

セルロースの構造からみた生物の多様性*

杉山 淳 司**

Cellulose Structure and its Implication to Biological Diversity*

Junji SUGIYAMA**

(平成8年8月31日受理)

1. はじめに

木材のセルロースマイクロフィブリルの構造は、細胞壁を形成するマトリックスとともに、木質の物理的な性質を決定する。ところがその構造についてはいまだ未解決な問題が多く残されている。第一に結晶領域と非晶領域があるとすると、それらはどういう構造でどのように分布しているのか。第二にマトリックスとの相互作用はどうなっているのかなどである。電子顕微鏡でマイクロフィブリルを観察してきた筆者の経験では、最初の質問「非晶はどこにあるのか」に関心が非常に高いが、いつも曖昧にしか答えられないでいる。一例をあげれば、酸加水分解によって、木材のセルロースはある一定の重合度の微結晶に分解されるが、その分子鎖長に相当する周期構造はあるのかという点である。

木材のマイクロフィブリルは、種によって、また観察方法によっても異なるが、4nm程度とすると、約40本のセルロース分子が集合した微細な繊維である。その長さ方向に沿って周期的に非晶と結晶が繰り返し存在するとすると、木材の結晶化度や加水分解挙動を説明する上では都合のよいモデルとなる。ところが、最近の高解像度の二次壁新生面のレプリカ観察のマイクロフィブリル像には、そのような構造は見られていない。さらに、個々のフィブリルは螺旋を描くように帯状のフィブリル束を形成しているが、その帯も同じ幅で長く連続しないで、さらに細かい束にほぐれたりしながら、細胞壁内でラメラを形成している¹⁻³⁾。この場合、非晶は表面にあると考えれば都合がよいだろう。つまり、マイクロフィブリルが正方形に近い断面であると、その分子鎖の半分以上が表面に存在することになる。表面分子が隣接するマイクロフィブリルまたはマトリックスと結合して、内部の分子と異なるコンフォメーションを取ることになれば、配向性の非晶とでも言うべき構造となることも十分予想される。要するに、セルロースマイクロフィブリルを明確な結晶と非晶の複合と捕らえるか、結晶と非晶の中間的な構造体としてモデルを立てるか、の2つの可能性

* 本報の内容は京都大学木質科学研究所第51回公開講演会(1996年5月、宇治)において発表した。ただし未発表の内容については本稿では割愛した。

** 細胞構造・機能分野(Laboratory of Cell Structure and Function)

Key words: cellulose microfibril, cellulose I_α, cellulose I_β, structural diversity

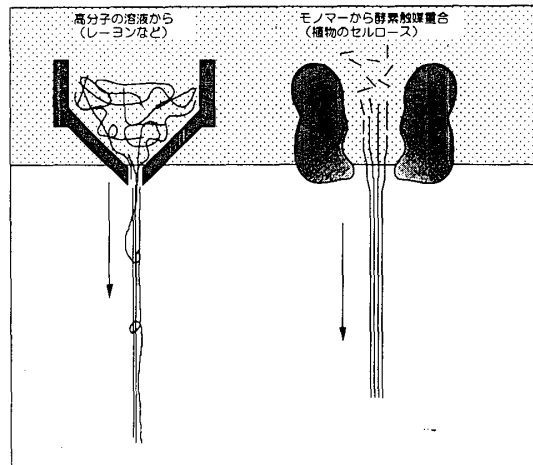


図1 天然セルロースと人造繊維の繊維形成のメカニズムの違いを示す模式図

がある。顕微鏡の像から判断すると、後者のモデルが適当と思われるが、それではなぜ加水分解によって一定の重合度に落ち着くのかの説明できていない。

木材のセルロースマイクロフィブリルは、木質の物性発現の基本であるが、数多い天然セルロースのなかでも最も小径で、筆者の結晶を対象とした解析法では最も手強い相手である。その意味では個人的に二次壁新生面のレプリカ観察には期待が大きく、フィブリル束の配向ゆらぎや捻れ、また空隙について計量的な情報が得られることを期待している。このような直接的な方法とは異なるが、一つの間接的な試みとして、様々な起源のセルロース構造の比較検討から木材のマイクロフィブリル構造を演繹できないかと考えている。

2. 合成のメカニズム

セルロースが合成・結晶化する様子を人造繊維の形成機構と比較したのが図1である。レーヨン等の再生繊維は、一度高分子を溶解したのち、凝固浴に投入・延伸されて繊維となる。この過程では分子鎖同志の絡み合いを防ぐことが困難なので、分子の絡まった部分が繊維内に残ってしまう。つまり欠陥部なしに均一に結晶化することができない。一方天然セルロースの場合は、酵素によってモノマー (UDP-グルコース)⁴⁾が逐次重合、結晶化すると考えられるので、溶液状態を経ることなく結晶化していくのだろう。

セルロース結晶については実験と理論計算から、繊維方向の弾性率は100-150 GPaと言われている。金属ではアルミニウムが約400 GPa、鉄が約200 GPaであるが、セルロースの密度 (1.59g/cm³) が金属の約十分の一であることを考慮すると、その弾性率は金属に匹敵する。防弾チョッキ、スキー板、パラシュートなどに使われている高性能繊維材料 (ケブラー) が120 GPaであることと比較してもセルロース結晶が弾性率に関して優れていることが理解できる。このように軽さの割に繊維方向にすぐれた性能を持つ原因は、分子鎖同志の絡まりがなく直鎖状に伸びきっているためである。そしてそれは上述の逐次重合、結晶化のプロセスの賜物である。

セルロース合成酵素は原形質膜上に存在し、合成酵素複合体 (TC) と呼ばれている。TCの形状には、ロゼット形と直線形の2種類が知られており、前者は高等植物、コケ、シダさらには淡水藻の仲間に、また後者は海藻の仲間に広く見られている。植物の進化との関連で考えると、前者はより進化した植物群に見られることが明らかになっている^{5,6)}。

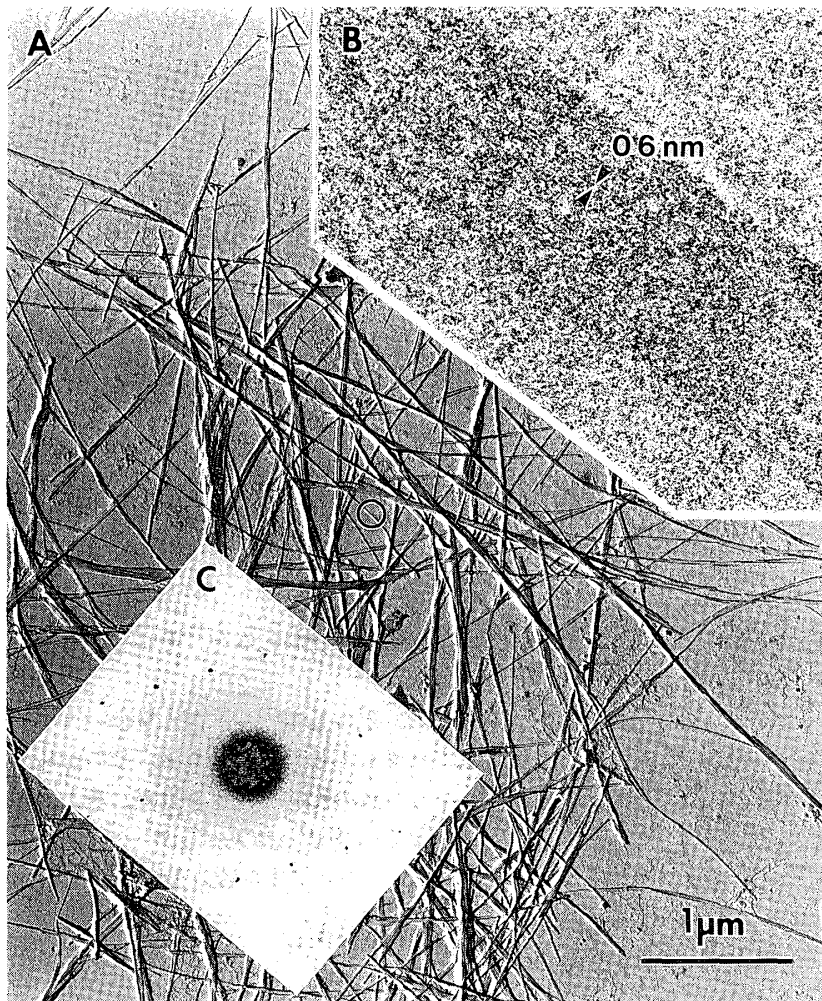


図2 細胞壁より解離したバロニアのマイクロフィブリル(A)とその一本の格子像(B) ならびに微小部電子回折図(C)

3. ミクロフィブリル

マイクロフィブリルの太さはより下等な植物の方が大きいことが知られている⁵⁾。とはいっても、直径2センチの球形の単細胞緑藻のバロニアで、それが約20ナノメートルの太さであるから、あまり太いとはいいがたい。一個の細胞を地球にたとえれば、一本のフィブリル断面は一辺10数メートルの矩形に相当し、それはちょうど新幹線の高架橋ほどの構造物が地球を隙間なくぐるぐる巻きにしているのに相当する。図2のAに、細胞壁から精製・単離したマイクロフィブリルを示す。断面は木材の20倍程度あり、得られる回折情報も多いため、構造解析に古くから頻繁に用いられてきた。現在、市販の電子顕微鏡を用いるとセルロースの分子がマイクロフィブリルの内部に数オングストローム間隔で並んでいる様子を可視化することができる。そのような像を結晶格子像⁷⁾と呼び、その一例を図2のBに示した。このような写真から、マイクロフィブリル内で1200本もの分子鎖が極めて整然と充填されていることがわかった⁷⁾。同様の写真は、高等植物のラミーからも得られ⁸⁾、生物種によって分子鎖の数が違うことが確認された。木材からは、残念ながらこういう高解像度の像は得られていない。

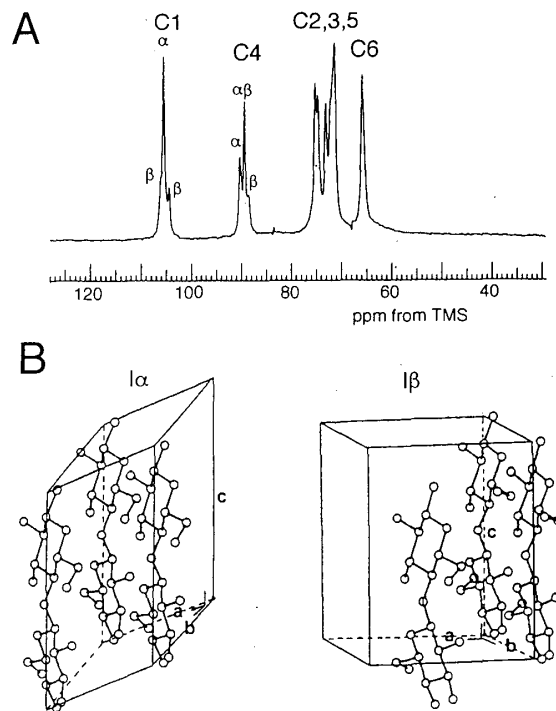


図3 ショグサの ^{13}C CP/MAS NMR スペクトル(A) 並びに微小部電子回折より提案された I_α と I_β に対応する単位胞モデル(B)

4. 結晶構造

セルロースの結晶モデルは、1974年にBlackwellら⁹⁾とSarkoら¹⁰⁾が提案した平行鎖モデルが一般的である。Meyer-Misch¹¹⁾は数多くの教科書に掲載された有名なモデルではあるが、逆平行鎖を採用している点と、それ以前にMeyer-Mark¹²⁾が平行鎖を提案しているという2点で、ドイツの結晶学者の間では、受け入れられていないらしい¹³⁾。

様々な結晶モデルが報告されてきた背景には、X線や電子回折のデータが生物種により異なること、結晶の大きなもの(例えば海藻)を試料に選んだとしても、回折情報が絶対的に不足しているということがある。Blackwellら⁹⁾とSarkoら¹⁰⁾が新しいモデルの提案に成功したのは、回折強度に対する精密化とエネルギー計算とを併用したためだろう。

80年代には、多くのセルロースについて固体核磁気共鳴スペクトル(図3 A)が得られるようになって¹⁴⁻²⁰⁾、構造研究の新しい局面をむかえることになる。つまり、天然セルロースIは I_α と I_β の混合物であり、その比率が生物種によって異なるという提案である。図1は海藻の結晶成分のスペクトルである。ここに、 C_1 と C_4 の炭素の共鳴線に関して I_α と I_β の帰属を示してあるように、 I_α 成分の多いタイプのセルロースであることが分かる。一方、ホヤセルロースのスペクトルには I_α に相当する成分がほとんど見られない¹⁹⁾。このように大別すると I_α が過半数をしめる海藻・バクテリアタイプと I_β を多く含むコットン・ラミータイプに分けられることが明らかになった¹⁴⁻¹⁶⁾。また220度以上の水蒸気処理により、 I_α は I_β に不可逆的に構造変態する^{17,18)}ことから、 I_β は I_α よりも熱力学的により安定と考えられている。

海藻のセルロースマイクロフィブリル1本から電子回折図を撮影すると、図2Cに示したような、Meyer-

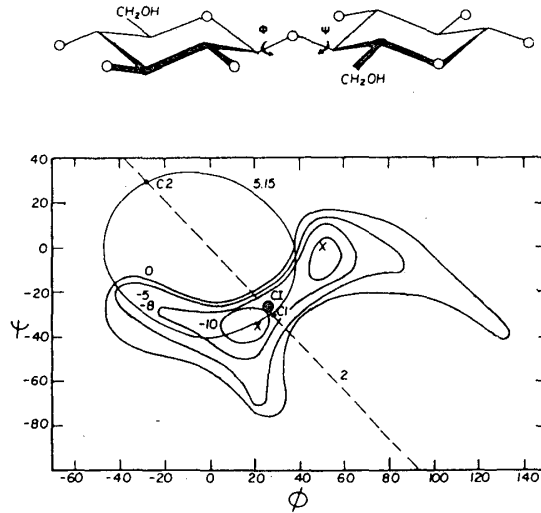


図4 セルロースの Φ - Ψ ポテンシャルエネルギーマップ。対角線方向の波線で添字2のものが2回らせんを満足する Φ - Ψ のコンフォメーション角の組み合わせに相当(文献¹⁰⁾より改変)。×印は最もエネルギーの低い部分。C1とC2は繊維周期のピッチが0.515 nmで2回らせんを満足する地点。C1は実験的に得られた繊維周期で、2回らせんを満足させたときのCellulose Iとしての最適点。エネルギー最小値の間のプラトーにあることに注意

Mischタイプの単位格子内に分子鎖を2本含む単位胞では説明できないパターンを得ることができる。アミモヨウという海藻のパターンを解析した結果、この I_α と I_β に対応する結晶モデルとして、図3Bに示すような1本鎖の三斜晶と2本鎖の単斜晶の単位胞²¹⁾が提案された。

その後、 I_α と I_β の存在はFT-IR²²⁾やX線回折^{23,24)}によっても判断できることが明らかとなり、海藻-バクテリア型は I_α リッチであり、コットン-ラーミー型は I_β が優先的であることが追試、証明された。ただし結晶性に乏しい木材は回折法では三斜晶を検出できない²⁴⁾が、NMRでは未精製試料に I_α が相当量あり、高温水蒸気処理によって I_β が優先的な構造に遷移するという報告²⁰⁾がある。また回折、赤外線吸収、固体NMRの手法を用いて広葉樹のゼラチン層と木化壁のセルロースを比較したところ、ゼラチン層も木化壁も、結晶性やフィブリルサイズに差があるものの、いずれも I_β が優先的であることが示されている²⁵⁾。また顕微赤外スペクトロスコピーにより一次壁 I_α が、で二次壁が I_β であるという説²⁶⁾も提案され、最近議論が盛んになってきている。

5. ミクロフィブリルの面配向

バロニアなどの海藻の細胞壁内では、ミクロフィブリルの(110)面が細胞壁表面に対して平行に配向²⁷⁾していることが古くから知られている。このような配向が観察されるためには、第1に大部分のミクロフィブリルが同じように配向していることと、第2に個々のミクロフィブリルが振じれないことが条件である。したがって、フィブリル径が大きく、また長方形の断面をした剛性の高いフィブリルによく見られ、それらは下等な植物に多く見られる。

高等植物になると選択的な配向挙動は失われるが、その理由として個々のミクロフィブリルが振じれていると考えるのが適当と思われる。

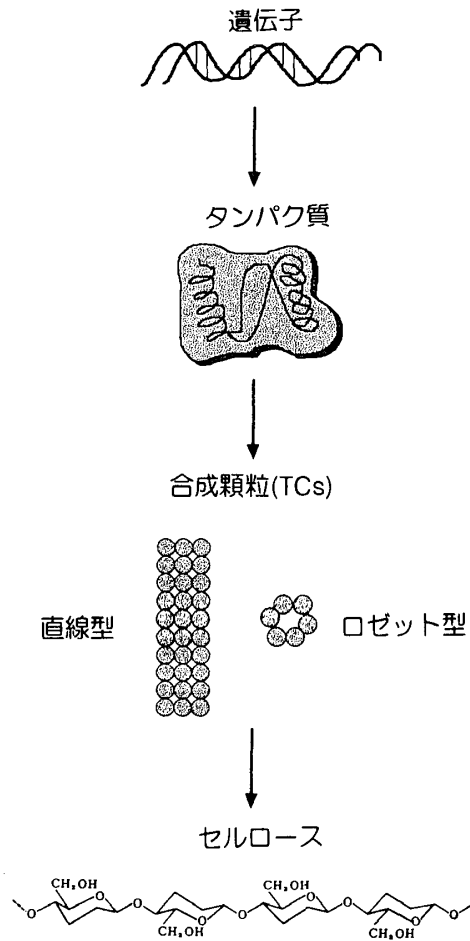


図5 遺伝子からマイクロフィブリル形成までの主要なステップを示す模式図

教科書的に、セルロース分子は、グルコースが β -(1,4)-結合した直鎖状の分子で、結晶内部で2回らせん軸をもつと述べられている。ところがパッキングエネルギー計算^{たとえは¹⁰⁾}、分子動力学計算²⁸⁾での、エネルギーミニマムは、2回らせんのコンフォメーションから離れたところに存在することが明らかになっている(図4)。これは、グリコシド結合する隣接グルコース残基のC4とC1のプロトン同士のショートコンタクトのためであり、その結果、セルロース分子は2回らせんから少しずれた(分子をリボンと仮定するとそれが少しづつ振じれていくような)状態が安定と考えられる。

すなわちマイクロフィブリルが細い場合は、分子鎖間の疎水的また水素結合による束縛が、フィブリルが大きい場合に比べて小さく、前述したショートコンタクトを解消するように、フィブリル全体が緩く振じれるのではないかと予想される。

6. ミクロフィブリル構造と生物の多様性

生物の多様性を論じる際に、いわゆる進化学が生物の形態を根拠として各生物グループの間の類縁に注目してきたのに対して、最近の進化学、特に分子進化学では類縁の根拠は生物のもつ様々な分子の構造に求められる。なかでも重要なのが遺伝子の塩基配列に基づく方法である。遺伝子からセルロースへの大きな道筋を図5に示した。図より明らかなようにセルロース合成遺伝子、蛋白質合成、原形質膜上でのTC

の形成、最後にUDP-グルコースを前駆体とした酵素触媒重合ならびに結晶化、というように多段階の生物学的なプロセスを経てセルロースが合成されている。どのプロセスがセルロースの構造に影響し、またどのプロセスが系統進化に密接かが明らかでない現状では、セルロースの構造から直接的に系統進化を論ずるのは難しい。ただし、前述したようなフィブリルの大きさや結晶構造また配向といった構造変動は、ホヤ類の種の分類には有用であった²⁹⁾。また高等植物など独立栄養のものはセルロース、カビなどの従属栄養のものはキチン、自ら摂取する動物は蛋白繊維と、生物界で微細繊維が選択的に用いられていることは明らかである。

いずれにせよ、セルロース合成のプロセスは、人がクモの糸をひく機構から多くを学んだように、新しい繊維材料創出の可能性を含んでいると思う。ただ単純に数多くのセルロースの構造を調べるだけの博物学的な研究にとどまらずに、生物の機能や合成機構解明に役立つ構造学に発展することを期待する。またセルロースマイクロフィブリルモデルは、原子の位置が決定されたというのではなく、生物のもつ「ゆらぎ」構造を巧みに盛り込んだものでなければと思う。例えば「振じれ」はその一つかもしれないと考える。

文 献

- 1) Kataoka, Y.; Saiki, H., Fuhjita, M.: *Mokuzai Gakkaishi*, 24, 327 (1992)
- 2) 太田章介, 藤田稔, 佐伯浩: 第45回木材学会大会要旨集, p.23 (1995)
- 3) 太田章介, 藤田稔, 佐伯浩: 第46回木材学会大会要旨集, p.509 (1995)
- 4) Carpita, N.C., Delmer, D.P.: *J. Biol. Chem.*, 256, 308 (1981)
- 5) 伊東隆夫: 木材研究・資料, 21, 1 (1991); 木材学会誌, 37, 775 (1991)
- 6) Brown, R. M. Jr.: *J. Cell Sci. Suppl.*, 2, 13 (1985)
- 7) Sugiyama, J., Harada, H., Fujiyoshi Y., Uyeda, N.: *Mokuzai Gakkaishi* 30, 98 (1983)
- 8) Kuga, S., Brown, R. M. Jr.: *J. Electr. Microsc. Tech.*, 6, 349 (1987)
- 9) Gardner, K.H.; Blackwell, J.: *Biopolymers*, 13, 1975 (1974)
- 10) Sarko, A.; Muggli, R.: *Macromolecules*, 7, 486 (1974)
- 11) Meyer, K.H., Misch, L.: *Helv. Chem. Acta*, 20, 232 (1937)
- 12) Mark, H., Meyer, K. H.: *Z. Phys. Chem.* B2, 115 (1929)
- 13) Zugenmeier, P.: personal communication
- 14) Atalla, R.H.; VanderHart, D.L.: *Science*, 223, 283 (1984)
- 15) VanderHart, D.L.; Atalla, R.H.: *Macromolecules*, 17, 1465 (1984)
- 16) Horii, F.; Hirai, A.; Kitamaru, R.: *Macromolecules*, 20, 2117 (1987)
- 17) Horii, F.; Yamamoto, A.; Kitamaru, R.; Tanahashi, M.; Higuchi, T.: *Macromolecules*, 20, 2946 (1987)
- 18) Yamamoto, H.; Horii, F.; Odani, H.: *Macromolecules*, 22, 4130 (1990)
- 19) Belton, P.S.; Tanner, S.F.; Cartier, N.; Chanzy, H.: *Macromolecules*, 22, 1615 (1989)
- 20) Tanahashi, M.; Goto, T., Horii, F., Hirai, A., Higuchi, T.: *Mokuzai Gakkaishi* 35, 654 (1989)
- 21) Sugiyama, J.; Vuong, R.; Chanzy, H.: *Macromolecules*, 24, 4168 (1992)
- 22) Sugiyama, J.; Persson, J.; Chanzy, H.: *Macromolecules*, 24, 2461 (1991)
- 23) Wada, M., Sugiyama, J., Okano, T.: *J. Appl. Polym. Sci.* 49, 1491 (1993)
- 24) Wada, M., Sugiyama, J., Okano, T.: *Mokuzai Gakkaishi* 40, 50 (1994)
- 25) Wada, M., Sugiyama, J., Okano, T.: *Cellulose* 2, 223 (1994)
- 26) Kataoka, Y., Kondo T.: *Macromolecules*, 29, 6356 (1996)
- 27) Preston, R.D.: "The physical biology of plant cell walls", Chapman and Hall, London, 1974
- 28) 田中文男: 私信
- 29) 岡本和己: 京都大学農学研究科修士論文 (1996)