

氏名	あわ の たつ や 栗 野 達 也
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1274 号
学位授与の日付	平成 14 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科森林科学専攻
学位論文題目	XYLAN DEPOSITION ON THE SECONDARY WALL OF THE <i>FAGUS CRENATA FIBER</i> (ブナ木部繊維の二次壁におけるキシランの堆積)
論文調査委員	(主査) 教授 藤田 稔 教授 東 順一 教授 伊東隆夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

ヘミセルロースはセルロースに次ぐ広葉樹木部細胞壁の主要成分であり、特にキシランは細胞壁の20~30%を占めている。したがって、キシランの性質や分布が細胞壁の性質に大きく寄与していると考えられる。本論文は、抗キシラン抗血清を用いた免疫金標識法による観察、選択的脱成分処理による構造変化の観察により、ブナ木部繊維細胞壁におけるキシランの分布および堆積過程を明らかにしたものである。

第1章では、広葉樹キシランの分布および細胞壁微細構造モデルに関する既往の研究を総括し、本研究の位置づけを明らかにした。

第2章では、抗キシラン抗血清を調製し、ドットプロット法および競合阻害免疫金標識法により抗血清がキシランを特異的に認識していることを確認した。調製した抗血清を用いてブナ分化中木部組織を免疫金標識し、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡(TEM)で観察した。標識は木部構成要素の二次壁のみに観察され、一次壁、細胞間層には観察されなかった。木部繊維二次壁ではS<sub>1</sub>層の外側部分とS<sub>3</sub>層で標識密度が低かったが、その他の部分では標識に局在は見られず、均一に分布していた。分化中木部繊維では、細胞壁形成の進行とともに、二次壁各層層で標識密度が増加していた。このことから、キシランは細胞壁に付加的に堆積するだけでなく、挿入的に堆積する可能性が示唆された。

第3章では、抗血清を用いて標識したブナ分化中木部まさ目切片をフィールドエミッション走査型電子顕微鏡(FESEM)を用いて観察した。二次壁形成中木部繊維の細胞壁内表面では、数本のマイクロフィブリルが集合してマクロフィブリルを形成していた。標識はマクロフィブリル上に多く観察された。細胞壁内部では細胞壁内表面よりもマクロフィブリルの幅が広く、標識も多く観察された。これらの結果からキシランの堆積がマクロフィブリル幅の増大に寄与していることが示された。

第4章では、脱リグニン処理およびキシラナーゼ処理により選択的に脱成分を行い、キシランの分布について考察した。脱リグニン処理切片ではコーナー部細胞間層において抽出されているのが観察されたが、細胞断面の形状には変化がなかった。キシラナーゼ処理を行った試料では、二次壁が内腔側へ著しく膨潤しており、コーナー部細胞間層が拡大しているのが観察された。FESEMで観察すると、キシラナーゼ処理試料では隣接する木部繊維間で著しい剥離が見られた。また、二次壁の内腔側への膨潤によりS<sub>3</sub>層のマクロフィブリルは著しく圧縮されていた。以上の結果から、キシランは二次壁に堆積しており、キシランを除去することにより二次壁が内腔側へ著しく膨潤することが明らかとなった。

第5章では、脱リグニン処理、キシラナーゼ処理をおこなったブナ木部繊維の微細構造をFESEMで観察した。二次壁形成中木部繊維の細胞壁内表面を観察すると、無処理、脱リグニン処理、キシラナーゼ処理のいずれにおいても、マクロフィブリルが明瞭に観察された。フィブリルの幅には差は見られなかった。成熟木部繊維の細胞壁内表面を観察すると、無処理試料ではフィブリルは観察されなかったが、脱リグニン処理により、マクロフィブリルが観察されるようになり、マクロフィブリル表面には粒子状物質が観察された。キシラナーゼ処理を行うと、これらの粒子状物質は観察されなくなったこと

から、粒子状物質はキシランであることが明らかとなった。成熟木部繊維二次壁の切断面を観察すると、無処理試料ではフィブリルは観察されなかったが、脱リグニン処理により、粒子状物質を伴ったマクロフィブリルが観察された。キシランナーゼ処理により、粒子状物質は観察されなくなった。以上の結果から、脱リグニン処理によって観察される粒子状物質はキシランの分布を示していると考えられる。脱リグニン処理試料の分化中木部繊維を観察すると、細胞壁内表面に近い部分ではマクロフィブリル表面が平滑であるのに対し、細胞壁外側に向かうにつれ粒子状物質が多く観察された。このことから、キシランが細胞壁に挿入的に堆積することが推察された。

以上の観察結果に基づき、キシランの堆積過程を考察した。キシランは木部組織細胞の二次壁に分布し、木部繊維においては $S_1$ 層外側と $S_3$ 層で密度が低い以外はほぼ均一に分布している。堆積方法は二種類あり、マクロフィブリル表面をごく薄く覆うように堆積するものと、細胞壁内部へ挿入的に堆積するものがある。キシランはセルロースのネットワークに充填物として堆積し、二次壁の構造を保つ役割を果たしていると考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

キシランなどのヘミセルロースは樹木細胞壁の主要成分であるにも関わらず、その細胞壁中での分布についてはほとんど知られていない。キシランは広葉樹木部細胞壁の20~30%を占めており、キシランの性質や分布が細胞壁の性質に大きく寄与している。従って、その分布と堆積様式は注目される。本論文は、免疫標識法によるキシラン分布の可視化および高分解能走査型電子顕微鏡法による超微細構造観察の手法を用いて、広葉樹木部組織中のキシランの分布および堆積過程を解明した研究であり、評価できる点は以下の通りである。

1. 免疫金標識法により、広葉樹木部組織中ではキシランが二次壁のみに分布していることを明らかにした。形成中の木部繊維細胞壁においては、二次壁形成の進行とともに二次壁各壁層においてキシラン堆積が増大していることを示した。これらのことからキシランの大部分は細胞壁に対して挿入的に堆積すると推定した。
2. 免疫走査電子顕微鏡法により、形成中の木部繊維細胞壁においては、キシランは細胞壁内表面よりも細胞壁内部に多く分布していることを明らかにした。また、キシランが多く分布する部位ではマクロフィブリル幅が大きくなっており、キシランはマクロフィブリル周囲を取り巻いて存在すると推定した。
3. 木部繊維二次壁からキシランを選択的に取り除くと、二次壁が大きく内腔側に膨潤することを示した。リグニンを取り除いただけではこのような膨潤は観察されず、キシランが二次壁形態の保持に大きな役割を果たしていることを示した。
4. 脱リグニン後の木部繊維二次壁ではマクロフィブリル上に粒状物質が観察され、これらはキシランナーゼ処理により観察されなくなることから、キシランの分布を示すものと考えた。二次壁形成中木部繊維では細胞内表面では粒子状物質が少なく、細胞壁外側のより壁形成の進行した部分で粒子状物質が多いことから、キシランは細胞壁内表面に付加的に堆積するのみならず、細胞壁内部へ挿入的に堆積するものと推定した。

このように本論文は、広葉樹の主要なヘミセルロースであるキシランが二次壁のみに分布しており、細胞壁に対して付加的に堆積するだけでなく、挿入的にも堆積することを示しており、その成果は、樹木細胞壁形成機構の解明に基礎的知見を与えるものとして評価され、樹木細胞学およびヘミセルロース科学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成14年2月22日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。