

京都大学

「低炭素社会実現に向けた植物研究の推進のための基盤整備」
模擬環境栽培システムを活用した栄養生理解析システム

栄養生理解析システム

(1) 光合成解析システム 利用の手引き (ver.1.4)

液層型高速二重変調蛍光計 (PSI 社製 Dual modulation fluorometer) 2 頁参照

光化学系 II 電荷分離測定用熱発光測定器 (PSI 社製 TL200/PMT) 4 頁参照

蛍光解析装置

蛍光解析装置(WALZ 社製・DUAL-PAM-100)

6 頁参照

ガス交換解析装置

ガス交換解析装置(WALZ 社製・GFS-3000F)

8 頁参照

微細藻類 CO₂ ガス交換活性測定装置

(LI-COR 製・クローズドパス CO₂/H₂O アナライザー LI-7000, 恒温装置 2 台付)

10 頁参照

微細藻類水素ガス発生測定用ガスクロマトグラフィーシステム

(株)日立製作所・O₂, N₂, CO₂ 同時定量機能付)

14 頁参照

液層型高速二重変調蛍光計 (PSI 社製 Dual modulation fluorometer) 利用の手引き

ver. 1

本装置の概要

本装置は、クロロフィル蛍光を指標に単離葉緑体、微細藻類、小さな緑葉あるいは葉切片等、植物の光合成機能、なかでも光化学系 II (PSII) の分子機能を評価するものである。パルス振幅変調の測定機能によって最高 $1\mu\text{s}$ の時間分解能でクロロフィル蛍光を測定でき、急速な OJIP 過度反応の観察や Q_A 再酸化カイネティクス、S-state の測定が可能である。さらに DCMU や他の除草剤で測定対象の電子伝達を阻害せずに、PSII アンテナの不均一性やアンテナサイズ、結合性の評価が可能である。標準のサンプル・キュベット (10×10mm) は、検知器の中心部に配置され、藻類、葉緑体の他に小さな葉の切片を測定に用いることが可能である。

利用する上での注意点

- ① 管理者は、原則として機器の管理と予約、基本的な使い方の説明を行う。なお、一般的な測定では、1 点の測定に数分を要し、測定は室温で行う。
- ② 実際の測定、及び、測定データの解析は使用者自身が行う。従って、本装置を用いた測定に習熟していることが望まれる。
- ③ 本装置の使用に不慣れな場合には、使用前に装置の使用方法や測定試料の準備について管理者に確認すること。

利用の流れ

- ① 管理者に、事前に機器の使用方法やサンプル調整の問い合わせ
- ② 申請書の提出、審査
- ③ 管理者に電子メールで装置の使用予約
- ④ 分析サンプルの持ち込み、測定
- ⑤ データ解析、データ持ち帰り

参考論文

本機に付属するマニュアル、解析ソフトはPSI社のホームページからダウンロードできる。

<http://www.psi.cz/products/fluorometers/superhead-fast-fl-3500-f>

費用負担

- ① 故障修理や点検にともなう費用は後日、使用頻度に応じて請求される。

Authorship

原則として依頼分析は行わない。測定法に習熟していない等、測定に補助が必要な場合には、事前の協議により、共同研究として受け付ける。

なお、本プログラムを利用して生じた研究結果等を論文発表する際は、

Acknowledgments 等に以下の内容の文章を記載して下さい。

「This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.」

また、本プログラムを利用した研究成果を論文発表した場合は、その論文の別刷りあるいはコピーを、論文掲載後すみやか連絡担当者、及び、最先端研究拠点ネットワーク事務局（理化学研究所）へ送付して下さい。

連絡先

（機器の管理、使用予約に関して）

佐藤 文彦：fsato@lif.kyoto-u.ac.jp

（技術的な問い合わせ）

伊福 健太郎：ifuku@lif.kyoto-u.ac.jp

光化学系 II 電荷分離測定用熱発光測定器 (PSI 社製 TL200/PMT) 利用の手引き

ver. 1

装置の概要

本装置は Thermoluminescence、delayed luminescence を測定して藻類、シアノバクテリア・植物の光合成機能の評価を行うものである。キュベットの対応温度は-25℃から+70℃(冷却恒温槽使用時)、-90℃から+70℃(液体窒素使用時)で、数十秒の間に温度の上昇、下降を制御することができる。

Thermoluminescence、delayed luminescence は光化学系 II の内部における電子伝達の有効な指標となる。例えば、除草剤による光化学系 II の電子受容体である QA、QB への影響(安定性)の分析や、光合成に異常を示す変異株の単離や光合成特性の解析に利用できる。ソフトウェアは Windows 2000/XP に対応しており、プロトコルは使用者の希望するものに書換え可能である。例えば、測定間隔、シングルターンオーバー励起光の強度や照射時間、回数が任意に設定できる。

利用する上での注意点

- ④ 管理者は、原則として機器の管理と予約、基本的な使い方の説明を行う。なお、一般的な測定では、1点の測定に数分を要する。小さな葉の切片の他、葉緑体や藻類などの液体試料でも測定可能であるが、測定後の再使用はできない。
- ⑤ 実際の測定、及び、測定データの解析は使用者自身が行うものとする。従って、本装置を用いた測定に習熟していることが望まれる。
- ⑥ 本装置の使用に不慣れ必要な場合は、使用前に装置の使用方法や測定試料の準備について管理者に確認すること。
- ⑦ 液体窒素ではなく、冷却恒温槽を用いる場合には、冷却に時間がかかるので測定開始の 4-5 時間前に電源を投入する必要がある。
- ⑧ 液体窒素を用いる場合には、寒剤の利用上の注意に十分配慮した上で、換気に注意すること。

利用の流れ

- ⑥ 管理者に、事前に機器の使用方法やサンプル調整の問い合わせ
- ⑦ 申請書の提出、審査

- ⑧ 管理者に電子メールで装置の使用予約
- ⑨ 必要であれば、事前に機器の使用方法やサンプル調整の問い合わせ
- ⑩ 分析サンプルの持ち込み、測定
- ⑪ データ解析、データ持ち帰り

参考論文

本機に付属するマニュアル、解析ソフトはPSI社のホームページからダウンロードできる。

<http://www.psi.cz/products/thermoluminescence/thermoluminescence-system-tl-200-pmt>

費用負担

- ② 液体窒素などの寒剤の料金は使用者負担とする。
- ③ 故障修理や点検にともなう費用は後日、使用者間で使用頻度に応じて請求される場合がある。

Authorship

原則として依頼分析は行わない。測定法に習熟していない等、測定に補助が必要な場合には、事前の協議により、共同研究として受け付ける。

なお、本プログラムを利用して生じた研究結果等を論文発表する際は、Acknowledgments 等に以下の内容の文章を記載して下さい。

「This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.」

また、本プログラムを利用した研究成果を論文発表した場合は、その論文の別刷りあるいはコピーを、論文掲載後すみやか連絡担当者、及び、最先端研究拠点ネットワーク事務局（理化学研究所）へ送付して下さい。

連絡先

（機器の管理、使用予約に関して）

佐藤 文彦：fsato@lif.kyoto-u.ac.jp

（技術的な問い合わせ）

伊福 健太郎：ifuku@lif.kyoto-u.ac.jp

蛍光解析装置 (WALZ 社製・DUAL-PAM-100) 利用手引き

(ver. 1)

装置の概要

本装置は、クロロフィル蛍光および P700 の吸光度変化あるいは、515 nm および 530 nm の吸光度変化を同時測定するものである。光照射中の両光化学系の挙動や、proton motive force を反映する ECS シグナルを測定できる。植物の葉を用いるシステムと抽出した葉緑体やチラコイド膜あるいは微細藻類を測定する二つのシステムがある。

利用する上での注意点

- ① 管理者は、原則として機器の管理と予約、基本的な使い方の説明を行う。
- ② 実際の測定及び測定データの解析は、使用者自身が行うものとする。従って、本装置を用いた測定に習熟していることが望まれる。
- ③ 本装置はいくつかの用途に利用できるが、測定データの解析は専門的な知識を必要とする。利用の際には、測定の理論的背景を充分理解して行うことが望まれる。

利用の流れ

- ① 管理者に事前に測定の目的を説明、機器の使用方法やサンプル調製の問い合わせ
- ② 申請書の提出、審査
- ③ 管理者に電子メールで装置の使用予約
- ④ 分析材料の持ち込み、測定
- ⑤ データ解析、データ持ち帰り

参考文献

本機に関するマニュアルおよびソフトウェアは WALZ 社のホームページからダウンロードできる。

<http://www.walz.com/downloads/overview.html>

費用負担

故障修理や点検にともなう費用は、必要に応じて使用頻度に応じて請求される。

Authorship

原則として依頼分析は行わない。特に専門的な解析が必要な場合等は、事前の協議により共同研究として受け付ける。

なお、本プログラムを利用して生じた研究結果等を論文発表する際は、Acknowledgments 等に以下の内容の文章を記載して下さい。

「This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.」

また、本プログラムを利用した研究成果を論文発表した場合は、その論文の別刷りあるいはコピーを、論文掲載後すみやか連絡担当者、及び、最先端研究拠点ネットワーク事務局（理化学研究所）へ送付して下さい。

連絡先

鹿内 利治 : shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp

ガス交換解析装置 (WALZ 社製・GFS-3000F) 利用手引き

(ver. 1)

装置の概要

本装置は、0-3000 ppm CO₂、0-75000 ppm H₂O の範囲内で光合成のガス交換を測定するものである。

利用する上での注意点

- ① 管理者は、原則として機器の管理と予約、基本的な使い方の説明を行う。
- ② 実際の測定及び測定データの解析は、使用者自身が行うものとする。従って、ガス交換測定に習熟していることが望まれる。

利用の流れ

- ① 管理者に機器の使用方法やサンプル調整の問い合わせ
- ② 申請書の提出、審査
- ③ 管理者に電子メールで装置の使用予約
- ④ 分析材料の持ち込み、測定
- ⑤ データ解析、データ持ち帰り

参考文献

本機に関するマニュアルは WALZ 社のホームページからダウンロードできる。

<http://www.walz.com/downloads/overview.html>

費用負担

故障修理や点検にともなう費用および消耗品 (CO₂ ガスなど) は、必要に応じて使用頻度に応じて請求される。

Authorship

原則として依頼分析は行わない。特に専門的な解析が必要な場合等は、事前の協議により共同研究として受け付ける。

なお、本プログラムを利用して生じた研究結果等を論文発表する際は、Acknowledgments 等に以下の内容の文章を記載して下さい。

「This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.」

また、本プログラムを利用した研究成果を論文発表した場合は、その論文の別刷りあるいはコピーを、論文掲載後すみやか連絡担当者、及び、最先端研究拠点ネットワーク事務局（理化学研究所）へ送付して下さい。

連絡先

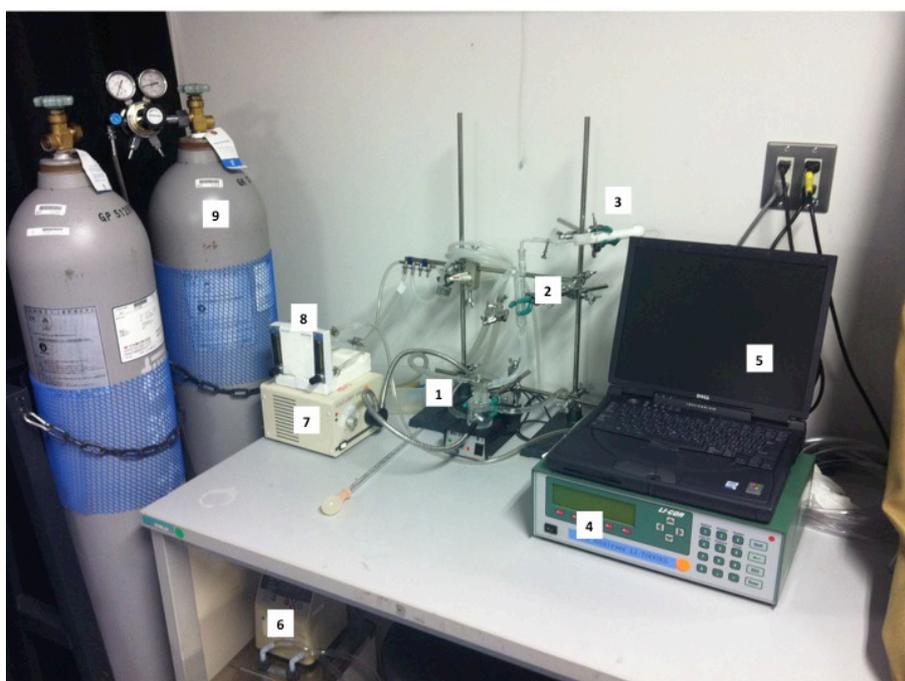
鹿内 利治：shikanai@pmg.bot.kyoto-u.ac.jp

微細藻類 CO₂ ガス交換活性測定装置 利用の手引き

(ver. 1.0)

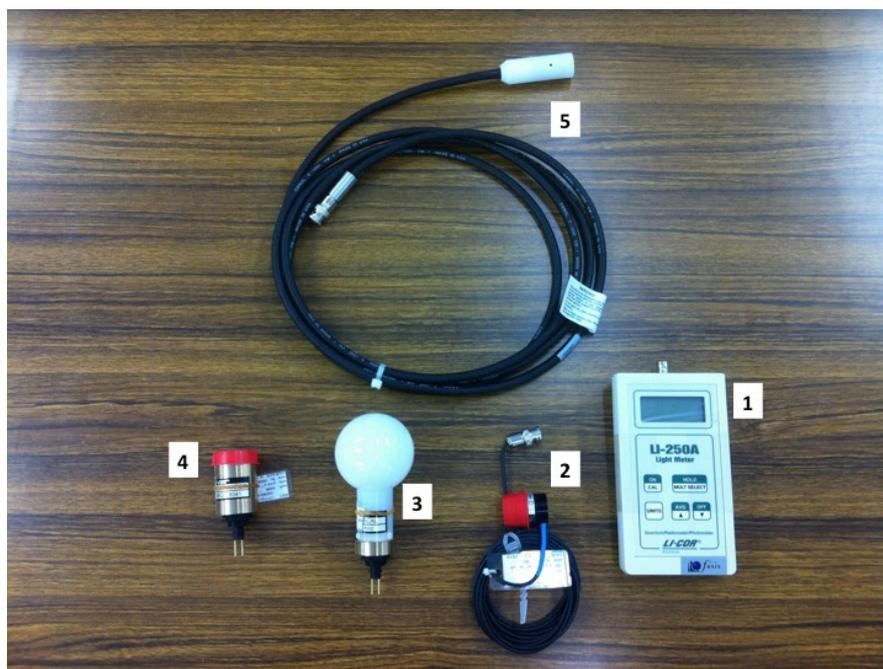
装置の概要

微細藻類 CO₂ ガス交換活性測定装置は、20ppm から大気レベルの濃度の CO₂ を含む標準ガスを細胞懸濁液に通気し、光照射依存的に消費された CO₂ の量を、非分散赤外光方式 CO₂ アナライザー LI-7000 により検出するシステムである。本装置ではラン藻やクラミドモナスなどの微細藻類や単離葉緑体の光依存的 CO₂ ガス交換活性が測定できる。本装置は、高等植物葉の CO₂ ガス交換活性にも用いられる LI-COR 製クローズドパス CO₂/H₂O アナライザー LI-7000、制御用コンピューター、恒温循環装置、特注サンプルチェンバー、LI-COR 製ライトメーター (LI-250A)、光量子センサー (LI-190SA)、球形光量子センサー (LI-193SA)、水中光量子センサー (LI-192SA) 等から構成される。



微細藻類 CO₂ ガス交換活性測定装置の全体像

- 1) サンプルチェンバー, 2) 冷却管, 3) 塩化カルシウム管, 4) CO₂ アナライザー (LI-7000), 5) Windows PC, 6) 恒温装置 2 台, 7) 励起光源, 8) 流量計 (×2), 9) 標準ガスボンベ (50 ppm CO₂ を含む標準ガス)



また細胞に照射する光強度を測定するためのライトメーターLI-250A(1)が付属する。本ライトメーターは、 $0.01\sim 19999\ \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ まで広範囲の光量子測定が可能である。通常型の光量子センサーLI-190SA(2)に加えて、全ての角度から光合成有効光量子量を感知できる球形光量子センサーLI-193SA(3)、および水中においても使用できる水中光量子センサーLI-192SA(4)と延長ケーブル(5)が付属している。

利用する上での注意点

1. 管理者は、機器の管理と予約、基本的な使い方の説明を行う。実際の測定、及び測定データの解析は、原則として使用者自身が行うものとする。1回の測定には15分程度を要し、測定は暗所で行う。
2. 使用者は下記に示した参考論文を読み、本装置を用いた測定に十分に習熟していることが望まれる。本装置の使用に不慣れな場合には、使用前に装置の使用法・試料の準備等について管理者に確認し、適切な指導を受ける。
3. CO_2 アナライザーに一度に大量のガスが流れ込むと破損する恐れがある。そのため、調製ガスの元栓を開閉したり、ガスの流れを変える場合には、各所のコックの向きに十分注意し、ガスが外に流れるようにして一カ所に留まることのないようにしておく。

利用の流れ

1. 管理者に対して事前に実験スケジュールや機器の使用方法の問い合わせ
2. 申請書の提出・審査
3. 管理者に電子メール等にて装置の使用予約
4. 分析サンプルの持ち込み、培養、測定
5. データ解析、データの持ち帰り
6. 測定機器の動作状況の報告

参考論文

1. LI-7000 に付属するマニュアル。LI-COR 社のホームページからダウンロードできる。 <http://www.licor.com/env/PDF/LI-7000Manual.pdf>
2. 管理者側が用意した微細藻類 CO₂ ガス交換活性測定装置プロトコル。使用者側からの問い合わせ時に、管理者側から PDF ファイルとして提供する。
3. Ogawa T, Miyano A, Inoue Y: Photosystem-I-driven inorganic carbon transport in the cyanobacterium, *Anacystis nidulans*. **Biochim Biophys Acta 808: 77-84 (1985)** (シアノバクテリアを用いた CO₂ ガス交換活性の測定例)
4. Ohnishi N, Mukherjee B, Tsujikawa T, Yanase M, Nakano H, Moroney JV, Fukuzawa H: Expression of a low-CO₂-inducible protein, LCII, increases inorganic carbon uptake in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant Cell 22: 3105–3117 (2010)**. (緑藻クラミドモナスを用いた CO₂ ガス交換活性の測定例)
5. Yamano T, Tsujikawa T, Hatano K, Ozawa S, Takahashi Y, Fukuzawa H: Light and low-CO₂-dependent LCIB-LCIC complex localization in the chloroplast supports the carbon-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*. **Plant and Cell Physiol. 51: 1453-68 (2010)** (緑藻クラミドモナスを用いた CO₂ ガス交換活性の測定例)

費用負担

測定に際して必要な混合ガス・試薬・消耗品は、測定者の実費負担とする。使用者が原因となる故障の場合、修理・点検にともなう費用は、使用者に請求される場合がある。また通常使用時において修理・点検が必要となった場合に伴う経費は、後日、使用者間で使用頻度に応じて請求される場合がある。

Authorship

事前の協議により共同研究として受け付ける場合がある。また本プログラムを利用して生じた研究結果等を論文発表する際は、Acknowledgments 等に以下の内容の文章を記載する。

「This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.」

また、本プログラムを利用した研究成果を論文発表した場合は、その論文の別刷りあるいはコピーを、論文掲載後すみやか連絡担当者、及び、最先端研究拠点ネットワーク事務局（理化学研究所）へ送付して下さい。

連絡先

福澤秀哉：fukuzawa@lif.kyoto-u.ac.jp

（京都大学大学院生命科学研究科微生物細胞機構学分野）

微細藻類水素ガス発生測定用ガスクロマトグラフィーシステム (株)日立製作所・O₂、N₂、CO₂同時定量機能付) 利用の手引き

(ver. 1)

装置の概要

本装置は、シリンジで注入されたガスをガスクロマトグラフにて成分分析するものである。注入と同時にリモートタイマーのスタートスイッチを押すことにより、自動でバルブが切り換わり、4種類のガス濃度を一齐に分析できる。分析対象ガス成分と濃度範囲は、H₂ (25ppm-100%)、O₂ (0.1%-99%)、N₂ (0.1%-99%)、CO₂ (1ppm-0.1%) である。



ガス分析装置の全体像

利用する上での注意点

4. 管理者は、機器の管理と予約、基本的な使い方の説明を行う。実際の測定、及び測定データの解析は、原則として使用者自身が行うものとする。1回の測定には15分程度を要する。

5. 使用者は連絡担当者が用意するガスクロマトグラフィ仕様書（pdf ファイルとして提供可能）を読み、本装置を用いた測定に十分に習熟していることが望まれる。本装置の使用に不慣れな場合には、使用前に装置の使用法・試料の準備等について管理者に確認し、適切な指導を受ける。

利用の流れ

7. 管理者に対して事前に実験スケジュールや機器の使用方法の問い合わせ
8. 申請書の提出・審査
9. 管理者に電子メールにて装置の使用予約
10. 分析サンプルの持ち込み、必要に応じて培養、測定
11. データ解析、データの持ち帰り
12. 測定機器の動作状況の報告

費用負担

測定に際して必要な混合ガス・試薬・消耗品は、測定者の実費負担とする。使用者が原因となる故障の場合、修理・点検にともなう費用は、使用者に請求される場合がある。また通常使用時において修理・点検が必要となった場合に伴う経費は、後日、使用者間で使用頻度に応じて請求される場合がある。

Authorship

事前の協議により共同研究として受け付ける場合がある。また本プログラムを利用して生じた研究結果等を論文発表する際は、Acknowledgments 等に以下の内容の文章を記載する。

「This research was supported by Japan Advanced Plant Science Network.」

また、本プログラムを利用した研究成果を論文発表した場合は、その論文の別刷りあるいはコピーを、論文掲載後すみやか連絡担当者、及び、最先端研究拠点ネットワーク事務局(理化学研究所)へ送付して下さい。

連絡先

福澤秀哉：fukuzawa@lif.kyoto-u.ac.jp

（京都大学大学院生命科学研究所微生物細胞機構学分野）