

総 説

藻類におけるセルロース性細胞壁 II.
マイクロフィブリルの形成と配向変換の調節

水 田 俊

高知大学理学部生物学教室 (780 高知市曙町2-5-1)

MIZUTA, S. 1987. Structure and generation of cell walls in cellulosic algae II. Microfibril formation and regulation of orientation. Jap. J. Phycol. 35: 130-143.

The present review is concerned with the genesis of cellulosic microfibrils in algae. Cellulose microfibrils are comprised of several aggregated elementary fibrils each consisting of a core of crystalline cellulose chains synthesized by cellulose synthesizing complexes (TCs) in the plasma membrane. The structures of TCs so far reported are generally classified into two types on the basis of configuration: (i) a structure consisting of hexagonal arrays of particles, "rosette" and (ii) a structure comprised of linearly arranged particles.

Structures of type (i) have been observed on the PF-face of freeze-fractured plasma membranes. Zygnematalean algae, *Micrasterias* and *Spirogyra* belong to this type. Structures of type (ii) appear either on the EF or on both the EF and the PF-faces of plasma membranes. Siphonocladalean and cladophoralean algae of *Boergesenia*, *Valonia*, *Boodlea* and *Chaetomorpha*, and a chlorococcalean alga, *Oocystis*, belong to this type. The mode of arrangement of the particles of type (ii) is considered to be three rows in *Oocystis*, *Valonia* and *Boergesenia* but random in *Boodlea* and *Chaetomorpha*.

The structure of type (i) is formed in Golgi apparatus and carried to the plasma membrane by the fusion of Golgi vesicles. However, type (ii) structures are assembled on the plasma membrane. They actively participate in cellulose deposition after growing to about 100 μm in length and become longer by the incorporation of the assembled particles.

There is no fixed theory on regulatory mechanisms of TC movement. In *Boergesenia*, *Boodlea*, *Valonia* and *Chaetomorpha*, no correlation has been reported between the arrays of peripheral microtubules and the direction of TC movement. Recently, evidence has been proposed for the idea that membrane fluidity may play a key role in regulating the direction of TC movement.

Key Index Words: Calcofluor White; cellulose synthesizing complex; cellulosic algae; colchicine; freeze fracture; microfibril deposition.

Shun Mizuta, Department of Biology, Faculty of Science, Kochi University, Akebono-cho, Kochi 780, Japan.

前報このシリーズ I (水田1987) で紹介したとおり、セルロース性マイクロフィブリルをもつ藻類の細胞壁は、一般に厚い主層と、比較的薄くフィブリル密度の低い移行層が、相互にある角度をもって重なり合う交叉多層構造を成す。この構造は原形質膜上においてマイクロフィブリルが規則的に配向変換をしながら形成されると考えられる。このリズムカルな形成は、フィブリル配向変換の微妙な調節機構が原形質膜あるいはその付近の細胞質に存在することを暗示する。マイクロフィブリルの配向の調節機構の問題は、細胞の成長、分

化にかかわる細胞のかたち作りにおいて非常に重要であり、細胞の形態維持に対する壁強度に関しても大きく関係する。この総説ではまず、マイクロフィブリルの構造と形成に関して解説し、引続きその配向調節について考察してみたい。

I ミクロフィブリルの構造と形成

マイクロフィブリルの構造に関しては、古くから FREY-WYSSLING や MÜHLETHALER (FREY-WYSSLING

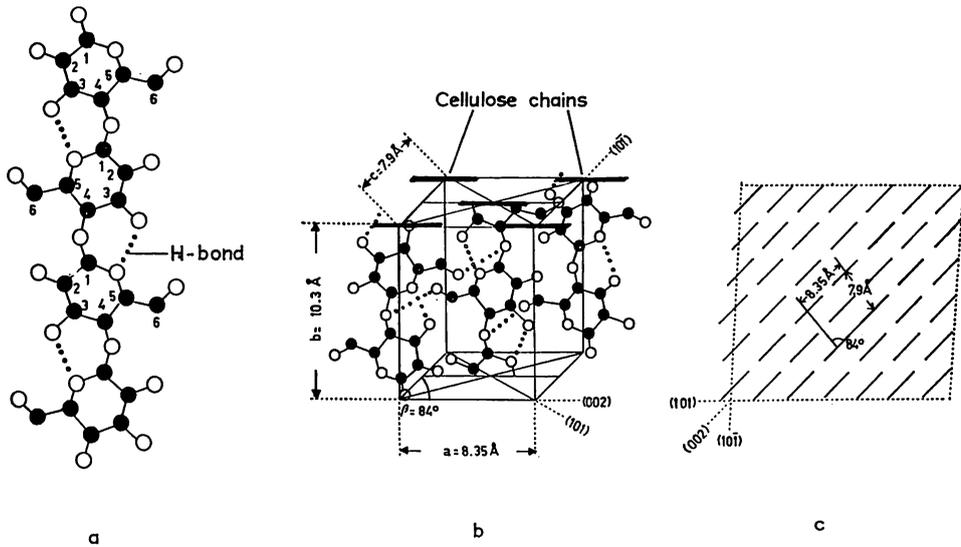


Fig. 1. Scheme of a cellulose molecule and crystalline lattice in the unit cell and elementary fibril (MÜHLETHALER 1967). **a**, "bent" chain conformation postulated by HERMANS (1949) showing intramolecular hydrogen bonds; **b**, unit cell of native cellulose proposed by MARCHESSAULT and SARCO (1967); **c**, cross section of a crystalline elementary fibril showing arrangement of cellulose chains (FREY-WYSSLING and MÜHLETHALER 1963).

and MÜHLETHALER 1963, MÜHLETHALER 1967) により主としてX線回折法をもちいて詳しく調べられており、Fig. 1 c に示すような、格子状の構造が擬結晶性のセルロースに囲まれた構造をしていると考えられている。この格子はセルロースの結晶の断面を示し、約40本のβ-1,4結合のブドウ糖鎖がbにみられるような一定の間隔で規則的に配列し、鎖自体及び鎖相互において水素結合により結ばれている (Fig. 1 a 及び b)。このような格子構造はセルロース I または "native cellulose" と呼ばれ、また、Fig. 1 c に示すような結晶化したフィブリルの最小単位はミセルあるいはエレメンタリーフィブリルと呼ばれている。

セルロース I は高等植物はもちろんシダ、コケ、藻類及び酢酸菌においても認められ、そのエレメンタリーフィブリル断面の大きさは 3.5×3.5 nm であるといわれている。エレメンタリーフィブリルは単独でまたは束になりさらに太いマイクロフィブリルを構成し、その間は擬晶性のブドウ糖鎖により埋められている (FREY-WYSSLING and MÜHLETHALER 1963)。一方 PRESTON (1974) もオオバロニア *Valonia ventricosa* を材料とし、独自にマイクロフィブリルの構造を解析し、Fig. 2 に示したモデルを発表している。このモデルも基本的には FREY-WYSSLING らのモデルと同様な格子構造をコアとし、その周囲は主としてブドウ糖鎖

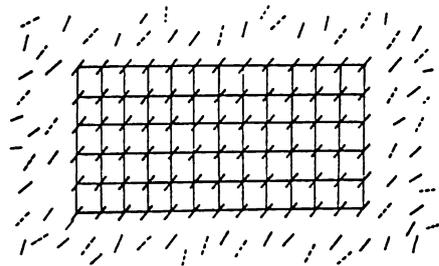


Fig. 2. Diagrammatic representation of the structure of a cellulose microfibril in a transverse view (PRESTON 1974).

よりなる皮質部により覆われた構造であるが、コア部のサイズは大きく、18.5×11.5 nm であると報じている。

このようなブドウ糖鎖の結晶構造が原形質膜上でどのようにして形成されるかは長年の疑問であり、この解明に大きく貢献した方法がフリーズレプリカ法であった。フリーズレプリカ法とは細胞組織を瞬間的に極低温で凍結固定し、これを真空中で切断し、裂開した膜面等の鋳型をとって電顕で観察する方法である。この方法は、超薄切片法が固定、脱水、樹脂包埋などを経過した材料を観察するのに対し、このような操作を一切おこなわず材料をいきなり凍結固定するので生体

の微細構造をより忠実に反映した像が観察できる点、及び、膜面の裂開した構造が平面的に観察可能な点で非常に大きい利点がある。この方法により、1960年代の後半から1970年代の前半にかけ、原形質膜上におけるセルロースの形成に関係した多くの研究が報告されている。この中で最初から注目されてきたのが膜裂開面に点在してみられる微小顆粒で、この中にセルロースの先駆体や合成酵素などが含まれるであろうと考えられた (MÜHLETHALER 1967, NORTHCOLE 1968, O'BRIEN 1972, ROLAND 1973, PRESTON 1974)。

顆粒は原形質内部で形成され、細胞質を移動して原形質膜に付着する (STAEHELIN 1966, MÜHLETHALER 1967) とか、小胞体表面で形成され、小胞体づたいに原形質膜まで移動する (ROBENEK and PEVELING 1977)、あるいはゴルジ体で形成され、小胞の原形質膜との融合により原形質膜に運ばれる (KIERMAYER und DOBERSTEIN 1973) ともいわれているが、このような膜に集まった顆粒とセルロースの形成に関しては様々な仮説が出現した。中でも有名なのが PRESTON (1964) による "ordered granule hypothesis" である。この説は、シオグサの仲間では直径約 35 nm の顆粒が原形質膜上で集塊を成してマイクロフィブリルを織り出し、その配向方向は集塊を構成する顆粒の配列方向により決定されるというものである (PRESTON 1964, BARNETT and PRESTON 1970, ROBINSON and PRESTON 1971)。

これに対しその後、ターミナルコンプレックスと呼ばれるセルロース合成酵素複合体の顆粒群が、マイクロフィブリルを形成しながら原形質膜を移動するという概念が BROWN らによりもたらされた。

BROWN and MONTEZINOS (1976) は、凍結裂開したオオキスティス *Oocystis apiculata* の原形質膜 EF 面に三列にならぶ直径約 7 nm の顆粒群を認め、この一端には新成されたと考えられるマイクロフィブリルの跡が続いていることから、この顆粒群をターミナルコンプレックス (terminal complex; TC) と呼び、これらが移動しながらブドウ糖鎖を織り出し結晶化する構造であると想像した。Fig. 3 に示すように、EF 半破面側 (B 面側) に存在する TC (EC) は、原形質膜表面にマイクロフィブリルを織り出しながら、PF 面 (A 面) 上にあるグラニウルバンドという微小顆粒からなるルールの上を矢印の方向に向かって移動する。一方、GIDDINGS *et al.* (1980) は、クンショウチリモ *Micrasterias denticulata* の原形質膜裂開面 (PF 面) に直径約 8 nm のロゼット形に配列する顆粒構造をみとめ、これがクンショウチリモにおける TC であると報じた。ロゼット形顆粒の配列構造は、もともと高等植物において STAEHELIN (1966) により発見され、セルロース合成に関しては KIERMAYER and SLEYTR (1979) が指摘していた。クンショウチリモにおいてはロゼットは通常複数個が六角形状に整然と配列し、集団で一

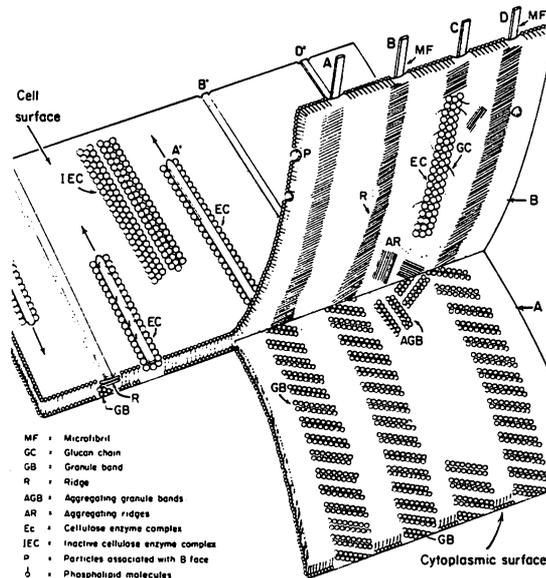


Fig. 3. Diagrammatic interpretation of cellulose synthesis in the plasma membrane of *Oocystis* (BROWN and MONTEZINOS 1976).

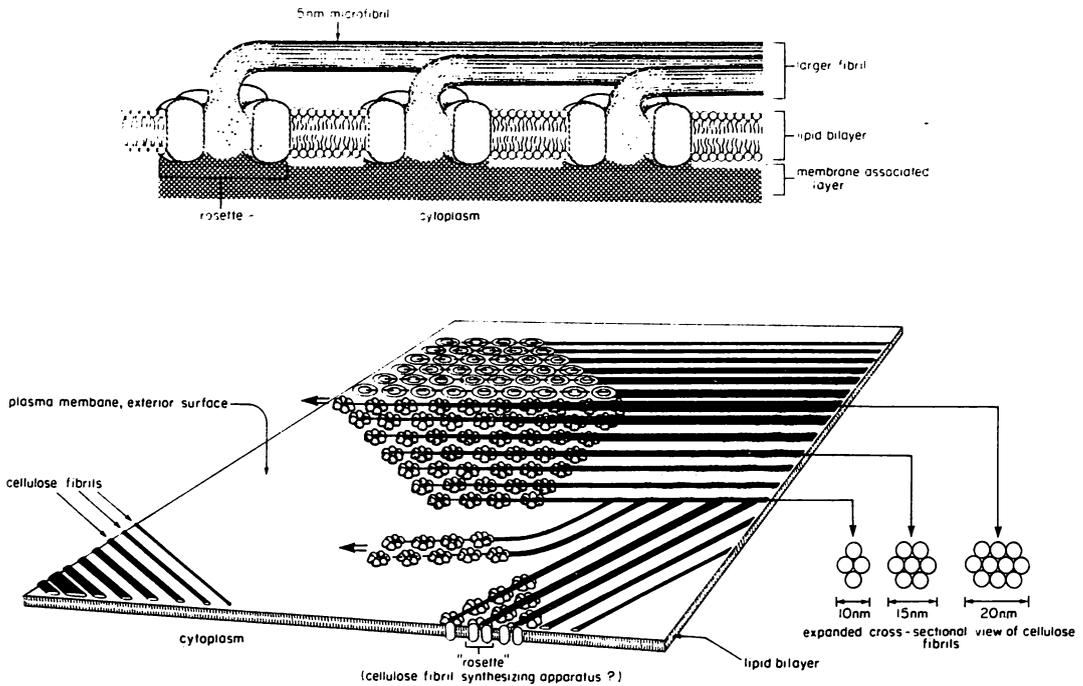


Fig. 4. Model of microfibril deposition during primary wall formation in *Micrasterias* (GIDDINGS et al. 1980). Above, side view; below, surface view. Single rosettes give rise to randomly oriented microfibrils.

定方向に向って移動する。この際、1ロゼットは1本のエレメンタリーフィブリルを織り出し、複数個が同一方向に移動するに伴い、ロゼットの数と同数のエレメンタリーフィブリルからなるマイクロフィブリルが形成される (Fig. 4)。ロゼット構造はクンショウチリモに限らずアオミドロ *Spirogyra* (HOTCHKISS et al. 1983)、シダ類 (WADA and STAEBELIN 1981) さらには高等植物 (ROBENEK and PEVELING 1977, MUELLER and BROWN 1980, BROWN 1985) でも発見され、単独であるいは六角状配列構造をなしてセルロースを合成すると考えられている。

その後、海産緑藻のタマゴバロニア *Valonia macrophysa* やマガタモ *Boergesenia forbesii* においても、オオキシティスのと類似した TC が存在することが明らかになってきた (ITO and BROWN 1984, ITO et al. 1984, MIZUTA 1985c)。ITO and BROWN (1984) によると、バロニアの TC は、脂質二重膜の両層にまたがって分布する (Fig. 5) のでトランスメンブロンコンプレックスと呼び、オオキシティスの TC との次のような違いを指摘している。すなわち、(1)原形質膜中における分布が、オオキシティスが EF 面側の半破面に対しバロニアがトランスメンブロンである事；

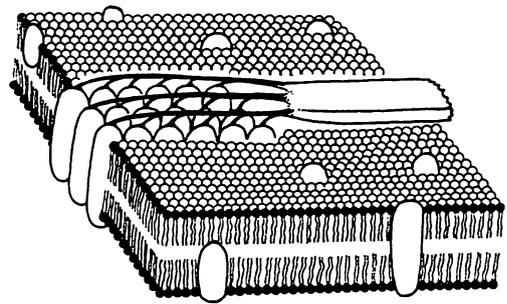


Fig. 5. Suggested model of assembly of a microfibril by an organized TC in *Valonia* (ITO and BROWN 1984). The subunits particles spanning the plasma membrane contributes to the polymerization of one or more glucan chains. The forward movement of the TC in the fluid membrane results from coupled polymerization and crystallization.

(2)TC の平均長が前者 510 nm, 後者 350 nm ; (3)構成顆粒の径, 前者 7.1 nm, 後者 9~12 nm ; (4)ペアで存在する TC, 前者, 有, 後者, 無 ; (5)グラニウルバンド (Fig. 3), 前者, 有, 後者, 無などである。一方類似点はいずれも顆粒の直線状三列配列構造であること

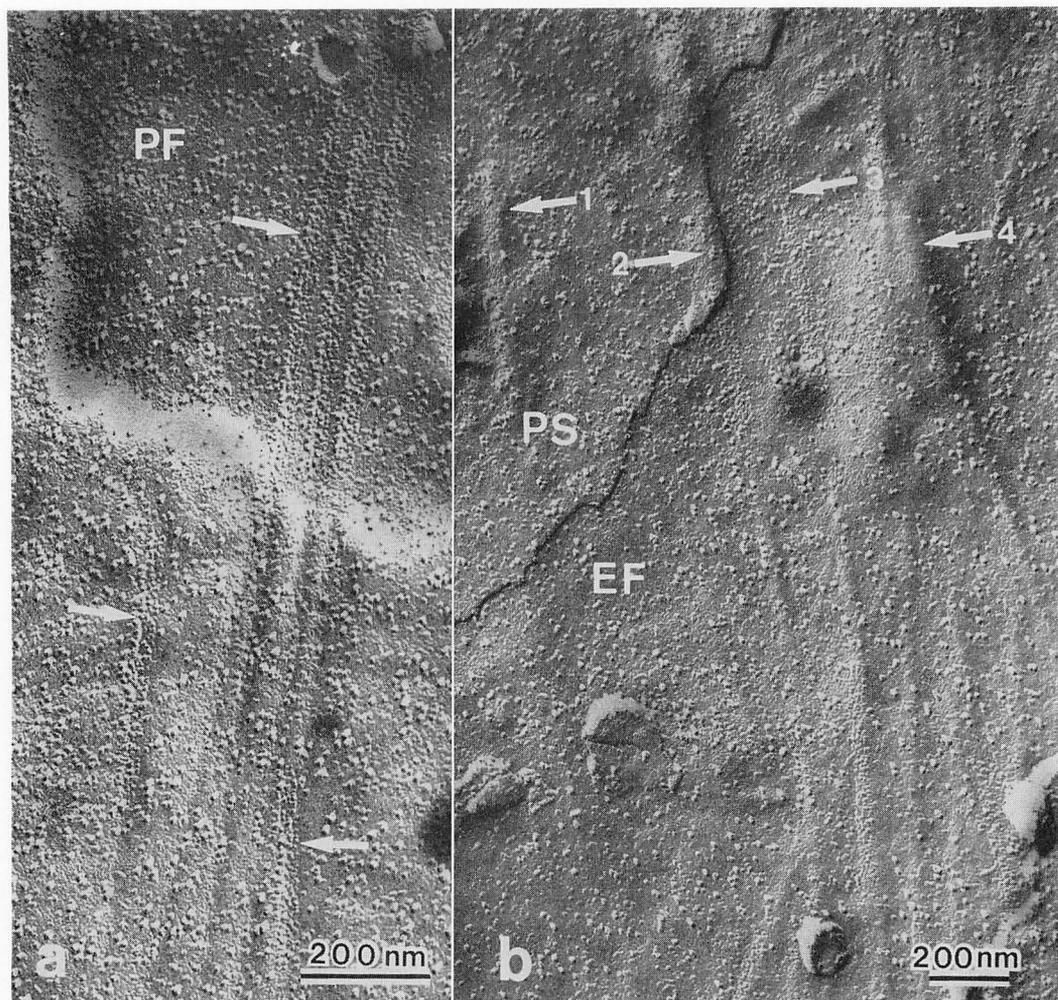


Fig. 6. TCs in the plasma membrane of a regenerated *Boergesenia* cell (MIZUTA 1985c). Cells developed from the *Boergesenia* protoplasm were fractured after 24 hr of culture at 25°C. **a**, PF-face. Arrows, TCs. **b**, PS and EF-faces. Arrows 1, 2 and 4, protruding structure under which a TC is present. Arrow 3, a TC observed on the EF-face.

と、TCの平均構成顆粒数が約100個であることなどである。

これに対し著者らの観察してきたTCの構造に関する特徴をマガタマモ *Boergesenia forbesii* (MIZUTA 1985b, c), アオモグサ *Boodlea coacta* (MIZUTA 1985a) 及びタマジユズモ *Chaetomorpha moniligera* (MIZUTA and OKUDA 1987a) を例に紹介する。マガタマモの原形質膜裂開面にみられるTCの構造をFig. 6に示す。構成顆粒はPF (a), EF (b) 両面に認められる。ところがbの矢印4で示すようにTCは原形質膜の疎水層のみに存在するのではなく、膜の外部半破面部表面、あるいはその外側にも存在すると考えられる。す

なわち、矢印3はEF面上のTCを示すが、このようなTC部に膜の細胞質側の半破面部がかぶさると矢印2や1に示すような突出構造をなす。矢印4のフィブリルの跡形に続いた突出構造はまさにこの部分の中(細胞壁側)にTC顆粒が存在することを意味する。このような原形質膜の表面部に存在すると考えられるTCはマガタマモではしばしば観察される。TCの顆粒はほぼ直線状にならび、三列構造に見えなくもないが、どちらかといえば概ねランダムに見え、その直径は0.5~11 nmに渡って分布し、平均は約5 nmである。しかし、これはシャドウイングの角度、エバポレートした白金の量等によって異なるので、このような

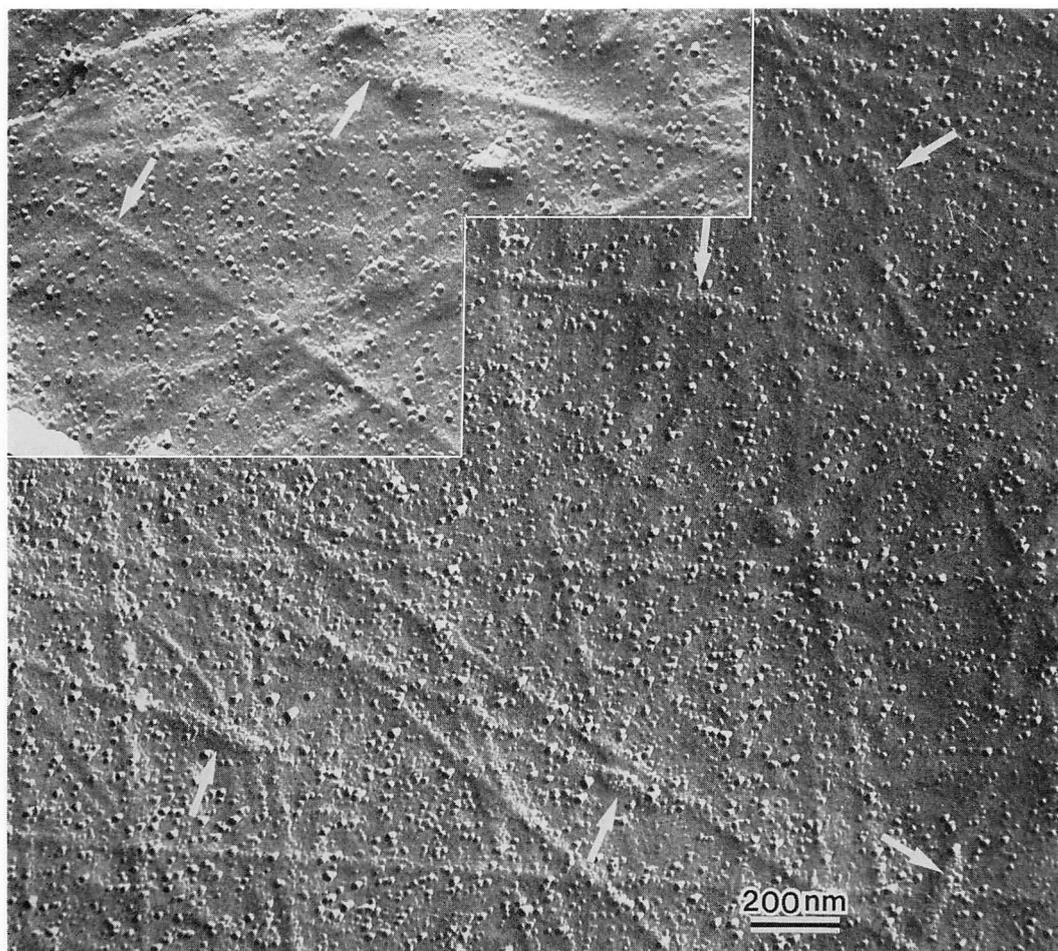


Fig. 7. EF-face of the freeze-fractured plasma membrane of a regenerated *Boodlea* cell showing many TCs (arrows) (Mizuta 1985a). The cell developed from a droplet of *Boodlea* protoplasm was fractured after 3 hr of culture at 25°C.

方法では直径の厳密な比較はできない。TCの長さは150~800 nmに渡って分布し、平均は約400 nmであるが、これも細胞の齢により異なる。特に、不動孢子状体形成の初期にはTCも短いものが多い。

Fig. 7はアオモグサのTC(矢印)を示す。マガタマモのそれと似ているが、顆粒の配列は直線状とはいえない。また、各TCの長さはいうまでもなく幅も異なることがわかる。原形質膜における分布は、主として膜の外表面部であると考えられる。すなわち、顆粒構造がFig. 7のように裂開面に観察されるのは希で、そのほとんどはFig. 6b矢印4に示したような突出構造としてEF面にみられる(関連した内容は後述[Fig. 12]にあり)。

タマジユズモのTC(Fig. 8矢印)もアオモグサの

それと似ている。TCは主としてEF面にみられ、顆粒はランダムに付着しているようにみえる。また個々のTCは長さのみならず幅も異なり(Fig. 9)、TC部の面積とそれに続くフィブリル跡の幅も比例する(Fig. 10)。これらを総合すると、ミドリゲ目のマガタマモ、アオモグサ及びシオグサ目のタマジユズモのTCの構造は非常によく似ており、顆粒は直線状又はランダムに配列し全体は長さのみならず幅も異なる。これらは脂質膜内の疎水層及び膜表面に分布し、その大きさ(規模)により太さの異なるマイクロフィブリルを形成する。

TCによるセルロースの結晶化の過程はフリーゼリカ法では調べることはできない。ただ、TCの構成顆粒数とマイクロフィブリルのコアを構成するブドウ糖

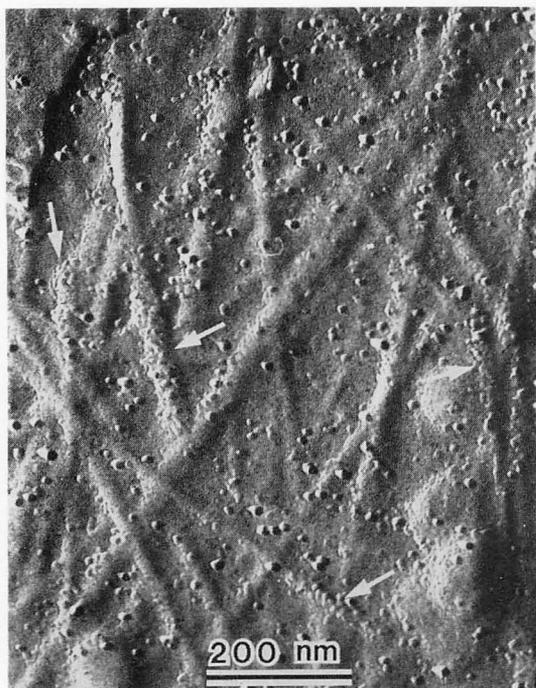


Fig. 8. TCs (arrows) observed on the freeze-fractured plasma membrane of a regenerated *Chaetomorpha* cell (MIZUTA and OKUDA 1987a). The cell developed from a protoplasmic droplet of *Chaetomorpha* was fractured after 3 hr of culture at 25°C.

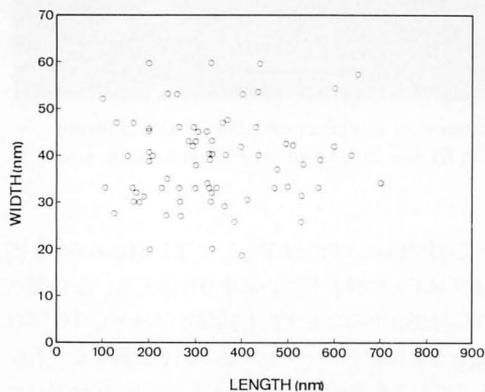


Fig. 9. Relationship between length and width of *Chaetomorpha* TCs observed on the EF-face of a freeze-fractured plasma membrane (MIZUTA and OKUDA 1987a). The new cells were fractured after 10 hr of culture at 25°C and both the length and width of about 80 TCs observed on the EF-face were measured.

鎖との相関から、各顆粒の働き、性質の一部を想定することは可能である。マガタマモの最小規模の TC を構成する顆粒数は40~50個である (MIZUTA 1985c)。

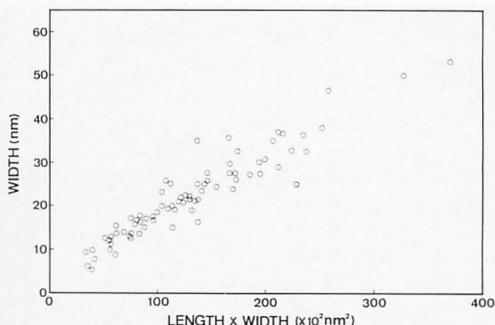


Fig. 10. Relationship between the area (length \times width) of TCs and the width of microfibril impressions attached to the TCs observed on the EF-face of new *Chaetomorpha* cells (MIZUTA and OKUDA 1987a). The cells were fractured after 10 hr of culture at 25°C and the length and width of about 80 TCs as well as the width of microfibril impressions attached to them were measured.

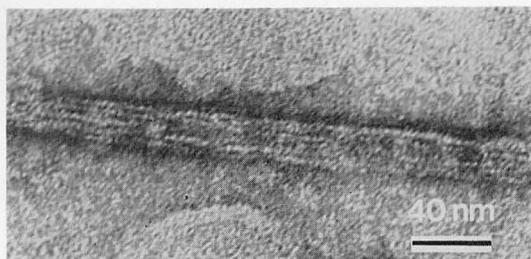


Fig. 11. A *Boergesenia* microfibril consisting of several numbers of elementary fibrils, treated with 4N KOH for 24 hr at 60°C and negatively stained with 4% uranium acetate (MIZUTA 1985c).

この数は、前述の FREY-WYSSLING and MÜHLETHALER (1963) のエレメンタリーフィブリル (3.5 \times 3.5 nm) を構成するブドウ糖鎖の数とはほぼ一致するので、一顆粒が一ブドウ糖鎖を織り出すのではないかとの想像がなされる。マガタマモのマイクロフィブリルを 4N の KOH で約24時間加熱し、これをネガティブ染色するとマイクロフィブリルは幅約3~4 nmの微繊維からなることがわかる (Fig. 11)。このように TC は、ブドウ糖鎖を織り出し結晶化する構造であるが、さらに結晶化の過程を知るためには各顆粒の性質 (セルロースの先駆体、合成酵素等) や、それらの相互作用等を生化学的に調べなくてはならない。前述のタマゴバロニアにおける顆粒の三列配列構造 (ITO and BROWN 1984) はその前に発見されたオオキスティスの TC との構造的類似性を説明するには好都合でも、マイクロフィブリルの結晶化に対しては何ら根拠のある解釈はなされて

いない。これらは今後の問題である。

II TC の形成

TC が原形質膜においてどのようにして形成されるのかは興味ある問題である。前述の、クンショウチリモのロゼット構造はゴルジ体で形成され、ゴルジ小胞の原形質膜との融合により膜中に運ばれる (KIEMAYER und DOBBERSTEIN 1973)。しかしマガタマモ TC 等の顆粒配列構造がゴルジ小胞内に見られたという報告はない。これは膜中あるいは膜上で微小顆粒が集合し、セルロース形成が可能な構造的配列をとるようになるものと考えられる。そうであるとすると、もし TC によるセルロース合成を強制的に停止させれば、TC あるいはその先駆体が膜に蓄積するはずであり、それらの観察により TC の形成過程を明らかにする可能性がでてくる。

セルロース合成阻害剤は古くから数種類知られてい

るが、中でもカルコフルオールホワイト (CW) は有名である。CW は従来、American Cyanamid 社製のもの (CW-ST) がよく使用されて来たが、現在は製造中止となり、代りに日本の同仁化学社が“CW-I あるいはフルオスチン I~III”の名称で製造している。CW は β 結合する六員環多糖に対し強い親和性をもち (MAEDA and ISHIDA 1967), オオキスティスのセルロース合成を阻害する (QUADER *et al.* 1983)。Fig. 12 はアオモグサ不動胞子状体の原形質膜における TC の構造変化に対する CW の影響を示す。Fig. 12a はプロトプラストを 25°C で 3 時間培養した原形質膜の EF 面を示す。前述の如く TC は原形質膜の外部に存在し、その跡形が楕円の突出構造としてみられる (大矢印)。膜面にはこの外、マイクロフィブリルの跡形の付着していない直径 30~120 nm の円形の突出構造も観察される (小矢印)。これに CW (0.1%) を 2 時間処理すると、膜面には TC はみられず、蓄積された円形突出構造のみ膜面いっぱいに広がって観察される (Fig. 12b)。次に

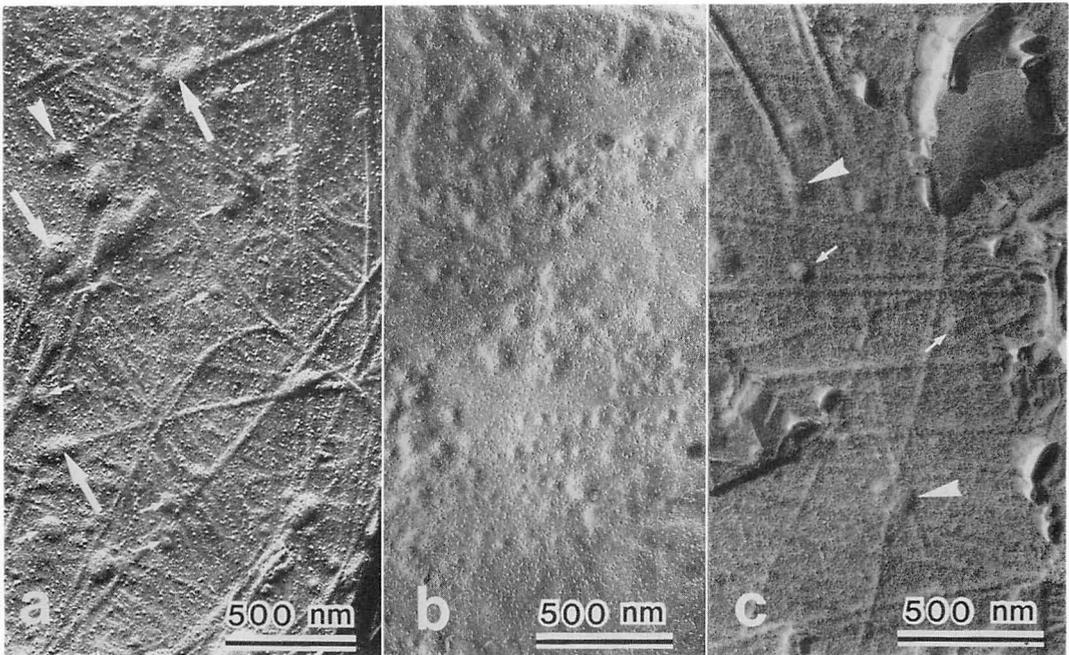


Fig. 12. Effects of Calcofluor White (CW) on protruding round structures (PRSs, small arrows) and TCs (large arrows or arrowheads) during the early stage of cell wall formation of the regenerated new cells of *Boodlea* (MIZUTA 1985a). **a**, EF-face of the plasma membrane before CW treatment. The cell was fractured after 3 hr of culture at 25°C. **b**, EF-face of the plasma membrane showing accumulation of PRSs following CW treatment. The cell was cultured for 3 hr and fractured after treatment of CW (0.1 mg/ml) for 2 hr at 25°C. **c**, EF-face of the plasma membrane showing recovery from CW effects. The cells were cultured for 3 hr, treated with CW for 2 hr and fractured after 6 hr of culture in CW-free medium at 25°C.

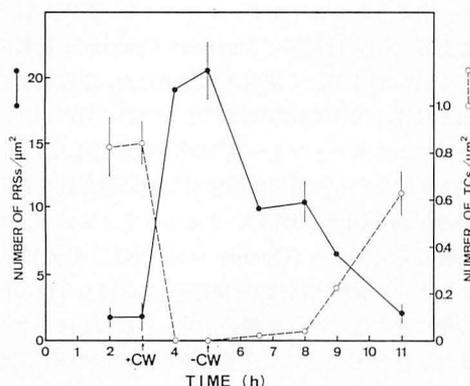


Fig. 13. Changes in the number of PRSs and TCs during the early stage of wall formation of the new *Boodlea* cells in the presence and absence of CW (MIZUTA 1985a). Cells were cultured in the medium (MIZUTA and WADA 1981) for 3 hr at 25°C then transferred to the medium containing CW (+CW) for 2 hr and transferred again to the CW-free medium (-CW) for 1 to 6 hr. At intervals cells were sampled, fractured and both PRSs and TCs were counted in the total EF-face area of 100 μm². Vertical bar, SD.

これを CW を除いた培養液で数回洗浄し 25°C で培養を続けると、約 6 時間後には再び TC が現われてくる (Fig. 12c) この時、最初に出現する TC は小さく円形で (矢印)、前述の最大規模 (直径約 100 nm) の円形突出構造 (小矢印) とほぼ同じ大きさである。これをまとめて Fig. 13 に示す。円形突出構造の中には、TC を構成する顆粒と同じ大きさの顆粒が入っており、顆粒の集まりが直径 100 nm 程度に達すると TC の機能をもつようになる。そして CW により円形突出構造が膜に蓄積するのは CW が TC 機能の発現を阻害するためであろうと考えられる。TC は円形突出構造を吸収し徐々に長くなり、壁形成の初期のランダムに配向するフィブリルの形成の時期 (プロトプラストの培養後 3 時間) では平均長が 220 nm であるのに対し、24 時間培養後の一定方向に配向するフィブリル形成の時期には平均長は 360 nm となり、1 μm を越すものも観察される。マイクロフィブリルの太さも TC の長さに相関し、培養 3 時間では平均 16 nm、24 時間では 30 nm である (MIZUTA 1985 a)。

以上の如く TC は原形質膜表面において集合した顆粒群が一定の大きさに達したときその機能をもつようになり、次にこれが他の顆粒群を吸収して長く伸び、マイクロフィブリルの太さはその長さの程度により決まるものと考えられる。原形質膜上に散在する多くの顆

粒の中でマイクロフィブリルの形成という目的のみをもつ顆粒がどのようにして集まるのか、この問題は現時点では全く不明である。

III ミクロフィブリルの配向調節

前報の I (水田 1987) ですでに紹介したとおり藻類におけるセルロース性細胞壁の規則的な配向変換の制御の機構は、魅力的ながらまだ未解決の難問である。細胞壁におけるマイクロフィブリルの配向は細胞成長の結果として観察される可能性も考えられるが、マガタマモやアオモグサの葉状体におけるフィブリル配向は細胞成長の影響を何ら受けない (MIZUTA and WADA 1981, MIZUTA and MIKI 1985)。また、成長開始前のマガタマモ不動孢子状体の壁構造も葉状体のそれと全く同様である (MIZUTA *et al.* 1985)。このことは、これらの配向決定はその形成時点において原形質膜上で行なわれていることを意味する。

前報でも触れたが、原形質膜上におけるマイクロフィブリルの配向方向の決定は細胞壁微小管の配向とマイクロフィブリルの配向が平行関係にあること、コルヒチン等の微小管合成阻害剤で微小管を除くとマイクロフィブリルの配向が乱れることなどから、微小管が能動的に関係している可能性が指摘され、数多くの植物において認められてきている (NEWCOMB 1969, HEPLER and PALEVITZ 1974, GUNNING and HARDHAM 1982)。

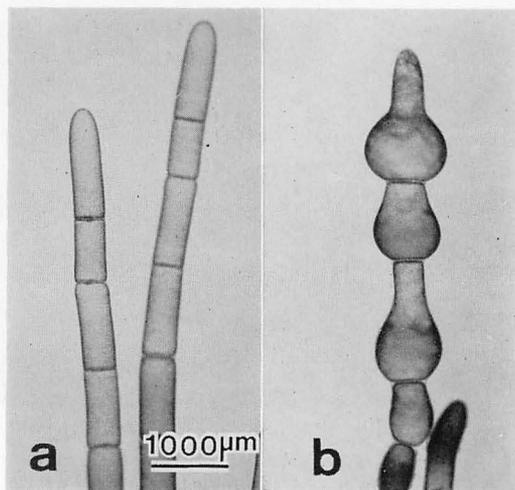


Fig. 14. Effects of colchicine on shell-shape modification of the *Chaetomorpha* thallus. **a**, apical area of *Chaetomorpha* thallus showing both tip and internode growth. **b**, colchicine (3×10^{-3} M) treated thallus cells showing expansion growth.

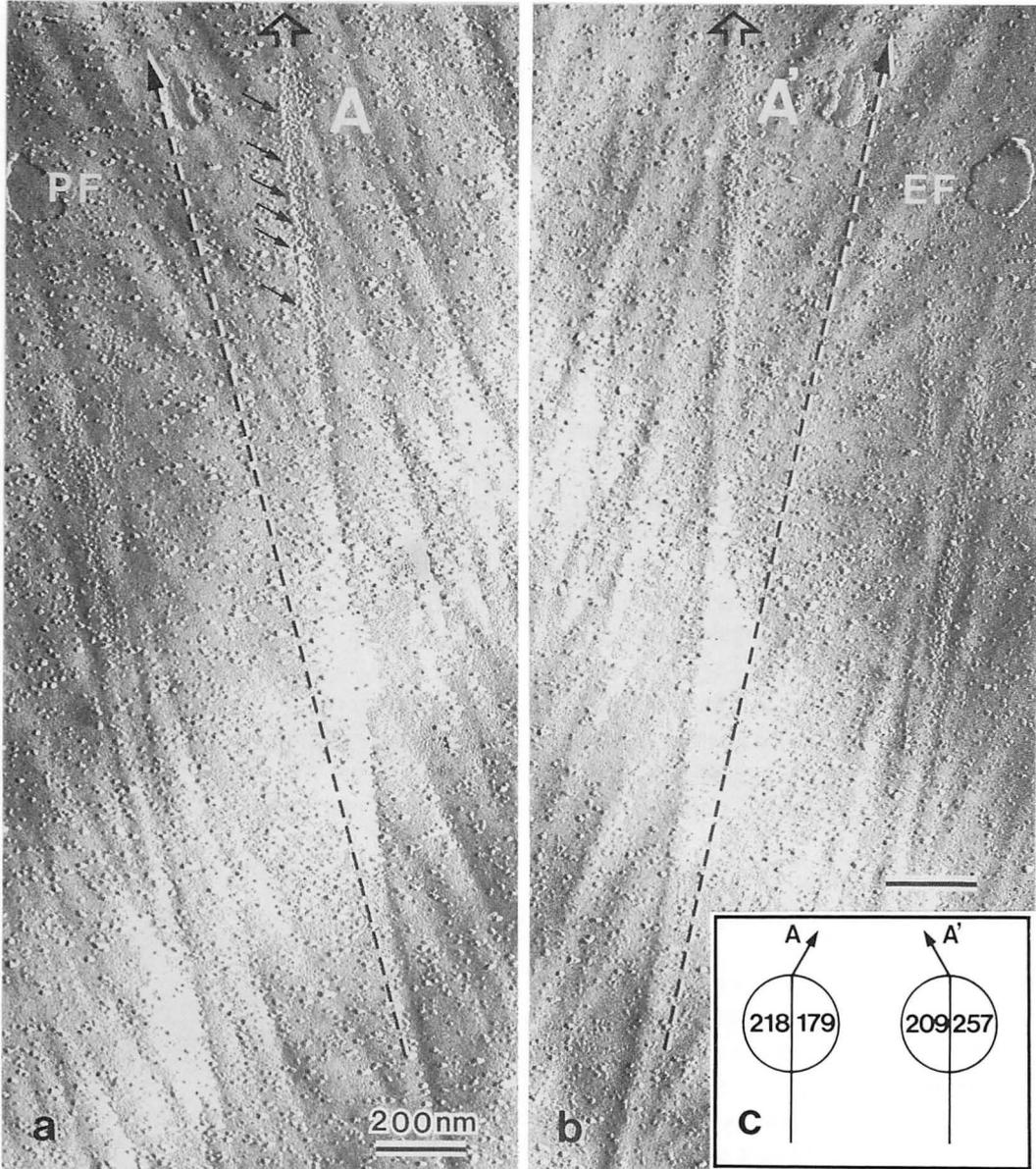


Fig. 15. Orientation changes of TC on the PF-face and its complementary EF-face of the plasma membrane of *Boergesenia*, and the unequal particle distribution on the two sides of TC (MIZUTA 1985b). The regenerated new cell was fractured after 24 hr of culture at 25°C and shadowed with Pt. **a** and **b**, A and A' are the complementary halves of TC changing their orientation from the direction indicated by arrows with dashed lines toward that indicated by larger open arrows. The short arrows show the intramembranous particles (IMPS) adhered to the ridge of TC. **c**, The numbers indicate the particle density obtained by counting the particles distributed in the half-circles, the diameter of which are equal to the length of TC. Arrows outside the circles show the typical modified directions of the movement of the TC.

LLOYD (1984) はら旋配向をするフィブリルパターンにおいてもこの関係はみられると指摘し、植物細胞壁にみられるフィブリル配向はすべて細胞壁微小管の制御下にあると考えられつつある。しかし、NEVILLE *et al.* (1976) は細胞成長によらないフィブリルパターンの形成を次の二つに区別しそれぞれの形成と微小管の関与を考えている。すなわち(1)数層の比較的少ないフィブリル配向方向からなる壁の形成；(2)多くの層が細かく一定方向に配向変換する壁（ヘリコイド）の形成。このうち、(1)は微小管が関与するにしても、(2)は無関係であると報じている (NEVILLE *et al.* 1976, NEVILLE and LEVY 1984, 1985)。上記の区分に従うと、今回対照としている海藻のうちマガタマモ型細胞壁は(2)に属し、アオモグサ型細胞壁は(1)に該当すると考えられる。しかし、(1)、(2)に限らずこれらのフィブリルパターンはコルヒチンの影響を受けない (MIZUTA and WADA 1982, OKUDA and MIZUTA 1985, MIZUTA *et al.* 1986)。アオモグサやタマジユズモの壁直下の細胞質には細胞長軸方向に配向する微小管が観察され、マイクロフィブリルが細胞短軸や斜めの旋配向を示す場合でも常に変化せず一定である (MIZUTA and OKUDA 1987b, OKUDA and MIZUTA 1987)。高等植物において HARDHAM *et al.* (1980) の、細胞壁微小管は次にマイクロフィブリルが配向を予定する方向にあらかじめ配列するなどの指摘もこの場合は全く当てはまらない。

マイクロフィブリルの配向、特に新しく形成されたフィブリル壁は細胞の形を規制することもよく知られている。これは一定の方向性をもって成長する細胞における微小管をコルヒチンで破壊すると、新しく合成されるフィブリルはランダムに配向し、細胞は成長の方向性を失い球形化する (NEWCOMB 1969, HEPLER and PALEVITZ 1974, 柴岡1981) ことから想像される。ところがタマジユズモ (OKUDA and MIZUTA 1987) では、これでは説明できない現象が起こる。タマジユズモは最初先端成長し、分裂後、節間細胞が伸長した後ある時期を過ぎると成長パターンを変換し、拡大型となりユズモを形成する。伸長中も拡大後も細胞壁はフィブリル配向変換を伴う形成を続けるが、その配向を比較すると両者の相違はみられない。この事実は細胞の形の変化と新しく形成されるフィブリルの配向は無関係であることを示す。次に、伸長中の細胞に前述の CW (0.01%) を処理すると、各細胞は球形化し急速にユズモ状となる。また、コルヒチン (2×10^{-3} M) を与えても同様に細胞は球形化する (Fig. 14)。前者

の場合、CW はマイクロフィブリルの合成を阻害するので伸長部分の細胞壁の内面表層部分にはマイクロフィブリルはほとんどみられないが、CW 処理前にすでに存在していた厚い細胞壁は残ったままである。コルヒチン処理においてはマイクロフィブリルの合成は維持され、しかもその配向方向は未処理と同じである。これらから、細胞の形が細胞壁微小管の配向に依存するマイクロフィブリルの配向に支配されるという前述の説では、タマジユズモ細胞の形態変化は説明されない。タマジユズモの球形化は細胞壁のフィブリル間マトリックスの軟化による壁強度の低下によるものと考えられ、CW やコルヒチンはその軟化を促進するものと考えられる。

マガタマモやアオモグサにおけるマイクロフィブリルの配向制御の機構は現在のところほとんど不明である。ただ最近、次のような可能性が考えられてきた。Fig. 15 a, b はマガタマモ不動孢子状体の原形質膜裂開面の相補レプリカである。両膜裂開面に TC (A, A') がみられるが、これは元の移動方向（点線付矢印）から大矢印の方向へ方向変換をしながら移動し、マイクロフィブリルを形成しているものと考えられる。TC の周囲を詳しくみると、湾曲 TC の背側に多くの顆粒が付着しているのがわかる (a, 小矢印)。このような顆粒は、通常 TC を構成する顆粒よりも大きく、時折 TC の内部にも観察される (MIZUTA 1985 b)。

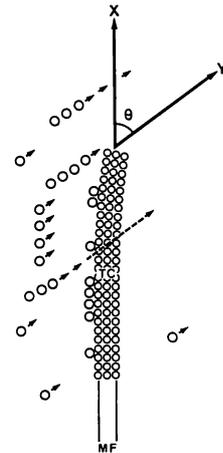


Fig. 16. A model showing the modification of the direction of the TC movement (MIZUTA 1985b). Arrow X, original direction of the TC movement. Arrow Y, direction of flow of the plasma membrane. Small arrows, movement direction of the particles which flow with the plasma membrane. TC, terminal complex. MF, microfibril.

また、TC 部にその長さを直径とした円を描き、両半円内に分布する TC を構成する以外の膜顆粒を数えらるとこれらは常に背側に多く分布する (Fig. 15 c)。この不均等分布をする顆粒の直径は膜面の他の位置にみられる顆粒とはほぼ同じことから、特定の顆粒が移動して集まったとは考えにくい。以上から、この不均等分布は原形質膜の移動により運ばれてきた顆粒が TC により塞ぎ止められたため生じたものと想像される。SINGER and NICOLSON (1972) によると原形質膜を構成するリン脂質は自由に移動可能で、また、セルロースを形成する TC は膜に浮いた状態で存在していると考えられるので、その移動方向は膜の流動により左右されて当然であろうと考えられる。Fig. 16 は以上をモデル化したものである。TC はマイクロフィブリル(MF)を形成しながら X 方向に移動する。しかしその方向は原形質膜の流動性の方向 (Y ベクトル) との合力方向 (θ 内) に修正される。

ミドリゲ目やシオグサ目緑藻におけるマイクロフィブリルの配向変換、TC の移動方向の決定機構の問題は現在その解明のほんの糸口がつかめてきたといえる。規則的に細かく TC の移動方向を変換させる原形質膜の流動性の方向性は一体何により支配されているのか、この問題の解決がこれらの藻類のマイクロフィブリルの配向変換機構を解く鍵になると思われる。

終りに、本稿の作成に当たり暖かいご援助を賜った神戸大学臨海実験所の榎本幸人氏に、又惜しまず協力してくれた当研究室の奥田一雄氏に感謝の意を表す。

引用文献

- BARNETT, J.R. and PRESTON, R.D. 1970. Arrays of granules associated with the plasmalemma in swarms of *Cladophora*. *Ann. Bot.* **34**: 1011-1017.
- BROWN, R.M. 1985. Cellulose microfibril assembly and orientation: Recent developments. *J. Cell Sci. Suppl.* **2**: 13-32.
- BROWN, R.M. and MONTEZINOS, D. 1976. Cellulose microfibrils: visualization of biosynthetic and orienting complexes in association with the plasma membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **73**: 143-147.
- FREY-WYSSLING, A. and MÜHLETHALER, K. 1963. Die Elementarfibrillen der Cellulose. *Makromol. Chemie* **62**: 25-30.
- GIDDINGS, T.H., BROWER, D.L. and STAEHELIN, L.A. 1980. Visualization of particle complexes in the plasma membrane of *Micrasterias denticulata* associated with the formation of cellulose fibrils in the primary and secondary cell walls. *J. Cell Biol.* **84**: 327-339.
- GUNNING, B.E.S. and HARDHAM, A.R. 1982. Microtubules. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**: 651-698.
- HARDHAM, A.R., GREEN, P.B. and LANG, J.M. 1980. Reorganization of cortical microtubules and cellulose deposition during leaf formation in *Graptopetalum paraguayense*. *Planta* **149**: 181-185.
- HEPLER, P.K. and PALEVITZ, B.A. 1974. Microtubules and microfilaments. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 309-362.
- HERMANS, P.H. 1949. Physics and chemistry of cellulose fibrils. Elsevier, Amsterdam-London-Brussels-New York.
- HOTCHKISS, A.T., ROBERTS, E.M., ITOH, T. and BROWN, R.M. 1983. Microfibril assembly among selected algae of the *Zygnematales*. *J. Cell Biol.* **97**: 415a.
- ITOH, T. and BROWN, R.M. 1984. The assembly of cellulose microfibrils in *Valonia macrophyssa* Kütz. *Planta* **160**: 372-381.
- ITOH, T., O'NEIL, R. and BROWN, R.M. 1984. Interference of cell wall regeneration of *Boergeresenia forbesii* protoplasts by Tinopal LPW, a fluorescent agent. *Protoplasma* **123**: 174-183.
- KIERMAYER, O. und DOBBERSTEIN, B. 1973. Membrankomplexe dictyosomaler Herkunft als "Matrizen" für die extraplasmatische Synthese und Orientierung von Mikrofibrillen. *Protoplasma* **77**: 437-451.
- KIERMAYER, O. and SLEYTR, U.B. 1979. Hexagonally ordered "rosettes" of particles in the plasma membrane of *Micrasterias denticulata* Bréb. and their significance for microfibril formation and orientation. *Protoplasma* **101**: 133-138.
- LLOYD, C.W. 1984. Toward a dynamic helical model for the influence of microtubules on wall patterns in plants. *Int. Rev. Cytol.* **86**: 1-51.
- MAEDA, H. and ISHIDA, M. 1967. Specificity of binding of hexopyranosyl polysaccharides with fluorescent brightener. *J. Biochem.* **62**: 276-278.
- MARCHESSAULT, R.H. and SARKO, A. 1967. X-ray structure of polysaccharides. *Advan. Carbohydrate Chem.* **22**: 421-482.
- 水田 俊1987. 藻類におけるセルロース性細胞壁。I. 構造と形成。藻類 **35**: 45-59.

- MIZUTA, S. 1985a. Assembly of cellulose synthesizing complexes on the plasma membrane of *Boodlea coacta*. *Plant Cell Physiol.* **26**: 1443-1453.
- MIZUTA, S. 1985b. Evidence for the regulation of the shift in cellulose microfibril orientation in freeze-fractured plasma membrane of *Boergesenia forbesii*. *Plant Cell Physiol.* **26**: 53-62.
- MIZUTA, S. 1985c. Structure of cellulose synthesizing complexes and cellulose deposition on the plasma membrane in *Boergesenia forbesii*. *Mem. Fac. Sci. Kochi Univ. (Ser. D)* **6**: 19-31.
- MIZUTA, S. and OKUDA, K. 1987a. A comparative study of cellulose synthesizing complexes in certain cladophoralean and siphonocladalean algae. *Bot. Mar.* **30**: (in press).
- MIZUTA, S. and OKUDA, K. 1987b. *Boodlea* cell wall microfibril orientation unrelated to cortical microtubule arrangement. *Bot. Gaz.* **148**: (in press).
- MIZUTA, S. and MIKI, F. 1985. Polar-dependent polylamellation and microfibril shift in the growing cell wall of *Boodlea coacta*. *Mem. Fac. Sci. Kochi Univ. (Ser. D)* **6**: 33-44.
- MIZUTA, S. and WADA, S. 1981. Microfibrillar structure of growing cell wall in a coenocytic green alga, *Boergesenia forbesii*. *Bot. Mag. Tokyo* **94**: 343-353.
- MIZUTA, S. and WADA, S. 1982. Effects of light and inhibitors on polylamellation and shift of microfibril orientation in *Boergesenia* cell wall. *Plant Cell Physiol.* **23**: 257-264.
- MIZUTA, S., HAGINO, Y. and OKUDA, K. 1986. A study on the growth and development of protoplasts from a coenocytic green alga, *Chaetomorpha moniligera*. *Mem. Fac. Sci. Kochi Univ. (Ser. D)* **7**: 51-62.
- MIZUTA, S., SAWADA, K. and OKUDA, K. 1985. Cell wall regeneration of new spherical cells developed from the protoplasm of a coenocytic green alga, *Boergesenia forbesii*. *Jap. J. Phycol.* **33**: 32-44.
- MUELLER, S.C. and BROWN, R.M. 1980. Evidence for an intramembrane component associated with a cellulose microfibril-synthesizing complex in higher plants. *J. Cell Biol.* **84**: 315-326.
- MÜHLETHALER, K. 1967. Ultrastructure and formation of plant cell walls. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **18**: 1-24.
- NEVILLE, A.C. and LEVY, S. 1985. The helicoidal concept in plant cell wall ultrastructure and morphogenesis. p. 99-124. *In* C.T. BRETT and J.R. HILLMAN [ed.] *Biochemistry of plant cell walls*. Cambridge University Press, Cambridge.
- NEVILLE, A.C. and LEVY, S. 1984. Helicoidal orientation of cellulose microfibrils in *Nitella opaca* internode cells: ultrastructure and computed theoretical effects of strain reorientation during wall growth. *Planta* **162**: 370-384.
- NEVILLE, A.C., GUBB, D.C. and CRAWFORD, P.M. 1976. A new model for cellulose architecture in some plant cell walls. *Protoplasma* **90**: 307-317.
- NEWCOMB, E.H. 1969. Plant microtubules. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **20**: 253-288.
- NORTHCOTE, D.H. 1968. The organization of the endoplasmic reticulum, the Golgi bodies and microtubules during cell division and subsequent growth. p. 179-197. *In* J.B. PRIDHAM [ed.] *Plant cell organelles*. Academic Press, London.
- ÓBRIEN, T.P. 1972. The cytology of cell wall formation in some eukaryotic cells. *Bot. Rev.* **38**: 87-118.
- OKUDA, K. and MIZUTA, S. 1987. Modification in cell shape unrelated to cellulose microfibril orientation in growing thallus cells of *Chaetomorpha moniligera*. *Plant Cell Physiol.* **28**: 461-473.
- OKUDA, K. and MIZUTA, S. 1985. Analysis of cellulose microfibril arrangement patterns in the cell wall of new spherical cells developed from *Boodlea coacta* (Chlorophyceae). *Jap. J. Phycol.* **33**: 301-311.
- PRESTON, D.G. 1964. Structural and mechanical aspects of plant cell walls with particular reference to synthesis and growth. p. 169-188. *In* M.H. ZIMMERMANN [ed.] *Formation of wood in forest trees*. Academic Press, London.
- PRESTON, D.G. 1974. *The physical biology of plant cell walls*. Chapman and Hall, London.
- QUADER, H., ROBINSON, D.G. and KEMPEN, R. 1983. Cell wall development in *Oocystis solitaria* in the presence of polysaccharide binding dyes. *Planta* **157**: 317-323.
- ROBENEK, H. and PEVELING, E. 1977. Ultrastructure of the cell wall regeneration of isolated protoplasts of *Skimia japonica* Thunb. *Planta* **136**: 135-145.
- ROBINSON, D.G. and PRESTON, R.D. 1971. Fine structure of swarms of *Cladophora* and *Chaetomorpha* I. The plasmalemma and Golgi apparatus in naked swarms. *J. Cell Sci.* **9**: 581-601.
- ROLAND, J.C. 1973. The relationship between the plasmalemma and plant cell wall. *Int.*

Rev. Cytol. **36**: 45-92.

柴岡弘郎 1981. 細胞成長と微小管 p. 240-259. 古谷雅樹編, 植物生理学7「成長」。朝倉書店, 東京.

SINGER, S.J. and NICOLSON, G.L. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membrane. *Science* **175**: 720-731.

STAEHELIN, L.A., 1966. Die Ultrastruktur der

Zellwand und des Chloroplasten von *Chlorella*. *Z. Zellforsch* **74**: 325-350.

WADA, M. and STAEHELIN, L.A. 1981. Freeze-fracture observations on the plasma membrane, the cell wall and the cuticle of growing protonemata of *Adiantum capillus-veneris* L. *Planta* **151**: 462-468.

- 賛助会員
- 北海道栽培漁業振興公社 060 札幌市中央北区4西6 毎日札幌会館内
- 阿寒観光汽船株式会社 085-04 北海道阿寒郡阿寒町字阿寒湖畔
有限会社 シロク商会 260 千葉市春日1-12-9-103
- 海藻資源開発株式会社 160 東京都新宿区新宿1-29-8 財団法人公衆衛生ビル内
協和醗酵工業株式会社研究開発本部商品開発部センター
100 東京都千代田区大手町1-6-1 大手町ビル
- 全国海苔貝類漁業協同組合連合会 108 東京都港区高輪2-16-5
- K. K. 白壽保健科学研究所・原 昭邦 173 東京都板橋区大山東町32-17
有限会社 浜野顕微鏡 113 東京都文京区本郷5-25-18
- 株式会社ヤクルト本社研究所 189 東京都国立市谷保1769
- 山本海苔研究所 143 東京都大田区大森東5-2-12
- 弘学出版株式会社 森田悦郎 214 川崎市多摩区生田8580-61
- 田崎真珠株式会社田崎海洋生物研究所 779-23 徳島県海部群日和佐町外ノ牟井
神協産業株式会社 742-15 山口県熊毛群田布施町波野962-1
- 理研食品株式会社 985 宮城県多賀城市宮内2丁目5番60号