



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functions of wood cell wall polysaccharides on lignification in vitro [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	LYU, Yan
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第15155号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87244
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Lyu_Yan_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）	氏名	Yan LYU
審査担当者	主査	教授	浦木康光
	副査	教授	玉井 裕
	副査	准教授	幸田圭一
	副査	助教	鈴木 栞

学位論文題名

Functions of wood cell wall polysaccharides on lignification *in vitro* (*in vitro* の木化における木材細胞壁多糖類の機能)

本論文は英文 97 頁，図 35，表 5，4 章からなり，参考論文 1 編が付されている。

“木化“とも呼ばれる樹木中におけるリグニンの形成は，セルロースとヘミセルロースから成る多糖類マトリックス中で起きる。したがって，これらの多糖類が，形成されたリグニンの量や構造に影響を与えることが予想されるが，各種多糖類の機能については相反する諸説があり，未だ定説が確立されていない。Lyu 氏は，木化に及ぼす多糖類の機能を解明することを目的に，セルロースと種々のヘミセルロースから人工多糖類マトリックスを調製し，このマトリックス中で脱水素重合体（DHP）と呼ばれる人工リグニンを形成させて，得られた人工リグニンの解析から，多糖類の機能を推定した。加えて，木材細胞壁の形成に関与する物質間の相互作用を解明し，その成果を纏めたものが，本研究論文である。以下に，その成果について，具体的に記す。

1) 人工多糖類マトリックスを形成する成分間の相互作用解析

セルロース [バクテリアセルロース (BC) と広葉樹セルロースナノファイバー (CNF)] とヘミセルロース [グルクロノキシラン (XY)，ガラクトグルコマンナン (GGM) とキシログルカン (XG)] との相互作用を，平衡吸着法，および消散監視機能付き水晶振動子マイクロバランス (QCM-D) 法を用いた速度論的分析で調べた。両分析法とも，セルロースへの吸着量は，XY，GGM，XG の順に増加する結果を与えた。さらに，天然キシランと同程度のアセチル基（置換度 0.5）を持つ部分アセチル化 XY (AcXY) を調製し，QCM-D 法でセルロースへの吸着量を求めた。その結果，AcXY の吸着量は，前 3 者のヘミセルロースよりも少ないことを明示した。

2) 人工多糖類マトリックス中での西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) が触媒する DHP の形成とその分析

DHP の調製には，通常，HRP が使用される。Lyu 氏は，この DHP 形成に及ぼす前述のヘミセルロースの影響を明らかにすることを目的に，ヘミセルロースが吸着した BC 基板上で，DHP の調製を試みた。その結果，XY と XG，特に，XG が存

在する多糖類マトリックス中で、多量の DHP が形成されることを見出した。一方、GGM が存在すると、DHP 形成が阻害されることも示した。また、ニトロベンゼン酸化より、XY と GGM の存在は、 β -O-4'結合に代表されるアリールエーテル結合に富む DHP の形成を促すが、XG は縮合構造の一つである 5-5'結合に富む DHP の形成を促すことを明らかにした。この XG が DHP 形成に及ぼす影響が、1 次壁リグニンが縮合構造に富む一因であると、結論付けた。

3) 人工多糖類マトリックス中でのカチオン性細胞壁結合ペルオキシダーゼ (CWPO-C) が触媒する DHP の形成とその分析

前項にて使用した HRP は樹木の酵素でなく、さらに、実際の木化に関与するか明示されていない。そこで、Lyu 氏は、ポプラ中で発見・単離された CWPO-C を用いて、DHP 形成に及ぼすヘミセルロースの機能解明を試みた。この研究では、多量発現が可能となったリコンビナントの rCWPO-C を用いた。CNF が結合した QCM-D のセンサー基板上で人工多糖類マトリックスを調製し、各物質間の相互作用や DHP 形成に及ぼす影響について、HRP との比較を行った。

まず、酵素と多糖類との吸着について、HRP は CNF に多量吸着したが、rCWPO-C は AcXY に多量吸着し、多糖類への親和性が異なることを示した。また、HRP はモノリグノール的一种であるコニフェリルアルコールのみを酸化して、DHP を QCM-D センサー上に形成したが、広葉樹のモノリグノール的一种であるシナピルアルコールは酸化せず、DHP の形成は認められなかった。一方、rCWPO-C は両方のモノリグノールを酸化し、特に、シナピルアルコールから多量の DHP を形成することを示した。さらに、AcXY が存在する人工多糖類マトリックス中で、非常に大きな粒状の DHP を多量形成することを見出した。アセチル基をもたないキシラン (XY) では、DHP 形成量が比較的少ないことより、アセチル基が、重要な官能基であることを示した。HRP よりも疎水的な rCWPO-C と、分子量増加に伴い疎水化する DHP それぞれに対して、疎水性のアセチル基が適度な親和性をもたらしたことが一因として推察される。これら広葉樹のペルオキシダーゼと広葉樹キシランの模倣物を用いた DHP 研究より、Lyu 氏は、広葉樹 2 次壁の木化には、部分アセチル化キシランが鍵となるヘミセルロースであることを指摘した。

以上、本研究では、これまで提案されてきた木材細胞壁の形成過程を模倣して、先ず多糖類マトリックスを調製し、引き続く DHP の形成を経るという人工細胞壁の形成を通して、複合細胞壁中間層で起きる木化に関与するキシログルカンの機能、さらに、グルクロノキシラン中のアセチル基が、広葉樹 2 次壁木化において重要な役割を担うことを明確にした。このヘミセルロースの木化への影響を明示した成果は、木材細胞壁形成の機構解明に大きく寄与するものと思慮される。

よって審査員一同は、Yan Lyu が、博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。