

氏 名	齊 藤 和 芳
	さい どう かず よし
学 位 の 種 類	農 学 博 士
学 位 記 番 号	農 博 第 184 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 49 年 7 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	農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on membrane potential of plant cells. On electrogenic ion pump as revealed by the external pH effect on the membrane potential of <i>Nitella</i> (植物の細胞膜電位に関する研究。 <i>Nitella</i> の膜電位に及ぼす外 液 pH 効果と起電性イオンポンプについて) (主 査) 教 授 千 田 貢 教 授 中 島 稔 教 授 高 橋 英 一
論 文 調 査 委 員	

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は *Nitella* 節間細胞において観察される外液 pH 変化にともなう膜電位変化を詳しく解析し、細胞膜における起電性イオンポンプの存在について論じたものである。

1. *Nitella* 節間細胞 (*N. flexilis*, *N. axilliformis*) の液胞電位は外液 pH を 5.5 から 8 に高めると、明条件下で、単位 pH 変化あたり 30~40 mV、pH 8 で約 90 mV の過分極を示す。この外液 pH 効果は暗条件下で大部分消失する。その過分極値の大きさ、また光照射条件との相関からみて、この外液 pH 効果は起電性イオンポンプによる可能性が大きい。

膜の電気抵抗は pH 増大とともに減少する。またこの外液 pH 効果は外液イオン組成の影響をうけ、とくに K^+ イオン濃度を増大していくと 0.3~1mM 付近で、膜は pH-sensitive, K-insensitive 状態から pH-insensitive, K-sensitive 状態へ突然転移する。

2. 外液 pH 効果は通常の細胞を 40~60 分暗条件下におくと大部分消失する。また低温 (7°C) 下におくか、代謝阻害剤、DCMU または DNP の存在下で著しく低下する。*N. axilliformis* ではある場合には暗条件下においても外液 pH 効果が観察されたが、この場合でも低温下または DNP 存在下でこの効果は消失した。これらの結果は pH 依存性の起電性イオンポンプの仮説を支持する。pH 5.5 における膜電位は代謝変動の影響を受けにくく、大部分受動的イオン拡散によると思われる。

3. 外液イオン組成を変えた場合、一価カチオンでは、1mM 以下ではカチオン種の違いは pH 効果の大きさに影響しないが、濃度が増大すると上記 K^+ イオンの場合と基本的に同じ挙動を示す。その脱分極を起こす効果は Na^+ , Li^+ , $choline^+$ < Cs^+ < K^+ , Rb^+ の順に増大する。二価カチオンでは、0.1mM でもイオン種 (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) による差異が見られる。またこの pH 効果は、外液の Cl^- イオンを SO_4^{2-} イオンに置換しても変わらず、外液の浸透価によっても影響されない。外液イオン組成変化にともなう膜抵抗の減少は、起電性イオンポンプ仮説にもとづく pH 効果の減少の予想とよく対応する。

4. pH 5.5 および 8 での *N. axilliformis* の膜の示す電流—電圧特性は、起電性イオンポンプが電位依

存性であるとして理解できる。またこの立場から pH 増大による膜抵抗の低下はポンプ電流の電位依存性に帰因される。ポンプ電流は20°C, pH 8 で約 $1 \mu\text{Acm}^{-2}$ と評価される。諸実験結果からみて、この起電性イオンポンプは H^+ イオンポンプである可能性が強い。

論文審査の結果の要旨

細胞内外のイオンの不均等分布は主としていわゆるイオンポンプによるとされている。このイオンポンプは従来電気的中性であると考えられてきたが、近年になって、正味の電荷移動を引き起こして直接的に膜電位に寄与する起電性イオンポンプの存在を示唆する研究がみられるようになった。この起電性イオンポンプは細胞膜を通る物質移動との関連においても注目されている。

本論文は *Nitella* 細胞膜電位におよぼす重炭酸イオンの効果に着目し、この効果を外液 pH 効果の立場から再検討した結果、pH 5.5~8 の領域における外液 pH 効果が起電性イオンポンプによるという実験的根拠を得、さらにその性質についていくつかの点を明らかにしたものである。すなわち、*N. flexilis* および *N. axilliformis* の膜電位は外液 pH 5.5~8 の変化により単位 pH あたり 30~40mV の割合で pH 増大とともに過分極すること、この pH 効果は明条件下で発現するが、暗条件処理、低温下、および代謝阻害剤の存在下では発現しないことを明らかにし、その過分極値も考えあわせて、この pH 効果は起電性イオンポンプによるものとの考えを提出した。この立場から、外液 pH 効果にともなう膜抵抗の変化、外液イオン組成および外液浸透価の pH 効果におよぼす影響を明らかにし、また膜の電流—電圧特性からこの起電性イオンポンプが電位依存性であることを示した。さらに、pH 効果に関連して、外液一価カチオン濃度により膜の状態に転移現象がみられるという膜生理学上興味ある結果を得ている。

以上のように本論文は *Nitella* 細胞の膜電位におよぼす外液 pH 効果の研究から起電性イオンポンプの存在を明らかにし、その性質の解明を行なったもので、植物細胞生理学に寄与するところが多い。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。