

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	津山 濯
論文題目	Lignification Mechanism Involved in Coniferin Transport in Differentiating Xylem of Poplar and Japanese Cypress (ポプラおよびヒノキ分化中木部におけるコニフェリン輸送が関与する木化メカニズム)		
(論文内容の要旨)			
リグニンは維管束植物の主要な細胞壁成分の一つであり、リグニンの細胞壁への沈着、すなわち木化は様々な陸上環境で植物が生きていく上で欠かすことができないものである。木化は、リグニン前駆物質の生合成、細胞壁への輸送、重合という三段階で進行する。これまでリグニン前駆物質の生合成と重合に関しては詳細な研究がなされてきたが、輸送に関してはほとんど明らかになっていない。近年シロイヌナズナロゼット葉におけるリグニン前駆物質の輸送活性が報告されたが、ロゼット葉には木化組織がほとんど存在しない。本論文では木化が活発に行われている分化中木部を用い、リグニン前駆物質の輸送メカニズムを明らかにし、そこで明らかになったコニフェリン輸送が関与する木化メカニズムを考察した。 第1章ではリグニンの特徴と植物における役割、及びその生合成のメカニズムについて述べ、これまでに報告されたシロイヌナズナロゼット葉におけるリグニン前駆物質の輸送メカニズムの報告例を挙げながら、本論文の意義と目的を明らかにした。 第2章では、木化が活発に行われている分化中木部を用い生化学的輸送実験を行った。グアイアシル核、シリギル核合わせて6種類のリグニン前駆物質を基質として輸送実験を行った結果、実験に使用した4樹種の分化中木部全てにおいて、コニフェリンのATP依存的な輸送活性が主であることを明らかにした。各種阻害剤及び分画した膜を用いた輸送実験結果から、このコニフェリン輸送のメカニズムはV-ATPaseが作り出すH⁺勾配に依存した二次輸送と示唆された。またこの輸送メカニズムは、広葉樹ポプラおよび針葉樹ヒノキともに同様のメカニズムであった。V-ATPaseは液胞膜以外にも広く細胞内膜系に存在することから、コニフェリンは小胞に輸送され、エクソサイトーシスにより細胞壁に供給される可能性があることを指摘した。 第3章では、コニフェリンをコニフェリルアルコールに変換するコニフェリンβ-グルコシダーゼの活性をポプラにおいて調べた。コニフェリンβ-グルコシダーゼ活性は細胞壁イオン結合性画分で見られたことから、針葉樹での報告と同様、広葉樹ポプラでも細胞壁に局在している可能性が示唆された。また系統樹解析等により、ポプラにおけるコニフェリンβ-グルコシダーゼの有力な候補タンパク質を見つけ出した。 第4章では、分化中木部におけるリグニン及びリグニン前駆物質の分布を明らかにした。チオグリコール酸リグニンのマイクロスケール法を樹木試料に適用することによ			

り、同一微量試料におけるリグニンおよびリグニン前駆物質を定量して、木化との関係を考察した。ポプラ分化中木部に主にシナピルアルコールが分布することが明らかになり、木化に利用される可能性が示唆された。ヒノキ分化中木部に含まれるコニフェリン量は細胞壁の形成とともに減少したことから、細胞死後ではなく細胞が生きている間に、コニフェリンは細胞壁に輸送されるなどして木化に利用される可能性が示された。

第5章では、以上の内容を総合して考察し、結論付けた。各生化学的実験の結果から、広葉樹、針葉樹ともに同様のコニフェリンの輸送、加水分解のメカニズムが存在することが示唆された。小胞輸送でコニフェリンが細胞壁に輸送された後、コニフェリン β -グルコシダーゼによる加水分解を受け、木化に利用される可能性を指摘した。このコニフェリン輸送が関与した木化のメカニズムは、木本植物に共通して存在する可能性が考えられる。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

リグニンはバイオマスを利用する際の最も大きな障壁であり、持続可能なバイオマスエネルギーの開発に向け、リグニン生合成の解明が待たれている。本論文は、リグニン生合成の中でも長年未解明であったリグニン前駆物質の輸送メカニズムを調べることで、コニフェリン輸送が関与する木化メカニズムが存在する可能性を示したもので、評価できる点として以下の4点が挙げられる。

1. 樹木分化中木部を用いることにより、木化が活発に行われている組織でのリグニン前駆物質の輸送活性を明らかにした。これまで報告されているシロイヌナズナロゼット葉におけるリグニン前駆物質の輸送に対して、異なる輸送メカニズムが樹木分化中木部に存在することを明確に示した。さらに最も主要な輸送活性であるコニフェリン輸送のメカニズムは、広葉樹ポプラと針葉樹ヒノキで同様なものであり、V-ATPase依存的なコニフェリンの二次輸送が様々な樹種で保存され、木化に重要な役割を果たす可能性を示した。
2. コニフェリン β -グルコシダーゼが、針葉樹と同様に広葉樹ポプラにおいても細胞壁に局在することが示された。コニフェリンの加水分解も広葉樹と針葉樹で同様のメカニズムであることから、コニフェリンが関与する木化メカニズムが広葉樹と針葉樹で保存されている可能性を示した。また分子系統解析等により絞り込んだポプラコニフェリン β -グルコシダーゼは、今後の解析の有力なターゲットになり得ることを示した。
3. チオグリコール酸リグニンのマイクロスケール法を樹木の分化中木部に適用し、タンパク質を含むごく少量の試料におけるリグニン量の定量を可能にした。これにより、同一試料においてリグニンとリグニン前駆物質を定量し、それらの分布を明らかにすることに成功した。今回明らかとなった広葉樹ポプラ及び針葉樹ヒノキ分化中木部におけるリグニン及びリグニン前駆物質の分布から、木化メカニズムに関する重要な考察が得られた。
4. ミクロソーム膜の分画及び各種マーカーの利用により、コニフェリンのV-ATPase依存的輸送は液胞輸送にとどまらない可能性に言及した。V-ATPaseが局在する膜小胞にコニフェリンが輸送され、エクソサイトーシスにより細胞壁に輸送、そこでコニフェリン β -グルコシダーゼによる加水分解を受け木化に利用されるメカニズムを提唱した。小胞輸送による分泌はリグニン前駆物質にとどまらず、様々な二次代謝産物輸送の新たなモデルとなる可能性がある。

以上のように、本論文は木化が活発に行われる樹木の分化中木部におけるリグニ

ン前駆物質の輸送メカニズムを明らかにし、コニフェリンの輸送と加水分解を介した木化メカニズムが広葉樹、針葉樹ともに共通して存在する可能性を示したものであり、樹木細胞学、植物生理学、細胞生物学に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成27年2月10日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）