



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_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

生物圏科学専攻：博士（環境科学）

氏名 寺内 真

審査委員	主査	教授	本村 泰三
	副査	教授	森川 正章
	副査	准教授	長里 千香子
	副査	准教授	藤田 知道（北海道大学大学院理学研究院）

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）

真核生物の中にあつて、褐藻は珪藻と共にストラメノパイル系統群不等毛植物門に属する生物群であり、沿岸域で海中林を形成し、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。褐藻は他の多細胞体制を有する生物群（後生動物、真菌類、陸上植物・緑藻を含む緑色植物、紅藻）と系統を異にする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。多細胞体制の獲得において、細胞間連絡構造の形成、細胞外マトリクス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)、アルギン酸を主体とする細胞壁を有する。従つて、褐藻のPDと細胞壁に関する研究は、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。本研究では、通常の透過型電子顕微鏡観察と共に電子線トモグラフィ法を併用し、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。

褐藻アミジグサにおけるPDの微細構造解析では、PDは細胞膜から連続した直径10-20 nmの管状膜構造であり、細胞壁を貫通し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では小胞体が貫通しているが、アミジグサのPDの内部には小胞体は観察されなかった。PD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法による膜構造の定量解析により示された。細胞質分裂時の隔壁形成初期から、PD様管状膜構造が隔壁内部に多数形成され、細胞壁形成後も維持された。この結果から、PD様管状膜構造はPDの前駆体構造であると結論した。

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、マコンブの孢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。

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。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、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）が各層で異なっており、これらの要素が褐藻細胞壁の三次元構造ネットワークの違いを反映していることが示唆された。さらに、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。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、細胞壁の各層で異なる分子構造を持つアルギン酸の局在性が観察でき、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。アルギン酸繊維からなるネットワーク構造内部には、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、金粒子標識セルラーゼによる標識実験、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結論した。これらの結果から、従来の多糖類の化学的性質から構築された褐藻細胞壁のモデルに対し、細胞壁の形態学的データを加え、褐藻の細胞壁は、アルギン酸繊維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間隙を縫うように配列しているモデルを構築した。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。