



Title	ミトコンドリアの電子伝達系のbチトクロームと酸化的リン酸化反応に関する研究
Author(s)	佐藤, 信紘
Citation	大阪大学, 1972, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30822
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

氏名・（本籍）	佐藤信紘
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 2661 号
学位授与の日付	昭和 47 年 11 月 16 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	ミトコンドリアの電子伝達系の b チトクロームと酸化的リン酸化反応に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 萩原 文二 (副査) 教授 山野 俊雄 教授 阿部 裕

論文内容の要旨

〔目的〕

生物が増殖し、運動し、そして生命の維持のために必要とするエネルギーは、有機物質の分解的代謝により獲得される。これは動物にあっては主として、ミトコンドリアの電子伝達系と酸化的リン酸化のリン酸化反応系による ATP という高エネルギー化合物を生成することにより得られる。電子伝達系については、Keilin、Chance、Slater、奥貫らによりかなり明確な系が明らかにされたが、なおチトクローム (cyt.)_{aa₃}、b、c、c₁ のうち cyt.b のはっきりした役割は不明である。

さらに電子の伝達による初段のエネルギーの獲得がどのような形で保存されるかについては種々な推測があるのみで明確な実験的根拠は示されていない。この論文では、酸化的リン酸化反応をおこなう好気生物、すなわち各種哺乳動物鳥類から酵母にいたるまでのミトコンドリアの電子伝達系の cyt. b についての、機能とスペクトルの性質を、明らかにし、これらの組織にすべて共通に存在する 2 種の b cyt. のうちの 1 つが酸化的リン酸化反応に重要な役割をもつことを示す。

〔方法〕

各種生物組織ミトコンドリアは Schneider、萩原、大西らの方法により得られた。スペクトルは、Split-beam 分光光度計により、またチトクロームの定常状態の変化は、Aminco-chance ならびに Perkin-Elmer 356 分光光度計により記録された。チトクロームの酸化還元電位は Dutton の考案した方法により各種の色素媒介として電極で測定し、また一定電圧でのスペクトルは、特殊に考案したガス陽圧利用法を用い、低温 (77. K) で記録した。cyt. b(T) と phosphate potential の関係は、一定電圧下で cyt. b の酸化還元比と ATP、ADP、Pi を定量することにより次式 $E_{mb} = E_h - \frac{RT}{nF} \ln \frac{OX}{RED}$ から求めた。ただしここでは R は気体定数、T は絶対温度、n は反応物 1 モルにつき授与される電子数、F はファラデー定数である。

〔成績〕

各種哺乳動物（各種の正常ならびにがん組織）から組織培養細胞、鳥類、酵母にいたるまでのミトコンドリアの電子伝達系には TCA サイクルの基質とミトコンドリアのエネルギー状態に対して反応性が異なる 2 つの cyt. b が存在しこれらはスペクトル的にも異なった吸収位置をもつチトクロームであることを示した。これらの 1 つは、常温では 561nm に対称的な α 吸収をもち、77° K では 558、529、428nm にそれぞれ α 、 β 、 γ 吸収をもつ。これはミトコンドリアのエネルギー状態に関係なくコハク酸により還元される。一方他の cyt. b は常温では 565 と 558nm に α 吸収をもち、77° K では、562.5 と 555nm に α 吸収、535 と 528nm に β 吸収、430nm に γ 吸収をもつ。これはミトコンドリア中で ATP が存在するときにコハク酸で還元されるが、ATP の存在しないときはわずかしき還元されない。

電位測定の実験により前者は、ミトコンドリアのエネルギー状態に関係なく、一定の酸化還元電位 ($E_m = +30\text{mV}$ 附近) をもつ。これに対して、後者はミトコンドリアのエネルギー状態によってみかけ上異なった標準酸化還元電位をもち、高エネルギーの時は高電位型 ($E_m = +245\text{mV}$) をとり、低エネルギーの時は低電位型 ($E_m = -30\text{mV}$) をとる。このことから後者の α 吸収を 565nm にもつ cyt. b は wilson らの cyt. b_T に相当し、また Sato と Hagihara が 1968 年に報告した Hp. 565 に相当することがわかる。前者の cyt. b は Chance らにより cyt. b_K とよばれている。

cyt. b_T (Hp. 565) の標準酸化還元電位と phosphate potential の関係を見ると、この b_T の電位はミトコンドリアの phosphate potential ($[\text{ATP}] / [\text{ADP}] \cdot [\text{pi}]$) に依存し、 $[\text{ATP}] / [\text{ADP}] \cdot [\text{pi}]$ が 10 異なると電位が 60mV 変化することが判明した。

cyt. b と cyt. c_1 間の電子伝達を阻害するアンチマイシン A はコハク酸存在下 cyt. b_K のスペクトル変化を起すと共に、cyt. b_T 還元を起し、 b チトクロームの還元量を全体として増加させる。このことが従来報告されていたアンチマイシン A による吸収スペクトルシフトと吸収量の増加を説明する。

〔総括〕

- (1) 各種哺乳動物、鳥類、酵母、組織培養細胞のミトコンドリアの電子伝達系には 2 種類の機能的にも、スペクトル的にも異なる cyt. b が存在する。
- (2) 1 つは 561nm に対称的な α 吸収をもち、ミトコンドリアのエネルギー状態に関係なく一定の酸化還元電位をもち、TCA サイクルの基質で還元される (cyt. b_K)。他方は 565nm と 558nm に分れた α 吸収をもち、ミトコンドリアのエネルギー状態により異なった酸化還元電位をもち、低エネルギーのときはコハク酸で還元されない (cyt. b_T or Hp. 565)。高電位型と低電位型のスペクトルは同一である。
- (3) cyt. b_T の酸化還元電位とミトコンドリアの $[\text{ATP}] / [\text{ADP}] \cdot [\text{Pi}]$ 比とは密接な相関係があることを示した。このことは cyt. b_T の高電位型と低電位型の電位のエネルギー差が直接 ATP 生成のエネルギーに利用されることを示唆する。またミトコンドリアのエネルギー増加に伴う低電位型から高電位型への移行が呼吸調節作用に強く関係することを意味する。また生きた組織中の cyt. b_T の還元を測定することにより、ミトコンドリア内の phosphate potential が計算され、組織の動的なエネルギー代謝の研究にきわめて有用と思われる。

論文の審査結果の要旨

本論文はミトコンドリアの電子伝達系の研究の一環として行なわれた著者の、bチトクロームのスペクトルの性格とその呼吸鎖、並びに酸化的リン酸化反応における役割に関する研究結果をまとめたものである。

著者は哺乳動物から酵母にいたるまでの各組織のミトコンドリアの呼吸鎖にはスペクトルの異なる2種類のbチトクロームが存在することを明らかにした。そして電位的に異なるbチトクロームの存在を報告したWilsonら、Chanceらの仕事をさらに発展させ、565m μ に α 吸収を持つbチトクロームの酸化還元電位がミトコンドリアのエネルギー状態 (phosphate potential、ATP/ADP $\cdot$ pi 比) に依存することを実験的に証明し、この電位変化が直接的に電子伝達に伴うエネルギー保存反応に役立つと共に呼吸調節作用にも関係すると考えられる重要な論拠を呈出した。

この仕事は以上のように未解明であったミトコンドリアの呼吸鎖のチトクロームbの役割りをより明確にすると共に、電子伝達に伴う初段のエネルギー保存反応の解明に貢献するところが大である。

よって医学博士の学位を授与するのに十分価値があるものと認める。