

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		イソプレン代謝工学による温室効果ガス対策樹木の創出			
研究テーマ (欧文) AZ		Isoprene metabolic engineering for inhibition of greenhouse gas emission by trees.			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)ヤザキ	名)カズフミ	研究期間 B	2003 ~ 2004 年
	漢字 CB	矢崎	一史	報告年度 YR	2005 年
	ローマ字 CZ	Yazaki	Kazufumi	研究機関名	京都大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		京都大学生存圏研究所・教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>樹木植物の中には多量のイソプレンを大気中に放出しているものが少なからずある。その放出量は地球全体で 500Tg 炭素/年に達するとされ、これは一旦吸収した CO₂ の大半を炭化水素として再び大気中に放出していることを意味する。さらに、イソプレンは大気中の OH ラジカル等と反応することで温室効果ガスのメタンの寿命を延ばす効果があり、間接的温室効果ガスと見なされる。本研究では代謝工学によりイソプレン放出を抑制することで、温室効果対策樹木を作出するための基盤整備を目的とした。</p> <p>イソプレン放出種の <i>Populus alba</i> のから、ホモロジー・ベースの PCR を利用してイソプレン合成酵素の cDNA をクローニングした。その機能は本 cDNA を大腸菌にて機能的に発現させ、酵素活性を確認することで証明した。また、この遺伝子が植物の葉のみで発現していること、また暗黒下で発現が急激に低下するのに対し、光連続照射や高温処理で著しく発現が上昇することを明らかにした。しかし一方、その感染応答を調べたところ、エリシター処理では全く発現は影響を受けず、イソプレン放出は感染など生物学的ストレスでなく、物理的ストレスに対する抵抗性と深い関連があることが示唆された。実際、この酵素の pH 依存性や至適温度は、強い光ストレスや高温でのイソプレン合成に適していた。さらに green fluorescent protein との融合蛋白質を利用して、この酵素の植物細胞内局在がプラスチドであることを初めて証明した。現在、この遺伝子を RNAi で抑制したポプラ、および高発現させた植物数種を作成しており、解析を予定している。</p> <p>早生樹として産業上重要なユーカリ (<i>Eucalyptus globulus</i>) においても並行して同様の実験を行ったが、こちらで得られたクローンは大腸菌での機能発現の結果、イソプレン合成酵素ではないことが判明したため解析を中断した。</p> <p>本研究を行う過程で、細胞内のイソプレノイド前駆体の移動に関して得た基礎知見が別の論文の作成にも役立ったため、住友財団に謝辞を添えて発表した。</p>					
キーワード FA	イソプレン	代謝工学	温室効果ガス	形質転換樹木	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Gene Expression and Characterization of Isoprene Synthase from <i>Populus alba</i> .							
	著者名 ^{GA}	Sasaki, K., et al.	雑誌名 ^{GC}	FEBS Letters					
	ページ ^{GF}	in press	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}	Engineering of ubiquinone biosynthesis using the yeast <i>coq2</i> gene confers oxidative stress tolerance in transgenic tobacco.							
	著者名 ^{GA}	Ohara, K., et al.	雑誌名 ^{GC}	Plant Journal					
	ページ ^{GF}	734~743	発行年 ^{GE}	2	0	0	4	巻号 ^{GD}	40巻5号
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Isoprene is a volatile C₅ terpenoid that is released mainly from the leaves of many deciduous broad-leaved trees, such as *Salix*, *Quercus* and *Populus* species. The annual global emission of isoprene from these trees is estimated to be as high as 5 x 10¹⁴ g of carbon, which is similar to the level of methane, the most abundant naturally emitted hydrocarbon. Isoprene is a very reactive hydrocarbon and is thought to rapidly react with hydroxy radicals in the atmosphere, which prolongs the lifetime of methane, resulting in the enhancement of a greenhouse effect in the atmosphere. Isoprene synthase gene may be used as a molecular tool to suppress isoprene emission in high-emitting trees.

Isoprene synthase cDNA from *Populus alba* (PaIspS) was isolated by RT-PCR. This *PaIspS*, which was predominantly observed in the leaves, was strongly induced by heat stress and continuous light irradiation, and was substantially decreased in the dark, suggesting that isoprene emission was regulated at the transcriptional level. The subcellular localization of PaIspS protein with green fluorescent protein (GFP) fusion was shown to be in plastids. PaIspS expressed in *Escherichia coli* was characterized enzymatically: it had an optimum pH of approximately 8.0, and an optimum temperature 40°C. Its preference for divalent cations for its activity was also studied. We are now preparing transgenic trees, in which PaIspS is highly expressed and also strongly suppressed by RNAi technology.

We also performed the similar experiment as above to isolate isoprene synthase gene from an important fast-growing tree, *Eucalyptus globulus*, but the most probable cDNA candidate was turned out to be other terpene synthase.