

氏名	浅見耕司 あさみこうじ
学位の種類	理学博士
学位記番号	理博第 532 号
学位授与の日付	昭和 53 年 7 月 24 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	理学研究科化学専攻
学位論文題目	Dielectric Study of Yeast Cells (酵母細胞の誘電的研究)

論文調査委員 (主査) 教授 小泉直一 教授 香月裕彦 教授 竹中 亨

論 文 内 容 の 要 旨

申請者浅見耕司の研究は酵母細胞懸濁系の誘電挙動を解析し、酵母細胞の細胞壁、細胞膜、細胞質の誘電率および導電率等の誘電的定数を算出、考察し、また種々の化学的、物理的処理が細胞の誘電的特性に与える影響を詳細に研究したものである。

細胞膜、細胞質等の誘電特性は巨大な細胞については微小電極技術の進歩によって直接測定が可能であるが、酵母や細菌のような微小な細胞については直接測定は不可能である。微小な細胞の誘電定数を知るには細胞懸濁系の誘電特性を解析して細胞の誘電定数を求める方法が可能であり、細胞膜の電気容量については研究が行われている。しかし解析法には不十分な点が多く、定量的に細胞の誘電定数を議論するためには多くの検討すべき問題が残されている。一方細胞懸濁系の誘電挙動に関する詳細な理論が Pauly, Schwan によって提出されているが、表現が複雑であるため実際の系に適用することは困難であった。

申請者は酵母エキス-ペプトン培地中で好気培養した定常初期の細胞を蒸留水で洗浄し、KCl 水溶液に懸濁し、sorbitol で浸透モルを規定した系について広い周波数域 (10 kHz-100 MHz) の誘電率および導電率測定を行なった。周波数 1 MHz 附近で観測される顕著な誘電緩和に対し、Pauly, Schwan の理論を適用して計算機による数値計算を行ない、細胞壁、細胞膜および細胞質の誘電定数を求めた。この誘電緩和は細胞膜の導電率が極めて小さいために生ずる Maxwell-Wagner 型緩和であると解釈した。細胞壁の導電率は懸濁媒質中の塩濃度により変化し、イオン交換膜のような挙動であることを明らかにした。すなわち高濃度の無機塩水溶液では壁の導電率は媒質の導電率と等しい値を示すが、低濃度では塩濃度によらず一定値を示した。この現象を細胞壁中の蛋白質、Phosphomannan の解離基による Donnan 平衡によって説明した。細胞膜の単位面積あたりの電気容量は $1.1 \mu\text{Fcm}^{-2}$ の値を得ており、他の生物細胞膜の値とよく一致している。また媒質中の塩濃度、浸透圧は細胞膜の電気容量にはほとんど影響を与えない。細胞質の誘電率、導電率も媒質の塩濃度に影響されず、誘電率は約 50 である。この値は細胞内のオルガネラと高濃度の蛋白質の存在によって解釈できる。細胞質の導電率は約 3 mS cm^{-1} である。また媒質の浸

透圧を変化させ、それにもとづく細胞体積の変化を誘電特性により解析した結果、細胞膜で被われた細胞質の体積変化を誘電的に測定することが可能であることを示した。

つぎに種々の化学的、物理的処理を行なった細胞の懸濁系について誘電挙動の研究を行ない、処理による効果は二種類の型に分類されることを見出した。第1の型はイオン性界面活性剤による処理、凍結融解、加熱処理等により誘電緩和強度が著しく減少する効果である。この現象は細胞膜の導電率の増加と細胞体積の減少によると解釈した。第2の型の効果は非イオン界面活性剤および K^+ イオンの沈澱試薬である Sodium tetraphenyl borate による処理効果で、誘電緩和強度には変化がなく、緩和周波数が低周波域に移行する現象である。この特性は細胞膜の導電性には変化がなく、細胞質の導電率の低下によって説明できる。

以上のように申請者の研究は酵母細胞懸濁系の誘電挙動を詳細に解析し、細胞各部分の誘電的定数を明らかにし、さらに細胞の物理的、化学的処理とそれによる細胞の誘電特性との関係を追究したものである。

参考論文1は高周波における誘電測定法に関する詳細な検討であり、参考論文2は光照射によるロドプシン膜の界面電位に関する研究である。

論文審査の結果の要旨

生物細胞の細胞膜、細胞質等の誘電率および導電率に関する研究は生体の誘電特性として興味ある問題であるが、微小電極が使用できる巨大な細胞の場合を除いては直接測定は不可能である。酵母や細菌のような微細な細胞については媒質に懸濁させた系の誘電特性を解析し、細胞の誘電定数を求める間接的な方法によらざるを得ない。従来このような方法により細胞膜の電気容量が求められているが、定量的には多くの検討すべき問題が残されている。申請者は酵母細胞を水に懸濁させた系について広汎な誘電測定を行ない、また Pauly, Schwan の理論を適用して計算機による詳細な数値計算を行ない、酵母細胞の各部分について精密な誘電率、導電率等の誘電定数を求めた。また懸濁媒質中のイオン濃度、その他物理的、化学的処理が細胞の誘電特性に与える影響を詳細に研究した。

主論文第1部においては酵母細胞の水懸濁系を種々の規定した条件で調製し、広い周波数域 (10 kHz-100 MHz) について精密な誘電測定を行なった。1 MHz 附近に現われる Maxwell-Wagner 型の誘電緩和を Pauly, Schwan の理論を用いて解析し、細胞壁、細胞膜、細胞質の誘電率および導電率を算出した。細胞壁の導電性は比較的高く、媒質のイオン濃度による細胞壁の導電率の変化をイオンと壁の解離基との Donnan 平衡で説明した。細胞膜の電気容量は $1.1 \mu\text{Fcm}^{-2}$ で従来他の細胞膜で知られている値と一致し、媒質中の塩濃度や浸透圧の変化によらないことを明らかにした。細胞質の誘電率および導電率も媒質のイオン濃度にはあまり影響されず、その値はそれぞれ約50および 3 mS cm^{-1} であった。これらの値は細胞質中のオルガネラおよび高濃度の蛋白質の存在を考慮すれば妥当な値である。また媒質の浸透圧変化による細胞質の体積変化を細胞壁の存在による壁圧で説明している。

主論文第2部においては種々の化学的、物理的処理が誘電緩和に与える影響を考察し、2種類の型に分類できることを見出した。第1の型はイオン性界面活性剤、凍結融解、加熱等の処理による効果で、誘電

緩和強度が著しく減少し、細胞膜の導電率が増加する現象であり、細胞が部分的に破壊されるためと解釈している。第2の型は非イオン界面活性剤等による処理効果で緩和強度は変化しないが、緩和周波数が低下する現象である。この効果は細胞質の導電性の減少と関連していることを明らかにした。

以上申請者は酵母細胞懸濁系に関する広汎な誘電的実験および詳細な数値計算により酵母細胞の各部分の誘電定数を決定し、種々の外的条件がこれらの定数および懸濁系の緩和現象に及ぼす影響を詳細に解明した。従って微細な細胞の誘電挙動およびその解釈に関する優れた研究成果であって、この研究分野に貢献するところが大きい。

参考論文2篇は高周波における誘電測定法に関する基礎的研究および光照射によるロドプシン膜の界面電位に関する研究である。以上主論文および参考論文の内容は申請者が広い学識と豊富な経験を有していることを示している。

よって、本論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認める。