

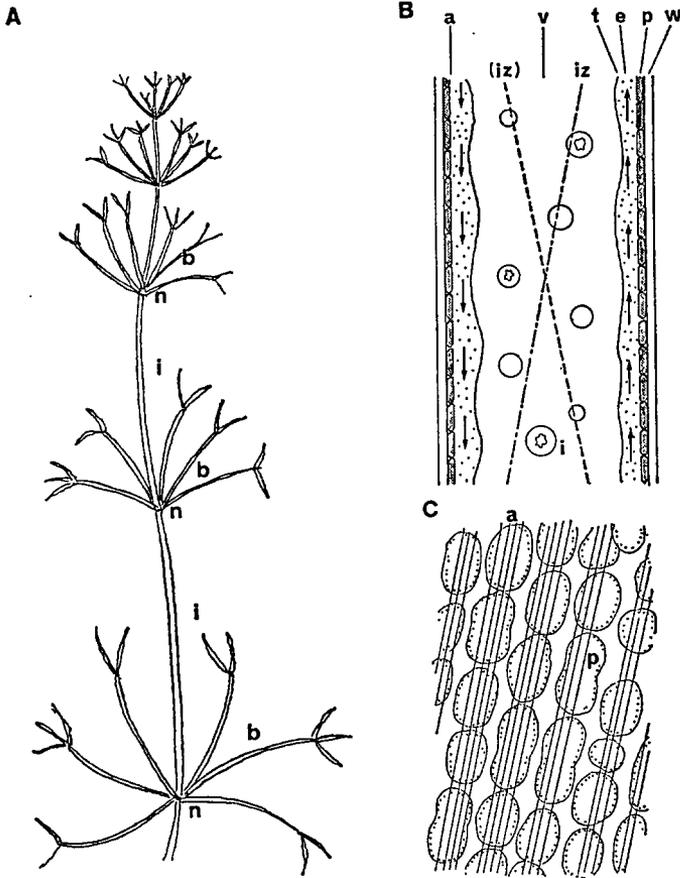
# 遠心加速度場における 車軸藻類節間細胞の原形質流動

上 坪 英 治

## 1 車軸藻類節間細胞の原形質流動

車軸藻類節間細胞<sup>1)</sup>の原形質流動は、細胞皮層部に付着・配列する葉緑体の内側（流動細胞質<sup>2)</sup>と接する側）表面（図 1, B）で発生するずれの力によっておこる [1]. 力の方向は葉緑体列に平行である。葉緑体列表面には、直径約 0.1  $\mu\text{m}$  の原形質繊維が葉緑体 1 列当たり 4~5 本の割合いで付着・配列している（図 1, C） [2] [3] [4]. この繊維構造は流動原動力発生座（動因座）の形態的実体であり、流動にとって不可欠である [4] [5]. 動因座繊維または皮層下繊維（subcortical fibrils: 以下 scf）と呼ばれる。scf はそれぞれ 50~100 本の微繊維（直径約 5 nm）の束である [3]. 1974 年、微繊維はアクチン繊維と同定された [6] [7]. 一方、細胞の部分温度処理などの実験から、流動細胞質中に第二の要素の存在が示唆され、動因座繊維との相互作用によって流動がおこると考えられた [8]. 第二の要素はミオシンであり、アクチン繊維に対して滑るのであろう、と推論された [4]. 1975 年、フラスモ (*Nitella*) からミオシンが抽出された [9]. また、NEM や温度処理実験<sup>3)</sup>によって、第二の要素（ミオシン）の流動への関与が研究された [10] [11]. 1983 年、Sheetz らはウサギの骨格筋ミオシンを結合させたラテックス・ビーズを液胞膜除去<sup>4)</sup>した *Nitella* 節間細胞内に入れた。ビーズはアクチン繊維上を 1~5  $\mu\text{m/s}$ <sup>5)</sup>で動いた [12] [13]. したがって、車軸藻類節間細胞の原形質流動は、細胞皮層部に固定されたアクチン繊維束 (scf) に対し、細胞質中のミオシンが滑るこ

図1 車軸藻類・節間細胞・動因座



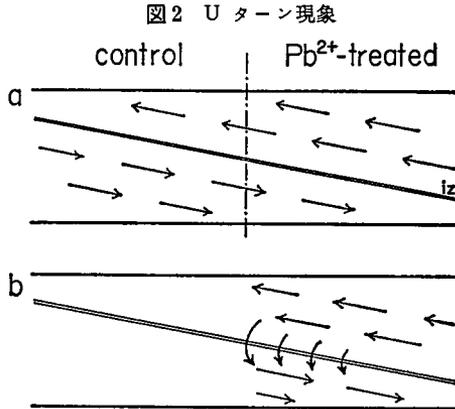
A. 藻体の上部(下部および仮根は省略) n: 節, i: 節間細胞, b: 小枝  
 B. 節間細胞の一部の正中縦断面(模式図) w: 細胞壁, p: 葉緑体, e: 流動細胞質, t: 液胞膜, v: 液胞, a: 動因座繊維の付着・配列部位, iz: 中立線(対物レンズ側)(iz): 中立線(コンデンサー側)  
 C. 節間細胞動因座の一部(顕微鏡写真から改写) p: 葉緑体(長径約10 $\mu$ m) a: 動因座繊維(scf)

とによっておこる——原理的にはヒトやカエルの骨格筋の収縮と同じ——と考えられるようになった。ただし、アクチン・ミオシンの滑りのメカニズムをはじめ、細胞質中のミオシンの存在様式、流動の制御の機構、その他、まだ多くの難問が未解決である [14]。

## 2 電気刺激による流動停止と架橋構造仮説

車軸藻類節間細胞の原形質流動は、種々の物理的・化学的処理により可逆的に停止させることができる。細胞を電氣的に刺激すると流動は瞬間的(0.5秒以内)に停止し、徐々に回復する[15]。刺激によって細胞膜が興奮(活動電位が発生)し、これにともない $\text{Ca}^{2+}$ が細胞内に流入する[16]。この $\text{Ca}^{2+}$ の増加[17]が流動停止の原因であるとされている[18][19]。では、流動停止の時点で動因座繊維(scf)およびその近傍で如何なることがおきているのであろうか。Nomarski 微分干渉顕微鏡<sup>6)</sup>による観察では、流動停止の時点で、scf それ自体の形態変化は認められない。しかし、分子 level または電子顕微鏡 level では scf とそれに接する細胞質との間に一時的な架橋構造が形成され、同細胞質は“immobilize”されるらしい。その根拠は次の実験結果[20]による。

*Nitella* または *Chara* などの車軸藻類節間細胞を薄い(3 mM)酢酸鉛水溶液で1~数分間処理すると、細胞は電気刺激によって活動電位を発生するが流動は停止しなくなる。すなわち、無処理細胞でみられる興奮—流動停止の連関が絶たれる。*Nitella* 節間細胞の一部(全表面積の50~90%)を鉛処理したのち、処理域と無処理(対照)域の境界部分を検鏡すると、流動速度・葉緑体の形態その他について両域間にいかなる差異も検出されない(図2, a)。つぎに、この細胞を電気刺激すると、無処理域の流動は瞬時に停止するが鉛処理域の流動は正常に続く。しかし、処理域の細胞質は対照域に流入することができず、あたかも処理・対照両域境界でせき止められたようになり、中立線(図2, a iz)を越えて反対側の流れに入る(Uターン現象)(図2, b)。Uターン現象は電気刺激の直後——対照域の流動停止と同時に始まり、同域の流動回復に伴い消える。流動停止の時点で、対照域 scf と scf に接する細胞質との間に架橋構造が形成されるとすれば、それは処理域細胞質の対照域への流入に対し大きい抵抗となる筈である。同構造は対照域 scf を遮蔽し、細胞質との相互作用を阻止する。このため処理域細胞質は対照域へ流入不能となる、とも言えよう。こ



a. 電気刺激前 control: 無処理(対照)域,  $Pb^{2+}$ -treated: 鉛処理域, iz: 中立線  
 b. 電気刺激直後 矢印は細胞質の流動方向, 説明は本文.

の架橋構造仮説は、細胞を遠心加速度場において電気刺激すれば、より明確に示すことができると考えられる。つまり、刺激直後、scf に接する細胞質は流動停止後そのまま同じ位置にとどまり、bulk の細胞質は遠心力によって遠心方向に落下すると予想される。もし架橋構造が形成されないとすれば、刺激による流動停止の直後、bulk 細胞質のみならず scf に接する細胞質も共に遠心端へ落ちる筈である。細胞質の密度が細胞液の密度より大きいためである。

### 3 遠心加速度場における *Nitella* 節間細胞の原形質流動

前述の架橋構造仮説を検証するため、ストロボスコープ型遠心顕微鏡 [21] [22] が試作され、予備的な観察がおこなわれた [23]. 試作機の使用経験をもとに、光学性能その他に大幅な改良をほどこした新型高性能遠心顕微鏡 (centrifuge microscope: CMS-II) が製作された。新型機を用い、遠心加速度場における *Nitella* 節間細胞の原形質流動および電気刺激の前後における細胞質の挙動が観察された [24]. 以下、そのあらましを述べる。

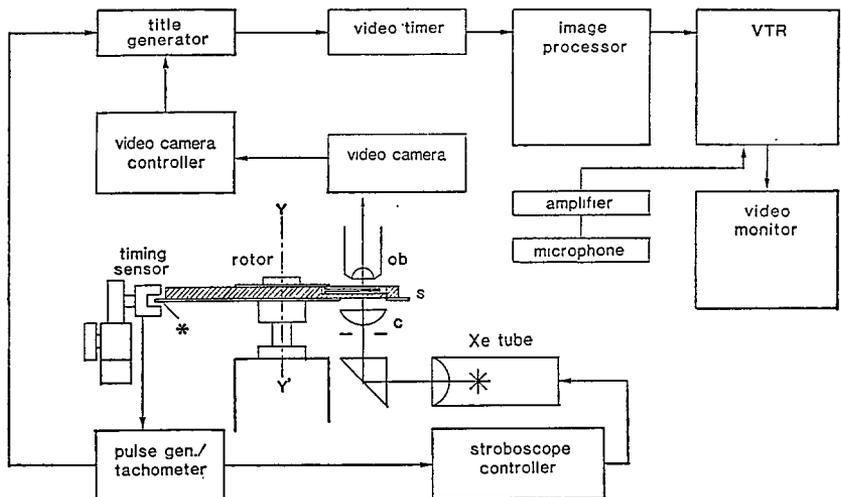
#### 材料と方法

1) 材料: ミルフラスモ *Nitella axilliformis* の節間細胞 (長さ 2~2.5 cm. 直

径 300~400  $\mu\text{m}$ ). 観察のための光学条件を良くするため, “窓明け法” [5] によりあらかじめ細胞の長さの中間に直径約 250  $\mu\text{m}$  の円形の葉緑体除去部 (“窓”) をつくる. 細胞は, 窓明け後少くとも 1 週間人工池水 (artificial pond water: APW, KCl, NaCl,  $\text{CaCl}_2$  を各 0.1 mM 含む) 中で培養され, 実験に用いられた. この間, 窓部の皮層ゲルに動因座繊維 (scf) が再配列し, 流動は完全に回復する. 細胞は, APW を満たした遠心容器 (アクリル製, 外寸長・幅・厚 33 $\times$ 20 $\times$ 3 mm, 内寸 30 $\times$ 10 $\times$ 1 mm) に入れ, scf が遠心加速度の方向と 15~35 $^\circ$  をなすようにセットする. これによって, scf 近傍の細胞質および bulk の細胞質の挙動をそれぞれほぼ同時に観察することができる.

2) 遠心顕微鏡: ストロボスコープ型 CMS-II は, ローター・同駆動装置, 顕微鏡光学系, ストロボ光源・同コントローラー, タイミングセンサー・パルス発生装置兼電子回転計, ビデオカメラ・画像処理装置・VTR 系より成る (図 3). 仕様と性能の主なもの次のとおり. ローター系: ローター有効遠心

図 3 CMS-II の全体の構成図



対物レンズ (ob) 直下の試料 (s) の位置を timing sensor で検出し, 電気信号をパルス発生回路 (pulse gen.) に送る. 同回路は trigger pulse をストロボ制御装置に送り, 同装置はキセノン放電管 (Xe tube) を発光 (180 ナノ秒/パルス) させる. ストロボ光はコンデンサー (c) によって集光され, 臨界照明法により試料を照射する. 試料の対物レンズ一次像はビデオカメラにより撮像され, コントラスト増強・画像処理を受けたのちモニター・録画される.

半径 45~70 mm (可変), 回転数 250~5000 回/分 (得られる遠心加速度は約 4~1900×g). 顕微鏡光学系: 対物レンズは主に Nikon CF 40×C/0.55 LWD を用いた. コンデンサーは Nikon LWD NA 0.65. 光源: キセノン放電管 180 ナノ秒/パルス (菅原研究所). ビデオ系: ビデオカメラ C 2847 "Super eye" (浜松ホトニクス), 画像処理 イメージ Σ・II (日本アビオニクス), 録画 U 規格VTR VO-9600 (ソニー). CMS-II の詳細は文献 [24] [25] を参照のこと.

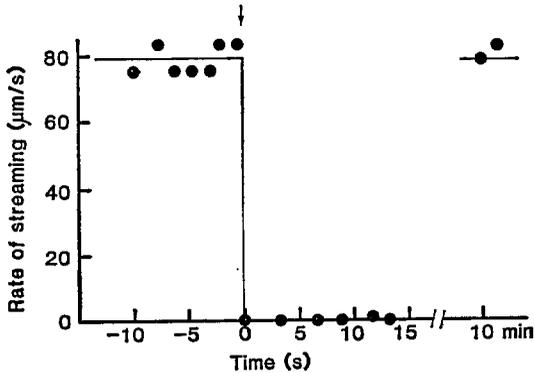
3) 電気刺激: 圧電素子火花放電による非接触電気刺激法を新たに開発した. これによって高速回転中の細胞を確実に, また繰り返し興奮させることが可能となった. なお, この方法は細胞になんらの悪影響を与えないことを確かめた. 実験は全て室温 (22-23°C) でおこなわれた.

## 結 果

CMS-II を用い, *N. axilliformis* 節間細胞を長軸方向に約 50~100×g (約 850~1200 回転/分), 900×g (約 3500 回転/分) で遠心し, かつ, 遠心中に電気刺激を加えた. 遠心加速度場における scf 近傍および bulk の細胞質の挙動を video-enhanced contrast 顕微鏡光学系により観察・記録し, 反復再生して解析した. 以下, 結果を述べるが, 便宜上細胞の求心方向への流動を求心流, 同じく遠心方向への流動を遠心流と呼ぶ. また, 流動の観察は窓部においておこなうが, scf は 40×対物レンズでは直接観察できない. このため, Nomarski 微分干渉顕微鏡 (対物レンズ 100×/1.25) を用い, 事前に scf の配列の様子・方向を調べた. 通常, 窓部における scf は窓外の葉緑体列に平行, かつ約 2 μm 間隔で配列し, 流動は全く正常である.

### 1) scf に近接して流動する細胞質の電気刺激前後の挙動

50~100×g 程度の比較的弱い遠心加速度下に, 細胞窓部 scf に接する細胞質の流動は, 求心流・遠心流ともに scf の配列方向と平行であり, 流速も約 80 μm/s で対照と等しかった. 電気刺激をおこなうと, 流動はほぼ瞬間的 (<約 0.5 秒) に停止し, 数秒~10 数秒後徐々に再開しはじめ, 約 10 分後完

図4 100×g 下の *Nitella* 節間細胞の流速

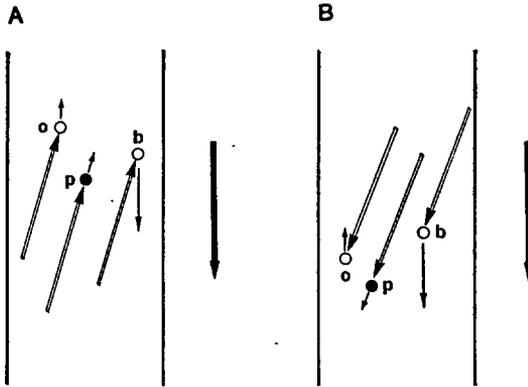
時間0で電気刺激, 説明は本文.

全に回復した(図4). この経過は, 通常の地球の重力(1×g)下における場合とほとんど同じである. なお, scfの極く近傍を流れていた遊離葉緑体や核などは, 電気刺激によって瞬間的に停止し, 数秒間, しばしば10数秒間, 完全に静止したのち徐々に動きを再開する(図5, A・Bのp). その再開は, 周囲の基質細胞質の流動の再開より遅れる場合が少なくない.

## 2) 電気刺激前後における bulk 細胞質の挙動

50~100×g程度の遠心加速度下では, bulk細胞質はscfと平行に流動し, その速度は求・遠心両流ともにscf近傍の細胞質の流速と等しかった. 求心流の減速・遠心流の加速は観察されなかった. 流動するbulk細胞質中に含まれる顆粒の相互位置は一定に保たれていた. 電気刺激をおこなうと, 求・遠心両流ともに瞬間的に停止した. 次の瞬間, 求心流bulk細胞質は遠心方向へ遠心加速度の方向と平行に流れ落ち(図5, Aのb), 遠心流bulk細胞質も遠心方向へ流れ落ちた(図5, Bのb). bulk細胞質中の密度の小さい顆粒(小油滴など 図5, A・Bのo)は, 流動停止の直後, 遠心加速度の方向と平行に求心方向に移動(浮上)するのが観察された. scf近傍の細胞質の流動回復にともない, bulk細胞質の流動も回復した. 約10分を要した.

## 3) 強い遠心加速度下の scf 近傍の流動

図5 50~100×g 下の *Nitella* 節間細胞の原形質流動 (模式図)

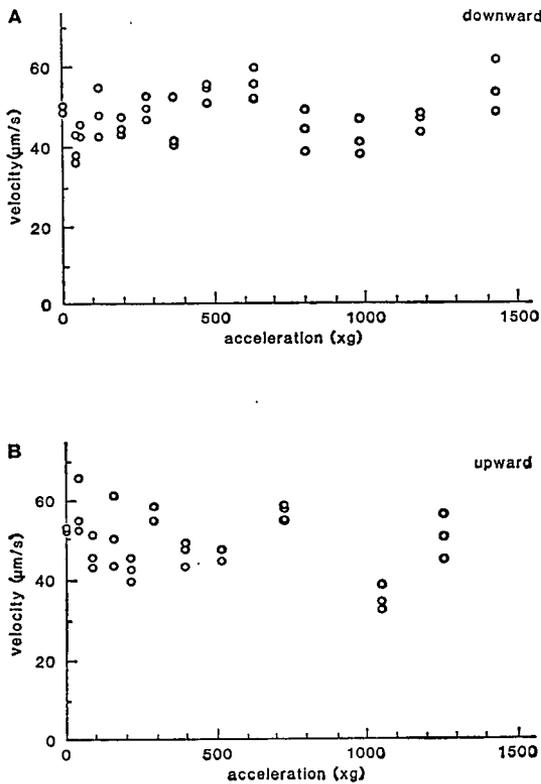
A. 求心流, B. 遠心流, 太い矢印: 遠心加速度の方向, 白抜き矢印: 電気刺激前の流動, 黒矢印: 電気刺激後の細胞質の動き, p: 動因座線維近傍の細胞質, b: bulk 細胞質, o: bulk 細胞質中の小油滴

細胞を約 250×g・30 分間遠心処理すると, bulk 細胞質の大部分が細胞遠心端に落ちて集積する. その結果, 窓部における求・遠心流の細胞質の厚さはいずれも数  $\mu\text{m}$  以下となる. このように前処理した細胞を更に 900×g で遠心すると, bulk 細胞質はほとんど観察されないが, scf に接して薄い細胞質層が依然, 求心・遠心両方向ともに流動を続けていることがわかった. この細胞質薄層中には細胞質顆粒が少なく, そのため流速の測定はおこなわれなかった. しかし, この細胞質薄層の動きは, ビデオカメラ C 2847 の映像信号リアルタイム微分処理により Nomarski 光学系の微分干渉像と同様な shadow-cast 像として判然と観察された. その結果, 問題の薄層の流動方向は scf と平行であり, 流速の著しい変化(求心方向の減速・遠心方向の加速)はほとんど観測されなかった. 電気刺激をおこなうと求・遠心両流とも瞬間的に停止し, 細胞質の“immobilize”状態は数秒~10 数秒間つづき, しかるのち徐々に流動が再開した. 完全な回復には約 10 分を要した.

ごく最近, 比較的光学条件の良い無処理正常節間細胞を選び, 原形質流動におよぼす遠心加速度の影響を再検討した. その結果, scf 近傍の細胞質の流速は, 50~1500×g の範囲で対照とほぼ等しく, 求心流の減速・遠心流の加速の

いずれも観測されなかった (図 6, A・B) [26].

図 6 遠心加速度と *Nitella* 節間細胞 scf 近傍の原形質流動速度



- A. 遠心流におよぼす遠心加速度の影響  
 B. 求心流におよぼす遠心加速度の影響

## 考 察

約 50~100×g の比較的弱い遠心加速度下のみならず, 900×g の強い遠心加速度下においても, scf 近傍の細胞質の流動方向が scf に平行であることは, scf が流動原動力発生座 (動因座) の形態的実体であることを更に確認したことになる。

50~100×g, 900×g の遠心加速度場においても, 電気刺激によって流動が

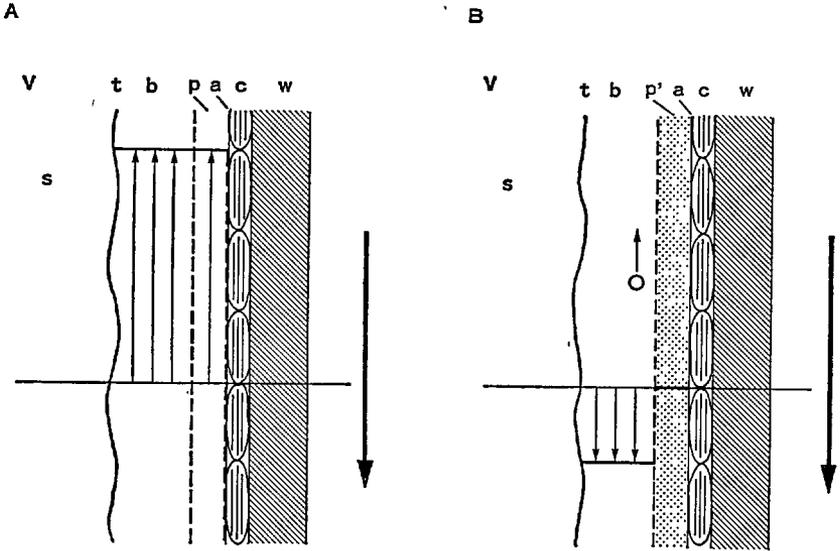
停止することは、今回はじめて得られた知見である。また、遠心加速度下であっても、scf に接する細胞質が刺激による流動停止後数秒～10 数秒その位置に停留すること (“immobilization”) は、架橋構造仮説が妥当であることを意味する。なんとなれば、scf に接する細胞質の密度は bulk 細胞質の密度 ( $1.014 \sim 1.015 \text{ g/cm}^3$ ) [27] と等しく、細胞液の密度 ( $1.010 \text{ g/cm}^3$ ) [27] より大きい。したがって、scf との間に架橋構造が形成されなければ、細胞質は全て遠心方向に滑り落ちる筈である。事実、その後筆者らがおこなった実験結果はつぎの通りである [28]。あらかじめ葉緑体を部分的に除去した節間細胞を遠心加速度場におくと、葉緑体配列域では求・遠心両方向の流動がつづき、電気刺激によって停止するが、葉緑体 (scf) 除去域においては、細胞質は遠心方向へ受動的に流され、電気刺激によって停止しない。ちなみに、除去域の細胞質中に落ちこみ受動的に流されつつある遊離葉緑体の自転運動は、電気刺激によって停止し、徐々に回復する。この葉緑体の表面に付着しているアクチン繊維と周囲の細胞質 (に含まれるミオシン) との間に架橋構造が形成されたことを示唆する。

Tazawa と Kishimoto (1968) [15] は、*Chara* 節間細胞を用い液胞灌流法による流動原動力測定をおこない、電気刺激にともなう流動停止は原動力の一時的消失のためであると結論した。しかし、scf に接する細胞質が immobilize するという事実から判断すれば、むしろ、原動力測定が一時的に不可能となる、というべきであろう。なお、immobilization の実体、すなわちアクチン繊維と細胞質 (に含まれるミオシン) との架橋の微細構造については、電子顕微鏡による検討を進めつつある。

50～100×g の遠心加速度下で、bulk 細胞質は scf と平行に流動し、かつ、細胞質中に含まれる顆粒の相互位置が一定に保たれることは、bulk 細胞質が一体となって流動し、その中に速度勾配がない (ずり応力がない) ことを意味する。したがって bulk 細胞質の粘度はかなり高いといえる (cf Kamitsubo et al [29])。また、電気刺激前、bulk 細胞質が scf 近傍の細胞質と等速で流動する理由は、両者の界面 (図 7, A b-p の界面) にかかるずり応力が、細胞

質の降伏値 (約  $5 \text{ dyne/cm}^2$ ) [29] より充分小さい (約  $0.01 \sim 0.02 \text{ dyne/cm}^2$ ) からであると考えられる。では、電気刺激の直後、bulk 細胞質全体が遠心方向へ流れ落ちるのは何故であろうか。

図7 100×g 下の *Nitella* 節間細胞求心流の profile (模式図)



A. 電気刺激前, B. 電気刺激直後

w: 細胞壁, c: 葉緑体列, a: scf (動因座アクチン繊維, “窓”では細胞膜を裏打ちする薄い皮層ゲルに直接附着する), p: scf に近接する細胞質, b: bulk 細胞質, p': 電気刺激直後 “immobilize” した細胞質, t: 液胞膜, o: 小油滴, v: 液胞, s: 細胞液。太い矢印: 遠心加速度の方向; 細い矢印細胞質の流速。説明は本文。

現在、まだその機構は不明であるが、電気刺激による流動停止直後、bulk 細胞質の粘度は大幅に低下するらしい。その根拠の一つは、刺激前まで一体となって運動していた bulk 細胞質中の油滴が、流動停止後、求心方向へ移動 (浮上) する事実である。Tazawa らの灌流法による流動原動力測定実験 [15] においても、電気刺激後、極めてゆるやかな灌流 (ずり応力にして  $0.01 \text{ dyne/cm}^2$  以下) によって細胞質が動く、と記述されている。彼らは、それ故、この時点での流動原動力が小さいと結論した。しかしこれは、他ならぬ bulk 細胞質自体を指標とした観測であったから、やはり、bulk 細胞質の粘度低下とみるべきであろう。最近われわれは次のような観察をおこなった [30]。長さ約

10 mm の若い節間細胞を CMS-II によって遠心すると、約 250×g で大部分の bulk 細胞質が細胞遠心端に集められ、液胞との界面は遠心加速度の方向に対し“水平”（鉛直）となる。ただし、scf 近傍の細胞質の流動はつづいている。加速度を 100×g まで急速に下げると、集積された bulk 細胞質は直ちに遠心・求心両方向へ流動をはじめ、このため bulk 細胞質と液胞との界面の profile は“tan  $\theta$  曲線”状となる。このとき電気刺激を加えると、界面は急激に（約 1 秒以内に）“水平”となり、bulk 細胞質の粘度の著しい低下を示唆する。

原形質流動が活発におこなわれているとき、scf 近傍には約 50~80 毎秒のずり速度があると推定されている [20]。したがって、scf に接する細胞質の粘度はかなり低い筈である [29]。しからば何故、1500×g の遠心加速度下においても scf 近傍の細胞質は遠心方向へ滑り落ちないのであろうか？この問いに答えることは、scf-細胞質相互作用のもっとも重要な部分の一部を解明することになると思われる。将来の研究にまたねばならない。

- 1) 車軸藻類の多くは淡水産で世界的に広く分布し、わが国にも 50 種以上が知られている。そのうち、フラスモ (*Nitella*) 類・シャジクモ (*Chara*) 類およびホシツリモ (*Nitellopsis*) 類などの節間細胞が、原形質流動・電気生理その他の生理学的研究に好んで用いられる。藻体は小枝を輪生する節部と長大な節間部より成り、種類によっては高さ 50 cm 以上にも達する。節間部は単一の細胞（正確には多核体）であり、節間細胞と呼ばれる。節間細胞はほぼ円筒形で直径約 0.5 mm・長さ数 cm（種類によっては 10 cm 以上~数 10 cm に達するものもある）。小枝は節間細胞を小型にしたものと考えてよい。節間・小枝細胞ともに、その全周にほとんど隙間なく葉緑体が付着・配列しているため、藻体は緑色を呈している（図 1, A）。水底の坩中には仮根細胞が分化している。仮根は葉緑体を欠き、透明である。節間・小枝・仮根細胞のいずれにおいても、細胞皮層部の内側を細胞質が絶え間なく流れている。周回型原形質流動と呼ばれ、あらゆる流動の型の中でもっとも定常的である。節間細胞の中軸部空間の約 95% は液胞で、細胞液によって満たされている。液胞をへだてて向かい合う細胞質は、それぞれ半円筒状の薄層（厚さ約 10  $\mu\text{m}$ ）となって細胞皮層部葉緑体列の内側を互いに反対方向へほぼ一定の速度で流れる（図 1, B）。二つの反対向きの流れは、一対の中央分離帯（正式には中立線 indifferent

- zone) によってへだてられている。中立線では細胞質の流れはない。また、通常は、一方の流れが中立線を越えて反対側の流れに入ることはない。細胞皮層部の片側を流れる細胞質は、細胞の一端でUターンして反対側の皮層部を流れ、他の一端で再びUターンして元の軌道に戻る。かくして細胞質は conveyor belt のようにループをつくり、一方向に際限なく流れつづける。流速は約  $60\sim 100\mu\text{m}/\text{秒}$  である。
- 2) 従来は細胞質内質 (endoplasm) または内質と呼ばれていた。本稿では流動細胞質または単に細胞質と記す。
  - 3) ミオシンは SH 試薬 (SH 基と反応してその機能を抑制する) NEM (N-エチルマレイミド) や熱処理 ( $50^{\circ}\text{C}\times 1$  分間) などに弱いことを利用する。
  - 4) 細胞の両端を切り、EGTA を含む灌流液で細胞を灌流すると、液胞膜が除去される。同時に細胞質もほとんど除去され、アクチン繊維が露出する [13]。
  - 5) 骨格筋におけるアクチンとミオシン間の滑り速度 ( $6\mu\text{m}/\text{s}$ ) とほぼ等しい。しかし、無処理正常節間細胞の流速 ( $\sim 100\mu\text{m}/\text{s}$ ) とくらべてはなほ遅い。なぜか?
  - 6) 光学顕微鏡そのものとしては最高の光学性能をもつ。

## 文献

- [1] Kamiya, N. and K. Kuroda: Bot. Mag. Tokyo, 69: 544—554, 1956.
- [2] Kamitsubo, E.: Proc. Japan Acad., 42: 640—643, 1966.
- [3] Nagai, R. and L. I. Rebhun: J. Ultrastruct. Res., 14: 571—589, 1966.
- [4] Kamitsubo, E.: Protoplasma 74: 53—70, 1972 a.
- [5] Kamitsubo, E.: Exp. Cell Res., 74: 613—616, 1972 b.
- [6] Palevitz, B. A., J. F. Ash and P. K. Hepler: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 71: 363—366, 1974.
- [7] Palevitz, B. A. and P. K. Hepler: J. Cell Biol., 65: 29—38, 1975
- [8] 上坪英治: 日本植物学会第37回大会 (名古屋) 研究発表録, 160, 1972
- [9] Kato, T. and Y. Tonomura: J. Biochem., 77: 1127—1134, 1975.
- [10] Chen, J. C. W. and N. Kamiya: Cell Structure & Function, 1: 1—9, 1976.
- [11] Kamitsubo, E.: Protoplasma, 109: 3—12, 1981.
- [12] Sheetz, M. P. and J. A. Spudich: Nature, 303: 31—35, 1983.
- [13] Shimmen, T. and M. Yano: Protoplasma, 121: 132—137, 1984.
- [14] 新免輝男: 生体の科学, 39: 134—137, 1988.
- [15] Tazawa, M. and U. Kishimoto: Plant Cell Physiol, 9: 361—368, 1968.
- [16] Hayama, T., T. Shimmen and M. Tazawa: Protoplasma, 99: 305—321 1979.
- [17] Williamson, R. E. and C. C. Ashley: Nature, 296: 647—651, 1982.
- [18] Kikuyama, M. and M. Tazawa: Protoplasma, 113: 241—243, 1982.

- [19] Tominaga, Y., T. Shimmen and M. Tazawa: *Protoplasma*, *116*: 75—77, 1983.
- [20] Kamitsubo, E.: *Can. J. Bot.*, *58*: 760—765, 1980.
- [21] 上坪英治: 一橋論叢, *86*: 805—813, 1981.
- [22] 上坪英治: 一橋論叢, *96*: 791—797, 1986.
- [23] Kamitsubo, E.: *J. Muscle Res. Cell Motil*, *7*: 287, 1986.
- [24] Kamitsubo, E., Y. Ohashi and M. Kikuyama: *Protoplasma*, *152*: 148—155, 1989.
- [25] 上坪英治: 生物物理, 171号 (印刷中)
- [26] 上坪英治・菊山宗弘: 日本植物生理学会 1990年度年会 講演要旨集, 336, 1990.
- [27] Kamiya, N. and K. Kuroda: *Proc. Japan Acad.*, *33*: 403—406.
- [28] 上坪英治・菊山宗弘: 日本植物生理学会 1989年度年会講演要旨集, 185, 1989
- [29] Kamitsubo, E., M. Kikuyama and I. Kaneda: *Protoplasma*, [Suppl 1], 10—14, 1988.
- [30] 上坪英治・菊山宗弘: 日本植物学会第54回大会研究発表記録, 237, 1989.

(一橋大学教授)