

木材細胞壁研究の到達点と今後の課題

京都大学名誉教授 高部 圭司

はじめに

私の木材細胞壁形成の研究は、4回生の課題研究に始まり退職するまでの42年間に及んだ。ここでは、これまでの研究を振り返り、細胞壁研究の到達点と今後の課題について論じたい。

1 オートラジオグラフィ・細胞化学染色による木材細胞壁形成の研究

オートラジオグラフィとは³Hや¹⁴Cを標識した前駆物質を細胞に投与し、しばらく代謝させた後に標識物質の取り込み部位を調べる方法である。リグニン前駆物質のフェニルアラニンに³H標識して分化中木部に投与すると、二次壁形成開始とともに放射活性はコーナー部細胞間層で観察され、続いて細胞間層、二次壁外側から内側へと観察されるようになり、分化中木部でのリグニン沈着部位が明らかになった。細胞内では放射活性はゴルジ装置上に現れたことから、モノリグノールの合成/輸送にゴルジ装置の関与が考えられた。非セルロース性多糖類を染色するPATAg法を分化中木部に適用すると、未木化細胞壁はよく染色され、細胞内ではゴルジ小胞がよく染色された。このことから、ヘミセルロースはゴルジ装置で合成され、ゴルジ小胞に梱包されて形成中の細胞壁に輸送されるものと考えられた。

2 急速凍結法の衝撃

急速凍結法とは、10000°C/sec以上のスピードで凍結させることにより無氷晶状態で凍結された試料を得る技術である。この方法で調整された細胞の電子顕微鏡像は従来の化学固定法のそれとは大きく異なり、細胞膜や細胞小器官は極めて滑らかな構造で、細胞壁は均一な構造を示した。PATAg染色すると、ゴルジ装置やゴルジ小胞が強く染色され、細胞壁内表面には強く染色される薄い層が存在した。この層には多く水が含まれており、細胞壁内表面はゴルジ小胞から輸送されたヘミセルロースと水によるゾル or ゲル状の薄い層で覆われているものと推察された。

3 細胞壁形成のシミュレーション

急速凍結法で得られた結果より、細胞膜上に存在するセルロース合成酵素複合体で合成されたセルロースは、ヘミセルロースゾル or ゲルの薄い層で覆われた細胞壁内表面にはき出されていくことが容易に推察された。そこで非セルロース性多糖類を溶解させた培地で酢酸菌を培養することにより、細胞壁形成のシミュレーションを行った。酢酸菌は通常培地で培養するとセルロースI α を多く含むセルロースリボンを生産するが、グルコマンナンを含む培地で培養するとセルロースI β の比率が高くなり、キシランを含む培地ではわずかにI β の割合が増え、ペクチンを含む培地では何の変化もなかった。セルロースリボンと非セルロース性多糖類の関係を電子顕微鏡で観察すると、グルコマンナンを含む培地で産生されたリボンはほぐれたような形態を示し、グルコマンナンはリボン周囲を完全に巻き取るように存在した。キシランを含む培地で産生されたリボンはわずかにほぐれ、キシランは一定の距離をおいて点在していた。ペクチンはリボンに関与することなく独自にネットワークを形成していた。これらの結果は、非セルロース性多糖類の種類によりセルロースリボンへの関与の仕方が異なることを示していた。

4 免疫細胞化学法の細胞壁研究への展開

グルコマンナンやキシランに特異的に反応する抗体が開発され、ヘミセルロースの堆積に関する研究が進展した。針葉樹仮道管では、グルコマンナンの標識は二次壁形成開始とともに二次壁に現れたが、S₂外側部分で標識が弱かった。脱アセチル化処理をすると二次壁全域でほぼ均一な標識となることから、S₂外側部分にはアセチル化度の高いグルコマンナンが堆積するものと考えられた。キシランの標識も二次壁形成開始とともに二次壁に現れた。コーナー部細胞間層では、標識は一次壁形成中では認められなかったが、二次壁形成中に現れるようになった。このことからキシランの一部は挿入的堆積をするものと考えられた。

ヘミセルロースの生合成にはゴルジ装置が関与しているが、一つのゴルジ装置で複数のヘミセルロースが合成されるのか、個々のゴルジ装置で個々のヘミセルロースが合成されるのかは不明であった。抗グルコマンナン抗体と抗キシラン抗体を用いてゴルジ装置を二重標識した結果、一つのゴルジ装置で複数のヘミセルロースが合成されるが、ゴルジ小胞にはヘミセルロースの種類ごとに梱包されることが判明した。

モノリグノール類の生合成に関与する酵素に対する抗体も作製され、モノリグノール類芳香核の水酸化は細胞小器官の膜上で行われ、その他の反応は細胞質基質中で行われることが明らかになった。またモノリグノール類の重合に関与するペルオキシダーゼやラッカーゼは木化中の細胞の細胞膜上や細胞壁に存在していることが明らかになった。

5 モノリグノール類の細胞壁への輸送

分化中木部をホモジナイズし超遠心法で得られるミクロソーム画分を用いてモノリグノール類の輸送活性を調べると、ATP存在下でコニフェリンが輸送された。様々な阻害剤を加えて輸送活性を調べた結果、V-ATPaseがATPを分解して作り出すH勾配を利用した膜輸送であることが判明した。後に、同様なメカニズムが*p*-グルコクマリルアルコールが輸送にも存在することが示されている。

6 今後の課題

今後の課題について思いつくことを以下に列挙する。①セルロース合成酵素複合体の動く方向、②微細管の配向を制御する因子、③ミクロフィブリルが集合してバンドルを形成するメカニズム、④セルロースとヘミセルロースの3次元立体配置、⑤ゴルジ小胞の移動メカニズムと融合先を決める因子、⑥グルコマンナンとキシランの細胞壁形成における役割、⑦ヘミセルロース側鎖やアセチル基の役割、⑧モノリグノール類、とりわけシナピルアルコールの輸送、⑨あて材形成と応力発生のメカニズム、など。

謝辞

上記に挙げた研究成果は、同じ研究室のスタッフ、愉快的な学生たちによる研究や、他研究室、他大学の研究者、学生との共同研究で得られたものであり、私の関与は微々たるものである。心より感謝申し上げる。また、原田浩先生、佐伯浩先生、野淵正先生、藤田稔先生、樋口隆昌先生、寺島典二先生、深澤和三先生、大谷諄先生、今川一志先生、藤川清三先生、田中國介先生、小川雅広先生には心温まるご指導をいただき感謝の念に耐えない。思い返せば、実に楽しい研究生活を送ることができた。