

氏名(本籍)	菊池彰 (北海道)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第1,435号
学位授与年月日	平成7年7月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生物科学研究科
学位論文題目	MOLECULAR ANALYSIS OF THE CELL WALL POLYSACCHARIDES THAT ARE RELATED TO INTERCELLULAR ATTACHMENT IN HIGHER PLANTS (高等植物の細胞接着に関する細胞壁多糖の分子的解析)
主査	筑波大学教授 理学博士 藤伊正
副査	筑波大学教授 理学博士 岡田益吉
副査	筑波大学教授 理学博士 山根國男
副査	筑波大学教授 理学博士 鎌田博

論文の要旨

本論文は細胞壁ペクチンの構造を明らかにし、高等植物の細胞接着のメカニズムを解明することを目的としている。材料に用いたニンジン培養細胞には、大きく密な細胞集塊を形成し、不定胚へ分化し得る Embryogenic cell (EC) と、この EC 中より一種の変異体として得られ、不定胚を形成せず、小集塊を作る性質を持つ、Non-embryogenic cell (NC) がある。両者の細胞壁多糖の構造差を見出すことは、高等植物の細胞接着のメカニズム解明の糸口を与え、ひいては植物の発生の研究に新たな方向性をもたらすものと菊池氏は考えた。

EC と NC の細胞壁よりペクチン、ヘミセルロース、セルロースの各分画を抽出し、中性糖量、酸性糖量を測定し、比較したところ、ペクチン画分に顕著な違いが認められた。菊池氏により開発された酢酸セルロース膜電気泳動法を用いて、ペクチン画分の酸性度を評価したところ、ペクチンの接着力とされてきたカルシウムイオンの関与は否定され、接着力には中性糖側鎖の構成が寄与している可能性が強く指摘された。中性糖の構成糖分析の結果、アラビノース (Ara) とガラクトース (Gal) 含量に差が認められ、Ara/Gal の比は EC で 1.30、NC で 0.76 と両者の中性糖側鎖の性質がかなり異なることが示された。

次に種々の細胞集塊サイズを持つニンジン培養細胞株を用い、平均細胞集塊サイズと構成糖との関係を調べたところ、集塊サイズは Ara、キシロース (Xyl) 含量とは正の、Gal とは負の相関を示した。特に、Ara 含量とは弱い相関しか示さないにもかかわらず、Ara/Gal では強い正の相関を示したことから Ara と Gal が中性糖側鎖中で協調して機能し、細胞接着に関与している可能性が提示された。

中性糖の構造解析の結果、通常のペクチンには認められない末端結合型の Xyl (T-Xyl) が多量に検出された。この T-Xyl が中性糖側鎖、あるいは酸性糖主鎖のどちらに組み込まれているかを確認するためシュウ酸処理により中性糖側鎖を除去後、構成糖分析、メチル化分析を行った結果、酸性糖主鎖の 2 位と 3 位に直接 T-Xyl が結合した新規の多糖質であることが示された。また、EC、NC に含まれる T-Xyl の量はそれぞれ 10.7%、23.4% となり、EC の方がザイロガラクトツロナン領域が約 2 倍大きいことを示した。さらに菊池氏は、中性糖側鎖は直鎖状の Ara に続き分枝した Gal の領域を持ち、再び末端に Ara が組み込まれた構造であること、EC では中間部の Gal 領域が小さく、末端の Ara 領域が Gal 領域を包むように広がっているのに対し、NC では逆に Gal 領域が大きく末端の Ara を囲んでいるのであろうと結論している。細胞壁多糖間において、想定しうる既存の結合

はフェノール酸による架橋である。しかしEC, NCともにフェノール酸量は極めて少なく、本研究材料においてはフェノール酸による分子架橋が細胞接着には寄与していないので、細胞接着性を説明するためには、未知の結合様式の存在を想定する必要が指摘されている。

次にペクチンを4段階に抽出し、中性糖の構造解析を行ったところ、NCに比べ、ECではAraが多く検出され、特にヘミセルロースとの相互作用が考えられるペクチン画分で、Ara側鎖が著しく長くなることが示された。

さらに4段階に抽出したヘミセルロース画分の構成糖分析を行ったところ、ガラクトuron酸が、特にECで顕著に検出された。これは“ペクチン-ヘミセルロース”という異分子間結合の存在を示唆するものであり、この異分子間結合の様式は、抽出の条件から水素結合あるいは結合強度の弱いグリコシド結合であろうと推定された。

従来までペクチン中性糖側鎖は細胞接着を高めるための作用を持たないと考えられていた。しかし本研究によりペクチン中性糖側鎖に存在するAraが異分子間結合に関与し、細胞接着に重要な役割を担っている可能性が示された。

以上の研究は、細胞接着に関わる細胞壁多糖の機能に新しい可能性を示すにとどまらず、今後の高等植物の形態形成・発現現象に関する研究に細胞接着という観点からの新たな方向性と可能性をもたらすと考えられる。

審 査 の 要 旨

本研究では、細胞間の接着性の異なるニンジン培養細胞株に含まれる細胞壁多糖の構造解析を行うことにより、アラビノースを多く含む側鎖およびキシロース側鎖の量が、細胞の接着性と強い相関を示すことが初めて明らかにされた。

これまで、ペクチン多糖の接着性は、その中性糖側鎖ではなく、酸性糖主鎖によっていると考えられてきたが、本研究は、中性糖側鎖の今まで知られていなかった構造を明らかにしたのみならず、それらが接着性に寄与している可能性を初めて示した点で高く評価される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。