

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成25年 7月22日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団  
会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 農学研究科 森林科学専攻 樹木細胞学分野

職名・学年 博士課程4年

氏 名 津 山 濯

助成の種類	平成25年度 ・ 若手研究者在外研究支援 ・ 国際研究集会発表助成	
研究集会名	第13回細胞壁研究者会合	
発表題目	Coniferin $\beta$ -glucosidase localizes in lignifying and lignified cell walls	
開催場所	ナント市イベントセンター	
渡航期間	平成25年 7月 4日 ~ 平成25年 7月14日	
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )	
会計報告	交付を受けた助成金額	200,000 円
	使用した助成金額	200,000 円
	返納すべき助成金額	0 円
	助成金の使途内訳	学会参加費: 53,839
		渡航航空費: 112,990
		学会期間滞在費: 32,703
空港-会場交通費: 16,220(超過分は自費)		
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) おかげさまで貴重な経験を積むことができました。誠にありがとうございました。今後もこのような助成をぜひ続けて頂けたらと思います。	

## 成果の概要

京都大学 大学院農学研究科  
森林科学専攻 樹木細胞学分野  
博士課程 4年 津山 濯

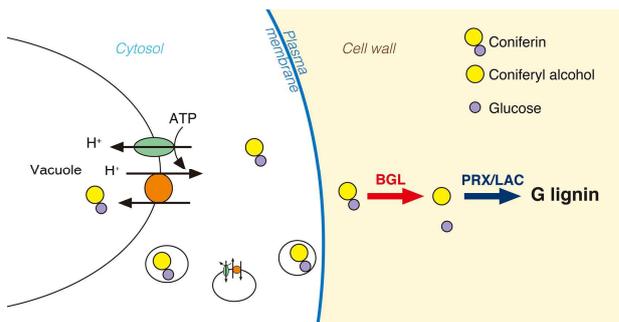
この度、京都大学教育研究振興財団の助成を受けて、2013年7月4日から14日にかけて、フランスロワール県ナント市で開催された第13回細胞壁研究者会合（13th Cell Wall Meeting）に参加した。

本会合は3年に一度開催される研究集会であり、植物細胞壁に関する最新の研究成果を発表する場である。世界中の細胞壁研究者が一堂に会するこの会合では、新たな研究者同士のつながり、共同研究を生み出すこともねらいとしている。今回は6つのセッションで83件の口頭発表、256件のポスター発表がなされ、300名を超える研究者が会合に参加した。

私はセッション2：植物細胞壁構成成分の動態：生合成から再構築まで、においてポスター発表（題：コニフェリンβ-グルコシダーゼが木化細胞壁に局在する）を行った。

植物細胞壁はセルロース、ヘミセルロース、リグニンにより主に構成されている。このうちリグニンは植物細胞壁の酵素糖化の際の大きな障壁となっている。リグニンは細胞内でその前駆物質が生合成され、細胞壁で重合することが知られており、その過程については詳細な研究が多数なされてきた。しかし細胞内から細胞壁へどのように前駆物質が輸送されるかについては、最近まで手つかずであった。

私はこれまでポプラやヒノキの分化中木部を用いてリグニン前駆物質の輸送実験を行い、モノリグノール配糖体であるコニフェリンが液胞型ATPase (V-ATPase)の関与により活発に輸送されることを示し、論文として報告した。そして今回のポスター発表では、コニフェリンをリグニン重合に用いる際に必要なコニフェリンβ-グルコシダーゼ (BGL) が細胞壁に局在することを示した。この結果は、コニフェリンが何らかの



メカニズムにより細胞壁に輸送され、そこでBGLにより糖が外れ、木化に用いられる仮説を支持するものである（図1）。

図1 コニフェリンBGLは細胞壁に局在する。

コニフェリンは ATP 依存的に液胞 (vacuole) や小胞に輸送される。細胞壁に存在するコニフェリンは BGL によって加水分解され、コニフェリルアルコールが生じ、ペルオキシダーゼ (PRX) やラッカーゼ (LAC) によってリグニンに重合される可能性がある。

ポスター発表は会期中、口頭発表の合間に沢山の時間が割かれていた。多くの研究者が私のポスターを見に来てくれたが、彼らはまず、コニフェリンが液胞に輸送されることを示唆する結果に非常に納得した。昔からコニフェリンは針葉樹の分化中木部で大量に検出されており、液胞に存在すると考えられてきたためである。

だが多くの研究者はコニフェリンが貯蔵形態であり、実際に細胞壁に輸送されるのは糖が外れたコニフェリルアルコールであると考えている。今回の私のポスター発表はこの通説と矛盾する。これまでコニフェリルアルコールが ABC 輸送体によって細胞膜を横切ることを示す論文も出ている。*p*-クマリルアルコール輸送体の遺伝子を特定した論文も昨年出た。ポスターを見に来た研究者は皆 ABC 輸送体の論文との整合性を聞いてきた。この点について、ABC 輸送体の論文がリグニンを合成する細胞がほとんどない組織を使っていること、*p*-クマリルアルコールは主要なリグニンの前駆物質ではないことを指摘し、リグニン合成が盛んな樹木ではコニフェリンの輸送が主要である、という実験結果を説明したところ、多くの人々が納得してくれた。

そして多くの研究者が、どのようにしてコニフェリンが細胞壁へ輸送されるのかを聞いてきた。私は決定的な実験結果は得られていないと断りつつ、コニフェリン輸送が V-ATPase 依存的であること、V-ATPase は液胞膜だけでなく、ゴルジ装置など小胞にも存在することを説明した。ひょっとすると、コニフェリンは小胞に輸送され、小胞が細胞膜と融合しコニフェリンが細胞壁へ分泌される可能性を説明したところ、みな、非常に興味を持って聞いてくれた。

コニフェリン BGL 遺伝子をノックダウンしたシロイヌナズナに関する論文の著者達ともディスカッションすることができた。彼らはコニフェリンが木化に必須ではないと考えていた。私はコニフェリンが木化に必須であるかは不明であるとした上で、シロイヌナズナにはコニフェリン BGL が二つ存在するが、論文では二重変異体は調べていない点を指摘した。今回ポプラでのコニフェリン BGL が木化細胞壁に局在するという結果はマツでも知られており、シロイヌナズナの論文でも言及はされていないが同様の結果を示している。コニフェリン BGL が細胞壁の形成に重要な役割を果たしている可能性がある、と説明したところ、彼らもその可能性を否定しなかった。

私のこれまでの実験から導かれた仮説は、これまでの通説とは異なるものであった。何人かの研究者は最初から、この結果は本当なのか、と疑って聞いてきた。しかし、今

回世界中の研究者と直接議論でき、ある程度の理解を得られたと感じている。モノリグノール配糖体が細胞壁へ輸送される模式図を出している口頭発表も最終日に見られ、私の仮説も受け入れられる余地があることを認識した。

他の研究者の口頭発表も最新の成果であり、新たな知見を深めることができた。特異的プロモータを用いて、特定の組織においてのみ遺伝子発現を抑制した植物での木化様式から、リグニン前駆物質が他の細胞から供給されることを示唆する研究などは、大変刺激になった。また、細胞外の単糖がシグナルとなって様々な生理活動を制御している可能性を示す他の発表もあり、ユニフェリンが加水分解されて生じるグルコースの役割を考察する上で興味深い発表であった。ポスター発表でも、ゴルジ層板の分画分取、リグニン特異的なモノクローナル抗体の作製など、興味深い発表が多数あった。

今回、普段論文の著者として目にしている研究者と直接会い、議論できたことで、論文には無い細かな情報や、最新の研究の動向を知ることができた。私の仮説に否定的な研究者とも直接議論ができたことで、私の仮説もいくらか納得してもらえた。昼食時などにたまたま近くにいた研究者と会話をし、様々な研究の話、様々な国の話を聞くことができた。そしてどこの国でも、どんな所でも、同じような研究の苦労を重ねているのだということを感じた。どれも現地に行かなければできなかった経験である。

京都大学教育研究振興財団に助成をいただけたおかげで、このような貴重な経験を積むことができた。この場を借りて深く御礼申し上げます。誠にありがとうございました。