



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ultrastructural study of extracellular matrix of brown algae [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	寺内, 真
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第11496号
Issue Date	2014-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56683
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Makoto_Terauchi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

生物圏科学専攻 博士（環境科学） 氏 名 寺内 真

学 位 論 文 題 名

Ultrastructural study of extracellular matrix of brown algae (褐藻の細胞外マトリクスにおける微細構造学的研究)

褐藻は、真核生物の中にあつて、珪藻と共に不等毛植物門に属する光合成を行う生物群である。褐藻は、コンブやホンダワラなどを含み、沿岸域で海中林を形成することから、主要な一次生産者として生態学的に重要な役割を担っている。全ての真核生物の中で、複雑な多細胞体制を有するのは、動物、真菌類、陸上植物・緑藻を含む緑色植物、紅藻、そして褐藻である。つまり、褐藻は他の多細胞体制を有する生物群と系統を異にするストラメノパイル系統群不等毛植物門にあつて、独自に複雑な多細胞体制を進化させたと考えられる。多細胞体制を獲得する上で、細胞間連絡構造の形成、細胞外マトリクス (ECM) の発達は必須である。褐藻は、細胞間連絡構造として、緑色植物と類似の原形質連絡 (PD) を有することが知られており、また、ECM としては、アルギン酸を主体とする細胞壁を有することが知られている。従つて、褐藻の PD と細胞壁を含む ECM に関する研究は、褐藻の多細胞体制がどのように構築されているのかを理解する上で、重要であると考えられる。本研究では、通常の透過型電子顕微鏡と電子線トモグラフィー法により、褐藻の PD と細胞壁についての微細構造学的解析を行った。

まず、褐藻アミジグサにおける PD の微細構造解析では、PD は細胞壁を貫通し、細胞膜から連続した直径 10~20 nm の管状膜構造であり、隣接する細胞同士の細胞質を直接連結していることが明らかになった。陸上植物の PD は、一般的に小胞体が貫通しているが (デスモチューブル)、アミジグサの PD の内部には小胞体は観察されなかった。一方で、PD の近傍には分枝を持つ管状または小胞状の膜構造からなるネットワークが局在していることが、電子線トモグラフィー法による膜構造の定量解析により示された。細胞質分裂の観察では、PD に類似の管状膜構造が隔壁の内部に形成されることが明らかとなった。この PD 様管状膜構造は、隔壁形成の初期から隔壁内部に多数形成され、細胞壁形成後も維持される。この結果から、PD 様管状膜構造は PD の前駆体構造 Pre-plasmodesmata (PPD) であると結論した。次に、マコンブやヒバマタ、シオミドロなど他の褐藻について PD の観察を行ったところ、いずれの種においても PD の直径は 10~20 nm であり、内部に小胞体が見られないこと、分枝を持たない管状膜構造である点で共通していた。一方で、マコンブの胞子体やヒバマタなどの複雑な多列形成的な体制を有する種では、細胞壁に PD の集合 (ピットフィールド) が見られたのに対し、

マコンブの配偶体やシオミドロといった単列糸状型の体制を有する種では、それが見られなかった。このことから、複雑な体制の構築にはピットフィールドの形成が重要な役割を担っているのではないかと推察された。また、細胞壁における PD の数や密度、分布の解析では、種間の多様性が見出されたが、ピットフィールドにおいて PD がほぼ等間隔に配列している点で共通していた。アミジグサでは、PPD が形成初期に既に隔壁内部に密に分布していることから、ピットフィールドは細胞質分裂時に形成されると考えられた。つまり褐藻では、PD 自体の構造は種間において共通しており、細胞壁における PD の数や分布によって細胞間コミュニケーションが制御されていると推察された。

細胞壁の微細構造解析では、全ゲノム配列が明らかになったシオミドロを用いて行った。シオミドロは、単列糸状型の体制を持ち、細胞の側面細胞壁は、電子染色陽性の幅約 4 nm の繊維状構造を含む 2~3 つの層から構成されていた。電子線トモグラフィー法を用いた、繊維状構造が形成するネットワーク構造の定性的・定量的解析により、各層では、単位面積当たりの繊維状構造の量（密度）、単位体積当たりの分岐点数（網目構造の複雑さ）が異なっており、これらの要素が各層の三次元構造ネットワークの違いに反映されていることが示唆された。細胞壁の内側の層では、細胞膜に平行な方向、すなわち細胞壁の水平方向に網目構造がよく発達していることが示された。免疫組織化学的解析により、この電子染色陽性の繊維状構造は、アルギン酸とカルシウムからなる繊維状ゲル構造であることが明らかになった。また、抗アルギン酸抗体と金粒子標識アルギン酸リアーゼを用いた解析では、細胞壁の高さ方向において異なる分子構造を持つアルギン酸の局在性が観察でき、各層のネットワーク構造の違いに関係していることが明らかになった。さらに、電子染色陽性の繊維状構造からなるネットワークには、細胞壁の高さ方向と水平方向で、構造の異方性が存在することが示唆された。この異方性は、細胞壁の力学的性質に関係していると推察された。ネットワークの内部には電子染色陰性の繊維状構造が観察された。細胞壁から抽出した繊維状構造のネガティブ染色による観察と金粒子標識セルラーゼによる標識実験、さらに先行研究で報告されているセルロース微繊維との形態比較から、この繊維状構造は、セルロース微繊維であると考えられる。以上の研究から、従来の細胞壁多糖類の化学的性質から構築された褐藻細胞壁の構造モデルに対し、細胞壁の形態学的な解析データを加え、褐藻の細胞壁は、アルギン酸—カルシウム繊維状ゲル構造を含む三次元的なネットワーク構造の内部に、結晶性のセルロース微繊維がその間隙を縫うように配列しているモデルを構築することができた。