

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月16日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22580192

研究課題名（和文）タンパク質プロファイリングによるコンブの環境ストレスマーカーの探索

研究課題名（英文）Searching of environmental stress markers of kelp by protein profiling

研究代表者

四ツ倉 典滋（YOTSUKURA NORISHIGE）

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号：60312344

研究成果の概要（和文）：*Saccharina japonica* の生育状況に違いが見られた水温と栄養塩濃度によるストレスによって発現量が変化するタンパク質の数と量を比較した。その結果、高水温で発現量が増加する47つと、温度上昇に伴い減少する7つのスポットが検出された。また、貧栄養環境で増加するスポットも少数見つかった。泳動像を比較した結果、これらのいくつかは高温環境で増加する既知のタンパク質に一致すると考えられ、環境ストレスマーカーとしての利用が期待される。

研究成果の概要（英文）：The number and the amount of protein that changes expression level by temperature and nutrient stresses were investigated on *Saccharina japonica*. As the result, 47 spots that increase the expression level under high water temperature and 7 spots that decrease under the condition were detected. And, a few spots that increase under oligotrophic conditions were found. When the electrophoretic profiles were compared, it was thought that some of them were corresponding to already-known proteins that increased under high water temperature. Hence, those use as environmental stress marker is expected.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：バイオマーカー、プロテオーム、*Saccharina japonica*、環境ストレス、藻場保全

1. 研究開始当初の背景

北海道においてはさまざまなコンブ藻場造成が取り組まれており一定の成果が上げられている。しかし、その事業には多額の予算を要し、また事業自体がコンブのみならず海洋生態系に大きく影響を与えることから、その必要性を的確に判断し、場所や時期を見極

め、対策に努めることが重要である。しかし、藻場の主役であるコンブが現状どのようなストレスを受け、今後藻場衰退の脅威にさらされているかを知るための客観的な手段はない。一見、長期的に進行すると考えられがちな藻場の衰退であるが、近年の“不作”や“病気の発症”が突発的に起こることからも

日常的な藻場の健全性を測る技術が求められている。また、これまで進められてきたコンブ藻場造成は殆どが先に記した通り環境づくりであり、「造成地にコンブの胞子は自然に供給される」ことが前提である。温暖化に伴う地球規模の環境変化が盛んに指摘されているなかで、海洋環境の変化が代表的産業種“マコンブ *S. japonica*”の生育に影響を与えていることが知られており、昨今の漁獲量の減少を目の当たりにして、この先これまでのように豊かな資源が存在する保証はない。今後、有用株の移植を視野に入れる必要があると考えられるが、“環境適応能力を持つ株を客観的に探索する”ための技術はさまざまな生物特性を示す保存株を藻場造成に活用していく上で大いに役立つと考えられる。

2. 研究の目的

日本におけるコンブの主産地である北海道において、“対馬暖流の勢力増大”や“冬季季節風の弱化”、“流氷勢力の衰退”などの自然現象にともなう“水温の上昇”や“栄養塩濃度の下降”といった海洋環境の変化がコンブの“資源の減少”や“生産物の質の低下”に影響を及ぼしていることが知られている。コンブ藻場の保全に関しては、各地で「漁場改良」または「漁場造成」が進められているが、殆どは資源量の回復を目指すものの「造成地に資源は自ずと供給される」を前提とする場所づくりにとどまっており、その実施も藻場の衰退・消失の後追いになることが多い。近年の天然資源量の減少から今後の有用株の移植による藻場造成を見据え、本研究では北海道産マコンブの受ける環境ストレスをタンパク質レベルで解析し、藻場造成事業の“実施場所”と“実施時期”を適切に判断するため、また“環境適応株を識別”するためのバイオマーカーの探索を試みる。

3. 研究の方法

(1) コンブの生育環境調査

コンブ藻場が衰退している海域（藻場衰退域：函館市住吉）、藻場の衰退が報告されていない海域（健全域：函館市臼尻）、大部分の藻場が消失した海域（磯焼け域：小樽市忍路）の環境調査を行い、測定値の地域差を比較した。環境データは、多項目水質計 WQC-24（東亜ディーケーケー株式会社）を用いて水温、塩濃度、溶存酸素、濁度、pH を測定した。また、環境水を採水し、オムニポアメンブレン 0.45 μ m (Millipore) を用いて濾過した。濾過水は、窒素濃度（硝酸態窒素 NO_3^- 、亜硝酸態窒素 NO_2^- 、アンモニア態窒素 NH_4^+ ）とリン濃度（リン酸態リン PO_4^{3-} ）を測定した。調査は3ヶ月毎に行い、先に記した環境調査を行うとともに、各調査地点から3-5個体の胞

子体を採集した。胞子体サンプルは、採集した後、速やかに冷凍し、実験に供するまで -80°C で保存した。

(2) プロテオーム解析

①材料

材料は、函館市住吉産の胞子体由来する配偶体クローン株から育てた胞子体を用いた。培養体は、生育条件に適した条件下、湿重量がおおよそ4gになるまで中間育成し、環境調査において地域間に顕著な差異が認められた項目、すなわち水温と栄養塩濃度に依存して発現量が変化するタンパク質を探索するため、ストレスを負荷するための試験区に移し、一定期間培養した。水温は6条件（ 5°C 、 10°C （コントロール）、 15°C 、 20°C 、 25°C 、 30°C ）、栄養塩濃度はコントロール試験区に対して栄養塩添加量を変化させた7条件（無添加、 $\times 0.25$ 、 $\times 0.5$ 、 $\times 1$ ）を設定した。

②タンパク質抽出

-80°C で保存していたコンブ胞子体の葉状部から2g程度の葉片を切り出し、氷上で速やかに細断した。細断した葉片を15ml フアルコンチューブに移し、4mlの氷冷したエタノールを加え、ポリトロンホモジナイザーでよく破碎した。エタノール中に懸濁した破碎液は -20°C で一晩インキュベートした。その後、ボルテックスを用いてよく攪拌し、全量を金属メッシュで濾した。この濾液を2mlずつエッペンドルフチューブに分注し、 4°C 、15000 rpm、10分間の遠心分離を行い、沈殿を回収した。沈殿に氷冷した1mlのエタノールを加え、ボルテックスを用いてよく攪拌した後、氷冷下で5分間の超音波処理を行った。次いで、 4°C 、14000 rpm、5分間の遠心分離を行い、上清を完全に除いた。これらの攪拌、超音波処理、遠心分離の操作は、沈殿が白色ないし灰白色になるまで繰返した。沈殿は、真空デシケーター中で乾燥させた。

③タンパク質の精製

抽出の過程で回収した乾燥沈殿に対し、500 μ lのDense SDS buffer（30% Sucrose、2% SDS、0.1M Tris-HCl (pH8.0)、5% 2-mercaptoethanol）を加え、沈殿が完全に懸濁するまでボルテックスでよく攪拌した。3分間の超音波処理後、400 μ lの中性フェノールを加え、さらに5分間の超音波処理を行った後、ボルテックスを用いてよく攪拌した。室温、14000rpm、5分間の遠心分離を行い、上層のみを新しいエッペンドルフチューブに移し、300 μ lずつ分注した。それぞれに1.5mlの0.1M 酢酸アンモニウム含有メタノールを加え、よく攪拌した後、 -20°C で一晩インキュベートした。続いて、 4°C 、14000 rpm、10分間の遠心分離を行い、上清を完全に除いた。沈殿に1mlの0.1M 酢酸アンモニウム含有メタノールを加え、よく攪拌し、 4°C 、14000 rpm、5分間の遠心分離を行った。同様の操作

をもう一度繰返した後、0.1M 酢酸アンモニウム含有メタノールを 80%アセトンに置換し、同様の操作を 2 回繰返すことで、沈殿に含まれる余剰な塩分を除去し、真空デシケーター中で乾燥させた。

④タンパク質の定量

タンパク質はプロテインアッセイ染色液 (BIO RAD) を用い、Bradford 色素結合法によって定量した。10 μ l の IPG buffer pH4-7 (GE ヘルスケアバイオサイエンス) と 1 μ l の TBP を加えた基本膨潤液 (7M Urea, 2M Thiourea, 4% CHAPS, 0.5% IPG buffer, 0.05% TBP, BPB 少量) に乾燥したサンプルを再懸濁させる。 γ グロブリンを 8M 尿素に溶解させ、30mg/ml に調整し、0.22 μ m のフィルターを用いて濾過した。この溶液を 0.2-3.0 mg/ml に調整し、標準液とした。定量の方法は、プロテインアッセイ染色液 (BIO RAD) 付属のマニュアルに従った。

⑤電気泳動

一次元電気泳動は IPG 法によって行い、Immobiline DryStrip (GE ヘルスケアバイオサイエンス) を用いて抽出したタンパク質 300 μ g を分画した。泳動には、Ettan IPGphor 3 IEF System を用いた。続く、2 次元電気泳動には 10%アクリルアミドゲルを使用し、分子量ごとにタンパク質を分画した。泳動には、SE 600 Ruby (GE ヘルスケアバイオサイエンス) と EPS 3501XL Power Supply (GE ヘルスケアバイオサイエンス) を用いた。1 次元電気泳動および 2 次元電気泳動のプログラムは、製品の推奨するプロトコルに従った。

アクリルアミドゲルに泳動したタンパク質は CBB で染色し、1 日間の脱色の後、スキャナーで泳動像を取り込んだ。イメージは PDQuest Basic Version 8.0 (Bio rad) を用いて、解像度と色調を調整し、タンパク質スポットの探索を行った。ゲルごとの染色誤差の補正は、LOESS 法に基づく局所回帰モデル Local regression model に従った。タンパク質の発現量は、試験区間の 2 点比較により行い、基準となるゲルの 2 倍以上の差のあるスポットを抽出した。また、同試験区におけるサンプルは T 検定を行い、一定の危険率以下のスポットだけを抽出した。検出されたスポットの中、高水温または貧栄養条件で発現量が増えるタンパク質を探索した。発現量が 1000 以下のスポットは目視で観察することが困難であったため、発現量が 1000 以上のスポットの中から温度条件に依存して増減するタンパク質を探索した。

4. 研究成果

(1) 環境調査

調査の結果 (表 1)、溶存窒素およびリン濃度は地区ごとに差異が認められた。これらの栄養塩濃度は時期にかかわらず白尻に比

表1 Saccharina japonicaの環境調査データ

調査区	調査日	NO3-N	NO2-N	NOx-N	PO4-P	SiO4-Si	SiO3-Si	SiO2-Si	SiO4-Si	SiO3-Si	SiO2-Si	SiO4-Si	SiO3-Si	SiO2-Si
白尻	2011.1	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	2011.2	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	2011.3	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
磯崎	2011.1	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	2011.2	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	2011.3	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
磯崎	2011.1	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	2011.2	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	2011.3	0.76	0.02	0.78	0.01	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

べ、忍路と住吉で高かった。塩分については、5-6 月にかけて忍路は他の 2 地点より塩分が低下したが、この時期を除いて地域間の差は認められなかった。溶存酸素や濁度の値は安定せず、信頼性の高い値は得られなかった。水温の差は顕著で、季節にかかわらず地区ごとに 2-3 $^{\circ}$ C の違いがあった。

(2) 温度条件に依存して増減するタンパク質の探索

各試験区で培養した胞子体から抽出したタンパク質の電気泳動像の解析の結果、1631 個のスポットが検出された (図 1)。温度別では、5 $^{\circ}$ C では 892 個、10 $^{\circ}$ C では 802 個、15 $^{\circ}$ C では 758 個、20 $^{\circ}$ C では 517 個、25 $^{\circ}$ C では 534 個であった。30 $^{\circ}$ C では、ストレスを負荷する短期間の培養中に枯死する個体が多かったうえ、タンパク質が十分に抽出できない個体が多く、検出されたスポットは 356 個にとどまった。

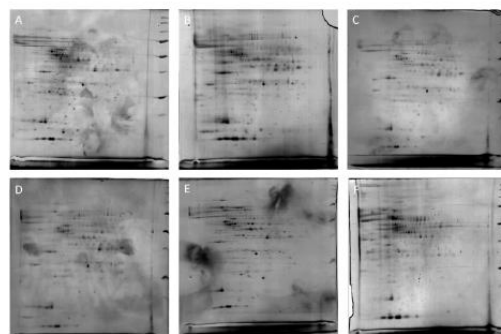


図1 異なる水温で培養した胞子体から抽出したタンパク質の2次元電気泳動像。A: 5 $^{\circ}$ C; B: 10 $^{\circ}$ C; C: 15 $^{\circ}$ C; D: 20 $^{\circ}$ C; E: 25 $^{\circ}$ C; F: 30 $^{\circ}$ C

また、水温が高くなるにつれて発現量が増加する 30 個のスポットが検出された (図 2)。それらの中で、1103、2810、2812、2813、3601、4504、4512、5502、5616、6202、6410、6723、7308、7415、7701 は、特に発現量が大きかった。一方、他の条件では現れなかったが、30 $^{\circ}$ C で培養した個体に現れる 17 個のスポットが検出された (図 3)。Yotsukura et al (2010) は、8 月と 2 月に *S. japonica* の胞子体を採集し、発現するタンパク質を調べており、採集した個体から抽出した数種類のタンパク質を同定している。8 月に採集した胞子体から抽出されたタンパク質の泳動像とタンパク質の同定結果から、本研究で検出された 4504 と 4512 はフルクローズビス-1,6-ビスリン酸アルドラーゼ、2813 はバナジウム依存性プロモペルオキシダーゼ II、7701 はグルコース-6-リン酸イソメラーゼであると思われる

る。また、報告の中では夏季（8月）に発現量が増加する44種類のタンパク質を検出している。今回、高温条件で発現量が増したタンパク質の中で2種類がこれらと一致した。

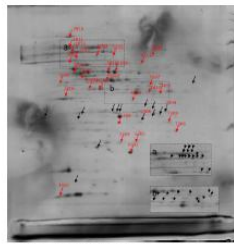


図2 培養温度が高くなるにつれて、発現量が増加するタンパク質。数字が記されていない矢印は、8月に採集された野生胞子体において発現量が増したタンパク質スポット (Yotsukura et al. 2010)。

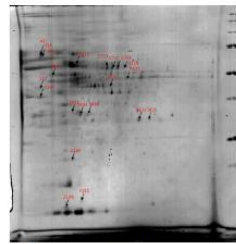


図3 30°Cでのみ検出された、または30°Cでのみ発現量が増したタンパク質スポット。

一方、Yotsukura et al (2012)は、本種と同じ目に属するカジメについて、温度ストレスによって発現量が増加する複数のタンパク質について、10-15°Cに水温が低下したときに発現量が減少する数種類のタンパク質を報告している。カジメのタンパク質の泳動像と本研究で得られた泳動像を比較した結果、2810 はバナジウム依存性プロモペルオキシダーゼ II であり、6202 はヒートショックプロテイン 20 であると推察された。また、カジメの培養温度を 15°Cから 30°Cに上昇したときに発現量が増加するタンパク質と画像比較により照合した結果、2810 はヒートショックプロテイン 90、2812 はヒートショックプロテイン 70-C (Heat-shock cognate 71 kDa protein, putative Heat-shock protein 70-C)、2813 はバナジウム依存性プロモペルオキシダーゼ II、6202 はヒートショックプロテイン 20 で一方、水温が高くなるに伴って発現量が減少する7種類のタンパク質が見つかった (図 4)。これらの中の 2224 は、

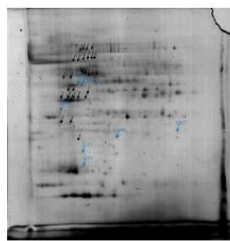


図4 水温が高くなるにつれて発現量が減少したタンパク質スポット。数字が記されていない矢印は、2月に発現量が増したタンパク質 (Yotsukura et al. 2010)。

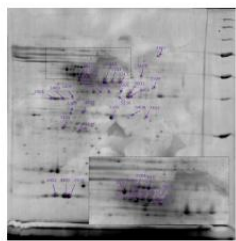


図5 30°Cを除く、すべての水温条件で発現が見られたタンパク質のスポット。

Yotsukura et al (2010)の結果と比較した結果、フコキサンチン-クロフィル a-c バインディングプロテイン Fであった。30°Cを除くすべての温度条件で発現が観察された44種類のタンパク質は、環境ストレスを検出するためのマーカーとはならないが、これらの発現量を基準として、他のタンパク質の発現量を相対化することができ、環境条件に応じ

た発現量がどの程度変動したかをより客観的に求めることが可能となる。

(3) 栄養塩に依存して発現量が増減するタンパク質

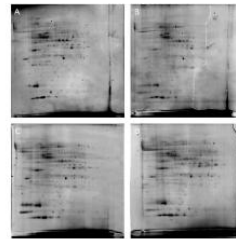


図6 異なる栄養塩濃度で培養した胞子体から抽出したタンパク質の2次元電気泳動像。A: 栄養塩無添加; B: 栄養塩類添加量 (1/4); C: 栄養塩類添加量 (1/2); D: コントロール。



図7 コントロール試験区と比較して貧栄養条件で発現量が増したタンパク質。

各試験区で培養した胞子体から抽出したタンパク質の電気泳動像の解析の結果、772個のスポットが見つかった (Fig. 6)。栄養塩無添加では423個、添加量 1/4 では395個、添加量 1/2 では328個、コントロール試験区では387個のタンパク質が検出された。栄養塩添加していない条件と添加量を減らした条件で発現量が増加する14種類のタンパク質が検出された (Fig7)。コントロール試験区あるいは富栄養な試験区で発現が見られたが、コントロール試験区の栄養塩濃度以下の条件では検出されなかったスポットが59個検出された。

(4) まとめ

今後、地球規模の環境変化に伴い、海水温上昇や貧栄養化が深刻化することが予想されており、高水温・貧栄養ストレスによる藻場の衰退が進行すると考えられる。本研究で検出された高水温下において発現量が増加するいくつかのタンパク質については、先行研究の結果にほぼ一致しており、同定できなかった他のタンパク質についても、温度応答性のタンパクである可能性が高いと考えられる。これらのタンパク質を高水温ストレスの指標として、高水温による藻場の衰退を未然に検知し、藻場の状態を診断することができるものと期待される。今後は、これらのタンパク質を指標に地域集団が保有する環境耐性能を調べることで、水温上昇に伴って起こる個体群ダイナミクスを予測する手がかりとなることが期待される。一方で、環境耐性株の作出の際に、環境耐性の有無を調べるマーカーとしての利用も期待できる。今回開発した環境ストレスマーカーは、本種を保全するための重要なツールとなるであろう。

参考文献

- Yotsukura N et al. (2010). Journal of Applied Phycology, 22(4), 443-451.
Yotsukura N et al. (2012). Journal of Applied Phycology, 24(2), 163-171.

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10件)

- ① Kouhei Nagai, Koichi Morimoto, Haruka Ikegami, Hajime Kimura, Norishige Yotsukura. 2013. Investigation of proteomic profiles of lamina of *Ecklonia kurome* (Laminariales): homology-based cross-species protein identification and analysis of the post-translational processing of vanadium-dependent bromoperoxidases using MALDI-TOF/TOF. Marine Biotechnology, Online first. 査読有. DOI: 10.1007/s10126-013-9498-z
- ② Takashi Maeda, Tadashi Kawai, Masahiro Nakaoka and Norishige Yotsukura. 2013. Effective DNA extraction method for fragment analysis using capillary sequencer of the kelp, *Saccharina*. Journal of Applied Phycology, 25: 337-347. 査読有. DOI: DOI 10.1007/s10811-012-9868-3
- ③ 川井唯史・Louis D. Druehl・四ツ倉典滋. 2012. アイヌによるコンブ採り及び利用に関する情報. Algal Resources, 5: 77-81. 査読有. <http://jsap.web.fc2.com/pub.html>
- ④ 木下康宣・野上智代・赤石恵・大坪雅史・鳥海滋・吉野博之・大野一・川下浩一・秋野秀樹・四ツ倉典滋. 2012. ホソメコンブの鮮度保持技術の開発. 北海道立工業技術センター研究報告, 12: 6-11. 査読無. <http://www.techakodate.or.jp/center/information/report/h22.html>
- ⑤ Norishige Yotsukura, Kouhei Nagai, Toshimitsu Tanaka, Hajime Kimura and Kouichi Morimoto. 2011. Temperature stress-induced changes in the proteomic profiles of *Ecklonia cava* (Laminariales, Phaeophyceae). Journal of Applied Phycology, 24: 163-171. 査読有. DOI: 10.1007/s10811-011-9664-5
- ⑥ Ga Hun Boo, Sandra C. Lindstrom, Nina G. Klochkova, Norishige Yotsukura, Eun Chan Yang, Hyung Geun Kim, J. Robert Waaland, Ga Youn Cho, Kathy Ann Miller, and Sung Min Boo. 2011. Taxonomy and biogeography of *Agarum* and *Thalassiophyllum* (Laminariales, Phaeophyceae) based on nuclear, mitochondrial, and plastid gene sequences. Taxon, 60: 831-840. 査読有. <http://www.ingentaconnect.com/content/iapt/tax/2011/00000060/00000003;jsessionid=lgxhvriuufxhh.alexandra>
- ⑦ Norishige Yotsukura, Takeshi Shimizu, Takayuki Katayama and Louis D. Louis. 2010. Mitochondrial DNA Sequence variation of four *Saccharina* species (Laminariales,

Phaeophyceae) growing in Japan. Journal of Applied Phycology, 22: 243-251. 査読有. DOI 10.1007/s10811-009-9452-7

⑧ Norishige Yotsukura, Kouhei Nagai, Hajime Kimura and Kouichi Morimoto. 2010. Seasonal changes in proteomic profiles of Japanese kelp: *Saccharina japonica* (Laminariales, phaeophyceae). Journal of Applied Phycology, 22: 443-451. 査読有. DOI 10.1007/s10811-009-9477-y

⑨ 四ツ倉典滋. 2010. 日本産コンブ目植物の分類体系. Algal Resources, 3: 193-198. 査読有. <http://jsap.web.fc2.com/pub.html>

⑩ 木下康宣・野上智代・赤石恵・大坪雅史・鳥海滋・吉野博之・大野一・川下浩一・秋野秀樹・舟橋正浩・四ツ倉典滋. 2010. 生鮮ホソメコンブの鮮度評価方法に関する研究. 北海道立工業技術センター研究報告, 11: 12-16. 査読無.

<http://www.techakodate.or.jp/center/information/report/h22.html>

[学会発表] (計17件)

① 渡辺健太郎. 北海道沿岸におけるコンブ藻場の長期変動. 日本生態学会第60回大会. 平成25年3月7日. 静岡県コンベンションアーツセンター(静岡市)

② 邵花梅. 型計量魚探の開発④コンブ林の磯焼けの動態把握に向けて. 平成24年度日本水産学会秋季大会. 平成24年9月15日. 水産大学校(下関市)

③ 四ツ倉典滋. 北海道におけるコンブ類研究. 日本藻類学会第35回大会. 平成24年7月15日. 北海道大学(札幌市)

④ 前田高志. コンブ多型解析に有効なマイクロサテライトマーカーの探索. 日本応用藻類学会第11回大会. 平成24年3月24日. 東京海洋大学(東京都)

⑤ 藤川義一. 青森県日本海沿岸に生育するホンダワラ属5種の季節的消長の比較. 日本応用藻類学会第11回大会. 平成24年3月24日. 東京海洋大学(東京都)

⑥ 木下康宣. 冷凍保存中におけるコンブの加熱緑変機能の変化. 日本応用藻類学会第11回大会. 平成24年3月24日. 東京海洋大学(東京都)

⑦ Takashi Maeda. Elucidation of genetic diversity of *Saccharina japonica* in northern part of Japan based on DNA fragment analyses. VIth Asian P. acific Phycological Forum. 平成23年10月13日. The Ocean Resort, Yeosu (Korea)

⑧ 前田高志. AFLP分析によるマコンブ産地間の遺伝的多様性の解明と変種識別. 日本応用藻類学会第10回大会. 平成23年7月9日. 東京海洋大学(東京都)

⑨ 藤川義一. 養殖アカモクに認められた2年目への再生. 日本応用藻類学会第10回

大会. 平成23年7月9日. 東京海洋大学 (東京都)

⑩木下康宣. 生鮮コンブの鮮度評価方法に関する研究. 日本応用藻類学会第10回大会. 平成23年7月9日. 東京海洋大学 (東京都)

⑪木下康宣. 生鮮コンブの鮮度保持技術に関する研究. 日本応用藻類学会第10回大会. 平成23年7月9日. 東京海洋大学 (東京都)

⑫Takashi Maeda. A trial on molecular marker detection for variety discrimination in *Saccharina japonica* (Phaeophyceae, Laminariales) by AFLP-based analysis. 4th Congress of the International Society for Applied Phycology. 平成23年6月21日. Halifax Marriott Harbourfront (Canada)

⑬四ツ倉典滋. コンブ分類の現状と課題—変わりゆく分類体系をまえにして—. 日本藻類学会第35回大会公開講座「富山県民のための昆布学」. 平成23年3月26日. 富山大学 (富山市)

⑭四ツ倉典滋. 北太平洋西部におけるコンブ類の多様性. 北海道大学大型融合プロジェクト研究支援ワークショップ「環北太平洋沿岸生物相研究の新展開—歴史検証と未来予測—」. 平成22年11月5日. 北海道大学 (札幌市)

⑮Norishige Yotsukura. Production of kelp in Japan: various natural resources and established aquaculture technique. An international interdisciplinary Symposium. 平成22年8月26日. Carlsberg Academy (Denmark)

⑯四ツ倉典滋. コンブ類の多様性とその保全. 第22回千葉県立中央博物館自然史シンポジウム「宮部金吾生誕150周年記念 日本の藻類学は今!」. 平成22年7月17日. 千葉県立中央博物館 (千葉市)

⑰前田高志. マルバアマンノリの分類形質. 第9回日本応用藻類学会春季シンポジウム. 平成22年7月3日. 東京海洋大学 (東京都)

〔図書〕 (計2件)

①四ツ倉典滋. えりも町教育委員会、えりも町ふるさと再発見シリーズ4 えりも町と日高管内の「海の生き物たち」(えりも町郷土資料館編)、2011、pp. 19-23

②四ツ倉典滋. 生物研究社、水産海洋ハンドブック、2010、pp. 61-66

〔その他〕

ひらめき☆ときめきサイエンス:

①四ツ倉典滋. 平成24年度ひらめき☆ときめきサイエンス「こんぶの森を育てよう!~ゆたかな海をこの手で~」. 平成24年7月28日. 北海道大学忍路臨海実験所

②四ツ倉典滋. 平成23年度ひらめき☆ときめきサイエンス「小樽の海は今!~ゆたかな海の森をもとめて~」. 平成23年7月30日. 北海道大学忍路臨海実験所
パラタクソノミスト養成講座:

①四ツ倉典滋・阿部剛史. 北海道大学総合博物館パラタクソノミスト養成講座「海藻(初級)」. 平成22年7月31日. 北海道大学忍路臨海実験所
招待講演:

①四ツ倉典滋. 様似のコンブ藻場を守るために—ミツイシコンブを知る、調べる—. 北海道様似町ふるさとジオ塾講座「昆布と藻のおはなし」. 平成24年8月2日. 様似町立図書館

②四ツ倉典滋. 前浜の主役“ホソメコンブ”を知る—海洋生態系と伝統文化を守るために—. 神恵内村開村140年記念事業「海の森林づくりシンポジウム in 神恵内」. 平成24年6月15日. 神恵内村漁村センター

③四ツ倉典滋. “こんぶ”を知る、“こんぶ”について考える~伝統産業の発展と地域の活性化を目指して~. 平成23年度北海道信用金庫理事長会議. 平成23年9月9日. 渡島信用金庫

6. 研究組織

(1) 研究代表者

四ツ倉 典滋 (YOTSUKURA NORISHIGE)
北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授
研究者番号: 60312344

(2) 研究分担者

森本 康一 (MORIMOTO KOUICHI)
近畿大学・生物理工学部・教授
研究者番号: 10319741

(3) 連携研究者

無し