【 3 】

氏　名	原　田　　稔（はら　だ　みのる）
学位の種類	理　学　博　士
学位記番号	理　博　第 24 号
学位授与の日付	昭和 36 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	**Studies on the Tyrosinase System in Lepidopterous Insects** （鱗翅目昆虫のチロシナーゼ系に関する研究）
論文調査委員	（主　査） 教授 市川　衛　教授 宮地伝三郎　教授 中村健児 教授 田中正三

論　文　内　容　の　要　旨

昆虫のチロシナーゼ系代謝は，蛹皮の硬化や黒化現象と関連して古くから研究されているが，体内においてチロシナーゼがどのような状態で存在し，その働きがいかなる要因によって抑制されているかという問題に対しては，じゅうぶんに答え得るほどにはなっていない。著者はこの問題を明らかにするために，昆虫の体液が体外に流出した場合に起こるメラニン生成現象をとりあげて，その原因を探求している。

シンジュサンやエリサンの体液を試験管にとって，SH 化合物を加えるとメラニン生成が抑制され，SH 試薬の添加でそれが促進される。このことからみて生体内でも SH 化合物によってチロシナーゼ活性が抑制されているだろうとは一応推察される。しかし，体液には SH 化合物以外の他の還元性物質の存在が予想されるので，第一部ではまずエリサンを用いて，体液中のおもな還元性物質の決定と全還元力に対して SH 化合物の占める割合を調べている。還元力をメチレン青やトルイレン青の脱色に要する時間で判定すると，令による消長が著しく，4 眠から 5 令初期に増大し，いったん低下して成熟幼虫ないし初期前蛹で最低となり，中期から後期前蛹で急増して，蛹化近くなると再び減退する。もし，この還元力が体内の SH 化合物の還元力だけによるものなら，p—クロロマーキュリベンゾエート処理によって著しい減退がみられるはずであるが，実際にはどの発生段階においても，ほとんど影響をうけない。このことから，体内の SH 化合物は，チロシナーゼ活性の特異的阻害物質ではあるが，エリサン体液の還元性とはほとんどあるいは全く関係がないといえる。このことはエリサン体液には SH 化合物は微量にしか存在しないという加藤　勝の報告とも一致する。そこで次に問題となる物質はアスコルビン酸である。これを満田・鹿内法で測定してみると多量に存在し，しかも初期前蛹までは比較的少なく，中期から後期前蛹で増加し，蛹化直前になって再び減少する。この消長は先にのべた還元力の消長とよく一致しているので，これが主要還元性物質であろうと推定される。そこで，アスコルビン酸とチロシナーゼ活性との関係を調べている。

カイコやエリサンの体液やそのアセトン粉末懸濁液をそれぞれ酵素液として用い，アスコルビン酸添加によるメラニン生成の抑制をみると，明らかにその生成は遅滞し，しかも加えた酸の量が多いほど効果が

著しい。また，体液内のアスコルビン酸の酸化消失の速度とメラニン生成の起こる速さとを測定してみると，前者の大部分が消失した後に，はじめて後者は起こる。したがって，体液内ではアスコルビン酸がメラニン生成をおさえているという可能性はきわめて高い。

そこでこの関係を一層明らかにするために，体内アスコルビン酸の酸化に及ぼす種々の薬剤の影響を調べてみると，たとえば，フェニールチオ尿素の添加で，その酸化消失が阻害されると同時に，メラニン生成も完全に抑制されることがわかる。アザイドはメラニン生成にもアスコルビン酸酸化にも，ほとんど影響しないので，この酸化はチトクローム系によるものとは考えられない。いろいろの実験結果からチロシナーゼ系によるものと思われる。しかし，チロシナーゼが直接アスコルビン酸を酸化するのではなくて，この働きで作られる O- キノンがそれにあたる。このことは，前蛹期以外の体液に O- ジフェノールが検出されることから推定され，アニリン添加でアスコルビン酸の酸化が阻害されることから確認される。フェニールチオ尿素の添加によるメラニン生成の阻害は，チロシナーゼによって，O- ジフェノールを介し，O- キノンを生成する過程の阻害による間接的なものであるという。

要するに，著者の研究によると，昆虫の体液が体外で黒化する機構，つまりメラニン生成の機構は，(1)体液が空気と接触することにより，アスコルビン酸が酸化されて，O- キノンに対する還元作用が除去される一方，(2)チロシナーゼの働きで，モノフェノールから O- ジフェノールの生成が進み，(3)さらにこの O- ジフェノールがチロシナーゼの働きで空気中の酸素によって酸化されて O- キノンになるためである。

最後に，体液とアセトン粉末にしたチロシナーゼとに対する蔗糖や食塩の濃度の影響の相異を指摘し，その理由をチロシナーゼ分子の蛋白部分の変化に帰している。

論文審査の結果の要旨

昆虫の体液を体外に取り出したり，組織を磨砕したときに黒化するのは，メラニンが生成されるためである。ことに体液は体外の空気にふれただけで，他の薬品を加えないでも黒化するから，それ自体にメラニン生成に必要な基質や酵素をふくんでいることがわかる。その上，昆虫の体内には，気管系を介して，メラニン生成に必要な酸素もかなり豊富に存在する。つまり，基質・酵素・酸素とメラニン生成に必要な要素がすべて体内に存在するにもかかわらず，なぜに体内では黒化しないのであろうか。これに対してはいろいろに説明されている。(1)生体内ではチロシナーゼと基質分子とが細胞構造によって分離されていて反応が起こりえないが，体外ではその構造が破壊される（Pryor, 1955）。(2)チロシナーゼ活性に対する阻害物質が存在し，体外ではこれが除去される。阻害物質としては，昆虫ではブドウ糖脱水素酵素（Dannell, 1949），他の動物では SH 化合物の存在が指摘されている（Foster, 1951など）。(3)チロシナーゼの働きで生成される O- キノンが脱水素酵素によって，たえず O- ジフェノールに還元されるためである（Karlson and Wecker, 1955）。(4)体内ではチロシナーゼが不活性のプロチロシナーゼとして存在するために，メラニン生成は起こらないが，空気にふれると活性チロシナーゼになる（Bodine, 1941 ; Horowitz, 1955）。

以上四つの説がどの程度の真実性をもつものか，一つ一つは互いに相容れないものか，それとも互いに補足しあって完全な説となるものかなどという疑問は未解決のまま残されている。

主論文は数種の鱗翅目昆虫の体液を材料として，種々の実験を行ない，チロシナーゼ活性がいろいろの条件で激しく変動することを明らかにし，これらの実験結果にもとづいて，先に述べた各説の統一的把握

に一応の成功を収めたもので，非常に意義あるものといえる。

第1部は，エリサンの脱皮・変態時における体液の還元力の消長がアスコルビン酸の増減と一致することを見いだし，チロシナーゼ活性をおさえる主要還元性物質はアスコルビン酸であることを確かめたものである。

第2部では，シンジュサンの体液ではアスコルビン酸のかわりに，SH 化合物が抑制剤として働いていることを認め，

第3部では，チロシナーゼ活性とアスコルビン酸との関係をさらに深く追究して，チロシナーゼ系によるアスコルビン酸酸化の可能性の高いことを指摘している。しかし，チロシナーゼが直接アスコルビン酸を酸化するのでなく，チロシナーゼによって作られる O- キノンがそれに当ることをみている。チロシナーゼ活性の阻害剤であるフェニールチオ尿素による強力なメラニン生成の抑制は，この O- キノンの生成を阻害することによる間接的アスコルビン酸酸化の阻止であるという。

第4部では，蔗糖および食塩溶液の濃度変化とチロシナーゼ活性の消長との関連から，体液中のチロシナーゼとアセトン粉末にしたものとは異なる状態にあることを推定し，それに対する検討を加え，著者がこの分野において相当の学力をもっていることを示している。

参考論文2編はいずれも主論文と同じく鱗翅目昆虫の体液のチロシナーゼの性状を調べたもので，価値ある研究である。

要するに，著者原田　稔は発生化学の分野においてすぐれた研究を行ない，有益なる成果を収めたものである。

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。

〔主 論 文 公 表 誌〕

第1，2部　Memoirs of the College of Science, University of Kyoto, Series B, Vol. 27 (1960), No.1

第　3　部　動物学雑誌　第69巻（昭．35）第6号

第　4　部　Memoirs of the College of Science, University of Kyoto, Series B, Vol. 27 (1960), No.2

〔参　考　論　文〕

1. Studies on the Tyrosinase System in Lepidopterous Insects　1. Effects of SH Reagents on the Melanosis of the Body Fluid of ***Philosamia cynthia ricini***

   （鱗翅目昆虫のチロシナーゼ系に関する研究　1. エリサン体液のメラニン生成に及ぼす SH 試薬の影響）

   （加藤　勝と共著）

   公表誌　Annotationes Zoologicae Japonenses, Vol. 33 (1960), No.3

2. 鱗翅目昆虫の体液のチロシナーゼの性状に関する一知見

   公表誌　科学　第30巻（昭．35）第5号