

植物を利用した有用タンパク質生産のための 環境調節に関する基礎的研究

松田 怜

(東京大学大学院農学生命科学研究科)

Fundamental Studies on Environmental Control for Value-Added Protein Production Using Plants

Ryo MATSUDA

(Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Japan)

1. はじめに

由緒ある日本農業気象学会学術賞を授与されることとなり、光栄に存じます。ご推薦下さった荊木康臣先生、谷晃先生をはじめ学会賞審査委員の皆様、ならびに平野高司前会長をはじめ理事会メンバーの皆様には厚く御礼申し上げます。

受賞対象となりました標記の研究は、温室や人工光型植物工場で、植物を利用して医薬品原材料等の付加価値の高いタンパク質を生産する方法を対象とした、主にタンパク質の生産性を向上させるための環境調節に関するものです。本学会の中では一風変わった研究内容であるにもかかわらず、このように価値をお認めいただき、感慨無量です。私自身、医療や公衆衛生にわずかでも関わるような研究を自分が行うことになろうとは、本学会の大会に参加するようになった学生のときには予想だにしませんでした。本稿では、私がこの研究に携わることになった経緯と、これまでの研究のあらましをご紹介します。

2. ペストワクチン候補タンパク質を発現する 遺伝子組換えトマトの施設生産技術に関する研究

バイオテクノロジーを用いて、植物に外来遺伝子（当該植物は生来持っておらず、他の生物等に由来する遺伝子）を導入して、植物に有用タンパク質を生産させることができます。有用タンパク質とは、医薬品、医薬部外品、化粧品、試薬の原材料等として利用しうる高付加価値のタンパク質のことであり、その種類としては、ワクチン抗原、抗体、酵素、成長因子等が挙げられます。現在これらの有用タンパク質の多くは、哺乳動物細胞や微生物を用いた培養等によって生産されていますが、植物個体を用いることで、生産コストの低減、需要に応じた生産規模の調整、生産過程での病原体・毒素混入のリスクの低減等を図ることができると考えられています。この技術では遺伝子組換え生物等を取り扱うこととなりますので、組換え遺伝子の自然界への漏洩を防止するために、露地圃場ではなく、人工光型植物工場や閉鎖系温室で植物を栽培する必要があります。

ここに、農業気象学の一分野である施設内の環境調節との接点があるわけです。植物利用型有用タンパク質生産の概要と現状につきましては、「生物と気象」で発表した総説(松田・的場, 2022)に多少詳しく記述しましたのでご覧下さい。以後、植物を用いて生産した有用タンパク質を、*plant-made pharmaceutical* を略した *PMP* と呼びます。

私が *PMP* に関する研究を開始したのは、2007~08年の米国アリゾナ大学(UA)でのポスドク時代のことです。学生時代には、東京大学 農学部・大学院農学生命科学研究科生物環境工学研究室で、教授の藏田憲次先生、助教授の富士原和宏先生、助手の大橋(兼子)敬子先生のご指導の下、植物栽培での利用が広がりつつあったLEDを用いて、青色光が植物の光合成と生長に及ぼす影響について研究しました(Matsuda *et al.*, 2004, 2007, 2008; Ohashi-Kaneko *et al.*, 2006)。博士課程修了後は海外での経験を積みたいと考え、当時UAにおられた久保田智恵利先生にお願いして受け入れていただきました。当時、久保田ラボでは、アリゾナ州の別の州立大学であるアリゾナ州立大学(ASU)の植物バイオテクノロジーのグループと共同で、遺伝子組換えトマトを用いた「食べるワクチン」の温室生産のプロジェクトが立ち上がったところでした。「食べるワクチン」とは、植物体の可食部にワクチン抗原タンパク質を蓄積させ、収穫後に最小限の加工(凍結乾燥、粉末化など)を施したものを経口投与することで免疫(粘膜免疫)を誘導するという、新しいコンセプトのワクチンです。発展途上国へのワクチン供給やバイオテロ対策に有効であるとして注目を集めていました。久保田先生からこのプロジェクトを紹介されて興味を持ち、ぜひ関わらせてほしいとお願いしました。この技術が、温室のみならず人工光型植物工場でも重要な研究対象になりそうな予感もありましたが、それよりも「新しく面白そう」という好奇心の赴くまま、という部分が大きかったと思います。

共同研究者から提供された植物は、ペストに対するサブユニットワクチン候補タンパク質(ペスト菌由来のF1タンパク質とVタンパク質の融合タンパク質F1-V)を発現するよう遺伝子組換えされたトマトでした。それまではグロースチャンパーでしか栽培されたことがなく、温室での生産性を評価するため、キャンパス内の組換え植物を栽培可能な温室(立体駐車場の屋上の実験温室で、パッドアンドファ

<https://agrmet.jp/wp-content/uploads/2023-F-2.pdf>

2023年6月7日 受付

Copyright 2023, The Society of Agricultural Meteorology of Japan

ン冷房も付いていました)で、ロックウール養液栽培やハイワイヤー誘引・整枝等の商業温室で採用される栽培方法で長期多段栽培を行いました。同時に、組換え体のバックグラウンドの固定種やアリゾナ州で商業生産されていた多収品種も栽培し、それらと光合成速度、生育、収量、果実の可溶性総タンパク質 (TSP) 含量等を比較しました。その結果、温室では果実 F1-V 含量がグロースチャンパーで観察されたレベルよりも低くなること、多収品種で果実 TSP 含量が高いわけではなく、果実そのもののバイオマス生産性と果実に含まれるタンパク質の生産性とは必ずしも相関しないことなどがわかりました (Matsuda *et al.*, 2009)。その後、対象品種を増やして果実タイプや一果重と果実 TSP 含量との関係をさらに調べ、それらの間にやはり相関がないことを確認しました (Matsuda & Kubota, 2010)。

さて、この長期多段栽培試験の過程で、果実生体重量あたりの F1-V 含量が、着色の始まった果実で著しく低下することが観察されました。このこと自体は共同研究者の研究で既知でしたが、もしかすると着色前の緑色果実の時点で、すでに果実生長とともに F1-V 含量が低下し始めているのではないかと考え、さまざまな生長段階の緑色果実内 F1-V 含量を調べると、予想どおりの結果でした。1 果あたりに含まれる総 F1-V 量で評価しても、生長途中の小さな果実ですでに最大に達しており、これに基づいて F1-V 収量を最大化する緑色果実の無摘果・早期収穫法を提案しました

(Matsuda *et al.*, 2010a)。さらに、養液栽培の培養液の硝酸態窒素 (NO₃-N) 濃度を高めたり、塩化ナトリウム添加により電気電動度 (EC) を高めることで、F1-V 生産量の向上を狙う研究も行いました。NO₃-N 濃度については残念ながら明瞭な影響が見られず、高 EC については (こちら予想に反し) 果実 F1-V 含量に負の影響が見られ、後者の内容のみが論文になりました (Matsuda *et al.*, 2012)。

何ぶん類似例のほとんどない研究で試行錯誤も多く、なかなか思うようには進みませんでした。自分が興味を持つ新しい研究に挑戦できたことは僥倖だったといえます。久保田先生にこのような機会をいただき、感謝の念に堪えません。

3. インフルエンザワクチンタンパク質を用いた一過性遺伝子発現法における環境調節に関する研究

UA 時代に、ASU におられた的場伸行先生を久保田先生にご紹介いただきました。的場先生のご専門はタンパク質医薬開発で、PMP 分野のパイオニアである Charles Arntzen 先生のグループで Research Assistant Professor として活躍しておられました。的場先生は、PMP について素人同然であった私に多くのことを教えて下さいましたが、中でもこれからの PMP 生産法の主流はタバコの近縁種であるベンサミアナタバコ (*Nicotiana benthamiana*) を用いた一過性遺伝子発現法になるだろうとの先生のお話に、大変興味を惹かれました。一過性遺伝子発現法とは、播種後 1 か月程度の非組換えベンサミアナタバコに、後天的に有用タンパク質の遺伝子を導入し、その後 1~2 週間かけて植物体内に有用タ

ンパク質を蓄積させ、収穫後に抽出・精製して PMP として利用するものです。この遺伝子導入方法 (減圧浸潤法) がユニークでして、植物体を上下反転して、地上部のみをアグロバクテリウムという細菌を懸濁した液体に浸漬します。全体を減圧し、また大気圧に戻すことで、懸濁液を葉内の細胞間隙に浸潤させます。すると、アグロバクテリウムが植物細胞に感染し、あらかじめアグロバクテリウムに持たせていた有用タンパク質の遺伝子が植物細胞内に挿入され、発現するという仕組みです。組換え植物を用いる方法に比べて、短期間で有用タンパク質を生産できるという利点があります。さらに、当時開発されたばかりの植物ウイルス由来遺伝子を利用した解体ウイルスベクターを用いることで、従来よりも飛躍的に高い有用タンパク質蓄積量が得られることが発表されたところでした。まず、遺伝子の導入方法が面白いですし、こんなに簡単な方法で植物に外来遺伝子を発現させることができることにも驚きました。また、農業気象・施設園芸の観点では、遺伝子を導入する前と後の環境が、有用タンパク質生産量にそれぞれどのような影響を及ぼすのかということが最も気になる点でした。早速、的場先生にベンサミアナタバコの種子を分譲していただき、予備的試験として遺伝子を導入せずに人工光栽培試験や光合成測定等を行いました。ベンサミアナタバコの光飽和点は低く、草丈も低いので、人工光栽培に適した植物種であるとわかりました。

しかし、UA での研究はここで時間切れとなります。運良く、農業・食品産業技術総合研究機構 (農研機構) 野菜茶業研究所 (現 野菜花き研究部門) の研究員として内定をいただいた私は、1 年半を過ごしたアメリカを後にし、オランダワゲニンゲン大学での 3 か月間の客員研究員を経て、2009 年 4 月より愛知県にありました武豊野菜研究拠点の高収益施設野菜研究チームでお世話になることになりました。農研機構では専ら施設園芸の研究を行い (Matsuda *et al.*, 2010b, 2011a, b, c, 2013), PMP の研究からは離れることになりましたが、ご縁があり、翌 2010 年 6 月に古巣の東京大学生物環境工学研究室に教員として戻ることになりました。これを機に独自の研究テーマを展開しようと意気込み、手探りでいくつかの新たなテーマに着手することにしました。そのうちの 1 つが、温めていた一過性遺伝子発現法を対象とした環境調節の研究です。ありがたいことに、研究室の教授の富士原先生は本研究に多大なるご理解をお示し下さり、本研究の遂行を後押しして下さいました。PMP の研究にはライフサイエンス系の高額な分析機器や試薬が必要です。的場先生のご協力も得て、科研費申請の準備を進め、翌年度に運良く若手研究 (B) に採択していただきました。これ以降現在に至るまで、何らかの競争的研究費または財団研究助成を継続的にいただいて PMP 研究を続けられていることは、幸運としか言いようがありません。さらに、それ以上に恵まれたことは、多くの優秀な学生がこの研究テーマに興味を持ち、卒論・修論・博論研究として一緒に取り組んでくれたことです。

これまでに、インフルエンザワクチンタンパク質であるヘマグルチニン (HA) をモデルタンパク質、magnICON®ベ

クターをモデル発現系とし、主に人工光型植物工場を想定して、一過性遺伝子発現法における環境調節の研究を進めてきました。これまでの成果をまとめます。まず遺伝子導入前については、個体の生育に好適な PPFD や気温等の環境条件 (Matsuda *et al.*, 2019; Matsuda, 2022) や栽植密度等の栽培条件 (Fujiuchi *et al.*, 2017) が有利であり、遺伝子導入時点での個体あたりの葉バイオマスと遺伝子導入後に葉内に蓄積するバイオマスあたり HA 含量との間には緩やかな正の相関がありました。遺伝子導入後の環境がたとえ同じであっても、導入時の植物の状態によって、導入後の有用タンパク質生産性が異なることとなります。葉バイオマスそのものが HA 合成に効くというよりも、バイオマス生産の促進に伴い、HA 合成に利用される資源量や酵素活性等が高まることを反映しているものと推察していますが、その実体は残念ながら未解明です。他方、例えば 1 日あたり 24 時間の連続明期など、バイオマス生産量を高めるものの、植物にとってストレスになり得る環境条件では、個体あたりの HA 生産量は高くなりません (Matsuda, 2021)。またこれら以外に、培養液 NO₃-N 濃度を高めると、個体あたりの HA 生産量を高められるわけではないものの、バイオマスあたりの HA 含量が高まる、すなわち個体内で HA があかかも「濃縮」されることにより、その後の抽出・精製過程にメリットがあることも示しました (Fujiuchi *et al.*, 2014)。

次に、遺伝子導入後については、温度の顕著な影響が挙げられます。一般に、遺伝子導入後、葉 HA 含量はその合成に伴って増加し、ある時点 (導入から数日後) で最大値に達した後、今度は分解に伴って減少します。HA を植物細胞内の小胞体 (ER) 内に蓄積させると (この手法は、植物細胞内での有用タンパク質蓄積量向上を目的として、しばしば用いられる遺伝子工学技術の 1 つです)、通常のベンサミアナタバコの生育適温付近である気温 25°C では、葉に顕著な壊死が生じてしまいます (Matsuda *et al.*, 2012)。この場合、葉 HA 含量は遺伝子導入後 4 日目前後にピークを迎えたのち、急速に減少します。他方、気温を 20°C 程度まで低下させると、葉 HA 含量がピークに達するまでの日数は 2 日ほど延びますが、ピークに達した後も比較的高い含量を維持します (Matsuda *et al.*, 2017a)。PMP 生産に適した環境は、通常の生育に適した環境と同じとは限らないという一例です。また、この温度に対する葉 HA 含量の応答性の高さに関連して、いくつか興味深い現象も観察されました。遺伝子導入後の栽培光源に LED と蛍光灯を用いた場合では、気温を同レベルに制御しても、葉 HA 含量に有意な差が生じます。これは光源によって表面温度が異なり、葉に入射する光源からの長波放射量が異なることにより、気温が同じでも葉温に差が生じることにより (Matsuda *et al.*, 2017b)。また、遺伝子導入後には、気孔が徐々に閉じていくことにより、日ごとに葉温の上昇が見られるのですが、葉温が最大となる日は、気温によらず、葉 HA 含量が最大となる日のおよそ 1 日前であることを見出しました (Matsuda *et al.*, 2018b)。実用的には、仮に栽培空間内に気温の不均一性があったとしても、葉温の変化をモニターすることで、個体ごと、あるいは葉ごとに、葉 HA 含量がピークに達す

る日を予測し得る可能性を示しており、PMP 生産における非接触収穫適期判別技術として活用できるかもしれません。

これらの他に、遺伝子導入のための減圧浸潤処理直前の植物体への物理的処理の効果 (Matsuda *et al.*, 2018a) や、当時博士課程であった藤内直道さんが主体的に進めた切離葉を用いた有用タンパク質生産における環境調節 (Fujiuchi *et al.*, 2016b, 2021) 等の研究も行いました。また、一過性遺伝子発現法における栽培環境の影響についてのレビューも発表しました (Fujiuchi *et al.*, 2016a)。現在は、遺伝子導入前後のそれぞれにおいて、PMP 生産に特化した環境調節を考案してその効果を検証するとともに、効果をもたらす生理的メカニズムを解明するための研究にもチャレンジしています。

4. おわりに

私の研究を通じて、農業気象学の知識・知見や培われてきた技術を応用できる範囲が広がり、結果として農業気象学の発展にわずかなりとも寄与することになったのであれば、願ってもないことです。今回の受賞を励みにしてより一層研究に邁進し、農業気象学のさらなる発展のため、自分なりの貢献の仕方を模索したいと思います。

私の恩師の蔵田憲次先生が、「コンピュータシミュレーションによる温室環境の最適制御に関する基礎的研究」で本学会の学術賞を受賞された際の記念講演要旨 (蔵田, 1992) の結びに、「反省と展望」として、次のように書かれています。

「過去の研究は生物の周りをぐるぐる回っていただけである。生物そのものと格闘してはいない。今後は、もっと生物に近づくべきだと考えているが、その糸口がつかめない状況である。生物はあまりにも巨大すぎ、私はあまりにも非力すぎるといふことであろう。ただ、次のような印象を持っている。工学的手法を身につけた人が、自らの手法をなんら反省することなく生物と取り組むと、生物に足元をすくわれる。私は工学的手法を身につけているわけではないが、どちらかといえば工学的発想をしてきた。生物に負けないためには、どうアプローチしたらいいのであろうか。」

今あらためてこの文章を読み返して、本学会の中では比較的生物寄りの私の研究志向や研究者としての姿勢は、蔵田先生がお持ちになったこのような問題意識にそのルーツがあり、先生に賜ったご指導を通じて涵養されたものであると実感します。私も、研究上の本質的な課題を常に意識するとともに、教育者の端くれとして、次世代に引き継ぐべき大事なことや、教育の中に取り入れるべき新たなことは何かを考えながら、後進の育成に携わりたいと思います。

謝辞

蔵田憲次先生 (東京大学名誉教授)、富士原和宏先生 (同教授)、大橋 (兼子) 敬子先生 (現 玉川大学教授) には、私が卒論生として東京大学の生物環境工学研究室に配属されてから現在に至るまで、本当に多くのご指導、ご鞭撻を賜

りました。藏田先生には常に前向きなお言葉を賜りました。研究者・教育者がどうあるべきかについて、先生から沢山のことを学びました。富士原先生は、私が学生るときには厳しくも優しいご助言を、また教員として研究室に戻ってからは自由な研究環境をお与え下さり、一過性遺伝子発現法の研究に共同研究者として関わって下さいました。大橋先生は、私に植物生理・生化学の基礎を授けて下さいました。これなくして、PMP の分野に飛び込むことはできませんでした。久保田智恵利先生（現 オハイオ州立大学教授）は、私が本研究に取り組む契機を与えて下さっただけでなく、研究者としての心得も授けて下さいました。UA での経験は今も私の心の拠り所です。的場伸行先生（現 ルイビル大学教授）には、10 年以上にわたる共同研究を通じて、この分野のいろはや最新の情報、実験技術、さらにはアカデミアからの産業への貢献のあり方に至るまで、数多くのことを教わりました。藏田先生、富士原先生、大橋先生、久保田先生、的場先生に、格別の感謝を申し上げます。

渋谷俊夫先生（大阪公立大学教授）には、私が代表者を務めた研究費の評価委員を快くお引き受けいただき、鋭い視点からの数々の貴重なご示唆を賜りました。千葉大学の環境調節工学研究室では、後藤英司先生（千葉大学教授）、彦坂晶子先生（同准教授）、石神靖弘先生（現 高崎健康福祉大学准教授）が、経産省のプロジェクトで組換え植物による PMP 生産の研究開発を進めておられ、折に触れて有益なご指導とご助言を賜りました。日本の PMP 研究の草分けである松村健先生（元 産業技術総合研究所研究グループ長）ならびに藤山和仁先生（大阪大学教授）には、それぞれのご専門の立場から私の研究に対して的確なご指摘を頂戴するとともに、叱咤激励を賜りました。ASU におられた Guy Cardineau 先生（現 ASU 名誉教授）と Lucrecia Alvarez 博士（現 グレンデルコミュニティカレッジ教授）には、UA 時代のプロジェクトの共同研究でお世話になりました。UA では、客員教授を務めておられた高倉直先生（東京大学・長崎大学名誉教授）にも温かい励ましを賜りました。また Mark Kroggel 氏（現 オハイオ州立大学）には、研究上の、あるいは研究以外の面でも、多大なるサポートをいただきました。記して御礼申し上げます。

東京大学では、多くの学生の皆様のおかげで研究を遂行することができました。特に藤内直道博士（現 愛媛大学助教）は、博士課程で PMP の研究を強力に推進し、また後輩学生の指導でも頼りになる存在でした。職員の皆様にも大変お世話になりました。現在も助教のイ ジュン先生をはじめ、多くの研究室メンバーと協力して研究を進めています。上記の他に、過去に本研究に直接関わってくれたのは、榎引孝紀氏、田原亜希氏、阿部龍樹氏、西島宗直氏、阿部友之氏、上野彰大氏、大橋一寛氏、中井川博郁氏、渥美和音氏、巽遼太郎氏、浦山眞矢氏、池野明子氏、宮城尚子氏、山本夕紀氏です。また、現在一緒に関連の研究を進めている、あるいは間接的にサポートしていただいているのは、堀内尚美博士、Patthasarun Pruksarajanukul 氏、桐島健太郎氏、菊池要氏、前山温子氏、吉田桐絵氏、北川久美子氏、大越昌代氏、田中梨恵氏、吉川知江氏、橋本絵菜氏、西岡由美氏です。本

研究に直接的には関わっていない方も含めて、元・現研究室メンバーの皆様に深く感謝申し上げます。

引用文献

- Fujiuchi N, Matoba N, Fujiwara K, Matsuda R, 2021: Effects of lighting conditions on *Agrobacterium*-mediated transient expression of recombinant hemagglutinin in detached *Nicotiana benthamiana* leaves inoculated with a deconstructed viral vector. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **145**, 679–688.
- Fujiuchi N, Matoba N, Matsuda R, 2016a: Environment control to improve recombinant protein yields in plants based on *Agrobacterium*-mediated transient gene expression. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **4**, 23.
- Fujiuchi N, Matsuda R, Matoba N, Fujiwara K, 2014: Effect of nitrate concentration in nutrient solution on hemagglutinin content of *Nicotiana benthamiana* leaves in a viral vector-mediated transient gene expression system. *Plant Biotechnology* **31**, 207–211.
- Fujiuchi N, Matsuda R, Matoba N, Fujiwara K, 2016b: Removal of bacterial suspension water occupying the intercellular space of detached leaves after agroinfiltration improves the yield of recombinant hemagglutinin in a *Nicotiana benthamiana* transient gene expression system. *Biotechnology and Bioengineering* **113**, 901–906.
- Fujiuchi N, Matsuda R, Matoba N, Fujiwara K, 2017: Effects of plant density on recombinant hemagglutinin yields in an *Agrobacterium*-mediated transient gene expression system using *Nicotiana benthamiana* plants. *Biotechnology and Bioengineering* **114**, 1762–1770.
- 蔵田憲次, 1992: コンピュータシミュレーションによる温室環境の最適制御に関する基礎的研究, *農業気象* **48**, 89–92.
- Matsuda R, 2021: A 24-h photoperiod before gene transfer promotes biomass production but not the yield of influenza hemagglutinin transiently expressed in *Nicotiana benthamiana*. *Journal of Agricultural Meteorology* **77**, 278–283.
- Matsuda R, 2022: Inter-batch variability of hemagglutinin content transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* plants grown under sole-source lighting and sunlight conditions before gene transfer. *Journal of Agricultural Meteorology* **78**, 164–173.
- Matsuda R, Abe T, Fujiuchi N, Matoba N, Fujiwara K, 2017a: Effect of temperature post viral vector inoculation on the amount of hemagglutinin transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* leaves. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **124**, 346–350.
- Matsuda R, Abe T, Fujiwara K, 2017b: Viral vector-based transient gene expression in *Nicotiana benthamiana*: effects of light source on leaf temperature and hemagglutinin content. *Plant Cell Reports* **36**, 1667–1669.
- Matsuda R, Ahn DH, Nakano A, Suzuki K, Takaichi M, 2013: Leaf gas-exchange characteristics of four Japanese and four Dutch tomato cultivars grown in a greenhouse. *Scientia*

- Horticulturae* **156**, 19–23.
- Matsuda R, Kubota C, 2010: Variation of total soluble protein content in fruit among six greenhouse tomato cultivars. *HortScience* **45**, 1645–1648.
- Matsuda R, Kubota C, Alvarez ML, Cardineau GA, 2009: Biopharmaceutical protein production under controlled environments: growth, development, and vaccine productivity of transgenic tomato plants grown hydroponically in a greenhouse. *HortScience* **44**, 1594–1599.
- Matsuda R, Kubota C, Alvarez ML, Cardineau GA, 2010a: Determining the optimal timing of fruit harvest in transgenic tomato expressing F1-V, a candidate subunit vaccine against plague. *HortScience* **45**, 347–351.
- Matsuda R, Kubota C, Alvarez ML, Cardineau GA, 2012: Effect of high electrical conductivity of hydroponic nutrient solution on vaccine protein content in transgenic tomato. *HortTechnology* **22**, 362–367.
- Matsuda R, Kushibiki T, Fujiuchi N, Fujiwara K, 2018a: Agroinfiltration of leaves for deconstructed viral vector-based transient gene expression: infiltrated leaf area affects recombinant hemagglutinin yield. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* **59**, 547–555.
- 松田 怜・的場伸行, 2022: 植物工場を利用した医薬用タンパク質生産, *生物と気象* **22**, 58–68.
- Matsuda R, Nakano A, Ahn DH, Suzuki K, Yasuba K, Takaichi M, 2011a: Growth characteristic and sink strength of fruit at different CO₂ concentrations in a Japanese and a Dutch tomato cultivar. *Scientia Horticulturae* **127**, 528–534.
- Matsuda R, Ohashi-Kaneko K, Fujiwara K, Goto E, Kurata K, 2004: Photosynthetic characteristics of rice leaves grown under red light with or without supplemental blue light. *Plant and Cell Physiology* **45**, 1870–1874.
- Matsuda R, Ohashi-Kaneko K, Fujiwara K, Kurata K, 2007: Analysis of the relationship between blue-light photon flux density and the photosynthetic properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves with regard to the acclimation of photosynthesis to growth irradiance. *Soil Science and Plant Nutrition* **53**, 459–465.
- Matsuda R, Ohashi-Kaneko K, Fujiwara K, Kurata K, 2008: Effects of blue light deficiency on acclimation of light energy partitioning in PSII and CO₂ assimilation capacity to high irradiance in spinach leaves. *Plant and Cell Physiology* **49**, 664–670.
- Matsuda R, Suzuki K, Nakano A, Higashide T, Takaichi M, 2011b: Responses of leaf photosynthesis and plant growth to altered source-sink balance in a Japanese and a Dutch tomato cultivar. *Scientia Horticulturae* **127**, 520–527.
- Matsuda R, Suzuki K, Nakano Y, Sasaki H, Takaichi M, 2010b: Daily based quantitative nutrient management in rockwool hydroponics: growth and yield of tomato and nutrient use at elevated CO₂. *Journal of Agricultural Meteorology* **66**, 217–226.
- Matsuda R, Suzuki K, Nakano Y, Sasaki H, Takaichi M, 2011c: Nutrient supply and fruit yields in tomato rockwool hydroponics under daily quantitative nutrient management: analysis and evaluation based on leaf area index. *Journal of Agricultural Meteorology* **67**, 117–126.
- Matsuda R, Tahara A, Matoba N, Fujiwara K, 2012: Virus-vector mediated rapid protein production in *Nicotiana benthamiana*: effects of temperature and photosynthetic photon flux density on hemagglutinin accumulation. *Environment Control in Biology* **50**, 375–381.
- Matsuda R, Ueno A, Fujiwara K, 2019: Effects of environmental conditions before gene transfer on the amount of influenza hemagglutinin transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* leaves. *Journal of Agricultural Meteorology* **75**, 129–136.
- Matsuda R, Ueno A, Nakaigawa H, Fujiwara K, 2018b: Gas exchange rates decrease and leaf temperature increases in *Nicotiana benthamiana* leaves transiently overexpressing hemagglutinin in an *Agrobacterium*-assisted viral vector system. *Frontiers in Plant Science* **9**, 1315.
- Ohashi-Kaneko K, Matsuda R, Goto E, Fujiwara K, Kurata K, 2006: Growth of rice plants under red light with or without supplemental blue light. *Soil Science and Plant Nutrition* **52**, 444–452.