



Title	動物組織内チトクロームの分光学的解析
Author(s)	福原, 隆
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30389
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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

氏名・(本籍)	ふく 福	はら 原	たかし 隆
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	2051	号
学位授与の日付	昭和45年4月1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	動物組織内チトクロームの分光学的解析		
論文審査委員	(主査) 教授	曲直部寿夫	
	(副査) 教授	萩原 文二	教授 山野 俊雄

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

動物組織に於いては各組織毎に各種のチトクロームを異った組成で含有し、更に同一の組織に於いてもその含有比率はその動物の健康状態その他に支配され変動する事が想像される。特に病的状態の組織中のチトクロームの定量分析は病因究明への分子生物学的な一つの approach として、更には臨床診断面への応用等も考えられ興味深い。しかし従来より此の方面での研究は特定の細胞内区分や特定のチトクロームの定量が行われているに過ぎず、一試料で全チトクロームの分析を行った例は殆んどない。そこで本研究では正常組織中の全チトクロームの系統的定量測定をミトコンドリア及びミクロソーム分画について行うと同時に in vivo により近い状態を知る事並びに臨床的応用(例えば needle biopsy 等の様な少量の材量でも測定し得る)を考慮し、組織ホモジネートに於ける測定をも可能ならしめるべく測定操作法を確立する事を目的とした。

[方法ならびに成績]

材料として2種類のラット (Buffalo 及び Donryu 系) の肝臓を用い、ホモジネート作成後ミトコンドリア、ミクロソーム迄の分画は Schneider 法に準じ行った。チトクロームの測定には萩原の改良せる Splitbeam spectrophotometer を用い、各チトクロームの anaerobe-aerobe difference spectrum よりチトクローム量を算出した。以下本研究での知見 (成績) を述べると

1. 今回の試料の如き動物組織では光学的測定上最大の妨害となったものにヘモグロビン爽雑がある。これの除去法として生理食塩水による目的臓器の灌流に加えて光学的対策として CO₂5% O₂75% の組成からなる混合ガス通気法によるヘモグロビンの CO 固定が有効であった。
2. 少量の試料で一連の操作により全チトクロームの測定を行い得る為の系統的分析法を案出した。
3. ホモジネートの測定に於いては、更にヘモグロビン爽雑が多い上に結合織片、血球など粗大粒

子成分が測定上大きな妨害となる。そこで本来のホモジネートを低速遠沈（600g 5分間）し、その上清部を測定用ホモジネートとした。この際上記混合ガスによるヘモグロビンのCO固定を行っても尚 cyt. b. c. c₁. b₅. の吸収帯附近でかなりの影響が見られるが cyt. a 及び cyt. P-450 はこの混合ガス使用により測定し得る事が判った。得られたチトクロームの実測値はホモジネートで cyt. a 0.32~0.38, cyt. P-450 1.33~1.91, Mtでは cyt. a 1.26~1.49, cyt. b 0.59~0.80, cyt. c + c₁ 1.29~1.83 Msでは cyt. b 1.42~1.44, cyt. P-450は 3.45~3.66 μ moles / mg N, であった。

〔総括〕

今回高感度の分光計を使用出来る機会を得たので、これを用いて正常ラット肝臓内全チトクロームを測定した。測定時のヘモグロビン妨害をCO固定により除去しホモジネートのままでも cyt. a 及び cyt. p-450 を定量し得る方法を案出した。同時に全チトクロームの系統的測定法を考案した。

向後この方法を用いて病的組織のチトクローム分析を試みたい。

論文の審査結果の要旨

近年チトクロームの生体内における役割、殊に組織呼吸系でのその重要性は明らかとなりつつある。これらチトクロームは動物の健康状態その他に支配され変動することが想像され、疾病時におけるこれらの解析は病因究明の一手段として興味深い。しかしこれらの成分はその含有量が極めて少く、かつ抽出困難なるものが多いために従来より全般的な定量分析は殆んど行われていない。本研究では溷濁試料測定用に作製された高感度分光光度計を用いて直接に（抽出することなく）生体試料中の全チトクロームを測定するための系統的分析法が案出された。なお動物の各種試料中にしばしば爽雜するヘモグロビンの妨害の除去には一酸化炭素を用いる特殊な工夫がなされ、組織ホモジネートのままでも一部のチトクロームの測定が可能なることが示されている。向後この方法を用い種々条件下の動物組織内チトクロームの消長を観察することにより、臨床医学面では癌あるいは代謝性疾患などの研究への応用が考えられるのみならず、診断などへも広く活用可能であると思われる。