

日本木材学会
組織と材質研究会 2012 秋季シンポジウム

木材の形成機構解明に向けた
新規イメージング技術

2012 年 9 月 26 日
東京農工大学府中キャンパス
2 号館 2-21

プログラム

日本木材学会組織と材質研究会 2012 秋季シンポジウム

－木材の形成機構解明に向けた新規イメージング技術－

11:30-12:00 受付

12:00-12:05 挨拶 森林総研関西 組織と材質研究会幹事 藤井智之氏

12:05-12:15 趣旨説明 東京農工大学 半 智史

座長：東京農工大学 梶田真也氏

12:15-13:05 京都大学 高部圭司氏 1

「免疫標識法：細胞壁成分の局在」

13:05-13:55 名古屋大学 今井貴規氏 5

「TOF-SIMS：樹木抽出成分生合成・分布の可視化」

13:55-14:45 九州大学 堤 祐司氏 9

「マイクロダイセクション：微細組織におけるリグニン構造と生合成遺伝子の発現」

14:45-15:15 -休憩-

座長：京都大学 栗野達也氏

15:15-16:05 東京大学 小田祥久氏 13

「ライブセルイメージング：細胞骨格の動的挙動」

16:05-16:55 東京大学 五十嵐圭日子氏 17

「そろそろ分子を見ませんか？：木質細胞壁研究における一分子可視化技術の可能性」

16:55-17:00 クローリングリマーク 東京農工大学 船田 良氏

17:00 終了

17:30-19:30 懇親会 東京農工大学 50 周年記念ホール

免疫標識法：細胞壁成分の局在

京都大学 大学院農学研究科
高部 圭司

はじめに

免疫は、脊椎動物が自己の中に非自己成分が入り込んだ場合に、自分の体を守るために非自己成分を認識しそれを排除するものである。そのため、脊椎動物は非自己成分（抗原）だけに特異的に反応する免疫グロブリン（抗体）を血液中に産生する。抗原となりうる物質は、脊椎動物個体が持たないある程度の大きさの有機化合物である(松橋ら、1981)。この抗体の特異性に関しては、「驚くべきことに免疫系は、非常に類似した抗原、たとえばアミノ酸がたった 1 個違うだけのタンパク質や同じ分子の 2 つの光学異性体すらも区別することが出来る。」と記されている(Alberts ら、1995)。免疫標識法はこの抗体の特異性を利用して、細胞内での目的物質の局在を明らかにするために用いられている。樹木の細胞においては、細胞壁成分の生合成を触媒する酵素の分布や、細胞壁中での個々の細胞壁成分の局在が調べられてきた。ここでは、免疫標識法のための試料調製法や、免疫標識法による細胞壁形成過程や細胞壁成分分布に関する研究成果について紹介する。

細胞内の酵素を免疫標識する

分化中木部の細胞は、光合成産物を受け取り、細胞内で代謝して細胞壁成分を合成する。細胞を観察する者として、細胞内での代謝がどのようなメカニズムで進行するのかが極めて興味深い問題である。それを調べる方法の一つとして、細胞壁成分の生合成を触媒する酵素の局在を免疫電子顕微鏡法で調べることが挙げられる。抗体の作製には、当初は酵素を単離・精製して抗原として用いる方法が行われてきた。近年になって遺伝子情報よりアミノ酸配列を推定し、配列の中から抗体のしやすい 10 残基程度のアミノ酸配列を選び出して人工的にペプチドを合成し、キャリアタンパク質に結合させて抗原として用いる方法が行われている。このようにして作製した抗体を用いる際に重要なことは、抗体が目的とするタンパク質のみに反応しているのかを免疫沈降法やウェスタンブロッティングなどで確認することである。また、観察試料の作製にも一工夫が必要である。電子顕微鏡観察によく用いられるグルタルアルデヒドや四酸化オスミウムは固定能力が高い代わりにタンパク質を変性させるため、抗原性を著しく低下させる。そのため、細胞の固定はやや劣るが抗原性が比較的保持されるパラホルムアルデヒドなどを用いる。また、標識したい成分が水可溶性の場合は、それが局在していた部位に固定しなければならない。この点では、急速凍結・置換固定法が優れている。

Nakashima ら(1997)、Takeuchi ら(2001, 2005)、Sato ら(2004)、Takabe ら(2001)は、リグニンの生合成に関与する酵素の局在を、ヒャクニチソウ管状要素やポプラの分化中木部を用いて調べている。これらの結果を要約すると、モノリグノールの生合成に関与する酵素は細胞質基質中に存在するものと、細胞小器官の膜上に存在するものがあり、モノリグノール中間代謝物が細胞質基質と細胞小器官の膜

上を行き来しながら最終的にモノリグノールへと合成されていく。また、モノリグノールの重合に関与する酵素は、細胞内では粗面小胞体で合成され、ゴルジ装置中で加工されたあとに、細胞膜や細胞壁に輸送される。興味深いことは、細胞内ではモノリグノール中間代謝物はそれらの重合に関与する酵素と細胞小器官の膜によって隔てられ、モノリグノールが細胞壁に輸送されることにより、はじめて重合に関与する酵素と接触が可能になることである。

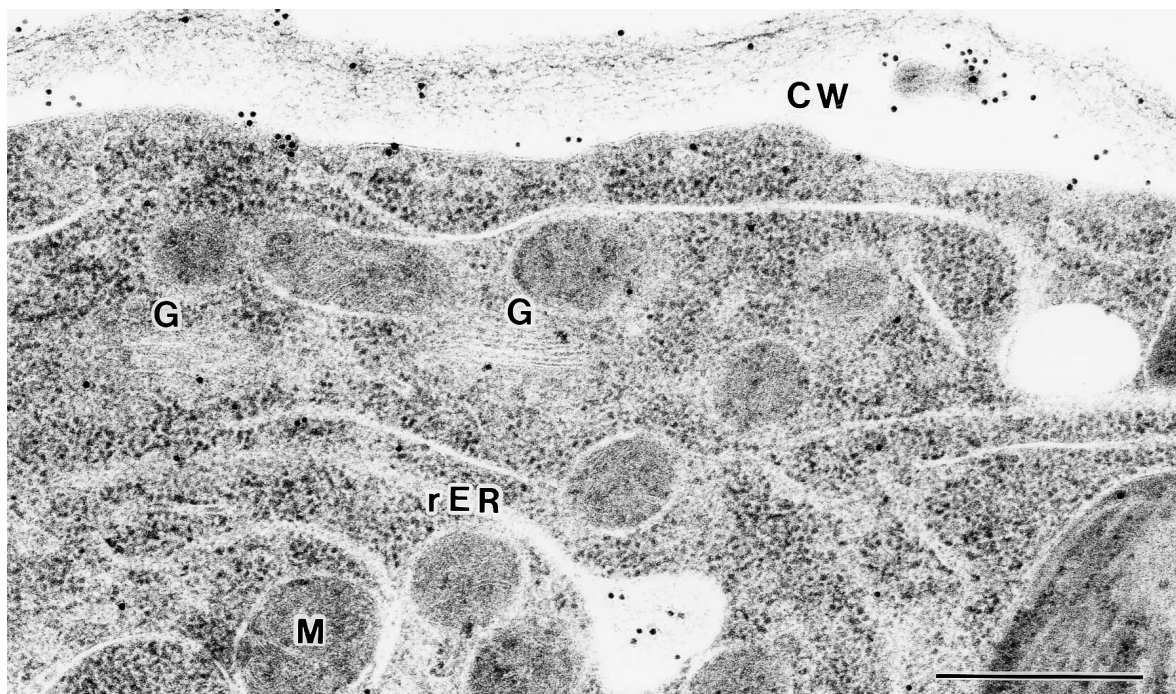


図1 ヒャクニチソウにおけるペルオキシダーゼの免疫標識（竹内美由紀博士提供）

急速凍結・置換固定されたヒャクニチソウ細胞にペルオキシダーゼに対する抗体を反応させた。標識は粗面小胞体やゴルジ装置、細胞壁に観察される。

CW:細胞壁、G:ゴルジ装置、M:ミトコンドリア、rER:粗面小胞体

細胞壁成分を免疫標識する

木材の主要な細胞壁成分は、セルロース、ヘミセルロース、リグニンである。ヘミセルロースは、針葉樹と広葉樹で異なり、前者はガラクトグルコマンナンが主要なヘミセルロースであり、4-O-メチルグルクロノアラビノキシランも存在する。一方、後者は4-O-メチルグルクロノキシランが主要なヘミセルロースでグルコマンナンもわずかに存在している。またリグニンは、針葉樹ではグアイアシルリグニン、広葉樹ではグアイアシルリグニンとシリングルリグニンの共重合体である。そして、コニフェリルアルコール、シナピルアルコールの結合様式は多岐にわたっている。

細胞壁成分の免疫標識で最も進んでいるのは、ヘミセルロースである。これは抗体の作製が、他の細胞壁成分に比べ容易だからである。研究が始まった当初は、研究者自身がヘミセルロースを精製し、多くの場合は部分加水分解してオリゴ糖を作製し、それをキャリアタンパク質に結合させてウサギやマウスに免疫し、抗体を得ていた。Awano ら(1998)、Maeda ら(2000)は、自ら抗体を作製しブナやヒノキのキシランやグルコマンナンの堆積過程を調べた。これらの研究では、キシランは主に細胞壁中に

しみ込むような挿入的堆積をし、グルコマンナンは細胞壁内表面に積み重なるような付加的堆積をすることが示された。また、Yoshida ら(2000)は、グルコマンナン堆積の日周期性について興味深い報告をしている。

最近では、キシラン、キシログルカン、マンナンに対するモノクローナル抗体が市販されるようになり、それらを用いた研究成果が多数報告されている。Kim ら(2010a, 2010b, 2010c, 2011a, 2011b, 2011c)は、スギの正常材や圧縮あて材でのグルコマンナンやキシランの堆積過程と細胞壁中での分布、ならびに細胞壁のエイジングによるグルコマンナンの構造変化について報告した(図2)。

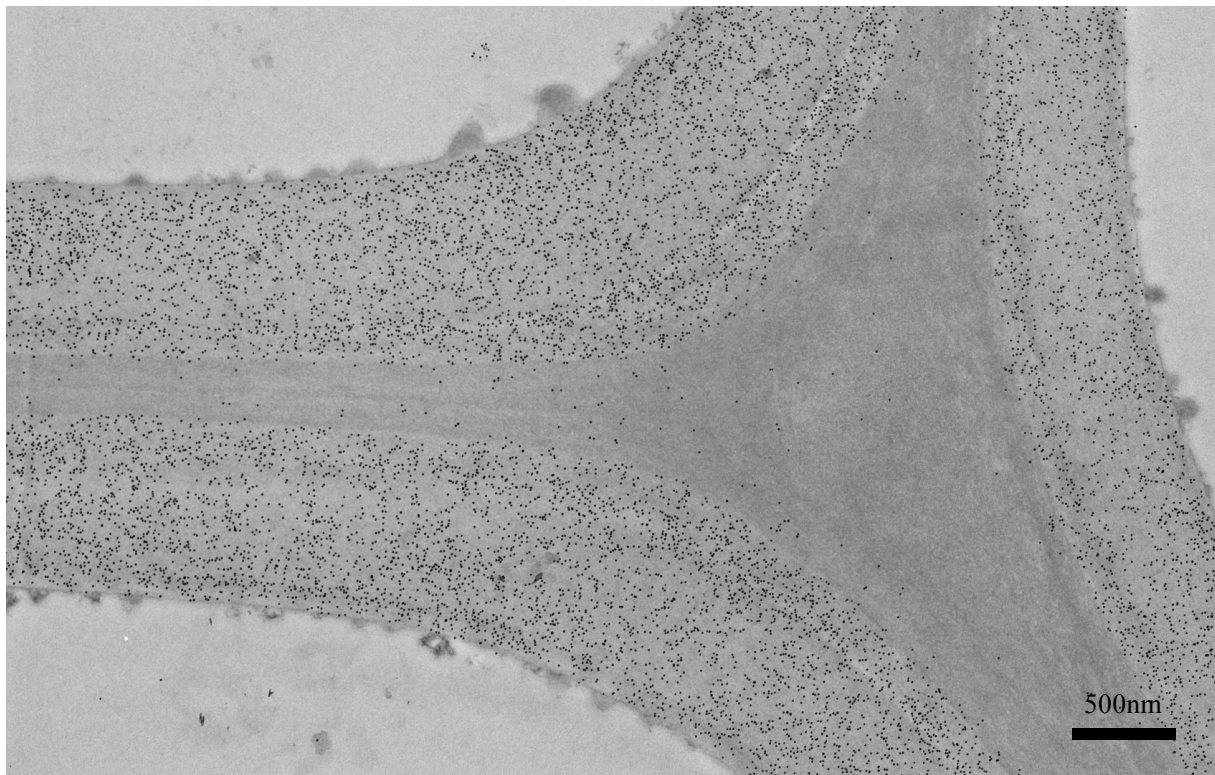


図2 グルコマンナン抗体で標識されたマイルドアルカリ処理後のスギ成熟仮道管(Kim Jong Sik 博士提供) グルコマンナンの標識は主に二次壁に観察される。複合細胞間層やイボ状層の標識は弱い。

おわりに

免疫標識法は、電子顕微鏡レベルで調べたい物質の局在を調べるには極めて有効な方法である。この方法によって得られる結果を左右するものは、抗体の特異性である。免疫標識する前には、必ず抗体が目的とする成分と特異的に反応するのを確認しなければならない。また、抗体は抗原の表面構造を認識する。従って、抗原が何らかの物質で覆われると抗体は抗原を認識することが出来ないことも考慮する必要がある。

引用文献

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD 著、中村桂子、藤山秋佐夫、松原謙一 監訳 細胞の分子生物学 第3版 (1995) pp1195

- Awano T, Takabe K, Fujita M (1998) Localization of glucuronoxylan in Japanese beech visualized by immunogold labelling, *Protoplasma* 202, 213-222
- Kim JS, Awano T, Yoshinaga A, Takabe K (2010) Immunolocalization of β -1-4-galactan and its relationship with lignin distribution in developing compression wood of *Cryptomeria japonica*. *Planta* 232, 109-119
- Kim JS, Awano T, Yoshinaga A, Takabe K (2010) Temporal and spatial immunolocalization of glucomannans in differentiating earlywood tracheid cell walls of *Cryptomeria japonica*. *Planta* 232, 545-554
- Kim JS, Awano T, Yoshinaga A, Takabe K (2010) Immunolocalization and structural variations of xylans in differentiating earlywood tracheid cell walls of *Cryptomeria japonica*. *Planta* 232, 817-824
- Kim JS, Awano T, Yoshinaga A, Takabe K (2011) Temporal and spatial diversities of the immunolabeling of mannan and xylan polysaccharides in differentiating earlywood ray cells and pits of *Cryptomeria japonica*. *Planta* 233, 109-122
- Kim JS, Awano T, Yoshinaga A, Takabe K (2011) Occurrence of xylan and mannan polysaccharides and their spatial relationship with other cell wall components in differentiating compression wood tracheids of *Cryptomeria japonica*. *Planta* 233, 721-735
- Kim JS, Awano T, Yoshinaga A, Takabe K (2011) Distribution of hemicelluloses in warts and the warty layer in normal and compression wood tracheids of *Cryptomeria japonica*. *J. Korean Wood Sci. Technol* 39, 420-428
- Maeda Y, Awano T, Takabe K and Fujita M (2000) Immunolocalization of glucomannan in the cell wall of differentiating tracheids in *Chamaecyparis obtusa*. *Protoplasma* 213, 148-156
- Nakashima J, Awano T, Takabe K, Fujita M, Saiki H (1997) Immunocytochemical Localization of Phenylalanine Ammonia-Lyase and Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase in Differentiating Tracheary Elements Derived from *Zinnia* Mesophyll Cells. *Plant Cell Physiol* 38, 113-123
- Sato T, Takabe K, Fujita M (2004) Immunolocalization of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamate-4-hydroxylase in differentiating xylem of poplar. *Comptes Rendus Biologies* 327, 827-836
- Takabe K, Takeuchi M, Sato T, Ito M, Fujita M (2001) Immunocytochemical Localization of Enzymes Involved in Lignification of the Cell Wall. *J Plant Res* 114, 509-515
- Takeuchi M, Takabe K, Fujita M (2001) Immunolocalization of *O*-Methyltransferase and Peroxidase in Differentiating Xylem of Poplar. *Holzforschung* 55, 146-150
- Takeuchi M, Takabe K, Fujita M (2005) Immunolocalization of an anionic peroxidase in differentiating poplar xylem. *J Wood Sci* 51, 317-322
- Yoshida M, Hosoo Y, Okuyama T (2000) Periodicity as a factor in the generation of isotropic compression growth stress between microfibrils in cell wall formation during a twenty-four hour period, *Holzforschung* 54, 469-473
- 松橋直、成内秀雄、臼井三津子 著 (1981) 免疫学序説、生物化学実験法 15 免疫学実験入門、学会出版センター、pp1-15

TOF-SIMS: 樹木抽出成分生合成・分布の可視化

名古屋大学 大学院生命農学研究科

今井 貴規

樹木において、なぜ抽出成分か？

樹木・木材の主要な化学成分はセルロース、ヘミセルロースおよびリグニンであるが、他に副成分として水や有機溶媒に可溶な、いわゆる抽出成分が数%含まれる。主成分が樹種間で質的・量的に似通っているのに対し、抽出成分は樹種特有であることに加え(今井 2012)、しばしば色・におい・抗生物活性を有するため、量的には少ないが木材種特性の発現に直接的に結び付けられ得る重要な因子となる。

抽出成分科学における「イメージング」のインパクトとして、木材特性の源となるこれらが、組織・細胞中どこで作られ:生合成の場、そこからどのようにして運ばれ:輸送・移動、最終的にはどこに蓄積するのか:蓄積の場、が基礎科学的興味となろう。抽出成分が抗生物活性や色を発することからすれば、木材の部位特異的(例えば心材、節)な抗腐朽性や木材の色特性(長所:美色調や色模様、短所:色むらや斑点障害)と抽出成分分布との関連等は、木材利用・応用上重要な調査項目と言えよう。

抽出成分の組織内分布の可視化法

ナイルブルーやスダン IV 染色による光学顕微鏡法、KMnO₄ や OsO₄ 等酸化剤染色による電子顕微鏡法(TEM)が抽出成分(不飽和化学構造であることが多い)観察に頻繁に適用される(今井 2012)。UV 顕微鏡法では主に芳香族化合物全般が観察対象となる(今井 2012)が、蛍光顕微鏡法では観察対象がより特定され(Charrier et al. 1998; Hariri et al. 1991; Kijidani et al. 2011; Peer et al. 2001; Sheahan & Rehnitz 1992)、さらに免疫顕微鏡法では観察対象は分子構造レベルで保証されると言われる(Brisson et al. 1992; Kelly et al. 1998; Marchand et al. 1987; Nagasaki et al. 2002)。IR 顕微分光法ならびにラマン顕微分光法(Baranska et al. 2004; Morikawa et al. 2010)では観察対象のより詳細な分子化学構造情報が得られる。これらに加え TOF-SIMS や MALDI-TOFMS(吉永ら 2012)をはじめとする種々の質量分析イメージング手法が植物二次代謝物質科学に導入され始めている(Lee et al. 2012; Sarsby et al. 2012; Seyer et al. 2010)。

質量分析・質量分析イメージング

質量分析では、①イオン化部および②イオン分離部が主要なパートとなり、それぞれがある種の原理に基づいて分別され(表 1)、さらに①と②の組み合わせには相性がある。固体表面へのプローブビーム照射による表層(物質)のイオン化では、生成するイオンを発生個所と対応させて二次元配置することによりイオン像が描かれる:イオンイメージング。TOF-SIMS : time of flight secondary ion mass spectrometry

表 1 質量分析法の例

イオン化	イオンの分離
電子イオン化法(EI)	磁場偏向型
化学イオン化法(CI)	四重極型
電界脱離イオン化法(FD)	イオントラップ型
高速原子衝突法(FAB)	飛行時間型(TOF)
マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)	フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴型
エレクトロスプレーイオン化法(ESI) など	など

飛行時間型二次イオン質量分析法では、イオンビーム(一次イオン:ガリウム、セシウム、金、フラーレン)の照射により表層物質が励起され、その化学構造を反映するイオン(二次イオン secondary ion)が生成し:「イオン化」、これら二次イオンについてその“重さ”:質量電荷比(m/z 値)により一定距離を飛ぶ時間(time of flight)が異なるため分離検出される:「イオン分離」。一次イオンビームが連続照射されるダイナミック SIMS に対し TOF-SIMS(ダイナミックに対してスタティック SIMS と言われる)では、イオンビームはパルス照射される(低エネルギー・穏やかなイオン化)ために断片イオン化が抑えられ、その結果元の化学構造に関する豊富な情報が期待されると共に、二次イオン起源化合物のより正確な同定が可能となる。さらに TOF-SIMS の空間解像度は、他の質量分析イメージングと比較して高い(表 2)。

表 2 質量分析イメージング法の例

イオン化	プローブビーム	空間分解能(μm)
マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)	レーザービーム	10-100
二次イオン質量分析(SIMS)	イオンビーム	0.2-3
脱離エレクトロスプレーイオン化(DESI)	イオン化用溶媒	200
レーザーアブレーションエレクトロスプレーイオン化法(LAESI)	レーザービーム	300-500

TOF-SIMS と木材化学研究(福島と斉藤 2007)

TOF-SIMS は、無機材料(例えば半導体、電子部品)の表面品質調査・管理(有機物による被覆や汚染)を主な目的として使用され始め、その後、動物・植物組織化学分野へとその適用範囲が広まった。TOF-SIMS の木材科学への導入として、リグニン(Fukushima et al. 2001; Saito et al. 2005; 2012; Tokareva et al. 2011; Zhou et al. 2011)、多糖(Tokareva et al. 2011)、心材抽出成分(Imai et al. 2005; Kuroda et al. 2008; 2012; Matsushita et al. 2012; Saito et al. 2008)、パルプ表面沈着物(Fardim & Duran 2003; Kleen et al. 2000; 2005; Parfitt et al. 2003)、パルプ化・製紙添加剤(Kogawa et al. 2004; Matsushita et al. 2008)の解析が行われている。

スギ材の TOF-SIMS 分析

TOF-SIMS イメージングにおいて、二次イオンの起源となる化合物を間違いなく特定できるかどうか、最も重要な検証事項である。スギ辺材・心材切片を TOF-SIMS スペクトル分析した結果、心材のみから m/z 285 と 301 の 2 イオンが生成した。心材切片をヘキサン抽出するとこれらイオンは生成せず、一方ヘキサン抽出物から生成した。スギ心材ヘキサン抽出物中の主要な成分はフェルギノールであり(GCMS による定量)、本標準化合物から両イオンが生成した。以上から、スギ心材特有の TOF-SIMS 二次イオンの起源をフェルギノール(分子量 286)と同定することができた。これらのイオンのマッピングにより、スギ心材成分フェルギノールの組織化学研究が可能となった(今井ら 2005; Imai et al. 2005; Kuroda et al. 2008; 2012)。

TOF-SIMS による樹木抽出成分生合成・分布の可視化

樹木において特徴的な抽出成分は心材に含まれることが多い(心材成分)。心材成分は放射柔細胞中で生合成され、放射柔細胞から仮道管等軸方向組織へさらに軸方向組織間を、壁孔を通じて移動・拡散し、細胞内腔側から細胞壁中へと浸透する、と考えられている。したがって心材成分の組織内分布について、①着色物質としての存在(図 1-a,b, Imai et al. 2005)、②放射柔細胞中・近傍における優勢な存在(図 1-c,d,e,f Matsushita et al. 2012, Saito et al. 2008)、③壁孔壁における優勢な存在(図 1-g,h, 今井と田辺 未発表)、④軸方向組織細胞壁内腔側における優勢な存在、が主な検証項目となる。またスギ心材成分フェルギノールは、晩材では少なく早材に優勢に存在した(図 1-i,j, 今井ら 2005; Kuroda et al. 2008)。

TOF-SIMS の今後の展開

TOF-SIMS イメージングは特殊な試料前処理を必要としない。この点、低分子・非構造体(固定、脱水、包埋等前処理中における移動・拡散・溶出が懸念される)である抽出成分の研究に適しているといえる。それでもなお前処理に関して、凍結乾燥、クライオ切削、固定・包埋法の検討やメンブレンへの組織プリンティング(:間接的イメージング)といった配慮や工夫がなされている(Lee et al. 2012)。“水系”である生体試料の分析に向け、分析系へのクライオシステムの導入が有望視されており、TOF-SIMS への導入もなされている(Iijima et al. 2012; Metzner et al. 2008; 2010)。名古屋大学でのクライオ対応 TOF-SIMS 装置開発(科研費 No.21228004, 代表者:福島和彦)における最大の特徴は、TOF-SIMS と cryo-SEM と cryo-ミクロトームとが冷却搬送システムにより連結されていることである。本装置によりスギ等生体中の水(H₂O⁺)が検出され(Kuroda et al. 2012; 白河ら 2012)、これは生体中抽出成分の TOF-SIMS 分析にとって、極めて有望な展開である。他に、一次イオン種類の開発(二次イオン生成の効率化)や NanoSIMS 装置の開発(空間解像度の向上)も進みつつある。

※本文中で引用されている図1は、都合により削除致しました。お問い合わせは、半(nakaba@cc.tuat.ac.jp)までご連絡ください。

引用文献

- Baranska M, Schulz H, Rosch O, Strehle MA, Popp J (2004) Identification of secondary metabolites in medicinal and spice plants by NIR-FT-Raman microspectroscopic mapping. *Analyst* 129:926-930
- Brisson L, Charest PM, Luca VD, Ibrahim RK (1992) Immunocytochemical localization of vindoline in mesophyll protoplasts of *Catharanthus roseus*. *Phytochemistry* 31:465-470
- Charrier B, Trinh H, Poirier S, Kondorosi A, Ratet P (1998) Flavanone 3-hydroxylase (F3H) expression and flavonoid localization in nodules of three legume plants reveal distinct tissue specificities. *Mol Plant-Microbe Interact* 11:924-932
- Fardim P, Duran N (2003) Modification of fibre surfaces during pulping and refining as analysed by SEM, XPS and ToF-SIMS. *Colloid Surf A* 223:263-276
- Fukushima K, Yamauchi K, Saito K, Yasuda S, Takahashi M, Hoshi T (2001) Analysis of lignin structures by TOF-SIMS. *Proc. 11th Int Symp Wood Pulp Chem* 1:327-330
- 福島和彦、齊藤香織 (2007) ToF-SIMS (飛行時間型二次イオン質量分析) による木材化学研究 木材学会誌 53: 291-297
- Harri EB, Salle G, Andary C (1991) Involvement of flavonoids in the resistance of two poplar cultivars to mistletoe (*Viscum album* L.). *Protoplasma* 162:20-26
- 今井貴規, 田辺絹子, 串 正祥, 加藤俊之, 福島和彦 (2005) TOF-SIMS 法によるスギ心材抽出成分の組織内分布の可視化 3. 一年輪におけるフェルギノール量の変化. 第 55 回日本木材学会大会研究発表要旨集 p. 49
- 今井貴規 (2012) 心材形成の化学 木材学会誌 58:11-12
- Imai T, Tanabe K, Kato T, Fukushima K (2005) Localization of ferruginol, diterpene phenol, in *Cryptomeria japonica* heartwood by time-of-flight secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS). *Planta* 221:549-556
- Iijima M, Yoshida T, Kato T, Kawasaki M, Watanabe T, Somasundaram S (2012) Visualization of lateral water transport pathways in soybean by a time of flight-secondary ion mass spectrometry cryo-system. *J Exp Bot* 62:2179-2188
- Kelly PJ, Bones A, Rossiter JT (1998) Sub-cellular immunolocalization of the glucosinolate sinigrin in seedlings of *Brassica juncea*. *Planta* 206:370-377
- Kijidani Y, Toyouni A, Kitahara R, Fujimoto H (2011) Terminate resistance and extractives distribution of sapwood and heartwood of Obi-sugi cultivars (*Cryptomeria japonica*). *Mokuzai Gakkaishi* 57:195-202
- Kleen M (2000) Surface chemistry of kraft pulp fibers during TCF bleaching studied by ToF-SIMS. *Proc. 6th EWLP* 41-44
- Kleen M (2005) Surface lignin and extractives on hardwood RDH kraft pulp chemically characterized by ToF-SIMS. *Holzforschung* 59:481-487
- Kogawa T, Sawatari A, Fukuda K, Nishi M, Osada T, Miyagawa T (2004) Methods of preparing cross-sections for observing TOF-SIMS mapping images of rosin-sized handsheets. *Sen-igakkaishi* 60:99-103
- Kuroda K, Imai T, Saito K, Kato T, Fukushima K (2008) Application of ToF-SIMS to the study on heartwood formation in *Cryptomeria japonica* tree, *Appl Surf Sci* 225:1143-1147
- Kuroda K, Fujiwara T, Imai T, Takama R, Saito K, Matsushita Y, Fukushima K (2012) The cryo-TOF-SIMS/SEM system for the analysis of the chemical distribution in freeze-fixed *Cryptomeria japonica* wood. *Surface and Interface Analysis* DOI 10.1002/sia.4979
- Lee YJ, Perdian DC, Song Z, Yeung ES, Nikolau BJ (2012) Use of mass spectrometry for imaging metabolites in plants. *The Plant J* 70:81-95

- Marchand L, Charest PM, Ibrahim RL (1987) Localization of partially methylated flavonol glucosides in *Chrysosplenium americanum*: Immunogold labeling. *J Plant Physiol* 131:339-348
- Matsushita Y, Suzuki A, Sekiguchi T, Saito K, Imai T, Fukushima K (2008) Mapping of the cationic starch adsorbed on pulp fibers by ToF-SIMS. *Appl Surf Sci* 255:1022-1024
- Matsushita Y, Jang I-C, Imai T, Takama R, Saito K, Masumi T, Lee S-C, Fukushima K (2012) Distribution of extracts including 4,8-dihydroxy-5-methoxy-2-naphthaldehyde in *Diospyros kaki* analyzed by GC-MS and ToF-SIMS. *Holzforschung* 66:705-709
- Metzner R, Schneider HU, Breuer U, Schroeder WH (2008) Imaging nutrient distributions in plant tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry and scanning electron microscopy. *Plant Physiol* 147:1774-1787.
- Metzner R, Thorpe MR, Breuer U, Blümner P, Schurr U, Schneider HU, Schroeder WH (2010) Contrasting dynamics of water and mineral nutrients in stems shown by stable isotope tracers and cryo-SIMS. *Plant Cell Environ* 33:1393-1407.
- Morikawa Y, Yoshinaga A, Kamitakahara H, Wada M, Takabe K (2010) Cellular distribution of coniferin in differentiating xylem of *Chamaecyparis obtusa* as revealed by Raman microscopy. *Holzforschung* 64:61-67
- Nagasaki T, Yasuda S, Imai T (2002) Immunohistochemical localization of agatharesinol, a heartwood norlignan, in *Cryptomeria japonica*. *Phytochemistry* 60:461-466
- Parfitt M, Vickerman JC, Mitchell R, Carr CM, Ince N, Knight P (2003) Surface analysis of softened paper by time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS) and Kawabata evaluation system. *J Mater Sci* 38:2171-2177
- Peer WA, Brown DE, Tague BW, Muday GK, Taiz L, Murphy AS (2001) Flavonoid accumulation patterns of transparent testa mutants of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 126:536-548
- Saito K, Kato T, Tsuji Y, Fukushima K (2005) Identifying the characteristic secondary ions of lignin polymer using ToF-SIMS. *Biomacromolecules* 6:678-683
- Saito K, Mitsutani T, Imai T, Matsushita Y, Fukushima K (2008) Discriminating the indistinguishable sapwood from heartwood in discoloured ancient wood by direct molecular mapping of specific extractives using ToF-SIMS. *Anal Chem* 80:1552-1557
- Saito K, Watanabe Y, Shirakawa M, Matsushita Y, Imai T, Koike T, Sano Y, Funada R, Fukazawa K, Fukushima K (2012) Direct mapping of morphological distribution of syringyl and guaiacyl lignin in the xylem of maple by time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *The plant J* 69:542-552
- Sarsby J, Tower MW, Stain C, Cramer R, Koroleva OA (2012) Mass spectrometry imaging of glucosinolates in *Arabidopsis* flowers and siliques. *Phytochemistry* 77:110-118
- Seyer A, Einhorn J, Brunelle A, Laprevote O (2010) Localization of flavonoids in seeds by cluster time-of-flight secondary ion mass spectrometry imaging. *Anal Chem* 82:2326-2333
- Sheahan JJ, Rehnitz GA (1992) Flavonoid-specific staining of *Arabidopsis thaliana*. *Biotechniques* 13:880-883
- 白河 学, 黒田克史, 渡辺陽子, 渡辺 誠, 小池孝良, 斉藤香織, 松下泰幸, 今井貴規, 高間瑠佳, 福島和彦 (2011) CryoTOF-SIMS/SEMシステムによる植物生体成分の分子マッピングの試み. 第62回日本木材学会大会発表要旨集 A16-02-1700
- Tokareva EN, Pranovich AV, Holmbom BR (2010) Characteristic fragment ions from lignin and polysaccharides in ToF-SIMS. *Wood Sci Technol* 45:767-785
- 吉永 新, 上高原 浩, 高部圭司 (2012) MALDI/ToF/MS imagingによるモノリグノール配糖体分布の可視化(1) 針葉樹分化中木部におけるコニフェリンの分布. 第62回日本木材学会大会発表要旨集 A16-02-1000
- Zhou C, Quanzi L, Chiang VL, Lucia LA, Griffis DP (2011) Chemical and spatial differentiation of syringyl and guaiacyl lignins in poplar wood via time-of-flight secondary ion mass spectrometry. *Anal Chem* 83:7020-7026

マイクロダイセクション

-微細組織におけるリグニン構造と生合成遺伝子の発現-

九州大学 大学院農学研究院
堤 祐司、和田 卓

緒言

パルプやバイオエタノールを効率的に生産するためにリグニン含有量の低い樹木や易分解性のリグニン構造を持つ樹木など、リグニン生合成の制御による有用木質バイオマスの創成が試みられている。現在までに遺伝子工学的手法によるリグニン改変樹木創成への試みはあるものの、リグニン含有量の変化が小さい、あるいは低下した場合でも同時に生育不良といった予期せぬ形質を示すなど、期待される成果が得られにくい。

これらの要因の一つは、樹木組織内でのリグニン構造や生合成機構の不完全な理解によるものであると考えられる。リグニンを構成する 3 種のモノリグノールの生合成経路は明らかにされつつある。一方、分光学的手法を用いた広葉樹リグニンの局在解析では、セルコーナー、複合細胞間層、二次壁の順で木化が進行し、部位によって濃度やモノリグノール構成比などが大きく異なることが知られている。即ちリグニンは不均一なものであり、リグニン生合成の制御機構を理解するには、異なる細胞種ごと、あるいは細胞壁形成過程の異なる段階に分けて詳細に解析することが必要である

そこで本研究では、レーザーメスによる μm オーダーで目的部位の単離が可能な Laser microdissection (LMD) 法を用いて標的部位を単離し、リグニン分析を試みるとともに、各部位ごとの転写解析を行うことにより、リグニン生合成機構に関する知見の集積を目的とした。

1. リグニン分析

〈 試料と方法 〉

一年生ポプラの主茎を 2 cm 程度採取し、酢酸：エタノール (1:3) で固定化した。次いで 30 μm 厚の切片を作製し LMD 用メンブレンスライドに貼付けた。木部を木化過程ごと (放射方向) に、試料切片 1 枚の面積を 0.1 mm^2 、0.2 mm^2 、0.3 mm^2 とした。採取した LMD サンプルの 25%TMAH 水溶液 1 μl を加え Py-GC-MS 分析 [熱分解分析条件: 500 $^{\circ}\text{C}$ 4 sec、分析: SIM モード (m/z : 179、181、194、209、224、270、300)] に供した。Fig. 1 に示す化合物を定量することによりリグニン分解物量および S/G 比を算出した^{1), 2)}。ついで、横断面試料の形成層に近い部分から 0.3 mm^2 の大きさで放射方向に 8 段階 (A~H) に試料を採取し (Fig. 2)、上記と同じ条件で Py-GC-MS 分析に供した。

〈 結果と考察 〉

0.1 mm^2 、0.2 mm^2 、0.3 mm^2 の熱分解クロマトグラムと検出されたリグニン由来の熱分解生成物を Fig. 1 に示す。0.1 mm^2 の試料でもリグニン由来の熱分解生成物を十分に検出できたことから、特定の組織のリグニン分析が可能であると判断できる。また、切片 1 枚から採取した試料であることから、樹木の放射方向に分析を繰り返すことにより、リグニン形成における経時的情報の取得が期待できる。

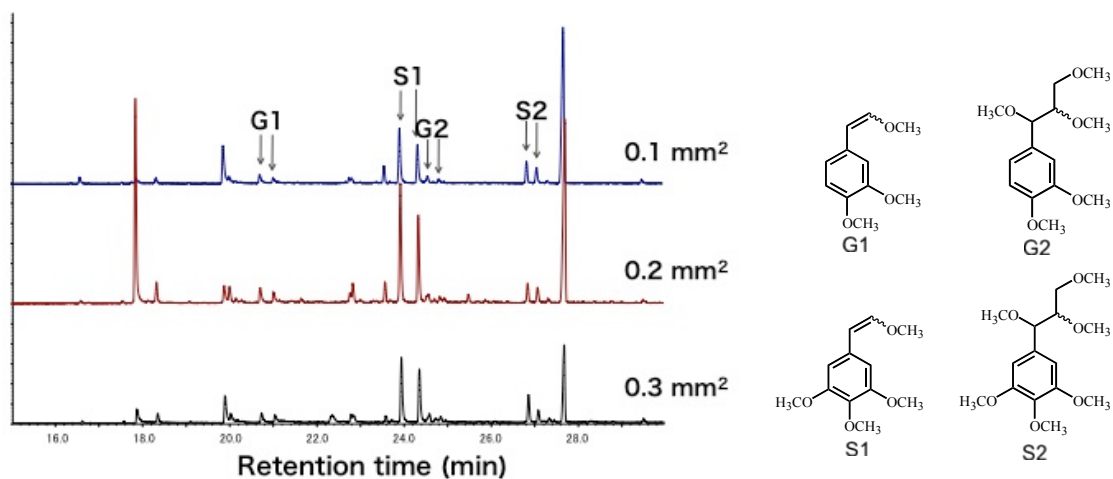


Fig. 1 0.1 mm² (上)、0.2 mm² (中)、0.3 mm² (下) の熱分解クロマトグラム (左) と検出されたリグニン熱分解生成物 (右)

そこで、形成層側から連続的に試料を採取し分析に供した結果、二次壁肥厚部ではリグニン由来のピークがほとんど見られずリグニンの蓄積がわずかであることが確認された。また、ポプラ 4 個体において A～H のリグニン熱分解生成物のピーク面積、ならびに S/G 比の変化を調べた結果、木化進行部が A から H になるにつれてリグニン由来分解物量は増加する一方で、S/G 比は減少傾向が認められた (Fig. 3)。

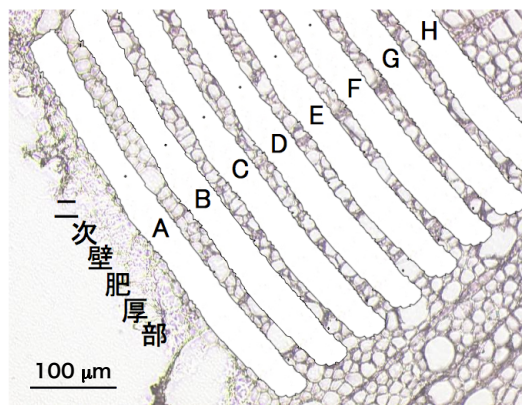


Fig. 2 LMD による木部の連続的な試料採取

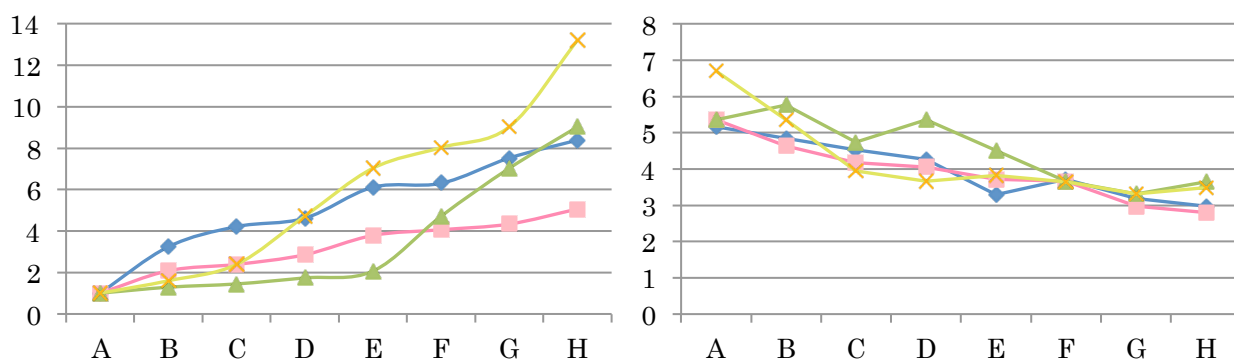


Fig. 3 木化進行部における熱分解クロマトグラムのリグニン熱分解生成物ピーク面積 (左) と S/G 比 (右) の変化 (A を 1 とした時の相対値)

2. リグニン生合成関連遺伝子の転写解析

〈 試料と方法 〉

実験 1.と同様に調製した試料より切片 7.5 枚 (約 105 mm²) を作製し、これより total RNA を抽出した³⁾。精製および DNase 処理後の RNA を 2/5, 1/5, 1/20 に分割し、それぞれ市販 RNA 増幅キットを用いて増幅した後、Real-time PCR に供した。

次いで、同様の方法で調製した切片試料から放射線細胞を除去した後、二次壁肥厚部 (約 18.4 mm²) および木化進行部 (約 7 mm²) を採取した。これより total RNA 抽出と前処理を行った後、RNA 増幅とリグニン生合成遺伝子の Real-time PCR による発現解析を行った。

〈 結果と考察 〉

Real-time PCR を行った際の Ct 値を算出した結果、ほとんどの遺伝子について RNA 量依存的な Ct 値の変化が認められた。今回の実験では、切片約 5.25 mm²～約 21 mm² のサンプル量で転写解析を行えば良好な定量性を保てると考えた。

Actin と比較して F5H の発現量は非常に小さく、一方 COMT, CCoAOMT2, CAD については発現量が大きかった (Fig. 4)。また、切片 1/2 枚を丸ごとホモジナイズして用いた解析、すなわち二次木部全体の平均値では CCR の発現量は大きかったのに対し、二次壁肥厚部では小さかった。

実験 1. において二次壁肥厚部ではほとんどリグニンの蓄積が見られず、その後急速にリグニンが蓄積したことから、COMT, CCoAOMT2, CAD はリグニン蓄積に先駆けて発現誘導されていた。一方、二次壁肥厚部の CCR 発現量は二次木部全体よりも低かったことから、リグニン生合成の調節段階になっている可能性が考えられる。現在、木化進行部を LMD で採取した試料の解析を行っており、二次壁肥厚部との発現挙動の違いを観察する予定である。

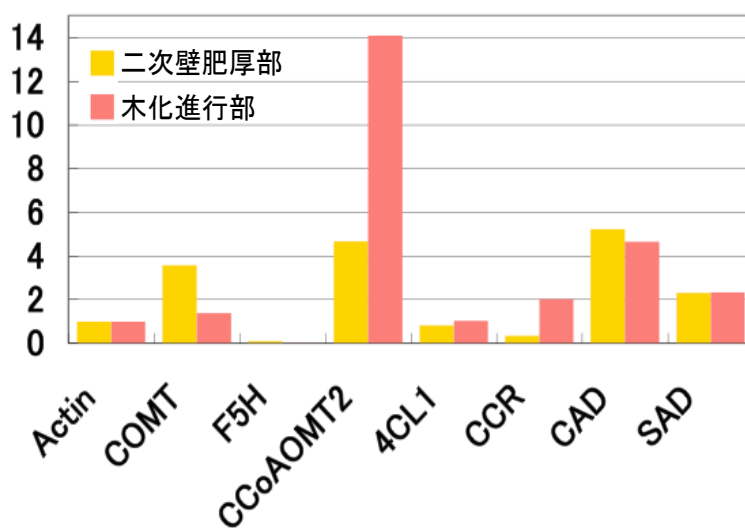


Fig. 4 二次壁肥厚部および木化進行部でのリグニン生合成遺伝子の転写解析 (Actin を 1 としたときの相対値)

まとめ

LMD で採取した微量の木部試料でも Py-GC-MS 分析でリグニン熱分解生成物をはっきりと確認できた。また、リグニン生合成関連遺伝子の発現解析では、採取したサンプル間で発現量が変化している遺伝子も確認できた。一方で、遺伝子発現解析には Py-GC-MS 分析に供した試料の約 20 倍程度の試料が必要であるため、転写物、代謝物を関連づけて考察するにはまだまだ課題が残る結果となっている。今後さらに LMD サンプルの Py-GC-MS 分析、Real-Time PCR 定量解析の条件検討が必要である。

引用文献

- 1) Kuroda K (2002) Electron-impact (EI) mass spectra of 1,2-dimethoxybenzenes related to the pyrolysis products of guaiacyl lignin in the presence of tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 64: 433-451
- 2) Kuroda K, Nishimura N, Izumi A, Donald R (2002) Pyrolysis of lignin in the presence of Tetramethylammonium Hydroxide: A convenient method for S/G ratio determination. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 50: 1022-1027
- 3) Kerk NM, Ceserani T, Tausta SL, Sussex IM, Nelson TM (2003) Laser capture microdissection of cells from plant tissues. *Plant Physiology* 133: 27-35

ライブセルイメージング：細胞骨格の動的挙動

東京大学 大学院理学系研究科

小田 祥久

木部細胞は厚く強固な二次細胞壁を構築することで、植物個体の物理的支持と水・物質輸送を担っており、木材形成においては最も中心的な役割を果たしている存在である。二次細胞壁の主成分であるセルロース微繊維の沈着する方向や位置は、細胞膜直下に並ぶ表層微小管により厳密に制御されており、木部細胞の機能や物性に寄与していると考えられている。特に、木部道管ではセルロース微繊維が顕著に偏って沈着するため、二次細胞壁が特徴的なパターンを成して形成される (Oda and Fukuda 2012a)。このような二次細胞壁の空間的な制御機構を明らかにするためには、生きた木部細胞において細胞骨格を可視化し、その動態を明らかにすると共に、細胞骨格を制御している未知の因子を同定する必要がある。しかしながら、木部細胞は植物体の中でも比較的深部に位置しているため、木部細胞のライブセルイメージングは表皮などに比べてはるかに困難である。また、これまでに報告されている *in vitro* での木部細胞の分化誘導系は、分化誘導や遺伝子導入の効率、ゲノム情報の整備などの面でライブセルイメージングを行うには不十分であった。そこで本研究では、モデル植物シロイヌナズナの培養細胞と木部細胞分化のマスター転写因子を用いることによって、ハイスループットな木部細胞のライブセルイメージングを可能とする、新たな木部細胞分化誘導系の開発を試みた。

まず、後生木部道管のマスター転写因子として同定された *VND6* (Kubo et al. 2005) をエストロゲンによる発現誘導系の制御下に連結し、シロイヌナズナ培養細胞に導入した。エストロゲンの添加に加え、植物ホルモンや培地の組成、培養条件を検討した結果、80%もの細胞を48時間程度で同調的に木部道管へと分化させることに成功した (Oda et al. 2010)。さらに、アグロバクテリウムによる一過的な遺伝子導入法を改良し、蛍光タンパク質で標識した複数の遺伝子を同時に導入し、わずか一週間という短期間で、生きた木部道管におけるタンパク質の局在および動態を観察することが可能となった。また、bimolecular fluorescence complementation (BiFC)法、および fluorescence energy resonance transfer (FRET)法を用いたタンパク質間相互作用、RNAi法による遺伝子抑制を併せたイメージングなど、多彩なイメージング実験を生きた木部細胞で行うことが可能となった。

この実験系を用い、木部道管の分化における表層微小管の局在を観察した結果、表層微小管が局所的に消失してゆき、その領域は二次細胞壁が肥厚しない領域、すなわち壁孔になることが分かった。表層微小管の動態を解析した結果、表層微小管が消失する領域では、表層微小管が高い頻度で脱重合を起こしていることが判明した。この局所的な表層微小管の脱重合を担っている未知の因子を明らかにするために、マイクロアレイ解析によって木部細胞分化において特異的に発現が上昇する遺伝子を同定し (Ohashi-Ito et al. 2010)、その中から細胞骨格関連の遺伝子および機能未知の遺伝子を候補因子として抽出した。これらの因子を GFP と融合し、細胞内での局在を観察した結果、壁孔内の表層微小管に顕著に局在する新規のタンパク質 MIDD1 (*Microtubule Depletion Domain 1*) を見出した。RNAi法によ

り *MIDD1* の発現を抑制した結果、表微小管の消失および壁孔形成が抑制された。一方、*MIDD1* を過剰発現させた非木部細胞では表層微小管の密度が低下した。*MIDD1* の動態を詳細に解析したところ、*MIDD1* は脱重合している表層微小管の先端に顕著に局在していた。これらの結果から、*MIDD1* が表層微小管の先端に作用して表微小管の脱重合を促進している可能性が示唆された。*MIDD1* は主に2つのコイルドコイルドメインから成り、N末側の領域で微小管に直接結合し、C末側の領域が壁孔の細胞膜にアンカーされることが分かった。以上の結果から、*MIDD1* は何らかの細胞膜ドメインにアンカーされ、局所的に表層微小管の脱重合を促進することによって壁孔を作り出していると考えられた (Oda et al. 2010)。

MIDD1 はC末近傍に ROP GTPase interacting motif を有しており、ROP GTPase が *MIDD1* をアンカーする細胞膜ドメインに関わっている可能性が考えられた。ROP GTPase は Rho タイプの small GTPase であり、細胞内では GTP 結合型（活性型）あるいは GDP 結合型（不活性型）として存在し、guanine nucleotide exchange factor (ROPGEF)によって活性型に、GTPase activating protein (ROPGAP)によって不活性型に変換される。木部道管細胞において発現する ROPGEF、ROPGAP の細胞内局在を観察した結果、ROPGAP3 が壁孔全体に、ROPGEF4 が壁孔の中央付近に局在していた。また、ROP GTPase の一つである ROP11 は壁孔内で *MIDD1* 様の局在を示した。ROP11 と *MIDD1* との相互作用を BiFC 法、および FRET 法により検証した結果、壁孔内でのみ ROP11 が活性型となり、*MIDD1* と相互作用していることが明らかとなった。これらの結果から、ROPGEF4 および ROPGAP3 が局所的に ROP11 を活性化することで *MIDD1* をアンカーする細胞膜ドメインを形成している可能性が示された。その可能性を検証するために、恒常的活性型の ROP11 の導入および *ROPGEF4* の発現抑制を行ったところ、壁孔の形成が顕著に抑制された。さらに、*ROP11*、*ROPGEF4*、*ROPGAP3*、*MIDD1* を、木部道管に分化しない野生型のシロイヌナズナ培養細胞に同時に発現させることで、ROP11 の活性化ドメインを再構築し、*MIDD1* による局所的な表層微小管の脱重合を誘導することに成功した。これらの結果は、ROPGEF4、ROPGAP3、および ROP11 が自発的に活性型 ROP の細胞膜ドメイン(活性化 ROP ドメイン)を構築し、*MIDD1* による表層微小管の脱重合を誘導することを強く示唆している (Oda and Fukuda 2012b)。

一方、表層微小管もまた活性化 ROP ドメインを制御していることが明らかとなった。微小管を安定化するタキソールを投与したところ、細胞膜ドメインの形態が細長くなり、微小管の重合阻害剤であるオリザリンを投与した場合には、活性化 ROP ドメインが拡散するようにして消失した。活性化 ROP ドメインの再構築系を応用し、表層微小管と活性化 ROP ドメインとの空間的な相互作用を検証した結果、表層微小管は *MIDD1* を介して活性型の ROP11 を細胞膜から排除することにより、活性化 ROP ドメインの境界として働いていることが示唆された。以上の結果から、表層微小管と ROP11 が *MIDD1* を介して相互に排他的に作用することによって、二次細胞壁のパターンを制御していると考えられた (Oda and Fukuda 2012b)。

このように、我々が開発したシロイヌナズナ培養細胞の木部道管分化誘導系は、木部道管細胞のライブセルイメージングを可能とし、二次細胞壁の沈着パターンを制御する表層微小管の動的挙動とその制御機構の解明に貢献した。今回の発表では、本研究での技術的な側面や今後の展望も紹介する予

定である。

引用文献

- Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, Horiguchi G, Yamaguchi M, Ito J, Mimura T, Fukuda H, Demura T (2005) Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation. *Genes Dev* 19:1855-1860.
- Oda Y, Iida Y, Kondo Y, Fukuda H (2010) Wood cell-wall structure requires local 2D-microtubule disassembly by a novel plasma membrane-anchored protein, *Curr Biol* 20: 1197-1202
- Oda Y, Fukuda H (2012 a) Secondary cell wall patterning during xylem differentiation. *Curr Opin Plant Biol* 15: 38-44
- Oda Y, Fukuda H (2012 b) Initiation of cell wall pattern by a rho- and microtubule-driven symmetry breaking. *Science*, in press
- Ohashi-Ito K, Oda Y, Fukuda H (2010) Arabidopsis VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN6 directly regulates the genes that govern programmed cell death and secondary wall formation during xylem differentiation. *Plant Cell* 22: 3461-3473

そろそろ分子を見ませんか？

ー木質細胞壁研究における一分子可視化技術の可能性ー

東京大学 大学院農学生命科学研究科

五十嵐 圭日子

はじめに

セルロースは、グルコースが β -1,4 結合したホモ多糖であり、植物細胞壁の約 50% を占める地球上で最も豊富に存在するバイオマスである。自然界では分子鎖が規則的にパッキングすることで結晶（セルロース I）を形成するが、天然セルロースは平均的に 70% 程度の結晶化度を有することから、セルロース系バイオマスの 3 分の 1 がセルロース I であると言える。セルロース I は構造多糖として優れた力学的強度を示すが、この力学的強度の高さがセルロース系バイオマスを利用するための大きな障害となっている。一方で、天然では光合成によって生産されたセルロースの大部分が、セルロース分解性の微生物によって資化されていることを考えると、私達が今後セルロース系バイオマスを有効利用していくためには、セルロース分解酵素（一般的にセルラーゼと総称されている）の分子機構を詳しく理解し、セルロース資化性の微生物によるセルロース分解系を模倣していくことが重要であると言える。

本発表では、不溶性基質であるセルロースをセルラーゼが分解し、可溶化した生成物を与えるという、一連の固液界面における反応を解析するために、演者らがこれまで取り組んできた生化学的な解析結果および、高速原子間力顕微鏡を用いた 1 分子観察結果を紹介するとともに、巧妙にデザインされた糖質加水分解酵素の分子機構に関して考察したい。

セロビオヒドロラーゼの生化学的解析¹⁻⁷⁾

結晶性セルロースを分解する酵素の多くは、基質であるセルロースと反応させたときにセロビオース（グルコースの 2 量体）を生成物として与えることから、セロビオヒドロラーゼ（Cellobiohydrolase, CBH）と呼ばれてきた。我々は CBH の反応性を解析するために、結晶性セルロースの分解過程における CBH の吸着量 (A) とセロビオース生成速度 (v) を経時的にモニターし、飽和吸着量 ($A_{\max}$) をセルラーゼに対するセルロースの相対的な表面積としたときに算出される表面密度 ($\rho = A/A_{\max}$) と、 v/A で定義される吸着酵素の比活性 (k) を用いて、固液界面における酵素の反応速度を解析する手法を確立した。本解析手法を用いることで、セルロース試料の違いに由来するセルラーゼに対する表面積の違いや、加水分解反応時間に由来する表面積の変化を相殺し、セルロース表面に吸着した酵素 1 分子当たりの活性を算出できるようになり、固液界面における CBH の活性を詳細に評価することが可能となった。

高速原子間力顕微鏡を用いたセロビオヒドロラーゼの 1 分子観察^{8,9)}

子囊菌 *Trichoderma reesei* は優れたセルロース分解性を有する糸状菌である。本菌が菌体外に生産す

る糖質加水分解酵素ファミリー7に属する CBH (*TrCel7A*) が、結晶性セルロースを分解する様子を高速原子間力顕微鏡によって可視化したところ、本酵素は活性サイトに取り込んだ基質を 1 μ m (約 1,000 セロビオース残基) 以上にもわたって連続的に加水分解しながら、基質表面を動く様子が観察された。さらに、不活性化した変異酵素 (E212Q) および活性サイトの入り口に位置するトリプトファンの変異酵素 (W40A) の動きを野生型酵素と比較した結果から、活性ドメインの基質結合サイト (サブサイト-7 から-1) および生成物結合サイト (サブサイト+1 から+2) のアンバランスさが連続的な加水分解 (プロセスビティ) に重要な役割を果たしていると考えられた。

まとめ

セルラーゼの動きを「空想」しながら行ってきた生化学的手法と、実際に分子を見るという「現実」の生物物理学的手法を組み合わせることで、これまで難解とされてきたセルラーゼの反応機構に多少なりともせまることができたと思われ、演者は考えている。一方で、セルラーゼに組み込まれた基質を探し出すための工夫と、基質を探し出した後いかに基質から離れずに反応を進めるかという工夫、自然界がそのような分子機構の進化をセルロース高次構造の進化に沿わせてきたことは、石油から生分解性が低い物質を作り続けた私たちに反省を促しているようにすら思える。人類がセルロース系バイオマスを使いこなせるかは、その分子機構を利用できるかどうかにかかっていると演者は考えている。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、金沢大学の安藤敏夫教授、内橋貴之准教授、岡本哲明博士、フィンランド技術研究センターの Anu Koivula 主任研究員、Merja Penttilä 研究教授、東京大学の鮫島正浩教授、和田昌久准教授、木村聡助教、(株) 生体分子計測研究所には多大なるご助力を賜りました。ここに感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Igarashi, K., Wada, M., Hori, R., and Samejima, M., *FEBS J.* 273:2869-2878 (2006)
- 2) 五十嵐圭日子、和田昌久、鮫島正浩 *Cellulose Commun.* 13:173-177 (2006)
- 3) Igarashi, K., Wada, M., and Samejima, M., *FEBS J.* 274:1785-1792 (2007)
- 4) 五十嵐圭日子、和田昌久、鮫島正浩 *Cellulose Commun.* 15:164-167 (2008)
- 5) 五十嵐圭日子、和田昌久、鮫島正浩 *バイオプラジャーナル* 30:16-21 (2008)
- 6) Igarashi, K., Wada, M., and Samejima, M. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 21:13-22 (2009)
- 7) 五十嵐圭日子、鮫島正浩 *化学と生物* 47:323-328 (2009)
- 8) Igarashi, K., Koivula, A., Wada, M., Kimura, S., Penttilä, M., and Samejima, M., *J. Biol. Chem.* 284:36186-34190 (2009)
- 9) Igarashi, K., Uchihashi, T., Koivula, A., Wada, M., Kimura, S., Okamoto, T., Penttilä, M., Ando, T., and Samejima, M., *Science* 333:1279-1282 (2011)

あとがき

今回のシンポジウムでは「木材の形成機構解明に向けた新規イメージング技術」と題して、第一線で活躍されている研究者の方々を講師としてお招きし、近年発展してきた新規イメージング技術とその応用成果を紹介していただきます。それぞれの研究分野の中で新規イメージング技術がどのようなブレイクスルーをもたらしたのかを知ることは、単に新しい技術を知ることにと留まらず、イメージングの果たす役割を再認識し、さらには、第一線で活躍されている講師の先生方がどのような考えのもとに新たな技術を導入するに至ったのかを知る貴重な機会となると考えています。本シンポジウムが、木材の形成機構に関する研究に新たな展開を生み出すきっかけとなることを願っております。お忙しい中、シンポジウムでの講演を快く引き受けてくださった講師の先生方に、この場を借りて御礼申し上げます。

(半 智史)

日本木材学会 組織と材質研究会 2012 秋季シンポジウム

「木材の形成機構解明に向けた新規イメージング技術」

2012 年 9 月 26 日、東京農工大学府中キャンパス 2 号館 2-21

シンポジウム企画担当：半 智史（東京農工大学 大学院農学研究院）

要旨集

2012 年 9 月 20 日発行

編集：半 智史

発行：一般社団法人日本木材学会 組織と材質研究会