

氏名	高橋 壮二 たか はし そう じ
学位の種類	理学博士
学位記番号	論理博第106号
学位授与の日付	昭和40年9月28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	<b>FLUCTUATIONS OF THE RIBONUCLEIC ACIDS IN THE FAT-BODY CELL OF <i>PHILOSAMIA CYNTHIA RICINI</i> (LEPIDOPTERA) DURING DEVELOPMENT</b> (変態に伴うエリサン脂肪体細胞のリボ核酸の変動)
論文調査委員	(主査) 教授 市川 衛 教授 中村健児 教授 加藤幹太

### 論文内容の要旨

エリサン (*Philosamia cynthia ricini*) の脂肪体細胞は5令幼虫の初期から蛹化後4日目までは、細胞分裂を行わず、また DNA 量も増減しないことがわかっている。しかるに、この間における細胞の肥大成長は著しく、その主たる原因は脂肪とグリコゲンの蓄積にある。したがって、脂肪体は栄養貯蔵の組織と考えられて来たが、近頃この考えに疑問をもつ者もある。

一方、昆虫では前胸腺ホルモンの変態誘起効果が、細胞の遺伝子活性を高めるにあることや、遺伝子活性の昂揚は、RNA の新成や酵素タンパク質の合成をもたらすことなどが、双翅目昆虫の唾液腺細胞でわかってきた。

このような時点において、変態現象を生化学的に解明することは非常に大切である。申請者の選んだエリサンの脂肪体は、1) 5令初期から細胞分裂がないこと、2) 脂肪体細胞を組織として容易に、且つ多量にとり出せること、3) この組織の脂肪体細胞の純度は98%以上、幼虫期には99%以上で、他の細胞をほとんど混入していないこと、などの理由で、この種の分析には最も適している。その上、1)の理由から、乾燥重量・RNA・タンパク質・磷脂質Pなどの量をDNAに対する比として出せることも、測定結果の意味付けを助ける。

実験結果によると、乾燥重量カーブは、予想されるような上昇だけでなく、営繭期に一時下降する。この下降はグリコゲンの消費にもよるが、絹糸への一部タンパク質の転換にもよるといふ。脂肪体タンパク質のゆくえはまだエリサンではわかっていないが、カイコにおける実験から考え、この転換はありえると思われる。

次に、全タンパク質・全RNA・磷脂質Pなどの変動を見ているが、これらは、いずれも同じ傾向を示し、測定した範囲内では、5令3日が最高で、蛹1日が最低であり、蛹3日のごく僅かに再び上昇している。RNA の変動から考え、脂肪体におけるタンパク質合成は、おとろえているとみられる。一方、これまで存在していたタンパク質も分解して、脂肪やグリコゲンの合成に使われると思われるという。この時

期から脂肪とグリコゲンが増量することは上に述べた通りである。

また、細胞のホモジェネートを四つの分画に分け、各分画における RNA の変動から、全 RNA の消長が、主にミクロソーム分画に含まれる RNA、つまり、r-RNA の消長に原因していることを確かめている。この r-RNA が蛹化のときに、著しく減少することは、リボソームの崩壊を意味し、先に石崎のみた電子顕微鏡所見とよく一致する。また、この時期に磷脂質 P 量が低下することも、ミトコンドリア・ER・核膜などの細胞内膜構造がこのとき著しく減少する電子顕微鏡所見とよく符号する。

次に、フェノール法で抽出した核酸を、各発生段階ごとに、メチル化アルブミンカラムで三つの分画に分け、染色反応や酵素反応で各分画の性質をみているが、第1分画はヌクレオチド組成 GC 型の s-RNA であり、第2分画は DNA で、第3分画はやはり GC 型の r-RNA であることを確かめ、しかも、発生段階による増減の著しいのは、この r-RNA で、s-RNA はほとんど一定であるという。

更に細かく、この分画を分析用超遠心機で調べると、27S・18S・10S よりなることがわかった。哺乳類の組織は、たとえば肝臓の r-RNA は、Kirby (1964) によると、28S と 18S の二つである。よって、これらはそれぞれエリサンの 27S と 18S にあたるであろう。10S は恐らく 27S か 18S か、あるいはその両方が崩壊したための産物であろうが、その判定は将来の研究結果に残している。

最後に、脂肪細胞への  $^{32}\text{P}$  のとり込みを調べている。s-RNA へは5令2日目まで、r-RNA へは5令4日目まで取り込まれるが、その後には全然取り込まれない。希釈効果の実験から、エリサンでは新合成された RNA のターンオーバーは5令中期以後は、事実非常にのろい速度であることがわかった。

参考論文その1はカイコのアラタ体が、それ自身の幼若ホルモンを産生・分泌するほかに、脳ホルモンを貯蔵・分泌する機能を兼ねそなえていることを実験的に証明したものであり、その2はエリサンの人工休眠蛹の体液中に含まれる N と遊離アミノ酸を測定し、正常非休眠蛹のそれと比較したものである。その3は、カの幼虫のときの日長効果が親になったときのグリコゲン量に如何に関係するか、1日のグリコゲン量の増減と明暗との関係はどうかなどを調べたものである。

## 論文審査の結果の要旨

昆虫には、幼虫期・蛹期・成虫期の三つの発育段階をもつものが多い。この段階を越えるときに、体内の諸組織に著しい組み替えがおこる。これを変態という。本論文は、この時期における脂肪体組織の全タンパク質・核酸・磷脂質 P の変動を細胞あたりについて調べたものである。

脂肪体組織は変態に際し形態的にかなりはげしい変化を示すが、5令幼中のごく初期をのぞき、その後成虫になるまで細胞分裂を行わず、それに加えてかなり純粋に、しかも多量に取り出せるので、この種の研究には最もよく適した組織である。その上、材料に選んでいるエリサン (*Philosamia cynthia ricini*) は大形の昆虫で、多量の脂肪体を集めるのに適する。

まず、細胞分裂のおこらない5令3日から、成虫分化のまさに開始されんとする蛹3日までを、5発育段階にわけて、材料を集める。すなわち、5令3日・5令6日(成熟幼虫)・5令11日(化蛹期)・蛹1日・蛹3日である。

分析の結果は、細胞当りの全 RNA は5令3日が調べた範囲内では最も多量で、それから漸次低下し、

蛹 1 日で最少量に達し、蛹 3 日で極く僅かに上昇の傾向を示す。一方、全タンパク質量も 5 令 3 日では乾燥重量の 70% という最高値で、それから低下し、蛹 1 日では 30% という最低値となる。また、磷脂質 P もまったく同じ傾向の変動を示す。このことはまた電子顕微鏡でみたミトコンドリア・粗面 ER などの消長ともよく一致する。したがって、以上の結果を総合して判断すると、エリサンの脂肪体細胞においては、調べられた範囲内においては、タンパク質合成機能は 5 令 3 日から、しだいに減退しているといえる。

次に、RNA を更に細かく分けたときには、タンパク質合成に参与する r-RNA がもっともはげしい消長を示すことを確認している。すなわち、脂肪体をホモジェネートし、遠心処理によって、四つの分画に分け、各分画における RNA の変動を測定し、全 RNA の変動は、ミクロソーム分画にふくまれる RNA の変動を反映したものであり、更にフェノール法で抽出した核酸を、メチル化アルブミンカラムクロマトグラフィーで細分し、明らかに r-RNA の変動に由因していることを認めている。5 令 3 日では実に全 RNA の 91% がこの r-RNA であることをも知った。

次に、 $^{32}\text{P}$  の各 RNA への取り込みを調べている。注射後 3 時間で、c. p. m. を測定しているが、s-RNA, r-RNA のいずれにも取り込みはあるが、s-RNA へは 5 令 2 日まで、r-RNA へは 5 令 4 日まで、そのあとの段階ではみられない。しかし、試みにほかの組織、たとえば、腸や皮膚への取り込みをみると、いつの段階にも認められる。

5 令 4 日以後において、 $^{32}\text{P}$  の取り込みが r-RNA でなくなるということは、恐らくはこの r-RNA の合成がおとろえる結果であり、したがって、タンパク質合成の機能低下を暗示した先の分析結果とよく一致するといえる。事実、希釈効果をしらべた実験から RNA のターンオーバーはこの時期以後では非常に減速されている。

以上述べたような変態時における脂肪体細胞のタンパク質・核酸・磷脂質 P の変動は、変態ホルモンの作用機序を探る上に一つの手掛を与えるものとして、昆虫の変態生理の研究の進展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値があるものと認める。