

Title	原形質流動の生化学的研究
Author(s)	秦野, 節司
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28249
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【23】

氏名・(本籍)	秦野節司 はたのきたし
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 6 9 号
学位授与の日付	昭和 34 年 12 月 17 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	原形質流動の生化学的研究
	(主査) (副査)
論文審査委員	教授 神谷 宣郎 教授 本城市次郎 教授 奥貫 一男

論 文 内 容 の 要 旨

生物の運動は非常に複雑な現象であるが、これをエネルギー代謝の立場から考えると、化学的エネルギーが機械的エネルギーに転換する現象であるということが出来る。すでに筋肉運動におけるエネルギー転換のしくみについては、ATPとactomyosinの相互作用がその基礎をなすことが知られており、その他、精子の運動においても筋肉運動と同様な機構が存在することを示す報告がなされている。一方原形質流動には種々の型があることが知られている。しかしそれらの型の間には厳密な区別はなく、ある場合には相互に変換することさえも観察されている。

本研究は筋肉運動と同じ生化学的過程が原形質流動の基礎機構をなしているのであろうということ、および型のことなる原形質流動もその根底では同じ生化学的機構をもつのであろうという仮説にもとづいて行われた。実験材料として全く型の違う原形質流動を示す二つの材料—変形菌の1種 *Physarum polycephalum* の変形体およびフラスモの細胞を選んだ。Part I では変形体の ATP 含量、および 2, 3 の代謝阻害条件下での ATP 含量の変化について観察し、Part II ではフラスモ細胞の ATP 含量、および actomyosin 様蛋白質と考えられる酵素の ATP 分解能について観察した。

Part I 変形体の ATP 含量と 2, 3 の生理的条件下における ATP level の変化について。

変形体から三塩素酢酸で高エネルギーリン化合物を抽出し、その抽出液を Ba 又は Ca で分画すると高エネルギーリン化合物の大部分は Ba 又は Ca 不溶性分画に分画される。Ba 不溶性分画をさらにイオン交換樹脂 (IRA400) で展開して、変形体の ATP, ADP 含量を定量した。ついで 2, 3 の代謝阻害条件下での ATP 含量の変化について観察した。その結果次の事実が明らかになった。

(1) 変形体は新鮮重量 1g につき約 $0.2\mu\text{mole}$ の ADP と約 $0.4\mu\text{mole}$ の ATP を含有している。変形体には actomyosin 様蛋白質が含まれていることがすでに報告されており、これらの事実から変形体の原形質流動の mechanochemical 系は ATP-actomyosin 系であろうと考えられる。

(2) Ba または Ca 溶性分画にはほとんど無機リン酸が現われないことから、変形体にはクレアチン燐

酸, アルギニン燐酸のような phosphagen は存在しないと考えられる。

(3) 変形体を 5×10^{-4} M 2,4-DNP で処理すると ATP level は半減し, 流動力は消失する。従ってこの場合, 変形体全体の ATP level と流動力の間に比例的な平行関係が認められる。

しかし変形体を低酸素圧, 10^{-3} M MIA で処理しても ATP level はほとんど変化しない。前者の場合は流動力は空気中の正常状態の 150% まで増加し, 後者の場合は流動力はかなり減少する。このことは変形体全体の ATP level と原形質流動との間には必ずしも平行的な比例関係がないことを示している。

この点に関して, 著者は変形体原形質内での ATP の利用度に topographical な差があると考えている。すなわち, actomyosin が存在し, そこで流動力が発生する原形質の基質部分の ATP level が流動力の発生と密接な関係をもつのであろう。

上のような立場からすると, 低酸素圧では醗酵が増し, 醗酵の酵素系が存在する原形質の基質部分の ATP level が増加した結果流動力が増し, また 10^{-3} M MIA で処理された場合には醗酵が抑制された結果, 基質部分の ATP level が減少し, 流動力が減少したと説明することができる。なお 2,4-DNP は無酸素条件下で labile-P level を低下せしめ, 同時に流動力もほとんど消失せしめることから, 有酸素条件下でも何らかのしくみで原形質の基質部分の ATP level を低下せしめるものと考えられる。

Part II, フラスモ細胞の ATP 含量と ATP 分解酵素活性について。

まず Part I と同じ方法でフラスモ細胞の ATP 含量を定量した。つぎにフラスモ細胞の KCl 粗抽出液 (a) の ATP 分解能, およびフラスモ細胞をグリセリンで処理し, 水で洗って水溶性の低分子物質及び蛋白質を除去した後 KCl で抽出した抽出液 (b) の ATP 分解能について調べた。その結果つぎの事実が明らかになった。

(1) フラスモ細胞は新鮮重量 1g につき約 $0.04 \mu\text{mole}$ の ADP, $0.04 \mu\text{mole}$ の ATP を含有している。

(2) フラスモ細胞の KCl 粗抽出液 (a) に ATP 分解能が認められた。

(3) グリセリン処理細胞の KCl 抽出液 (b) には apyrase 型の ATP 分解能が認められた。このようにフラスモ細胞には水不溶性, KCl 溶性の ATP 分解能をもつ蛋白が存在している。

このことはおそらくフラスモ細胞に actomyosin 様蛋白質の存在を示すものであろう。なおこの酵素活性は筋肉 actomyosin ATPase とことなり Ca^{++} および Mg^{++} によりほとんど影響を受けなかつた。

以上の結果からフラスモ細胞の mechanochemical 系も ATP-actomyosin 系であろうと考えられる。

論文の審査結果の要旨

桑野君の論文「原形質流動の生化学的研究」は変形菌 (Physarum) の変形体および車軸藻類の細胞を材料として行われたもので 2 編からなっている。

第一部で著者は変形体に含まれる ATP と ADP の直接定量を行い, 正常状態下にある変形体が生量 1g につき約 $0.2 \mu\text{mole}$ ADP と $0.4 \mu\text{mole}$ ATP を含むことを明かにし, さらにクレアチン燐酸, アルギニン燐酸のような phosphagen が変形体に検出されないことを示した。著者の結果は, 変形体に actomyosin 様蛋白質が存在するという既知の事実とあわせ考えて, 変形体における原形質流動の mechano-

chemical 系が ATP—actomyosin 系であるとする見解を支持している。

変形体の原形質流動は、低酸素圧、2,4-ジニトロフェノール、モノヨード酢酸等のエネルギー代謝阻害条件下で著しい影響をうけるが、著者はこのような生理条件下で ATP 含量がいかに変化するかを調べ、両者の間の相関関係を検討した。原形質流動力と ATP 準位との間には必ずしも平行的な比例関係がないことが明かになったが、この事実を著者は原形質内における ATP 生産の場の問題として説明した。流動力を発生する mechanochemical 系の存在位置はミトコンドリアのような細胞質内粒子ではなく、基質 (ground cytoplasm) の部分であるから、流動に使われる ATP はすくなくともこの蛋白質と反応しうる場所に存在するものでなければならない。したがって、ミトコンドリアを含めた細胞全体の ATP の平均準位と流動力との間に密接な対応が見られないことはむしろ当然であって、著者の結果は、細胞質における場 (topography) の重要性を具体例について示した点で生理的に意義深いものがある。

第 2 部では、典型的な回転流動を示す植物細胞としてフラスモ (*Nitella*) を用い、その ATP, ADP 含量と ATP 分解酵素活性を調べた。変形体の場合とほぼ同様な方法により、フラスモ細胞に生量 1g につき $0.04\mu\text{mole}$ ADP と $0.04\mu\text{mole}$ ATP が含まれることを明かにした。またフラスモの KCl 粗抽出液は ATP 分解能をもち、さらにフラスモ細胞をグリセリン処理後 KCl で抽出したものにも apyrase 型の ATP 分解能が認められた。actomyosin は水に不溶性であるが、高濃度の KCl に可溶であり且つ ATPase 活性をもっているから、以上の結果はフラスモ細胞にも actomyosin 様蛋白質の存在を示唆するものといえよう。但し酵素活性は筋 actomyosin と異なり Ca^{++} および Mg^{++} でほとんど影響をうけなかった。

原形質流動の生化学的研究には多くの技術的困難があつて、諸外国でもこの方向への研究は未だほとんど行われていない現状である。秦野君の研究は新しい研究分野への途を拓いたものであつて、原形質流動の生理学に寄与するところが大きい。よつて同君は理学博士の学位をうけるに十分な資格があるものと認める。