



Title	車軸藻細胞でみられる水透過性の方向依存性
Author(s)	清沢, 桂太郎
Citation	大阪大学, 1973, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30945
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

【25】

氏名・(本籍)	清 沢 桂 太 郎
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 2918 号
学位授与の日付	昭和48年9月20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	車軸藻細胞でみられる水透過性の方向依存性
論文審査委員	(主査) 教 授 神谷 宣郎
	(副査) 教 授 殿村 雄治 教 授 岸本卯一郎
	助教授 田沢 仁

論 文 内 容 の 要 旨

水透過性は、細胞膜の幾何学的、物理化学的形状を反映した量として、これまで多くの研究者によって調べられてきた。水透過が比較的詳しく研究されている材料は、車軸藻節間細胞、バロニア細胞赤血球、イカの巨大神経などである。動物細胞の場合、水透過性は普通には、細胞内外に浸透圧差を与えたときに起こる細胞の体積の時間変化から求められている。植物細胞の場合は、細胞を高張液に浸して、原形質分離をさせた後、一層高張な溶液または、少し薄い高張液あるいは、低張液に入れたときに起こる原形質体の体積の時間変化から求められている。このようにして水透過性を求めるとき細胞をより低浸透圧の液に入れたときに起こる細胞または、原形質体の膨潤の速度から求めた水透過性、すなわち、内向きの水透過に対する透過性は、より高浸透圧の液に入れたときに起こる収縮の速度から求めた水透過性、すなわち、外向きの水透過に対する透過性より大きいということが古くから知られている。このように、水透過性の大きさが透過の方向により、異なることの原因として、内向きの水透過性を測定するときと、外向きの水透過性を測定するときでは、細胞が浸っている液の濃度が異なるために、原形質の水和度が異なることによる説、膨潤の際には細胞膜が伸展するためには水透過性が増加する説、膜自身のもつ特性とする説、さらに赤血球では、膜に接しているヘモグロビンが一種の弁の役をしているとする説などがある。水透過性を、細胞あるいは原形質体の体積変化の速度から求めるときは、細胞膜は必然的に伸展、収縮などの機械的变化を受けるので、水透過性の方向依存性の機構を明らかにするためには、これらの変化を伴わない方法で、水透過性を測定するということが極めて重要である。車軸藻節間細胞を材料に、細胞横断浸透を利用する複室浸透計を用いると、細胞の表面積および、体積をほとんど変えることなく、極めて正確に水透過性を測定できる (Kamiya and Tazawa 1956)。生長した車軸藻節間細胞は、直径400~700 μ 、長さ4~10cmに達し、イオン輸送、興奮現象、原形質流動などの研究にも広く用いられている円筒状の巨大細胞で

ある。節間細胞を、たとえば、半分は水のはいった小室に、他の半分は細胞より低浸透圧あるいは、ある程度高浸透圧のしょ糖液または、マンニートル液のはいった小室にあるように仕切ると、細胞は原形質分離することなく、水が水のはいつている小室から、細胞を通して、溶液のはいつている小室へと移動する。この現象を細胞横断浸透という。このとき流れた水の体積は、浸透計のガラス毛細管中の気泡の動きから求められる。細胞横断浸透の速度は時間とともに減少し、15~20分後には、事実上停止する。これは水がはいる側の細胞液が薄まり、一方、水が出る側の細胞液が濃くなったために、細胞の両側の吸水力が等しくなったためである。細胞横断浸透の初期の速度を $\left(\frac{dv}{dt}\right)_i$ 、両室間の浸透圧差を $\Delta\pi$ とすると、 $\left(\frac{dv}{dt}\right)_i$ は $\Delta\pi$ に比例する (Kamiya and Tazawa 1956)。すなわち、

$$\left(\frac{dv}{dt}\right)_i = K \Delta\pi \quad (1)$$

こゝで、K は細胞横断浸透係数と呼ばれ、水側及び、溶液側の細胞片の表面積と、水透過性の関数である。節間細胞原形質層の水透過に対する抵抗要素は、原形質膜と液胞膜 (Tazawa and Kamiya 1965, Kiyosawa and Tazawa 1972) であることが明らかにされているので、以下細胞膜の水透性というのは、この2枚の膜を通る水透過に関するものである。

Kamiya and Tazawa (1956) は節間細胞を不等分に仕切り、短い細胞片を水に、長い細胞片をしょ糖液に浸したときの細胞横断浸透係数 K_1 と、逆にした時の係数 K_2 を求めたところ、前者の方が大きいことを見出し、これは細胞膜が内向きの水の流れに対しては、外向きの流れに対するより通しやすいすなわち、細胞膜が水透過に関して方向依存性 (極性) を有するためであると結論した。Kamiya and Tazawa (1956) は内向きの水の流れに対する透過性を R_{en} 、外向きの水の流れに対する透過性を R_{ex} 、短い細胞片の表面積を A_s 、長い細胞片の表面積を A_l とすると、 K_1 、 K_2 は次のように表わされるので、こゝから R_{en} 、 R_{ex} を求めた。

$$K_1 = \frac{A_s A_l R_{en} R_{ex}}{A_s R_{en} + A_s R_{ex}} \quad (2)$$

$$K_2 = \frac{A_s A_l R_{en} R_{ex}}{A_l R_{en} + A_s R_{ex}} \quad (3)$$

Kamiya and Tazawa (1956) は R_{en} 、 R_{ex} を細胞膜に固有の定数として扱ったが、細胞膜の水透過性は、外液の浸透圧 (Dainty and Ginzburg 1964) 及び、細胞液の濃度 (Tazawa and Kamiya 1965, 66) の増加により減少し、細胞液の濃度の低下により増加する (Tazawa and Kamiya 1965, 66)。Dainty and Ginzburg (1964) は、細胞横断浸透の際には、水の出る側の原形質膜は必ず、高浸透圧の液に接するので、この溶液により、膜が脱水され、水の出る側の水透過性が減少することが方向依存性 (極性) の原因であろうと推定した。しかし、水の出る側の水透過性の減少だけでは、方向依存性の大きさを説明できない。Tazawa and Kamiya (1966) は溶液側での水透過性の減少に加えて、水側 (水が入る側) で、流入する水の流れにより、細胞質の水和度が増加し、そのために水透過性が増加することを示唆した。

上記の実験結果及び、推論から、水透過性の方向依存性の原因を明らかにするためには、第一に、細胞膜の水透過性を規定している要因を明らかにし、それと水透過性との関係を定式化することが必要である。すなわち、Tazawa and Kamiya (1965, 66) の実験では、細胞液はそのまま、薄められ、あるいは、濃化されているので、細胞液の濃度変化が水透過性に及ぼす影響が、細胞液中の特定のイオ

ン濃度の変化によるのか、単に浸透圧の変化によるのか明らかでない。またDainty and Ginzburg(1964)の実験では定量的な分析がなされていない。本研究では、まず細胞内灌流法により、節間細胞の細胞液を色々なイオン組成、浸透圧をもった人工細胞液で置換したときの水透過性を測定した。その結果水透過性は細胞液の浸透圧にのみ依存し、特定のイオンの濃度及び、イオン組成には依存しないことが示された。水透過性は外液の浸透圧にも依存していた。分析の結果、外液の浸透圧は細胞液の浸透圧とは独立に水透過性に影響すること、さらに、水透過性の逆数、すなわち、水透過に対する抵抗は細胞液と外液の浸透圧の直線式で表わされることが示された。浸透圧の水透過性への影響は、膜の水和度への作用によって説明された。外液の浸透圧の影響は、その、原形質膜の外側への作用によると推定された。一方、細胞液の浸透圧の影響は、その、液胞膜の液胞側と細胞質側の両面、および原形質膜の内面（細胞質側）への作用によると推定された。

方向依存性の原因を明らかにする上で必要な第二の問題は、内向きの水の流れに対する水透過性（ R_{in} ）と、外向きの水の流れに対する水透過性（ R_{ex} ）を別々に求める方法を開発することである。上述したように、水透過性は、膜に接する液の浸透圧に依存して変化するものであり、後述するように細胞質の浸透圧が水の流速に依存する以上、 R_{in} , R_{ex} を求めるためのKamiya and Tazawa(1956)の方法は、厳密には正しくない。なぜならば、 K_1 を求めたときの R_{in} , R_{ex} と、 K_2 を求めたときの R_{in} , R_{ex} は同一ではないからである。車軸藻節間細胞の細胞膜を通る水の流れを起こす力として、浸透圧と静水圧は等価である（Tazawa and Kiyosawa 1970）から、 R_{in} 及び R_{ex} は原理的には、それぞれ水が入る側の細胞片の水ポテンシャル（水の化学ポテンシャルを水の部分モル体積で割った量で、静水圧と浸透圧の差で表わされる）及び、水が出る側の細胞片の水ポテンシャル、及び、そのときの細胞横断浸透の速度がわかれば、(1)式にならって、別々に計算されるはずである。本論文では、細胞横断浸透の時の細胞の静水圧（膨圧）を膨圧計（Tazawa 1957）で、流れた水量を複室浸透計で測定し、水が入る側及び、出る側の細胞液の浸透圧を流れた水の量から計算することによって、両細胞片の水ポテンシャルを求めるという新しい方法とその結果を報告している。この方法で求められた R_{in} は、やはり R_{ex} よりも大きかった。

R_{ex} が主に外液の浸透圧に、 R_{in} が内向きの水の流れに依存したものであるなら、浸透の駆動力になっている水が出る側の浸透圧を色々に変えると、 R_{ex} 及び、 R_{in} はこの浸透圧とある関係をもって変わるはずである。本研究では、第三に、上述の新しい方法を利用して、水が出る側の浸透圧を色々に変えたときの R_{ex} , R_{in} を求めた。その結果、 R_{ex} は浸透圧の増加と共に減少し、 R_{in} は浸透圧の増加と共に増加すること、したがって、 R_{in}/R_{ex} で定義される方向依存性の大きさは、水が出る側の浸透圧の増加と共に増加することがわかった。分析の結果、浸透圧零、すなわち、水の流れが起こっていないときは、 R_{ex} と R_{in} は等しく、浸透圧の増加による R_{ex} の減少は、浸透圧の原形質膜外側への直接作用と、外向きの水の流れによる細胞質の浸透圧の上昇（流速と直線関係にある）による原形質膜及び、液胞膜の水和度の減少によること、 R_{in} の増加は、内向きの水の流れによる細胞質の浸透圧の低下（流速と直線関係にある）による原形質膜及び、液胞膜の水和度の増加によることが示された。

以上の結果から、車軸藻節間細胞でみられる水透過性の方向依存性は、浸透の際に不可避免的に起こ

る細胞膜に接する液相（外液及び細胞質）の浸透圧の変化によって惹き起こされる細胞膜の水和度の変化に由来すると結論された。

論文の審査結果の要旨

細胞に水が出入する際に、水透過性は内向きに大きく外向きに小さいことが昔から知られている。清沢君は水透過の方向依存性を細胞横断浸透法を用いて詳しく解析し、それが膜に固有の定数ではなく浸透圧に応じて変りうる性質のものであることを示した。

まず細胞内灌流法により節間細胞の細胞液を種々のイオン組成、浸透圧をもった人工細胞液で置換したときの水透過性を測定した。その結果水透過性は細胞液の浸透圧のみに依存し、特定イオンの濃度及びイオン組成には依存しないことが示された。また外液の浸透圧は細胞液の浸透圧とは独立に水透過性に影響し、水透過に対する抵抗（水透過性の逆数）はこれらと直線的な関係にあることが示された。

次に著者は水透過の方向依存性の原因を明らかにするために細胞横断浸透において内向きの水透過性 (R_{in}) と外向きの水透過性 (R_{ex}) を別々に求める方法を開発した。即ち細胞横断浸透時の細胞の静水圧（膨圧）を膨圧秤で、流量を複室浸透計で測定し、水が入る側および出る側の細胞液の浸透圧を細胞を通過した水の流量から計算して、両細胞片の吸水力を求めた。これから得られた R_{in} はやはり R_{ex} より大きかった。

次にこの方法を利用して水が出る側の浸透圧を変えたとき R_{ex} は浸透圧の増加と共に減少し R_{in} は増加すること、したがって R_{in}/R_{ex} で定義される方向依存性の大きさは水が出る側の浸透圧の増加と共に増加することを明らかにした。水が入る側、出る側の浸透圧が共に 0、即ち細胞横断浸透の起らないときは R_{ex} と R_{in} は等しくなることが外挿によって示された。

これらの事実から水透過性に方向依存性が生ずる原因は、原形質膜および液胞膜に接する溶液ならびに細胞質の浸透圧が直接膜そのものに作用する結果であることが明らかにされた。著者は浸透圧が生体膜の水和度を変える可能性を示唆している。

清沢君が本研究に用いた細胞横断浸透法、液胞灌流法、膨圧秤法はすべて大阪大学理学部で開発された方法である。同君はこれらを巧みに組み合わせて水透過の方向依存性の生ずる原因をはじめて明確にした。この研究はさきに神谷、田沢の得た水透過の極性に関する結論の一部を修正し更に発展させたもので、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。