

| | | | | |
|---------|-------------------------------------|---------|---------|---------|
| 氏名・（本籍） | さめ 鮫 | じま 島 | みち 道 | かず 和 |
| 学位の種類 | 理 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 理博第 | 592 | 号 | |
| 学位授与年月日 | 昭和53年12月27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 | 東北大学大学院理学研究科 （博士課程）生物学専攻 | | | |
| 学位論文題目 | オジギソウ運動細胞の興奮および回復に関する研究 | | | |
| 論文審査委員 | （主査） 教授 柴岡孝雄 教授 小西和彦 助教授 和田俊司 | | | |

論 文 目 次

I 緒 言

II 材料と方法

- 1) 材 料
- 2) 実験装置
- 3) 電位の測定
- 4) 一本の電極で膜電位と膜抵抗を同時に記録する方法
- 5) 興奮性細胞への色素の注入とその細胞の同定
- 6) 微小Cl⁻電極の作製方法とそのイオン選択性
- 7) 光照射の方法
- 8) 外液のイオン組成

III 結 果

- 1) 主葉枕と葉柄の興奮性細胞の比較

2) 主葉枕の運動と回復

IV 考 察

1) 葉枕と葉柄の興奮性細胞

2) 運動と回復

V 要 約

VI 謝 辞

References

Plates の説明と Plates

論文内容要旨

I 緒言

オジギソウの葉は熱傷、切傷、電気などの刺激を受けると早い運動を示す。この運動が生じる時、活動電位の発生が見られる。オジギソウの各部には興奮性細胞が分布していて、植物体に加えられた刺激は、その部分にある興奮性細胞に活動電位を発生させ、この活動電位は次々に興奮性細胞を伝播して行って、葉枕にまで達する。すると葉枕皮層柔細胞にも活動電位が引き起こされて、その結果葉枕の運動が生じる。

葉枕皮層柔細胞に生じた活動電位は、何らかの方法で細胞内のイオンや水を細胞外に出し、これによって細胞の膨圧が低下して運動が生じるのだと考えられている。小田ら(1976)は最近ユニークな方法で、葉枕部で活動電位とそれに続く運動によって1200~1300 p moles の K^+ とそれと同じ程度の Cl^- の放出があることを明らかにした。これは前述の仮説を支持するものであるが、次の様な重要な点は未解決である。i) イオンの放出は運動の直接の原因であるかどうか。ii) 運動細胞からのこのイオンの放出はどの様に行なわれるか。iii) 活動電位の発生時に膜を横切るイオン電流と、運動の原因となるイオン放出との関係はどのようなものか。iv) 放出されたイオンはその後どうなるかなど。筆者は Cl^- 感受性の微小電極を開発して、イオンの放出を生きた葉枕組織で、活動電位や運動と一緒に直接測定を行って、上述の問題点について研究を行なった。又、先に柴岡により報告されている葉柄の興奮性細胞を色素注入法により同定すると共に、これと主葉枕興奮性細胞との比較を行なった。

II 材料と方法

実験温室内で鉢植えで育てた、あるいは研究室内のビニールハウスで水耕によって育てた、十分に成長し、良く運動するオジギソウ(*Mimosa pudica* L.)の葉柄、葉枕を実験材料として用いた。実験の多くは、一般的に行なわれている電気生理的手法を中心にして行なわれたが、いくつかの点に特徴がある。

i) 微小 Cl^- 選択性電極

葉枕運動細胞から細胞間隙に放出されるイオンを測定するため、葉枕細胞間隙に刺入できる様な小さなイオン感受性電極を作製した。0.3 mm 銀線を25% KOH中で、次いで5% KCN 5% $K_4Fe(CN)_6$ 中で電解研磨して、先端を鋭く尖らせその表面を高度の金属光沢面に仕上げ、先端300~500 μm を残して市販のポリウレタンで被覆、絶縁した。この電極の各種塩に対する起電力を調べると、 Cl^- に対してだけ-の起電力を示し、しかも Cl^- の10倍濃度変化に対してだけ56 mV とほぼ理論値の変化を示すので、この電極は Cl^- 選択性電極である。

ii) 一本の電極で膜電位と膜抵抗を同時に記録する方法。

普通、膜抵抗測定を行う時には、電極2本を細胞に刺入して、一本で電位の測定を、一本で通電を行う。しかし葉枕のような組織内の小さな細胞に同時に2本の電極を刺入することはきわめて困難なので、一本の電極で電位測定と通電を行うことのできる回路を考案した。

iii) 興奮性細胞への色素の注入

葉柄で活動電位を発生する細胞を同定するために色素注入を行なった。注入する色素は電位測定のための電極に詰めて用いるため荷電を持っていること、色素注入で細胞が変性してしまわないこと、注入された細胞にだけ留まっていて、細胞外や近隣の細胞に浸透しないことなどが必要であり、そのような目的に合った色素として procion yellow を詰めたガラス管微小電極を細胞に刺入し、その細胞が活動電位を発生したら電極内の procion yellow を細胞に注入した。色素注入を行なった組織は連続切片として蛍光顕微鏡下450nmの励起光により procion yellow の蛍光を発している細胞を探した。

III 結 果

i) 主葉枕と葉柄の興奮性細胞の比較

主葉枕は、中央に維管束があり、その回りを2~4層の厚膜細胞がとり囲み、その外側に皮層柔細胞がある。柔細胞は葉枕断面の90%近くを占め、柔細胞の外側を表皮が包んでいる。電極を刺入して調べると、ほとんどの皮層柔細胞は活動電位を発生する。一方葉柄は中央に大きな細胞からなる髓があり、その上下と左右に道管がある。道管の髓側には原生木部の柔細胞があり、道管の外側には、師部、厚膜組織、皮層、表皮の順に並んでいる。このうち活動電位を発生する細胞は、柴岡(1962)によれば原生木部柔細胞と師部の小形細胞であるが、色素を注入された細胞はまず原生木部の細胞に見られた。この細胞の平均的大きさは、幅12.5 μ m長さ150 μ mで蛍光の強さから液胞のそれ程多くない原形質に富んだ細胞であった。原生木部の細胞は数+個が集まって葉柄の縦方向に連続して走っている。このことは活動電位を葉柄の末端から末端まで確実に伝達するのに役立っているであろう。

一方師部の細胞では、小形の細胞にだけ色素の注入が見られたが、これが Esau (1973) の指摘する師管伴細胞、柔細胞のうちのどれに相当するかは確定できなかった。この師部の細胞は幅4.4 μ m、長さ120 μ mと木部よりひと回り小さく、師部の大きな細胞の間に数個ずつ散在している。

これら葉枕と葉柄の興奮性細胞の静止電位はいずれの細胞でもほぼ同じで、-155~160 mVであるが、活動電位の peak 値は葉枕と葉柄で大きさが違い、葉枕は約-55 mV、葉柄は約+15 mVである。又両者で波形も異なり葉枕は早い立ち上りの後にプラトーを持ちゆっくり再分極するが、葉柄ではプラトーは無い。膜抵抗はいずれの細胞でも、実効値でM Ω の値を示し、比抵抗値も160~230 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ とほとんど変わらない。

静止電位、活動電位の外液の K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- の各濃度に対する依存性を調べたが、いずれのイオン濃度変化に対しても、理論値を大きく下まわる変化しか示さなかった。しかし葉柄原生木部の細胞と、葉枕の上側皮層柔細胞では、静止時には電位は K^+ と Na^+ に依存的であり、これが K^+ と Cl^- に対して依存的になった時に活動電位が発生する可能性が示唆された。

ii) 主葉枕の運動と回復

主葉枕に微小 Cl^- 電極を刺入して細胞間隙の Cl^- 濃度を測定すると、運動前は数mMであるが運動が生じると直ちに30~200mMくらいに増加する。濃度変化の微分を見ると(イオンの放出に相当する)、イオンの増加は最初に小さなピークがあってそれに続いて運動が最も大きく生じる所で一番大きな増加を示した後、運動が終了すると同じ頃に増加も止まる。この様なイオン濃度の増加は、葉枕の下側でだけ記録され、上側では記録されない。このイオンの増加と運動の時間関係を調べると50~10msec、イオンの増加の始まりの方が、運動の立ち上りより先行している。従って運動に先立って細胞間隙に Cl^- が放出され、それに続いて運動が生じており、上述のようなイオン放出は運動の原因と考えられる現象である。

このイオンの放出がある時、運動細胞の膜抵抗を測定してみると、膜抵抗の減少が見られる細胞がある。膜抵抗は静止時の25~86%、平均して45.5%に減少する。この膜抵抗の減少も詳しく調べてみると運動に先立って生じる。

膜に活動電位が生じると、その事自体のために膜を横切るイオンの流れが生じるが、このイオンの流れは、運動の原因となるイオンの流れとは同じでないことが明らかになった。葉枕は明条件では、活動電位が生じると運動する。しかし、暗条件下に置くと活動電位を発生しても運動しない状態となる。しかも、再び光照射すると、活動電位と運動の連関が生じる。このことは上に述べた事を証明している。

運動した葉枕は、1分程遅れて回復を始め、約15分ではほぼ最初の状態へ戻る。ところが暗条件下での回復は明条件下に較べてずっと遅く、暗条件下の回復速度が5.0度/minであるのに対して暗条件下では0.7度/minである。又、暗条件下でゆっくり回復を始めている葉枕に途中で光照射を行うと、30秒から1分のlagの後、回復速度は急速に増加する。

回復時に細胞間隙 Cl^- 濃度を連続して測定すると、明条件下では増加した Cl^- は、1~2分の後、すみやかに減少を始め、15分くらいで最初のレベルに戻る。ところが暗条件下では増加した Cl^- の減少はずっと遅くなると同時に、30分以上経過しても元のレベルより高い濃度で安定してしまう。このように運動の回復と細胞間隙の Cl^- 濃度の減少は非常によく対応している。

更に、回復期に柔細胞の膜電位を記録すると、明条件下では活動電位の後、一度脱分極してからすみやかに再分極する(17.8mv/min)が、暗条件下では脱分極したレベルに長く留まっていた後、ゆっくり再分極する(≤ 4.8 mv/min)。又途中で光照射すると1分遅れて分極速度が増加する。

この様に、運動の回復、細胞間隙の Cl^- 濃度の減少、柔細胞に見られる明、暗の対応関係は、葉枕の回復現象が光により調節されている事を示している。光による調節のしくみにはいくつかの可能性はあるが、phytochromeによる可能性は否定され、光合成からのエネルギー供給による可能性が確められた。葉枕の回復速度は、照射する光のエネルギーに依存的であり、細胞間隙からの Cl^- の減少は、 $20\ \mu\text{M}$ DCMU、 $10\ \mu\text{M}$ CCCPで未処理のものより遅れ、又柔細胞膜電位も $1\ \text{mM}$ フェナントロリン、 $20\ \mu\text{M}$ DCMU処理により、光照射下でも暗条件下と同じパターンの変化を示した。これらのことは、運動により放出されたイオンが光合成からエネルギー供給を受けて、細胞間隙から運ばれていくことが、葉枕の回復をもたらすことを示している。

IV 考 察

蛍光色素を注入して細胞の同定を行う方法は、これまで動物の神経細胞で主に用いられて来た。植物に用いた場合、液胞内に入った色素がどうなるか問題であったが、今回の実験により、植物の興奮性細胞の同定にも用いることができることが明らかになった。注入された色素はほぼ細胞全体に広がり、蛍光の強さから、蛍光の強い原形質と蛍光の弱い液胞の区別もできた。

葉枕では、上側の柔細胞も下側の柔細胞もほとんどの細胞（皮層柔細胞）が活動電位を発生する興奮性細胞であるが、細胞間隙で Cl^- の増加があるのは、下側だけであった。このことは葉枕下側の皮層柔細胞にだけ、活動電位を発生し、かつ運動の原因となるイオン放出を行う機構が備わっている事を示している。これはこれまで考えられていた仮説と良く合う。

下側の皮層柔細胞で Cl^- の放出時に膜抵抗の減少が測定された。しかしイオン放出時に相当する活動電位の plateau の電位は、外液の Cl^- 濃度に対して依存性を示さない。このことから、膜抵抗の減少を、単に Cl^- に対して膜透過性が高まったためと解釈する訳にはいかず、細胞からのイオンの放出も、膜透過性の増大によるもの以外の機構を考える必要がある。

放出されたイオンは、運動の回復に伴なって減少していくが、この減少は、光合成からのエネルギー依存的であること、葉枕内にイオンを別の所へ運ぶような特別な構造が認められないこと、回復に要する時間は早いこと、柔細胞は多くのイオンを取り込んでいること、葉枕はくり返し運動できることながら、おそらく、イオンは柔細胞に再吸収されるものと思われる。細胞内へイオンを取り込む過程が pump によるものであれば electrogenic な成分として膜電位に現われる可能性がある。そこで回復過程の柔細胞の膜電位を色々な条件で測定したが、直接 pump の存在を証明することはできなかった。

以上の様に、本研究を通じて、葉枕、葉柄の興奮性細胞の性質を明らかにし、主葉枕の運動と回復を、活動電位によって誘発される皮層柔細胞（運動細胞）でのイオンの放出と、その再吸収として理解することができた。

論文審査の結果の概要

本論文は、振動傾性の速い運動をするオギソウの主葉枕における運動細胞の活動電位と運動との関係を論じたものである。主葉枕では活動電位が生ずると0.2秒ほどおくれ運動細胞の急激な膨圧の消失がおこり運動が発現することが知られているが、その機作の詳細は未だわかっていなかった。判明していることは、運動時に運動細胞から急激な水の排出があり、この水の中に少なくとも K^+ と Cl^- が含まれていることである。本研究においては主葉枕の皮層柔細胞（運動細胞と思われる）の一つに微小電極を刺入し膜電位と膜抵抗の変化を記録し、一方、著者が開発した微細な Cl^- 感受性電極を細胞間隙に挿入し、細胞の周囲の Cl^- 濃度の変化を記録した。また差動トランスにより運動をも同時記録した。

主葉枕を直接刺激するか、あるいは葉柄を刺激して伝達性活動電位を主葉枕に送ると、ほとんどすべての皮層細胞は活動電位を発生し、ついで葉枕は運動するが、細胞外の Cl^- 濃度の増加（数mMあったものが30～200mMとなる）は主葉枕の下半分のみでおこる。そして、この増加のはじまりは運動開始より10～50msec先行しており、このとき細胞の膜抵抗は約45%に減少する。以上のことは次の結論を導く。すなわち、主葉枕下半分の皮層柔細胞が運動細胞であり、この細胞に活動電位が生ずると、 K^+ や Cl^- を含んだ液（おそらく、細胞液であろう）が排出されるような変化がおこる。この結果、細胞は膨圧を失い、運動がおこる。

排出された Cl^- は次第にその濃度を下げるが、これは運動からの回復経過で運動細胞に再吸収されると思われる。光のあるとき運動の回復が早い、 Cl^- 濃度の減少も早く、暗黒中では回復がおそく、 Cl^- 濃度減少もおそい、光のあるときでも光合成阻害剤で回復も、再吸収もおこれるから、 Cl^- の吸収は能動的で、これを動かすエネルギーの一部は光合成から得ていると思われる。

この研究の中で、神経組織で行われている組織内の興奮性細胞を決定する蛍光色素 procion yellow 注入法を植物細胞にも適用できることを明らかにした。

以上の如く、この研究は植物の速い運動の機作の究明に大きく貢献しており、著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。よって、鮫島道和提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。

| | | | | |
|---------|-------------------------------------|---------|---------|---------|
| 氏名・（本籍） | さめ 鮫 | じま 島 | みち 道 | かず 和 |
| 学位の種類 | 理 | 学 | 博 | 士 |
| 学位記番号 | 理博第 | 592 | 号 | |
| 学位授与年月日 | 昭和53年12月27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 | 東北大学大学院理学研究科 （博士課程）生物学専攻 | | | |
| 学位論文題目 | オジギソウ運動細胞の興奮および回復に関する研究 | | | |
| 論文審査委員 | （主査） 教授 柴岡孝雄 教授 小西和彦 助教授 和田俊司 | | | |

論 文 目 次

I 緒 言

II 材料と方法

- 1) 材 料
- 2) 実験装置
- 3) 電位の測定
- 4) 一本の電極で膜電位と膜抵抗を同時に記録する方法
- 5) 興奮性細胞への色素の注入とその細胞の同定
- 6) 微小Cl⁻電極の作製方法とそのイオン選択性
- 7) 光照射の方法
- 8) 外液のイオン組成

III 結 果

- 1) 主葉枕と葉柄の興奮性細胞の比較

2) 主葉枕の運動と回復

IV 考 察

1) 葉枕と葉柄の興奮性細胞

2) 運動と回復

V 要 約

VI 謝 辞

References

Plates の説明と Plates

論文内容要旨

I 緒言

オジギソウの葉は熱傷、切傷、電気などの刺激を受けると早い運動を示す。この運動が生じる時、活動電位の発生が見られる。オジギソウの各部には興奮性細胞が分布していて、植物体に加えられた刺激は、その部分にある興奮性細胞に活動電位を発生させ、この活動電位は次々に興奮性細胞を伝播して行って、葉枕にまで達する。すると葉枕皮層柔細胞にも活動電位が引き起こされて、その結果葉枕の運動が生じる。

葉枕皮層柔細胞に生じた活動電位は、何らかの方法で細胞内のイオンや水を細胞外に出し、これによって細胞の膨圧が低下して運動が生じるのだと考えられている。小田ら(1976)は最近ユニークな方法で、葉枕部で活動電位とそれに続く運動によって1200~1300 p moles の K^+ とそれと同じ程度の Cl^- の放出があることを明らかにした。これは前述の仮説を支持するものであるが、次の様な重要な点は未解決である。i) イオンの放出は運動の直接の原因であるかどうか。ii) 運動細胞からのこのイオンの放出はどの様に行なわれるか。iii) 活動電位の発生時に膜を横切るイオン電流と、運動の原因となるイオン放出との関係はどのようなものか。iv) 放出されたイオンはその後どうなるかなど。筆者は Cl^- 感受性の微小電極を開発して、イオンの放出を生きた葉枕組織で、活動電位や運動と一緒に直接測定を行って、上述の問題点について研究を行なった。又、先に柴岡により報告されている葉柄の興奮性細胞を色素注入法により同定すると共に、これと主葉枕興奮性細胞との比較を行なった。

II 材料と方法

実験温室内で鉢植えで育てた、あるいは研究室内のビニールハウスで水耕によって育てた、十分に成長し、良く運動するオジギソウ(*Mimosa pudica* L.)の葉柄、葉枕を実験材料として用いた。実験の多くは、一般的に行なわれている電気生理的手法を中心にして行なわれたが、いくつかの点に特徴がある。

i) 微小 Cl^- 選択性電極

葉枕運動細胞から細胞間隙に放出されるイオンを測定するため、葉枕細胞間隙に刺入できる様な小さなイオン感受性電極を作製した。0.3 mm銀線を25% KOH中で、次いで5% KCN 5% $K_4Fe(CN)_6$ 中で電解研磨して、先端を鋭く尖らせその表面を高度の金属光沢面に仕上げ、先端300~500 μm を残して市販のポリウレタンで被覆、絶縁した。この電極の各種塩に対する起電力を調べると、 Cl^- に対してだけ-の起電力を示し、しかも Cl^- の10倍濃度変化に対してだけ56 mVとはほぼ理論値の変化を示すので、この電極は Cl^- 選択性電極である。

ii) 一本の電極で膜電位と膜抵抗を同時に記録する方法。

普通、膜抵抗測定を行う時には、電極2本を細胞に刺入して、一本で電位の測定を、一本で通電を行う。しかし葉枕のような組織内の小さな細胞に同時に2本の電極を刺入することはきわめて困難なので、一本の電極で電位測定と通電を行うことのできる回路を考案した。

iii) 興奮性細胞への色素の注入

葉柄で活動電位を発生する細胞を同定するために色素注入を行なった。注入する色素は電位測定のための電極に詰めて用いるため荷電を持っていること、色素注入で細胞が変性してしまわないこと、注入された細胞にだけ留まっていて、細胞外や近隣の細胞に浸透しないことなどが必要であり、そのような目的に合った色素として procion yellow を詰めたガラス管微小電極を細胞に刺入し、その細胞が活動電位を発生したら電極内の procion yellow を細胞に注入した。色素注入を行なった組織は連続切片として蛍光顕微鏡下450nmの励起光により procion yellow の蛍光を発している細胞を探した。

III 結 果

i) 主葉枕と葉柄の興奮性細胞の比較

主葉枕は、中央に維管束があり、その回りを2~4層の厚膜細胞がとり囲み、その外側に皮層柔細胞がある。柔細胞は葉枕断面の90%近くを占め、柔細胞の外側を表皮が包んでいる。電極を刺入して調べると、ほとんどの皮層柔細胞は活動電位を発生する。一方葉柄は中央に大きな細胞からなる髓があり、その上下と左右に道管がある。道管の髓側には原生木部の柔細胞があり、道管の外側には、師部、厚膜組織、皮層、表皮の順に並んでいる。このうち活動電位を発生する細胞は、柴岡(1962)によれば原生木部柔細胞と師部の小形細胞であるが、色素を注入された細胞はまず原生木部の細胞に見られた。この細胞の平均的大きさは、幅12.5 μ m長さ150 μ mで蛍光の強さから液胞のそれ程多くない原形質に富んだ細胞であった。原生木部の細胞は数+個が集まって葉柄の縦方向に連続して走っている。このことは活動電位を葉柄の末端から末端まで確実に伝達するのに役立っているであろう。

一方師部の細胞では、小形の細胞にだけ色素の注入が見られたが、これが Esau (1973) の指摘する師管伴細胞、柔細胞のうちのどれに相当するかは確定できなかった。この師部の細胞は幅4.4 μ m、長さ120 μ mと木部よりひと回り小さく、師部の大きな細胞の間に数個ずつ散在している。

これら葉枕と葉柄の興奮性細胞の静止電位はいずれの細胞でもほぼ同じで、-155~160 mVであるが、活動電位の peak 値は葉枕と葉柄で大きさが違い、葉枕は約-55 mV、葉柄は約+15 mVである。又両者で波形も異なり葉枕は早い立ち上りの後にプラトーを持ちゆっくり再分極するが、葉柄ではプラトーは無い。膜抵抗はいずれの細胞でも、実効値でM Ω の値を示し、比抵抗値も160~230 $\Omega \cdot \text{cm}^2$ とほとんど変わらない。

静止電位、活動電位の外液の K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- の各濃度に対する依存性を調べたが、いずれのイオン濃度変化に対しても、理論値を大きく下まわる変化しか示さなかった。しかし葉柄原生木部の細胞と、葉枕の上側皮層柔細胞では、静止時には電位は K^+ と Na^+ に依存的であり、これが K^+ と Cl^- に対して依存的になった時に活動電位が発生する可能性が示唆された。

ii) 主葉枕の運動と回復

主葉枕に微小 Cl^- 電極を刺入して細胞間隙の Cl^- 濃度を測定すると、運動前は数mMであるが運動が生じると直ちに30~200mMくらいに増加する。濃度変化の微分を見ると(イオンの放出に相当する)、イオンの増加は最初に小さなピークがあってそれに続いて運動が最も大きく生じる所で一番大きな増加を示した後、運動が終了すると同じ頃に増加も止まる。この様なイオン濃度の増加は、葉枕の下側でだけ記録され、上側では記録されない。このイオンの増加と運動の時間関係を調べると50~10msec、イオンの増加の始まりの方が、運動の立ち上りより先行している。従って運動に先立って細胞間隙に Cl^- が放出され、それに続いて運動が生じており、上述のようなイオン放出は運動の原因と考えられる現象である。

このイオンの放出がある時、運動細胞の膜抵抗を測定してみると、膜抵抗の減少が見られる細胞がある。膜抵抗は静止時の25~86%、平均して45.5%に減少する。この膜抵抗の減少も詳しく調べてみると運動に先立って生じる。

膜に活動電位が生じると、その事自体のために膜を横切るイオンの流れが生じるが、このイオンの流れは、運動の原因となるイオンの流れとは同じでないことが明らかになった。葉枕は明条件では、活動電位が生じると運動する。しかし、暗条件下に置くと活動電位を発生しても運動しない状態となる。しかも、再び光照射すると、活動電位と運動の連関が生じる。このことは上に述べた事を証明している。

運動した葉枕は、1分程遅れて回復を始め、約15分ではほぼ最初の状態へ戻る。ところが暗条件下での回復は明条件下に較べてずっと遅く、暗条件下の回復速度が5.0度/minであるのに対して暗条件下では0.7度/minである。又、暗条件下でゆっくり回復を始めている葉枕に途中で光照射を行うと、30秒から1分のlagの後、回復速度は急速に増加する。

回復時に細胞間隙 Cl^- 濃度を連続して測定すると、明条件下では増加した Cl^- は、1~2分の後、すみやかに減少を始め、15分くらいで最初のレベルに戻る。ところが暗条件下では増加した Cl^- の減少はずっと遅くなると同時に、30分以上経過しても元のレベルより高い濃度で安定してしまう。このように運動の回復と細胞間隙の Cl^- 濃度の減少は非常によく対応している。

更に、回復期に柔細胞の膜電位を記録すると、明条件下では活動電位の後、一度脱分極してからすみやかに再分極する(17.8mv/min)が、暗条件下では脱分極したレベルに長く留まっていた後、ゆっくり再分極する(≤ 4.8 mv/min)。又途中で光照射すると1分遅れて分極速度が増加する。

この様に、運動の回復、細胞間隙の Cl^- 濃度の減少、柔細胞に見られる明、暗の対応関係は、葉枕の回復現象が光により調節されている事を示している。光による調節のしくみにはいくつかの可能性はあるが、phytochromeによる可能性は否定され、光合成からのエネルギー供給による可能性が確められた。葉枕の回復速度は、照射する光のエネルギーに依存的であり、細胞間隙からの Cl^- の減少は、 $20\ \mu\text{M}$ DCMU、 $10\ \mu\text{M}$ CCCPで未処理のものより遅れ、又柔細胞膜電位も $1\ \text{mM}$ フェナントロリン、 $20\ \mu\text{M}$ DCMU処理により、光照射下でも暗条件下と同じパターンの変化を示した。これらのことは、運動により放出されたイオンが光合成からエネルギー供給を受けて、細胞間隙から運ばれていくことが、葉枕の回復をもたらすことを示している。

IV 考 察

蛍光色素を注入して細胞の同定を行う方法は、これまで動物の神経細胞で主に用いられて来た。植物に用いた場合、液胞内に入った色素がどうなるか問題であったが、今回の実験により、植物の興奮性細胞の同定にも用いることができることが明らかになった。注入された色素はほぼ細胞全体に広がり、蛍光の強さから、蛍光の強い原形質と蛍光の弱い液胞の区別もできた。

葉枕では、上側の柔細胞も下側の柔細胞もほとんどの細胞（皮層柔細胞）が活動電位を発生する興奮性細胞であるが、細胞間隙で Cl^- の増加があるのは、下側だけであった。このことは葉枕下側の皮層柔細胞にだけ、活動電位を発生し、かつ運動の原因となるイオン放出を行う機構が備わっている事を示している。これはこれまで考えられていた仮説と良く合う。

下側の皮層柔細胞で Cl^- の放出時に膜抵抗の減少が測定された。しかしイオン放出時に相当する活動電位の plateau の電位は、外液の Cl^- 濃度に対して依存性を示さない。このことから、膜抵抗の減少を、単に Cl^- に対して膜透過性が高まったためと解釈する訳にはいかず、細胞からのイオンの放出も、膜透過性の増大によるもの以外の機構を考える必要がある。

放出されたイオンは、運動の回復に伴なって減少していくが、この減少は、光合成からのエネルギー依存的であること、葉枕内にイオンを別の所へ運ぶような特別な構造が認められないこと、回復に要する時間は早いこと、柔細胞は多くのイオンを取り込んでいること、葉枕はくり返し運動できることながら、おそらく、イオンは柔細胞に再吸収されるものと思われる。細胞内へイオンを取り込む過程が pump によるものであれば electrogenic な成分として膜電位に現われる可能性がある。そこで回復過程の柔細胞の膜電位を色々な条件で測定したが、直接 pump の存在を証明することはできなかった。

以上の様に、本研究を通じて、葉枕、葉柄の興奮性細胞の性質を明らかにし、主葉枕の運動と回復を、活動電位によって誘発される皮層柔細胞（運動細胞）でのイオンの放出と、その再吸収として理解することができた。

論文審査の結果の概要

本論文は、振動傾性の速い運動をするオギソウの主葉枕における運動細胞の活動電位と運動との関係を論じたものである。主葉枕では活動電位が生ずると0.2秒ほどおくれ運動細胞の急激な膨圧の消失がおこり運動が発現することが知られているが、その機作の詳細は未だわかっていなかった。判明していることは、運動時に運動細胞から急激な水の排出があり、この水の中に少なくとも K^+ と Cl^- が含まれていることである。本研究においては主葉枕の皮層柔細胞（運動細胞と思われる）の一つに微小電極を刺入し膜電位と膜抵抗の変化を記録し、一方、著者が開発した微細な Cl^- 感受性電極を細胞間隙に挿入し、細胞の周囲の Cl^- 濃度の変化を記録した。また差動トランスにより運動をも同時記録した。

主葉枕を直接刺激するか、あるいは葉柄を刺激して伝達性活動電位を主葉枕に送ると、ほとんどすべての皮層細胞は活動電位を発生し、ついで葉枕は運動するが、細胞外の Cl^- 濃度の増加（数mMあったものが30～200mMとなる）は主葉枕の下半分のみでおこる。そして、この増加のはじまりは運動開始より10～50msec先行しており、このとき細胞の膜抵抗は約45%に減少する。以上のことは次の結論を導く。すなわち、主葉枕下半分の皮層柔細胞が運動細胞であり、この細胞に活動電位が生ずると、 K^+ や Cl^- を含んだ液（おそらく、細胞液であろう）が排出されるような変化がおこる。この結果、細胞は膨圧を失い、運動がおこる。

排出された Cl^- は次第にその濃度を下げるが、これは運動からの回復経過で運動細胞に再吸収されると思われる。光のあるとき運動の回復が早い、 Cl^- 濃度の減少も早く、暗黒中では回復がおそく、 Cl^- 濃度減少もおそい、光のあるときでも光合成阻害剤で回復も、再吸収もおこれるから、 Cl^- の吸収は能動的で、これを動かすエネルギーの一部は光合成から得ていると思われる。

この研究の中で、神経組織で行われている組織内の興奮性細胞を決定する蛍光色素 procion yellow 注入法を植物細胞にも適用できることを明らかにした。

以上の如く、この研究は植物の速い運動の機作の究明に大きく貢献しており、著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。よって、鮫島道和提出の論文は理学博士の学位論文として合格と認める。