本寄生虫学会第22回奨励賞：彦坂健児、「Highly conserved gene arrangement of the mitochondrial genomes of 23 Plasmodium species」第82回日本寄生虫学会大会、東京、H25.5.30 (B01)
- (3) The Best Presentation Award: Song, C. and Suzaki, T. Intracellular Symbiosis of Chlorella in Paramecium bursaria with Possible Involvement of Mitochondrial Dynamics. The Korean Association of Biological Sciences. Chungnam National University, Korea, 16-17 July, 2012 (C03)

5. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

領域内で共有する設備・装置の運用状況

1. **共焦点レーザー顕微鏡システム一式**、カールツァイス社、Axio Observer.Z1 SP for LSM 7 LIVE（設置場所：国立感染症研究所、H24.3 導入）：総稼働時間 2800 時間、のべ使用者数 70 人。赤痢アメーバ・トキソプラズマ・マラリア原虫などの原生生物の細胞内微細構造、オルガネラ等の観察、更に、ライブイメージングに極めて効率的に活用されている(Makiuchi Sci Rep, 2013; Andrabi PLoS Pathog, revised など)。
2. **クライオ電子顕微鏡用機器一式**、Leica 社、高速凍結装置 EM-PACT2（設置場所：長崎大学、H23.12 導入）：総稼働時間 156 時間、のべ使用者数 24 人。原生生物のオルガネラ形態観察（B02）やマラリア原虫感染赤血球の新規オルガネラの形態解析（C02）、細菌形態解析などに 10 件 30 サンプルの利用があった。
3. **次世代シーケンサー MiSeq システム一式**、イルミナ社（設置場所：国立感染症研究所、H24.3 導入）：総稼働時間 2800 時間、のべ使用者数 70 人。ゲノム支援の次世代シーケンシングのために、領域内の 9 グループから利用された。また、更に 4 グループからよりカバレッジの高い HiSEQ に外注する前段階のライブラリー構築の目的で利用された。共同研究の代表的な例は「2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況」の「代表的な共同研究」の a, c, d, f で説明している。
4. **その他**：更に、次世代シーケンサーで得られた配列大規模データを保存・解析するためのデータサーバも総括班として購入し、領域全体で共有している。また、B01 で購入された Ion PGM, アプライドバイオシステム社（設置場所：東京大学）も領域内で共有できる機材として運用されている。

領域内での資材のやりとりの状況

通常のレファレンス株の授受、作製した抗体・プラスミド等の授受以外に、種々の細胞共生生物（アカントアメーバ共生菌、*Paulinella chromatophora*、自由生活性 *Entamoeba*、ミトソーム標識 *Entamoeba*、新奇ストラメノパイル生物、未同定新奇原生生物の培養株など）を授受した。

総括班・支援班活動に使用される研究費の状況

総括班会議：H23-25 年度の班会議（総括班・計画班のみの会議を 5 回）、公募班員を含めた会議を 4 回（うち公開シンポジウム 2 回、国際シンポジウム 1 回）行った。総括班・計画班のみの会議に 4.8 万円を、公募班員を含めた国内会議に 12.4+26.0(抄録 27.7)+11.1+20.0(H26.1、予定)万円を使用した。また、国際シンポジウム（H25.7 予定）に海外招聘者 3 名分（150 万円）、ポスター・抄録集印刷費等(50 万円)を含め計 250 万円を使用した。

支援班活動：ゲノム・メタゲノム解析支援として、H24, 25 年度で計 9 件、297 万円(H24) + 400 万円(H25)（消耗品・委託を含め）の次世代シーケンシングの支援を行った。(A02 が 3 件, B03 が 2 件, B01, B02, C02, C03 が 1 件、1 件あたり 45-100 万円)。タンパク質合成支援として、H23-25 年度で、計 12 検体、合計 30mg のタンパク質合成（コムギ胚芽無細胞合成系）を支援した。(B02 など、2 年間総額 210 万円)

若手支援：若手合宿（H24.11、下田、開催費 5 万円）、若手支援海外派遣(H25.5、ウィスラー、1 名、30 万円、ICOP バンクーバー派遣、2 名、70 万円)。領域でリクルート予定の若手海外研究者の招聘（H24.7、オスロ、2 名、計 71.2 万円）。

広報活動：3 号のニューズレターの発刊（ハードコピー 200 部）に 53.1+66.1+65.0 万円、アウトリーチ活動として、筑波科学フェスティバル（H24.11、H25.11 予定）での教材に 18.0 万円、2 日間にわたるサイエンスカフェの準備費に 10.9 万円を使用した。

以上総括班として多面的かつ効果的に研究費を使用した。

6. 総括班評価者による評価（2ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

総括班評価者による評価体制

総括班会議の際には外部評価委員の黒岩常祥立教大学教授と北潔東京大学教授に出席を依頼し、常に一名以上の委員に出席していただき、領域の運営と研究の方向性の両面から様々な助言をいただいている。また、学術調査官を通じて、文科省からの要望や他の新学術領域（例えばウイルス学）との連携に関しても常に考慮している。更に、外部評価委員および学術調査官には、総括班会議だけでなく全体班会議・国内・国際シンポジウムの際にも可能な限り参加してもらい、学術および運営に関するアドバイスを受けている。

評価者（黒岩常祥立教大学教授、北潔東京大学教授）による研究領域に対する評価コメントまとめ

領域の運営について

多くの異なった分野からの科学者を集約し、新しい学問領域を作る意義は高く、その目的に向かって精力的に活動している。領域代表者は多様な分野の研究者をよくまとめ、さらなる研究交流と将来の発展が期待される共同研究が数多く進行中である。また、若手を中心とする研究グループで、メンバー間の情報やアイデアの交換が非常に活発に行われている。総括班、支援班による活動も充実しており、ゲノム支援により領域内から公募で優れた研究提案をすくい上げる試みが見られるなど、領域全体の運営の質の向上に配慮しながら、運営している。さらに、シンポジウムなどを通じての科学交流、合宿や海外派遣などの若手育成の取り組みも着実に進められている点が大いに評価できる。

研究領域の科学の進展について

領域の提案時に計画された研究項目はほぼ予定通りに実施されており、設定された目標に向かって着実に研究が展開されている。本領域から発表された成果の中には、既に **Nature, Science** 等に掲載されたものもあり、改訂・投稿中の論文を合わせると現時点では成果の公表は十分であると考えられるが、今後も質の高い一流紙への多くの投稿が奨められる。本研究は多くの異なった分野を集めオルガネラ生物学、進化学の新しい領域を切り開こうとする野心的な新領域であり、少々時間がかかると考えられるが、領域終了時あるいは終了後の更に優れた研究成果が生まれることが期待される。

今後の運営に関しての助言

ここまで本領域は計画通り推進されており、今後新しい学問領域をリードしていく核となる研究者を生み出していくと予想される。これまでの運営は適切に進められており、改善すべき重大な問題点は特には見当たらない。強いて言えば、現在活発に進められている EST、ゲノム解析により、豊富な情報が得られると予想されるが、代謝物を網羅的に評価できるメタボロミクスを加える事により、研究はさらに大きく発展する事が期待される。同時に、細胞内局在シグナル予測など大量データを有効活用するための解析技術の開発が望まれる。また、解析的なアプローチに加え進化における共生を試験内で実証することを可能とする積極的な方法論の開発は重要であり、細胞工学分野への展開をめざす事によって「出会い・成立・発展」の研究をさらに深化させる事が可能と考えられる。

以上述べて来た様に本研究領域は順調に進んでいると考えられ、「主な研究成果」で示されている代表

的な研究結果を見るだけでも、今後のさらなる展開が大いに期待される状況にある。これまでも国際共同ゲノムプロジェクト等の主要メンバーとして参加し重要な貢献をして来たが、さらに国際的にオルガネラ進化研究の分野をリードし、また生物の教科書を書き換えることをめざして努力を続けてもらいたい。また、本領域を作ったが故に達成されたと認められるような貴重な成果が生まれるように、領域代表のリーダーシップが強く発揮され、領域の進む方向性に対して優先事項が示されることが望まれる。

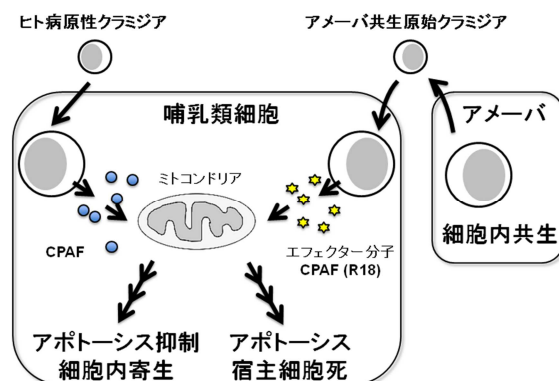
7. 主な研究成果（発明及び特許を含む）【研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理する】

（3 ページ程度）

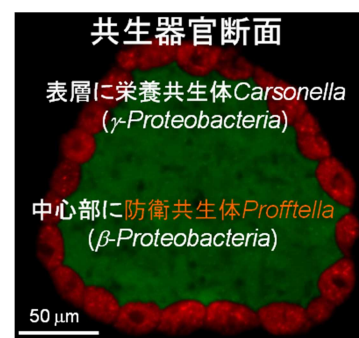
現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

A班

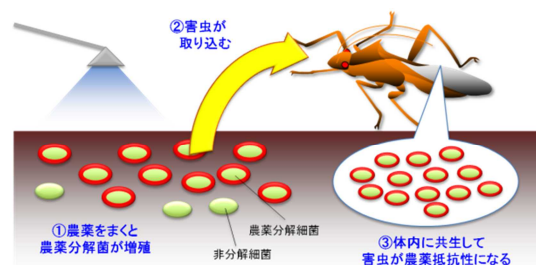
●永井宏樹（計画研究班 A01）、山口博之（公募研究班 A02）、黒田誠（計画研究班 B02）の共同研究として、ヒト病原性クラミジアがII型エフェクターCPAFを介して宿主である感染細胞を延命すべくアポトーシス誘導を強力に抑制するのに対して、アメーバ共生原始クラミジアのCPAFはヒト細胞ではアポトーシスを誘導することを見出した。このことは、ヒト病原性クラミジアのCPAFがヒトに適応進化したことを示唆している（Matsuo J et al. *PLoS One* 2013;8:e56005）。【領域内の共同研究等による研究成果】



●内部共生の形態のひとつに、共生微生物が二次代謝物を用いて宿主を天敵から守る「防衛共生」があるが、一般に進化的に不安定な傾向を示す。中鉢淳（公募研究班）は、この常識を覆す、進化的にきわめて安定な特徴を示すオルガネラ様「防衛共生体」*Proffrella*を世界で初めて発見した。*Proffrella*は、半翅目昆虫ミカンキジラミの共生器官に「栄養共生体」*Carsonella*と共存し、永続的に垂直感染を繰り返す。そのゲノムは460 kbと極端に縮小しており、15%にも及ぶ領域が、強い細胞毒性をもつ新規ポリケチド・ディアフォリンの合成関連遺伝子群をコードすることを明らかにした（Nakabachi A et al. *Curr Biol.* 2013 in press）。

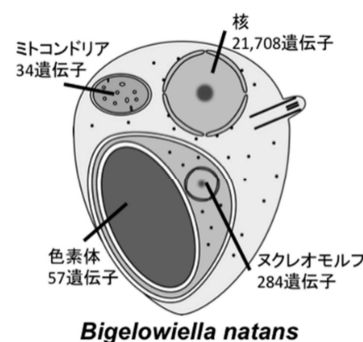


●菊池義智（公募研究班）は、難防除害虫であるカメムシ類が土壤中の農薬分解細菌を取り込んで農薬抵抗性になる現象を発見した。従来農薬抵抗性は昆虫自身の遺伝子で決まる性質と考えられてきたが、この常識を覆す発見と言える（Kikuchi Y et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:8618-8622）。

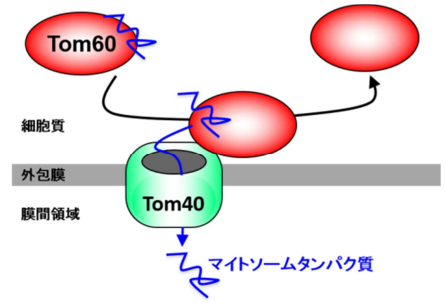


B班

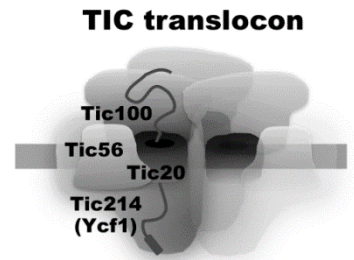
●石田健一郎（計画研究班 B01）は、真核藻類を二次共生で取り込み「植物化」した2種類の生物（クロララクニオン藻とクリプト藻）のゲノムを解読する国際共同研究に参画し、クロララクニオン藻 *Bigelowiella natans* の細胞核ゲノム約95 Mbpを決定した。特にクロララクニオン藻の細胞核にコードされた葉緑体タンパク質のプロテオーム推定を行ない、葉緑体へのタンパク質輸送推定シグナルの多様性からタンパク質輸送機構の多様性の存在を示唆することができた（Curtis B et al. *Nature* 2012;492:59-65.）。



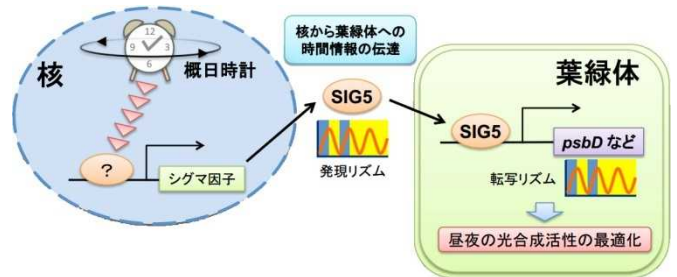
●野崎智義 (計画研究班 B02) は見市 (三田村) 文香 (公募研究班) と共同で、赤痢アメーバのミトコンドリア (マイトソーム) の外包膜タンパク質輸送体の新規受容体 Tom60 を発見し、マイトソームへ輸送されるタンパク質への細胞質での結合とマイトソーム外包膜への転移に関与していることを示した。高度に退化進化した嫌気的ミトコンドリアにおいて、マトリックスおよび膜タンパク質の両者の輸送を媒介する全く前例のない新規な輸送体を同定した本研究結果は、ミトコンドリアの特殊な進化を示した極めて重要な発見である (Makiuchi T, et al. *Sci Rep* 2013;3:1129)。【領域内の共同研究等による研究成果】



●中井正人 (公募研究班) は、植物葉緑体の内包膜タンパク質透過装置(TIC translocon)を精製し、その全構成因子をはじめて同定した。これは細胞核にコードされ細胞質ゾルで合成されたタンパク質を葉緑体に輸送するのに必須の装置である。とくに Tic214 は一次共生の成立後に葉緑体ゲノムに加わった遺伝子と考えられ、核・葉緑体双方のゲノムの積極的な関与によって葉緑体が維持されていることを示している(Kikuchi S et al. *Science* 2013;339,571-574)。

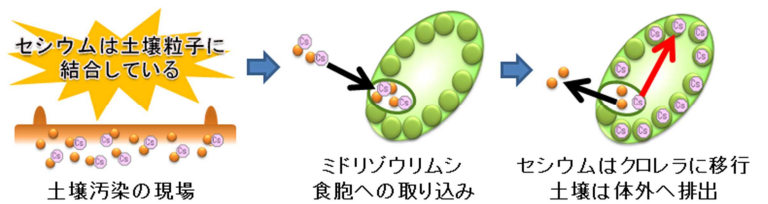


●華岡光正 (公募研究班) はシロイヌナズナを用いて、植物細胞内で形成される概日時計の情報を葉緑体に伝達するメカニズムを世界で初めて発見した。葉緑体の共生起源であるシアノバクテリアの時計と植物型の時計は元来異なる特徴を持つが、内部共生後の進化を経て宿主と共生体が時間情報を共有するために創出した新たな統御システムの発見と言える。概日時計の機能は葉緑体の光合成活性や作物の収量に大きな影響を与えることから、地球の食料生産力の向上など、農業分野における応用も強く期待される (Noordally ZB et al. *Science* 2013;339,1316-1319)。



C班

●生物を用いた放射性セシウム汚染土壌の処理の試みは、すべて不成功に終わったと言っても過言ではない。セシウムは土壌に強く吸着し、不溶化されてしまっているからである。洲崎敏伸 (計画研究班 C03)



はマトリョーシカ生物である共生クロレラ含有原生物 (ミドリゾウリムシなど) が、取り込んだセシウムを食胞中で可溶化し、共生クロレラに高濃度に蓄積する事を見出し、ミドリゾウリムシの走電性を利用した装置で簡便に土壌懸濁液からセシウムを含む様々な重金属類 (砒素・マンガン・カドミウム・水銀など) を回収する汚染土壌処理法を考案し、特許出願を行った (特願 2012-252102)。

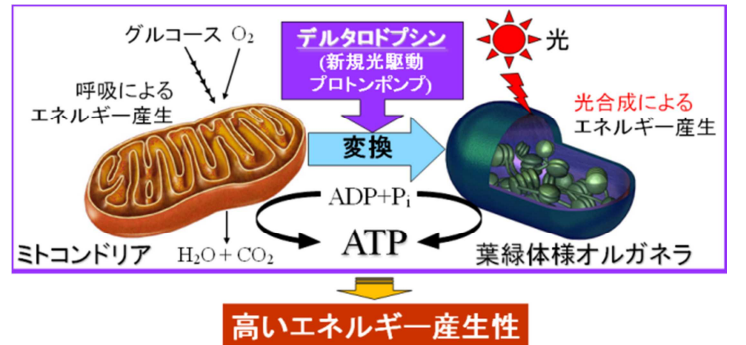
●陸上植物の核にコードされる pentatricopeptide repeat (PPR)タンパク質はオルガネラに移行して、特異的に RNA に結合し、切断、RNA 編集、翻訳制御などを行う。鳥山欽哉 (公募研究班) は、イネにおいてミトコンドリアコードの nad5 (NADH dehydrogenase subunit 5) の 1580 番目のヌクレオチドの RNA editing factor を明らかにし、この PPR 遺伝子を破壊するとイネは葉緑体の機能にも異常をきたし、生育が悪くなることも明らかにした (Toda T et al. *Plant J* 2012;72,450-460)。



●**山本雅裕 (公募研究班)** は、トキソプラズマが感染した細胞内で宿主自然免疫により排除される分子機序として、インターフェロン誘導性 GTP 結合タンパク質群が原虫が細胞内に形成する寄生胞周囲に集積し、immunity-related p47 GTPase を動員することで寄生胞膜を破壊することを見出し、トキソプラズマ症の新たな治療標的として提唱した (Yamamoto M et al. *Immunity* 2012;**37**:302-313)。



●**原清敬 (公募研究班)** は、哺乳類培養細胞のミトコンドリアにデルタロドプシンを特異的に発現させ、光に応答したデルタロドプシンによりプロトン駆動力を生み出すことに成功した。この光駆動ミトコンドリアは、葉緑体のように光エネルギーを細胞内エネルギー(ATP)に変換することができ、植物で見られる光合成の一部を哺乳類細胞で再現した画期的な成果と言える。再生医療技術との融合によりパーキンソン病などの治療にも役立つ可能性も秘める (Hara KY et al. *Sci Rep* 2013;**3**:1635)。



8. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5 ページ程度）

現在実施している新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

【論文リスト】(代表的なもののみ)

計画研究

A01 細菌の原虫・哺乳動物宿主に対する寄生・共生の分子基盤

1. Hubber A, Kubori T and *Nagai H. Modulation of the ubiquitination machinery by *Legionella*. **Curr Top Microbiol Immunol** in press.
2. Matsuo J, Nakamura S, Ito A, Yamazaki T, Ishida K, Hayashi Y, Yoshida M, Takahashi K, Sekizuka T, Takeuchi F, Kuroda M, Nagai H, Hayashida K, Sugimoto C, *Yamaguchi H. Protochlamydia induces apoptosis of human HEP-2 cells through mitochondrial dysfunction mediated by chlamydial protease-like activity factor. **PLoS One** 8, e56005 (2013).
3. *Nagai H, Kubori T. Purification and characterization of legionella u-box-type e3 ubiquitin ligase. **Methods Mol Biol** 954, 347-354 (2013).

A02 先端ゲノム・トランスクリプトーム解析技術を用いた環境微生物の共生原理の解明

1. Date Y, Iikura T, Yamazawa A, Moriya S, Kikuchi J. Metabolic sequences of anaerobic fermentation on glucose-based feeding substrates based on correlation analyses of microbial and metabolite profiling. **J Proteome Res** 11, 5602-5610 (2012).
2. Mori T, Chikayama E, Tsuboi Y, Ishida N, Shisa N, Noritake Y, Moriya S, Kikuchi J. Exploring the conformational space of amorphous cellulose using NMR chemical shifts. **Carbohydr Polym** 90, 1197-1203 (2012).
3. Everroad RC, Yoshida S, Tsuboi Y, Date Y, Kikuchi J, *Moriya S. Concentration of metabolites from low-density planktonic communities for environmental metabolomics using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **J Vis Exp** e3163 (2012).
4. Ogata Y, Chikayama E, Morioka Y, Everroad RC, Shino A, Matsushima A, Haruna H, Moriya S, Toyoda T, Kikuchi J. ECOMICS: a web-based toolkit for investigating the biomolecular web in ecosystems using a trans-omics approach. **PLoS One** 7, e30263 (2012).

B01 二次共生における共生藻のオルガネラ化過程の解明

1. Hirakawa Y, (著者 73 人中 10 番目), Ishida K (同 35 番目) *et al.* Algal nuclear genomes reveal evolutionary mosaicism and fate of nucleomorphs. **Nature** 492, 59-65 (2012).
2. Kashiyama Y, Yokoyama A, Kinoshita Y, Shoji S, Miyashiya H, Shiratori T, Suga H, Ishikawa K, Ishikawa A, Inouye I, Ishida K, Fujinuma D, Aoki K, Kobayashi M, Nomoto S, Mizoguchi T, Tamiaki H. Feature Article: Ubiquity and quantitative significance of detoxification catabolism of chlorophyll associated with protistan herbivory. **Proc Natl Acad Sci U S A** 109, 17328-17335 (2012).
3. Shiratori T, Yabuki A, *Ishida K. *Esquamula lacrimiformis* n. g., n. sp., a New Member of Thaumatomonads that Lacks Siliceous Scales. **J Eukaryot Microbiol** 59, 527-536 (2012).
4. Hama T, Kawashima S, Shimotori K, Satoh Y, Omori Y, Wada S, Adachi T, Hasegawa S, Midorikawa T, Ishii M, Saito S, Sasano D, Endo H, Nakayama T, *Inouye I. Effect of ocean acidification on coastal phytoplankton composition and accompanying organic nitrogen production. **J Oceanogr** 68, 183-194 (2012).
5. Fernandez Robledo JA, Caler E, Matsuzaki M, Keeling PJ, Shanmugam D, Roos DS, Vasta GR. The search for the missing link: a relic plastid in *Perkinsus*?. **Int J Parasitol** 41, 1217-1229 (2011).

B02 ミトコンドリアの進化の多様性

1. Makiuchi T, Mi-Ichi F, Nakada-Tsukui K, *Nozaki T. Novel TPR-containing subunit of TOM complex functions as cytosolic receptor for *Entamoeba* mitosomal transport. **Sci Rep** 3, 1129 (2013).
2. Ali, V., *Nozaki T. Iron-sulphur clusters, their biosynthesis, and biological functions in protozoan parasites. **Adv Parasitol** 83 in press.
3. Makiuchi, T., Mi-ichi F, *Nozaki T. Mitosomes in *Entamoeba histolytica*. “**Amebiasis: Biology and Pathogenesis**” Nozaki and Bhattacharya Ed., Springer, accepted.
4. Ishikawa SA, Inagaki Y, *Hashimoto T. RY-coding and non-homogeneous models can ameliorate the Maximum-Likelihood inferences from nucleotide sequence data with parallel compositional heterogeneity. **Evol Bioinform Online** 8, 357-371 (2012).
5. Furukawa A, Nakada-Tsukui K, *Nozaki T. Novel transmembrane receptor involved in phagosome transport of lysozymes and beta-hexosaminidase in the enteric protozoan *Entamoeba histolytica*. **PLoS Pathog** 8, e1002539 (2012).
6. Ishikawa SA, Inagaki Y, *Hashimoto T. RY-coding and non-homogeneous models can ameliorate the maximum-likelihood inferences from nucleotide sequence data with parallel compositional heterogeneity. **Evol Bioinform Online** 8, 357-371 (2012).
7. Mi-Ichi F, Makiuchi T, Furukawa A, Sato D, *Nozaki T. Sulfate activation in mitosomes plays an important role in the proliferation of *Entamoeba histolytica*. **PLoS Negl Trop Dis** 5, e1263 (2011).

8. Sekizuka T, Matsui M, Yamane K, Takeuchi F, Ohnishi M, Hishinuma A, Arakawa Y, *Kuroda M. Complete sequencing of the *bla*_{NDM-1}-positive IncA/C plasmid from *Escherichia coli* ST38 isolate suggests a possible origin from plant pathogens. **PLoS One** 6, e25334 (2011).
- B03 ミトコンドリア・色素体以外の共生オルガネラ成立過程の解明**
1. Nagayasu E, Ishikawa SA, Taketani S, Chakraborty G, Yoshida A, Inagaki Y, Maruyama H. Identification of a bacteria-like ferrochelatase in *Strongyloides venezuelensis*, an animal parasitic nematode. **PLoS One** 8, e58458 (2013).
 2. Nishimura Y, Kamikawa R, Hashimoto T, *Inagaki Y. Separate origins of group I introns in two mitochondrial genes of the katablepharid *Leucocryptos marina*. **PLoS One** 7, e37307 (2012).
 3. Matsumoto T, Kawachi M, Miyashita H, *Inagaki Y. Prasinonoxanthin is absent in the green-colored dinoflagellate *Lepidodinium chlorophorum* strain NIES-1868: pigment composition and 18S rRNA phylogeny. **J Plant Res** 125, 705-711 (2012).
 4. Yamamoto YY, Yoshioka Y, Hyakumachi M, *Obokata J. Characteristics of core promoter types with respect to gene structure and expression in *Arabidopsis thaliana*. **DNA Res** 18, 333-342 (2011).
- C01 植物由来共生オルガネラの宿主隷属化機構**
1. Toyama T, Tahara M, Nagamune K, Arimitsu K, Hamashima Y, Palacpac NM, Kawaide H, Horii T, Tanabe K. Gibberellin biosynthetic inhibitors make human malaria parasite *Plasmodium falciparum* cells swell and rupture to death. **PLoS One** 7, e32246 (2012).
 2. Nakatani F, Morita YS, Ashida H, Nagamune K, Maeda Y, Kinoshita T. Identification of a second catalytically active trans-sialidase in *Trypanosoma brucei*. **Biochem Biophys Res Commun** 415, 421-425 (2011).
- C02 共生非依存的に進化したオルガネラによるマトリョーシカ化機構**
1. Yahata K, Treeck M, Culleton R, Gilberger TW, *Kaneko O. Time-lapse imaging of red blood cell invasion by the rodent malaria parasite *Plasmodium yoelii*. **PLoS One** 7, e50780 (2012).
 2. Tachibana S, Sullivan SA, Kawai S, Nakamura S, Kim HR, Goto N, Arisue N, Palacpac NM, Honma H, Yagi M, Tougan T, Katakai Y, Kaneko O, Mita T, Kita K, Yasutomi Y, Sutton PL, Shakhbatyan R, Horii T, Yasunaga T *et al.* *Plasmodium cynomolgi* genome sequences provide insight into *Plasmodium vivax* and the monkey malaria clade. **Nat Genet** 44, 1051-1055 (2012).
 3. Zhao H, Konishi A, Fujita Y, Yagi M, Ohata K, Aoshi T, Itagaki S, Sato S, Narita H, Abdelgelil NH, Inoue M, Culleton R, Kaneko O, Nakagawa A, Horii T, Akira S, Ishii KJ, Coban C. Lipocalin 2 bolsters innate and adaptive immune responses to blood-stage malaria infection by reinforcing host iron metabolism. **Cell Host Microbe** 12, 705-716 (2012).
 4. Volz JC, Bartfai R, Petter M, Langer C, Josling GA, Tsuboi T, Schwach F, Baum J, Rayner JC, Stunnenberg HG, Duffy MF, Cowman AF. PfSET10, a *Plasmodium falciparum* methyltransferase, maintains the active var gene in a poised state during parasite division. **Cell Host Microbe** 11, 7-18 (2012).
 5. Sakamoto H, Takeo S, Maier AG, Sattabongkot J, Cowman AF, *Tsuboi T. Antibodies against a *Plasmodium falciparum* antigen PfMSPDBL1 inhibit merozoite invasion into human erythrocytes. **Vaccine** 30, 1972-1980 (2012).
- C03 オルガネラの人工修飾と創成の技術基盤**
1. Song C, *Suzaki T. Improved preservation of organelles in *Paramecium bursaria* by freeze-substitution with glutaraldehyde and osmium tetroxide. **J Electr Microsc Tech Med Biol** 27, 1-8 (2013).
 2. Li Y, Kim O T P, Ito K, Saito K, Suzaki T, Harumoto T. A single amino acid substitution alters omnipotent eRF1 of *Dileptus* to *Euplotes*-type dualpotent eRF1: Standard codon usage may be advantageous in raptorial ciliates. **Protist** 164, 440-449 (2013).
 3. Nozaki H, Yang Y, Maruyama S, Suzaki T. A case study for effects of operational taxonomic units from intracellular endoparasites and ciliates on the eukaryotic phylogeny: phylogenetic position of the haptophyta in analyses of multiple slowly evolving genes. **PLoS One** 7, e50827 (2012).
 4. Feng M, Cai J, Yang B, Fu Y, Min X, Tachibana H, Cheng X. Unique short tandem repeat nucleotide sequences in *Entamoeba histolytica* isolates from China. **Parasitol Res** 111, 1137-1142 (2012).
 5. *Tachibana H, Takekoshi M. Production of antibody Fab fragments in *Escherichia coli*. **Antibody Expression and Production. Cell Engineering 7 (Al-Rubeai M Ed., Springer)**.
- 公募研究**
- A01 持続感染病原細菌がコントロールする共生成立の分子機構**
1. Fukumatsu M, Ogawa M, Arakawa S, Suzuki M, Nakayama K, Shimizu S, Kim M, Mimuro H, Sasakawa C. *Shigella* targets epithelial tricellular junctions and uses a noncanonical clathrin-dependent endocytic pathway to spread between cells. **Cell Host Microbe** 11, 325-336 (2012).
- A01 A群レンサ球菌の宿主寄生を介した新規病原因子獲得機構の時空間的解析**
1. Nozawa T, Aikawa C, Goda A, Maruyama F, Hamada S, Nakagawa I. The small GTPases Rab9A and Rab23 function at distinct steps in autophagy during Group A Streptococcus infection. **Cell Microbiol** 14, 1149-1165 (2012).
- A01 オルガネラ様共生体に輸送される宿主動物由来タンパク質の機能解析**
1. Nakabachi A, Ueoka R, Oshima K, Teta R, Mangoni A, Gurgui M, Oldham NJ, van Echten-Deckert G, Okamura K, Yamamoto K, Inoue H, Ohkuma M, Hongoh Y, Miyagishima SY, Hattori M, Piel J, Fukatsu T. Defensive bacteriome symbiont with a drastically reduced genome. **Curr Biol** in press.
- A01 トリミエマ原虫共生系を用いた細胞内共生研究モデルの構築**

1. Saitoh S, Aoyama H, Akutsu M, Nakano K, Shinzato N, Matsui T. Genomic sequencing-based detection of large deletions in *Rhodococcus rhodochrous* strain B-276. **J Biosci Bioeng** in press.
 2. Matsui T, Tanaka J, Namihira T, Shinzato N. Antibiotics production by an actinomycete isolated from the termite gut. **J Basic Microbiol** **52**, 1-5 (2012).
- A02** アメーバに共生する難培養性細菌のゲノム解析から紐解くマトリョーシカ進化原理
1. Matsuo J, Nakamura S, Ito A, Yamazaki T, Ishida K, Hayashi Y, Yoshida M, Takahashi K, Sekizuka T, Takeuchi F, Kuroda M, Nagai H, Hayashida K, Sugimoto C, *Yamaguchi H. *Protochlamydia* induces apoptosis of human HEp-2 cells through mitochondrial dysfunction mediated by chlamydial protease-like activity factor. **PLoS One** **8**, e56005 (2013).
 2. Ito A, Matsuo J, Nakamura S, Yoshida A, Okude M, Hayashi Y, Sakai H, Yoshida M, Takahashi K, *Yamaguchi H. Amoebal endosymbiont *Protochlamydia* induces apoptosis to human immortal HEp-2 cells. **PLoS One** **7**, e30270 (2012).
- A02** 腸内微生物社会は如何にして形成されるのか
1. Okada T, Fukuda S, Hase K, Nishiumi S, Izumi Y, Yoshida M, Hagiwara T, Kawashima R, Yamazaki M, Oshio T, Otsubo T, Inagaki OK, Kakimoto K, Higuchi K, Kawamura YI, Ohno H, Dohi T. Microbiota derived lactate accelerates colon epithelial cell turnover in starvation-refed mice. **Nat Commun** **4**, 1654 (2013).
 2. Kanaya T, Hase K, Takahashi D, Fukuda S, Hoshino K, Sasaki I, Hemmi H, Knoop KA, Kumar N, Sato M, Katsuno T, Yokosuka O, Toyooka K, Nakai K, Sakamoto A, Kitahara Y, Jinnohara T, McSorley SJ, Kaisho T, Williams IR *et al*. The Ets transcription factor Spi-B is essential for the differentiation of intestinal microfold cells. **Nat Immunol** **13**, 729-736 (2012).
- A02** 共生成立の分子基盤を解く：昆虫-細菌共生系における大規模RNA i スクリーニング
1. Kim JK, Won YJ, Nikoh N, Nakayama H, Han SH, Kikuchi Y, Rhee YH, Park HY, Kwon JY, Kurokawa K, Dohmae N, Fukatsu T, Lee BL. Polyester synthesis genes associated to stress resistance are involved in an insect-bacterium symbiosis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, in press.
 2. *Kikuchi Y, Hayatsu M, Hosokawa T, Nagayama A, Tago K, Fukatsu T. Symbiont-mediated insecticide resistance. **Proc Natl Acad Sci U S A** **109**, 8618-8622 (2012).
- B01** 共生による葉緑体光応答系の成立と進化
1. Noordally ZB, Ishii K, Atkins KA, Wetherill SJ, Kusakina J, Walton EJ, Kato M, Azuma M, Tanaka K, Hanaoka M, Dodd AN. Circadian control of chloroplast transcription by a nuclear-encoded timing signal. **Science** **339**, 1316-1319 (2013).
 2. *Hanaoka M, Takai N, Hosokawa N, Fujiwara M, Akimoto Y, Kobori N, Iwasaki H, Kondo T, Tanaka K. RpaB, another response regulator operating circadian clock-dependent transcriptional regulation in *Synechococcus elongatus* PCC 7942. **J Biol Chem** **287**, 26321-26327 (2012).
- B01** 色素体成立の初期過程におけるタンパク質輸送装置の確立と進化に関する研究
1. Kikuchi S, Bedard J, Hirano M, Hirabayashi Y, Oishi M, Imai M, Takase M, Ide T, *Nakai M. Uncovering the protein translocon at the chloroplast inner envelope membrane. **Science** **339**, 571-574 (2013).
 2. 菊地真吾, 平野美奈子, 井出徹, 中井正人* 明らかになった葉緑体のトランスロコン. **細胞工学** in press. (2013).
- B02** 細胞内物質代謝系の統合と変遷に伴うミトコンドリア輸送体の獲得と共進化
1. Bernhard F, Tozawa Y. Cell-free expression-making a mark. **Curr Opin Struct Biol** **23**, 374-380 (2013).
- B02** 赤痢アメーバマイトソームによる硫酸活性化経路の獲得と寄生適応との関連性の解明
1. Makiuchi T, Mi-Ichi F, Nakada-Tsukui K, Nozaki T. Novel TPR-containing subunit of TOM complex functions as cytosolic receptor for *Entamoeba* mitosomal transport. **Sci Rep** **3**, 1129 (2013).
- B02** メタボロミクスによる、ミトコンドリアを持たない寄生虫のエネルギー代謝機構の解明
1. Husain A, Sato D, Jeelani G, Soga T, Nozaki T. Dramatic Increase in Glycerol Biosynthesis upon Oxidative Stress in the Anaerobic Protozoan Parasite *Entamoeba histolytica*. **PLoS Negl Trop Dis** **6**, e1831 (2012).
- B03** 色素体以外の“炭酸固定オルガネラ”を持つ原生生物の探索、およびその遺伝子解析
1. Noguchi F, Kawato M, Yoshida T, Fujiwara Y, Fujikura K, *Takishita K. A Novel Alveolate in Bivalves with Chemosynthetic Bacteria Inhabiting Deep-Sea Methane Seeps. **J Eukaryot Microbiol** **60**, 158-165 (2013).
 2. Maeda T, Hirose E, Chikaraishi Y, Kawato M, Takishita K, Yoshida T, Verbruggen H, Tanaka J, Shimamura S, Takaki Y, Tsuchiya M, Iwai K, Maruyama T. Algivore or phototroph? *Plakobranchnus ocellatus* (Gastropoda) continuously acquires kleptoplasts and nutrition from multiple algal species in nature. **PLoS One** **7**, e42024 (2012).
- C01** イネのミトコンドリア遺伝性の雄性生殖器官発育不全とそれをレスキューする核遺伝子
1. Igarashi K, Kazama T, Motomura K, *Toriyama K. Whole genomic sequencing of RT98 mitochondria derived from *Oryza rufipogon* and northern blot analysis to uncover a cytoplasmic male sterility-associated gene. **Plant Cell Physiol** **54**, 237-243 (2013).
 2. Toda T, Fujii S, Noguchi K, Kazama T, *Toriyama K. Rice *MPR25* encodes a pentatricopeptide repeat protein and is essential for RNA editing of *nad5* transcripts in mitochondria. **Plant J** **72**, 450-460 (2012).
- C01** 統御的な rRNA 合成制御機構の解明からオルガネラの進化を探る
1. Kanesaki Y, Imamura S, Minoda A, Tanaka K. External light conditions and internal cell cycle phases coordinate accumulation of chloroplast and mitochondrial transcripts in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. **DNA Res** **19**, 289-303 (2012).
 2. *Imamura S, Hagiwara D, Suzuki F, Kurano N, Harayama S. Genetic transformation of *Pseudochoricystis ellipsoidea*, an aliphatic hydrocarbon-producing green alga. **J Gen Appl Microbiol** **58**, 1-10 (2012).
- C01** 宿主細胞と光合成の協調による葉緑体ゲノム複製制御の分子機構の解明

1. Kabeva Y, Miyagishima SY. Chloroplast DNA replication is regulated by the redox state independently of chloroplast division in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant Physiol** (2013).
 2. Mogi Y, Hamaji T, Suzuki M, Ferris P, Mori T, Kabeva Y, Miyagishima S, Nozaki H. Evidence for tubular mating structures induced in each mating type of heterothallic *Gonium pectorale* (Volvocales, Chlorophyta). **J Phycol** **48**, 670-674 (2012).
- C02 次世代オルガネラ学の革新的ツールである超高速進化型マラリア原虫の創成**
1. Imai T, Ishida H, Suzue K, Hirai M, Taniguchi T, Okada H, Suzuki T, Shimokawa C, *Hisaeda H. CD8⁺ T cell activation by murine erythroblasts infected with malaria parasites. **Sci Rep** **3**, 1572 (2013).
 2. Duan X, Imai T, Chou B, Tu L, Himeno K, Suzue K, Hirai M, Taniguchi T, Okada H, Shimokawa C, *Hisaeda H. Resistance to malaria by enhanced phagocytosis of erythrocytes in LMP7-deficient Mice. **PLoS One** **8**, e59633 (2013).
- C02 オルガネラ分泌蛋白質による原虫の寄生・共生成立の分子基盤**
1. Gong H, Kobayashi K, Sugi T, Takemae H, Kurokawa H, Horimoto T, Akashi H, *Kato K. A novel PAN/apple domain-containing protein from *Toxoplasma gondii*: characterization and receptor identification. **PLoS One** **7**, e30169 (2012).
 2. *Kato K, Sugi T, Iwanaga T. Roles of Apicomplexan protein kinases at each life cycle stage. **Parasitol Int** **61**, 224-234 (2012).
- C02 トキソプラズマ原虫「寄生胞」をめぐる寄生体・宿主間の攻防の解明**
1. Kamiyama N, *Yamamoto M, Saiga H, Ma JS, Ohshima J, Machimura S, Sasai M, Kimura T, Ueda Y, Kayama H, Takeda K. CREBH determines the severity of sulphur-induced fatal shock. **PLoS One** **8**, e55800 (2013).
 2. Yamamoto M, Okuyama M, Ma JS, Kimura T, Kamiyama N, Saiga H, Ohshima J, Sasai M, Kayama H, Okamoto T, Huang DC, Soldati-Favre D, Horie K, Takeda J, Takeda K. A cluster of interferon- γ -inducible p65 GTPases plays a critical role in host defense against *Toxoplasma gondii*. **Immunity** **37**, 302-313 (2012).
- C03 核-ミトコンドリアゲノム間の機能的不和合性を導入したモデル生物の作出**
1. Mito T, Kikkawa Y, Shimizu A, Hashizume O, Katada S, Imanishi H, Ota A, Kato Y, Nakada K, Hayashi J. Mitochondrial DNA mutations in mutator mice confer respiration defects and B-cell lymphoma development. **PLoS One** **8**, e55789 (2013).
 2. Hashizume O, Shimizu A, Yokota M, Sugiyama A, Nakada K, Miyoshi H, Itami M, Ohira M, Nagase H, Takenaga K, Hayashi J. Specific mitochondrial DNA mutation in mice regulates diabetes and lymphoma development. **Proc Natl Acad Sci U S A** **109**, 10528-10533 (2012).
- C03 酵母オルガネラの機能改変による人工共生系の創出と有用物質生産への応用**
1. Hara KY, Wada T, Kino K, Asahi T, Sawamura N. Construction of photoenergetic mitochondria in cultured mammalian cells. **Sci Rep** **3**, 1635 (2013).

【主催シンポジウム】

国際学会

1. IUMS2011(International Union of Microbiological Societies), H23.9.6-10, 札幌にて本領域共催のワークショップを開催。以下セッション名”Diversification and Evolution of Protozoan Organelles”(野崎), ”Biology of Malaria”(金子), ”Unique Metabolic Pathway of Parasites”(永宗), ”Legionella”(永井)。(参加者数約 160 名)
2. Nagasaki Symposium on Malaria Biology 2011, H23.11.16-17, 長崎にて本領域共催のワークショップ開催。(参加者 51 名)
3. Protist2012(国際進化原生生物学会と国際原生生物学会共催による国際会議), H24.7.29-8.3, Oslo にてシンポジウム ”Matryoshka-type evolution of cells”を主催。(参加者数 150 名)
4. 国際シンポジウム”Matryoshka-type Evolution of Eukaryotic Cells”, 第 2 回マトリョーシカ型生物学研究会, H25.7.24-26, (京都) を主催 (予定)。
5. XIV International Congress of Protistology, H25.7.28-8.2, Vancouver にてシンポジウム”Organelles and Endosymbionts”を共催 (予定)。
6. 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity, H25.9.10-13, 淡路にてセッション”Evolution of Organelles”を共催(予定)。

国内学会

1. 第 1 回関東プロティスト倶楽部, H23.7.5, つくば市にてワークショップを開催。(参加者約 50 名)
2. 第 2 回関東プロティスト倶楽部, H23.11.24, 東京にてワークショップを開催。(参加者約 60 名)
3. 第 34 回日本分子生物学会, H23.12.13-16, 横浜にてシンポジウム”Diversity and molecular evolution of mitochondria, plastid and related organelles”を開催。(参加者数約 50 名)
4. 第 81 回日本寄生虫学会, H24.3.23-24, 兵庫にてシンポジウム「寄生虫におけるオルガネラ進化と寄生適応」を開催。(参加者数約 50 名)
5. 第 3 回関東プロティスト倶楽部, H24.6.1, 東京にてワークショップを開催。(参加者約 60 名)
6. 第 1 回マトリョーシカ型生物学研究会, H24.7.20-22, 東京にて本領域の公開研究報告会を兼ねた一般公開の研究会を主催。(口頭発表 43 件, ポスター発表 27 件, 参加者数約 100 名)
7. 第 76 回日本植物学会大会, H24.9.15-17, 姫路にてシンポジウム”マトリョーシカ型進化と植物: その多様性から分子基盤まで”を共催。(参加者数約 40 名)
8. 日本原生動物学会, H24.11.23, 公開シンポジウム”細胞内共生と生物進化の新たなトレンド〜フツーじゃない生物進化があります〜”, 更に原生動物フェスティバルを開催。(参加者数約 70 名)
9. 第 35 回日本分子生物学会, H24.12.13, 福岡にてシンポジウム”寄生・細胞内共生成立による生物進化の分子基盤解明に向けて”を開催。(参加者数約 100 名)
10. 第 4 回関東プロティスト倶楽部, H25.2.12, 東京にてワークショップを開催。(参加者約 60 名)

11. 日本進化学会, H25.8.28-30, 筑波にてシンポジウム” 進化的原動力としての共生”を開催 (予定)。
12. 第36回日本分子生物学会, H25.12.3-6, 神戸にてシンポジウム” 寄生・共生におけるゾンビ化機構の分子生物学的解析”を開催(予定)。

【領域ホームページ】 <http://www.matryoshka-evolution.jp/> の URL を開設し、情報発信を行っている。

【アウトリーチ】

1. つくば科学フェスティバル「生物ひろば」, H23.11.12-13, 二次共生により葉緑体を獲得した生物等の展示。来訪者 200 人。
2. つくば科学フェスティバル「生物ひろば」, H24.11.17-18, ブース”マトリョーシカ型生物ってなに?”を開催。ブースではクイズ形式で参加者に「マトリョーシカ生物」を紹介し。来訪者 300 名以上。
3. つくば科学フェスティバル「生物ひろば」, H24.11.17-18, 二次共生により葉緑体を獲得した生物等の展示。
4. サイエンス・カフェ「藻類から探る進化の謎」H24.9.2, 喫茶店 lamp (池袋) 主催：早稲田大学政治学研究科ジャーナリズムコース・サイエンスカフェ実行委員会
5. サイエンスカフェ「あなたの知らない寄生虫のセカイ〜トキノ、マラリア、マトリョーシカ〜」第 63 回バイオ e カフェ H24.9、つくばを開催。
6. 日本原生動物学会主催の「原生動物フェスティバル」, 2012.11.23 を共催。
7. 細胞工学 32 巻「オモロいのは名前だけじゃない!〜マトリョーシカ型進化原理〜」(p 226-231, H25) により領域活動の報告。
8. サイエンスカフェ「シロアリはマトリョーシカ!？」(東工大・大岡山), H25.2.27 を開催。
9. サイエンスカフェ「マトリョーシカ生物の物語」, 東京, H25.3.29-30 を企画・実施 (参加者約 15 名)。年 3 回程度開催予定。
10. H25.6.30、日本進化原生生物研究会との共催企画「第二回原生動物フェスティバル」を開催準備中 (一般公開・参加費無料)。
11. H25.8.25、本科研費 (計画研究・公募研究 C03) による研究成果の社会還元や普及を目指すためのアウトリーチ活動として、「平成 25 年度ひらめき☆ときめきサイエンス」を神戸大学にて実施準備中。

9. 今後の研究領域の推進方策（2ページ程度）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

今後の領域研究の運営推進の方策

本領域は、既存の学問の枠にとらわれず、これまで相互交流することの少なかった学問領域（例えば生態学と感染症学、植物学と寄生虫学など）の研究者を「細胞内共生」の共通言語で意図的に融合させ、学際的な新しい学問領域を創成することを目指している。この2年半で異分野間の交流が進み、着実に共同研究が進められている。具体的に展開中の共同研究は「3. 研究の進展状況」で概説したが、その多くは開始後の期間が短く、成果の発表に至っていない研究がほとんどであるため、辛抱強く領域が成熟していくのを見守りたい。しかしながら、例えば、植物学の専門家と病原寄生虫学の専門家（中井、野崎）の共同研究や、病原性細菌・環境微生物学・ゲノミクスの専門家（永井、山口、黒田）の間の共同研究、藻類と原生生物の専門家（稲垣、永宗）の間の共同研究など、異分野間で様々な共同研究が活発に展開されており、本領域の終了時まで多くの研究成果が上梓されることは間違いないと考えている。今後も定期的な研究会（マトリョーシカ型生物研究会など）を開催し、領域内外での研究交流を続けることにより、細胞内共生によるオルガネラ・真核生物の進化とオルガネラ-宿主相互作用を網羅的に含有しうる広い意味でのマトリョーシカ型生物学の新しい学問領域の整備が確実に進むものと期待される。現段階で、領域運営に関して障害となっている具体的な問題は存在しないが、外部からの更なるインプットにより、領域の発展を更に加速すると期待できる技術・分野も存在する。既に構築された A01-C03 の 8 つの計画研究の軸をもつ本領域の運営に不可欠な要素ではないが、領域の厚みを増し、更に共同研究を推進するという点では考慮すべきであると考えている。

目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募班での重点的な補充

細胞内外での共生現象を理解するために考慮すべき重要な点は、代謝経路の共有や相補化である。即ち、オルガネラと宿主との間での代謝物のやりとりを俯瞰的にとらえることが重要である。このために、EST、ゲノム解析と同時にメタボロミクスを用いた解析手法をもつ研究者の公募班での追加が望まれる。更に、オミクス解析により生産されるビッグデータを有効活用するためのデータマイニング手法およびその開発手法をもつ研究者が望まれる。これらバイオインフォマティクス手法には、メタゲノムデータからの目的ゲノムの読了、細胞内局在シグナルの構造予測、仮想オルガネローム（オルガネラ局在タンパク質のゲノム・ESTからの新規予測）、更にこれらの技術に必要なツールの開発自体が含まれる。更に、複数生物間のマトリョーシカ化の過程にはウイルスの細胞内共生による宿主改変（および宿主によるウイルス改変）が重要な貢献をしていると考えられるため、細胞外オルガネラとしてのウイルスに着目した発想をもつ公募班員の追加も有効である。同様な発想は細胞外細胞質（例えばエクソソーム）等の研究に関しても言える。また、内部共生によるオルガネラの成立とオルガネラと宿主との相互作用の実験室内での証明を可能とする人工マトリョーシカ化の技術基盤の構築のために、マイクロインジェクションや細胞融合といった細胞工学分野の背景をもつ研究者の参加も望まれる。最後に、本領域の具体的な応用や他分野への波及効果として、ミトコンドリア病の原因の解明や治療法の開発が挙げられる。そのため内部共生の破綻としてのミトコンドリア病の原因解明と治療に関する研究により、領域の具体的な応用と展開を目指す公募班員が望まれる。

国内外の研究者との連携による組織の強化

新しい学問領域の創出とその認知のために、国内外における成果報告と宣伝は不可欠であるが、本領域は海外の著明な研究者との共同シンポジウムや学会・研究会への招聘といった活動を行うとともに、これらとは違った形の連携も進めつつある。例えば、藻類学・海洋学・進化学等の最先端の科学者を結集したカナダ高等科学協会（CIFAR、欧米の研究グループも含む）のクローズドの会合に、毎年本領域からシニアと若手の研究者を派遣し、継続的に深い連携を強化している。これらの人的連携は、関連領域における海外の最先端の研究成果、研究の潮流を本領域に還元することを可能にするとともに、本領域で育成したマトリョーシカ若手研究者の今後の海外での活躍の場を提供すると期待される。同時に、海外でトレーニングされた関連領域の優秀な研究者を本領域にリクルートする好機会となると考えられる。実際これらの方法で、研究助教2名の雇用がこれまでに確保されている。また、本領域を構成する研究者が中心となり、本領域終了後も、「細胞共生」をテーマに研究を行っている多様な国内研究者集団を糾合する団体組織として、「日本細胞共生学会」の設立にむけた準備を進める。

領域内での連携

現時点ですでに多くの領域内連携による共同研究が活発に行われているが、さらに多くの共同研究を刺激し、学問領域のすそ野を広げるべく、本領域が主催するシンポジウム・研究集会のみならず、種々の領域活動において、できる限り異分野の研究者が共同作業する場を設けることで、異分野交流の垣根をより低くする努力を継続して行う。

国内外への新しい学問領域の宣伝

国民一般に対する還元として、本領域で得られた研究成果を分かりやすく伝えるために、領域のコンセプトの沿った一般書を岩波科学ライブラリーから発刊する予定である。さらに、科学フェスティバルやサイエンスカフェ等のアウトリーチ活動を継続的に行う。また、海外に対して本領域の目指す新しい学問領域を紹介し、領域の研究成果を宣伝するために、領域5年次に”Endosymbiosys-derived Evolution of Eukaryotes” (仮題)というタイトルの英文書籍を Springer 社から発刊する準備を進めている。

10. 組織変更等の大幅な計画変更がある場合は当該計画（研究代表者の変更は真にやむを得ない場合に限る）（2～5ページ程度）【非公開】※本欄に記載の計画研究については、全て3年度目の審査の対象となります。

領域内の計画研究の研究代表者の交替や組織体制に大幅な変更がある場合（新しく計画研究を追加する場合や既存の計画研究を廃止する場合、領域全体の交付予定額の範囲内で各計画研究の研究経費を変更する場合（計画研究に係る経費を減額し、公募研究に係る経費を増額する場合等））には必ず記入してください。その際、以下の点を含めてください。

- ・ 計画研究を追加する場合は、追加の必要性、その計画研究が領域内で果たす役割、他の計画研究への影響等
- ・ 計画研究を廃止する場合は、廃止の理由、当該計画研究を廃止しても領域として支障がないことの説明等
- ・ 研究代表者の交替の場合は、交替の必要性、新旧の研究組織の異なる点（組織構成、領域内で果たす役割等）、新たに研究代表者になろうとする者が、旧研究代表者に替わって研究を実施できることの根拠、妥当性及びその者の研究業績等
- ・ 計画研究に係る経費と公募研究に係る経費の額の変更については、その必要性、1回目の公募研究の応募・採択状況等（公募研究に係る経費を減額して計画研究に係る経費を増額する変更は真にやむを得ない場合に限る。また、公募研究の規模に係る最低基準を下回らないこと。）
- ・ 以上の各変更に伴う他の計画研究の研究経費の変更及びその妥当性等

組織変更等の大幅な計画変更はない