

藻類の石灰化開始部位と石灰化機構について

岡崎 恵 視*

藻類の石灰化機構を解明するためには、少なくとも、(1)石灰化開始部位へどのようにして Ca^{2+} や CO_3^{2-} が供給され濃縮されるか、(2) CaCO_3 の結晶形成を誘導し、藻の種に応じてその結晶型(アラレ石か方解石)を厳密に規定する仕組みなどの諸点を明らかにしなければならない。これは単に石灰藻の石灰化機構に限らず、動物を含めた生物界の石灰化機構を解明する上でも重要な問題である。

このうち、(1)の問題に関しては、石灰化開始部位の形態や微細構造の観察などから、その解明の糸ぐちをつかもうとする試みが、なされている。著者らもそのような観察に加えて、 Ca^{2+} の能動輸送系を検討してきた。また、(2)については最近、上述のような能力をもつ物質が石灰化部位や開始部位に見い出されて注目を浴びている。軟体動物の貝殻中のCa結合のタンパク質(Crenshaw, 1977)や、単細胞石灰藻である円石藻の CaCO_3 中のCa結合酸性多糖(De Jong et al., 1976)が、それである。更にまた骨組織(Boskey & Posner, 1977)や、リン酸カルシウムを沈着する細菌(Takazoe et al., 1970)では、Ca結合酸性リン脂質がヒドロキシアパタイト結晶の誘導と生長にエピタキシー的な核として重要な役割を演ずることが、証明された。

また、すべての脊椎動物の間葉性の石灰化部位においては、ヒドロキシアパタイトの結晶が、まず基質小胞(matrix vesicle)という特殊な小胞中に出現することが知られ(小沢, 1975; 中原, 1975)、貝殻中(軟体動物)(Bevelander & Nakahara, 1969)や石灰緑藻サボテングサ(Nakahara & Bevelander, 1978)では、 CaCO_3 結晶が特定の形をしたenvelopeに囲まれて生長することが報告されているので、基質小胞や上述のenvelopeを構成している物質がCa結合物質である可能性も強い。

このように生物の石灰化機構に関していくつかの側面から研究が進められているが、著者はこの論文では石灰藻の石灰化開始部位の形態及び微細構造について議論したい。なぜならば、そのような形態学的知見から上記(1)~(2)の諸点を明らかにするための重要な手掛りが得られるし、また藻類の石灰化機構、さらには動物も含めた生物の石灰化機構に、生物の類縁関係や組織の違いをのり越えた共通した機構が存在するかと、いった興味ある問題に関しても、何らかの解答を得ることができるからである。

藻類の石灰化開始部位の微細構造は、電子顕微鏡の発達とあいまって最近注目されており、ある程度共通した見解が得られつつある。それはどのような石灰藻においても、石灰化の開始は外部海水とは直接連絡をもたない特殊な空間で起こることである。これは石灰藻が種々の植物門(藍藻・黄色藻・紅藻・緑藻・褐藻など)に広く分布して、その形態が互いに著しく異なることを思いおこせば大変重要な知見と言わざるを得ない。それでは次に、海産石灰藻の石灰化開始部位の形態や微細構造について説明し考察したい。

(1) 円石藻のココリス形成(図A)

円石藻は単細胞石灰藻で、薄い細胞壁の外側にココリス(Coccolith)と呼ばれる CaCO_3 から成る殻をつける。ココリスの周囲は有機物で被われ、その中に方解石の CaCO_3 結晶が存在する。結晶の内部には、Caを特異的に結合する酸性多糖が含まれていることが知られている(Westbrock et al., 1973; De Jong et al., 1976)。ココリスは細胞壁の外側にあるので、一見その部位で石灰化が進行したかのように見えるが、実際は石灰化は細胞質内で起こる(Outka & Williams, 1971; その他多数)。すなわち、細胞内のゴルジ体由来の小胞中で有機物質からなる殻がまず作られ、これにココリトゾームと呼ばれる小顆粒の付着後、

* 東京学芸大学生物学教室

CaCO₃ が沈着してココリスが完成され、Outcytosisにより細胞外へ放出される。このように、細胞内の一つの特徴的な小胞という閉鎖空間で石灰化が進行するという特徴があり、他の石灰藻に例を見ない。

(2) 石灰紅藻について (図B・C)

著者は、ガラガラ (ガラガラ科) について検討した (未発表)。その結果、図Bに示すように、藻体先端部の最も若い部位で、石灰化が開始されることが明らかになった。CaCO₃結晶はこの部分の良く発達した細胞間隙 (ICS) の有機基質の上にも出現し、細胞の成熟に伴いその細胞間隙を完全にうめ尽し、最終的には細胞壁にも進入していく。しかし、細胞質内には決して結晶は観察できなかった。結晶はアラレ石で小顆粒状を呈するが、結晶の周囲はenvelope的なものが存在するか否かは不明である。特に注意することは、石灰化の開始されるICSは、外部海水とは直接連絡のない特殊な空間である点である。藻体の周辺部は一層の表皮細胞によって被われ、この表皮細胞よりも内部にみられる。ICSで石灰化が起こる訳で、藻体表面で決して起きない。

サンゴモ科 (Corallinaceae) に属する藻はすべて石灰化し、最も典型的な石灰藻である (Bailey & Bisalputra, 1970; Miyata et al., 印刷中)。石灰化の開始は、藻体先端 (第1節間部の先端) の最も若い部位で行われる。この部位の分裂細胞付近に分布する若い幾分進んだ細胞のICSにまず大小の小胞が集まり、これらの小胞が消えるに伴って棒状の方解石の結晶が出現してくる。この結晶は、Pb-Uの2重染色によっても一部が脱灰されずに残ることや、脱灰されたものの周辺にはenvelope状の構造が見られることから、形成当初の結晶は何らかの有機物で被われている可能性が高い。石灰化は細胞の若いと共に進み、ICSは結局CaCO₃の顆粒状の結晶によってうめられ、最終的には細胞壁そのものも完全に石灰化するが、細胞質内には結晶は生じない。結晶の出現に先き立ってICSに現われる小胞が、骨組織などにみられる“基質小胞”と同じような働きをするかどうかは不明である。しかし、ここにとりあげた2種の石灰紅藻は、いずれもICSで石灰化開始されることは明らかで、このことはこの部位へCa²⁺やCO₃²⁻の積極的な輸送が行われてい

る可能性を示唆する。著者 (Okazaki, 1977) は、サンゴモ科の石灰藻の多くにCa-依存性ATPaseの強い活性が見られることを報告したが、あるいはこの酵素がCa²⁺の能動輸送に関与していることも考えられる。また、ガラガラとオオシコロの石灰化開始部位には明らかに有機物質が存在するが、この部位におけるCa結合物質などの存在については不明である。

(3) 石灰緑藻について (図D)

円石藻以外の石灰藻で、その石灰化開始部位の形態学的観察が最も詳細に行われているのは、イワスタ科のサボテングサ属 (*Halimeda*) のものである。サボテングサの石灰化は、第1節間部の最も若い部分で進行する。この藻は図Dに示すように、藻体内部でありながら細胞外にあたる非常に良く発達したICSを有するのが特徴である。つまり、藻体は管状系の集合から構成され、この管状系は背腹面でふくらみ胞嚢を形成し互に融合し合うので、藻体内部に外部海水とは直接連絡のない特殊な空間 (ICS) が形成される訳である。このICSに面する管状系の表面 (細胞壁表面) は毛状の繊維で被われ、ここで最初の結晶が形成されることがわかっている (Wilbur et al., 1969; Borowitzka & Larkum, 1977)。最終的には、ICSはすべて針状のアラレ石の結晶で占められるが、細胞壁や細胞質内には結晶は観察できない。しかし、サボテングサ属と近縁のハゴロモ属や*Penicillus*属のものでは、ICS以外に藻体の柄の部分では細胞壁中にも粒状のCaCO₃結晶が沈着することが報告された (Böhm et al., 1978)。この場合細胞壁が著者の主張する一つの隔離された空間と言えるかが問題であるが、*Penicillus*の場合には、細胞壁に多数の小孔がありこの孔を通して、細胞質は海水と接すると思われるので、やはり厚い細胞壁の内部はある程度特殊な空間に相当すると考えられる。

また、石灰緑藻のCaCO₃結晶が有機物質で被われているかという点に関しては、前述のWilburら (1969) やBorowitzkaら (1977) はその存在を否定しているが、最近中原ら (Nakahara & Bevelander, 1978) はミツデサボテングサの石灰化開始部位にenvelope状のものを発見している。Borowitzkaは、これは結晶への二次的な有機物の吸着であると主張しているが (私信)、その2

重膜構造からみて著者はそうではないように思う。また、Böhm (1973) はサボテングサから Ca 結合多糖を抽出することに成功している。

(4) 石灰褐藻について (図 5)

褐藻で石灰化が起こるのは、ウミウチワ属 (*Padina*) のものだけである。扁平な藻体表面にアラレ石の針状結晶が観察される (Borowitzka et al., 1974; 宮田ら, 1977)。閉鎖 (半閉鎖) 空間での石灰化という観点からすると、一見例外的に見えるので、著者らはこの点をオキナウチワについて詳細に検討した (未発表)。その結果、この仲間ものは縁辺生長するので、最周縁部に分裂細胞を有し、この部分を腹面 (上面) に向かって巻き込んで半閉鎖空間を形成していること、石灰化の開始はこの半閉鎖空間で起こり、細胞が分裂し伸長生長するにつれて石灰化部位が表面に押し出されていくことが明らかになった。また、石灰化開始部位の結晶は、緑藻のミツデサボテングサで中原らが発見したような envelope で被われているらしいこともわかった。

以上、黄色藻の円石藻・紅藻・緑藻及び褐藻の代表的な石灰藻について石灰化開始部位の概観を述べたが、分類学的にも、形態学的にも著しく異なるこれらの石灰藻で、石灰化開始部位はどの藻の場合でも、決して海水と直接連絡をもたない閉鎖又は半閉鎖空間であるという事実は、大変興味深い。石灰藻にみられるこの共通性は、動物における石灰化開始部位についても言えるのではなからうか。

それでは、そのような特殊な空間の石灰化機構における役割は、何であろうか。著者はその空間は、(1) Ca^{2+} や CO_3^{2-} を濃縮して CaCO_3 の飽和溶液をつくるための空間、(2) 海水とは異なった組織の溶液 (CaCO_3 が析出し易い母液) をつくるための空間、(3) CaCO_3 結晶の誘導や結晶型を決定するために必要な有機物の濃度を高めるための空間、であろうと考えている。このような特殊な空間が存在するので、 CaCO_3 の結晶型も藻の種類によって厳密に規定されることも可能なのではなからうか。

また、注意に値する事実は、石灰化は藻体の特に age の進んだ古い部分で起きるのではなく、いずれの藻においても最も若い部位で既に開始され終了することである。このことは、藻の石灰化機

構に関する生理・生化学的な研究を行う場合、石灰藻のどの種を選ぶかということ以外に、藻体のどの部位を使うかを問題にしなければならないことを指摘している。既に石灰化の終了した藻体部位を使用するのと、石灰化が進行しつつある部位を使用するのでは、結果は著しく異なると思うからである。従来の石灰化に関する生理・生化学的な研究で、このような配慮のもとに行われたものは少なく、そのため結果も明瞭でないものが多いのは残念である。

引用文献

- Baily, A. and T. Bisalputra (1970), A preliminary account of the application of thin-sectioning, freeze-etching, and scanning electron microscopy to the study of coralline algae. *Phycologia* 9: 83-101.
- Bevelander, G. and Nakahara, H. (1969), An electron microscope study of the formation of the nacreous layer in the shell of certain bivalve molluscs. *Calc. Tiss. Res.* 3: 84-92.
- Böhm, E. L. (1973), Composition and calcium binding properties of the water soluble polysaccharides in the calcareous alga *Halimeda opuntia* (L.) (Chlorophyta, Udoteaceae). *Int. Rev. ges. Hydrobiol.* 58: 117-126.
- Böhm, L., D. Fütterer and E. Kaminski (1978), Algal calcification in some codiaceae (Chlorophyta): Ultrastructure and location of skeletal deposits. *J. Phycol.* 14: 486-493.
- Borowitzka, M. A., A. W. D. Larkum and C. E. Nockolds (1974), A scanning electron microscope study of the structure and organization of the calcium carbonate deposits of algae. *Phycologia* 13: 195-203.
- Borowitzka, M. A. and A. W. D. Larkum (1977), Calcification in the green alga *Halimeda*. I. An ultrastructure study of thallus development. *J. Phycol.* 13: 6-16.
- Boskey, A. L. and A. S. Posner (1977), The role of synthetic and bone extracted Calcium-phospholipid- PO_4 complexes in hydroxyapatite formation. *Calc. Tiss. Res.* 23: 251-258.

- Crenshaw, M. A. (1977), Ionotropic nucleation by molluscan shell matrix. p. 40. Abstract of 3rd Internat. Symp. on Mechanism Biomineralization Invertebrates and Plants held on October 8-11, 1977, Kashikojima, Japan.
- De Jong, E. W., L. Bosch and P. Westbrock (1976), Isolation and characterization of a Ca^{2+} -binding polysaccharide associated with coccolith of Emiliania huxleyi (Lohmann) Kamptner. Eur. J. Biochem. 70: 611-621.
- 宮田昌彦, 岡崎恵視, 古谷庫造 (1977), 石灰褐藻オキナウチワの炭酸カルシウム沈着部位と結晶型について (藻類の炭酸カルシウム沈着の研究 1). 藻類 25: 1-6.
- Miyata, M., M. Okazaki and K. Furuya (印刷中), Initial calcification site of a calcareous red alga Serraticardia maxima (Yendo) Silva (Studies on the calcium carbonate deposition of algae III). Proc. 3rd Internat. Symp. on Mechanism Biomineralization Invertebrates and Plants held on October 8-11, 1977, Kashikojima, Japan (in press).
- 中原皓 (1975), 硬組織と石灰化. 比較生物学的な 2・3 の問題. 国際歯科ジャーナル 2: 276-281.
- Nakahara, H. and G. Bevelander (1978), The formation of calcium carbonate crystals in Halimeda incrassata with special reference to the role of the organic matrix. Jap. J. Phycol. 26: 9-12.
- Okazaki, M. (1977), Some enzymatic properties of Ca^{2+} -dependent adenosine triphosphatase from a calcareous red alga, Serraticardia maxima and its distribution in marine algae. Bot. Mar. 20: 347-354.
- Outka, D. E. and D. C. Williams (1971), Sequential coccolith morphogenesis in Hymenomonas carterae. J. Protozool. 18: 285-297.
- 小沢英浩 (1975), 硬組織の微細構造と石灰化. 骨代謝 8: 37-75.
- Takazoe, I., J. Vogel and J. Ennever (1970), Calcium hydroxyapatite nucleation by lipid extract of Bacterionema matruchotii. J. Dent. Res. 49: 395-398.
- Westbrock, P., E. W. de Jong, W. Dam and L. Bosch (1973), Soluble intracrystalline polysaccharides from coccolith of Coccolithus huxleyi (Lohmann) Kamptner (I). Calc. Tiss. Res. 12: 227-238.
- Wilbur, K. M., L. H. Colinvaux and N. Watabe (1969), Electron microscope study of calcification in the alga Halimeda (order Siphonales). Phycologia 8: 27-35.

(1979年4月16日受理)

図 の 説 明

図A～E. 石灰藻の石灰化開始部位

図A: 円石藻 (Cricosphaera carterae)

図B: 紅藻ガラガラ属 (ガラガラ)

図C: 紅藻サンゴモ科 (オオシコロ)

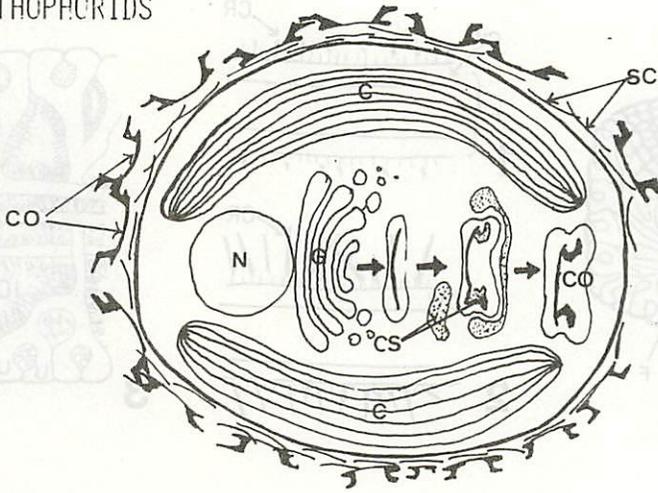
図D: 緑藻サボテングサ属 (ウチワサボテングサ)

図E: 褐藻ウミウチワ属 (オキナウチワ)

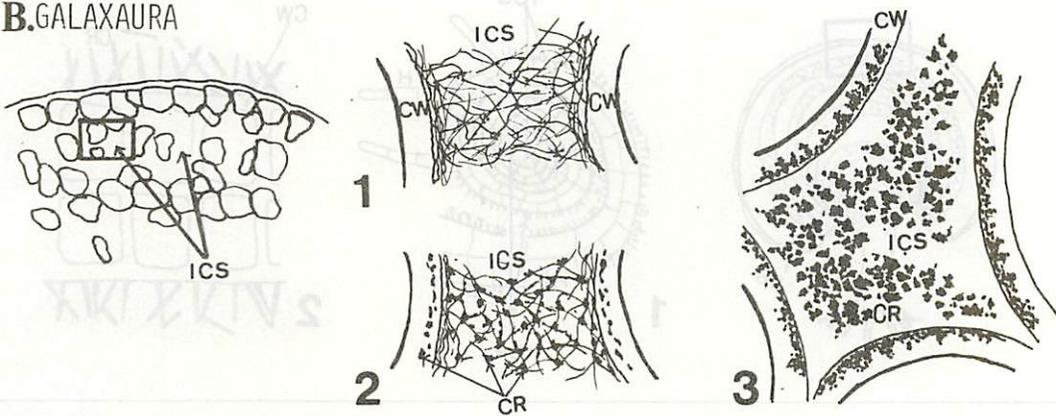
左図の□の部位を拡大して右図に示した。数字は石灰化の進行過程を示す。

C: 葉緑体, CO: ココリス, CR: $CaCO_3$ 結晶, CS: ココリス顆粒, CW: 細胞壁,
F: 管状系, G: ゴルジ体, H: 毛, ICS: 細胞間隙, N: 核, SC: 石灰化しない
スケール, SP: 胞子囊群, U: 胞囊, V: 液胞, VE: 小胞。

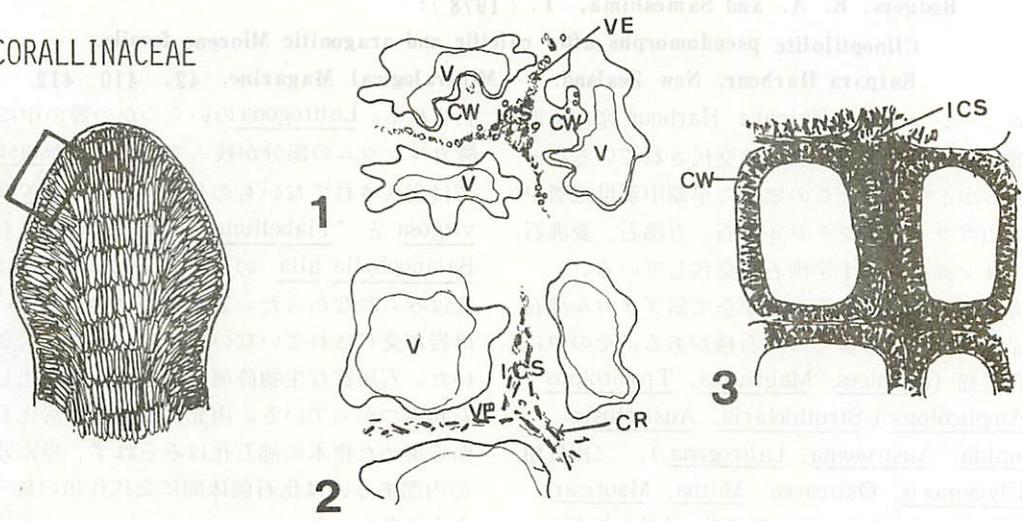
A. COCCOLITHOPHORIDS



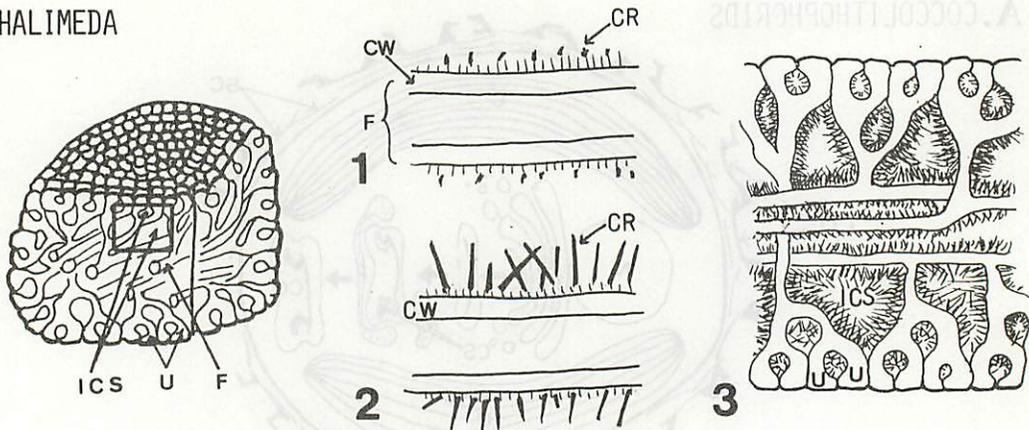
B. GALAXAURA



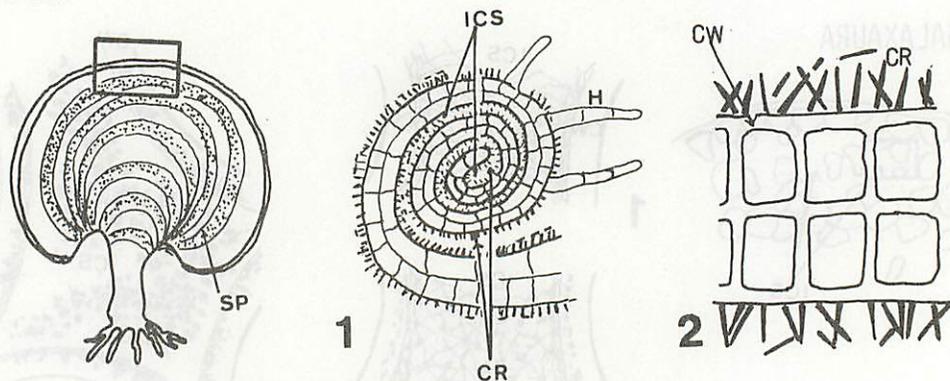
C. CORALLINACEAE



D. HALIMEDA



E. PADINA



(論文紹介)

Rodgers, K. A. and Sameshima, T, (1978):

Clinoptilolite pseudomorphs after calcitic and aragonitic Miocene fossils, Kaipara Harbour, New Zealand. *Mineralogical Magazine*, 42, 410-412.

ニュージーランドの Kaipara Harbour 産中新世貝殻化石が斜プチロル沸石で交代されていることが明らかとなった。この地域の早中新世地層中の火山ガラスは斜プチロル沸石, 方沸石, 菱沸石, エリオン沸石, 灰十字沸石に交代している。

方解石あるいは殻石の殻が全て斜プチロル沸石擬晶になっている多くの化石種がある。その中には腹足類 (*Polinices*, *Magnatica*, *Tropicolpus* (*Amplicolpus*), *Struthiolaria*, *Austrofusus*, *Amalda*, *Austrotoma*, *Latirogona*), 二枚貝類 (*Glycymeris*, *Ostreacea*, *Miltha*, *Maoricardium*, *Varicardium*), 腔腸動物 (*Lobophyllia*, *Plesiastrea*, *Tubinaria*), 蘇苔虫類, 環形類が

含まれる。*Latirogona*のいくつかの殻の中には炭酸カルシウムの部分が残っていた。*Plesiastrea*では交代されていないものもあった。*Oculia virgosa*と "*Flabellum*" *sphenodeum* および *Balanophylla alta* のような単体サンゴには沸石化はみられなかった。表生動物 (epifaunas) は母岩が交代されていない場合でも常に交代されていた。石灰質な生物碎屑岩の中にも沸石化した化石がみついている。南北に近接する富化石産地から集めた標本に沸石化はみられず, 当露頭とその内部あるいは化石個体間に交代作用の統一性はみられなかった。

(寒河江登志朗)