

## 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

委員長 矢崎一史 (京都大学生存圏研究所)

#### 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

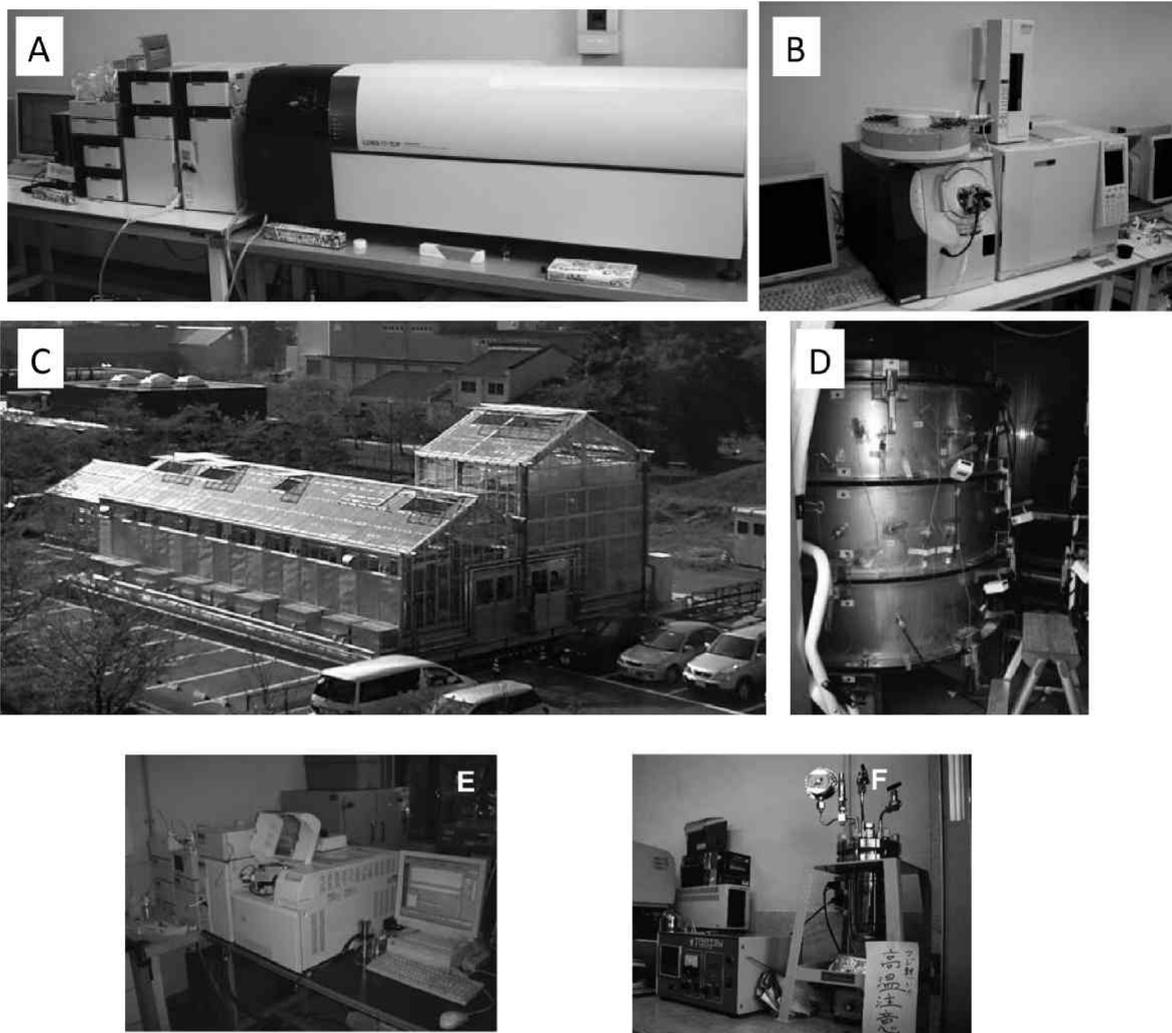
##### ・DASH 分析装置サブシステム

1) 代謝産物分析装置	LCMS-IT-TOF	1台 [図 A]
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]

##### ・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 C]

大型の組換え樹木にも対応 (温室の最大高さ 6.9m)



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24年度）

- ・ ミヤコグサ MATE 型輸送体の発現特性と機能解析（太田喜寛）
- ・ ミヤコグサ根粒における輸送体 SWEET 及び ALMT の解析（齊田有桂）
- ・ レモンのクマリン基質プレニル基転移酵素の機能解析（棟方涼介）
- ・ ダイズ根におけるイソフラボノイド分泌機構の生化学的解析（山下和晃）
- ・ Crystallization of hinokiresinol synthase（ヒノキレジノール合成酵素の結晶化）  
(母利大地)

### 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>

- Hiroshi Nishimura, Wood Biomass Conversion: Lignin Biodegradation and Structural Analysis, Humansphere Science School (HSS2012), 46-51, Bandung, Indonesia (Lecture), 2012.8.28
- Hiroshi Nishimura, Masato Katahira, Takashi Watanabe, Analysis of wood cell wall structures and secondary metabolites during the biodegradation of white-rot fungi using solution NMR, Lignobiotech II, Fukuoka, Japan (Plenary Lecture), 2012.10.16
- Mikame, K., Ohashi, Y., Nishimura, H., Katahira, R., Kozawa, Y., Katahira, M., Sugawara, S., Koike, K., Watanabe, T., Masato Katahira, Takashi Watanabe, Natural organic ultraviolet absorbers from lignin derivatives, Lignobiotech II, Fukuoka, Japan (Poster), 2012.10.15
- Marumoto, S., Yamamoto, S. P., Nishimura, H., Onomoto, K., Narita, R., Yatagai, M., Yazaki, K., Fujita, T., Watanabe, T., Identification of germicidal compounds against picornavirus in pyroligneous acid, Lignobiotech II, Fukuoka, Japan (Poster), 2012.10.15
- Hiroshi Nishimura, High resolution and quantitative NMR analysis of whole milled wood and biodegraded wood, International Symposium on Sustainable Development and Human Security in Southeast Asia through Biorefinery and Low Cost House, Proc. SABH2012, 59-62, 宇治, 2012.12.11
- Marumoto, S., Yamamoto, S. P., Nishimura, H., Onomoto, K., Narita, R., Yatagai, M., Yazaki, K., Fujita, T., Watanabe, T., Identification of germicidal compound against picornavirus in bamboo pyroligneous acid, International Symposium on Sustainable Development and Human Security in Southeast Asia through Biorefinery and Low Cost House, Proc. SABH2012, 63-66, 宇治, 2012.12.11
- Hiroshi Nishimura, Biodegradation of Wood Biomass by Selective White-rot Fungi, The first Bristol-Kyoto Symposium 2013, Bristol, UK, 2013.1.11

#### <論文>

- T Cabanos C, Ekkyo A, Amari Y, Kato N, Kuroda M, Nagaoka S, Takaiwa F, Utsumi S, Maruyama N. High-level production of lactostatin, a hypocholesterolemic peptide, in transgenic rice using soybean A1aB1b as carrier. Transgenic Research, 2012 PMID 23129483
- Takanashi, K., Yokosho, K., Saeki, K., Sugiyama, A., Sato, S., Tabata, S., Ma, JF., Yazaki, K., LjMATE1, a citrate transporter responsible for iron supply to nodule infection zone of *Lotus japonicus*. Plant Cell Physiol., 54(4), 585-594(2013).

- Shitan, N., Dalmás, F., Dan, K., Kato, N., Ueda, K., Sato, F., Forestier, C., Yazaki, K., Characterization of *Coptis japonica* CjABCB2, an ATP-binding cassette protein involved in alkaloid transport, *Phytochem.*, 91, 109-116(2013).
- Munakata, R., Inoue, T., Koeduka, T., Sasaki, K., Tsurumaru, Y., Sugiyama, A., Uto, Y., Hori, H., Azuma, J., Yazaki, K., Characterization of coumarin-specific prenyltransferase activities in *Citrus limon* peel, *Biosci Biotechnol Biochem.* 76(7), 1389-1393, 2012.
- Takanashi, K., Takahashi, H., Sakurai, N., Sugiyama, A., Suzuki, H., Shibata, D., Nakazono, M., Yazaki, K., Tissue-specific transcriptome analysis in nodules of *Lotus japonicus*, *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 25(7), 869-876, 2012.
- Inui, T., Kawano, N., Shitan, N., Yazaki, K., Kiuchi, F., Kawahara, N., Sato, F., Yoshimatsu, K., Improvement of benzyloisoquinoline alkaloids productivity by over-expression of 3'-hydroxy-*N*-methylcoclaurine 4'-*O*-methyltransferase in transgenic *Coptis japonica* plants, *Biol. Pharm. Bull.* 35 (5), 650-659, (2012).
- Tsurumaru, Y., Sasaki, K., Miyawaki, T., Uto, Y., Momma, T., Umemoto, N., Momose, M., and Yazaki, K., Characterization of HIPT-1, a membrane-bound prenyltransferase responsible for the biosynthesis of bitter acids in hops, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 417(1), 393-398 (2012).
- Tanaka, R., Uto, Y., Ohnaka, K., Ohta, Y., Yazaki, K., Umemoto, N., Nakata, E., Hori, H., Prenylated acylphloroglucinol derivatives: isoprenomics-based design, syntheses and antioxidative activities, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 737 (4), 251-256, 2012.
- Takanashi, K., Sugiyama, A., Sato, S., Tabata, S., Yazaki, K., LjABCB1, an ATP-binding cassette protein specifically induced in uninfected cells of *Lotus japonicus* nodules, *J. Plant Physiol.*, 169(3), 322-326 (2012).
- Kamimoto, Y., Terasaka, K., Hamamoto, M., Takanashi, K., Fukuda, S., Shitan, N., Suzuki, H., Shibata, D., Wang, B., Pollmann, S., Geisler, M., Yazaki, K., *Arabidopsis* ABCB21 is a facultative auxin im/exporter regulated by cytoplasmic auxin concentration, *Plant Cell Physiol.*, 53(12), 2090-2100, 2012.
- Hattori T, Murakami S, Mukai M, Yamada T, Hirochika H, Ike, M, Tokuyasu K, Suzuki S, Sakamoto M, Umezawa T (2012) Rapid analysis of transgenic rice straw using near-infrared spectroscopy. *Plant Biotechnol* 29:359-366.
- Suzuki S, Ma JF, Yamamoto N, Hattori T, Sakamoto M, Umezawa T (2012) Silicon deficiency promotes lignin accumulation in rice. *Plant Biotechnol* 29:391-394.
- Yamamura M, Akashi K, Yokota A, Hattori T, Suzuki S, Shibata D, Umezawa T (2012) Characterization of *Jatropha curcas* lignins. *Plant Biotechnol* 29:179-183.
- Yamamura M, Hattori T, Suzuki S, Shibata D, Umezawa T (2012) Microscale thioacidolysis method for the rapid analysis of  $\beta$ -*O*-4 substructures in lignin. *Plant Biotechnol* 29:419-423.
- Yamamura M, Noda S, Hattori T, Shino A, Kikuchi J, Takabe K, Suzuki S, Shibata D, Umezawa T (2013) Characterization of lignocellulose of *Erianthus arundinaceus* in relation to enzymatic saccharification efficiency. *Plant Biotechnol* (in press).
- Umezawa T, Ragamustari SK, Nakatubo T, Wada S, Li L, Yamamura M, Sakakibara N, Hattori T, Suzuki S, Chiang VL (2013) A lignan *O*-methyltransferase catalyzing the regioselective methylation of matairesinol in *Carthamus tinctorius*. *Plant Biotechnol* (in press).
- Ragamustari SF, Shiraiwa N, Hattori T, Nakatubo T, Suzuki S, Umezawa T (2013) Characterization of three cinnamyl alcohol dehydrogenases from *Carthamus tinctorius*. *Plant Biotechnol* (in press).

Nishimura, H., M. Sasaki, H. Seike, M. Nakamura and T. Watanabe, Alkadienyl and alkenyl itaconic acids (ceriporic acids G and H) from the selective white fungus *Ceriporiopsis subvermispora*: A new class of metabolites initiating ligninolytic lipid peroxidation, *Org. Biomol.Chem.*, 10, 6432-6442 (2012).

Nishimura, H., K. Murayama, T. Watanabe, Y. Honda and T. Watanabe, Diverse rare lipid-related metabolites including  $\omega$ -7 and  $\omega$ -9 alkenylitaconic acids (ceriporic acids) secreted by a selective white rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*, *Chem. Phys. Lipids*, 165, 97-104 (2012).

<総説>

丸山伸之、石本政男、長谷川久和、種子貯蔵タンパク質を利用した作物によるバイオ医薬品の生産、*バイオサイエンスとインダストリー*2013年2号

<著書>

Sugiyama, A., Yazaki, K., *Root exudates of legume plants and their involvement in interaction with soil microbes*, In: *Signaling and Communication in Plants* 12, Springer, 27-48. (Total 291 page) (2012)

共同利用研究の成果の例

今年度の共同研究利用の例として、再生可能資源・エネルギーとしてのバイオマス利用に絡んだ DASH 植物育成サブシステムの方から 1 課題と、セルロース合成酵素の持つ反応機構を理解するための DASH 分析機器サブシステムの方から 1 課題、それぞれの成果をこの後紹介する。

1) リグニン生合成の代謝工学

研究代表者：梅澤俊明（京都大学生存圏研究所）

2) 酢酸菌におけるセルロース生合成機構の解明

研究代表者：今井友也（京都大学生存圏研究所）

**3. 共同利用状況**

平成 17 年度から 24 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 年度に 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。

傾向として、利用面積が問題となる植物育成サブシステムに関しては、長時間を必要とする植物の育成が主な機能であることから、利用件数の大きな変動はない。採択件数が減少傾向にあるのは、随時受付を行っている DASH 分析装置サブシステムの利用者数の変動が原因となっていると見なされる。

表 DASH/FBAS 共同利用状況

年度 (平成)	17年	18年 FBAS	19年 FBAS	20年 DASH FBAS	21年 DASH FBAS	22年 DASH FBAS	23年 DASH FBAS	24年 DASH FBAS
採択課題数		8	8	15	22	17	15	16
共同利用者 数**		25	45	97	129	95 (学内 47 学外 48)	80 (学内 54 学外 26)	82 (学内 50 学外 32)

\*\* 研究代表者および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24年度）（18名）

平成25年1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（大阪大学大学院）、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）、青木俊夫（日本大学）、河合真吾（静岡大学）、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）、渡辺隆司（生存圏研究所）、梅澤俊明（生存圏研究所）、山川宏（生存圏研究所）、杉山暁史（生存圏研究所）、今井友也（生存圏研究所）

平成24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24年5月30日 平成24年度DASH/FBAS追加申請課題の採択について（24DF-13）  
 平成24年7月13日 平成24年度DASH/FBAS追加申請課題の採択について（24DF-14）  
 平成24年12月11日 平成24年度DASH/FBAS追加申請課題の採択について（24DF-15）  
 平成24年12月18日 平成24年度DASH/FBAS追加申請課題の採択について（24DF-16）  
 平成25年1月28日 平成25年度申請研究課題の審査依頼  
 平成25年2月25日 平成25年度申請研究課題の審査結果について（承認依頼）  
 平成25年3月5日 平成25年度申請研究課題の審査結果について（予定）

#### 5. 特記事項

この年度の特記事項として、DASH植物育成サブシステムが設置後5年目となったことから、初めての総合的なメンテナンスを行ったことが挙げられる。温室はその機能を長持ちさせるためには、年に1回のルーチンのメンテナンスに加え、数年に1回の総合的なメンテナンスが望まれる。緊急を要する懸念は指摘されなかったが、土台のコンクリートのひび割れ防止に関する検討など、将来的に起こりうる問題点の指摘何点かを受けたため、次年度以降の予算状況に応じて検討をする予定である。

分析機器サブシステムに関しては、幸いに、他に大きなトラブルがなかったことに加え、全所的な理解とサポートが得られたため、必要とされるメンテナンスを行うことができた。