

5. 緑藻ボウアオノリの細胞壁多糖

水田 俊・川崎 英俊・奥田 一雄

(理学部生物学科)

1 はじめに

海藻の細胞壁は細胞壁強度の維持による藻体の保護はもちろん、細胞を海水による高い塩濃度から保護する強い緩衝機能をもつことを特徴とする¹⁾。このような海藻における細胞壁を構成する物質は一般の陸上植物のもつ骨格多糖（セルロース等）や、その間を埋める amorphous な多糖（ヘミセルロース）の外に粘物質と呼ばれる特殊な多糖を含むことが多い。例えば紅藻の寒天、褐藻のアルギン酸、ラミナラン、緑藻のラムナン硫酸などは有名で、これらの一部は産業的にも有用物質として広く利用されている²⁾。

一方、植物細胞の形態は、最終的には細胞壁における骨格多糖の配向及びその間を埋める amorphous な多糖の構成変化により制御されるといわれている¹⁾。成長に伴い多様な形態変化を示す藻類細胞の形態制御機構を研究する一環として、近年土佐湾及び浦の内湾に生息する緑藻類における細胞壁多糖の抽出、分析をおこなっているが、ここでは浦の内湾に多く生息するボウアオノリについて報告する。

2 方 法

浦の内湾で採集したボウアオノリ (*Enteromorpha intestinalis*) は、実験室において25℃14時間一

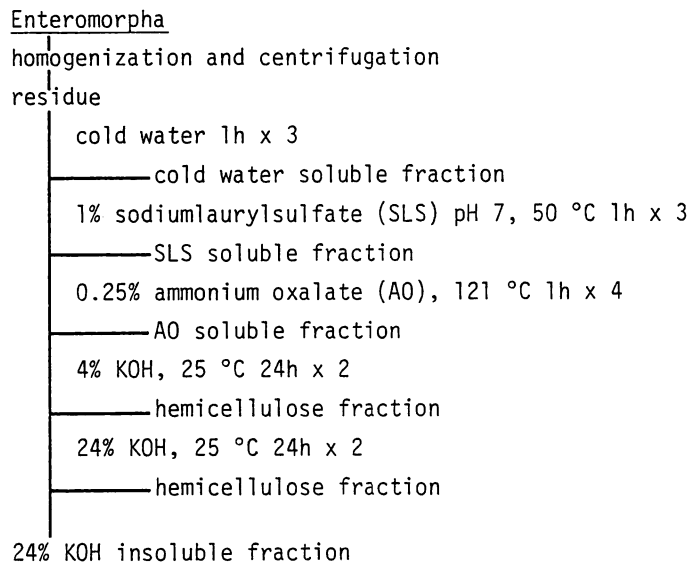


図1. ボウアオノリ細胞壁からのヘミセルロースの抽出、分画

明, 10時間一暗 の光条件下で培養し実験にもちいた。糖の抽出は次の2通りの方法をもちいた。図1はセルロース及びヘミセルロースを分離するのによく用いる方法で, アルカリ可溶性ヘミセルロースを構成する中性糖はTMS誘導体とし, ガスクロマトグラフィー (GLC) により分析した。図2は硫酸エステル化した粘質糖から酸性糖を抽出する方法で, 調製した細胞壁標品を40℃の温水で15~20時間処理し, 抽出した糖をエタノールによる分別沈澱後加水分解し, GLC及び比色法により分析した。

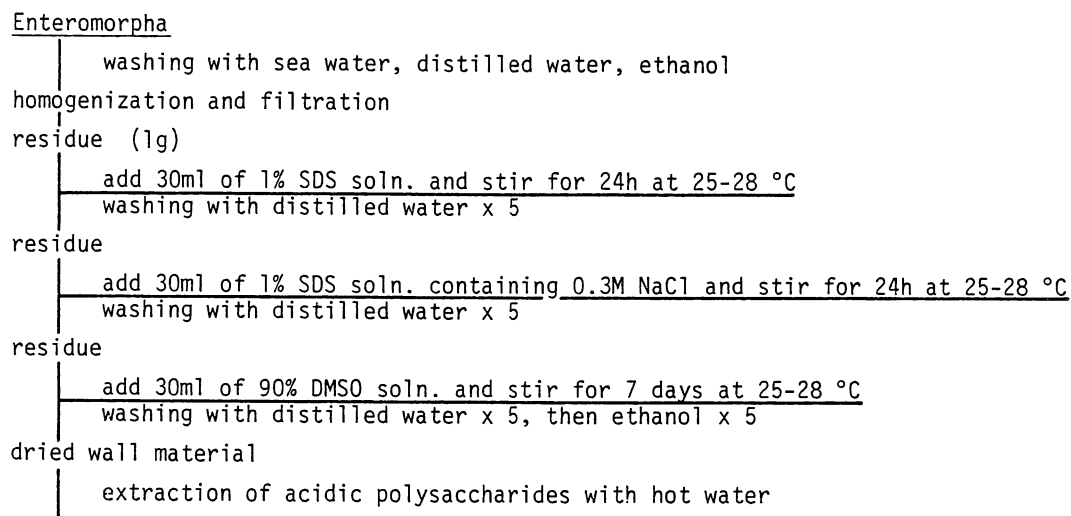


図2. ボウアオノリ細胞壁からの酸性多糖の抽出分画

3 結果及び考察

ボウアオノリ細胞壁においては熱シュウ酸アンモニウムにより溶出する糖は全体の約25%を占める(表1)。この処理においてシュウ酸アンモニウム可溶性糖の大部分が抽出されると考えられるが, 抽出した単糖の中にガラクトロン酸は含まれない。これは, この植物に高等植物の細胞壁に存在するようなペクチン質は含まれないことを示す。緑藻アオサ目, カサノリ目及びシオグサ目等においては硫酸エステル化された粘物質を含むことが知られている³⁾。そこでこの分画の粘物質の抽出に

表1. ボウアオノリ細胞壁の各抽出過程において溶出する糖量及び単糖の種類

処 理	糖量 (mg/乾量)	溶出した単糖
0.25% シュウ酸アンモニウム	0.7	ガラクトース, グルコース, ラムノース, キシロース
KOH (4%) } KOH (24%) }	2.7	ラムノース, キシロース, ガラクトース, グルコース, マンノース
残 査	0.13	ラムノース, ガラクトース, グルコース

は他の方法をもちいることにし、その結果は後で述べる。

ボウアオノリの細胞壁における糖構成上の特徴は、KOHで溶出される中性糖（ヘミセルロース性多糖）が意外に多く、残渣のセルロース（ボウアオノリの場合はセルロースⅡと考えられている⁴⁾）が少ないことである（表1）。ヘミセルロース性多糖は4% KOH処理によりその全体の4/5が溶出し、引続き24% KOH処理によりほぼ完全に溶出される。ヘミセルロースを構成する単糖はラムノースが最も多く、次いでキシロース、ガラクトースの順となる（表2）。この構成比は、シオグサ目やミドリゲ目のセルロースⅠをもつ緑藻の糖構成⁵⁾とは大幅に異なる。パロニア等ミドリゲ目緑藻では、アラビノースやガラクトースの占める比が高く細胞壁中ではアラビノガラクトン及び少量のキシログルカンの存在が示唆されている⁶⁾が、ボウアオノリにおいてはラムノガラクトロナンの存在が考えられる。しかし詳しくは以後の実験を待たねばならない。

表2. ボウアオノリ細胞壁におけるアルカリ可溶性中性糖の種類及びその比

	単糖 (%)				
	ラムノース	キシロース	マンノース	ガラクトース	グルコース
KOH (4%)	33.3	21.5	4.1	20.9	20.3
KOH (24%)	36.5	26.8	3.7	22.2	12.7

高等植物においては、細胞の成長に対し細胞壁糖組成の変化が起ると考えられている¹⁾。ボウアオノリ細胞はコルヒチン処理により球形化、肥大化を起す⁶⁾が、この原因として細胞壁ヘミセルロースの部分的分解、或は細胞壁強度の維持のための合成等の糖代謝が盛んに起っているはずであり、これらの結果はこのような細胞壁の成長機構を解明してゆく上での基礎資料となるものとおもわれる。

粘質多糖の性質を知るため先ず、シュウ酸アンモニウムにより抽出し得られた酸性糖分画をアルコールで分別沈澱しGLCにより分析すると、この中にはラムノースついでキシロースが多く存在することがわかったが、マンノースやガラクトースを含むポリマーが混入してくる（表3）。一方、温水抽出により得られる分画をアルコールにより分別沈澱したものでは、これらのポリマーは除かれる。ラムノース、キシロース及びグルコースの同定は、イノシトールを内部標準試料としてもち

表3. ボウアオノリにおける酸性多糖分画のGLC分析による中性糖残基の構成糖組成

中性糖残基	1		2	
	($\mu\text{g}/\text{ml}$)	(%)	($\mu\text{g}/\text{ml}$)	(%)
ラムノース	75.0	66.3	86.4	86.4
キシロース	25.0	22.1	13.6	13.4
グルコース	6.0	5.3	2.0	2.0
マンノース	4.1	3.6		
ガラクトース	2.8	2.5		

- 0.25%シュウ酸アンモニウム（80℃、1時間処理）により抽出し得られた酸性糖分画を、さらにアルコールで分別沈澱することにより得られた酸性糖分画。
- 温水抽出により得られた温水抽出多糖分画をさらに90%アルコールにより分別沈澱することにより得られた酸性多糖分画。

いた時の相対保持時間からおこない、また定量はクロマトグラムの面積より算出した。この結果、温水抽出により得られる酸性多糖の中性糖残基はラムノースが非常に多く、少量のキシロース及び微量のグルコースより成り、その重量比は84.6:13.4:2であった。また、温水抽出多糖の加水分解物のカラムクロマトグラフィー（トヨパール HW-40S）により得られた分画の比色法によるピークの重量%比も、ラムノース:キシロース:グルコース=78:13:2で、GLCによる値と近いことがわかった。これらの値は、ヒトエグサから温水抽出される酸性糖の中性糖残基組成²⁾とよく似ている。

微量に存在するグルコースの由来は明らかではないが、ヒトエグサにおいてはこれはわずかに存在するグルカンに由来するといわれている³⁾。この酸性多糖の比色により求めた平均重合度は21で、平均分子量は3,010であった。以上からポウアオノリにおける酸性多糖はその中性糖組成が近縁のアオサ属のものと似ており、グルクロン酸の確認はまだおこなっていないが、これはアオサで報告されているグルクロノキシロラムナン硫酸エステルに近いものであろうと考えられる。これらの生体における意義及び利用については今後の問題である。

引用文献

- 1) 古谷雅樹編. 1981. 成長. 朝倉書店. 東京, 274pp.
- 2) 西澤一俊・千原光雄編. 1971. 藻類研究法. 共立出版, 東京, 574pp.
- 3) Percival, E. and Smestad B. 1972. Photosynthetic studies on *Ulva lactuca*. *Phytochem.*, **75**: 1967-1972.
- 4) Dodson, J. R. and Aronson, J. M. 1978. Cell wall composition of *Enteromorpha intestinalis*. *Bot. Mar.*, **21**: 241-246.
- 5) Mizuta, S. and Wakabayashi, K. 1985. Gas chromatographic analysis of cell wall polysaccharides in certain siphonocladalean and cladophoralean algae. *Rep. Usa Mar. Biol. Inst.*, **7**: 9-14.
- 6) Mizuta, S., Okuda, K., Soe-Htun, U. and Ohno, M. 1987. Changes in cell shape and new cell wall deposition by clochicine in growing thallus cells of *Enteromorpha*. *Life Sci. Adv.*, **6**: 49-54.