

## 大型石灰藻に含まれる特殊な Ca 結合物質に関する研究

### II. 藻体の酸不溶性画分の Ca 結合能と Ca 結合物質の可溶化

御園生 拓\*・岡崎 恵 視\*

古谷 庫 造\*・西澤 一 俊\*\*

\* 東京学芸大学生物学教室 (184 小金井市貫井北町 4-1-1)

\*\* 日本大学農獣医学部水産学科 (154 世田谷区下馬 3-34-1)

MISONOU, T., OKAZAKI, M., FURUYA, K. and NISIZAWA, K. 1980. Particular Ca-binding substances in marine macro-algae. II. Incorporation of  $^{45}\text{Ca}$  into acid-insoluble residues from various algae and the solubilization of Ca-binding substances from the residues. Jap. J. Phycol. 28: 105-112.

Acid-insoluble residues were prepared from various kind of algae by treating the dried fronds with 2 M hydrochloric acid, and their  $^{45}\text{Ca}$ -binding activity and the contents of uronic acid and O-ester sulfate were determined. The algae tested covered 14 species of brown, red and green algae including 7 species of calcareous algae. The 2 M potassium chloride-extractable materials were obtained from the residues, and examined for their  $^{45}\text{Ca}$ -binding activity on 4 species of red algae containing 3 calcareous species. Remarkable Ca-binding activities were found in all the residues tested. The activities were, however, not necessarily higher in calcareous species than in non-calcareous ones. Furthermore, no direct relationship was observed between the Ca-binding activity and the contents of acidic group of residues. Particular Ca-binding substances were solubilized with 2 M potassium chloride from the acid-insoluble residues of 2 calcareous species, *Serraticardia maxima* and *Galaxaura fastigiata*, but not from non-calcareous *Chondrus verrucosus* and slightly calcified *G. falcata*.

*Key Index Words*: Ca-binding substance; calcareous algae; calcification; Chondrus; Galaxaura; Serraticardia.

*Taku Misonou, Megumi Okazaki and Kurazo Furuya, Department of Biology, Tokyo Gakugei University, Koganei-shi, Tokyo, 184 Japan; Kazutosi Nisizawa, Department of Fisheries, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Shimouma-3, Setagaya, Tokyo, 154 Japan.*

最近、石灰藻の石灰化部位もしくは石灰化開始部位から抽出される Ca 結合物質が注目されるようになった (DEJONG *et al.* 1976; BÖHM 1973)。すなわち、藻体の石灰化開始部位に存在する Ca 結合物質が、その場に供給された  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  イオンを分子上に濃縮し炭酸カルシウムの結晶型を反映するような特定の位置関係に配列して、炭酸カルシウムの最初の核を形成するというエピタキシー的核の役割を演ずる可能性が考えられるからである。

著者らも藻類の石灰化機構を解明するためにこのような機能をもった Ca 結合物質に焦点をあてて研究を

進め、先の論文 (御園生他 1980) では種々の海藻を放射性カルシウム ( $^{45}\text{Ca}$ ) を含んだ海水中で培養すると、石灰藻・非石灰藻を問わず pH 8.3 の緩衝液では抽出できない  $^{45}\text{Ca}$  が藻体抽出残渣に結合して残存することを報告した。しかし石灰藻においては、この抽出残渣中の炭酸カルシウム画分にとり込まれる  $^{45}\text{Ca}$  があるので、この残渣中の有機化合物にどの程度 Ca が結合したかを知ることができなかった。そこで本論文では、先の研究を一步進め、種々の海藻から酸不溶性画分 (脱灰残渣) を調製して、この画分の Ca 結合能力を比較検討し、またこの画分から Ca 結合物質を可溶

化することを試みたので報告する。

## 材料及び方法

### 1. 酸不溶性画分の $^{45}\text{Ca}$ 結合能とエステル硫酸及びウロン酸量

(1) 材料 実験に用いた海藻は、紅藻ではオオシコロ (*Serraticardia maxima* (YENDO) SILVA), ガラガラ (*Galaxaura fastigiata* DECAISNE), ヒラガラガラ (*Galaxaura falcata* KJELLMAN), タンバノリ (*Grateloupia elliptica* HOLMES), イボツノマタ (*Chondrus verrucosus* MIKAMI) の5種、褐藻ではオキナウチワ (*Padina japonica* YAMADA), コナウミウチワ (*Padina crassa* YAMADA), ウミウチワ (*Padina arborescens* HOLMES), ウミトラノオ (*Sargassum thunbergii* (MERTENS) O. KUNTZE), アラメ (*Eisenia bicyclis* (KJELLMAN) SETCHELL) の5種、緑藻ではカサノリ (*Acetabularia ryukyuensis* OKAMURA et YAMADA), ウチワサボテングサ (*Halimeda discoidea* DECAISNE), ヒラミル (*Codium latum* SURINGAR), アナアオサ (*Ulva pertusa* KJELLMAN) の4種で、合計14種である。このうちオオシコロ, ガラガラ, ヒラガラガラ, オキナウチワ, コナウミウチワ, カサノリ, ウチワサボテングサの7種は石灰藻である。

オキナウチワ, コナウミウチワ, カサノリ以外の海藻は静岡県下田市鍋田湾, 爪木崎および白浜にて1977年5月から1978年8月にかけて採集したものである。またオキナウチワ, コナウミウチワは1977年8月に金沢大学能登臨海実験所付近で採集したものを同実験所の池森雅彦博士の御厚意により提供していただいたものであり, カサノリは1976年12月沖縄県石垣島にて採集したものである。

(2) 酸不溶性画分の調製 採集後海水で洗った藻体を40°Cで乾燥した。これを乳鉢中で磨砕し, この乾燥藻体粉末に約10倍量の2N-HClを加え20時間20°Cで放置した。次に5,000 rpm, 10分間の遠心分離により残渣を集め0.01 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.2) で十分に洗浄し, 再度5,000 rpm 10分間の遠心分離を行なって残渣を回収した。この沈殿した残渣を40°Cで乾燥させたものを酸不溶性画分として, 以後試料として使用した。

(3)  $^{45}\text{Ca}$  溶液の調製 1 m Ci の  $^{45}\text{Ca}$  を  $\text{CaCl}_2$  として含む溶液を0.01 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.2) 1 ℓ 中に加え, この溶液100 ml に一定量の  $\text{CaCl}_2$  を溶解して終濃度3 mM と30 mM の  $\text{CaCl}_2$  を含む2種の

溶液を調製した。

(4)  $^{45}\text{Ca}$  結合量の経時測定 各種藻体から得た酸不溶性画分の粉末100 mg を2 ml の0.01 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.2) 中で1時間以上膨潤させてから, 上記の  $^{45}\text{Ca}$  を含む30 mM の  $\text{CaCl}_2$  溶液を1 ml 加え終濃度10 mM の  $\text{CaCl}_2$  溶液 ( $^{45}\text{Ca}$  を1  $\mu\text{Ci}$  含む) とした。この反応液を時々振盪しながら20°Cで5, 10, 30, 60分間反応させたのち, 3,000 rpm で5分間遠心分離し, 沈殿物を10 mM の非放射性  $\text{CaCl}_2$  溶液の充分量で2回洗浄した。このようにして得た沈殿物に2N-HCl を1 ml 加えて藻体残渣に結合した  $^{45}\text{Ca}$  を遊離させ, 残渣を遠心分離 (3,000 rpm, 5分間) により沈殿させた。その上清0.1 ml をステンレスの試料皿にとって乾燥させ, ガスフローカウンターで放射能を測定した。

(5) 酸不溶性画分の  $^{45}\text{Ca}$  結合能力の測定 酸不溶性画分100 mg を一定量の0.01 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.2) で膨潤させ, これに  $^{45}\text{Ca}$  を含む3 mM  $\text{CaCl}_2$  溶液を一定量加えて  $\text{CaCl}_2$  の終濃度がそれぞれ0.05, 0.1, 0.5, 1 mM になるように調整した。また,  $^{45}\text{Ca}$  を含む30 mM  $\text{CaCl}_2$  溶液を用いて, 同様に  $\text{CaCl}_2$  の終濃度が1, 5, 10, 20 mM となるように調整した。これらを20°Cで10分間振盪しながら反応させた。反応後各試料を3,000 rpm で5分間遠心分離し, 沈殿物を反応液と等濃度の非放射性  $\text{CaCl}_2$  溶液で2回洗浄し, 沈殿物に2N-HCl 1 ml を加えて結合した  $^{45}\text{Ca}$  を遊離させた。これを3,000 rpm 5分間遠心分離し, 上清0.1 ml をとって前述と同様に放射能を測定した。

(6) 酸不溶性画分中のエステル硫酸およびウロン酸の定量  $\text{Ca}^{2+}$  を結合し得る官能基としてエステル硫酸基とカルボキシル基 (ウロン酸) が考えられるので, 試料中のこれらの量を定量した。硫酸基の定量にあたっては, まず100 mg の酸不溶性画分に5 ml の2N-HCl を加え沸騰水浴中で2時間加水分解し, 固体NaOH で中和後東洋濾紙 No. 2 で濾過した。その濾液の一定量につき生じた遊離硫酸基をDODGSON-PRICEの比濁法 (DODGSON 1961) により定量した。ウロン酸量については, 試料100 mg に5 ml の1N-NaOH を加え20°Cで24時間ウロン酸を抽出し, 抽出液を濃HCl で中和して同様に濾過した。その濾液の一定量につき抽出された全ウロン酸量をカルバゾール硫酸法 (KNUTSON & JEANES 1968) で定量し, グルクロン酸量として算出した。

## 2. 酸不溶性画分中の $^{45}\text{Ca}$ 結合物質の可溶化とゲル濾過による分画

(1) 材料および酸不溶性画分の調製 実験に使用した海藻は前記 14 種のうち石灰紅藻オオソコロ、ガラガラ、ヒラガラガラおよび非石灰紅藻イボツノマタの 4 種で、紅藻に限って実験した。

これらの海藻を前述 1 (2) に従って 2N-HCl で処理し、酸不溶性画分を調製した。

(2) 酸不溶性画分からの Ca 結合物質の抽出およびそのゲル濾過分画 上記海藻の酸不溶性画分から Ca 結合物質を溶出するために 2 M KCl を含む 0.01 M Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.2) による抽出を行ない、 $^{45}\text{Ca}$  と反応させた後、さらにこれを Sephadex G-75 でゲル濾過し、各分画の全タンパク質、全糖量と  $^{45}\text{Ca}$  を測定した。すなわち、まず酸不溶性画分 500 mg をとり 2 M KCl を含む緩衝液 25 ml を加えて 20°C で 20 時間攪拌しながら抽出を行なった。反応液を 5,000 rpm で 10 分間遠心分離を行ない、上清をセロファンチューブに入れ蒸留水中で透析して KCl を除いた。透析後の抽出液に終濃度 1N になるように HCl を加え一夜 20°C で放置し、その後 70% になるようにエタノールを加えた。これを 3,000 rpm で 5 分間遠心分離して沈殿物を

集めた。この沈殿物を 80% エタノールで数回洗浄し、最終的に沈殿物を 2 ml の蒸留水に溶解した。そのうちの 1 ml を  $^{45}\text{CaCl}_2$  を含む  $\text{CaCO}_3$  飽和溶液 (0.1 m Ci/ml) 1 ml と混合し、15 秒間激しく攪拌してから Sephadex G-75 カラム (1.5×40 cm) にのせて蒸留水で流出し、5 ml ずつ分画した。その後各分画の 0.1 ml をとり、前述 1 (4) の方法により  $^{45}\text{Ca}$  量を測定した。また各分画中の、全糖をフェノール硫酸法により、タンパク質を 280 nm の吸収でそれぞれ定量した。

## 結 果

### 1. 酸不溶性画分の $^{45}\text{Ca}$ とり込み能

$^{45}\text{Ca}$  を含む塩化カルシウムの 10 mM 溶液 (海水の Ca 濃度に等しい) 中で、各種藻体の酸不溶性画分がとり込んだ  $^{45}\text{Ca}$  量を経時的に測定した結果が Fig. 1 である。 $^{45}\text{Ca}$  のとり込み量は全ての試料において一定時間後に飽和に達し、その時間はほぼ 5 分から 10 分であることがわかった。また  $^{45}\text{Ca}$  のとり込み飽和量は種によって異なり、最も高い値を示す石灰褐藻コナウミウチワは最も低い値を示すタンパノリのおよそ 20 倍に及んだ。しかし、石灰藻の全てが特に高い  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能を示すといった傾向はみられなかった。

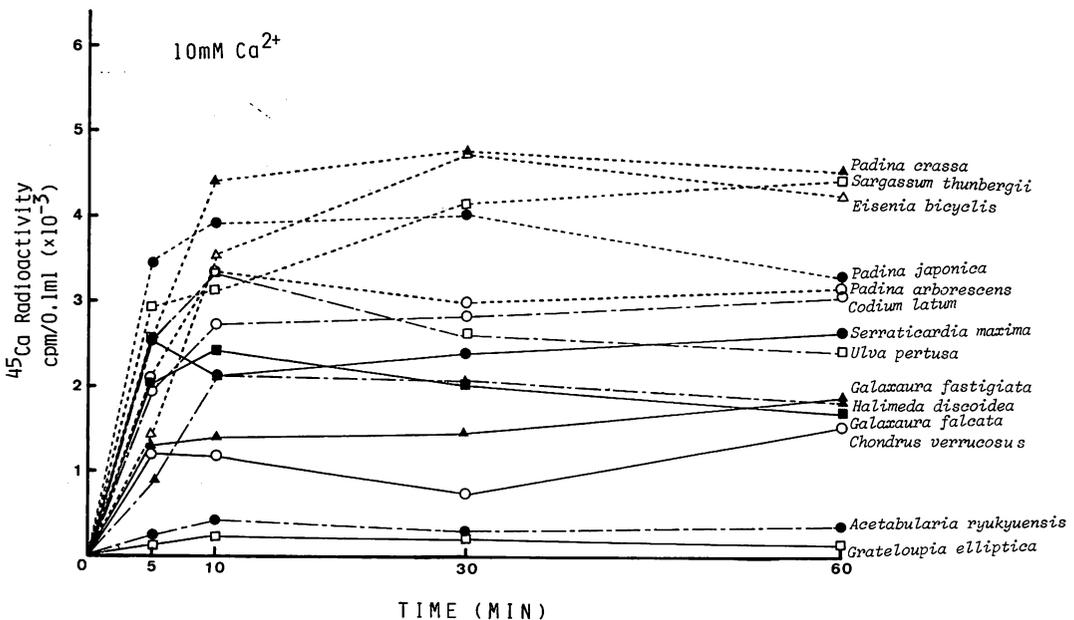


Fig. 1. Time course of  $^{45}\text{Ca}$  uptake into the acid-insoluble residues from various marine algae. The acid-insoluble residues (100 mg) were incubated at 20°C in 3 ml of 0.01 M Tris-HCl buffer (pH 8.2) containing 10 mM  $\text{CaCl}_2$  and  $^{45}\text{Ca}$ . Solid marks (●, ▲, ■), calcareous algae; open marks (○, △, □), non-calcareous algae; — red algae, ---- brown algae, - - - green algae.

次に、反応液中の Ca 濃度を変化させた時の  $^{45}\text{Ca}$  のとり込み量を比較した。結果を低濃度領域 (0~1 mM Ca) においては Fig. 2 に、高濃度領域 (1~20 mM Ca) においては Fig. 3 に示した。反応時間は全て 10 分間とした。

まず低濃度領域 (Fig. 2) においては、試料によって  $^{45}\text{Ca}$  とり込み量に大きな差はあるが、図の示すとり込みのパターンに注目すると、Ca 濃度が高くなるに従って途中で  $^{45}\text{Ca}$  の酸不溶性画分へのとり込みが一時飽和する傾向にあるウチワサボテングサ、アラメ、カサノリ、タンバノリなどと、とり込みが飽和せずにはほぼ Ca 濃度に比例して増加するウミウチワ、アナアオサ、ウミトラノオ、オオシコロなどの 2 つのグループに分かれることがわかった。例えば前者に属するタンバノリは、0.05 mM Ca でとり込みが一時飽和した後 0.5 mM で再びとり込み量の増加がみられた。

また、紅藻の同一属である石灰藻ガラガラとヒラガラガラは殆んど同じとり込み量を示した。しかし、褐藻の同属に属すオキナウチワ、コナウミウチワおよびウミウチワにおいては、石灰藻である前 2 者はほぼ同様の  $^{45}\text{Ca}$  とり込みパターンを示すが、非石灰藻のウ

ミウチワはそれらに比べて 3~5 倍程度の著しいとり込み能を示した。

全体的にみると、低 Ca 濃度領域ではどの Ca 濃度においても特に石灰藻が高い  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能を示すわけでもなく、また紅藻・褐藻・緑藻のいずれかが特に目立った  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能を示す結果でもなかった。

高濃度領域 (Fig. 3) では、 $^{45}\text{Ca}$  のとり込みパターンから試料を 3 つのグループに大別できる。すなわち、カサノリ、タンバノリ、イボツノマタのように殆んどそのとり込み量に変化がなくグラフが平坦なもの、ヒラミル、ヒラガラガラ、オオシコロ、ウミウチワ、コナウミウチワ、オキナウチワのように 5~10 mM Ca でとり込みが飽和し、それ以上増加しなくなる傾向をもつもの、ガラガラ、ウチワサボテングサ、アラメ、ウミトラノオ、アナアオサのように 5 mM で一旦増加が止まり、10 mM で再び始まるものである。全体的にみると褐藻が高い  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能を示す傾向がみられたが、石灰藻のそれは 20 mM Ca 存在下でもカサノリを除けば 3,000~5,000 cpm/0.1 ml のような中間的な値を示し、特に高い値は示さなかった。カサノリは、1,000 cpm/0.1 ml 前後という低いとり込み能しか

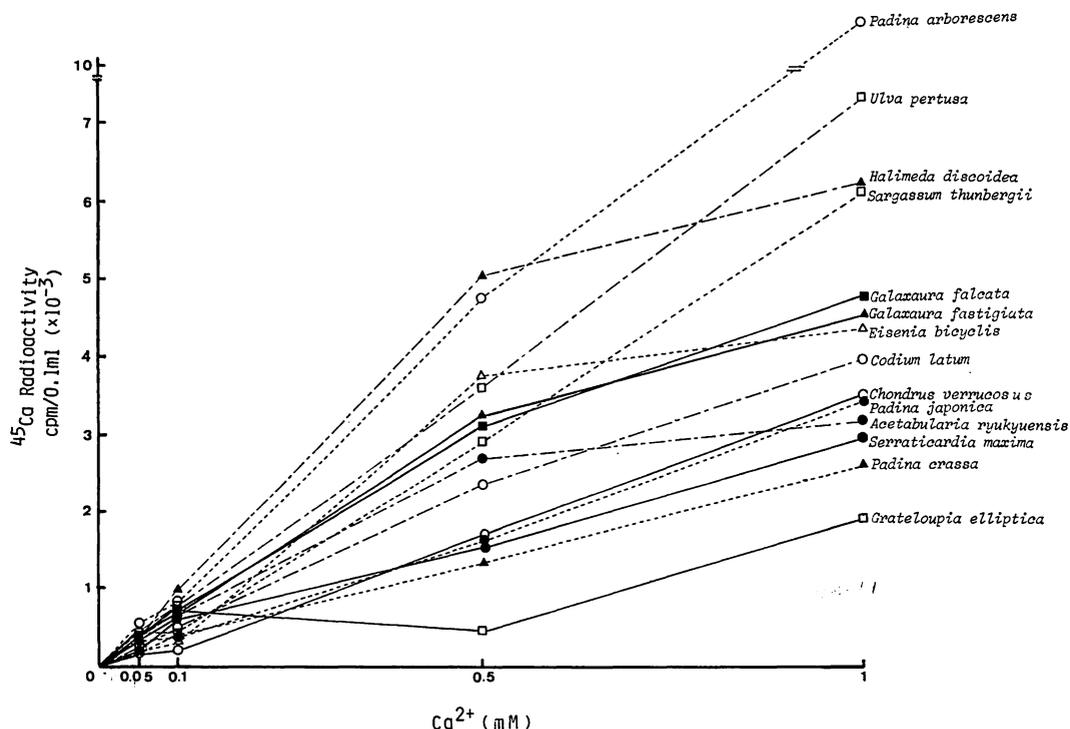


Fig. 2.  $^{45}\text{Ca}$  uptake into the acid-insoluble residues under various  $\text{CaCl}_2$  concentrations (0-1 mM  $\text{CaCl}_2$ ). The acid-insoluble residues (100 mg) were incubated at 20°C for 10 min. For other explanations, see Fig. 1 and text.

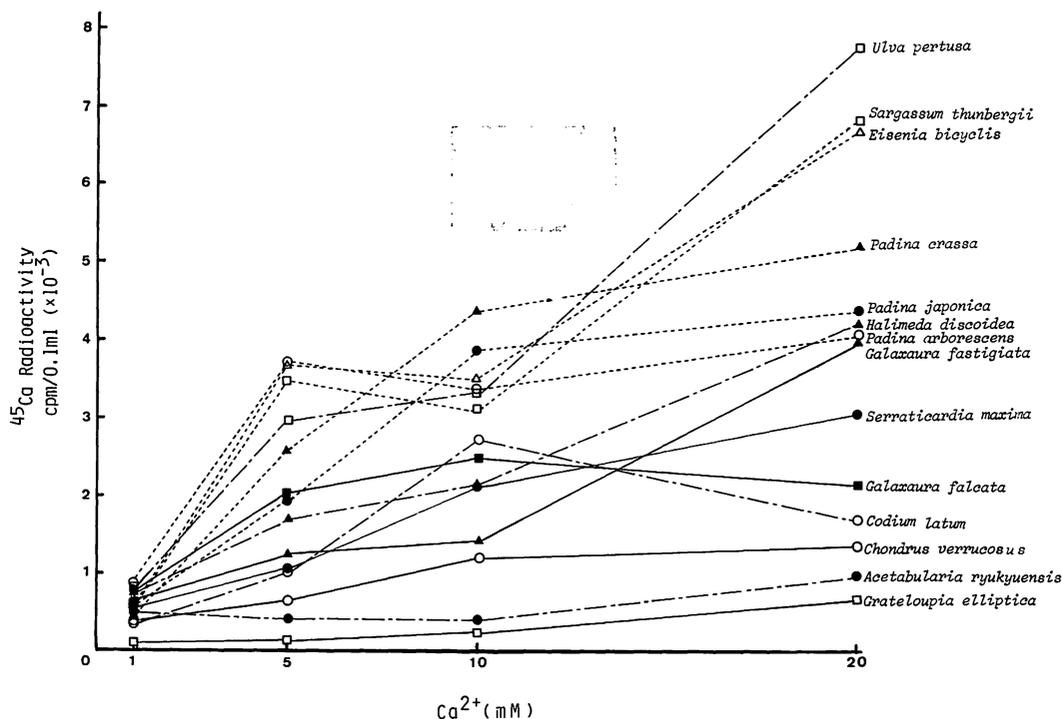


Fig. 3.  $^{45}\text{Ca}$  uptake into the acid-insoluble residues under various  $\text{CaCl}_2$  concentrations (1–20 mM  $\text{CaCl}_2$ ). The acid-insoluble residues (100 mg) were incubated at  $20^\circ\text{C}$  for 10 min. For other explanations, see Fig. 1 and text.

示さなかった。

また、この高濃度 Ca 領域において褐藻ウミウチワ属の石灰藻オキナウチワ、コナウミウチワと非石灰藻ウミウチワの3種を比較してみると、低濃度領域にみられた程の差はなく、3者ともほぼ一致した飽和値を示した。逆に低濃度領域においては、 $^{45}\text{Ca}$  とり込み能には殆んど差がみられなかった石灰紅藻ガラガラとヒラガラガラの間においては著しい差が現われた。これらの事実は、同一属においても石灰藻と非石灰藻、また石灰藻でも石灰化量の異なるものでは Ca をとり込みまたは結合する物質あるいは酸不溶画分の組織に差異があることを強く暗示している。

Figs. 2 および 3 からわかるように、Ca のとり込み能は種によって著しい差がみられるが、これは試料中の酸性基 (エステル硫酸とウロン酸) に関するのではないかと考え、これらの量を測定した。Table 1 はその結果を示す。ウロン酸量に注目するとオキナウチワを除いた褐藻4種 (アラメ、ウミウチワ、ウミトラノオ、コナウミウチワ) と緑藻アナアオサが高い値を示すが、これらは Ca の高濃度領域で高い  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能を示すものであり (Fig. 3)、ウロン酸量と  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能はある程度の平行関係をもつように思われ

Table 1. Contents of ester sulfate and uronic acid (as glucuronic acid) in the acid-insoluble residues from various marine algae

Species	Anion (mg/100 mg dry wt.)	
	ester sulfate	uronic acid
<i>Serraticardia maxima</i> *	0.15	0.40
<i>Galaxaura fastigiata</i> *	2.60	0.40
<i>Galaxaura falcata</i> *	1.40	0.56
<i>Grateloupia elliptica</i>	1.15	0.55
<i>Chondrus verrucosus</i>	7.75	1.01
<i>Padina japonica</i> *	0.45	0.33
<i>Padina crassa</i> *	0.55	2.88
<i>Padina arborescens</i>	0.38	3.82
<i>Sargassum thunbergii</i>	2.20	3.24
<i>Eisenia bicyclis</i>	0.65	6.47
<i>Acetabularia ryukyuensis</i> *	0.10	0.38
<i>Halimeda discoidea</i> *	0.15	0.55
<i>Codium latum</i>	4.35	0.21
<i>Ulva pertusa</i>	0.13	3.53

\* Calcareous algae.

る。しかしエステル硫酸量は  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能とはあまり関係がなさそうであった。また、これら2種の酸性基の総和と試料の  $^{45}\text{Ca}$  とり込み能を比較しても、両者の間には平行関係はみられなかった。

このように石灰藻は酸性基含量および  $\text{Ca}$  とり込み能が特に大きいとはいえないことが明らかになった。これらの結果は、石灰化機構に  $\text{Ca}$  結合物質が関与しているとしても、その役割を解明するためには単に  $\text{Ca}$  とり込み能を検討するのみでは不充分であり、そのとり込みの本質に注目する必要があることを強く示している。

## 2. 酸不溶性画分の $\text{Ca}$ 結合物質の可溶化とゲル濾過による分画

藻体酸不溶性画分中の  $\text{Ca}$  とり込み能に関し、まず  $\text{Ca}$  と結合する物質を知るために、特に紅藻の4種に限って検討した。抽出には2M塩化カリウムを含む緩衝液を使用した。これは海藻の細胞間物質の各種の酸性多糖類が溶出されるものと考えたからである。

まず、 $^{45}\text{Ca}$  を結合させた酸不溶性画分を2M塩化カリウム溶液で抽出し、その抽出液をゲル濾過で分画したところ、 $^{45}\text{Ca}$  の放射能は殆んど全てが分子量の非常に小さな  $V_i$  の位置にみられ、抽出液中の  $^{45}\text{Ca}$  は殆

んどが遊離の形で存在することがわかった。これらの結果についてはこの論文には示さなかったが、藻体の酸不溶性画分に結合していた  $^{45}\text{Ca}$  が2Mの高い塩化カリウム濃度下で溶液中の  $\text{K}^+$  とイオン交換されて遊離してきたためと思われる。従って、この実験条件では高分子の  $\text{Ca}$  結合物質が溶出されたか否かを決定できないので、次に藻体残渣をあらかじめ2M塩化カリウムで抽出しておき、可溶化された物質を70%エタノールで沈殿させて集め、その物質の  $^{45}\text{Ca}$  結合能を調べた。他のイオンの影響を除くために、 $^{45}\text{Ca}$  を結合させる反応は蒸留水中で行ない、ゲル濾過の際の流出液も蒸留水を使用した。その結果、Figs. 4 および 5 に示すような  $^{45}\text{Ca}$  の放射能と糖質の流出パターンを得た。

これらからまずわかることは、石灰紅藻のオオシコロ、ガラガラの2種において2M塩化カリウム抽出物中に明らかに高分子  $\text{Ca}$  結合物質が存在することである (Fig. 4)。このような  $\text{Ca}$  結合物質はヒラガラガラ、イボツノマタにはみられなかった (Fig. 5)。

オオシコロの場合は  $V_0$  の位置 (Fraction No. 4) よりも多少遅れた画分 (Fraction No. 7~9) に  $^{45}\text{Ca}$  のピークがみられたが、これは  $V_0$  に流出してくるガラ

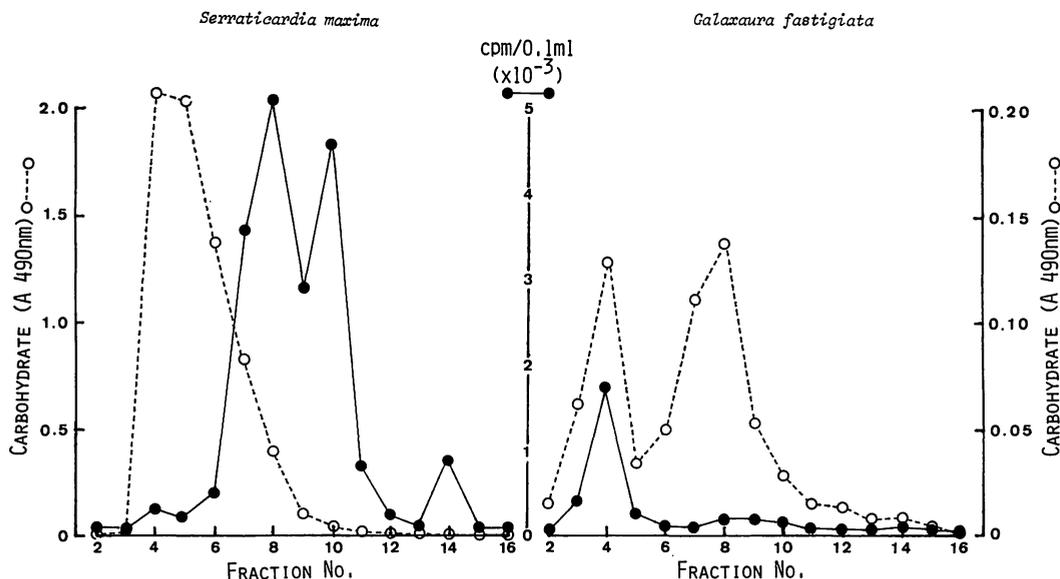


Fig. 4. The gel-filtration pattern on Sephadex G-75 of 2M KCl-soluble materials from acid-insoluble residues of calcareous red algae, *S. maxima* and *G. fastigiata*. The elution was carried out with distilled water instead of buffer. Radioactivity of  $^{45}\text{Ca}$  (—●—) was expressed as cpm/0.1 ml of each fraction. Carbohydrate (---○---), measured by phenol- $\text{H}_2\text{SO}_4$  method, was expressed as absorbance at 490 nm. Column size  $1.5 \times 40$  cm, fraction volume 5 ml, temperature  $20^\circ\text{C}$ .

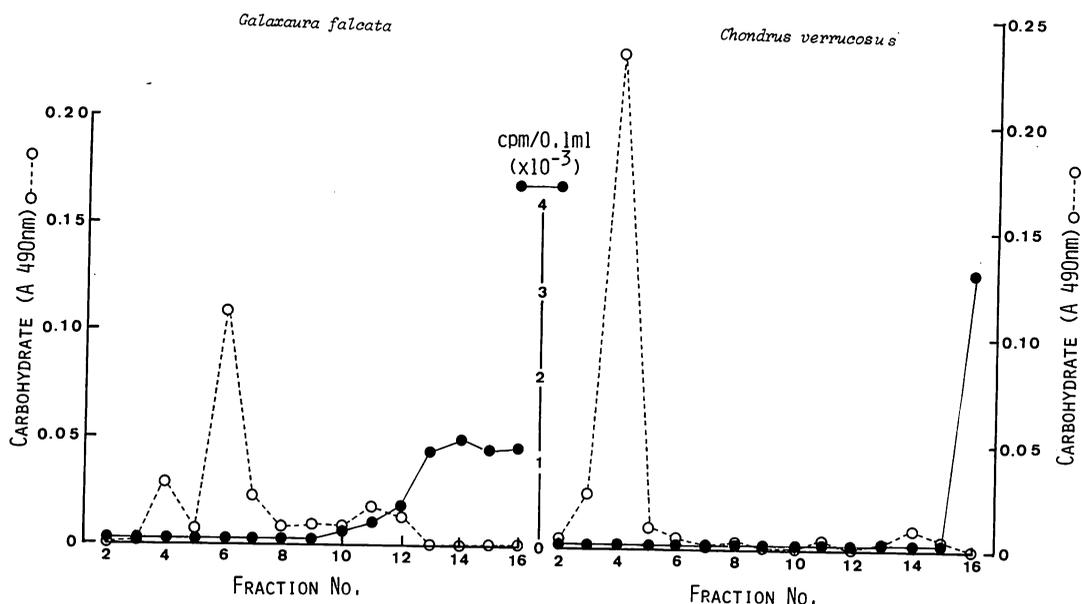


Fig. 5. The gel-filtration pattern on Sephadex G-75 of 2 M KCl-soluble materials from acid-insoluble residues of calcareous (*G. falcata*) and non-calcareous (*C. verrucosus*) red algae. For other explanations, see Fig. 4.

ガラの Ca 結合物質 (4 万以上の分子量をもつと推定される) よりも分子量が小さいものと思われる。著者ら (御園生他 1980) は、生藻体に  $^{45}\text{Ca}$  をとり込ませてから 2 M 塩化カリウムで藻体を抽出すると、オオシコロの場合  $V_0$  の位置に  $^{45}\text{Ca}$  を結合する物質が存在することを既に見出ししている。しかし、今回発見された Ca 結合物質は、分子量の点や Ca に対する親和性の点において先のものとは異なる物質ではないかと思われる。

また、図には示していないがタンパク質は全画分で殆んど検出できない程度であった。これは、試料調製の際 2 N 塩酸で処理しており、また抽出後エタノールで沈殿させていることから当然考えられるが、このことから上述の Ca 結合物質は多糖類であると思われる。

なお、オオシコロから得たこの Ca 結合物質は 5 mM 塩化カルシウム中でゲル状の沈殿を形成し、トリジンブルー染色によりメタクロマジーをおこした。これらの性質と抽出条件からみて、この物質は一種の酸性多糖であるように考えられる。

## 考 察

海藻の酸不溶性画分を用いた一連の実験で次の事が明らかになった。すなわち、(1) 酸不溶性画分には石

灰藻・非石灰藻を問わず Ca とり込み能がみられること、(2) この Ca とり込み能は石灰藻が特に高いとはいえないこと、(3) 石灰紅藻オオシコロと同ガラガラには 2 M 塩化カリウムによって可溶化される多糖類と思われる Ca 結合物質が存在する。

これらの結果は、石灰化機構における Ca 結合物質の役割を否定するものではないが、藻類の石灰化機構は藻体が単に Ca を結合すれば石灰化が起こるといった単純なものではないことを示している。

また、石灰化機構を解明するにあたっては石灰化開始部位の形態学的な知見が重要な手掛りを与えるものと思われる。最近、岡崎 (1979) は藻類の石灰化の際は全て海水とは直接連絡をもたない特殊な閉鎖もしくは半閉鎖空間であることを指摘するとともに、石灰紅藻オオシコロやガラガラの石灰化開始部位は細胞間隙であり、その部位に存在する有機物質は石灰化の開始と密接な関係があることを示唆した。このことに関連して、オオシコロとガラガラには、2 M 塩化カリウムで抽出される細胞間物質と思われる Ca 結合物質が特異的に存在する事実は大変興味深く、あるいはこれらの物質が藻の石灰化機構と何らかの関係をもつのかも知れない。

これに似た Ca 結合多糖は既に単細胞石灰藻である円石藻の炭酸カルシウムから成る殻 (coccolith) の中

に発見され (DEJONG *et al.* 1976), また大型石灰藻では BÖHM (1973) が石灰緑藻サボテングサで報告している。しかし, これらの物質と石灰化現象を関連づける実験は行なわれておらず, 今後に残された課題である。

#### 引用文献

- BÖHM, E. L. 1973. Composition and calcium binding properties of the water soluble polysaccharides in the calcareous alga *Halimeda opuntia* (L) (Chlorophyta, Udoteaceae). *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **58**: 117-126.
- DEJONG, E. W., BOSCH, L. & WESTBROEK, P. 1976. Isolation and characterization of a  $\text{Ca}^{2+}$ -binding polysaccharide associated with coccoliths of *Emiliania huxleyi* (LOHMAN) KAMPTNER. *Eur. J. Biochem.* **70**: 611-621.
- DODGSON, K. S. 1961. Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters. *Biochem. J.* **78**: 312-319.
- KNUTSON, C. A. & JEANES, A. 1968. A new modification of the carbazole analysis: Application to heteropolysaccharides. *Anal. Chem.* **24**: 470-481.
- 御園生 拓, 岡崎恵視, 西沢一俊 1980. 大型石灰藻に含まれる特殊な Ca 結合物質に関する研究. I. 生藻体への  $^{45}\text{Ca}$  のとり込みと特殊 Ca 結合物質の抽出. *藻類* **28**: 31-36.
- 岡崎恵視 1979. 藻類の石灰化開始部位と石灰化機構について. *化石研究会会誌* **12**: 31-36.