

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) 全国国際共同利用専門委員会

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

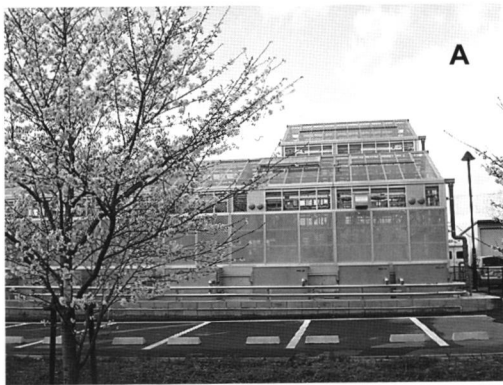
・DASH 植物育成サブシステム

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

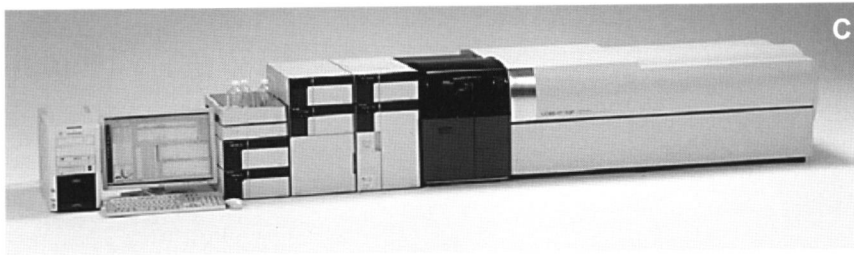
- | | | |
|----------------|-------------|----------|
| 1) 代謝産物分析装置 | LCMS-IT-TOF | 1台 [図 C] |
| 2) 植物揮発性成分分析装置 | GC-MS | 2台 [図 B] |
| 3) 土壌成分分析装置 | ライシメータ | 2台 [図 D] |



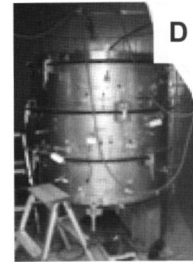
A



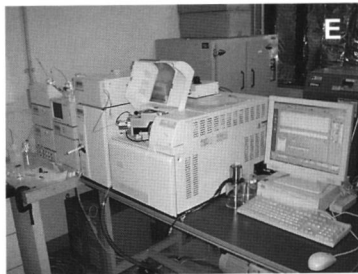
B



C



D



E



F

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

共同利用研究の成果の代表的な例として、本年度は遺伝子組み換えユーカリに関する共同利用（学外）と、遺伝子組み換えダイズを用いた機能性物質生産に関する共同利用（所外）の2例を取り上げて後に紹介する。

また共同利用研究活動の中で作成された修士論文、博士論文のリスト、共同利用研究の成果による学術賞および学術論文誌に発表された論文リストは以下のとおりである。

共同利用の研究活動の中で作成された修士論文（平成22年度）

- ・植物からのイソプレン放出の高温耐性メカニズム（馬場 奈央登）
- ・ミヤコグサの根と根粒で発現するトランスポータ LjABCG1 の生理機能（福田 正充）
- ・ダイズβ-コングリシニン高集積米の開発（加藤 直樹）平成22年度
- ・セルロース合成酵素の電子顕微鏡による三次元再構成（菅野 亜美）
- ・イネカフェー酸 OMT の機能解析（廣瀬孝江）

共同利用の研究活動の中で作成された博士論文（平成22年度）

- ・ミヤコグサ-根粒菌の共生に関わる機能性低分子の動態と生理的役割（高梨 功次郎）

共同利用研究の成果による学術賞、及び学術論文誌に発表された論文

<学会発表>

- 1) 加藤 直樹、甘利 芳樹、恵京 敦史、澤田 真千子、奥田 英子、増田 太郎、高岩 文雄、内海 成、丸山 伸之
ダイズβ-コングリシニン高集積米の開発
日本農芸化学会 2010 年度大会
- 2) 加藤 直樹、甘利 芳樹、恵京 敦史、澤田 真千子、奥田 英子、増田 太郎、長岡 利、黒田 昌治、高岩 文雄、内海 成、丸山 伸之
ダイズβ-コングリシニン高集積米の開発
日本育種学会 2010 年度秋季大会

<論文>

- Nakagawa, T., Kaku, H., Shimada, Y., Sugiyama, A., Shimomura, M., Takanashi, K., Yazaki, K., Aoki, T., Naoto, S., Kouchi, H., From defense to symbiosis: Limited alterations in the kinase domain of LysM receptor-like kinases are crucial for evolution of legume-*Rhizobium* symbiosis, *Plant J.*, in press.
- Koeduka, T., Shitan, N., Kumano, T., Sasaki, K., Sugiyama, A., Linley, P., Kawasaki, T., Ezura, H., Kuzuyama, T., Yazaki, K., Production of prenylated flavonoids in tomato fruits expressing a prenyltransferase gene from *Streptomyces coelicolor* A3(2), *Plant Biol.*, 13 (2), 411–415 (2011).
- Ohara, K., Sasaki, K., Yazaki, K., Two solanesyl diphosphate synthases with different subcellular localizations and their respective physiological roles in *Oryza sativa*. *J. Exp. Bot.*, 61 (10), 2683-2692, (2010).
- Harada, E., Hokura, A., Takada, S., Baba, K., Terada Y., Nakai, I., Yazaki, K., Characterization of cadmium accumulation in willow as a woody metal accumulator using synchrotron radiation-based X-ray microanalyses. *Plant Cell Physiol.*, 51 (5), 848-853 (2010).

- Tsurumaru, Y., Sasaki, K., Miyawaki, T., Momma, T., Umemoto, N., Yazaki, K., An aromatic prenyltransferase-like gene HIPT-1 preferentially expressed in lupulin glands of hop. *Plant Biotech.*, 27 (2), 199-204 (2010).
- Motoyama, T., Okumoto, Y., Tanisaka, T., Utsumi, S., Maruyama, N. Co-expression of α' and β subunits of β -conglycinin in rice seeds and its effect on the accumulation behavior of the expressed proteins. *Transgenic Research* 19, 819-827 (2010)
- Motoyama, T., Amari, Y., Tandang-Silvas, MR., Cabanos, C., Kimura, A., Yoshikawa, M., Takaiwa, F., Utsumi, S., Maruyama, N. Developing transgenic rice with mutated β subunit of soybean β -conglycinin containing phagocytosis-stimulating peptide. *Peptides* 31, 1245-1250 (2010)
- Watanabe, T., Shitan, N., Shiro, S., Umezawa, T., Shimada, M., Yazaki, K. and Hattori, T.: An oxalate efflux transporter from the brown-rot fungus *Fomitopsis palustris*. *Applied and environmental microbiology*, 76, 7683-7690 (2010).
- Muroi A., Arimura G., Future prospects of GM plant-based plant-plant communications. *J. Plant Interact.* in press.
- Yamamura M, Hattori T, Suzuki S, Shibata D, Umezawa T, Microscale alkaline nitrobenzene oxidation method for high-throughput determination of lignin aromatic components, *Plant Biotechnology* (2010) 27, 305-310
- Yamamura M, Wada S, Sakakibara N, Nakatsubo T, Suzuki S, Hattori T, Sakurai N, Suzuki H, Shibata D, Umezawa T, Occurrence of guaiacyl/*p*-hydroxyphenyl lignin in *Arabidopsis thaliana* T87 cells, *Plant Biotechnology* (2011) 28, 1-8.

< 総説 >

Maruyama, N., Mikami, B., Utsumi, S., Development of transgenic crops to improve human health by advanced utilization of seed storage proteins, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (2011) in press

< 著書 >

Maruyama, N., Motoyama, T., Yoshikawa, M., Takaiwa, F., Utsumi, S. Seed storage proteins; Application to develop crops promoting a human health, *Soybean, In Tech, Vienna Austria* (2011) in press

共同利用研究の成果の例

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、我々が解析したダイズ種子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った。

【研究成果】ダイズの主要な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。電子顕微鏡観察から、1-3ヶ所にペプチドを導入した A1aB1b サブユニットの多くは、導入前のものと同様にタンパク質貯蔵液胞に輸送され、蓄積していた。以上より、アルツハイマー型痴呆症予防ペプチドを高含有するダイズの開発に成功した。

2) 形質転換植物の細胞壁成分の解析

研究代表者：日尾野隆（王子製紙株式会社）

【研究目的と意義】ルブ原料のための新品種ユーカリの開発を目指して遺伝子組換えによる木部材質の改良を行っている。これまでに材質の本質である細胞壁の形成に関わる転写制御因子をコードするユーカリ遺伝子を同定し、これを構成的に、あるいは木部特異的に過剰発現させた形質転換ユーカリを作出した。形質転換ユーカリにおける導入遺伝子の発現量と表現型の強さに相関がみられた形質転換群について、細胞壁成分等の分析をおこない、実用化への基礎データとする。

【H21年度の成果】P35S:EcHB1 と PEcCCOMT:EcMYB2 形質転換ユーカリで導入遺伝子発現量に相関する表現型が観察されている。リグニン分析を行った結果、PEcCCOMT:EcMYB2 形質転換ユーカリでは細胞壁残渣のリグニン含量の減少、細胞壁抽出成分量の増加、リグニン組成のうちのシリングアルデヒドの減少が観察された。一方、P35S:EcHB1 形質転換ユーカリでは、セルロース含量の増加、並びに細胞壁が厚くなることが示された。また、P35S:EcHB1 形質転換ユーカリにおいて、水利用率の上昇も確認されており、EcHB1 遺伝子の実用利用効果が高いことが示唆された。

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。内容的に両方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	平成 18 年 FBAS	平成 19 年 FBAS	平成 20 年 DASH/FBAS	平成 21 年 DASH/FBAS	平成 22 年 DASH/FBAS
採択課題数		8	8	15	22	17
共同利用者数(延べ人数)**		25	45	97	129	95 (学内 68 学外 27)

*：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 22 年度）（18 名）

平成 23 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）、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）、黒田宏之（生存圏研究所）

平成 22 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 23 年 1 月 31 日 申請研究課題の審査依頼

平成 23 年 3 月 17 日 申請研究課題の採択結果について承認

5. 特記事項

この年度は夏の猛暑が顕著で、DASH 植物育成サブシステムの電気代の消費が大きかった。また利用形態にもよるところが大きいが、今年度は藻の発生が著しく排水槽のフィルターが目詰まりがひどく、夏場はトラブルシューティングに追われた。そのため、不織布を利用するなど運用面での工夫に加え、新たな改良工事を行い、前室（植物処理室）にある流路系にプレフィルターを設置した。さらに排水効率の改善のため D-室の排水溝の傾斜を上げる等の工事を行った。また、耐震改修の第 4 工区が完成したこの期に利用者の便宜を図るため、北棟 5 階に DASH 利用者のための植物培養室を設置することとした。