

シロイヌナズナを用いたリグニン前駆物質輸送体の探索

武内, 真奈美

<https://hdl.handle.net/2324/1959163>

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏名	武内 真奈美			
論文名	シロイヌナズナを用いたリグニン前駆物質輸送体の探索			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	堤 祐司
	副査	九州大学	准教授	渡辺 敦史
	副査	京都大学 農学研究科	教授	高部 圭司

論文審査の結果の要旨

リグノセルロースバイオマスの有効利用には、リグニン生合成の理解が重要である。リグニン生合成機構のうち、細胞質内から細胞壁へのリグニン前駆物質の輸送については未解明の部分が多く、これに関わるタンパクの特定は輸送機構の解明に大きく貢献する。これまでに細胞膜および液胞膜画分における ATP 依存的なリグニン前駆物質の輸送が報告され、リグニン前駆物質の細胞壁への輸送に関して、ABC 輸送体の関与が示唆された。本研究は ABC 輸送体に着目し、リアルタイム PCR を用いた ABC 輸送体遺伝子の発現解析により候補遺伝子を絞り込み、各輸送体のリグニン生合成への寄与を検討したものである。

まず、既往の知見をもとに選択したリグニン生合成に関与する可能性がある 29 個の輸送体遺伝子ならびに、二次壁形成やリグニン生合成に関連する 13 個のリファレンス遺伝子群に対し、短時間で同調的な木部形成を誘導できるシロイヌナズナ管状要素誘導系で、時系列に従った木化細胞比率を指標としてリアルタイム PCR による発現解析を行った。その結果、4 個の ABC 輸送体遺伝子 (*ABCG11*, *ABCG22*, *ABCG29*, *ABCG36*) が複数のリファレンス遺伝子と同調的に強く発現することを明らかにした。また、*ABCG27* の発現プロファイルはリファレンス遺伝子群のそれと全般的に一致したわけではないが、少なくとも木化が著しく起こっている期間に高発現を示すことを見出した。これらの結果は、5 個の ABC 輸送体遺伝子がリグニン前駆物質輸送に関わる可能性を示している。

次いで、維管束植物の進化に伴って、維管束形成に必須な木化に関わる遺伝子が獲得されたとの予想のもとに、非維管束植物であるヒメツリガネゴケの ABC 輸送体と比較したところ、維管束植物であるシロイヌナズナにのみ保存される 10 個の遺伝子が選別された。これらと、前出の 5 個の遺伝子と合わせた計 15 個の ABC 輸送体遺伝子を対象に、2 つの異なる週齢のシロイヌナズナから採取した 5 つの器官を用いた植物器官別の遺伝子発現解析を実施した。その結果、活発に木化する植物器官においてリファレンス遺伝子群と同調的に発現した 5 個の ABC 輸送体遺伝子 (*ABCG29*, *ABCG30*, *ABCG33*, *ABCG34*, *ABCG37*) を最終候補として選択するに至っている。

さらに、候補遺伝子のシロイヌナズナ T-DNA 挿入ノックアウト変異体を用いて、表現型観察およびリグニン分析による機能解析を試みている。いずれの候補遺伝子の一遺伝子ノックアウト変異体においても、野生型と比較して外部形態的特徴、茎のリグニン量およびその組成に明確な変化は見られず、各候補遺伝子は、単一ではリグニン生合成に大きく寄与しないことを明らかにした。さらに、一遺伝子ノックアウト変異体を用いて、他候補輸送体遺伝子の発現解析を行った結果、*ABCG30* と *ABCG34* は一方をノックアウトすると他方の発現が上昇すること、さらに、*ABCG30* および *ABCG34* の両一遺伝子ノックアウトは *ABCG37* の発現を促進することを明らかにしている。これらの結果は、*ABCG30* および *ABCG34* は類似した機能を有し、相補的に機能している可能性を提示している。

以上要するに、本論文は、シロイヌナズナ培養細胞の管状要素誘導に伴う時系列に従った木化比率の異なる細胞、ならびに同植物体において異なる木化レベルの器官を用いて、ABC 輸送体遺伝子、リグニン生合成および二次壁形成遺伝子群の発現を統計的手法で解析することにより、リグニン前駆物質輸送体候補として可能性のある 5 個の ABC 輸送体遺伝子を選択し、それらの一遺伝子ノックアウト体を用いたリグニン分析の結果から、複数のリグニン前駆物質輸送体が協調的に木化に寄与する可能性を提唱したものであり、森林化学およびサステイナブル資源科学の発展に寄与する価値ある業績である。よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。