

第1回(2021年度)リグニン学会賞  
高部 圭司(京都大学大学院農学研究科 名誉教授)  
「細胞壁の木化メカニズムの解明」

The Lignin Society Prize for 2021

Keiji TAKABE

Professor Emeritus, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

Elucidation of the mechanism of cell wall lignification

1978年3月京都大学農学部林産工学科卒業, 1980年3月京都大学大学院農学研究科林産工学専攻修士課程修了, 1985年1月京都大学大学院農学研究科林産工学専攻博士後期課程修了, 1985年10月北海道大学農学部助手, 1989年6月京都大学農学部助手, 1995年6月京都大学農学部助教授, 2010年12月京都大学大学院農学研究科教授, 2020年4月京都大学名誉教授



### 研究の概要

木材細胞壁の主要構成成分は、セルロース、ヘミセルロース、リグニンである。これら3成分のうち、リグニンは、細胞壁に物理的強度と疎水性を与え、細胞同士を接着し、生分解に対する抵抗性を高めている。木が長命で巨大な生命体になり得るのは、リグニンによると言っても過言でない。細胞壁の木化過程は、これまでいくつかの研究がありながら、その詳細は不明であった。また、細胞壁にリグニンが充填する過程を分子レベルでとらえた研究は皆無であった。そのため、細胞壁の木化過程に関する詳細で基礎的な研究が望まれていた。

細胞壁の木化は、リグニン前駆物質の合成、輸送、重合の3段階で進行する。光合成産物が細胞内でどのように代謝されてリグニン前駆物質となり、細胞壁へと輸送され、重合するのかわかり不明であった。とりわけリグニン前駆物質が細胞内から細胞膜を通過して細胞壁へ輸送されるメカニズムは、手付かずの研究課題であった。

#### 1. 細胞壁の木化過程とリグニン分布

紫外線顕微鏡法、蛍光顕微鏡法、<sup>3</sup>H標識したリグニン前駆物質を用いたオートラジオグラフィなどを、細胞壁形成中の針葉樹仮道管に適用した<sup>1,2)</sup>。リグニンの沈着はコーナー部細胞間層で開始され、コーナー部を起点として細胞間層へと進行し、やがて細胞間層全周で進行した。二次壁でのリグニンの沈着は細胞壁の肥厚に遅れてS<sub>1</sub>層の外側部分より開始され、S<sub>2</sub>層、S<sub>3</sub>層へと求心的に進行し、最終的に二次壁全域でほぼ均一な濃度になった。この時、細胞間層のリグニン濃度は、二次壁のそれの2倍程度だった。広葉樹材であるブナの1年輪内リグニン分布を調べると、早材相当部の道管二次壁ではグアイアシルリグニン、木繊維二次壁はシリリングルリグニンが分布していたが、晩材相当部では道管二次壁、木繊維二次壁ともグアイアシル/シリリングル型リグニンが分布していた<sup>3)</sup>。

#### 2. 木化の進行に伴う細胞壁三次元構造の変化

急速凍結・凍結切断・深エッチング法を用いて、ヒヤクニチソウ管状要素の木化中細胞壁を電子顕微鏡で観察した<sup>4)</sup>。未木化の細胞壁ではマイクロフィブリルが間隔を空けてほぼ平行に堆積し、その間をヘミセルロースと思われるフィブリル状構造物が架橋していた。木化の進行に伴い、マイクロフィブリル間にリグニンと思われる無数の球状構造物が生じ、最終的にはマイクロフィブリル

間のスペースを全て埋め尽くした。この研究では、細胞壁にリグニンが沈着していく過程をナノレベルで三次元的に可視化することに成功した。

### 3. モノリグノール類の生合成や重合に関与する酵素の細胞内分布

酵素のアミノ酸配列をもとにペプチド抗体を作製し、切片に反応させて酵素の局在を調べた<sup>5,6,7,8</sup>。モノリグノール類の生合成に関与する酵素のうち、芳香核の水酸化に関与する酵素は細胞小器官の膜上に、その他の酵素は細胞質基質中に分布していた。これらの結果は、モノリグノール中間代謝物は細胞小器官の膜上と細胞質基質を行き来しながら合成が進行することを示している。モノリグノール類の重合に関与するペルオキシダーゼ、ラッカーゼは、木化進行中の細胞に存在していた<sup>9</sup>。また、フェニルアラニンアンモニアリアーゼの活性阻害剤を与えると、細胞壁は未木化のままであることが明らかになった<sup>10</sup>。

### 4. モノリグノール類の輸送

木化中の細胞より超遠心法でミクロソーム膜画分を得て、モノリグノール類やモノリグノール配糖体の取り込みを調べた<sup>11,12,13,14</sup>。その結果、コニフェリンがATP存在下でミクロソーム膜に取り込まれることが判明した。さらに様々な阻害剤を用いた取り込み実験により、ATPaseがATPを加水分解して得られるエネルギーを利用してH<sup>+</sup>を膜内に取り込み、生じたH<sup>+</sup>勾配を利用してコニフェリンを膜内に取り込むアンチポーターが存在することが分かった。さらに同様なメカニズムがp-グルコクマリルアルコールにも存在することが判明した。モノリグノール類の輸送に関しては、まだ解明されていない様々な課題がある。

- 1) 高部圭司、藤田稔、原田浩、佐伯浩：クロマツ仮道管の木化過程。木材学会誌 **27**(12), 813-820 (1981).
- 2) Takabe, K., Fujita, M., Harada, H., Saiki, H.: Autoradiographic Investigation of Lignification in the Cell Walls of *Cryptomeria* (*Cryptomeria japonica* D. Don). *Mokuzai Gakkaishi* **31**(8), 613-619 (1985).
- 3) Takabe, K., Miyauchi, S., Tsunoda, R., Fukazawa, K.: Distribution of Guaiacyl and Syringyl Lignins in Japanese Beech (*Fagus crenata*): Variation within an Annual Ring. *IAWA Bulletin new series* **13**(1), 105-112 (1992).
- 4) Nakashima, J., Mizuno, T., Takabe, K., Fujita, M., Saiki, H.: Direct Visualization of Lignifying Secondary Wall Thickenings in *Zinnia elegans* Cells in Culture. *Plant and Cell Physiol.* **38**(7), 818-827 (1997).
- 5) Nakashima, J., Awano, T., Takabe, K., Fujita, M., Saiki, H.: Immunocytochemical Localization of Phenylalanine Ammonia-lyase and Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase in Differentiating Tracheary Elements Derived from *Zinnia* Mesophyll Cells. *Plant and Cell Physiol.* **38**(2), 113-123 (1997).
- 6) Takeuchi, M., Takabe, K., Fujita, M.: Immunolocalization of O-Methyltransferase and Peroxidase in Differentiating Xylem of Poplar. *Holzforschung*, **55**, 146-150 (2001).
- 7) Takabe, K., Takeuchi, M., Sato, T., Ito, M., Fujita, M.: Immunocytochemical Localization of Enzymes Involved in Lignification of the Cell Wall. *Journal of Plant Research*, **114**, 509-515 (2001).
- 8) Sato, T., Takabe, K., Fujita, M.: Immunolocalization of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate-4-hydroxylase in differentiating xylem of poplar. *COMPTES RENDUS BIOLOGIES* **327**, 827-836 (2004).
- 9) Takeuchi, M., Takabe, K., Fujita, M.: Immunolocalization of an anionic peroxidase in differentiating poplar xylem. *Journal of Wood Science* **51**, 317-322 (2005).
- 10) Nakashima, J., Takabe, K., Fujita, M., and Saiki, H.: Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase activity causes the depression of lignin accumulation of secondary wall thickening in isolated *Zinnia* mesophyll cells, *Protoplasma*, **196**, 99-107 (1997).
- 11) Tsuyama, T., Kawai, R., Shitan, N., Matoh, T., Sugiyama, J., Yoshinaga, A., Takabe, K., Fujita, M., Yazaki, K.: Proton-Dependent Coniferin Transport, a Common Major Transport Event in Differentiating Xylem Tissue of Woody Plants. *Plant Physiology* **162**, 918-926 (2013).
- 12) Tsuyama, T., Takabe, K.: Distribution of lignin and lignin precursors in differentiating xylem of Japanese cypress and poplar. *J. Wood Sci.* **60**, 353-361 (2014).
- 13) Tsuyama, T., Takabe, K.: Coniferin  $\beta$ -glucosidase is ionically bound to cell wall in differentiating xylem of poplar. *Journal of Wood Science* **61**, 438-444 (2015).
- 14) Tsuyama, T., Matsushita, Y., Fukushima, K., Takabe, K., Yazaki, K. and Kamei, I.: Proton gradient-dependent transport of p-glucocoumaryl alcohol in differentiating xylem of woody plants, *Scientific Reports* <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45394-7> (2019).