

# スギクローン品種内における細胞壁ヘミセルロースの化学構造の環境依存的多様性に関する研究

日大院 生物資源 ○石田暁文、志水一允、片山義博  
森林総研 山下香菜、藤原健、外崎真理雄

## 諸言

スギ(*Cryptomeria japonica* D. Don)は最も利用度の高い有効樹種であるため古くから広く人工栽培され、その中で優良クローンの選択がなされ長年にわたる育成の過程で数多くの品種を生み出されてきた。現存するスギには、その成立過程から二つのグループ、1)地域品種 2)栽培品種に分けられ、その中でも栽培品種には一個体からの挿し木による単クローンで構成されているものがあり、単クローンで構成されているため遺伝的に均一な集団である。我々はこれまで力学的特性(動的ヤング率)の著しく異なるスギ品種(ボカスギ、リュウノヒゲ)の細胞壁ヘミセルロース、特にアラビノグルクロノキシラン(AGX)に着目し、その化学構造の多様性に関する研究に取り組んできた。低いヤング率を有するボカスギは高いヤング率を持つリュウノヒゲに比べ、AGXのグルクロン酸(GlcA)側鎖が高頻度に分布しており、そのことが木材の物理的特性に関与する可能性を考察してきた。

今回我々は、スギ品種の力学的特性に関する細胞壁ヘミセルロースの化学構造の遺伝的形質と環境依存的多様性を評価することを目的とし、小さい動的ヤング率を特徴とするスギ品種、ボカスギ(つくば産、水戸産、千葉産)の辺材を取り上げ、生育環境に依存して現れるAGXの化学構造の多様性を評価した。これまで栽培品種は栽培場所の環境要因の影響は受けるものの、種々の特性において変動幅は極めて小さいとされてきた。しかし、今回の試料は同一品種であるが生育環境に依存して組織構造が大きく異なっていることが特徴である。今回、ヘミセルロースの化学構造の解析からAGXのGlcA側鎖の置換度などにおいて環境的要因によって変動がおこる可能性が示唆された。

## 実験方法

1) スギ試料概要(つくば産ボカスギ、水戸産ボカスギ、千葉産ボカスギ)(表.1 図.1)

2) 木材組成分析

3) ヘミセルロース抽出・単糖組成

通常のWise法で調整されたホロセルロースは温水中で水溶性ガラクトグルコマンナン(GGM)を抽出した後、常法でAGX、グルコマンナン(GM)を単離した。単離したAGXをトリフルオロ酢酸(TFA)で2時間、130°C加水分解し、TSK-GEL Sugar AXI(4.6×150 mm)を用いたHPLCにより単糖組成を分析した。

4) グルクロン酸の定量

各々単離されたAGX画分をカルバゾール硫酸法にて定量した。

5) 分子量分析

各々単離されたAGXは0.05M 酢酸ナトリウム(pH5.5)を溶出液とするSuperose200 10/300(10×300 mm)で分子量分析した。

6) DEAE-Sephadex A-25カラムによるAGXの分画

各々単離したAGXを蒸留水に溶解し、DEAE-Sephadex A-25カラムに供し、蒸留水溶出画分、0.2M 酢酸ナトリウム(NaOAc)溶出画分、1M NaOAc溶出画分、2M NaOAc溶出画分、1M 水酸化ナトリウム溶出画分に分離し、各々フェノール硫酸法により溶出糖量を確認した。

つくば産ボカスギ 千葉産ボカスギ 水戸産ボカスギ

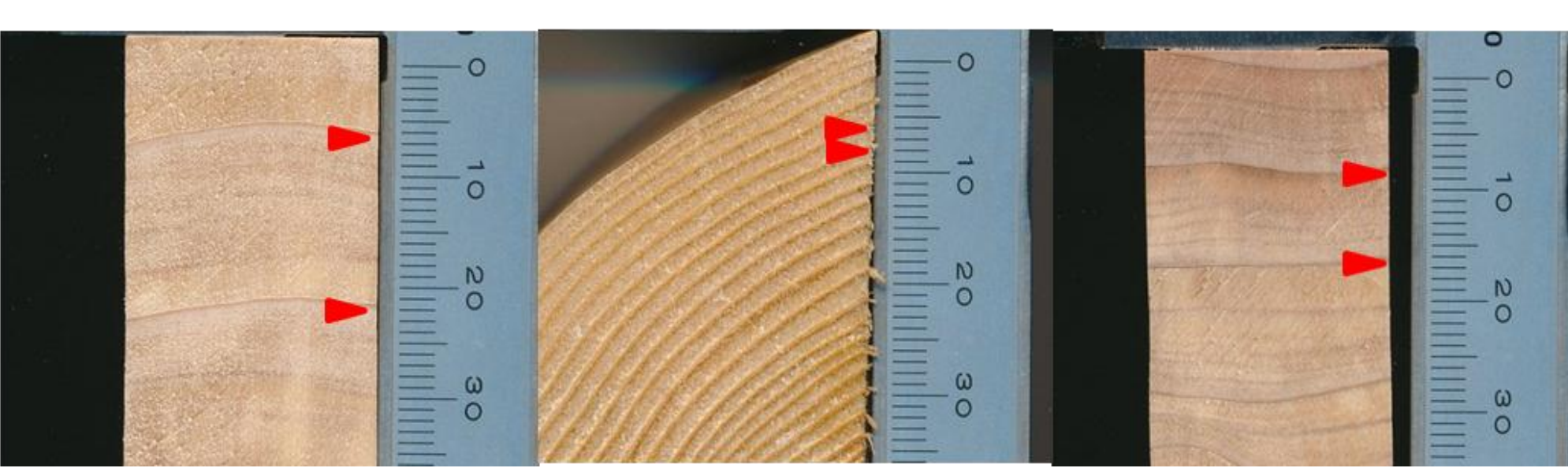


図.1 スギ試料写真

表.1 実験試料の概要

	水戸産ボカスギ	千葉産ボカスギ	つくば産ボカスギ
気乾材動的ヤング率(GPa)	4.69	4.71	1.47
気乾材の密度(g/cm <sup>3</sup> )	0.29	0.36	0.30
平均年輪幅(mm)	9.0	2.09	13.36

## 結果及び考察

2) 木材組成分析

各々産地の木材組成分析は、特にKlasonリグニン量・抽出成分量では成長速度が遅いほど多く、α-セルロース量では成長速度が遅いほど多くなった(表.2)。

表.2 木材組成分析(%)

成分	水戸産ボカスギ	千葉産ボカスギ	つくば産ボカスギ
抽出成分	2.8	1.0	3.4
Klasonリグニン	35.8	33.2	39.8
ヘミセルロース	23.9	20.1	22.4
α-セルロース	38.5	45.6	34.4

3) 単糖組成分析

各々単離されたAGX画分の単糖組成は一般的な針葉樹の単糖組成の範囲内に収まっており精製されたAGXが単離されたことが示された(表.3)。

表.3 AGX画分 単糖組成成分(%)

	水戸産ボカスギ	千葉産ボカスギ	つくば産ボカスギ
L-Rha	4.7	2.6	2.0
D-Man	1.4	0.2	2.5
D-Ara	12.7	7.4	9.5
D-Gal	7.5	4.4	6.7
D-Xyl	69.0	77.2	75.0
D-Gul	5.1	8.1	4.4

4) グルクロン酸の定量

AGXあたりのグルクロン酸量は水戸産ボカスギで26.5%、千葉産ボカスギで21.3%、つくば産ボカスギで25.5%となった。これはキシロースが水戸産で3.7個、千葉産が4.6個、つくば産で3.6個につきそれぞれグルクロン酸が1個ついているということになる。成長速度の特に遅い千葉産のグルクロン酸量が他の産地のボカスギと比較して少ないため、グルクロン酸量は成長速度と何らかの関係がある可能性が考えられた。

5) AGX分子量分布

分子量分布において、どの産地のAGXにおいても二つの異なるピークを持つ分子量分布を示した(図.2)。これら分布の異なるAGXはシロイヌナズナで観察されているように合成の段階で糖鎖長が制御され、細胞壁形成において異なった役割を持っている可能性が考えられた<sup>2)</sup>。成長速度の特に遅い千葉産は他の産地に比べ異なる傾向が見られた。また、同様に行ったリュウノヒゲと比較してどの産地も低分子領域が低い傾向が見られた。

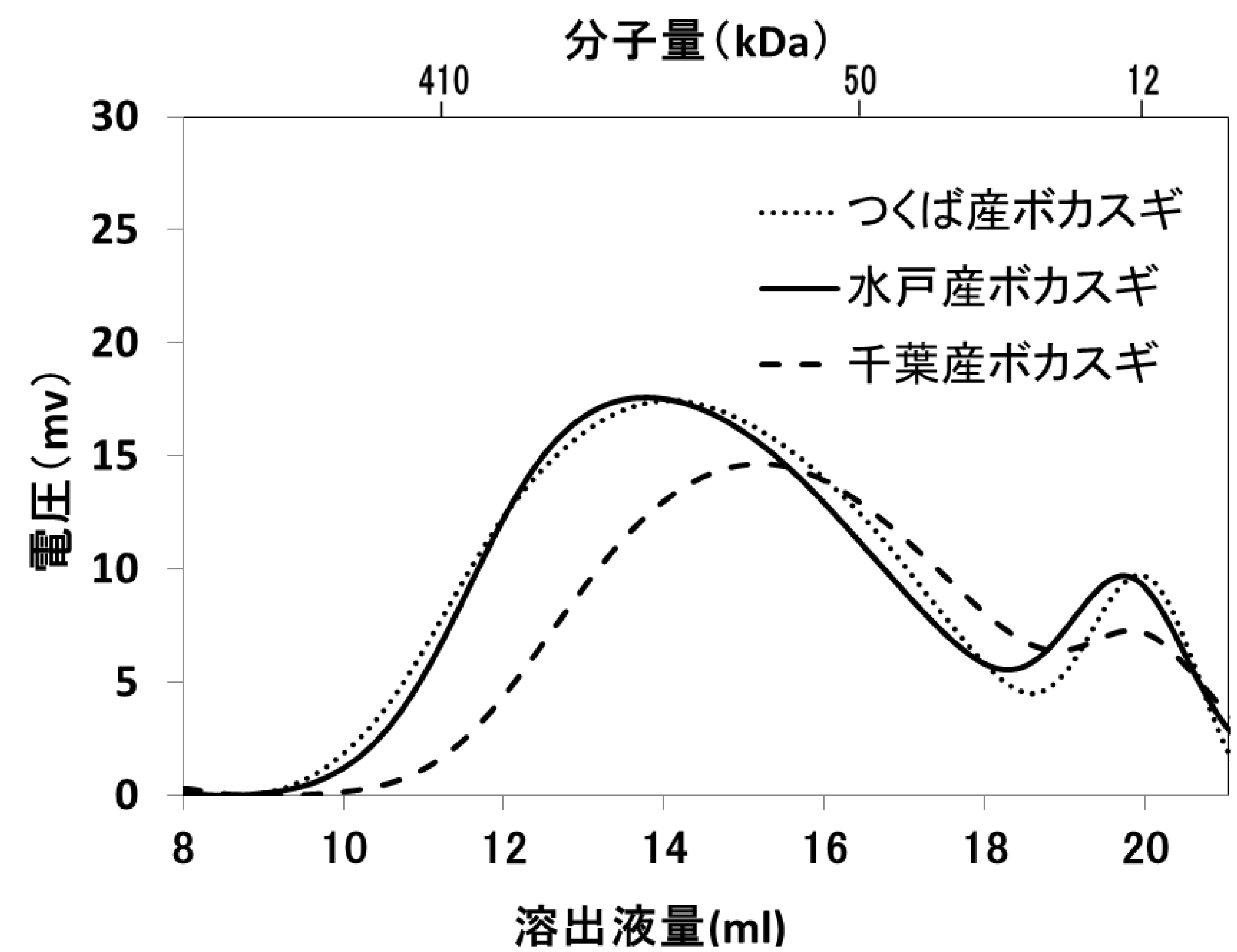


図.2 AGX分子量分布

6) DEAE-Sephadex A-25カラムによるAGXの分画

DEAE-Sephadex A-25カラムによるAGXの分画ではNaOAc 0.2MとNaOAc 1M溶出画分において各々異なる傾向を示した(図.3)。千葉産は0.2M溶出画分に最も多く溶出し、つくば産は1M溶出画分に最も多く溶出した。また、同様に行った力学的強度が強く成長速度の遅いスギであるリュウノヒゲでは千葉産に似た傾向を示した。このことから成長速度の速い方が陰イオン交換樹脂との相互作用が強いという可能性が示された。

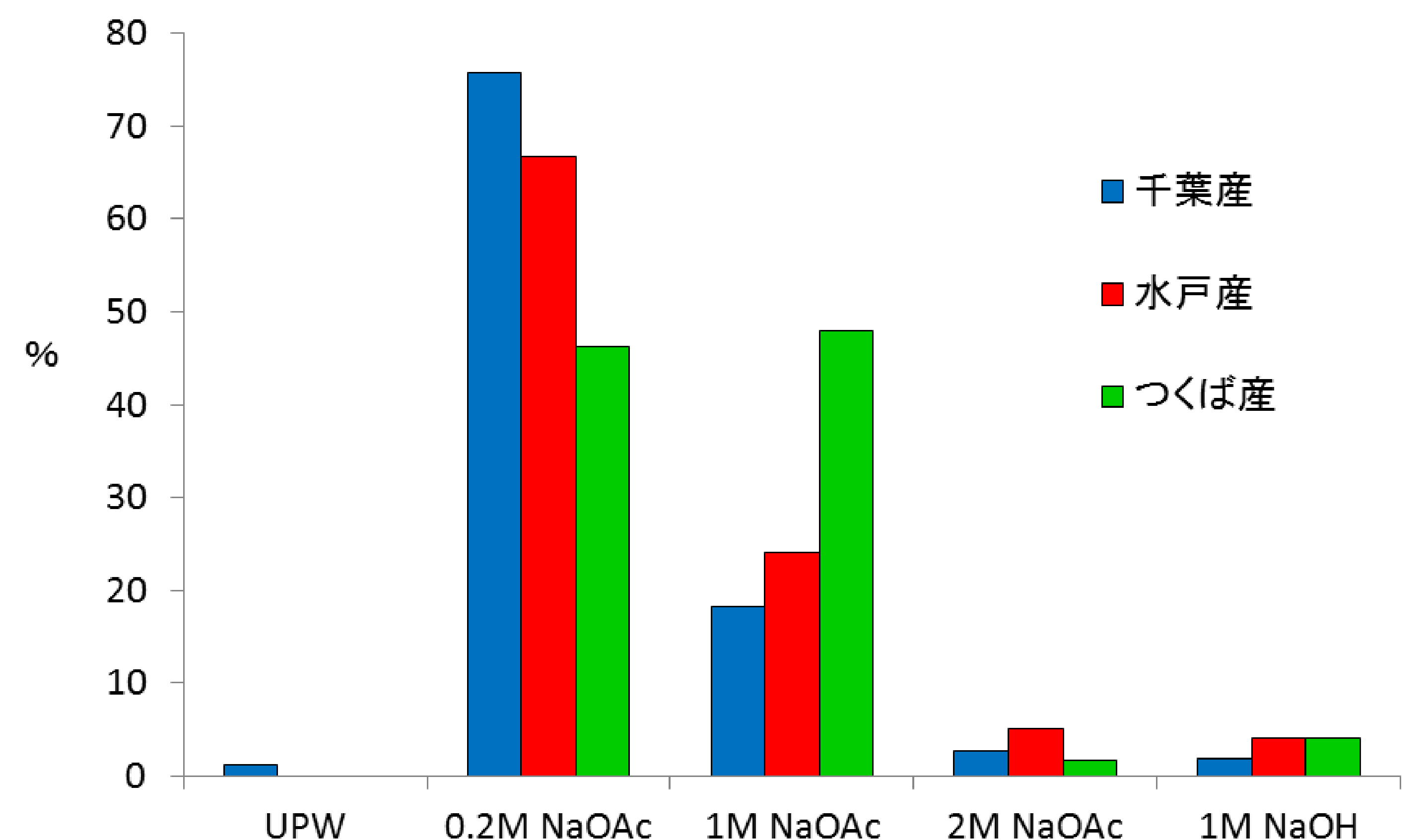


図.3 DEAE-Sephadex A-25カラムによるAGX分画

## 総括

生育環境の異なるボカスギでは、木材組成分析から成長速度の違いに伴い差異が生まれ、特に抽出成分量、α-セルロース量においてはその差が大きくなる可能性がある。グルクロン酸量においても成長速度の速い千葉産ボカスギはつくば産・水戸産ボカスギよりも明らかに少ない値を示し、陰イオン交換樹脂を用いた分析においても、つくば産ボカスギ、水戸産ボカスギ、千葉産ボカスギの順に相互作用が強い傾向が示されたことから成長速度の速いボカスギほどGlcA側鎖置換度が高い可能性が示された。このことから、環境的要因による成長速度の違いによって差異が生まれる可能性が示唆された。

分子量分布分析から千葉産ボカスギは他の産地と異なる傾向を示したことから主鎖の長さも環境的要因により、変動する可能性があげられた。しかし、低分子領域のグループはリュウノヒゲと比較してどの産地もピークが低いことから、キシラン主鎖の長さにおいて環境的要因に左右されない遺伝的に保持されている形質も存在する可能性が示唆された。

以上のことからスギクローン品種(ボカスギ)内のAGXにおいて環境的要因によってその側鎖であるグルクロン酸の置換度は変化する可能性が示唆された。また、AGXの主鎖の長さにおいては部分的にその形質が保持されている可能性があげられた。

## 参考文献

- 1) 小田一幸: 木材工業 55(2):50-54(2000)
- 2) David M. Brown et al(2009): Characterization of IRX10 and IRX10-like reveals an essential role in gulucronoxylan biosynthesis in Arabidopsis. the Plant Journal 57:732-746