

Title	枯草菌の膜電位と運動性の研究
Author(s)	細井, 茂
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/32823
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【 5 】

氏名・(本籍)	ほそ 細	い 井	しげる 茂
学位の種類	工	学	博 士
学位記番号	第	5 1 2 5	号
学位授与の日付	昭和 55 年 12 月 19 日		
学位授与の要件	基礎工学研究科 物理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	枯草菌の膜電位と運動性の研究		
論文審査委員	(主査) 教授 葛西 道生	(副査) 教授 大沢 文夫	教授 塚原 仲晃 教授 岸本 卯一郎

論 文 内 容 の 要 旨

バクテリアや膜小胞は大きさの制限があり微小電極法による膜電位の直接測定は困難である。このような系の膜電位を推定する方法として、膜を自由に透過できる親油性イオンの細胞（或いは膜系）内外への濃度分布を測定しネルンストの式により求めるといふものがある。そこで本申請者はまず親油性陽イオンの一種であるテトラフェニルホスホニウムイオン (TPP⁺) に応答するポリ塩化ビニル基質型イオン選択性電極を作った。この種の電極は既に開発されているものではあるが、新たに作られた電極は既存のものより少くとも10倍程度の高いものであり 2×10^{-9} M の TPP⁺ まで検出可能であった。

この電極を用いて枯草菌の膜電位を推定したところ、内側が $-80 \sim -120$ mV 程度に分極していることが明かになった。更にこの膜電位は外液の pH により変化することが見出された。外部 pH を上げると膜は過分極し、下げると逆に脱分極した。その傾きは 1 pH 変化に対し約 30 mV であった。又、シアンイオンと N, N'-dicyclohexylcarbodiimide との協同的作用により大きく脱分極することから、膜電位は呼吸系の水素イオンポンプにより維持されていることが示された。

以上の実験結果を説明するための理論的解析を行った。化学浸透説に基づき、H⁺ ポンプにより細胞から排出された H⁺ は膜系のキャリアーにより細胞内へもどるループを形成しているとした。キャリアーによる輸送は絶対反応速度論的に取扱った。2 価キャリアーを仮定することにより膜電位の外液 pH 依存性を説明することができた。この 2 価キャリアーは化学浸透説の H⁺ 輸送性 ATP アーゼであることを示唆するものである。又、H⁺ ポンプの流れとそれにより発生するポンプ電位との定量的関係も得られた。

バクテリアの膜電位推定の応用として、バクテリアの運動性と protonmotive force の関係及び TPP⁺ の運動性への影響を調べた。その結果バクテリアの運動速度は通常の条件では protonmotive force によらないように何らかのイオンゲートにより調節されていること、TPP⁺はこのイオンゲートに直接作用していること等が示された。

論文の審査結果の要旨

本論文は枯草菌 (*Bacillus subtilis*) を用いて、膜電位の測定を行い、そのpH依存性を説明するモデルを提出し、膜電位と運動性との関係を明らかにしたものである。バクテリアなどの小さい細胞の膜電位は通常の微小電極の挿入による方法では測定できない。本研究では細胞膜を自由に透過する脂溶性イオン、TPP⁺ (tetraphenyl phosphonium) の細胞内外の分布を自ら試作したイオン感受性電極を用いて測定することにより求めている。この電極は 2×10^{-9} M までの測定感度を持ち、従来報告されているものより10倍程度高感度であった。その結果、通常のバクテリアは $-80 \sim -120$ mV 内側が負に分極していた。また中性付近では pH を高くすると 1 pH 当り 30 mV の過分極が見られた。更に各種の試薬の膜電位に対する影響をしらべ、膜電位維持にプロトンを排出するポンプが重要な役割を演じていることを明らかにした。次に、この膜電位の pH 依存性はプロトンのフラックスが閉じたループを形成しているとしたモデルによって説明できることを明らかにした。その結果、プロトンは受動的流入に於ては、2個結合して担体によって運ばれることが示唆されている。運動性との関連では、プロトンの電気化学ポテンシャル差の大きさにかかわらず、一定の運動性を保つよう調節機構が働いていることが明らかにされた。

これらの成果はバクテリアのエネルギー変換機構の解明に重要な知見を与えたものであり、博士論文として価値あるものと認める。