

氏名 惣川 まりな
そう かわ
 学位の種類 理学博士
 学位記番号 理博第180号
 学位授与の日付 昭和45年3月23日
 学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当
 研究科・専攻 理学研究科動物学専攻
 学位論文題目 **A New Method for Microelectrophoresis**
 (微量電気泳動法の新技术)

(主査)
 論文調査委員 教授 岡田節人 教授 加藤幹太 教授 大西俊一

論 文 内 容 の 要 旨

動物体を構成するある一つの細胞が、どれだけの種類のタンパク質を同時に合成、あるいは含有しているかを知ることは、細胞の機能の理解の上に極めて重要なことである。申請者は、カエルの変態に伴って、一つ一つの赤血球の含有するヘモグロビン分子のちがいを明らかにする目的の研究を行なった。このような研究の遂行のために、新しい微量電気泳動法の開発が必要とされ、この論文では、このような方法の内容が述べられており、また、この新しい方法が、上記の研究目的のために効果的に利用されることを示したものである。

方法は、カエル赤血球浮遊液のごく微量を、ポリアクリルアミドゲル用混合液で電気泳動させるものである。まず、この混合液の条件を徹底的に吟味する必要がある、最適のイオン濃度を規定した。特に蔗糖の添加が必須であることが指摘された。電気泳動を行なわせるための両電極槽におく緩衝液のイオン強度に一定の差をつけること、ゲルと電極槽をつなぐ濾紙の枚数を両極で違ったものにするのが重要である。このような点は従来の電気泳動ではとられなかったもので、本研究の目的とするような電気泳動の微量化の成功を保証するものである。

このような条件を整えて、両電極間に約1800Vの電圧をかけると、約60秒で、各々の赤血球が破裂し、内部にあったヘモグロビンタンパクが溶出し、溶出タンパクの泳動像がえられることになる。泳動を終ったゲルを固定・染色すると、一つの細胞から溶出したタンパクの電気泳動像を顕微鏡下で観察することができ、これによって単一細胞の含有するタンパク組成を指摘することが可能である。

このような方法を用いて、変態初期のオタマジャクシの流血中に含まれるヘモグロビンを、各赤血球毎に調べた。その結果によると、泳動バンドを一つしかもたない赤血球から、早く移動する性質をもつタンパクと、よりおそく移動するタンパクが、さまざまな割合で含まれた赤血球まで、各血球ごとにちがいのことが明らかにされた。

これらの研究の結果、変態のこの時期のオタマジャクシは、新しい酸素圧環境に備えて、体内のヘモ

グロビン分子の切りかえを行なっているが、この切りかえは各細胞ごとに連続的に行なわれるものであると結論されている。

論文審査の結果の要旨

ある生物材料の含有するタンパク組成を知るために、もっとも便利で、かつ広汎に使用される方法は電気泳動法である。しかし、一般のこの方法においてはかなり多量の試料が必要で、一個一個の細胞の含有するタンパクについて研究を行なうことは不可能である。しかしながら、現在の発生生物学や細胞生物学の提起する諸問題の解決のためには、多数の細胞の集団からなる試料についてではなく、一個一個の細胞についてのタンパク組成、タンパク合成についての知見をうることを強く要請している。

申請者の課題は、カエルの変態に伴うヘモグロビン分子種の変化と、その変化の機構を明らかにすることである。この問題については、発生に伴ってヘモグロビン分子種の組成変化のあることがよく知られているが、一つ一つの赤血球が同時に数種類のヘモグロビン分子を合成、含有しうるか否かは明らかにされていなかった。申請者はヒトの場合において、二種類のヘモグロビン分子が、発生の過程で単一の細胞に共存しうることを示して注目された(参考論文)。この研究を、発生の過程で変態という著しい変化を行なうカエルについて拡大しようとしたのが本研究の目的である。先にヒトの研究において申請者は免疫組織学という技術を導入することに目的を達成しえた。しかしカエルの場合では抗原として用いるヘモグロビンを充分に得ることができないので、同じ技術を用いえない。そこで申請者は、電気泳動法を、単一の細胞の含有するタンパクの研究を可能とするまで微量化する試みを行なったのである。

電気泳動の支持体としてアクリルアミドゲルの秀れていることは最近広く認められているところである。申請者は同じ支持体を用いながら、これに重要な改良を加えることによって、目的を達成しえた。改良の特に重要な点は、ゲル組成の特別な調整、両電極槽間の緩衝液にイオン強度の差をつけること、電極槽をつなぐ濾紙に特別な注意を加えること、などである。

これらの改良のための条件は、一つ一つが最適条件を設定するため、注意深く検討されている。結果は、このような微量試料によっても、明らかに分離された泳動バンドをうることに成功しており、今後、いろいろな研究材料について応用しうるものであることを示している。

このような改良された方法によるとき、オタマジャクシのごく少量の赤血球を用いて、単一赤血球の含有するヘモグロビン組成を明らかにすることができた。その結果、変態中のカエルにおいても、先にヒトにおいてえられた知見と同じく、発生中においては、1H 各赤血球のもつヘモグロビン組成には、いろいろな連続的なちがいがあり、単一の赤血球において2種以上のヘモグロビン分子が共存していることが明らかとなった。

このような実験結果は、発生に伴う細胞内での分子変化の機構を追究するための貢献として重要なものである。また、開発された微量電気泳動の技術は、今後細胞生物学や発生生物学の諸問題の解明に広く利用される可能性を含むもので申請者の努力は高く評価される。

以上の如く、申請者の論文は理学博士を受けるにふさわしいものと考えられたのである。