

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「植物の機能と制御」

研究課題
「種子蛋白質の量的・質的向上を
目指した分子育種」

研究終了報告書

研究期間 平成 14 年 12 月～平成 20 年 3 月

研究代表者：西村 いくこ
(京都大学大学院理学研究科・教授)

1. 研究実施の概要

世界的な人口増加による食糧難の時代に備えて、作物の生産向上が緊急の課題の一つとなっている。特に、コメや豆類をはじめとする様々な植物の種子はタンパク質、脂質、糖質などを貯蔵しており、私達の貴重な食糧源であり、また家畜飼料としても重要な資源である。これまでに種子の貯蔵タンパク質を改変し、より高品質のタンパク質を含む作物を創出するための試みが多数なされている。このような分子育種を行う際には、有用物質の遺伝子をただ導入するというのではなく、導入した遺伝子産物を安定な形で細胞内に大量に蓄積させることも重要な鍵となる。このための技術基盤として、植物が本来持っている“タンパク質の合成の場から蓄積の場への大量輸送・集積の分子機構”の解明が必須である。本研究課題では、植物の特性を理解し、それを十分に生かして量的向上と質的向上の両面から種子の高付加価値化を達成するための基盤作りの一環としての研究を行った。量的向上研究では、登熟期の種子の細胞内での種子タンパク質の大量集積に関わる因子を網羅的に単離し、これに関わる分子機構の全容の解明を目指した（図1）。一方、質的向上研究では、液胞の機能発現に関わる液胞プロセッシング酵素 VPE に注目し、種子タンパク質の性質の改変と病害に対する抵抗反応の分子機構を解明することを目標とした（図1）。

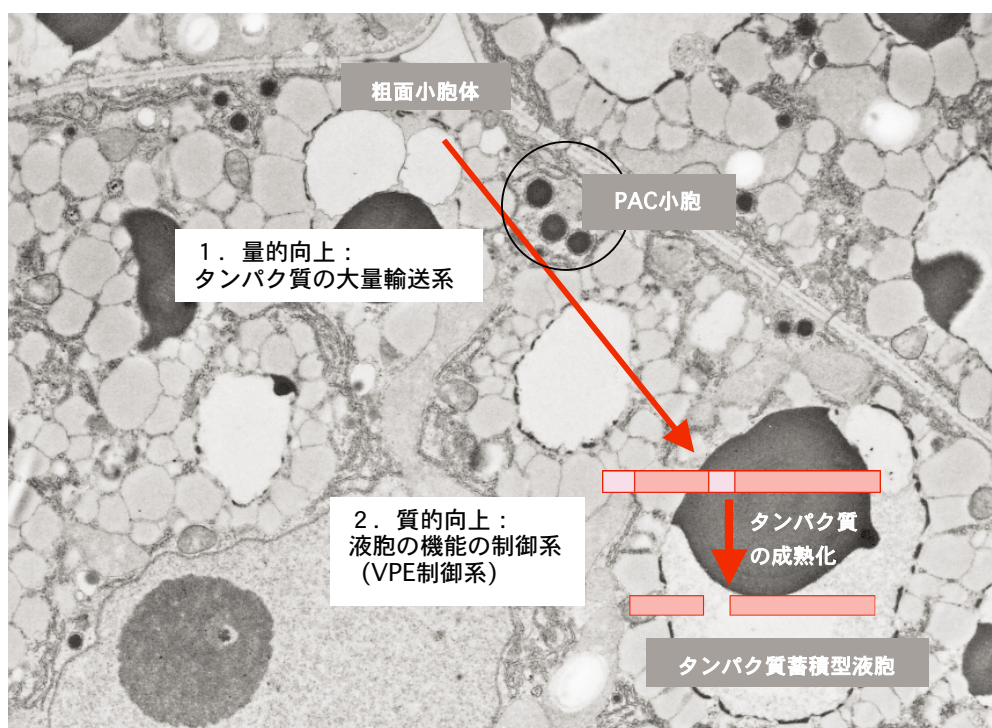


図1. 登熟カボチャ種子の電子顕微鏡像。

種子貯蔵タンパク質は、登熟種子の細胞内の粗面小胞体で大量に合成され、PAC小胞を介してタンパク質蓄積型液胞へ選別輸送される。次いで、液胞内ではタンパク質の成熟化が起こる。本研究課題では、第一の柱の量的向上を目指した研究では、タンパク質の大量輸送系に注目し、第二の柱の質的向上を目指した研究では、タンパク質の成熟化による液胞の機能の制御系に注目した。

(1) 質的向上を目指した解析

貯蔵タンパク質は、登熟期の種子の細胞の中で、粗面小胞体で合成された後、タンパク質蓄積型液胞へ輸送されて蓄積される。私たちは、このタンパク質の輸送に関与する小胞を見だし、PAC 小胞と命名した。PAC 小胞依存的なタンパク質輸送系は、ゴルジ体を介さない輸送系として注目された。この新規の経路は、効率よいタンパク質の輸送系として植物が獲得してきたものと考えられる。

これまでに貯蔵タンパク質の輸送経路に関わる分子は見いだされていなかった。PAC 小胞は機能的に特殊化した小胞であることから、この小胞に焦点を当てたプロテオーム解析により、種子タンパク質の大量輸送システムを駆動している有用遺伝子を見出すことが可能になる。登熟期のカボチャ種子より単離した PAC 小胞のプロテオーム解析から、液胞選別輸送レセプターを同定し、液胞選別輸送レセプター (Vacuolar Sorting Receptor1, VSR1) と命名した (Proc. Natl. Acad. Sci., 2003)。この成果は、レセプター依存的な種子タンパク質の細胞内輸送の存在を初めて明らかにすることができた点で評価された。

貯蔵タンパク質の大量輸送系に関わる分子を網羅的に単離する目的で、2つの正(順)分子遺伝学的アプローチを開発した。第一の方法のアイデアは、「タンパク質の輸送が異常になり、最終的な集積部位である液胞へ到達できない場合、タンパク質の成熟化不全となり、種子内に前駆体タンパク質が蓄積される」というものである。得られた変異体は *maigo* (*mag*) 変異体と命名した (Plant Cell Physiol., 2005)。第二の方法のアイデアは、液胞選別輸送レセプター欠損変異体の種子に液胞型緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現させると、種子が光るという発見が端緒となった。この方法によって得られた変異体は *green-fluorescent-seed* (*gfs*) と命名した (Plant Cell, 2007)。これまでに、7 ラインの *mag* 変異体と約 200 ラインの *gfs* 変異体を単離することができた。それぞれの変異体の原因遺伝子の単離と機能解析を行った (図 2)。GFS1 は液胞選別輸送レセプター VSR1 と一致した。このレセプターのリサイクルに関わるレトロマーの構成因子として、MAG1 が同定された。詳細は、「3 研究実施内容及び成果」の項で述べる。

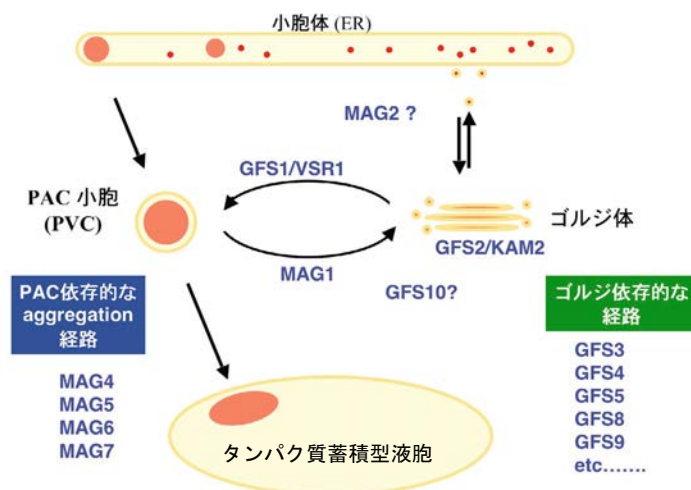


図 2. 本研究課題で同定された種子タンパク質の輸送経路に関わる分子群。

種子タンパク質の液胞への輸送経路は、PAC 依存的な経路とゴルジ体依存的な経路が存在し、交錯している。2つの正遺伝学的アプローチ (MAIGO 法と Green n-Fluorescent-Seed 法) によって同定した MAG および GFS 因子群。

(2) 質的向上を目指した解析

上記の量的向上と対をなすのが質的向上である。分子育種においては、質的な向上なくしては種子の高付加価値化はあり得ない。私たちは、様々な液胞タンパク質の成熟化に関与する酵素を発見し、液胞プロセシング酵素 (VPE, Vacuolar Processing Enzyme) と命名した。液胞プロセシング酵素は、新規のシステインプロテアーゼで、液胞機能分子の成熟化に関わる鍵酵素であることから、この酵素を制御することにより、様々なタンパク質の性質を変えることができる。

シロイヌナズナは4種類の VPE のホモログを持つが、これらの遺伝子の1重、2重、3重遺伝子破壊株を作製した。この内3種類の VPE 遺伝子を破壊すると、種子タンパク質の成熟化が完全に阻害されることが明らかになった。即ち、VPE を鍵酵素とする液胞プロセシング系は種子タンパク質の機能発現を制御していることが分かった (J. Biol. Chem., 2003a)。VPE 遺伝子のノックアウトマウスを作製することにより、VPE がリソソーム酵素群の成熟化に関与していることも分かった (J. Biol. Chem., 2003b)。即ち、液胞・リソソーム系の機能発現のための鍵酵素と位置づけることができた。

VPE の酵素科学的解析から、VPE が、動物のプログラム細胞死 (アポトーシス) の実行因子として知られる caspase の活性を持つことが分かった。植物の細胞死でも、caspase-1 の活性が重要であると言われながら、その実体が長く不明であったが、これに解答を与えることができた。一方、in vivo の解析でも VPE が植物独特の細胞死を制御していることが分かった。タバコの VPE 遺伝子の発現を抑えると、ウイルス感染による過敏感細胞死が抑制されることを見出した (Science, 2004, 図3)。植物はこのような抵抗性の細胞死の外、罹病生の細胞死も引き起こす。VPE はカビ毒による罹病生の細胞死にも関与していることが分かった (J. Biol. Cem., 2005)。一方、シロイヌナズナの新規 VPE (dVPE) は胚発生の初期に種皮 (内珠皮) に一過的に発現し、堅い種皮を形成するための細胞層のプログラム細胞死を制御していることが明らかになった (Plant Cell, 2005)。

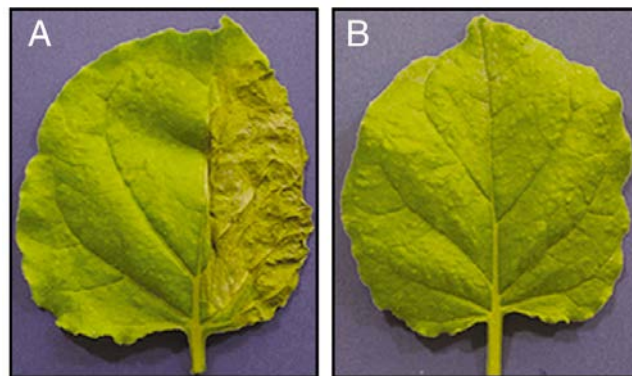


図3. VPE ノックダウン植物における過敏感細胞死の抑制

タバコ葉の右半分にウイルスを接種した。VPE 遺伝子をサイレンシングしていない葉 (A) では病斑が形成されているが、VPE 遺伝子をサイレンシングしたノックダウン植物の葉 (B) では過敏感細胞死は抑えられる。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

近年，農作物の重要形質を担う遺伝子群の網羅的な単離は遺伝資源の収集・活用にとって緊急の課題とされている．一方，植物細胞を利用して有用タンパク質を大量に合成させる試みも多数なされている．有用な遺伝子を効率的に発現・集積するためには，植物が持っている物質の合成・集積機構の解明が必須となる．本研究課題では，私たちの重要な食糧源の一つである種子の貯蔵タンパク質に注目し，細胞内でのタンパク質の大量集積機構の解明（量的向上）と成熟化機構の解明（質的向上）の二つの目標を置いた．

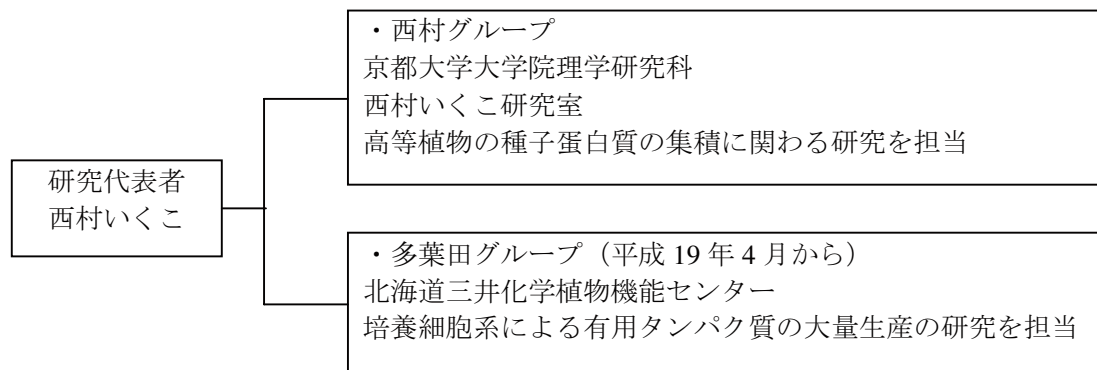
貯蔵タンパク質は液胞（タンパク質蓄積型液胞）に集積されるが，合成の場（小胞体）から液胞へのタンパク質の選別輸送に関わる機構は長く不明のままだった．本研究の着想は，大量に合成されたタンパク質のための輸送小胞であるPAC小胞の発見と液胞プロセッシング酵素の発見であった．

本研究課題の「1．量的向上」では，正（順）遺伝学的なアプローチにより，大量タンパク質の輸送に関わる分子群の同定と機能解析を行うことを目標とした．研究の過程で，新しい変異体の選抜方法を確立した．この方法は，非常に効率的なタンパク質の輸送異常の変異体の単離を可能にした．これにより，飛躍的に研究を進めることができた．

一方，「2．量的向上」では，逆遺伝学的なアプローチにより，VPE遺伝子をノックアウトあるいはノックダウンすることにより，液胞におけるタンパク質の成熟化の機構を明らかにすること，またその成熟化の生理学的意義を解明することを目指した．この研究の過程で，植物の種子以外の組織におけるVPEの新規の機能を見いだした．植物体の生体防御に関わる研究と位置づけ，本研究課題の一つと位置づけ研究を推進した．

種子の貯蔵物質の大量合成・集積研究の流れから，平成19年度には外来の有用タンパク質の大量合成系の開発を目指した研究にも着手することとした．この研究の遂行は多葉田グループによって行われた．

(2) 実施体制



本研究課題は京都大学の西村（研究代表者）チーム単独で実施された．なお，研究期間の終わりの1年間については，有用タンパク質の大量生産に向けた研究のため，多葉田グループの密接な協力を得た．

3 研究実施内容及び成果

3. 1 量的向上を目指した研究（京都大学 西村グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

液胞選別輸送レセプター

登熟期のカボチャ種子より単離した PAC 小胞（図 4）のプロテオームによって同定されたタイプ I 型の膜タンパク質 VSR は、PAC 小胞膜に局在する。In vitro 機能解析から、VSR は貯蔵タンパク質 2 S アルブミンの液胞標的シグナルとカルシウム濃度依存的に結合する（図 5）（J. Biol. Chem, 2002）。この成果から、VSR が貯蔵タンパク質の液胞への選別輸送レセプターであることが示唆された。この仮説を証明する目的で、シロイヌナズナの VSR 欠損変異体の解析を行った。

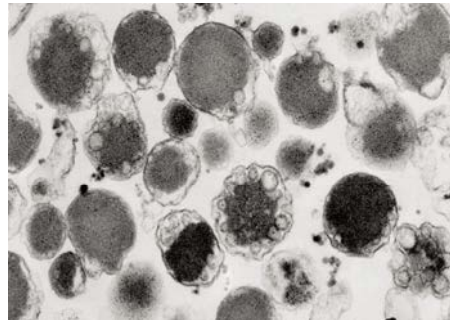


図 4. 登熟期のカボチャ種子より単離した PAC 小胞

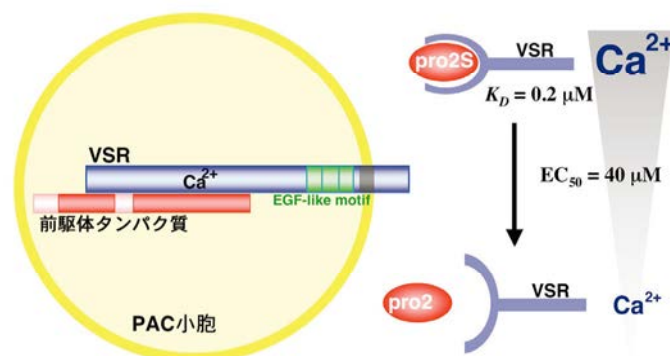


図 5. VSR と貯蔵タンパク質 2 S アルブミンのカルシウム依存的結合.

PAC 小胞膜に存在している VSR は、小胞内に集積している主要な貯蔵タンパク質 2 S アルブミンの前駆体の液胞標的シグナルと結合する。この結合はカルシウム濃度依存的である。

シロイヌナズナには VSR のホモログが 7 種類存在していた。これらを AtVSR と命名し、それぞれの遺伝子破壊株を T-DNA タグラインから選抜した。それぞれ遺伝子破壊株の種子に蓄積している貯蔵タンパク質の存在形態を調べたところ、AtVSR1 遺伝子の欠損変異体の種子のみが貯蔵タンパク質の前駆体を蓄積していることが分かった。このことは、AtVSR1 が貯蔵タンパク質の細胞内輸送に関与していることを示していた。この変異体の種子の細胞間隙は肥大化し、そこに貯蔵タンパク質が蓄積していた（図 6）。この結果は、AtVSR1 が、登熟期の種子細胞内の小胞体で合成された貯蔵タンパク質の前駆体を正しくタンパク質蓄積型液胞へ選別して輸送させるためのレセプターであることを示している。貯蔵タンパク質の細胞内輸送がレセプター依存的であることの初めての証明となった（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003）。

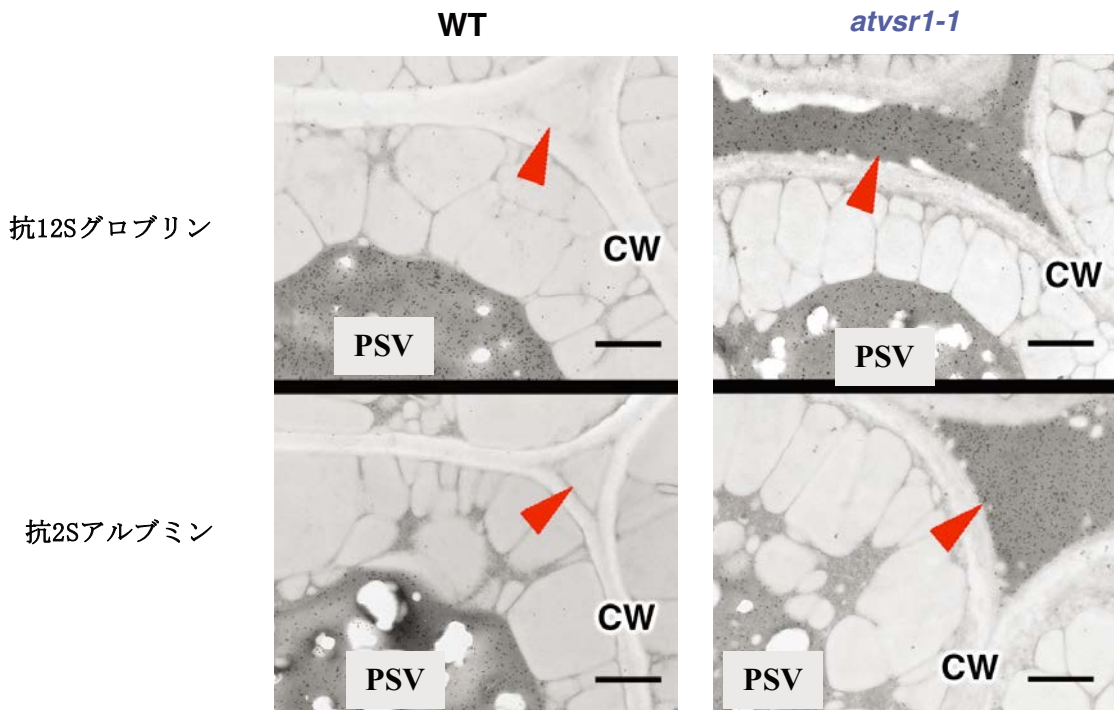


図6. シロイヌナズナの野生型 (WT) と液胞選別輸送レセプターAtVSR1 欠損変異体 (*atvsr1-1*) の乾燥種子の免疫電子顕微鏡像.
貯蔵タンパク質 12S グロブリンと 2S アルブミンの特異抗体を用いた. PSV,タンパク質蓄積型液胞; CW,細胞壁. *atvsr1-1* では, 細胞間隙に誤って貯蔵タンパク質が分泌されている (矢尻).

貯蔵タンパク質輸送異常を示す *maigo* 変異体

種子タンパク質の集積機構の全貌を分子レベルで解明する目的で, シロイヌナズナの正遺伝学を駆使して新規因子の単離とその機能解析を行った. 第一の手法では, T-DNA タグラインの中から貯蔵タンパク質の輸送異常を示す変異体の選抜を行った. 種子タンパク質は, 液胞へ輸送されて初めて液胞プロセシング酵素 (VPE) によって成熟化に変換する. 輸送異常を示す変異体では, 貯蔵タンパク質を前駆体のまま乾燥種子に蓄積する. この性質を利用して, 貯蔵タンパク質前駆体を蓄積している *maigo* (*mag*)変異体を選抜した (図7).

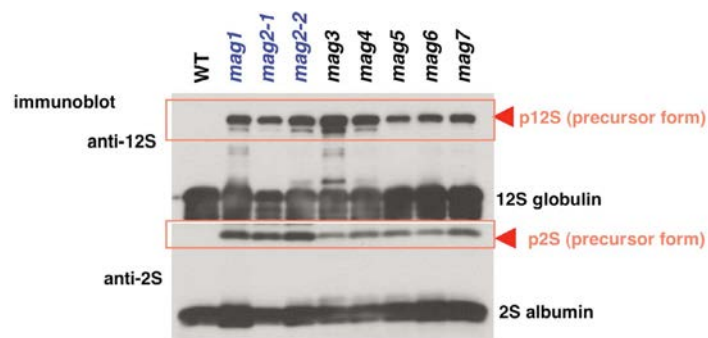


図7. 種子タンパク質の細胞内輸送異常を示すシロイヌナズナ*maigo*変異体.
mag 変異体の種子は貯蔵タンパク質 (12S グロブリンと 2 S アルブミン) の前駆体を蓄積している.

得られた *mag* 変異体の種子の細胞内構造を電子顕微鏡で観察した結果、これらの変異体は、(A)種子タンパク質を細胞外に分泌するタイプと(B)種子タンパク質を細胞内の電子密度の高い構造体に蓄積するタイプの2つに分けられることが分かった (図8)。

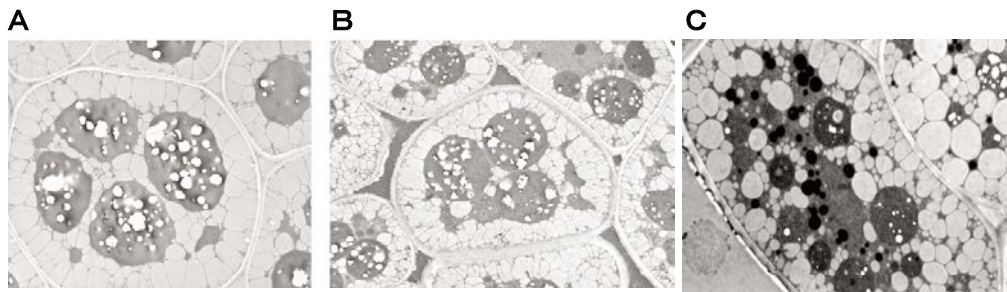


図8. 種子タンパク質の輸送異常を示す2つのタイプのシロイヌナズナ変異体

野生型のシロイヌナズナの種子細胞 (A) では電子密度の高いオルガネラとして観察されるタンパク質蓄積型液胞に貯蔵タンパク質が集積している。種子タンパク質の液胞への選別輸送が異常になった変異体は、細胞外にタンパク質が分泌されるタイプ (B) と細胞内の新たな構造体に貯蔵タンパク質を集積してしまうタイプ (C) に分類される。

mag1 変異体：液胞選別輸送レセプターのリサイクル機構

mag1 変異体は、種子タンパク質の前駆体を誤って細胞外に集積していた (図9)。*mag1* 変異体は、タンパク質蓄積型液胞が異常に小型化していた。MAG1 はレトロマーの構成成分 VPS29 のホモログで、種子タンパク質の輸送レセプターのリサイクルに関与していると考えられた(Plant Cell Physiol., 2006)。即ち、粗面小胞体で合成された貯蔵タンパク質分子の多くはアグリゲートを形成して、PAC 小胞依存的に液胞へ輸送されるが、その際小胞体内でアグリゲートに組み込まれなかったフリーの分子が小胞体からゴルジ体へ輸送される。このフリーの分子をゴルジ体で選別輸送レセプターVSR がトラップして、PAC 小胞へ運ぶ。この後、リガンドである貯蔵タンパク質分子を解離した VSR はレトロマーによって、再びゴルジ体へリサイクルされると考えられた。

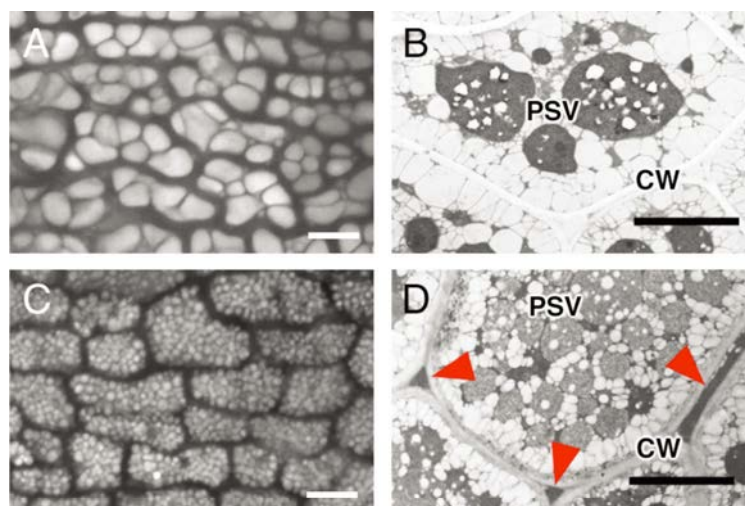


図9. *mag1* 変異体の種子は貯蔵タンパク質を細胞外に分泌している。

野生型では種子タンパク質は細胞内のタンパク質蓄積型液胞 (PSV) に集積しているが (B)、*mag1* 種子では貯蔵タンパク質が細胞外に分泌されている (D の赤矢尻)。*mag1* 変異体 (C) のタンパク質蓄積型液胞 (PSV) は、野生型 (A) に比べて小さく、発達不全を示す。

mag2 変異体：小胞体からのタンパク質の搬出

mag2 変異体は、細胞内に電子密度の高い新規構造体を多数形成し、その内部に種子タンパク質の前駆体を蓄積していた (図 1 0)。*mag2* 変異体と野生型の種子の構成タンパク質の差をプロテオーム解析により、小胞体内に局在する分子シャペロン BiP と PDI が異常に蓄積していた。これらのシャペロンは、この新規構造体の周辺部分に局在していたことから、この構造体は、小胞体由来のものであることが分かった (図 1 1)。

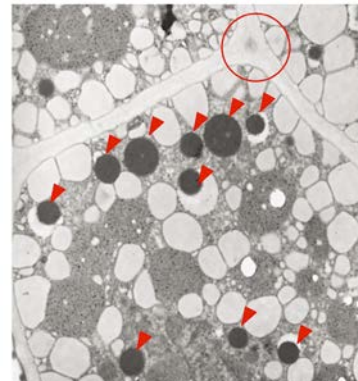


図 1 0. *mag2* 種子の細胞内には新規構造体が多数出現する。

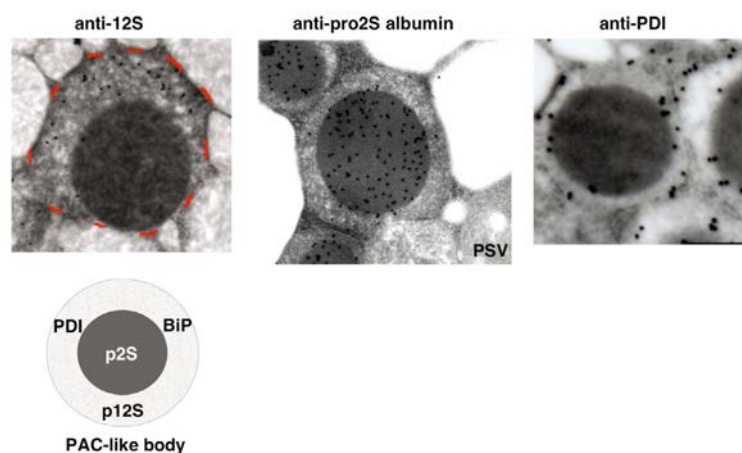


図 1 1. *mag2* 種子の新規構造体には貯蔵タンパク質前駆体と小胞体分子シャペロンが蓄積している。

主要種子タンパク質 12 S グロブリン、2 S アルブミンと小胞体分子シャペロンを用いた免疫電子顕微鏡観察。2 S アルブミンについては前駆体のみに反応する特異抗体を用いている。

細胞分画法と GFP 融合タンパク質を用いた解析から、MAG2 は小胞体上と細胞質ゾルの両方に分布していることが分かった。一方、酵母ツーハイブリッド法による解析から、MAG2 は小胞体型 SNARE 分子である AtSEC2 と AtUFE1 に結合すること明らかとなった。これらの結果から、MAG2 は、小胞体で合成された貯蔵タンパク質をゴルジ体へ運ぶ段階で関与していることが判明した (Li et al., Plant Cell, 2006)。

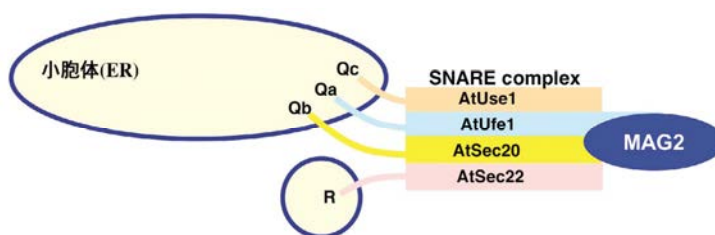


図 1 2. MAG2 は、小胞体型 SNARE 複合体と結合し、小胞体からの輸送小胞の出芽に働くと考えられる。

効率的な液胞選別輸送変異体の選抜方法の確立：Green-Fluorescent-Seed 法

網羅的な輸送因子の単離のための効率的な手法を確立した。貯蔵タンパク質の輸送機構の解析の過程で、液胞選別輸送レセプターVSR1 欠損株に液胞型 GFP を発現させると GFP が種子の細胞外に分泌され、大量の GFP が細胞外に蓄積した結果、種子そのものが緑の蛍光を発することが分かった（図 1 3）。この結果は、液胞型 GFP は液胞選別輸送に異常が生じると、細胞外に分泌され蓄積されることが予想された。これを利用して、新しい変異体の選抜方法を考案した（図 1 4）（Plant Cell, 2007a）。

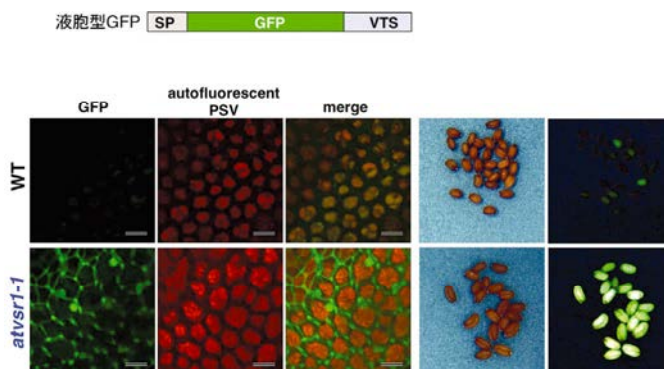


図 1 3. 液胞選別輸送レセプター欠損変異体 *vsr1* は液胞型 GFP を細胞外に分泌し、種子が蛍光を発するようになる。

液胞型 GFP は、N 末端側にシグナルペプチド（SP）を、C 末端側に液胞標的シグナル（VTS）をもつ。液胞型 GFP を野生型シロイヌナズナに発現させると、タンパク質蓄積型液胞（PSV）に局在するが、*vsr1* 変異体に発現させると細胞外に運ばれて、その結果種子が蛍光を発する。

具体的には、液胞型 GFP を種子特異的に発現させた形質転換体の種子を変異源処理し、その T 2 種子集団を作製した。Green-Fluorescent-Seed 法では、この T 2 種子集団を蛍光実体顕微鏡で観察し、蛍光を発する種子を選抜するという極めて簡単で効率的な手法である（図 1 4）。この方法では、植物を栽培する必要もなく、また種子そのものを破壊する必要もない。Green-Fluorescent-Seed 法は、変異体選抜の効率を飛躍的に向上させ、これまでに 3 0 0 万粒の種子をスクリーニングし、2 0 0 ライン近い変異体（*green-fluorescent seed (gfs)*）と命名）を得ることができた。この方法は、液胞選別輸送に関わる因子の網羅的な同定を可能にしてくれる。

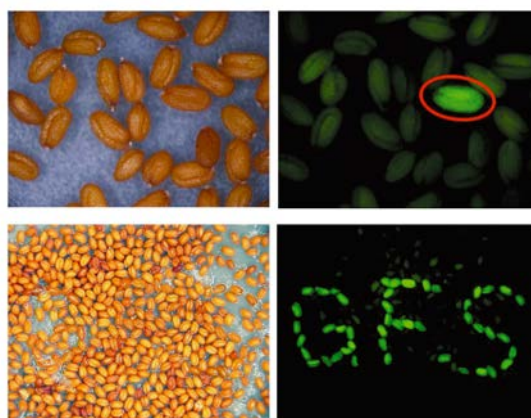


図 1 4. Green-Fluorescent-Seed 法による変異体の選抜。

液胞型 GFP を発現させた形質転換体を EMS 処理した後、得られた T 2 種子集団（左）と蛍光実体顕微鏡の観察像。

得られた *green-fluorescent-seed* (*gfs*) 変異体については連鎖ベースマッピングにより、変異の原因遺伝子の単離を行っている。図 1 5 はこれまでに得られた結果を示している。

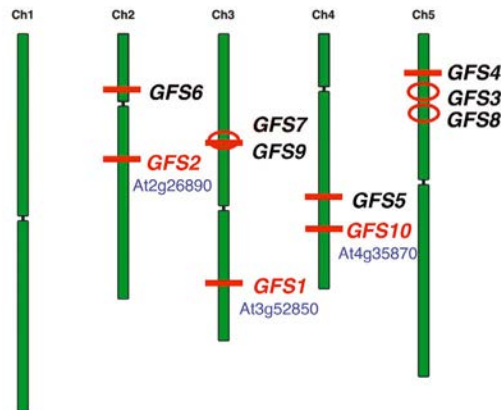


図 1 5. *GFS* 遺伝子のマッピング

GFS1/VSR1 は液胞選別輸送レセプター

Green-Fluorescent-Seed 法によって、液胞選別輸送レセプター変異体 *vsr1* のアレルが 4 ライン単離できた。これまでに植物の液胞は、栄養器官の分解型液胞と種子のタンパク質蓄積型の二つに大別され、*VSR* は分解型液胞に蓄積する分解酵素の選別輸送のためのレセプターであり、タンパク質蓄積型液胞へのレセプターではないとする報告もあった。しかし、この結果は、*GFS1/VSR1* が貯蔵タンパク質の液胞選別輸送レセプターであることを強く指示している。

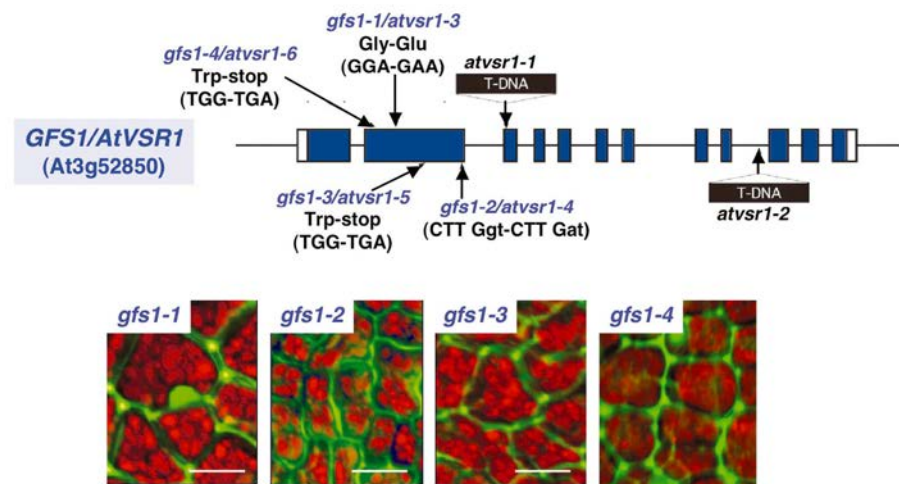


図 1 6. *GFS1/VSR1* は液胞選別輸送レセプターである。

Green-Fluorescent-Seed 法により、*vsr1* のアレルが 4 ライン取得された。これらのアレルの種子はいずれも GFP を細胞外に分泌していた。

GFS2/KAM2/GRV2 はエンドソーム形成に関わる

gfs2 変異体の種子は, *vsr1* や *mag1* などの変異体の種子と同様, 貯蔵タンパク質を細胞外に分泌していた (図 1 7 A). この変異の原因遺伝子は, 当研究室で細胞内膜系の維持機構に異常がある変異体 *katamari2* (*kam2*) の原因遺伝子と同じであった (Plant Cell, 2007b). 小胞体型 GFP を発現させたこの変異体の細胞では, 内膜系が細胞内でアグリゲートを形成し (図 1 7 B, C), 正常なエンドソームが形成できない. GFS2/KAM2 は, 既知のエンドソームやゴルジ体のマーカーとは局在は一致せず, 細胞内の未知のコンパートメントに局在していることが分かった (図 1 7 D).

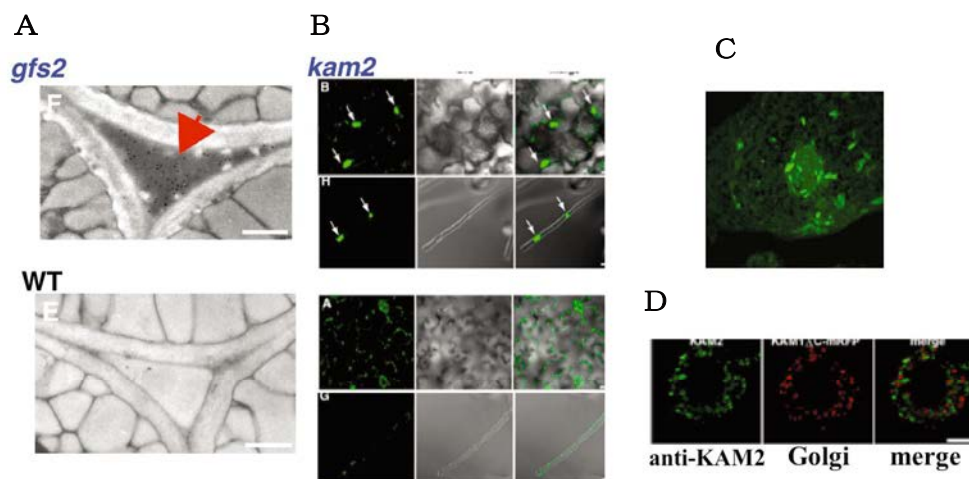


図 1 7. GFS2/KAM2/GRV2 は正常なエンドソーム形成に関与する.

gfs2/kam2/grv2 種子は貯蔵タンパク質を細胞外に分泌する (A). 栄養器官の細胞では, 細胞内膜系のアグリゲートを形成し (B), 正常なエンドソーム形成ができない (C). GFS2/KAM2/GRV2 は細胞内の未知のコンパートメントに局在する (D).

gfs2/kam2/grv2 は, 胚発生の段階にも異常が見られる. 変異体では約半数の種子で, 胚がトルペード期に達すると胚が逆向きに成長を始め, その結果, 約半数の種子の形が異常になる (図 1 8) (Plant Cell, 2007b). また, 重力屈性異常も示す.

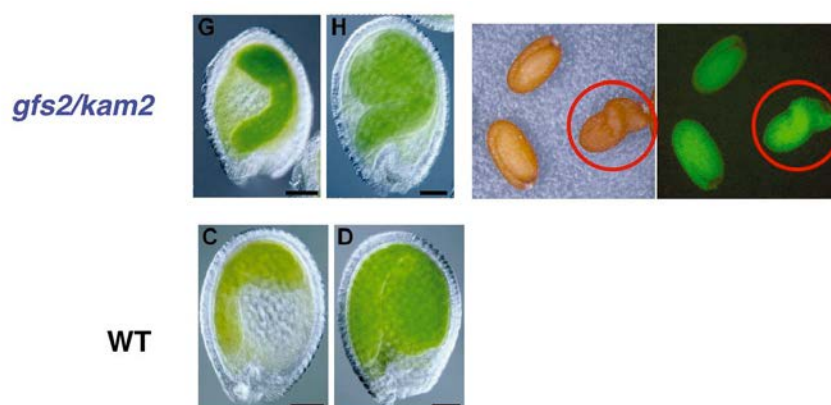


図 1 8. GFS2/KAM2/GRV2 は胚発生の過程での胚の成長軸形成に関与している.

gfs2/kam2/grv2 の約半数の種子では, 胚が逆向きに成長し, 種子の形態異常を引き起こす.

GFS10 は機能未知の膜タンパク質

gfs10 変異体の原因遺伝子産物は、10回膜貫通ドメインをもつ機能が不明なタンパク質であった (図19)。

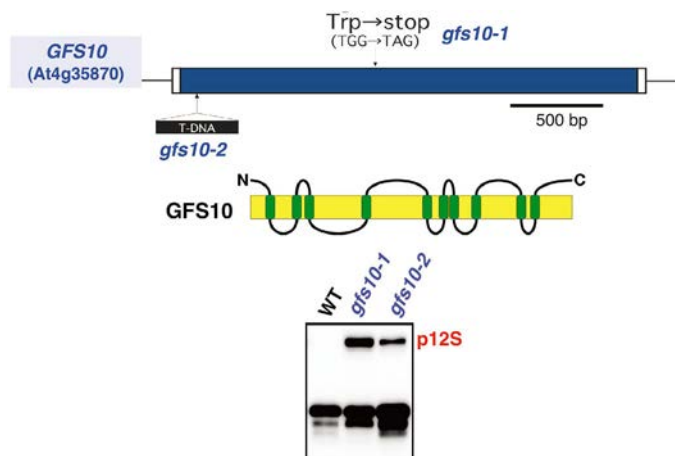


図19. GFS10 は機能未知の膜タンパク質.

(2) 研究成果の今後期待される効果

本課題研究を推進する過程で発案・確立した Green-Fluorescent-Seed 法は、タンパク質の選別輸送機構の研究を大いに加速させた。タンパク質の小胞輸送系については、酵母で研究が進んでいる。しかし、酵母では、機能を特化させた器官をもつ多細胞生物の生命現象を理解することはできない。有用機能遺伝子の単離には、多細胞の研究が必須である。この点も Green-Fluorescent-Seed 法は画期的な手法と言える。

現在までに獲得した約200ラインの変異体は、有用遺伝子のソースとして役立つものとする。現時点で研究の律速となっているのは変異体の原因遺伝子の単離である。シロイヌナズナでは、マップベースクローニングが活用されているが、時間と労力がかかりすぎる。多数の変異体の原因遺伝子を高速に単離する手法の開発が望まれる。

今後、原因遺伝子の同定が進めば、植物がもつ大量タンパク質の合成・集積システムを駆動している鍵となる因子やそれらが織りなす機構の全貌が明らかになる。この成果は、種子タンパク質に限らず、Plantibody (ワクチン) などを含む様々な外来の機能タンパク質を安定的に植物細胞に合成・蓄積させるための技術基盤を提供する。

また、これまでに得られた成果を、多葉田グループの大量発現系の確立に生かすことによって、様々な有用なタンパク質の大量合成が可能になる。

3. 2 質的向上を目指した研究（京都大学 西村グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

液胞プロセシング酵素

種子貯蔵タンパク質は，粗面小胞体でプロ型前駆体として合成され，上記の経路でタンパク質蓄積型液胞へ輸送された後に，プロペプチドの除去（プロセシング）により成熟型に変換される．ある種の貯蔵タンパク質はプロセシングにより不溶性の疑似結晶をつくり，狭いスペースにタンパク質を最大限詰め込むために役立っていると考えられている．様々な植物のいろいろな貯蔵タンパク質の切断部位を調べると，面白いことにアスパラギン残基の C 末側でプロセシングが起きていた．このことはプロセシング酵素がアスパラギンに基質特異性を示すプロテアーゼであることを示唆している．これまでに登熟ヒマ種子からプロセシングに関わる新規のシステインプロテアーゼを見出し，液胞プロセシング酵素（VPE）と命名した．VPE の系統樹を作成すると植物 VPE は 3 つのグループに分かれることが分かった（図 20）．

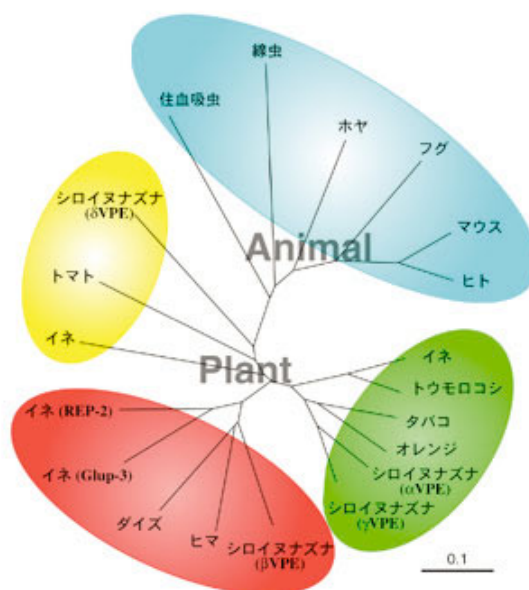


図 20. VPE ファミリーの分子系統樹.

植物の VPE は 3 つのグループに分かれる．シロイヌナズナのβVPE（赤グループ）は主に種子で，αVPE とγVPE（緑グループ）は主に栄養器官で，δVPE（黄グループ）は珠（種）皮で，それぞれ発現している．動物の VPE/legumain は一つのグループ（青）を形成している．細菌，酵母，ショウジョウバエには VPE は見つかっていない．

液胞プロセシング酵素の活性化機構

液胞の多くの機能タンパク質は、小胞体でプロ型前駆体として合成され、液胞へ運ばれた後に成熟型に変換する。VPE 自身も不活性なプロ型前駆体として小胞体で合成されて液胞へ輸送される。プロ型前駆体は、液胞の酸性条件下で、N 末端側のプロペプチドが除去され、次いで C 末端側のプロペプチドが除去された後、活性型酵素となる (図 2 1)。即ち、VPE 自身も不活性なプロ型前駆体として合成され液胞まで輸送され、液胞の酸性条件下で自己触媒的に成熟化し活性化することが明らかとなった。このことは VPE が液胞内のプロセシングカスケードの最上位に位置し、液胞内で働く機能分子の成熟化・活性化の鍵酵素として働くことをしめ示している。この機構を液胞プロセシング系と位置づけて下記の研究を進めた。

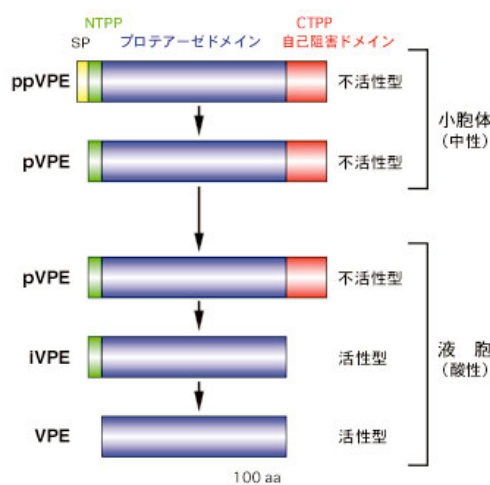


図 2 1. VPE の構造と活性化機構。

VPE は小胞体で不活性な前駆体として合成され、液胞に運ばれた後に、C 末端側のプロペプチド (CTPP) が自己触媒的に除去されて活性型に変換する。CTPP は自己阻害ドメインとして機能する。

動物・植物に共通のリソソーム・液胞プロセシング系

VPE は植物界だけでなく、ヒトから線虫や住血吸虫に至まで広く動物界にも存在する (図 2 0)。VPE を欠損しているノックアウトマウスを作製し、VPE の機能を解析したところ、腎臓の proximal tubule 細胞中のリソソームが肥大化し、内部に電子密度の高い物質や膜成分が含まれていることが観察された (J. Biol. Chem., 2003a)。これはリソソーム蓄積症に類似する形質である。細胞内外で不用になったものをリソソームで消化する際に、分解が阻害されることにより引き起こされているものと思われる。このノックアウトマウスではリソソームに局在するプロテアーゼであるカテプシン B, H, L のプロセシングが完全に阻害されていることが判明した。植物細胞の液胞と動物細胞のリソソームは機能的に相同なオルガネラである。進化的にかけ離れた生物群で共通のプロセシング機構が機能していることが明らかとなった。

植物の種子の液胞プロセッシング系：貯蔵タンパク質の成熟化機構

植物細胞の液胞中のプロセッシングの機構を明らかにするために、貯蔵タンパク質のプロセッシングに異常を示すシロイヌナズナ変異株のスクリーニングを行い、貯蔵タンパク質の前駆体を蓄積する変異株 6 ラインを得た。これらの変異株の原因遺伝子は、種子に特異的に発現する β VPE 遺伝子であった。

シロイヌナズナには 4 つの VPE ホモログが存在する。この内 3 種類の遺伝子 (α VPE, β VPE, γ VPE) について、1 重、2 重、3 重遺伝子破壊株を作製した。種子型 β VPE の欠損変異株の種子では、貯蔵タンパク質の前駆体の蓄積は見られたものの、一部の貯蔵タンパク質は正常にプロセスされていた (図 2 2)。 α VPE, β VPE, γ VPE の 3 種類の遺伝子をすべて破壊すると、種子タンパク質の成熟化が完全に阻害されることが明らかになった (図 2 3)。この成果は、3 つの VPE が協調して、貯蔵タンパク質のプロセッシングを行っていることを示している。VPE を鍵酵素とする液胞プロセッシング系は種子タンパク質の機能発現を制御していることが証明された (J. Biol. Chem., 2003b)。

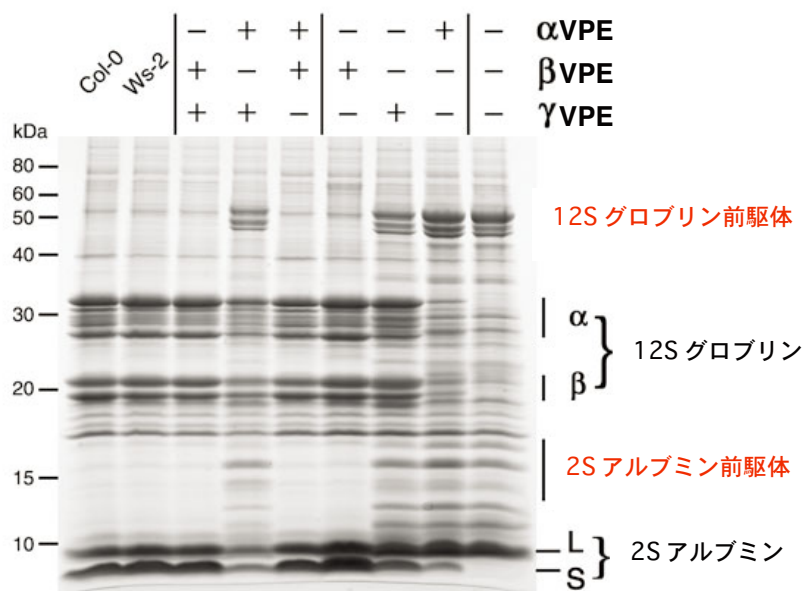


図 2 2. シロイヌナズナ VPE 欠損変異体の種子に蓄積している貯蔵タンパク質の分子形態。
シロイヌナズナの 3 種類の VPE 遺伝子 (α VPE, β VPE, γ VPE) の 1 重、2 重、3 重遺伝子欠損変異体を作製した。3 重変異体の種子は、主要貯蔵タンパク質 12S グロブリンと 2S アルブミンを前駆体として蓄積していた。

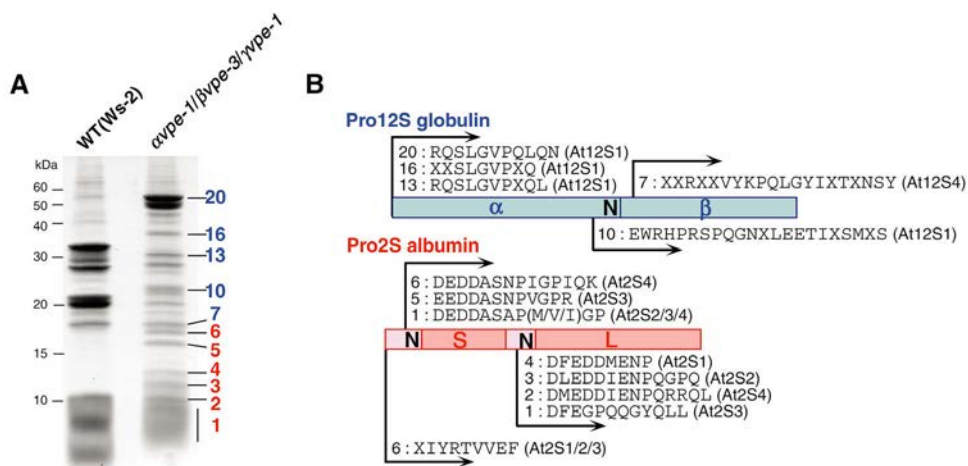


図 2 3. VPE の 3 重変異株における貯蔵タンパク質のプロセッシング不全.

(A) 野性型と VPE 3 重変異株の種子に蓄積されている貯蔵タンパク質の電気泳動パターン.

(B) VPE の 3 重変異株の種子貯蔵タンパク質の N 末端アミノ酸配列. この結果から, この変異体では種子タンパク質のプロセッシングが異常になっていることが分かる.

栄養器官の液胞プロセッシング系：ウィルス感染による過敏感細胞死の制御

マクロファージ系をもたない植物は, 独自の 방법으로病原体の攻撃から身を守っている. 感染を受けた細胞は急速に細胞死を起こすことで病原体を封じ込め, 抗菌性タンパク質などを蓄積して病原体の感染に抵抗する. 動物のプログラム細胞死では *caspase* と呼ばれる実行因子が知られている. 植物の細胞死にも動物と同じような分子機構が働くと思われてきたが, *caspase* に相当する遺伝子や *caspase* 活性をもつ酵素の同定は不成功のままであった. 私達はタバコモザイクウイルス (TMV) の感染によって誘導される過敏感細胞死の解析から, VPE が *caspase*-1 活性をもつ実体であることを示し, 過敏感細胞死を制御する酵素であることを明らかにした (Science, 2005) (図 2 4). この成果は, 植物のウィルス感染の防御に繋がるシステムの開発にも有効であるとされ, テレビや新聞で報道された.

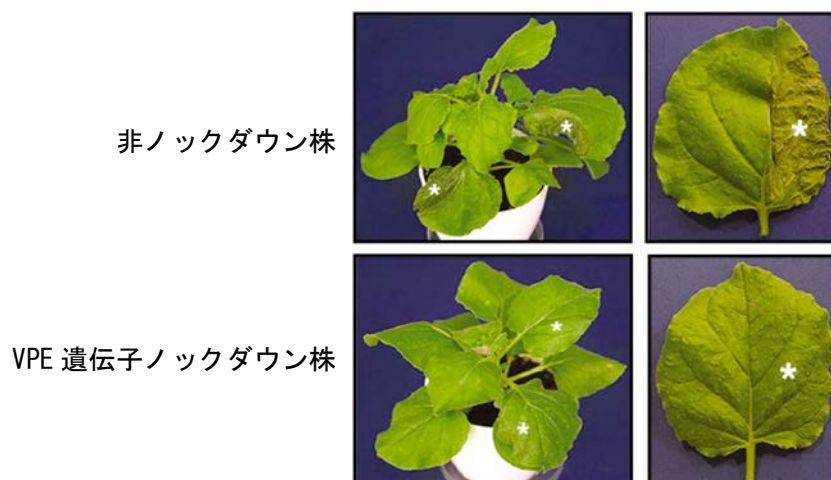


図 2 4. VPE 遺伝子をサイレンシングした葉ではウィルス感染による過敏感細胞死が抑制される

栄養器官の液胞プロセッシング系：カビ毒による罹病性細胞死の制御

シロイヌナズナの葉にフザリウム毒素を与えると、罹病性の病斑が形成され細胞死が起こる。しかし、シロイヌナズナの4つのVPE遺伝子の全てをノックアウトした null 変異体の葉では、この罹病性の細胞死が抑制される（図25）（J. Biol. Chem., 2005）。この細胞死は液胞の崩壊によって引き起こされる。VPEの null 変異体では、この液胞膜の崩壊が見られないことから、VPEは液胞膜の崩壊に関与することが分かった（図26）。即ち、VPEは液胞崩壊型細胞死を制御していると考えられる。

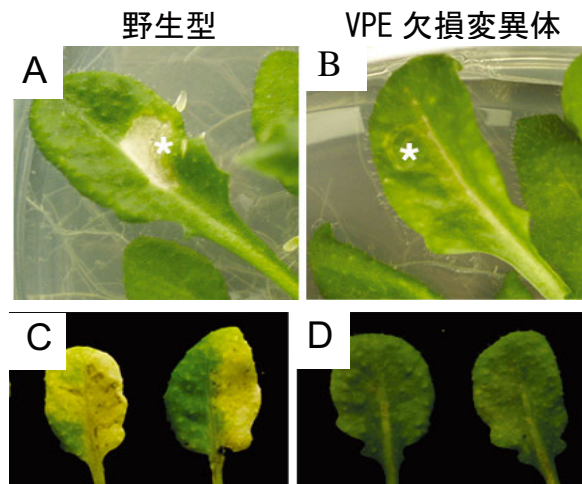


図25. 栄養器官型VPEはカビ毒による細胞死を制御している。
シロイヌナズナの葉をフザリウムの毒素フモニシン（FB1）で処理すると細胞死が起こる（野生型；A,C）。VPE欠損変異体では、この細胞死が抑制される（VPE欠損株；B,D）。＊，FB1処理部位。

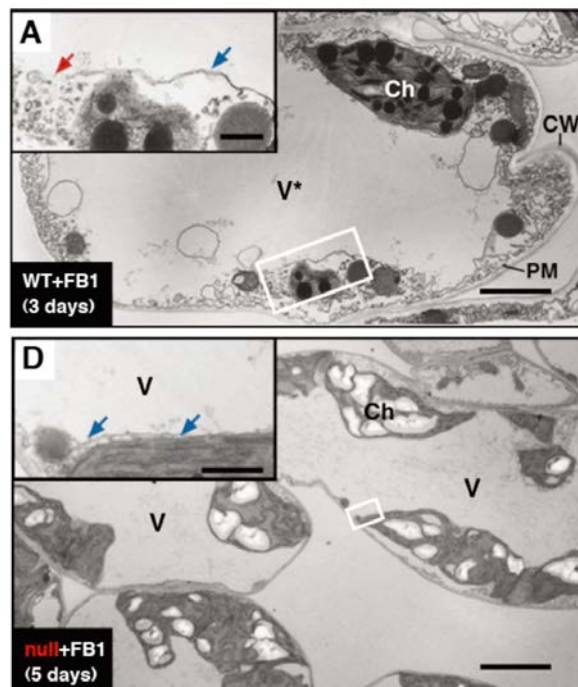


図26. VPE null 変異体では液胞崩壊型細胞死が抑制されている。
野生型シロイヌナズナの葉にカビ毒接種後3日目の細胞の電子顕微鏡像。液胞の膜が破壊されていることがわかる（A）。一方、VPE null 変異体では液胞の崩壊は見られない（D）。

珠皮の液胞プロセッシング系：植物の発生の過程における細胞死

シロイヌナズナの新規 VPE (δ VPE)の発現解析と逆遺伝学的解析を行い、VPE が植物の発生過程のプログラム細胞死に関与していることを示した (Plant Cell, 2005). δ VPE はシロイヌナズナの胚発生の初期に珠皮を構成している細胞層の内、内珠皮の 2 つの細胞層に特異的に発現していた. δ VPE 遺伝子のプロモータにレポーター遺伝子を繋いだキメラ遺伝子を発現させた形質転換シロイヌナズナの解析により、 δ VPE 遺伝子のプロモータが胚発生の初期の珠皮に限定的に発現することが明らかになった.

植物は胚発生の過程で胚を守るための種皮を形成する. この種皮形成は、珠皮のプログラム細胞死を伴うことが分かった. δ VPE 遺伝子欠損株ではこの細胞死が極端に遅延していた (図 2 7, 図 2 8). この成果は、VPE が生体防御のための細胞死のみならず、植物の発生の過程のプログラム細胞死にも実行因子として関与していることを示している.

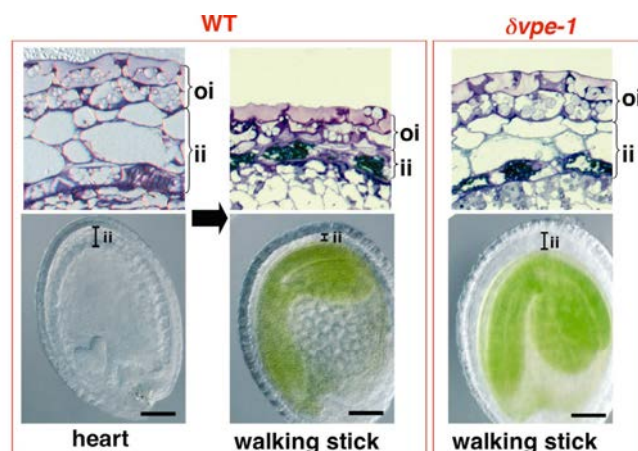


図 2 7. 野生型シロイヌナズナと δ VPE 遺伝子欠損変異体の未熟種子.

野生型の種子では、胚発生の過程で内珠皮の細胞層 (ii) でプログラム細胞死が起こり、細胞層は薄くなる (左). δ VPE 遺伝子を欠損している変異体では細胞死が遅れるため、胚発生が進行しても細胞層は厚い状態を保っている.

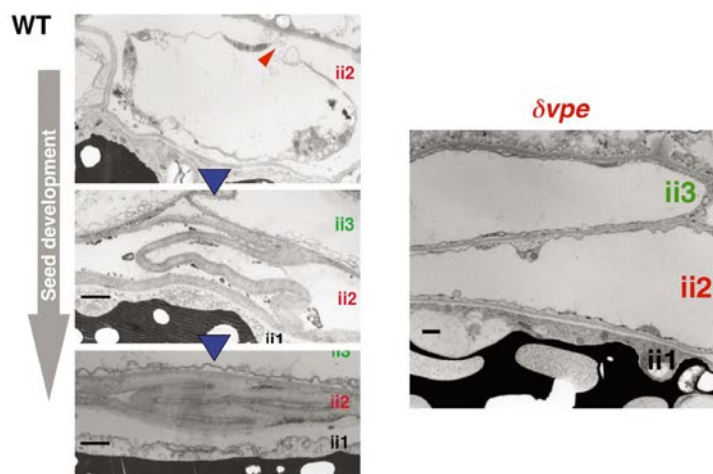


図 2 8. δ VPE は胚発生の過程の珠皮の細胞死における液胞膜の崩壊に関与する.

野生型の種子では、胚発生の過程で内珠皮の細胞内の液胞が崩壊し、細胞が死に至るが、 δ VPE 遺伝子欠損変異体では液胞膜の崩壊は見られない.

(2) 研究成果の今後期待される効果

質的向上を目指す研究では、シロイヌナズナの3種類のVPE遺伝子を破壊すると、種子タンパク質の成熟化が完全に阻害されることなどから、VPEを鍵酵素とする液胞プロセシング系はリソソーム・液胞におけるタンパク質の機能発現を制御していることが分かった。残された課題としてはプログラム細胞死におけるVPEの標的タンパク質同定がある。これによって、液胞プロセシング系の多様な高次機能の解明に繋がる。

今後の期待として、VPEの発現抑制によって、種子や栄養器官の持つ有害物質を無毒化のシステムの構築に生かすことができると考えられる。これまでの研究から、種子のトリプシンインヒビターの成熟化と活性化にVPEが働いていることが分かっている。VPEの働きを抑えることで、このような植物がもち人体に害を及ぼす物質の無毒化が可能になる。非常に多岐にわたるアレルギー物質も対象になりうる。液胞プロセシング系の人為的な制御による改変は、食品の栄養価を保ちながら、複数の貯蔵物質の構造の変化を引き起こすことが最大の特徴である。低アレルゲン化食品の創出が期待できる。

3. 3 培養細胞系による有用タンパク質の大量生産の研究

(北海道三井化学株式会社 多葉田グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

植物培養細胞を用いて有用タンパク質を効率よく大量生産する系の確立では、植物細胞を短期により高い増殖倍率が達成できる条件下において培養しマスを確保する工程と、大量に増殖した細胞に対し形質転換したタンパク質の生産誘導を行う工程を組み合わせることで、高い有用タンパク質生産性を実現することが可能になると考えられる。これまで数多くの植物種について細胞培養系が確立され主に有用二次代謝産物の生産検討が行われてきた。中でもタバコ培養細胞 BY-2 (*Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow-2) 株は、他の植物培養細胞株に比べて高い細胞増殖性を示すことが知られており、また形質転換方法も確立していることから有用タンパク質生産系構築における宿主形質転換細胞として最適と考えられる。本研究においては、森正之准教授(石川県立大)らによって構築された形質転換タバコ培養細胞 BY-2 E182 株および E113 株(共に転写因子発現用 DNA 断片(ベクター pER8 (-Stu)) および GFP 発現用 DNA 断片(ウイルスベクター pBICER8-ToMV-VerG3 (SF3) SRz) 導入)を分与頂き、これらを用いて有用タンパク質の大量生産系構築を目的とした形質転換細胞株の比較および安定した通気攪拌培養実施に必要な初期細胞移植密度の設定について検討した。

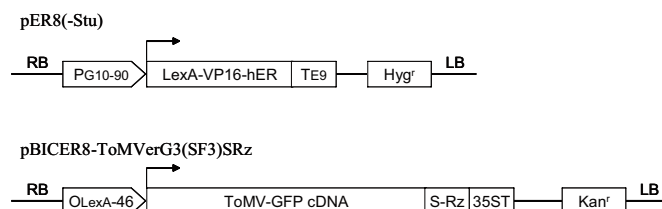


図29. 転写因子発現用 DNA 断片：ベクター pER8 (-Stu) および GFP 発現用 DNA 断片：ウイルスベクター pBICER8-ToMV-VerG3 (SF3) SRz

通常、タバコ BY-2 非形質転換株の継代は、培養 7 日目の培養物をピペッティングによりよく懸濁し、その内 1mL を新鮮な改変 LS 培地 95mL 入りフラスコに移植することにより行われる。しかしながらこの方法では、継代時の細胞を均一にすることが重要であり、スケールアップにおける培養タンク内での細胞を均一にしてその一部を取り出すことは非常に困難である。この工程を液量ベースで行った場合、初期細胞密度にずれを生じやすく、これが細胞増殖性のバラツキの原因になりうる。即ち初期細胞移植密度が低い場合には、培養 7 日目ではまだ安定期より前の状態で十分な細胞収量が得られず、また一方で初期細胞移植密度が高い場合には、培養 7 日目では既に安定期に入ってから時間が長くなり、次のより大きいスケールでの培養時に細胞増殖性の低下などの影響を受けることになる。従って、形質転換タバコ培養細胞株ごとに細胞の増殖性を把握し、移植量を決定することは大量培養において非常に重要である。

E182 株および E113 株について、継代培養期間を 7 日間と設定し、新鮮培地量 95mL に対する移植細胞密度を変化させて、安定して継代培養できる移植量について検討した結果、E182 株では 1.2mL、E113 株では 1.6mL であった。それぞれ移植した培養液量をマイクロチューブに採り、低速度で遠心分離機にかけて細胞を沈降させ、ピペッティングで培養液を十分に除去した後新鮮細胞重量を測定した結果、それぞれの液量中に含まれる細胞重量は 0.34g (E182 株)、0.31g (E113 株) であった。つまり初期細胞移植密度は 3.5gFW/L、3.2gFW/L と算出できる。また、7 日間培養後の細胞収量は 280 g FW/L (E182 株)、190 g FW/L (E113 株) であったことから、細胞増殖倍率は 80 倍 (E182 株)、59 倍 (E113 株) となり、細胞増殖性の観点からは E182 株の方が有用タンパク質の効率的生産に適しているものと判断できる。

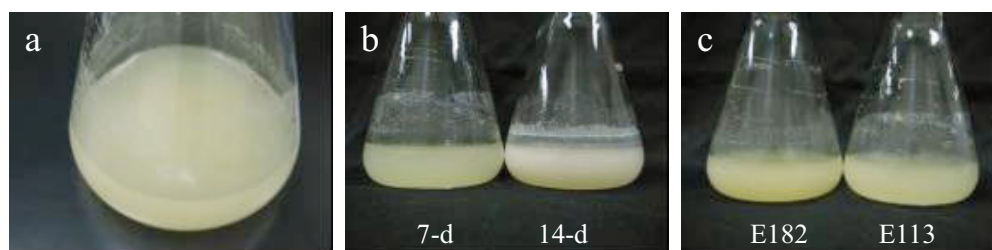


図 3.0. a: E182 株-培養 7 日後の培養物, b: E182 株-培養 7 日目および 14 日目の培養物の比較, c: E182 株-培養 7 日目および E113 株-培養 7 日目の培養物の比較

決定した初期細胞移植密度を元に 1 L スケールの通気攪拌培養を実施した。あらかじめオートクレーブ滅菌した培養器中に、1 L 新鮮培地およびろ過して得た生細胞 3.4g を無菌的に接種し、50-60mL/min の通気量で air を供給し、43rpm/min で攪拌ながら、25°C、暗所で培養を行った (図 3.1 a)。培養 24 時間後においても特に大きな発泡は認められなかったが (図 3.1 b)、48 時間目には若干発泡が大きくなる傾向が認められた (図 3.1 c)。培養 2 日目に 10 μ M β -estradiol を添加することにより GFP 生産誘導を行い、更に培養終了までの 3 日 (培養開始から 5 日後) においても培養に支障をきたす程の発泡は認められなかった (図 3.1 d, e)。

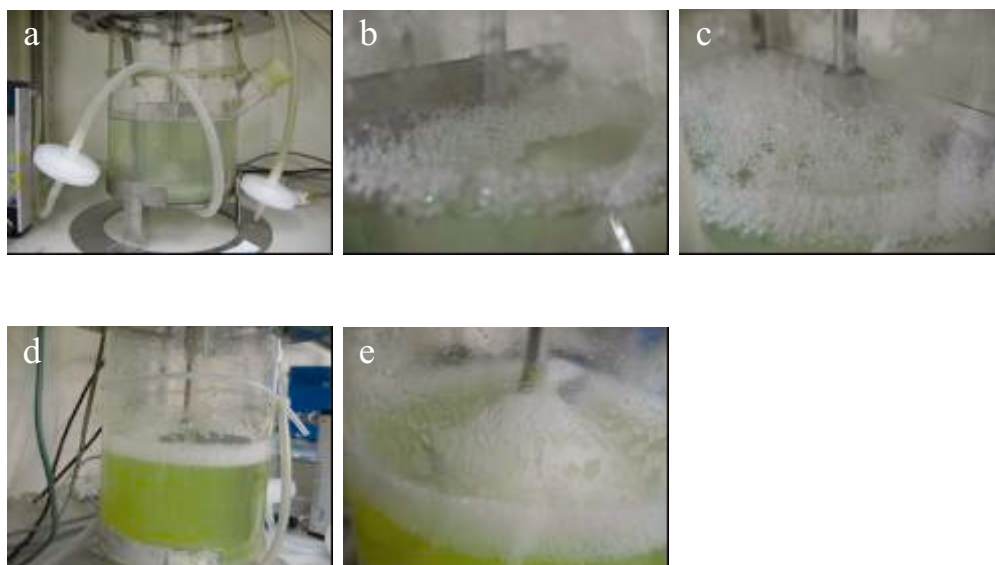


図 3 1. a: 培養開始時の E182 株通気攪拌培養 b: 培養 24 時間後における培養液面の発泡性
c: 培養 48 時間後における培養液面の発泡性 d, e: β -estradiol 添加誘導後 3 日目の通気攪拌
培養および培養液面の発泡性.

培養 2 日目に $10\mu\text{M}$ β -estradiol を添加することにより GFP 生産誘導を行い、更に 3 日間培養した後（培養開始から 5 日後）、細胞を回収し、蛍光実体顕微鏡（MZFLIII, Leica 製）を用いて GFP 由来の蛍光を観察した。 β -estradiol による誘導を行うことにより GFP に由来する緑色蛍光が認められた（図 a）。一方、 β -estradiol による誘導を行わない場合には GFP に由来する緑色蛍光は認められなかった。以上の結果から、本システムは通気攪拌培養においても問題なく作動して有用タンパク質を生産できることを確認した。



図 3 2. a: β -estradiol 誘導 E182 株の緑色蛍光画像 b: β -estradiol 誘導 E182 株の明視野画像.

(2)研究成果の今後期待される効果

植物細胞を用いた有用タンパク質生産は動物細胞を用いた場合に比べて、感染源となる物質の混入リスクが無いことや、生産されたタンパク質への糖鎖付加機能を有すること、そして製造コストの面においても動物細胞を用いる場合より遥に有利であると試算されていることから近年非常に注目されている。これまでにヒト由来のサイトカインや抗体をはじめとする様々な有用タンパク質を、主にタバコ培養細胞を宿主として生産させる試みがなされてきており、その方法としては形質転換植物（細胞）を用いる方法とウイルスベクターを植物に感染させる方法の2種がある。前者は大規模化に適するものの目的とするタンパク質の生産効率が著しく低いことが欠点となっている。一方、後者の方が目的とするタンパク質の生産効率は高いが、ウイルスの外界への飛散等が問題となっている。本研究で用いた形質転換タバコ培養細胞 E182 株および E113 株は、その取得の際に転写因子をコードする遺伝子が、その最も発現に適した染色体上の位置に組み込まれることにより転写因子を安定的に高生産する形質転換体をまず作出し、得られた形質転換体に GFP をコードする遺伝子が挿入されたウイルスベクターを導入することにより、高効率でウイルスベクターを発現誘導し GFP を高発現する形質転換体として得られたものである。また、ウイルスベクターにおいて GFP をコードする遺伝子はウイルスの外皮タンパク質をコードする遺伝子と置換されていることから、ウイルスの外皮タンパク質は生産されず、増幅されるウイルス遺伝子は粒子化されないため他の植物に感染することはない。本システムはフラスコレベルでの培養において正常に作動することは確認されているが、環境の異なる通気攪拌培養において期待どおりに作動するかどうかは確認されていなかった。

これまでの植物細胞培養による二次代謝産物生産研究において、フラスコを用いた旋回培養から通気攪拌培養への移行時には通気や攪拌方法、発泡性などが大きく異なることから、細胞の増殖性や二次代謝産物の生産性に影響が認められることが多い。しかしながら 1 L スケールではあるが通気攪拌培養において本システムが問題なく作動し、有用タンパク質を生産できることを確認できたことから、ここで得られた基本情報を元に通気攪拌培養におけるスケールアップへの適用が可能と考えられる。今後の研究としてはコスト低減のための細胞密度最適化やそれに伴う生産誘導の最適化、GFP をコードする遺伝子から有用タンパク質をコードする遺伝子に置換したシステムでの作動確認を行い、スケールアップ検討を実施する必要がある。本研究結果から、植物細胞を用いたサイトカインや抗体などの有用タンパク質を安価で供給することができる可能性が極めて高くなり、しかも本方法はヒトに対する感染源の混入可能性を排除し、かつ環境に対する封じ込めもなされた画期的な有用タンパク質生産方法であることから、将来の実用化に向けたハードルを一つ越えたと言える成果である。

国内のバイオ医薬市場は 4320 億円('06)、2016 年には 7605 億円に達し、年平均 6% の成長率で市場が拡大するものと予測されている。この内抗体医薬は年平均 36% で成長し 799 億円 ('06)、2016 年には 2500 億円に達するものと予測されている。抗体医薬をはじめとするバイオ医薬市場の拡大に、より安全で安価な植物細胞によるタンパク質製造技術が貢献できるものと確信する。この他、植物細胞による安価なタンパク質製造技術は診断用医薬市場も対象市場として挙げることができる。このように本技術の産業上の波及効果は非常に大きなものであると予測される。

4 研究参加者

①西村グループ（種子タンパク質の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
西村いくこ	京都大学大学院理学研究科	教授	全般	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
嶋田 知生	京都大学大学院理学研究科	助教	量的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
深尾陽一郎	京都大学大学院理学研究科	CREST 研究員	量的向上の解析	平成 15 年 4 月～ 平成 16 年 3 月
田村謙太郎	京都大学大学院理学研究科	CREST 研究員 / 助教	量的向上の解析	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 2 月 / 平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
渡辺悦子	京都大学大学院理学研究科	CREST 研究員	量的向上の解析	平成 16 年 5 月～ 平成 17 年 3 月
嶋田（河本） 恭子	京都大学大学院理学研究科	CREST 技術員 / 研究補助員	量的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 18 年 3 月 / 平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
吉浦（黒柳） 美和	京都大学大学院理学研究科	CREST 研究員	質的向上の解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
高橋英之	京都大学大学院理学研究科	CREST 研究員	量的向上の解析	平成 17 年 1 月～ 平成 17 年 3 月 平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
初谷紀幸	総合研究大学院大学	博士課程学生 / 研究補助員	質的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 16 年 3 月 / 平成 16 年 4 月～ 平成 16 年 9 月
富士健太郎	京都大学大学院理学研究科	博士課程学生	量的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 19 年 3 月
中畦悟	京都大学大学院理学研究科	博士課程学生	質的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 19 年 3 月
李立新	京都大学大学院理学研究科	D3	量的向上の解析	平成 15 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
山崎美紗子	京都大学大学院理学研究科	D3	量的向上の解析	平成 15 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
前川晃徳	京都大学大学院理学研究科	D3	量的向上の解析	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
國枝正	京都大学大学院理学研究科	D3	質的向上の解析	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
永野惇	京都大学大学院理学研究科	D2	量的向上の解析	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 3 月

白川一	京都大学大学院理学研究科	D2	量的向上の解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
高橋健太郎	京都大学大学院理学研究科	D1	質的向上の解析	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
西山千晶	京都大学大学院理学研究科	修士課程 学生	量的向上の解析	平成 16 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
島田貴士	京都大学大学院理学研究科	M2	量的向上の解析	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
Jeeraporn Kansup	京都大学大学院理学研究科	M2	質的向上の解析	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
今井悠	京都大学大学院理学研究科	M2	量的向上の解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
岩崎慎治	京都大学大学院理学研究科	M2	質的向上の解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
中野亮平	京都大学大学院理学研究科	M1	量的向上の解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
運天修	京都大学大学院理学研究科	M1	質的向上の解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
橋詰祥子	京都大学大学院理学研究科	M1	量的向上の解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
岡本圭史	京都大学大学院理学研究科	学部学生	量的向上の解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
菅野茂夫	京都大学大学院理学研究科	学部学生	量的向上の解析	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
松島良	京都大学大学院理学研究科	博士課程 学生	量的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 15 年 3 月
林博士	京都大学大学院理学研究科	博士課程 学生	量的向上の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 18 年 3 月
長野稔	京都大学大学院理学研究科	学部学生	量的向上の解析	平成 16 年 4 月～ 平成 17 年 3 月

②多葉田グループ（培養細胞系を用いた有用タンパク質の大量生産の研究）

氏 名	所 属	役 職	研究項目	参加時期
多葉田 誉	北海道三井化学株式会社 植物機能センター	主席研究員	全般	平成 19 年 7 月～ 平成 20 年 3 月
加藤 嘉博	北海道三井化学株式会社 植物機能センター	主席研究員	全般	平成 19 年 7 月～ 平成 20 年 3 月

5 招聘した研究者等

氏 名（所属、役職）	招聘の目的	滞在先	滞在期間
Dr. Inhwon Hwang （Pohang University of Science and Technology, 助教授）	基礎生物学研究所との共催シンポジウム「Dynamic Vacuoles in Plants」での講演	愛知県岡崎市	H15 年 11 月 24 日 ～ H15 年 11 月 28 日まで
Dr. Alessandro Vitale （University of Milano, 教授）	基礎生物学研究所との共催シンポジウム「Dynamic Vacuoles in Plants」での講演	愛知県岡崎市	H15 年 11 月 22 日 ～ H15 年 11 月 28 日まで

(1) 原著論文発表 (国内誌 0 件、国際誌 39 件)

- Watanabe, E., Shimada, T., Kuroyanagi, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2002). Calcium-mediated association of a putative vacuolar sorting receptor PV72 with a propeptide of 2S albumin. **J. Biol. Chem.** 277, 8708-8715.
- Matsushima, R., Hayashi, Y., Kondo, M., Shimada, T., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2002). An endoplasmic reticulum-derived structure that is induced under stress conditions in *Arabidopsis*. **Plant Physiol.** 130, 1807-1814.
- Kuroyanagi, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2002). Activation of Arabidopsis vacuolar processing enzyme by self-catalytic removal of an auto-inhibitory domain of the C-terminal propeptide. **Plant Cell Physiol.** 43, 143-151.
- Shimada, T., Watanabe, E., Tamura, K., Hayashi, Y., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2002). A vacuolar sorting receptor PV72 on the membrane of vesicles that accumulate precursors of seed storage proteins (PAC vesicles). **Plant Cell Physiol.** 43, 1086-1095.
- Hayashi, H., Bellis, L. D., Kato, A., Hayashi, Y., Nito, K., Hayashi, M., Hara-Nishimura, I. and Nishimura, M. (2002). Molecular characterization of an Arabidopsis acyl CoA synthetase localized on glyoxysomal membranes. **Plant Physiol.** 13, 2019-2026.
- Kimura, Y., Matsuo, S., Tsurusaki, S., Kimura, M., Hara-Nishimura, I. and Nishimura, M. (2002). Subcellular localization of endo-beta-N-acetylglucosaminidase and high-mannose type free N-glycans in plant cell. **Biochim. Biophys. Acta.** 1570, 38-46.
- Shimada, T., Fuji, K., Tamura, K., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2003). Vacuolar sorting receptor for seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 100, 16095-16100.
- Shimada, T., Yamada, K., Kataoka, M., Nakaune, S., Koumoto, Y., Kuroyanagi, M., Tabata, S., Kato, T., Shinozaki, K., Seki, M., Kobayashi, M., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2003). Vacuolar processing enzymes are essential for proper processing of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **J. Biol. Chem.** 278, 32292-32299.
- Shirahama-Noda, K., Yamamoto, A., Sugihara, K., Hashimoto, N., Asano, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2003). Biosynthetic processing of cathepsins and lysosomal degradation are abolished in asparaginyl endopeptidase-deficient mice. **J. Biol. Chem.** 278, 33194-33199.
- Matsushima, R., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2003). A novel ER-derived compartment, the ER body, selectively accumulates a b-glucosidase with an ER retention signal in *Arabidopsis*. **Plant J.** 33, 493-502.
- Tamura, K., Shimada, T., Ono, E., Tanaka, Y., Nagatani, A., Higashi, S., Watanabe, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2003). Why green fluorescent fusion proteins have not been observed in the vacuoles of higher plants. **Plant J.** 35, 545-555.
- Matsushima, R., Hayashi, Y., Yamada, K., Shimada, T., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2003). The ER body, a novel endoplasmic reticulum-derived structure in *Arabidopsis*. **Plant Cell Physiol.** 44, 661-666.
- Okamoto, T., Shimada, T., Hara-Nishimura, I., Nishimura, M. and Minamikawa, T. (2003). C-terminal KDEL sequence of a KDEL-tailed cysteine proteinase (sulfhydryl-endopeptidase) is involved in formation of KDEL vesicle and in efficient vacuolar transport of sulfhydryl-

- endopeptidase. **Plant Physiol.** 132, 1892-1900.
- Fukao, Y., Hara-Nishimura, I. and Nishimura, M. (2003). Novel peroxisomal protein kinase, PPK1, identified by proteomic analysis of glyoxysomes in etiolated cotyledons of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 44, 689-696.
- Yamamoto, Y., Nishimura, M., Hara-Nishimura, I. and Noguchi, T. (2003). Behavior of vacuoles during microspore and pollen development in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 44, 1192-1201.
- Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Yamada, K., Meshi, T., Tsuda, S., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2004). A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus-induced hypersensitive cell death. **Science** 305, 855-858.
- Matsushima, R., Fukao, Y., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2004). *NAIL* gene that encodes a basic-helix-loop-helix-type putative transcription factor that regulates the formation of a novel ER-derived structure, the ER body. **Plant Cell** 16, 1536-1549.
- Tamura, K., Yamada, K., Shimada, T. and Hara-Nishimura, I. (2004). Endoplasmic reticulum-resident proteins are constitutively transported to vacuoles for degradation. **Plant J.** 39, 393-402.
- Watanabe, E., Shimada, T., Tamura, K., Matsushima, R., Koumoto, Y., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2004). An ER-localized form of PV72, a seed-specific vacuolar sorting receptor, interferes the transport of an NPIR-containing proteinase in *Arabidopsis* leaves. **Plant Cell Physiol.** 45, 9-17.
- Yamada, K., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2004). The slow wound-response of *gVPE* is regulated by endogenous salicylic acid in *Arabidopsis*. **Planta** 218, 599-605.
- Shimaoka, T., Ohnishi, M., Sazuka, T., Mitsunashi, N., Hara-Nishimura, I., Shimazaki, K., Maeshima, M., Yokota, A., Tomizawa, K. and Mimura, T. (2004). Isolation of intact vacuoles and proteomic analysis of tonoplast from suspension-cultured cells of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 45, 672-683.
- Zeeuwen, P. L. J. M., Vlijmen-Willems, I. M. J. J. v., Olthuis, D., Johansen, H. T., Hitomi, K., Hara-Nishimura, I., Powers, J. C., James, K. E., Camp, H. J. o. d., Lemmens, R. and Schalkwijk, J. (2004). Identification of legumain and cystatin M/E as a functional dyad in skin: Evidence for a role in stratum corneum and skin barrier formation. **Human Mol. Gene.** 13, 1069-10079.
- Nakaune, S., Yamada, K., Kondo, M., Kato, T., Tabata, S., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2005). A vacuolar processing enzyme, dVPE, is involved in seed coat formation at the early stage of seed development. **Plant Cell** 17, 876-887.
- Tamura, K., Shimada, T., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2005). KATAMARI1/MUR3 is a novel Golgi membrane protein that is required for endomembrane organization in *Arabidopsis*. **Plant Cell** 17, 1764-1776.
- Kuroyanagi, M., Yamada, K., Hatsugai, N., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2005). Vacuolar Processing enzyme is essential for mycotoxin-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. **J. Biol. Chem.** 280, 32914-32920.
- Yamada, K., Fuji, K., Shimada, T., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2005). Endosomal proteases facilitate the fusion of endosomes with vacuoles at the final step of the endocytotic pathway. **Plant J.** 41, 888-898.
- Nagano, J. A., Matsushima, R. and Hara-Nishimura, I. (2005). Activation of an ER-body-

- localized b-glucosidase via a cytosolic binding partner in damaged tissues of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 46, 1140-1148.
- Maehr, R., Hang, H. C., Mintern, J. D., Kim, Y.-M., Culvillier, A., Nishimura, M., Yamada, K., Shiramama-Noda, K., Hara-Nishimura, I. and Ploegh, H. L. (2005). Asparagine endopeptidase is not essential for class II MHC antigen presentation but is required for processing of cathepsin L in mice. **J. Immunol.** 174, 7066-7074.
- Ohtomo, I., Ueda, H., Shimada, T., Nishiyama, C., Koumoto, Y., Hara-Nishimura, I. and Takahashi, T. (2005). Identification of an allele of *VAM3/SYP22* that confers a semi-dwarf phenotype in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol.** 46, 1358-1365.
- Li, L., Shimada, T., Takahashi, H., Ueda, H., Fukao, Y., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006). MAIGO2 is involved in exit of seed storage proteins from the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell** 18, 3535-3547.
- Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006). A cellular suicide strategy of plants: vacuole-mediated cell death. **Apoptosis** 11, 905-911.
- Shimada, T., Koumoto, Y., Li, L., Yamazaki, M., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006). AtVPS29, a putative component of a retromer complex, is required for the efficient sorting of seed storage proteins. **Plant Cell Physiol.** 47, 1187-1194.
- Ueda, H., Nishiyama, C., Shimada, T., Koumoto, Y., Hayashi, Y., Kondo, M., Takahashi, T., Ohtomo, I., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006). AtVAM3 is required for normal specification of idioblasts, myrosin cells. **Plant Cell Physiol.** 47, 164-175.
- Kong, S., Suzuki, T., Tamura, K., Mochizuki, N., Hara-Nishimura, I. and Nagatani, A. (2006). Blue light-dependent translocation of phototropin2 to the Golgi apparatus. **Plant J.** 45, 994-1005.
- Terauchi, K., Asakura, T., Ueda, H., Tamura, T., Tamura, K., Matsumoto, I., Misaka, T., Hara-Nishimura, I. and Abe, K. (2006). Plant-specific insertions in the soybean aspartic proteinases, soyAP1 and soyAP2, perform different functions of vacuolar targeting. **J. Plant Physiol.** 163, 856-862.
- Fuji, K., Shimada, T., Takahashi, H., Koumoto, Y., Utsumi, S., Nishizawa, K., Maruyama, N. and Hara-Nishimura, I. (2007). *Arabidopsis* vacuolar-sorting mutants (*green-fluorescent seed*) can be identified efficiently by secretion of vacuole-targeted green-fluorescent protein in their seeds. **Plant Cell** 19, 597-609.
- Tamura, K., Takahashi, H., Kunieda, T., Fuji, K., Shimada, T. and Hara-Nishimura, I. (2007). *Arabidopsis* KAM2/GRV2 Is required for proper endosome formation and functions in vacuolar sorting and determination of the embryo growth axis. **Plant Cell** 19, 320-332.
- Saska, I., Gillon, A. D., Hatsugai, N., Dietzgen, R. G., Hara-Nishimura, I., Anderson, M. A. and Craik, D. J. (2007). An asparaginyl endopeptidase mediates in vivo protein backbone cyclization. **J. Biol. Chem.**, 29721-29728.
- Morita, Y., Araki, H., Sugimoto, T., Takeuchi, K., Yamane, T., Maeda, T., Yamamoto, Y., Nishi, K., Asano, M., Shirahama-Noda, K., Nishimura, M., Uzu, T., Hara-Nishimura, I., Koya, D., Kashiwagi, A. and Ohkubo, I. (2007). Legumain/asparaginyl endopeptidase controls extracellular matrix remodeling through the degradation of fibronectin in mouse renal proximal tubular cells. **FEBS Lett.** 581, 1417-1424.

(2) その他の著作物（総説，書籍など）

・ 英文総説

- Hara-Nishimura, I. and Matsushima, R. (2003). A wound-inducible organelle derived from endoplasmic reticulum: a plant strategy against environmental stresses? **Curr. Opinion Plant Biol.** 6, 583-588.
- Hara-Nishimura, I., Matsushima, R., Shimada, T. and Nishimura, M. (2003). Diversity and formation of endoplasmic reticulum-derived compartments in plants: Are these compartments specific to plant cells? **Plant Physiol., Update on Focus Issue**, 136, 3435-3439.
- Hara-Nishimura, I.: Plant legumain, asparaginyl endopeptidase. In **Handbook of Proteolytic Enzymes**, edited by A. J. Barrett, N. D. Rawlings and J. F. Woessner (Academic Press, London, UK, 2004) pp. 1310-1313.
- Hara-Nishimura, I., Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Nakaune, S. and Nishimura, M. (2005). Vacuolar processing enzyme: an executor of plant cell death. **Curr. Opinon Plant Biol.** 8, 404-408.
- Yamada, K., Shimada, T., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2005). A VPE family supporting various vacuolar functions in plants. **Physiol. Plant., Special Issue**, 123, 369-375.
- Kuroyanagi, M., Hara-Nishimura, I., Hatsugai, N. and Nishimura, M. (2006). Vacuolar processing enzyme, a key molecule in both pathogen-induced and phytotoxin-induced cell death in higher plants. **Mol. Plant Microbe Interaction.**, Vol. 5, pp. 208-214.
- Hara-Nishimura, I., Matsushima, R., Shimada, T. and Nishimura, M. Induction of ER-derived compartments from the ER. In **The Plant Endoplasmic Reticulum** Ed. By D. Robinson (Springer Verlag, 2006), pp. 141-154.

・ 和文総説など

- 嶋田知生，西村いくこ：液胞．**現代植物生理学講座 1 「植物細胞」**，西村幹夫編（朝倉書店，東京，2002 年）pp. 87-96.
- 西村いくこ：図解 植物細胞の内膜系の多様性・ダイナミクス．細胞工学別冊，**植物細胞工学シリーズ 1 7 「植物オルガネラの分化と多様性・細胞内の輸送系から高次機能へ」** 西村いくこ，中野明彦，佐藤直樹監修（秀潤社，東京，2002 年）pp. 9-17.
- 嶋田知生，西村いくこ：液胞輸送経路の多様性を支える小胞体由来のコンパートメントの分化．細胞工学別冊，**植物細胞工学シリーズ 1 7 「植物オルガネラの分化と多様性・細胞内の輸送系から高次機能へ」** 西村いくこ，中野明彦，佐藤直樹監修（秀潤社，東京，2002 年）pp. 34-41.
- 西村いくこ：高等植物の液胞と細胞内膜系の機能分化．**蛋白質・核酸・酵素「植物の形づくり・遺伝子から見た分子メカニズム」** 岡田清孝，町田恭則，島本功，福田裕穂，中村研三編（共立出版，東京，2002 年）pp.1753-1759.
- 嶋田知生，山田健志，白浜佳苗，西村幹夫，西村いくこ：VPE/legumain による液胞/リソソームタンパク質の成熟化，**細胞工学**（秀潤社，東京，2003 年）vol.22, pp.1104-1105.
- 松島良，西村いくこ：ジャスモン酸により誘導される小胞体由来の新規構造体．細胞工学別冊，**植物細胞工学シリーズ 20 「新版 植物ホルモンのシグナル伝達」**（秀潤

- 社，東京，2004 年） pp. 209-212.
- 初谷紀幸，黒柳美和，山田健志，飯哲夫，西村幹夫，西村いくこ：液胞プロセシング酵素が制御する過敏感細胞死の分子機構．**細胞工学**，Vol. 23（秀潤社，東京，2004 年） pp. 1298-1299.
- 初谷紀幸，黒柳美和，山田健志，飯哲夫，西村幹夫，西村いくこ：植物の自己防衛システムを制御する液胞プロセシング酵素の発見と機能解明．**BRAIN**（独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構，東京，2004 年） 106，pp.10-13.
- 西村いくこ：植物の細胞死のナゾを解明．**基礎研究最前戦**．（独立法人 科学技術振興機構，東京，2005 年） Vol. 8，pp.8-9.
- 初谷紀幸，黒柳美和，山田健志，飯哲夫，西村幹夫，西村いくこ：液胞プロセシング酵素が制御する過敏感細胞死の分子機構．**蛋白質・核酸・酵素**（共立出版，東京，2005 年） pp. 343-349.
- 田村謙太郎，西村いくこ：液胞の可視化と細胞内膜系異常を示す変異体の単離．**植物細胞工学シリーズ 22「新版 植物の細胞を観る実験プロトコール」** 福田裕穂他監修（秀潤社，東京，2006 年） pp. 221-224.
- 黒柳美和，西村いくこ：高等植物における液胞の多様機能「**プラントミメティックスー植物に学ぶ**」（NTS，東京，2006 年） 甲斐昌一他監修，pp. 286-292.
- 松島良，嶋田知生，西村いくこ：植物の小胞体由来の構造体「**プラントミメティックスー植物に学ぶ**」（NTS，東京，2006 年） 甲斐昌一他監修，pp. 293-298.
- 嶋田知生，西村いくこ：植物細胞における液胞タンパク質の輸送とプロセシング．**化学と生物**（日本農芸化学会，東京，2006 年） pp. 13-20.
- 黒柳美和，西村いくこ：高等植物における自己防衛システムとしての細胞死．**蛋白質・核酸・酵素**（共立出版，東京，2007 年） pp. 698-704.
- 嶋田知生，西村いくこ：プロセシング酵素の機能．**種子のバイオサイエンス**（種子の生理生化学研究会，2007 年）印刷中．

（3）学会発表（国際学会発表及び主要な国内学会発表）

①招待講演（国内会議 20 件、国際会議 17 件）

- 西村いくこ，嶋田知生，松島良（京大院理）：細胞内膜系の分化と多様性，**日本分子生物学会ワークショップ**，横浜，2002 年 12 月
- Hara-Nishimura, I., Nakaune S. and Yamada K. (Kyoto Univ.): Differentiation of vacuolar processing enzymes in seeds: roles in formation of seed coats and maturation of storage proteins. **Minisymposium "Seed Biology" Plant Biology 2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Nishimura, M.2,3, Hatsugai, N.3, Kuroyanagi M.1, Yamada K.2, Meshi T.1 and Hara-Nishimura I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3Grad. Univ. for Advanced Studies): Vacuolar processing enzyme functions in the early process of TMV-induced hypersensitive cell death in tobacco leaves. **Minisymposium "Plant Pathogen/Symbiont Interactions" Plant Biology 2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Hara-Nishimura, I., Fuji K. and Shimada T. (Kyoto Univ.): Vacuolar-Sorting System for Seed Storage Proteins. **NIAS-COE International Symposium "Protein Trafficking Mechanism and its Application to Molecular Farming"**, Tsukuba, Nov. 2003.
- Hara-Nishimura I.1, Hatsugai N.3, Kuroyanagi, M.1, Yamada, K.2, Meshi T.1 and Nishimura M.2,3. (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3 Grad. Univ. for Advanced Studies): Involvement of VPE in programmed cell death of higher plants. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.

- Nishimura, M.2, Shimada T.1, Yamada K.2, Kataoka M.1, Nakaune, S.1, Koumoto Y.1, Kuroyanagi M.1, Kondo M.2 and Hara-Nishimura I. (1Kyoto Univ., 2NIBB): Vacuolar processing enzymes are responsible for proper processing of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- Shimada, T.1, Fuji, K.1, Tamura, K.1, Kondo, M.2, Nishimura M.2 and Hara-Nishimura I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): The receptor-mediated transport of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- 林八寿子 1, 山田健志 2, 嶋田知生 3, 松島良 3, 西澤直子 4, 西村幹夫 2, 西村いくこ 3 (1 新潟大理, 2 基生研, 3 京大, 4 東大院農): シロイヌナズナの表皮細胞に局在する小胞体由来の新規構造体 ER body. **日本植物生理学会年会, 日本植物生理学会論文賞受賞講演**, 奈良, 2003 年 3 月.
- 西村いくこ, 富士健太郎, 田村謙太郎, 林博士, 嶋田知生 (京大院理): 種子貯蔵タンパク質のレセプター依存的な輸送機構. **日本植物細胞分子生物学会シンポジウム「真核生物における有機化合物の輸送機能と生理」**, 香川, 2003 年 8 月.
- 西村いくこ (京大院理): 液胞プロセシング酵素と植物のプログラム細胞死. **生化学会近畿支部シンポジウム「脂質・糖鎖 vs タンパク質相互作用により制御される細胞内品質管理のダイナミズム」**, 京都, 2003 年 12 月.
- Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Vacuolar processing enzymes involved in plant programmed cell death. **Gordon Research Conference "Plant Senescence and cell death"**, Mt. Holleyoke, USA, June 26-July 3, 2004.
- Shimada, T.1, Fuji, K.1, Tamura, K.1,3, Kondo, M.2, Nishimura M.2 and Hara-Nishimura I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3CREST): A receptor-mediated transport of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **Minisymposium "Plant Protein Targeting" Plant Biology 2004**, Orland, USA, July 2004.
- Hara-Nishimura, I. (1Kyoto Univ.): Vacuolar sorting and vacuolar processing for storage proteins. **The Symposium "Storage Function in Plants"**, Tokyo, Japan, Aug., 2004.
- 嶋田知生 1, 河本恭子 1, 李立新 1, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 種子貯蔵タンパク質を細胞外に分泌するシロイヌナズナ変異体. **日本植物生理学会シンポジウム**, 東京, 2004 年 3 月.
- 嶋田知生 (京大院理): 種子にたんぱく質が貯まるとき. 種子貯蔵タンパク質の輸送・蓄積の分子機構. **植物細胞懇話会**, 大阪, 2004 年 3 月.
- 西村いくこ (京大院理): 細胞の中をのぞいてみよう, **日本分子生物学会年会公開シンポジウム**, 神戸, 2004 年 12 月.
- 初谷紀幸 4, 黒柳美和 1, 山田健志 2, 飯哲夫 1, 津田新哉 3, 近藤真紀 2, 西村いくこ 1, 西村幹夫 2,4 (1 京大院理, 2 基生研, 3 中央農業総合研究センター, 4 総研大): タバコにおける液胞プロセシング酵素が制御する過敏感細胞死の分子機構, **日本分子生物学会年会シンポジウム**, 神戸, 2004 年 12 月.
- Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Vacuolar sorting receptor for seed storage proteins., **The 6th Kyoto University International Symposium 'Plant Science in Japan and China-from Genomics to Breeding**, Beijing, China, Oct. 8-10, 2005.
- Kuroyanagi, M.1, Yamada, K.2, Hatsugai, N.3, Nishimura, M.2 and Hara-Nishimura, I.1 (1, Kyoto Univ., 2, NIBB, 3 PRESTO): AVPE exhibiting caspase-1 activity regulates pathogen-induced cell death and developmental cell death in plants, **International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions**, Merida, Mexico, Dec.14-19, 2005.
- 西村いくこ 1, 初谷紀幸 1, 黒柳美和 1, 山田健志 2, 中畦悟 1, 西村幹夫 2 (1 京大院理, 2 基生研): ウィルス感染による過敏感細胞死を制御する液胞プロセシング酵素 VPE. **植物医科学シンポジウム**. 岡山大学, 2005 年 3 月.
- 西村いくこ, 永野惇, 松島良 (京大院理): 植物の生体防御とオルガネラ分化. **日本植物生理学会年会シンポジウム「植物の環境適応戦略としてのオルガネラ分化」**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 西村いくこ 1, 初谷紀幸 1, 黒柳美和 1, 山田健志 2, 中畦悟 1, 西村幹夫 2 (1 京大院理, 2 基生研): 植物のプログラム細胞死を制御する液胞プロセシング酵素 VPE. **日本植物生理学会年会シンポジウム「植物の防御機構と過敏感反応シグナル伝達」**. 新潟, 2005

年 3 月.

嶋田知生, 西村いくこ (京大院理): 液胞タンパク質の輸送とプロセッシング. 貯蔵タンパク質をモデルとして. 第 7 回植物オルガネラワークショップ. 植物細胞のダイナミズム. 新潟, 2005 年 3 月.

西村いくこ, 初谷紀幸, 黒柳美和, 中畦悟 (京大院理): プログラム細胞死を制御する液胞プロセッシング酵素 VPE, 日本分子生物学会ワークショップ, 博多, 2005 年 12 月.

田村謙太郎 (CREST): 細胞内膜系の構造異常を示すシロイヌナズナ *katamari* 変異体の解析, 分子生物学会年会, 分子生物学会若手ワークショップ「植物オルガネラの機能的多様性とダイナミズム」, 2005 年 12 月.

Hara-Nishimura, I.1, Hatsugai, N.31, Kuroyanagi, M.1, Nakaune, S.1, Kunieda, T.1, Takahashi, K.1 and Nishimura, M.2 (1, Kyoto Univ., 2, NIBB, 3 PRESTO): Involvement of vacuolar processing enzyme (VPE) in plant cell death. **The 53rd NIBB Conference “Dynamic Organelles in Plants”**. Okazaki, June 14-17, 2006.

Hara-Nishimura, I.1, Hatsugai, N.3, Kuroyanagi, M.1, Nakaune, S.1, Kunieda, T.1, Takahashi, K.1 and Nishimura, M.2 (1, Kyoto Univ., 2, NIBB, 3 PRESTO): Vacuolar processing enzyme (VPE): an executor of vacuole-mediated cell death in plants. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress. Symposium “Plant Development and Cell Death: View from Cell Biology”**. Kyoto, June 18-23, 2006.

Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Vacuolar processing enzyme responsible for programmed cell death in plants. **The NAIST COE Symposium “Frontiers in Plant Immunity Research”**. Nara, June 24, 2006.

Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Vacuolar sorting and vacuolar processing of seed storage proteins. **International Symposium of Plant Molecular Biology**, Adelaide, Australia, August 20-25, 2006.

西村いくこ (京大院理): 自力本願の植物細胞と他力本願の動物細胞. 第 3 回重点共同利用研究ワークショップ「植物の自己防御と細胞死」. 岡崎, 2006 年 3 月.

初谷紀幸 1,2, 黒柳美和 1, 中畦悟 1, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2JST) 液胞プロセッシング酵素が制御する植物のプログラム細胞死, 日本分子生物学会 2006 フォーラムシンポジウム, 京都, 2006 年 6 月.

Hara-Nishimura, I., Shimada, T., Fuji, K., Li, L. and Takahashi, H. (Kyoto Univ.) Vacuolar sorting mechanism in plants. **19th FAOBMB Conference**, Seoul, Korea, May 28-30, 2007.

Hara-Nishimura, I., Shimada, T., Fuji, K., Li, L., and Takahashi, H. (Kyoto Univ.) Vacuolar sorting and vacuolar processing systems in higher plants. **Plant Cell Biology Conference**, Max-Planck-Institute, Cologne, Germany, Sept. 4-6, 2007.

西村いくこ (京大院理): 高等植物の細胞死を制御する液胞プロセッシング系. 平成 19 年度生理学研究所研究会「細胞死研究の新たな潮流と疾患研究への展開」, 岡崎, 2007 年 8 月.

西村いくこ (京大院理) 高等植物の細胞内膜系の分化: 観ることから新しい発見へ. 岩手大学 COE フォーラム, 岩手, 2007 年 10 月.

西村いくこ (京大院理) 植物の細胞内膜系の分化と生体防御. 鳥取大学先端セミナー, 鳥取, 2007 年 11 月.

西村いくこ, 嶋田知生, 富士健太郎, 李立新, 田村謙太郎 (京大院理): 植物の液胞選別輸送の分子機構. 日本分子生物学会ワークショップ「タンパク質の品質管理とオルガネラダイナミクス」, 横浜, 2007 年 12 月.

②口頭発表 (国内会議 30 件、国際会議 2 件)

嶋田知生 1, 富士健太郎 1, 片岡未裕希 1, 山田健志 2, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 種子貯蔵タンパク質の輸送・蓄積の分子機構. 日本植物生理学会年会シンポジウム, 奈良, 2003 年 3 月.

山田健志 1, 西村幹夫 1, 西村いくこ 2 (1 基生研, 2 京大院理): 飢餓状態のタバコ培養細胞 BY-2 におけるエンドサイトーシスにはパパイン型システインプロテアーゼが関与する. 日本植物生理学会, 奈良, 2003 年 3 月.

- 初谷紀幸 1, 黒柳美和 2, 山田健志 3, 飯哲夫 2, 西村幹夫 1, 3, 西村いくこ 2 (1 総研大, 2 京大院理, 3 基生研): 過敏細胞死の過程で誘導されるカスパーゼ様活性と液胞プロセシング酵素. **日本植物生理学会年会**, 東京, 2004 年 3 月.
- 田村謙太郎 1, 嶋田知生 1, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 細胞内膜系の構造維持に必要なシロイヌナズナ *KATAMARI* 遺伝子. **日本植物生理学会年会**, 東京, 2004 年 3 月.
- 中畦悟 1, 山田健志 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): シロイヌナズナ δ VPE は種皮形成過程のプログラム細胞死に関与する. **日本植物生理学会年会**, 東京, 2004 年 3 月.
- 田村謙太郎 1, 嶋田知生 2, 近藤真紀 3, 西村幹夫 3, 西村いくこ 1, 2 (1CREST, 2 京大院理, 3 基生研): シロイヌナズナ *katamaril* 変異体では細胞内膜系の構造が異常になる一細胞内膜系の構造異常を示すシロイヌナズナ *katamaril* 変異体, **日本分子生物学会年会**, 神戸, 2004 年 12 月.
- 永野惇, 松島良, 西村いくこ (京大): ER ボディに局在する β -グルコシダーゼ PYK10 の解析. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 三橋尚登 1, 近藤真紀 2, 中畦悟 3, 林誠 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 3, 三村徹郎 1 (1 神戸大理, 2 基生研, 3 京大院理): シロイヌナズナ登熟種子におけるフィチン酸合成: イノシトールリン酸合成酵素 MIPS の胚乳特異的発現. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 山田健志 1, 富士健太郎 2, 嶋田知生 2, 西村いくこ 2, 西村幹夫 1 (1 基生研, 2 京大院理): エンドソームに局在するパパイイン型プロテアーゼはエンドソームと液胞の融合を助ける. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 初谷 紀幸 1, 黒柳 美和 1, 山田 健志 2, 飯 哲夫 3, 西村 いくこ 1, 西村 幹夫 2 (1 京大院理, 2 基生研, 3 農資研): カスパーゼ活性をもつ液胞プロセシング酵素が過敏細胞死を制御する. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 山崎美紗子, 嶋田知生, 高橋英之, 西村いくこ (京大院理): 液胞選別輸送レセプターの分子機構. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 中畦悟 1, 山田健志 2, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 種皮形成に関与するシロイヌナズナ δ VPE の解析, **イネ・シロイヌナズナ合同ワークショップ**, 奈良, 2005 年 7 月.
- 嶋田知生 1, 河本恭子 1, 李立新 1, 山崎美紗子 1, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 種子貯蔵タンパク質の輸送異常を示す *maigo1* 変異体の解析, **日本植物学会年会**, 富山, 2005 年 9 月.
- 富士健太郎 1, 高橋英之 1, 嶋田知生 1, 内海成 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 京大院農): 液胞選別輸送レセプター *AtVSR1* は輸送シグナルを認識し種子貯蔵タンパク質を貯蔵型液胞へ輸送する, **日本植物学会年会**, 富山, 2005 年 9 月.
- 西村いくこ (京大院理): 種子蛋白質の質的・量的向上を目指した分子育種, **CREST シンポジウム「植物の機能と制御」**, 東京, 2005 年 9 月.
- Li, L.1, Shimada, T.1, Takahasi, T.1, Fukao, Y.2, Kondo, M.3, Nishimura, M3. and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NAIST, 3NIBB): *Arabidopsis mag2* mutant shows deficiency in intercellular transport of storage proteins, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月
- 上田晴子 1, 西山千晶 1, 嶋田知生 1, 河本恭子 1, 林八寿子 2, 近藤真紀 3, 大友一郎 4, 高橋卓 4, 西村幹夫 3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 新潟大理, 3 基生研, 4 北大理): シロイヌナズナ *AtVAM3* (SNARE タンパク質 *VAM3* ホモログ) はミロシン細胞の分化に関与する, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.
- 黒柳美和 1, 山田健志 2, 初谷紀幸 2, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 液胞プロセシング酵素は植物の抵抗性反応と罹病性反応における細胞死に関与する, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.
- 國枝正, 中畦悟, 西村いくこ (京大院理): DNA マイクロアレイデータベースを利用したシロイヌナズナ種皮形成因子の探索, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.
- 島田貴士, 高橋英之, 深尾陽一朗, 嶋田知生, 西村いくこ (京大院理): シロイヌナズナ種子型オレオシン変異体がオイルボディ形成に与える影響, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.
- 永野惇 1, 松島良 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 岡山大資生研): ER ボディ局在 β -グルコシダーゼの活性に影響を与えるサイトゾル型 Jacalin like lectin の探索, **日本植物生**

理学会年会, 筑波, 2006 年 3 月

中畦悟 1, 山田健志 2, 國枝正 1, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研): 内珠皮特定層の細胞死における δ VPE が局在する新規構造体の解析, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月

富士健太郎, 嶋田知生, 西村いくこ (京大院理): 可視化マーカーを用いた種子貯蔵タンパク質の細胞内輸送変異体の網羅的単離, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.

前川晃徳 1, 田村謙太郎 2, 西村いくこ 1, 2 (1 京大院理, 2CREST): シロイヌナズナに存在する ER body の形成過程の解析, **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.

Shimada, T. (Kyoto Univ.) Delivery of Seed Storage Proteins from ER to PSV in *Arabidopsis*.

European Endomembrane Club-2007 Meeting, Oxford, UK, August 29-31, 2007.

Tamura, K. (Kyoto Univ.) Molecular analyses of endomembrane organisation using *Arabidopsis* mutants. **European Endomembrane Club-2007 Meeting**, Oxford, UK, August 29-31, 2007.

永野惇 1, 深尾陽一郎 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 奈良先バイオ) Jacalin related lectin と GDSL lipase like protein は ER ボディ局在 β -グルコシダーゼ複合体のサイズを制御する, **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月.

島田貴士 1, 高橋英之 1, 深尾陽一郎 2, 嶋田知生 1, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 奈良先バイオ) 種子型オレオシン欠損によるオイルボディの巨大化と発芽への影響, **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月.

白川一 1, 上田晴子 1, 西山千晶 1, 嶋田知生 1, 光田展隆 2, 高木優 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 産総研) CRES-T 法を用いたミロシン細胞分化に関わる転写因子の探索, **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月.

李立新, 嶋田知生, 高橋英之, 上田晴子, 西村いくこ (京大院理) 種子貯蔵タンパク質の小胞体からの輸送に関わるシロイヌナズナの新規因子, **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月.

富士健太郎, 嶋田知生, 高橋英之, 河本恭子, 西村いくこ (京大院理) シロイヌナズナの小胞輸送機構に異常を示す *gfs* 変異体の解析, **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月.

田村謙太郎 1, 橋詰祥子 1, 岩本政明 2, 原口徳子 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 情報通信研究機構・未来 ICT 研究センター・バイオ ICT グループ): 高等植物における細胞核の機能解析. **第七回核ダイナミクス研究会**, 札幌, 2007 年 9 月.

③ポスター発表 (国内会議 36 件、国際会議 50 件)

松島良, 近藤真紀, 西村幹夫, 西村いくこ: 高等植物細胞に存在する小胞体由来の新規コンパートメント(ER body)の主構成成分の同定, **日本分子生物学会**, 横浜, 2002 年 12 月

白浜佳苗, 杉原一司, 山本章嗣, 橋本憲佳, 浅野雅秀, 西村いくこ, 西村幹夫: VPE/Legumain ノックアウトマウスの解析, **日本分子生物学会**, 横浜, 2002 年 12 月

Matsushima, R., Kondo, M.*, Nishimura, M.* and Hara-Nishimura I. (Kyoto Univ., *NIBB): A novel ER-derived structure, the ER body, selectively accumulates a β -glucosidase with an ER retention signal in *Arabidopsis thaliana*. **International Symposium of Plant Molecular Biology**, Barcelona, Spain, June 2003.

Shimada, T., Fuji, K., Li, L., Kataoka, M., Yamada, K.*, Kondo, M.*, Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): Transport and processing of seed storage proteins in higher plants. **Plant Biology 2003**, Hawaii, USA, July 2003.

Tamura, K., Shimada, T., Ono, E.*, Tanaka, Y.*, Nagatani, A. and Hara-Nishimura I. (Kyoto Univ., *SUNTORY): Light-induced degradation of green fluorescent protein that is expressed in the vacuoles of higher plants. **Plant Biology 2003**, Hawaii, USA, July 2003.

Fukao, Y.*, Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): Proteomic analysis of the peroxisomal proteins in cotyledons of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology 2003**, Hawaii, USA, July 2003.

Matsushima, R., Kondo, M.*, Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): The ER body, a novel ER-derived compartment, accumulating a β -glucosidase with an ER retention

- signal in *Arabidopsis*. **Plant Biology** **2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Yamada I, K.*, Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): E64d, an inhibitor of papain family proteases, inhibits endocytosis and degradation of plasma membrane proteins in BY-2 cells and *Arabidopsis* root cells. **Plant Biology** **2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Kuroyanagi, M., Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): Activation of vacuolar processing enzyme of *Arabidopsis* by auto-catalytic removal of the C-terminal propeptide as an auto-inhibitory domain. **Plant Biology** **2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Kumamaru, T.*, Uemura, Y.*, Takemoto Y.**., Ogawa M**., Hara-Nishimura I. and Satoh H.*: (Kyoto Univ., Kyisyu Univ. **Yamaguchi Pref. Univ.): Rice mutant *glup3* greatly accumulated the glutelin precursor in protein storage vacuole. **Plant Biology** **2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Watanabe, E., Shimada, T., Tamura, K., Matsushima, R., Koumoto, Y., Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): Ectopic expression of an ER-localized form of PV72, a seed-specific vacuolar sorting receptor, in *Arabidopsis* leaves. **Plant Biology** **2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Nakaune, S., Yamada K.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): A novel vacuolar processing enzyme functions in seed coat formation at the early stage of seed development. **Plant Biology** **2003**, Hawaii, USA, July 2003.
- Hatsugai, N.*, Kuroyanagi, M., Yamada, K.*, Meshi, T., Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): Involvement of vacuolar processing enzyme in TMV-induced hypersensitive cell death in tobacco leaves. **Plant Biology** **2003**, July 2003, Hawaii, USA.
- Kuroyanagi, M., Nishimura, M.* and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ., *NIBB): Mechanism of maturation and activation of vacuolar processing enzyme (VPE) in higher plants. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- Hatsugai, N.3, Kuroyanagi, M.1, Yamada, K.2, Meshi, T.1, Nishimura, M.2,3 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3 Grad. Univ. for Advanced Studies): A VPE exhibiting caspase-1-like activity mediates TMV-induced hypersensitive cell death in tobacco. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- Fuji, K.1, Shimada, T.1, Tamura, K.1, Kondo, M.2, Nishimura, M.2 and Hara-Nishimura, I.1: (1Kyoto Univ., 2NIBB) Functional analysis of vacuolar sorting receptors in *Arabidopsis thaliana*. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- Nakaune, S.1, Yamada, K.2, Kondo, M.2, Nishimura M.2, and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB) : An Involvement of dVPE in Seed Coat Formation of *Arabidopsis*. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- Tamura, K.1, Shimada, T.1, Ono, E.2, Tanaka, Y.2, Nagatani, A.1, Higashi, S.2, Watanabe, M.2, Nishimura, M.2 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB) : Light-dependent degradation of GFP that is expressed in the vacuoles of higher plants. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- Yamada, K., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (1NIBB, 2Kyoto Univ.) : E64d, an inhibitor of papain family proteases, inhibits the fusion of endosomes with vacuoles in *Arabidopsis* and tobacco BY-2 cells. **The International Symposium "Dynamic Vacuoles in Plants"**, Okazaki, Nov., 2003.
- 松島良 1, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研) : 小胞体由来の新規構造体(ER body)の形成に異常を示すシロイヌナズナ変異体の解析. **日本分子生物学会年会**, 神戸, 2003 年 12 月.
- Li, L.1, Shimada, T.1, Fukao, Y.1, Kondo, M.2, Nishimura, M.2 and Hara-Nishimura I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB) : An *Arabidopsis* mutant that abnormally accumulates the precursors of seed storage proteins. **Annual Meeting of Japanese Society of Plant Physiologists**, Tokyo, March 2004.
- Ueda, S.1, Yokota, E.1, Tamura, K.2, Hara-Nishimura, I.2, Sonobe, S.1 and Shimmen, T.1 (1Himeji Institute of Technology, 2Kyoto Univ.): Identification of organelle translocated by myosin XI in cultured tobacco BY-2 cells. **Annual Meeting of Japanese Society of Plant Physiologists**, Tokyo, March 2004.
- Hatsugai, N.4, Kuroyanagi, M.1, Yamada, K.2, Meshi, T.3, Nishimura, M.2 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3NIAS, 4Grad. Univ. for Advanced Studies): Virus-induced

- hypersensitive cell death in tobacco leaves is regulated by VPE exhibiting caspase-1-like activity. **Gordon Research Conference "Plant Senescence and cell death"**, Mt. Holleyoke, USA, June 26-July 3, 2004.
- Kuroyanagi, M.1, Hatsugai, N.3, Yamada, K.2, Nishimura, M.2,3 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3Grad. Univ. for Advanced Studies): Vacuolar processing enzyme (VPE) exhibits caspase-1-like activity. **Gordon Research Conference "Plant Senescence and cell death"**, Mt. Holleyoke, MA, USA, June 26-July 3, 2004.
- Tamura, K.1, Shimada, T.2, Kondo, M.3, Nishimura, M.3 and Hara-Nishimura, I.1,2 (1CREST, 2Kyoto Univ., 3NIBB): An Arabidopsis mutant that has a defect in organization of endomembranes. **The 2004 International Arabidopsis Meeting**, Berlin, Germany, July 10-14, 2004.
- Watanabe, E.1, Shimada, T.1, Tamura, K.1, Fuji, K.1, Komoto, Y.1, Nishimura, M.2 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB) : Vacuolar sorting receptors for seed storage proteins in higher plants. **2004 FASEB Summer Research Conference " Mechanisms in Plant Development"**, Vermont, USA, Aug. 7-11, 2004.
- 上田晴子 1, 林八寿子 2, 嶋田知生 1, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 新潟大理): 蛍光タンパク質を用いた小胞体の分化の解析. **日本植物生理学会年会**, 東京, 2004 年 3 月.
- 嶋田知生 1, 富士健太郎 1, 田村謙太郎 2, 西村幹夫 3, 西村いくこ 1,2 (1 京大院理, 2CREST, 3NIBB) : 種子貯蔵タンパク質の液胞への選別輸送レセプター, **CREST シンポジウム「植物の機能と制御」**, 東京, 2004 年 10 月.
- 嶋田知生 1, 山田健志 2, 中畦悟 1, 河本恭子 2, 黒柳美和 1, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2CREST, 3NIBB) : 種子貯蔵タンパク質の成熟化の分子機構, **CREST シンポジウム「植物の機能と制御」**, 東京, 2004 年 10 月.
- 初谷紀幸 3, 黒柳美和 1, 山田健志 2, 飯哲夫 1, 西村幹夫 2,3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研, 3 総研大) : ウィルス感染による過敏細胞死を制御する VPE, **CREST シンポジウム「植物の機能と制御」**, 東京, 2004 年 10 月.
- 松島良 1, 深尾陽一朗 1, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研) : 小胞体由来の新規構造体(ER body)の形成を制御する *NAI1* 遺伝子の解析, **日本分子生物学会年会**, 神戸, 2004 年 12 月.
- 嶋田知生 1, 李立新 1, 河本恭子 2, 近藤真紀 3, 西村幹夫 3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2CREST, 3 基生研) : 液胞貯蔵タンパク質の細胞内輸送に関するシロイヌナズナ変異体の解析, **日本分子生物学会年会**, 神戸, 2004 年 12 月.
- Nagano, A. J.1, Matsushima, R.2, Hara-Nishimura, I.1 (1 Kyoto Univ. 2 Okayama Univ.): The variation of ER-body-mediated defense system in *Arabidopsis thaliana*., **ASPB Plant Genetics 2005**, Utah, U.S.A., October, 2005.
- Shimada, T.1, Yamada, K.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): VPEs are essential for proper processing of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **The 6th Kyoto University International Symposium 'Plant Science in Japan and China-from Genomics to Breeding**, Beijing, China, Oct. 8-10, 2005.
- Hatsugai, N.1,2, Kuroyanagi, M.1, Yamada, K.3, Meshi, T.4, Nishimura, M.3 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2PRESTO, 3NIBB, 4Nat. Inst. Agrobiol. Sci.): Involvement of VPE exhibiting caspase-1 activity in hypersensitive cell death, **International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions**, Merida, Mexico, December 14-19, 2005.
- 上田晴子 1, 西山千晶 1, 中村潤 2, 林八寿子 2, 嶋田知生 1, 大友一郎 3, 高橋卓 3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 新潟大理, 3 北大) : シロイヌナズナ *AtVAM3* 変異体はミロシナーゼを大量に蓄積する. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 黒柳美和 1,2, 山田健志 2, 初谷紀幸 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研) : 酵素化学的特徴における液胞プロセッシング酵素とカスパーゼ-1 の比較: **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 桜井寿之 1, 松島良 2, 林八寿子 1, 西村いくこ 2 (1 新潟大, 2 京大) : シロイヌナズナの ER body 変異体の形態学的解析. **日本植物生理学会年会**. 新潟, 2005 年 3 月.
- 永野惇 1, 石原享 2, 松島良 3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 京大院農, 3 岡山大学大生研) : シロイヌナズナにおける新規オルガネラ ER body の解析, **日本植物学会年会**, 富山, 2005 年 9 月.
- 嶋田知生 1, 山田健志 2, 中畦悟 1, 河本恭子 3, 黒柳美和 1, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1,3

- (1 京大院理, 2 基生研, 3CREST) : VPE による種子貯蔵タンパク質の成熟化の分子機構, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 嶋田知生 1, 富士健太郎 1, 田村謙太郎 3, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研, 3CREST) : 種子貯蔵タンパク質の選別輸送に関わる輸送レセプター AtVSR1, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 上田晴子 1, 西山千晶 1,2, 嶋田知生 1,2, 河本恭子 1,2, 林八寿子 3, 大友一郎 4, 高橋卓 4, 西村いくこ 1,2 (1 京大院理, 2CREST, 3 新潟大理, 4 北大理) : シロイヌナズナ AtVAM3 の植物特異的な機能〜ミロシン細胞分化への関与〜, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 黒柳美和 1, 山田健志 2, 初谷紀幸 1, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研) : 植物細胞死を司る液胞プロセシング酵素, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 山崎美紗子, 嶋田知生, 高橋英之, 西村いくこ (京大院理) : 液胞タンパク質の選別輸送に果たすレトロマー複合体の機能解析. CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 中畦悟 1, 山田健志 2, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理・2 基生研) : シロイヌナズナ種皮形成過程における細胞死に関与する δ VPE の解析, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 富士健太郎 1, 嶋田知生 1, 高橋英之 1, 西村いくこ 1, 2 (1 京大院理, 2CREST) : 種子貯蔵タンパク質の液胞選別輸送シグナルは AtVSR1 によって認識される, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 永野惇 1, 石原享 2, 松島良 3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 京大院農, 3 岡山大資生研) : シロイヌナズナにおける新規オルガネラ ER body の解析, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 李立新 1, 嶋田知生 1, 深尾陽一郎 2, 近藤真紀 3, 西村幹夫 3, 西村いくこ 1 (京大院理, 2 奈良先, 3 基生研) : シロイヌナズナ mag2 変異体は種子貯蔵タンパク質の細胞内輸送に異常を示す, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 田村謙太郎 1,2, 嶋田知生 1,2, 近藤真紀 3, 西村幹夫 3, 西村いくこ 1,2 (1 京大院・理・植物, 2CREST, 3 基生研・細胞生物) : KATAMARI1 遺伝子は細胞内膜系の構造維持に必要である, CREST シンポジウム「植物の機能と制御」, 東京, 2005 年 9 月.
- 上田晴子 1, 西山千晶 1, 嶋田知生 1, 河本恭子 1, 林八寿子 2, 中村潤 2, 大友一郎 3, 高橋卓 3, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 新潟大理, 3 北大理) : シロイヌナズナの異型細胞 (ミロシン細胞) 分化には SNARE タンパク質 AtVAM3 が関与する, 日本分子生物学会年会, 福岡, 2005 年 12 月.
- Ueda, H.1, Nishiyama, C.1, Shimada, T.1, Koumoto, Y.1, Hayashi, Y.2, Kondo, M.3, Takahashi, T.4, Nishimura, M.3, Hara-Nishimura, I.1. (1Kyoto Univ., 2Niigata Univ., 3NIBB, 4Okayama Univ.): AtVAM3 is Required for the Specification of Idioblasts (Myrosin Cells) in Arabidopsis thaliana. **53rd NIBB Conference**, Okazaki, Japan, Jun. 14-17, 2006.
- Li, L.1, Shimada, T.1, Takahashi, H.1, Fukao Y.1, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): MAIGO2 is Responsible for the Efficient Delivery of Seed Storage Proteins from ER to PSV in Arabidopsis thaliana. **53rd NIBB Conference**, Okazaki, Japan, Jun. 14-17, 2006.
- Shimada T.1, Koumoto Y.1, Li L.1, Yamazaki M.1, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): MAG1/AtVPS29 is involved in the efficient sorting of seed storage proteins in Arabidopsis. **53rd NIBB Conference**, Okazaki, Japan, Jun. 14-17, 2006.
- Fuji, K., Tamura, K., Shimada, T., Hara-Nishimura I. (Kyoto Univ.): An Effective Method for Screening for the Arabidopsis Mutants Deficient in Vacuolar Sorting Machinery using GFP Fluorescence. **53rd NIBB Conference**, Okazaki, Japan, Jun. 14-17, 2006.
- Nakaune, S.1, Yamada, K.2, Kunieda, T.1, Kondo, M.2, Nishimura, M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): δ VPE Is Involved in Programmed Cell Death of Limited Cell Layers, the Purpose of Which Is to Form a Seed Coat. **53rd NIBB Conference**, Okazaki, Japan, Jun. 14-17, 2006.
- Nagano, A., Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Micrometer-sized Complex of PYK10 beta-glucosidase in ER Body, and Identification of Its Size Regulators in Arabidopsis thaliana. **53rd**

- NIBB Conference**, Okazaki, Japan, Jun. 14-17, 2006.
- Ueda, H.1, Nishiyama, C.1, Shimada, T.1, Koumoto, Y.1, Hayashi, Y.2, Kondo, M.3, Ohtomo, I.4, Takahashi, T.4, Nishimura, M.3, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2Niigata Univ., 3NIBB, 4Okayama Univ.): Requirement of AtVAM3 for specification of idioblasts (myrosin cells) in *Arabidopsis thaliana*. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Kunieda, T., Nakaune, S., Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Search for Seed-coat-formation Factor of *Arabidopsis thaliana*. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Shimada, T.1, Takahashi, H.1, Fukao, Y.2, Shimada, T.1, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NAIST): Seed-type oleosins control the size of oil body in *Arabidopsis*. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Li, L.1, Shimada, T.1, Takahashi, H.1, Fukao Y.1, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): AtMAG2 is Required for the Efficient Transport of Seed Storage Proteins. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Fuji, K., Tamura, K., Shimada, T., Hara-Nishimura I. (Kyoto Univ.): "An efficient strategy to isolate *Arabidopsis* mutants deficient in intracellular transport of seed storage proteins" **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Yamazaki, M, Shimada, T., Takahashi H., Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ) Retromer in *Arabidopsis thaliana*. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Kuroyanagi, M.1, Yamada, K.2, Hatsugai, N.1, Kondo, M.2, Nishimura, M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): Vacuolar processing enzyme, a key molecule in mycotoxin-induced cell death of *Arabidopsis thaliana*. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Nagano, A., Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Micrometer-order complex of PYK10 beta-glucosidase in ER body, and identification of its size regulators. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Nakaune, S.1, Yamada, K.2, Kunieda, T.1, Kondo, M.2, Nishimura, M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB) : An involvement of dVPE in seed coat formation at the early stage of seed development of *Arabidopsis*. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- Shimada T.1, Koumoto Y.1, Li L.1, Yamazaki M.1, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB): MAG1/AtVPS29 controls the sorting of storage proteins in *Arabidopsis* seeds. **20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology**, Kyoto, Japan, Jun. 18-23, 2006.
- 高橋英之 1, 李立新 1, 嶋田知生 1, 西村いくこ 1,2 (1 京大院理, 2CREST) : シロイヌナズナ変異体を用いた種子貯蔵タンパク質の細胞内輸送機構の解析. **CREST シンポジウム「植物の機能と制御」**, 東京, 2006 年 1 月.
- 前川晃徳 1, 田村謙太郎 2, 西村いくこ 1,2 (1 京大院理, 2CREST) : シロイヌナズナに存在する ER body の形成過程の解析, **CREST シンポジウム「植物の機能と制御」**, 東京, 2006 年 1 月.
- 高橋英之, 嶋田知生, 西村いくこ (京大院理) : 種子貯蔵タンパク質の輸送異常を示すシロイヌナズナ変異体の分類. **日本植物生理学会年会**, 筑波, 2006 年 3 月.
- Li, L.1, Shimada, T.1, Takahashi, H.1, Fukao, Y.1, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura, I., (1Kyoto Univ., 2NIBB): *Arabidopsis* MAG2 is involved in the transport of seed storage proteins. 「植物の機能と制御」第 5 回公開シンポジウムー分子農業への展開ー. つくば, 2006 年 7 月
- 山崎美紗子, 嶋田知生, 高橋英之, 西村いくこ (京大院理) : 植物におけるレトロマー複合体の機能解析「植物の機能と制御」第 5 回公開シンポジウムー分子農業への展開ー. つくば, 2006 年 7 月
- Nagano, A., Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.) : Speciation and Adaptation - Ecological Genomics of

- Model Organisms and Beyond -", Genome-Wide Screening of Unneutral Polymorphic Genes in *Arabidopsis thaliana*: Based on bimodal Expression Level Polymorphism. **5th Okazaki Biology Conference**, Okazaki, Japan, Mar. 11-16, 2007.
- Nagano, A. J. and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): Genome -Wide Screening of Unneutral Polymorphic Genes in *Arabidopsis thaliana*: Based on bimodal Expression Level Polymorphism. **The 5th Okazaki Biology Conference: "Speciation and Adaptation - Ecological Genomics of Model Organisms and Beyond -"**, Kakegawa, Shizuoka, March 11-16, 2007.
- Li, L.1, Shimada T.1, Takahashi H.1, Ueda H.1, Fukao Y.3, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB, 3NAIST) MAG2 is Involved in Exit of Seed Storage Proteins From the ER in *Arabidopsis thaliana*. **18th International Conference on Arabidopsis Research**, Beijing, China, June 20-23, 2007.
- Li L.1, Shimada T.1, Takahashi H.1, Ueda H.1, Fukao Y.3, Kondo M.2, Nishimura M.2, Hara-Nishimura I.1 (1Kyoto Univ., 2NIBB) A Novel Factor MAIGO2 is Essential for Transport of Seed storage proteins from ER in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology & Botany 2007 Joint Congress**, Chicago, USA, July 7-11, 2007.
- Fuji, K.1, Shimada, T.1, Takahashi, H.1, Tamura, K.1, Koumoto, Y.1, Nishizawa, K.2, Maruyama, N.2, Utsumi, S.2 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ. Grad Sch of Sci, 2Kyoto Univ. Grad Sch of Agri): Vacuolar-Sorting Mutants (green-fluorescent seed) Can Be Efficiently Identified by Secretion of Vacuole-Targeted GFP in Their Seeds of *Arabidopsis*. **Plant Biology & Botany 2007 Joint Congress**, Chicago, USA, July 7-11, 2007.
- Nagano, A. J., Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ) :Bimodal Expression Level Polymorphism Is a Novel Criterion for Screening of Balancing Selected Genes in *Arabidopsis thaliana*. **URPP Systems Biology/Functional Genomics**, Braunwald, Switzerland, Spt. 28-30, 2007.
- Li, L., Shimada, T., Takahashi, H. and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): ATZW10 is involved in transport of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana*. **International Symposium "Membrane Traffic"**, Nov., 2007.
- Fuji, K., Takahashi, H., Komoto, Y., Shimada, T. and Hara-Nishimura, I. (Kyoto Univ.): *Arabidopsis* vacuolar protein-sorting mutants can be efficiently identified by secretion of vacuole-targeted GFP in their seeds. **International Symposium "Membrane Traffic"**, Nov., 2007.
- Shirakawa, M., Ueda, H., Shimada, T., Nishiyama, C. and Hara-Nishimura I. (Kyoto University): A role of VAM3 in leaf development in plant. **International Symposium "Membrane Traffic"**, Nov., 2007.
- Shimada, L. T.1, Shimada, T.1, Takahashi, H.1, Fukao, Y.2 and Hara-Nishimura, I.1 (1Kyoto Univ., 2NAIST) : Oleosins provide freezing tolerance to oil seeds by keeping oil-body sizes small. **The Second Asian Symposium on Plant Lipids**. Tokyo, Nov. 30-Dec. 2, 2007.
- 初谷紀幸, 田村謙太郎, 西村いくこ (京大院理) : 過敏細胞死における細胞内膜系の関与. **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月
- 高橋健太郎 1, 黒柳美和 1,3, 近藤真紀 2, 西村幹夫 2, 西村いくこ 1 (1 京大院理, 2 基生研, 3JST) : シロイヌナズナ緑葉の液胞に局在する GDSL Lipase family タンパク質の解析. **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月
- 高橋英之, 嶋田知生, 西村いくこ (京大院理) : 貯蔵タンパク質の輸送経路の 2 つの過程を欠損するシロイヌナズナ二重変異体 (*atvsr1mag2*). **日本植物生理学会年会**. 松山, 2007 年 3 月
- 西山千晶, 上田晴子, 白川一, 嶋田知生, 西村いくこ (京大院理) : 植物ホルモンはミロシン細胞分化に関与しているのか? **日本植物生理学会年会**, 松山, 2007 年 3 月
- 永野 惇, 西村 いくこ (京大院理) : 二峰性発現量多型を指標としたシロイヌナズナ種内多型原因遺伝子の逆遺伝学的探索. **日本進化学会第 9 回大会**, 京都, 2007 年 8 月

(4) 特許出願

①国内出願 (5 件)

1. 発明の名称： 種子タンパク質輸送レセプター
発明者： 西村いくこ他
出願人： (独) 科学技術振興機構
出願日： 平成 15 年 3 月 20 日
出願番号： 特願 2003-79190
2. 発明の名称： 植物におけるウイルス感染防御方法
発明者： 西村いくこ他
出願人： (独) 科学技術振興機構
出願日： 平成 15 年 3 月 20 日
出願番号： 特願 2003-79185
3. 発明の名称： VPE 欠損モデルマウス
発明者： 西村いくこ他
出願人： (独) 科学技術振興機構
出願日： 平成 15 年 4 月 20 日
出願番号： 特願 2003-117686
4. 発明の名称： 種皮特異的誘導プロモーター
発明者： 西村いくこ, 中畦悟
出願人： (独) 科学技術振興機構
出願日： 平成 16 年 11 月 30 日
出願番号：
5. 発明の名称： フザリウム毒抵抗性形質転換植物
発明者： 西村いくこ, 黒柳美和, 西村幹夫, 山田健志
出願人： 国立大学法人京都大学, 大学共同利用機関法人自然科学研究機構
出願日： 平成 16 年 12 月 28 日
出願番号：

②海外出願 (1 件)

1. 発明の名称： フザリウム毒抵抗性形質転換植物
発明者： 西村いくこ, 黒柳美和, 西村幹夫, 山田健志
出願人： 国立大学法人京都大学, 大学共同利用機関法人自然科学研究機構
出願日： 平成 17 年 12 月 27 日
出願番号：

(5) 受賞等

①受賞

平成 15 年 3 月 28 日	Plant Cell Physiology 誌論文賞	日本植物生理学会
平成 18 年 5 月 30 日	中日文化賞	中日新聞
平成 19 年 4 月 17 日	文部科学大臣表彰科学技術賞	文部科学省

②新聞報道

日本工業新聞 「貯蔵タンパク質輸送因子を発見」平成 15 年 12 月 11 日
日刊工業新聞 「種子貯蔵タンパク質”運び屋”を特定」平成 15 年 12 月 11 日
日経産業新聞 「種に養分はこぶたんぱく」平成 15 年 12 月 12 日
中日新聞「植物細胞死の実行役発見」平成 16 年 8 月 6 日
毎日新聞「植物細胞死の実行犯，捕まる」平成 16 年 8 月 6 日
朝日新聞「植物細胞死，仕組み解明」平成 16 年 8 月 6 日掲載
産経新聞「植物細胞死の謎の解明」平成 16 年 8 月 6 日
京都新聞「感染防御ウイルスと無理心中」平成 16 年 8 月 6 日
静岡新聞「ウイルス拡大を防ぐ細胞の自滅」平成 16 年 8 月 6 日
NHK 全国放送「おはよう日本」平成 16 年 8 月 6 日
京大学生新聞「植物の細胞死の分子機構の解明」平成 16 年 9 月 1 日
JST 基礎研究最前線 8 号「病原体に感染した植物の細胞死のナゾ解明」平成 16 年 11 月 4 日
JST News 12 月号 「植物の細胞死を実行する酵素」平成 17 年 12 月 1 日
日本テレビ 「植物の細胞死の謎」平成 18 年 9 月放映
中日新聞 「植物の生き方」平成 18 年 6 月 3 日

③その他

7 研究期間中の主な活動

ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成15年 4月11日	リサーチセミナー	京都大学大学院	18名	チーム内で研究成果を検討する
平成15年 4月18日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を検討する
平成15年 4月25日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を検討する
平成15年 5月2日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を検討する
平成15年 7月27日	リサーチセミナー	米国ハワイ	4名	液胞研究に関する打ち合わせ
平成15年 7月28日	リサーチセミナー	米国ハワイ	4名	小胞輸送研究に関する打ち合わせ
平成15年 7月30日	リサーチセミナー	米国ハワイ	3名	輸送研究に関する打ち合わせ
平成15年 8月22日	リサーチセミナー	京都大学大学院	18名	チーム内で研究成果を検討する

平成15年 10月3日	リサーチセミナー	京都大学大学院	18名	チーム内で研究成果を 検討する
平成15年 10月10日	リサーチセミナー	京都大学大学院	18名	チーム内で研究成果を 検討する
平成15年 10月17日	リサーチセミナー	京都大学大学院	18名	チーム内で研究成果を 検討する
平成15年 11月6日	Prof. J. Haradaの講 演	京都大学大学院	30名	種子の発生に関する研 究情報交換Prof. J. Haradaの講演
平成15年 11月24-27日	国際シンポジウム "Dynamic Vacuoles in Plants"	基礎生物学研究所	50名	国際シンポジウム "Dynamic Vacuoles in Plants"の開催
平成16年 4月30日	リサーチセミナー	京都大学大学院	16名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 5月7日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 5月14日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 9月10日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 9月17日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 10月1日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 2月25日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 3月2日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 3月3日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成16年 3月4日	リサーチセミナー	京都大学大学院	17名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 4月15日	リサーチセミナー	京都大学大学院	21名	チーム内で研究成果を 検討する
4月22日	リサーチセミナー	京都大学大学院	21名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 9月7日	リサーチセミナー	京都大学大学院	20名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 9月9日	リサーチセミナー	京都大学大学院	20名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 9月12日	リサーチセミナー	京都大学大学院	20名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 9月16日	リサーチセミナー	京都大学大学院	20名	チーム内で研究成果を 検討する
平成17年 9月30日	リサーチセミナー	京都大学大学院	20名	チーム内で研究成果を 検討する
平成18年 2月17日	リサーチセミナー	京都大学大学院	19名	チーム内で研究成果を 検討する
平成18年 2月20日	リサーチセミナー	京都大学大学院	19名	チーム内で研究成果を 検討する
平成18年 2月21日	リサーチセミナー	京都大学大学院	19名	チーム内で研究成果を 検討する
平成18年 3月1日	リサーチセミナー	京都大学大学院	18名	チーム内で研究成果を 検討する
平成18年 3月3日	リサーチセミナー	京都大学大学院	20名	チーム内で研究成果を 検討する

平成18年 4月21日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 4月28日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 5月12日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 9月5日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 9月6日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 9月8日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 9月12日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成18年 9月13日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 2月9日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 2月16日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 3月2日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 3月9日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 5月11日	リサーチセミナー	京都大学大学院	26名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 5月18日	リサーチセミナー	京都大学大学院	26名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 6月8日	グループ間研究打合せ	京都大学大学院	3名	西村グループと多葉田グループの研究打合せ
平成19年 8月8日	植物細胞分子生物学会	千葉大学	2人	形質転換細胞について打合せ
平成19年 9月10日	リサーチセミナー	京都大学大学院	25名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 9月13日	リサーチセミナー	京都大学大学院	24名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 9月14日	リサーチセミナー	京都大学大学院	24名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 9月26日	リサーチセミナー	京都大学大学院	24名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 9月27日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 9月28日	リサーチセミナー	京都大学大学院	22名	チーム内で研究成果を検討する
平成19年 10月3日	リサーチセミナー	京都大学大学院	24名	チーム内で研究成果を検討する

8 結び

この研究課題では、二つの目標をたてた。第一の目標は、植物がもつ大量のタンパク質の合成と集積の分子機構の解明で、第二の目標は、物質集積の場である液胞の機能発現の鍵となる液胞プロセッシング系の高次機能の解明である。第一の目標は、新たな手法の着想も生まれ、研究期間の最後の年度に加速的な展開があった。本手法で得られた200近い変異体については、新たな遺伝子資源を提供を可能にするものと考えている。第二の目標については、応用に向けた研究までつなぐことができなかったが、植物のプログラム細胞死への展開が、新たな視点を与えてくれた。

世界的人工増大によるエネルギー不足や食糧不足が問題視されてきている。このような状況の中、植物の基礎・応用両面の研究が緊急かつ重要であることは間違いない。今後も植物科学分野の研究領域が戦略的創造研究で取り上げられることを強く希望する。

研究のスムーズな実施を支えて下さった「植物の機能と制御」領域事務所の方々や秋田サテライトラボの皆様をはじめ、科学技術振興機構に感謝いたします。



西村グループ 恒例の春の鴨川の花見