The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	原生動物テトラヒメナの呼吸機能　(1)　T. geleii W 株からのミトコンドリアの調製とその性質
Author(s)	小林, 茂保
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29030
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【36】

氏名・(本籍)	小林茂保（こばやししげやす）
学位の種類	理学博士
学位記番号	第 940 号
学位授与の日付	昭和41年3月28日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**原生動物テトラヒメナの呼吸機能** **(1) T. geleii W 株からのミトコンドリアの調製とその性質**
論文審査委員	(主査) 教授 奥貫 一男 (副査) 教授 萩原 文二　教授 佐藤 了　教授 殿村 雄治

論文内容の要旨

原生動物繊毛虫類に属する Tetrahymena は活発に運動しながら好気的条件下でよく生育する大型の単細胞生物である。この生物の代謝機能は高等動物とかなり類似するが，呼吸機能の点ではかなり異なる幾つかの性質をもっていることが報告されてきた。しかし，これらの事実は殆んど homogenate または cell free extract での実験から得られたもので明確さを欠く。従って，単に基質酸化や特定の呼吸酵素の活性を調べた報告は多いが，この生物の酸化的燐酸化系を詳細に検討したものは極めて少ない。このためには intact なミトコンドリア（Mt. と略記）の調製が不可欠であるが未だになされていなかった。Tetrahymena geleii W は proteinases を内在しており，わずかの膜破壊でも容易に細胞溶解を起こす。核も簡単に溶解されるが，Mt., 繊毛等の粒子成分は殆んど細胞の高粘性分解物に包み込まれ，通常の遠心分画法による Mt. の分離は非常に困難となる。著者はこの proteinases の適当な利用と敏速な除去を考慮した方法により，かなり intact な Mt. の調製に成功した。このようにして得られた Mt. の基質酸化能は哺乳動物 Mt. とほぼ類似する。すなわち，succinate を最も強く，NAD-linked 基質並びに ascorbate-TMPD 系もよく酸化したが，NADH と α-glycerophosphate は酸化しなかった。また，酵母 Mt. に類似して，DL-lactate もかなり酸化する。P：O比（ADP/O）は次の値が得られた。NAD-linked 基質で 1.5～2.5, succinate で 1.2～1.4, DL-lactate で 1.1～1.5, ascorbate-TMPD 系で0.7～0.9。この結果はこの Mt. も哺乳動物 Mt. と同じく三つの酸化的燐酸化の共役部位を持つことを暗示する。なお，呼吸調節率は succinate 並びに殆んどの NAD-linked 基質で2～3（但し pyruvate と β-hydroxybutyrate は 1.4～1.6），DL-lactate で1.9, ascorbate-TMPD 系で1.3であった。この Mt. に対する KCN, azide, malonate, DNP, PCP, chlorpromazine, oligomycin の作用は哺乳動物 Mt. の場合と本質的にはかわらない。しかしながら，次の阻害剤の挙動は著しく異なる。すなわち，哺乳動物に有効な濃度（10^{-8}M）の

antimycin A はまったく無効であり，約10^3 倍の高濃度で始めて有効となる。NAD-linked 基質呼吸の電子伝達阻害剤である amytal もエネルギー転移阻害剤として作用する。 uncoupler である dicumarol は malonate と類似の succinate 呼吸の電子伝達を阻害する。さらにエネルギー転移阻害剤である tri-butyltin は uncoupler の作用を示す。これらの事実はこの Mt. と哺乳動物 Mt. との呼吸系の構造並びに構成の著しい相違を暗示する。分光学的な観察からも，この Mt. チトクローム成分がかなり特異的である可能性がうかがわれる。すなわち $c+c_1$-type 並びに b-type チトクロームの吸収帯は明らかに認められるが，a-type チトクロームは殆んど認められない。さらに， b-type の吸収帯も哺乳動物のそれに比べて少し短波長側にずれているようである。この性質の差がこの Mt. の antimycin A-insensitive な性質に関係するのかも知れない。

論文の審査結果の要旨

小林茂保君の論文は「原生動物繊毛虫類に属するテトラヒメナからのミトコンドリアの調製法とその性質」と題するもので，テトラヒメナから独自の方法でほとんど無傷なミトコンドリア（以下 Mt.）を調製して，その性質を詳しく研究された哺乳動物の Mt. のそれと比較研究したものである。

テトラヒメナの Mt. は細胞を破壊したさい，とかく細胞内高粘性分解物に蔽われて，通常の遠心分画法で分離するのは困難となるものであるが，小林君はテトラヒメナ細胞内蛋白質分解酵素作用を適当に利用後，敏速に Mt. を沈澱させて蛋白質分解酵素と分離することによって，ほとんど無傷な Mt. を調製することに成功した。このように調製した Mt. は哺乳動物組織の Mt. と同様に安定で，呼吸調節能も，酸化的リン酸化作用も備えたものである。すなわち，コハク酸塩や助酵素共役基質を酸化するさい P/O 比が少しく小さいが，少なくとも還元助酵素の酸化の場合に，三つのリン酸化部位をもつことを示したほか，2.4-ジニトロフエノールやトリブチルチンによって電子伝達系とリン酸化反応の共役が解除されることなどの類似点を明らかにした。また一方，電子伝達系の阻害剤アンチマイシンAの効果は哺乳動物 Mt. の場合に比して 1000 倍も鈍感であることを示して，おそらく，それはチトクローム系の差異に由来するものであろうと解釈した。

小林君の論文は好気的条件下で活発に運動しながら生育する大型の原生動物繊毛虫類にも Mt. があり，高等生物細胞におけると大差のない方法で生命維持に不可欠のエネルギーを獲得していることを証明したもので，6篇の参考論文に記載された興味ある知見とともに比較生化学ならびに呼吸生理学に寄与するところが大であるから，理学博士の学位論文として十分の価値あるものと認める。