

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

論文題目 Lignification mechanism of compression wood cell walls
 (圧縮あて材細胞壁の木化メカニズム)
氏名 平出 秀人

論文内容の要旨

植物は、より効率よく光合成をおこなうために高く成長し、枝を樹幹の周りに広げる。そのために幹や枝は負の重力屈性を示す。これを可能にするのが、一次成長時の偏差成長である。しかし、肥大成長を始めた樹木は、伸長成長が完了してしまったため、そのような負重力屈性を発揮することができない。そこで樹木は、二次成長時の重力屈性を発揮する仕組みを発達させた (Scurfield 1973, Wilson and Archer 1977)。樹木は特殊化した二次木部を形成し、成長応力という力を発生させる。これが、枝や幹を持ち上げている (Yamamoto *et al.* 2002)。

裸子植物の針葉樹の場合、屈曲のための成長応力は圧縮応力である。傾斜した枝や幹の傾斜下側の二次木部では圧縮の成長応力が発生し、これが枝や幹を下から押し上げる (Yamamoto *et al.* 1991, Yamashita *et al.* 2007)。圧縮の成長応力を発生させるために特殊化した二次木部を「圧縮あて材」と呼ぶ (Scurfield 1973, Wilson and Archer 1977)。針葉樹の圧縮あて材は、正常材とは異なる特徴をもつ。正常材と比べて、ミクロフィブリルの配向角が大きくなる。ヘミセルロースの一種であるガラクトタンが増加する。仮道管の細胞壁が厚い。特にリグニン量の増加は顕著で、その二次壁中層の外縁部では局所的にリグニンが堆積し、これを S2L と呼んでいる (Timell 1986)。このようなあて材の特徴が成長応力（圧縮の成長応力）の発生原因となっている。

あて材は木本植物にとって、生きてくための基礎的な仕組みである。その物性（成長応力、色味、収縮率、繊維方向引張ヤング率など）や化学組成（セルロース量、リグニン量、糖分析など）、解剖学的特徴などが調べられてきた。近年、分子生物学的アプローチにより、あて材の分化の仕組みが調べら

れ始めた (Allona *et al.* 1998, Yamashita *et al.* 2009, Villalobos *et al.* 2012) 。
この理解があって、あて材形成の全体像をとらえることができる。

本研究では、圧縮あて材細胞壁の木化メカニズム (リグニン堆積メカニズム) を調べた。圧縮あて材の細胞壁は正常材と比べ木化度が高く (リグニン量が増加し)、二次壁中層の外縁部には非常にリグニン濃度が高い領域 (S2L) が現れる。リグニン量の増加と S2L の形成は、圧縮の成長応力の発生要因であると考えられているため (Okuyama *et al.* 1998) 、その理解は成長応力発生機構を理解するためにも重要である。既存の研究によって、正常材とあて材の発現量の違いが報告されてきた。しかし、発現量の違いだけでは、あて材のリグニン増加程度のしくみや S2L の形成の機構を説明できない。そこでこの研究では、発現量とリグニン堆積の関係、タンパク質の局在性など、より踏み込んだ研究を行った。

第 2 章では、ヒノキ (*Chamaecyparis obtusa*) の圧縮あて材分化過程における、リグニン合成に関わる遺伝子群の発現量とリグニン堆積との対応を報告する。リグニン前駆物質 (モノリグノール) の合成ではなく、その酸化重合を担うラッカーゼという酵素が重要であるということが分かった。圧縮あて材分化中木部は、ラッカーゼ遺伝子の一つを発現させるとき S2L をつくり、さらに、その発現量が多きときほどより厚い S2L を形成するという傾向が観られた。

ラッカーゼと同様にリグニンの酸化重合を担うと考えられている酵素に、ペルオキシダーゼがある。しかし、ペルオキシダーゼにはラッカーゼのような対応は観られなかった。

以上の結果から、ラッカーゼが圧縮あて材細胞壁の木化に重要であると考えられる。私は、この圧縮あて材特異的なラッカーゼ遺伝子を「CoLac1」と名付け、その機能を探ることにした。

第 3 章では、圧縮あて材分化中木部において、ラッカーゼの活性がいつ・どこに現れるのかを調べ、リグニン堆積との時間的空間的な関係性を見出した。さらに、あて材で特異的に働く遺伝子 CoLac1 にコードされたラッカーゼの局在を調べた。その結果、以下が明らかになった。

(I) 複合細胞間層と二次壁では、ラッカーゼ活性が現れた後リグニンの堆積が始まった。

(II) 分化中木部が二次壁を形成するとき、S2L に相当する領域でラッカーゼ活性が高かった。

(II) 発現した CoLac1 ラッカーゼが S2L に相当する領域に分布した。

これらの結果から、あて材へ分化する細胞は、二次壁を形成するとき

CoLac1 ラッカーゼを S2L 領域に分泌し、それによって S2L が形成される（リグニン量が増加する）、と結論付けた。

第 4 章では、圧縮あて材が木化する仕組みの一般性を検討した。そのために用いた試料がツゲである。ツゲは、被子植物の新生双子葉類であるが、針葉樹の圧縮あて材に似たあて材を形成する。圧縮あて材の木化の仕組みが系統の遠い種においても共通であるなら、それは、その仕組みが不可欠である可能性を示唆する。

結果、以下が明らかになった

- (I) ツゲあて材ではリグニン合成に関わる遺伝子の発現量が増加した
- (II) ツゲあて材で特異的に発現するラッカーゼ遺伝子が存在した。
- (III) ツゲあて材では、S2L 相当領域でラッカーゼ活性が高かった。
- (IV) ツゲあて材のヘミセルロース分布は圧縮あて材に非常に似ていた。S2L 領域ではガラクトタンが特異的に堆積し、キシランは減少した。

以上より、ツゲあて材の木化の仕組みは、針葉樹あて材とほぼ同じと考えられる。そしてこれらの共通点が圧縮あて材の形成や圧縮成長応力の発生に必須なのかも知れない。

結論として圧縮あて材細胞壁の木化メカニズムを以下のようにまとめる。

- (I) 圧縮あて材分化中木部は、モノリグノールの合成経路にある酵素の発現量を上昇させ、モノリグノールの供給量を増している。
- (II) 圧縮あて材分化中木部は、分化特異的に CoLac1 ラッカーゼを発現させて、モノリグノールの酸化重合（つまりリグニン堆積）を盛んにする。結果、細胞壁ではリグニン量が増加する。
- (III) 圧縮あて材分化中木部は、CoLac1 ラッカーゼを二次壁中層外縁部（S2L 領域）に分泌して、そこでのラッカーゼ活性を高くし、リグニン濃度を高くしている。すなわち S2L の形成には CoLac1 ラッカーゼが一因となる。
- (IV) 広葉樹ツゲの圧縮あて材でも、ヒノキと同様の結果を多く確認できた。
 - (1) ツゲあて材の分化中木部は分化特異的に BmLac4 ラッカーゼを発現させる。
 - (2) あて材分化中木部は、二次壁のラッカーゼ活性を高くしている。
 - (3) ガラクトタンは二次壁中層外縁部に分布している。これらから、圧縮あて材の木化の仕組みは被子植物にも共通したものであると考えられる。

References

- Scurfield (1973) *Science*: Wilson and Archer (1977) *Ann Rev Plant Physio*: Yamamoto *et al.* (2002) *Planta*: Yamamoto *et al.* (1991) *Mokuzai Gakkaishi*: Yamashita *et al.* (2007) *Ann Bot*: Timell (1986) *Springer*: Allona *et al.* (1998) *PNAS USA*: Yamashita *et al.* (2009) *Plant Science*: Villalobos *et al.* (2012) *BMC Plant Biology*: Okuyama *et al.* (1998) *Journal of Wood Science*