コナラ木部における細胞の通水機能と ヘミセルロースおよびシリンギルリグニンの局在の関係

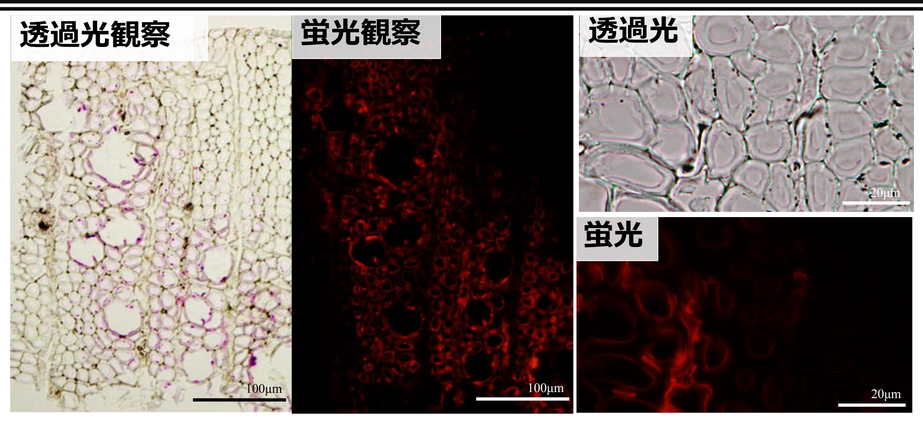
（京大院農）○酒井健吾、粟野達也、高部圭司

背景と目的

広葉樹木部の細胞壁では、樹体支持に資する組織と水分通道に資する組織でヘミセルロースの存在比率が異なるという報告がある。
本研究では、コナラ（*Quercus serrata*）木部細胞を、道管要素とその他の細胞（ITEsと称する）に分けて考え、これらの細胞の通水機能の有無を判別した。さらに、細胞壁中のヘミセルロースおよびシリンギルリグニン（Sリグニン）の局在を調べ、細胞単位でその機能と細胞壁成分の存在様式の関係について考察を行った。(ITEs: imperforate tracheary elements, せん孔をもたない管状要素)

結論

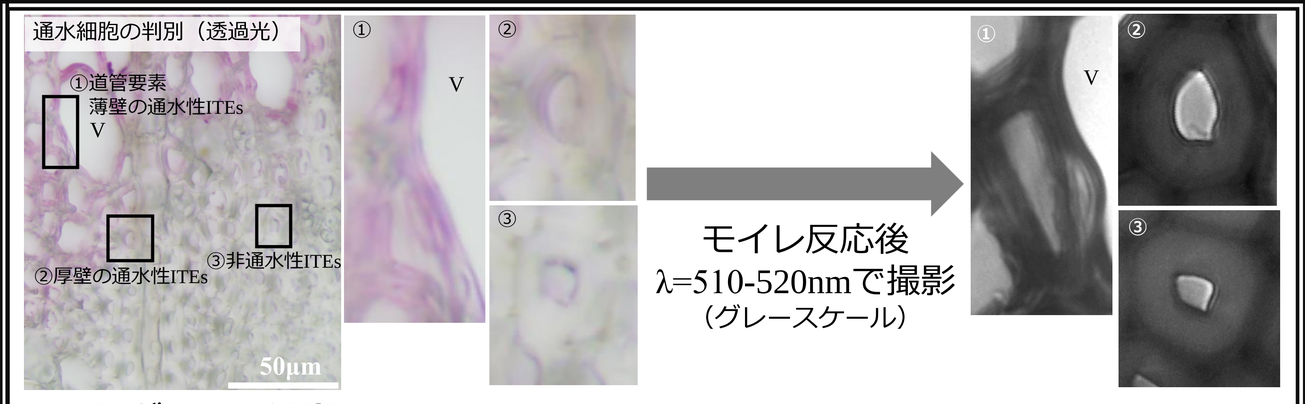
通水性ITEsには、道管要素に隣接する細胞壁の比較的薄いものと、道管要素から数列離れて存在する細胞壁の比較的厚いものが存在し、両者の細胞壁におけるSリグニンおよびヘミセルロースの局在は異なった。一方、厚壁の通水性ITEsと非通水性ITEsのSリグニンおよびヘミセルロースの局在は同様であった。
細胞の機能と細胞壁成分の関係について、ITEsに関しては、その通水機能の有無よりも、道管要素との位置関係あるいは細胞壁の構造の方が、よりその細胞壁成分の分布と関係する可能性が示唆された。



（注）
酸性フクシンで染色される細胞は通水機能をもつといえる。

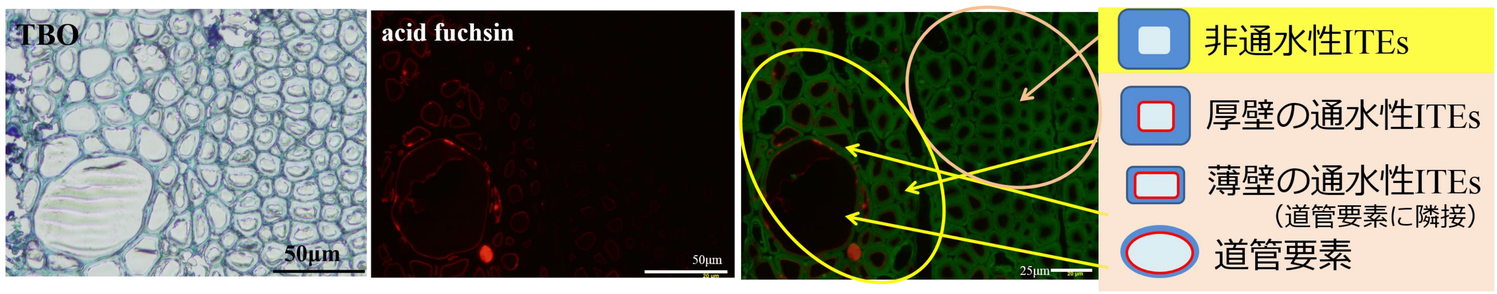
①蛍光顕微鏡での酸性フクシン観察、および通水細胞の判別

6μm厚切片で、透過光と蛍光により酸性フクシン（赤色）を観察した。
道管要素とその周囲の一部のITEsは細胞壁内表面に酸性フクシンがみられた。
透過光との比較から、酸性フクシンが蛍光でよく観察できることを確認した。



②Sリグニンの観察

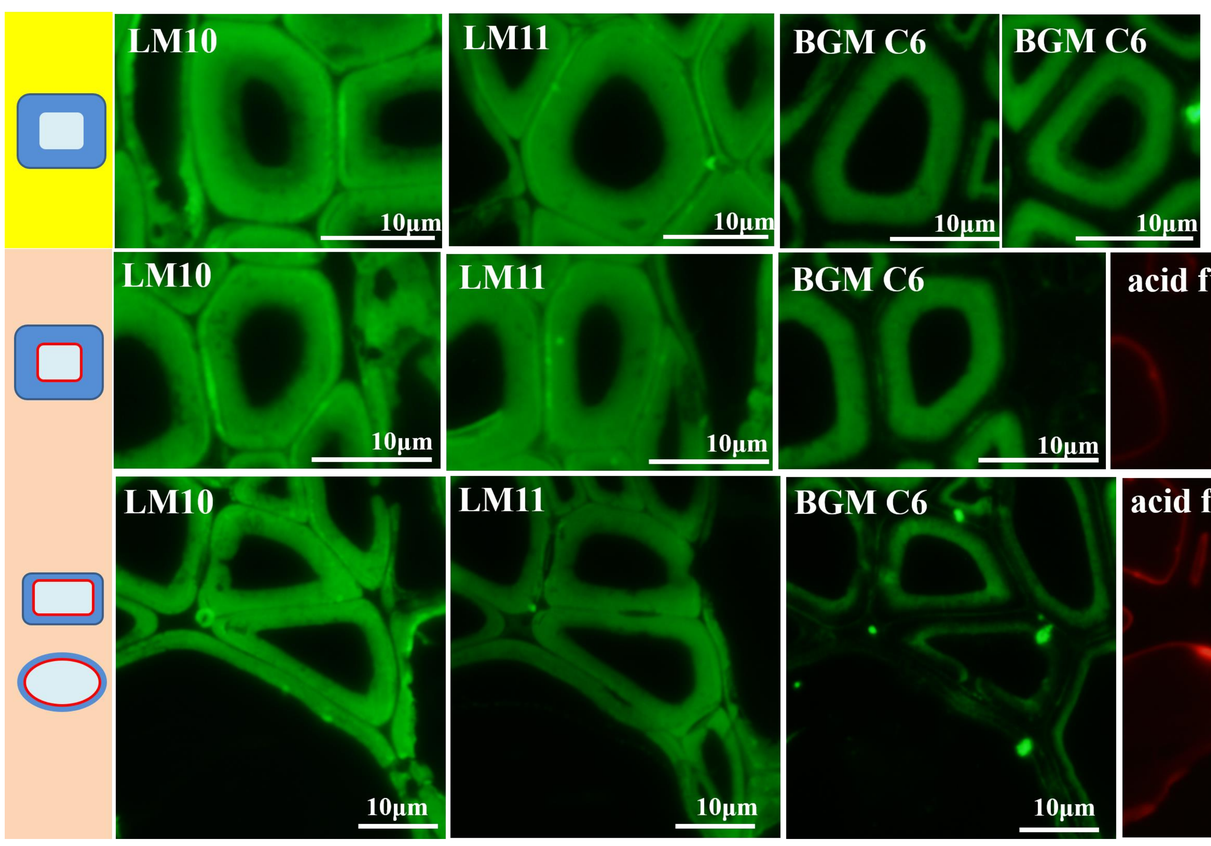
20μm厚切片で、透過光下通水細胞を判別した後、モイレ反応に供し510-520nm波長領域下での観察をおこなった。道管要素や薄壁の通水性ITEsでは細胞壁内でSリグニンの分布は均一に見えた一方、厚壁の通水性ITEsと非通水性ITEsでは細胞壁外側に比較的Sリグニンが多く確認された。 (V: vessel)



↑酸性フクシンとLM10の蛍光のマージ

↓免疫標識に使用した抗体

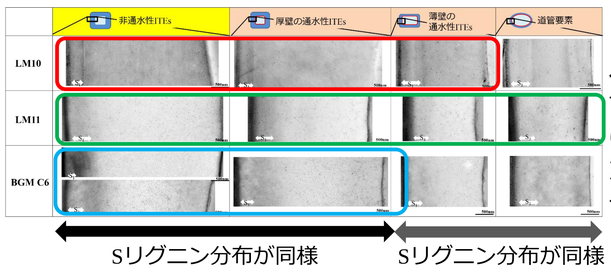
一次抗体 名称	クラス	蛍光標識 二次抗体	標識	金標識 二次抗体	標識
LM10	Rat IgG	goat anti-rat IgG	Alexa Fluor 488®	goat anti-rat IgG	10nm 金コロイド
LM11	Rat IgM	goat anti-rat IgM		goat anti-rat IgG	
BGM C6	Mouse IgG	goat anti-mouse IgG		goat anti-mouse IgG+IgM	



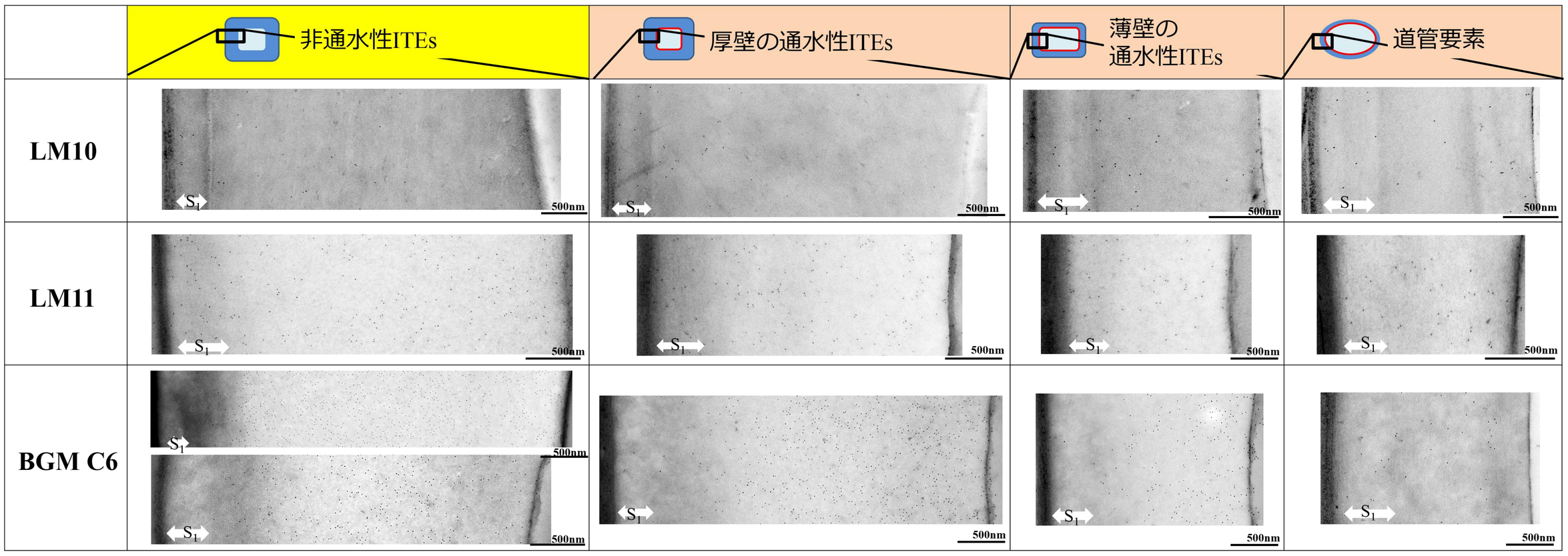
③ヘミセルロースの観察

1μm厚切片または超薄切片を作製し、4種の細胞について細胞壁のヘミセルロース局在を調べ、以下の結果を得た。

1. 非通水性ITEsと厚壁の通水性ITEsの標識結果がLM10, LM11, BGM C6のすべてで同じパターンであった。
2. 非通水性ITEsおよび厚壁の通水性ITEsと薄壁の通水性ITEsを比較すると、LM10, 11によるキシランの標識パターンは同じであったが、BGM C6によるグルコマンナンの標識パターンは異なった。
3. 道管要素はLM11による標識結果は他のITEsの結果と同様であったが、 LM10, BGM C6の標識結果はいずれとも異なった。



←下図ヘミセルロース標識結果について、左図で赤・緑・青線で囲った範囲はそれぞれ同様の標識パターンが確認された。



試料と方法 京都大学構内に生育していた約30年生のコナラに酸性フクシン水溶液を吸わせた後、液体窒素で幹を凍結させ、ここから試料ブロックをきりだした。ブロックは凍結乾燥後n-ブチルグリシジルエーテルに置換しエポキシ樹脂に包埋して切片作製に使用。切片は以下の観察に使用した。
①蛍光顕微鏡での酸性フクシン観察、および通水細胞の判別、②Sリグニンの観察、③ヘミセルロースの観察