

プロジェクト名：糖ヌクレオチドによる細胞壁多糖類の合成制御

プロジェクト代表者：小竹 敬久（理工学研究科・准教授）

1. 背景：

光合成により同化された炭素は、UDP-グルコースなどの糖ヌクレオチドを経て、セルロースなどの細胞壁多糖類に変換される。したがって、原料物質である糖ヌクレオチドの代謝は、細胞壁多糖類の合成量に大きく影響する。糖ヌクレオチドの代謝を人為的に制御することができれば、セルロース等の有用多糖類を増産することや、利用価値の低いペントース（5炭糖）多糖類（グルクロノキシランなど）や夾雑多糖類を減らすことが可能である。

植物生体内では、光合成産物はショ糖として転流し、各組織でショ糖から UDP-グルコースに変換され、その後、逐次的に他の UDP-糖が合成される。糖ヌクレオチドの代謝経路のうち、本研究では、特に UDP-キシロースの合成に着目した（図1）。UDP-キシロースは細胞壁のペントース多糖類の原料物質であり、UDP-キシロースシンターゼ（UXS）の働きで UDP-グルクロン酸から不可逆的に合成される。UXS の働きを抑制すれば、ペントース多糖類の合成量が減少すると考えられる。また、これにより UDP-グルコースの歩留まりを上げることができれば、セルロース合成量が増加することも期待される。

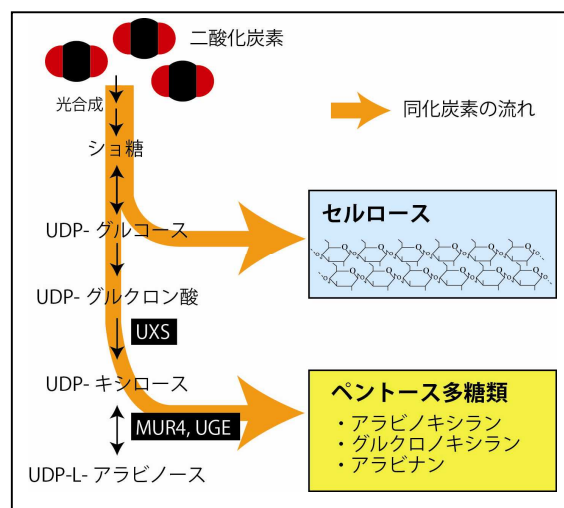


図1. 植物のUDP-糖合成経路と同化炭素の流れ
本研究では UDP-グルクロン酸から UDP-キシロースを合成する UXS に着目した。UXS が働かないと UDP-キシロース合成レベルが下がり、ペントース多糖類が減少すると期待される。

2. 結果と考察：

(1) シロイヌナズナの *uxs* 変異体

高等植物では、UDP-グルクロン酸から UDP-L-アラビノースまでの代謝経路が、ゴルジ体と細胞質基質の両方に存在するが、これらがそれぞれどのような役割を持つかは分かっていない。シロイヌナズナには、UXS が6つ (UXS1~6) 存在し、このうち UXS1, 2, 4 は N 末端に膜貫通領域があるためゴルジ体経路で働き、UXS3, 5, 6 は膜貫通領域を持たないため細胞質基質経路で働くと考えられている（図2）。

本研究では、まず、UXS の欠損変異体 (*uxs1* ~ *uxs6*) について、成長や形態、UDP-キシロース合成活性、細胞壁糖組成を調べた。また、各遺伝子の発現パターンも解析した。

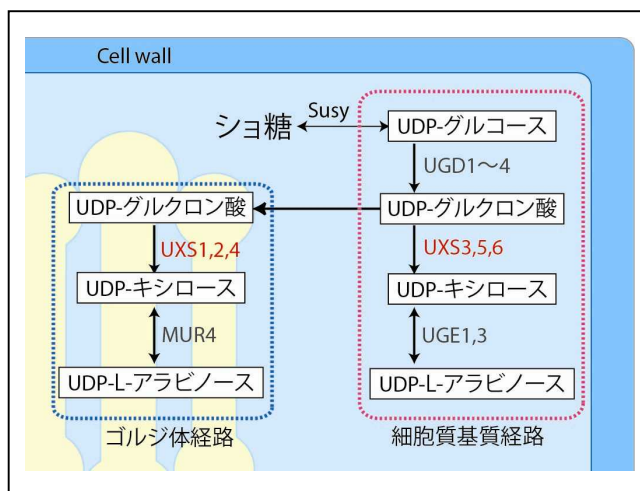


図2. シロイヌナズナのUDP-糖合成経路

UDP-糖合成経路には、ゴルジ体経路と細胞質基質経路があるが、これらの役割がよくわかっていない。UXS3、5、6は細胞質基質経路で働く。

(2) *uxs* 変異体の性状

海外のシロイヌナズナストックセンターから、T-DNA 挿入により遺伝子が破壊された *uxs1*~*6* 変異体入手した。それらの種子を増やすとともに PCR による遺伝型チェックを行い、それぞれのホモラインを確立した。*uxs1*~*6* 変異体はいずれも、成長や形態に顕著な変化を示さなかった。

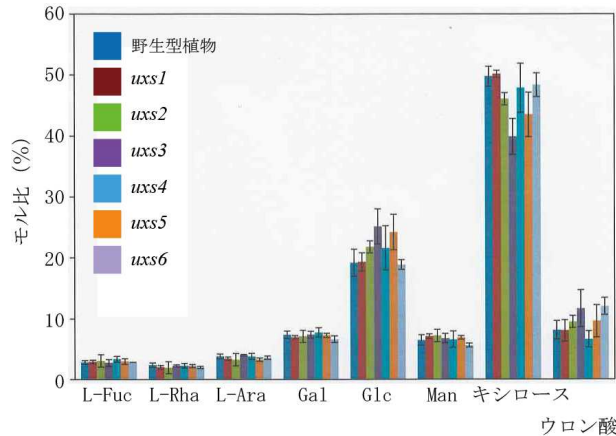


図3. *uxs* 変異体の細胞壁単糖組成

uxs3 変異体では、細胞壁構成糖のうち、キシロースの割合が19%低下していた。

変異体を磨碎し、可溶性の UDP・キシロース合成活性（基質である UDP・グルクロン酸から UDP・キシロースを生成する活性）を測定したところ、*uxs3* では、野生型シロイヌナズナと比べてこの活性が半減していた。他の5つの変異体では、活性が低下していないか、低下の傾向があっても有意な差ではなかった。また、細胞壁の単糖組成を調べたところ、*uxs3* 変異体では、キシロースの割合がモル比で19%低下していた（図3）。*uxs5* 変異体でもキシロースの割合が減少する傾向がみられた。

(3) *UXS* 遺伝子の発現パターン

UXS1~*6* 遺伝子の発現パターンを ATTED-II を利用して調べた。興味深いことに、細胞質基質型である *UXS3* は、セルロース合成酵素遺伝子である *IRX1, 3, 5* などと強い共発現関係にあり、二次細胞壁特異的に発現していることがわかった。同様の発現パターンは、*UXS6* にも見られた。

3. 今後の展望

シロイヌナズナの二次細胞壁合成時には、主に細胞質基質型の *UXS* が、UDP・キシロースを供給していることが示唆された。細胞質基質経路の UDP・キシロース合成を抑制することで、ペントース多糖類の蓄積を抑制した植物を開発可能と考えられる。今後、*UXS3* 遺伝子と *UXS5* 遺伝子を欠損した *uxs3uxs5* 二重変異体や、細胞質基質型の *UXS* 遺伝子をすべて欠損した *uxs3uxs5uxs6* 三重変異体を作出し、これらについても解析を進める予定である。

4. 発表文献

本研究では関連する成果として下記の論文を発表した。

Tryfona T., Liang H.-C., **Kotake T.**, Tsumuraya Y., Stephens E. and Dupree P. (2012) Structural characterisation of Arabidopsis leaf arabinogalactan polysaccharides. *Plant Physiology* **160**, 653-666.

Kitazawa K., Tryfona T., Yoshimi Y., Hayashi Y., Kawauchi S., Antonov L., Tanaka H., Takahashi T., Kaneko S., Dupree P., Tsumuraya Y. and **Kotake T.** (2013) β -Galactosyl Yariv reagent binds to the β -1,3-galactan of arabinogalactan-proteins. *Plant Physiology* **161**, 1117-1126.