

持続可能生存圏開拓診断 (DASH) / 森林バイオマス評価分析システム

(FBAS) 全国・国際共同利用

1. 共同利用施設および活動の概要

人類が持続的生存を維持するためには、太陽エネルギーによる再生可能な植物資源によって、食糧生産、資源確保、エネルギー供給を支えるシステムを構築することが、世界的な緊急課題となっている。また地球環境の保全のためには、植物を中心として、それを取り巻く大気、土壌、昆虫、微生物など様々な要素の相互作用、すなわち生態系のネットワークを正しく理解することも必要である。これらは当研究所のミッション1、4、およびアカシアプロジェクトに密接にかかわっている。そして、環境修復、持続的森林バイオマス生産、バイオエネルギー生産、高強度・高耐久性木質生産などを最終目標として、種々の有用遺伝子機能の検証と並び、樹木を含む様々な形質転換植物が作成されている。

こうした研究を支援するため、平成19年度の京都大学概算要求（特別支援事業・教育研究等設備）において、生存圏研究所は生態学研究センターと共同で「DASH システム」を申請し、これが認められて生存圏研究所に設置された。本システムは、樹木を含む様々な植物の成長制御、共生微生物と植物の相互作用、ストレス耐性など植物の生理機能の解析を行なうとともに、植物の分子育種を通じ、有用生物資源の開発を行なうものである。一方、平成18年度より全国共同利用として運用してきたFBASは、前者の分析装置サブシステムと内容的に重複するところが多いことから平成20年度よりDASHシステムと協調的に統合し、一つの全国・国際共同利用として運用することとした。後者は複雑な木質バイオマス、特にリグニンおよび関連化合物を中心として、細胞レベルから分子レベルにいたるまで正確に評価分析する、分析手法の提供をベースとした共同利用研究である。

本システムを構成する主要な機器と分析手法は以下の通りである。

主要機器

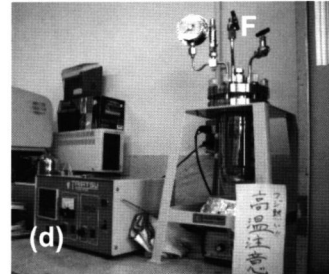
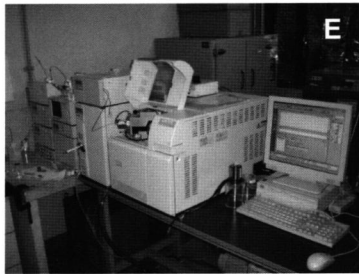
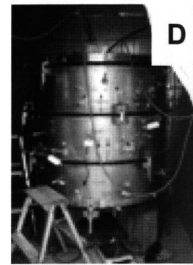
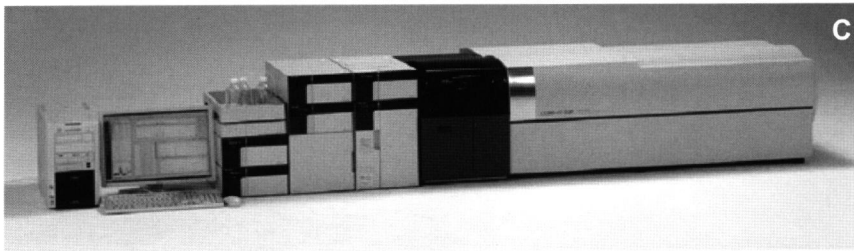
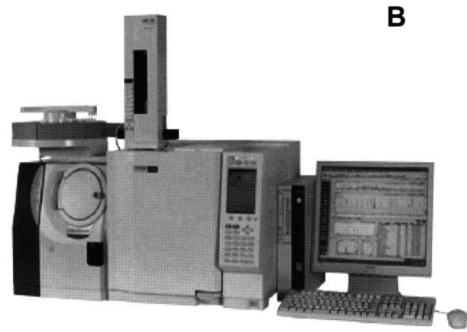
・DASH 植物育成サブシステム

組換え植物育成用（8温室＋1培養室＋1準備処理作業室） [図 A]

大型の組換え樹木にも対応（温室の最大高さ6.9m）

・DASH 分析装置サブシステム

- | | | |
|----------------|-------------|----------|
| 1) 代謝産物分析装置 | LCMS-IT-TOF | 1台 [図 C] |
| 2) 植物揮発性成分分析装置 | GC-MS | 2台 [図 B] |
| 3) 土壌成分分析装置 | ライシメータ | 2台 [図 D] |



図：DASH/FBAS 構成機器（抜粋）

・FBAS として共同利用に供する設備

四重極型ガスクロマトグラフ質量分析装置

高分解能二重収束ガスクロマトグラフ質量分析装置 [図 E]

四重極型液体クロマトグラフ質量分析装置 [図 F]

ニトロベンゼン酸化反応装置

その他の装置

核磁気共鳴吸収分光装置

透過型電子顕微鏡

主な分析手法

チオアシドリシス、ニトロベンゼン酸化分解（リグニン化学構造分析）

クラークソンリグニン法、アセチルブロマイド法（リグニン定量分析）

2. 共同利用研究の成果

2-1. 組換えダイズによる機能性ペプチド生産技術の開発

研究代表者：丸山 伸之（京都大学大学院農学研究科）

【研究目的と意義】ダイズ種子は貯蔵タンパク質をイネやトウモロコシに比べ豊富に含有しており、医薬品および健康食品素材などの有用タンパク質やペプチドを生産する植物工場として最も有効である。また、申請者らが解析したダイズ貯蔵タンパク質の立体構造および種子細胞内輸送・高蓄積機構の知見を利用することにより、高度に有用タンパク質やペプチドをダイズ種子に蓄積させることが可能である。そこで、ダイズ形質転換体の作出技術を用いて、アルツハイマー型痴呆症予防ペプチドをダイズ種子に蓄積させ、遺伝子組換えダイズを用いてアルツハイマー型痴呆症に対するワクチンの開発を行なう。

【H21年度の成果】ダイズ種子貯蔵タンパク質であるグリシニンのA1aB1bサブユニットをアルツハイマー型痴呆症予防ペプチドを導入するキャリアーとして利用した。立体構造上のディスオーダー領域を、ペプチドを導入するターゲットとして導入型A1aB1bサブユニットを設計し、ダイズ種子でそれらの発現タンパク質が蓄積することを確認した。さらに、内在性の貯蔵タンパク質を欠失しているダイズ系統をホストとして利用することにより、導入型A1aB1bサブユニットの蓄積量が増加することを明らかにした。電子顕微鏡での観察から、1-3か所にペプチドを導入したA1aB1bサブユニットは、導入前のものと同様にタンパク質貯蔵液胞に輸送されることが示された。以上より、アルツハイマー型痴呆症予防ペプチドを抗含有するダイズの開発に成功した。

2-2. ラジカル反応を統御する担子菌代謝物の構造解析

研究代表者：渡辺 隆司（京都大学生存圏研究所）

【研究目的と意義】生物的手法を用いてリグノセルロースから様々な有用ケミカルを生産するためには、植物細胞壁を固めるリグニンを破壊して、細胞壁多糖に酵素や微生物がアクセスできる状態に変換してやらなければならない。木材腐朽性担子菌の酸化的リグニン分解システムの利用がこの目的達成のための手段として注目されている。担子菌による木材腐朽では、リグニン分解酵素-リグニン間の直接反応や酵素-メディエーター反応に加えて、低分子物質の関与したラジカル生成システムがリグニン分解の選択性の制御の根幹に関与している。本研究では、木材腐朽の選択性に関与する代謝物群と、それらの発現におよぼす因子を明らかにするとともに、見出した鍵代謝物の構造と機能を解明することを目的とする。本研究は、担子菌のメタボロミクスの基盤構築に貢献するとともに、バイオマスの有効利用法の開発に寄与する。

【H21年度の成果】担子菌を木材腐朽条件と液体培養条件において培養し、菌体外画分を抽出、分画後、LCMS-IT-TOF分析に供し、菌体外代謝物のプロファイリングを取得した。その結果、ceriporic acidが酸化修飾されたと推定される代謝物を多数見出した。そこで、当該酸化代謝物の一つと予想されるceriporic acid C エポキシドをin vitro合成し、

LCMS-IT-TOF の保持時間、精密質量および MS/MS スペクトル解析の一致により同定した。また、還元、誘導体化反応後の酸化代謝物を GC-MS, LCMS-IT-TOF 分析に供し、構造解析を行なった。岩手生物工学研究センターの坂本裕一主任研究員と共同で子実体形成や酸化酵素メディエーターに寄与する代謝物を探索するため、木材腐朽菌代謝物の LCMS-IT-TOF 分析を行なった。

3. 共同利用状況

平成 17 年度から 21 年度に渡って共同利用状況については以下の通りである。本全国共同利用設備は、平成 18 年度と 19 年度 FBAS として共同利用を開始した。その後平成 19 年度の京都大学概算要求にて DASH の設置が認められた。内容的に両者で重複する部分が多かったため、平成 20 年度からは両者を融合して DASH/FBAS として全国共同利用の運用をしている。

DASH/FBAS の利用状況

期間	平成 17 年度	平成 18 年度 (FBAS)	平成 19 年度 (FBAS)	平成 20 年度 (DASH/FBAS)	平成 21 年度 (DASH/FBAS)
採択課題数		8	8	15	22
共同利用者 数(延べ人数)		25	45	97	129

*：共同利用者数は各課題の研究代表者と研究協力者の延べ人数

4. 専門委員会の構成及び開催状況（平成 21 年度）

平成 22 年 3 月現在の専門委員会を構成する委員名・所属先は以下の通りである。
 矢崎一史（生存圏研究所・委員長）、西谷和彦（東北大学大学院）、村中俊哉（横浜市立大学）、青木俊夫（日本大学）、河合真吾（静岡大学）、重岡成（近畿大学）、太田大策（大阪府立大学大学院）、松井健二（山口大学大学院）、柴田大輔（財団法人かずさ DNA 研究所）、明石良（宮崎大学）、高部圭司（京都大学大学院）、高林純示（生態学研究センター）、大串孝之（生態学研究センター）、津田敏隆（生存圏研究所）、塩谷雅人（生存圏研究所）、渡邊隆司（生存圏研究所）、梅澤俊明（生存圏研究所）、杉山淳司（生存圏研究所）、山川宏（生存圏研究所）、林隆久（生存圏研究所）、黒田宏之（生存圏研究所）、馬場啓一（生存圏研究所）、服部武文（生存圏研究所）

平成 21 年度の専門委員会は、共同利用申請課題の審査、採択に関して、メール会議にて開催した。主な開催日は以下の通りである。

平成 22 年 2 月 10 日 申請研究課題の審査依頼

平成 22 年 3 月 5 日 申請研究課題の採択結果について承認