

Title	Participation of Ca ²⁺ in cessation of cytoplasmic streaming induced by membrane excitation in Characeae internodal cells
Author(s)	Hayama, Tomio
Citation	大阪大学, 1979, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24589
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	羽 山 富 雄
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 5 4 1 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 3 月 24 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	車軸藻類節間細胞における膜興奮による原形質流動の停止における Ca^{2+} の関与
論文審査委員	(主査) 教授 岸本卯一郎 教授 殿村 雄治 講師 黒田 清子

論 文 内 容 の 要 旨

車軸藻類節間細胞の原形質流動の原動力は流動している原形質内質と固定した外質との境界面で発生する。そこには流動に不可欠な、アクチンより成る繊維束が存在する。この繊維束と反応して流動を引起す因子は内質側に存在するミオシンであることを示唆する多くの研究があるが、流動の調節機構に関する知見は少ない。一方この原形質流動は膜興奮によって一時的に停止する。この停止は原形質の粘性の増加によってではなく流動力の一時的消失によって引起される。流動力を消失させる因子は流動の調節機構で重要な役割を担っていると思われたので、この因子の同定のために以下の研究を行った。

(1)原形質膜、液胞膜とも活動電位を発生する。遠心処理と糸で細胞をくくることにより液胞のない細胞片を作成した。この細胞片でも興奮によって流動が停止した。この事実は原形質膜の興奮だけで流動停止に十分であることを示す。(2)流動している内質中の葉緑体の能動的自転運動も興奮によって停止する。停止するまでの時間は葉緑体の細胞表層からの距離に依存して増加し、その増加率は約1秒/ $15\mu\text{m}$ であった。従って原形質膜又はその近傍から化学物質が原形質内部へ拡散して、流動と葉緑体の自転を阻害すると思われる。(3)細胞液をEGTAを含む溶液で置換えると液胞膜が消失する。この液胞膜除去細胞では運動系の化学環境を自由に制御できる。既知濃度の Ca^{2+} 緩衝液を内部灌注して Ca^{2+} の流速に対する影響をみた。 10^{-7} M以下の Ca^{2+} 濃度では流速は正常細胞のそれに等しく、 10^{-6} M以上では流速は小さくなり、 $1\text{mM}Ca^{2+}$ で完全に停止した。この Ca^{2+} の効果は可逆的で、EGTAで Ca^{2+} を除去すれば再び流動しはじめる。(4)細胞から、自転している葉緑体を1~2個含んだ原形質滴を単離し先端に $0.5\text{M}CaCl_2$ および 0.5MKCl 溶液を入れた微小電極を挿入する。この二本の電極間に電流を

流して Ca^{2+} 又は K^+ を電気泳動的に注入した。 Ca^{2+} を注入すると葉緑体の自転は止まり、その後回復したが、 K^+ の注入では変化がなかった。 Sr^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cd^{2+} を同様にして原形質滴に注入したが Sr^{2+} のみが Ca^{2+} と同様の効果をもっていた。以上の結果とEGTAを含む液胞膜除去細胞では膜が興奮しても流動が停止しないことから、興奮によって流動が止まるのは細胞内の Ca^{2+} が増加するからだとは結論した。外液 Ca^{2+} 濃度の流動停止後の流動回復過程への影響や $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流入量の測定値から、興奮による流動停止現象への外液 Ca^{2+} の役割について議論した。

論文の審査結果の要旨

シャジクモ、フラスモなど植物巨大細胞は神経細胞などとよく似た興奮現象を示し、そのとき一過性に原形質流動が停止することが知られている。興奮時に K^+ 、 Cl^- の外向fluxの増大については多くの証拠が集まっているが、これらは原形質流動の機構には直接関係はない。最近 Williamson (1975) は 10^{-7}M 以上の Ca^{++} が原形質流動を阻害することを示した。

羽山君は細胞内部のフリーな Ca^{++} 濃度をEGTA緩衝液で 10^{-7}M 以下に保っておけば膜が興奮しても流動速度に変化はないこと、 10^{-6}M 以上で流速は低下し、 10^{-3}M で完全に停止することを確かめた。さらに原形質内の葉緑体の廻転運動に注目し、これが停止するに到るまでの時間は原形質膜より遠ざかるにつれて遅くなることから興奮膜部位からの Ca^{++} の拡散過程と並行していることを示した。また放射性の Ca^{++} をトレーサーとして興奮時に Ca の内向fluxの増大することを確かめた。

つまり原形質内のフリーな Ca^{++} 濃度を 10^{-7}M 以下に保つ能動機構によって正常な原形質流動が保たれており、興奮時に Ca^{++} の内向fluxが一過性に高まることにより、あるいはこれがトリガーとなってさらに原形質内のフリーな Ca^{++} 濃度が高まることによって原形質流動が一過性に停止することを明らかにできたことは、非筋肉系の運動機構を解析するに当って重要な知見を加えたことになる。

したがって理学博士の学位に十分値するものと考えてる。