

Title	Formation of Mitochondria in Yeast Cells
Author(s)	Nagata, Isao
Citation	大阪大学, 1976, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1052
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【23】

氏名・(本籍)	^{なが} 永 ^た 田 ^{いさお} 功
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 3 5 6 1 号
学位授与の日付	昭 和 51 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科生理学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	酵母におけるミトコンドリアの形成
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 文二 (副査) 教授 松原 央 教授 松代 愛三

論 文 内 容 の 要 旨

嫌気培養された酵母細胞にはミトコンドリア (Mt) の呼吸系はまったく存在しないが、電顕観察によると、Mt 構造は存在しており、*Promitochondria* あるいは *mitochondrial precursor* と呼ばれてきた。また、好気条件下でも高濃度のグルコースが存在すると、Mt の呼吸系の生成が著しく抑制されることも知られている。

本論文では、Mt 内膜に局在するカルジオリピンおよびオリゴマイシン感性 ATPase を指標として種々の条件下で培養した細胞の Mt の発達状態を分析した。その結果と電顕による観察から嫌気培養細胞にも発達段階の異なる Mt が存在することを明らかにした。さらに Mt の内外に存在する 70S および 80S リボソームにおけるたんぱく合成を上記条件下で分析し、グルコース抑制は 70S リボソームでのたんぱく合成の抑制に起因していること、および呼吸能力のある Mt が形成されるためには、両リボソーム上でのたんぱく合成産物が不可欠であることを明らかにした。

1. 好気条件下では、Mt 内膜のカルジオリピンとオリゴマイシン感性 ATPase の細胞内含量は、ともに呼吸活性の場合と同様に、高濃度のグルコースがあれば低くグルコースが除去されると高くなる。嫌気条件下でも上記の両指標物質の含量は好気条件の場合と同様にグルコース効果により抑制されることがみられた。このことは嫌気条件下でも Mt の形態形成過程にいくつかの段階が存在することを示唆している。

II. 以上のことは、電顕観察によっても確かめることができた。すなわち、グルコース存在下で培養された細胞の Mt の形態的特徴はそのマトリックスに電子密度の高い顆粒が充満していることと、内膜の発達の悪いことであり、抑制がとかれると顆粒の消失と分裂像がしばしば観察されることである。この基本的な形態的特徴は好気、嫌気培養の両細胞に共通にみられる。形態面での両者の差は好

気培養細胞にはすべての Mt にクリステが存在するのに対して、嫌気培養細胞の Mt にはそれが存在しないことである。

Ⅲ. チトクロームがなく、呼吸能のない嫌気培養細胞の Mt に少なくとも二つの発達の異なる段階があることは、好氣的呼吸適応における呼吸活性発現の時間的経過を調べることによっても確認された。すなわち、抑制のとけた嫌気培養細胞の方が抑制されたものに比べて好気条件に移されたとき、より速やかに呼吸活性を獲得する。

Ⅳ. 上記Ⅲの好気適応実験でグルコース抑制のとかれた嫌気培養酵母を用いると、好気適応過程での高濃度グルコースによる抑制作用はみられなくなる。また Mt 内の 70S リボソームのたんぱく合成を阻害するクロラムフェニコールによる呼吸活性出現の阻害もみられなくなるが、細胞質の 80S リボソームの阻害剤であるシクロヘキシミドによっては強く抑えられる。このことから、グルコース抑制が 70S リボソーム上でのたんぱく合成に関与していること、およびその過程は嫌気条件下でも完全に進行すること、さらに好気条件下では 80S リボソームのたんぱく合成が不可欠であることが示される。

Ⅴ. グルコース抑制による Mt 内たんぱく合成の欠除の原因としては(i) Mt 内でのリボソーム形成の阻害、(ii) Mt 内のたんぱく合成の転写あるいは翻訳過程の阻害のいずれかが考えられる。Mt 内のリボソームの存在はグルコース抑制のとけた細胞では、電顕像で容易に認めることができるが、抑制された細胞の Mt は電子密度の高い顆粒の存在のため、判定不可能である。そこで、r-RNA を定量することにより追跡した。その結果、細胞質遺伝性呼吸欠損 (ρ^-) 変異株の Mt には 70S リボソームを構成する RNA は存在しないが、野生型酵母の Mt にはすべての条件下で存在していることが明らかになった。この結果から ρ^- 変異株での Mt の異常は 70S リボソームの欠除にあり、グルコース抑制は Mt 内の転写か翻訳過程にあることが示された。

Ⅵ. 70S リボソームを欠いている ρ^- 変異株や 70S リボソームのたんぱく合成を抑制した条件下で培養した細胞にも Mt 構造が存在することは、細胞質の 80S リボソーム上でのたんぱく合成産物だけで一定の Mt 構造が形成されることを示している。細胞質リボソームで何が合成され、また合成されたたんぱく質がどのようにして Mt 内膜に移動するかは興味のある問題である。発達過程にある Mt では外膜に大量の 80S リボソームが付着していることが確認された。このリボソームはポリソームであり、*in vitro* でもたんぱく合成を行うことが可能である。この産物の同定は今後に残された問題である。

論文の審査結果の要旨

酵母は嫌氣的に培養すれば、ミトコンドリアによる呼吸活性は全く出現しない。また好氣的に培養してもグルコースの存在下では呼吸活性の出現は著しく抑制される。このように酸素とグルコースの二つがミトコンドリア形成を支配する要素であることは従来から知られていた。

永田功君は、この酸素とグルコースのミトコンドリア形成に対する作用を電子顕微鏡による形態観察を併せてカルジオリピンとオリゴマイシン感性 ATPase を内膜の指標として生化学的に分析した。

その結果永田功君はミトコンドリアの内膜形成の度合は酸素ではなくてグルコースの存在によって決定されること。すなわちグルコースが存在すればミトコンドリアの内膜形成が抑制され、グルコースがなくなれば酸素の存在に無関係にミトコンドリアの蛋白合成をともなってその形成は進行すること、そして酸素は形態的にはクリステ膜の形成、生化学的にはチトクロームの合成にのみ必要であることを明らかにした。

またグルコース抑制された細胞でも、70Sリボソームは合成されていることを見だし、グルコース抑制の作用は *m-RNA* の合成阻害又は *translation* レベルでの阻害であることを確認した。このように種々の新しい知見を得ているので、理学博士の学位論文として十分に価値あるものとみなせる。