

Plant growth, development and lignification affected by the cationic cell-wall-bound peroxidase (CWPO-C) via auxin catabolism in transgenic *Arabidopsis thaliana* and *Populus alba*

ヨシカイ ベニテス ディエゴ アロンソ

<https://hdl.handle.net/2324/6787681>

---

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (農学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏名	ヨシカイ ベニテス ディエゴ アロンソ			
論文名	Plant growth, development and lignification affected by the cationic cell-wall-bound peroxidase (CWPO-C) <i>via</i> auxin catabolism in transgenic <i>Arabidopsis thaliana</i> and <i>Populus alba</i> (カチオン性細胞壁結合型ペルオキシダーゼ CWPO-C はオーキシン代謝を介してアラビドプシスおよびポプラ形質転換体の成長、発生および木化を制御する)			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	堤 祐司
	副査	九州大学	教授	渡辺 敦史
	副査	九州大学	准教授	清水 邦義
	副査	九州大学	助教	藤田 弘毅

## 論文審査の結果の要旨

ポプラから単離されたカチオン性細胞壁結合型ペルオキシダーゼ(CWPO-C)は、タンパク質表面に露出した基質酸化部位を持つことで、基質の分子サイズや形状に関係無く、*in vitro*において様々な基質を酸化可能であることから、植物のリグニン形成に関与する、ユニークな万能性ペルオキシダーゼアイソザイムと考えられてきた。しかしながら、植物体内においてリグニンの形成に関与するという生理学的な機能に関する直接的な証拠は得られておらず、上記仮説の検証が必要であった。本研究では、CWPO-Cの生理学的機能を明らかにすることを目的とし、モデル植物であるアラビドプシスおよびポプラを用いて、遺伝子の発現局在性や組換え体の表現型解析を行っている。

はじめに、CWPO-C遺伝子の発現局在性を調査するため、CWPO-Cプロモーター領域にGUSレポーター遺伝子を連結したコンストラクトをアラビドプシスに導入した結果、CWPO-Cプロモーターは、胚軸、若い葉や根、若い木部など、分化直後の成長が盛んな組織において強く発現していることを見出している。次いで、CWPO-Cを過剰に発現する組換え体(OEライン)を作成し、その表現型について様々な解析を行っている。OEラインは成長速度が遅く、中でも最も成長抑制が大きいラインOE11は、遺伝的に安定した後代において60%の苗の先端がカールするという異常な表現型を示すことを見出している。これらの結果から、CWPO-Cが植物の成長や細胞伸長に関与するという当初の仮説とは異なる生理機能を持つ可能性を示している。さらに、植物体を水平に倒した後の立ち上がり屈性試験において、OEラインはコントロールに比べて立ち上がり時間が著しく延長することを明らかにしており、CWPO-Cの生理機能の一つとして、オーキシン代謝制御を提起するに至っている。この仮説を証明するため、アラビドプシス組換え体の内在性インドール-3-酢酸(IAA)を定量したところ、OE11ではIAA濃度が野生型の約1割まで減少していること、大腸菌で発現させたリコンビナントCWPO-Cは*in vitro*においてIAAを二つの未知化合物に代謝変換することも確認している。これらの解析の結果から、CWPO-Cの生理機能として、IAAの代謝不活性化による成長制御機能を提唱するに至っている。

アラビドプシスを用いる解析では、標的とするCWPO-Cの発現抑制による影響を検討することは不可能である。そこで次に、ポプラを用いてOEラインと発現抑制(RNAi)ラインを作成し、解析を進めている。まず、GUSを用いたプロモーター解析では、アラビドプシスの場合と同様に、胚、若い葉、若い茎、頂芽切断後に誘導された腋芽、カルスから発生した不定芽など、分化後の成長の盛んな部位で強く発現することを再確認するとともに、若い木部でも強い発現を認めたことから、成

長制御ならびに木化の両方の機能を持つであろうと推定している。ポプラOEラインは、若干の成長促進ならびに屈性時間の短縮など、アラビドプシスOEラインとは大きく異なった表現型を示すことを確認している。一方で、ポプラRNAiラインの外見上の成長や形状は野生型と大きな違いを認めていないが、茎横断面では明らかな違いを発見している。すなわち、木部の発達が遅れており、木化する細胞が大きく減少する一方、厚角細胞は増加していることを見出している。RNAiラインのリグニン量は減少し、リグニン中の $\beta$ -O-4結合比率は顕著に増加していることから、CWPO-Cの抑制は木化レベルや、リグニン構造にも影響することを明らかとしている。また、ポプラOEラインのIAA濃度はアラビドプシスOEラインのように顕著に減少することなく、これらポプラとアラビドプシスの大きな差異は、IAAの生合成・代謝制御ならびにIAA濃度変化に対する感受性の違いによるものではないかと推定している。

以上、要するに、本論文は、万能性ペルオキシダーゼであるCWPO-Cの植物における生理機能の解明に取り組んだものであり、CWPO-Cの生理機能として、木部組織の発達や木化制御に加え、IAAの代謝不活性化を介した若い組織における成長制御という新たな提案をするに至っており、これは植物において普遍的に存在するユニークな活性特性を有するペルオキシダーゼの生理的意義に関する重要な知見である。

これらの知見は、サステイナブル資源科学および森林化学の発展に寄与する価値ある業績と認める。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。