

Title	膜透過性の細胞内反応に及ぼす影響及びその応用
Author(s)	橋本, 正史
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34873
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	はし 橋	もと 本	まさ 正	ふみ 史
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6524	号	
学位授与の日付	昭和59年5月7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	膜透過性の細胞内反応に及ぼす影響及びその応用			
論文審査委員	(主査)			
	教授	中馬 一郎		
	(副査)			
	教授	山野 俊雄	教授	和田 博

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

半透膜を用いて細胞をモデル化した反応器を作成し、(1) 酵素溶液を入れ、反応の定常状態において半透膜の基質透過性が反応器全体の酵素反応速度にどのように影響するかを知る、(2) リガンドとそれと結合する蛋白質を入れ、この結合がリガンドの透析速度に与える影響を知る、ことにより生体モデル系での物質移動に関連する因子と化学的変換に関連する因子との機能的な相関を理解することを目的とする。

(方法・成績)

[1] 2枚の平行した半透膜〔面積(A) : $1\text{ cm} \times 36\text{ cm}$ 〕で隔てられた3つの室からなる反応器を作成した。2枚の膜の間〔距離(d) : $0.10\text{ mm} - 0.16\text{ mm}$ 〕に酵素溶液を封入し、膜の両外側室に基質溶液を長軸方向に一定流速(f)で流した。この際、両室の一端は連結し、流路をU字状にした。基質溶液を流し始めてから10数分後に流出液中の生成物濃度は一定となり、反応器全体の反応は定常状態となる。このときの流入基質濃度(S_0)と流出基質濃度(S)との差に流速(f)をかけたものは反応器全体の反応速度(v)を表す。

この系の反応を表す非線形偏微分方程式に実験条件から得られる近似をおいて線形化し、定常状態解を求めて実験結果を解析した(流路をU字状にしたのは近似を良くする効果がある)。

実験は、酵素にキサンチン酸化酵素、基質にキサンチンを用い、(1) 流入基質濃度(S_0)、(2) 酵素濃度(E)、(3) 流速(f)、をいろいろ変えvを求めた。

結果(1) : S_0 とvの両逆数プロットは直線となり、異なるEにおける直線はグラフの第3象限に共

通の交点を持ち、その点の水平座標は $-1/k_m$ (k_m はミハエリス定数) に一致した。

結果 (2) : v 対 E のプロットは原点を通る直角双曲線によって近似された。

結果 (3) : v 対 $1/f$ のプロットは原点を通る直線となった。

以上の実験結果より得られた、 v と流速 (f)、膜の透過係数 (k)、酵素反応速度論的定数 (V_m , K_m) 及び流入基質濃度 (S_0) との関係式は反応の微分方程式の近似解とよく一致し、その式は膜の透過係数 (k) が、 f が無限大のとき (f が律速要因にならないとき)、この反応系のみかけの K_m を $V_m \cdot d / 2k$ だけ増大させることを表している。

[2] リガンドとそれと結合する蛋白質の共存下で [1] と同様の反応器を用いて灌流・透析実験を行ない、リガンドの透析速度と蛋白質とリガンドの解離定数 (K)、蛋白質濃度 (P) との関係を求めた。

この系の反応様式を表す微分方程式の近似解によると、サンプル室 (2枚の半透膜に挟まれた室) のリガンド濃度が K に比べて大きいとき、あるいは小さいとき、流出液中のリガンド濃度は時間に対し指数関数的に減少し、前者の場合はその減衰定数は蛋白質との結合に関係なく、反応器の形状及び膜の透過性に関するパラメータのみにより決定されるが、後者の場合、 $(1 + n \cdot P / K)$ に逆比例して (比例定数は前者の減衰定数に一致、 n は1個あたりの蛋白質に結合するリガンドの個数) 減衰定数が変化することが判明した。

実験では、蛋白質にアルブミン、リガンドにスルフェニルアミドを用いて、サンプル室のリガンド濃度を K に対し非常に大きいところから小さいところまで変化させて灌流・透析を行ない、流出液中のリガンド濃度を経時的に測定した。その結果は上記理論で得られた関係式とよく合致し、リガンドと蛋白質の結合がどのようにリガンドの透析速度に影響するかが判明した。

(総括)

生体内の反応は物質移動と化学的変化が相関しながら起っているが、本研究によって、定常状態で、この両者がどのように影響し合っているかをモデル的に解析することができた。生体内での物質移動、化学的変化を表すパラメータを求め、これを本研究で得た関係式に代入することによりそれぞれの役割を定量的に知ることができる。

論文の審査結果の要旨

本研究は、細胞をモデル化した反応器における酵素反応速度および蛋白質と共存するリガンドの透析速度を実験及び理論的に解析し、生体モデル系における物質移動に関連する因子と化学的変換及び結合に関連する因子との機能的相関を簡単な関係式で表わすことに成功したものである。生体内における上記各因子の数値を求め、これを理論的に得た関係式に代入することにより、それぞれの因子の果す役割を定量的に知ることができることが示されている。

以上、本研究は生体機能の理解に役立ち、医学の進歩に貢献するものと認める。