

理学博士田宮博君の「同調培養によるクロレラの生理学並びに生化学研究」に対する授賞審査要旨

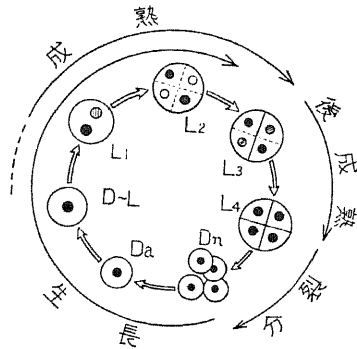
生物学の実験的研究に用いられる生物材料は、出来るだけ均一で、且つ同時に多量に得られることを要する。クロレラの如き単細胞の緑色植物が、研究の目的によつては、高等植物よりも、好んで用いられるのは、その体制が比較的簡単であり、又右に述べたような要求が充たされ易いからである。然るに、かくの如き単細胞生物であつて、外観的にはすべて等しい性質を具備するように見えても、これを詳細に観察し、又その生理機能及び生化学的变化を詳しく検すると、それは発育の時期及び生育の条件によつて異なることが分かる。もしこの点についての注意を怠ると、材料の不均一から、研究結果に不一致をきたすことがしばしば見られる。従来、微細藻類を用いた多くの研究において、この点は必ずしも満足すべきものではなかつた。田宮博君等は、一九五三年以来、独創的に計画したクロレラ (*Chlorella ellipsoides*) の高度の同調培養 (synchronous culture) に成功し、それによつて得られた均一材料を用いて、生活環 (life cycle) の各期の細胞の形態的及び生理学的研究を行ない、多大な成果を挙げることが出来た。田宮君の同調培養の最初の研究が発表されて以来、これに共鳴するものが多く、原虫類、バクテリア等の同調培養研究が発表せられ、又微細藻類の生活環研究が海外学者によつて、多く行なわれるようになった。田宮君が見出したクロレラ的生活環は、Tamaya-cycleと呼ばれている程、有名である。又田宮君は欧米の学界から招かれて、特に同調培養の講演を行ない、或いは海外の数種の出版物に同問題についての執筆依頼を受けた如きは、同君の研究についての海

外学者の関心と評価が、如何に大なるかを示すものである。

本研究は田宮君独自の計画と指導とによつてなされた協同研究であつて、次の如き種々の問題が含まれている。(一)細胞の成長、核パターン、(二)光合成、(三)呼吸、(四)無機養素摂取、(五)含水炭素、脂質、蛋白質、核酸、葉緑素の合成、消長、(六)細胞分裂誘起物質、(七)化学物質による発育阻害。全研究は広汎に亘るものであるが、大体二つの大なる部分に分けて見ることが出来る。その一は高度の同調培養方法の完成であり、その二は同調培養したクロレラ細胞を用いて、生活環各期における形態的特徴と共に種々の生理現象並びに生化学的事実を明らかにして、発育生理の研究に新たな面を拓いたことである。

同調培養 同調培養の実施方法の基本になることは、一の培養中のすべての細胞が、生活環の或る一定の段階から一斉に出発し、歩調を合わせて発育し、各段階を経過し、分裂後再び初めの出発段階に還帰することである。この条件を充たすために、顕微鏡的に生活環を詳しく観察し、更に光、温度その他の要因に対する藻細胞の生理的反応性を明らかにして、同調培養の接種に最も適する小形細胞(Daと名づける)を獲得することに成功したことは、第一に重要なことである。かくの如き培養を反復することによつて得られた同調培養の細胞群は、九五%という高い均一性を有し、これを実験に用いた場合、甚だ満足すべき結果が得られた。培養実施方法及び装置はいうまでもなく、田宮君自身の考案による独特のものである。

生活環細胞の形態 顕微鏡的に生活環の各期における細胞の大きさ、数、集圧体積、核パターン(分裂、核数等)、細胞分裂が観察せられ、それに基づき生活環の各段階の細胞は、図に示される如く命名される。



光合成

光合成の最も盛んなのは、Da、L₂であつて、これは旺盛な生長期

一〇

と一致する。全生活環を通じて言えば、光合成能は、L₁における方が大であ

り、葉緑素量は光合成度に比例する。元来、光合成商 $\left(\frac{O_2}{CO_2}\right)$ という名称は、

単にCO₂還元から起るガス代謝について言われるが、その値は理論的にも、実測的にも一、〇であることが認められている。それは又光合成度を測定する場合、

発生するO₂量を以て、CO₂量と等しいとする実験方法の根拠をなしている。然る

にそれは、炭酸塩以外の塩類を含まない溶液中で起る光合成の場合であるが、

特に磷酸塩を含む溶液中では、あてはまらないことが、ここに明らかにされ

た。即ち含磷酸塩培養における光合成商は、発育の段階によつて異なり、Dn、D、L及びL₃では一、〇であるが、L₁

では二、〇、L₂では三、〇であることが見出された。この一、〇よりも大なる光合成商は、炭酸同化以外の光化学反

応により、磷酸が同化されて、高エネルギーをもつメタ磷酸を生じ、その際過剰酸素の発生と共に、CO₂の吸収、同化

が阻げられることによつて見られることが明らかにされた。このL₁及びL₂においてのみ見られる特殊なガス代謝は、

クロレラの生活環そのものの研究において重要視すべきものであると共に、吸収されるCO₂と、放出されるO₂とが、発

育時期及び磷酸塩の存在によつて、必ずしも等しくないことを示し、光合成度の測定方法に重要な示唆を与える。又

炭酸同化以外の光化学反応が、緑色細胞にあることを見出したことも、代謝研究に新たな問題を提示するものである。

田宮君（一九三五、一九四二）は、曾て絲状菌の代謝の研究において、燃焼率（CQ）の説を提唱したが、今この説に基づいて、クロレラの細胞構成物質の酸化還元状態についての研究を行なつた。蓋し燃焼率とは、有機物質の酸化還元状態の比較尺度を示すものであつて、クロレラの場合、 L_1 及び L_2 では、○、九八五であり、Dnでは、○、九〇六である。Dnの細胞構成物質のCQは L_1 、 L_2 のそれよりも小、即ち、より還元型であることが示される。このことは、前述の如く、 L_1 及び L_2 において、燐酸の光化学的同化があつて、メタ燐酸を生じ、光合成商が一、○よりも小であり、還元傾向が大なることと、一連の関係を有する。

光合成に関しては、更に次の如き重要な事実が見出された。従来多くの研究において報告された微細藻類の光合成の量子収量の値が、甚だまちまちで一致しなかつた。田宮君は、この不一致は、発育期の異なる細胞が使用されたことに帰すべきではないかとの疑問を懐き、同調培養を用いて検討を行なつた。その結果、量子収量の比は、 D_a における一、○に対して、 L の或る発育期では○、五であり、或る期では○、三三であつて、量子収量は、生活環中、発育段階を異にすることにより、大幅に異なることが分かつた。従来、学者による報告の不一致は、予期した如く、主として、発育段階を異にする細胞が混在する培養を、実験に使用したことに、帰すべき可能性が、頗る大なることが明らかになつた。田宮君が確認したこの事實は、今後、この種の研究において、特に同調培養によつて得られた発育期を等しくする細胞を使用することの必要性を示すものである。

呼吸 酸素呼吸はDにおけるよりも、 L_3 以後において盛んである。これは光合成と全く対蹠的である。 L_3 以後に、酸素呼吸によつて、核物質の形成、細胞分裂誘起物質の形成、Dnの放出等が起るが、これはN、Pの代謝と関係

があり、酸素呼吸のないところには、細胞分裂は決して起らないことが確かめられた。

明反応及び暗反応

光の強さ及び温度を種々に変じ、又それ等を飽和状態にすることによつて、各發育期の細胞の生長速度を見ると、全生活環中、光を要する主なる部分は、生長期である。これは、生長が光合成と密接な関係をもつことを意味する。光合成と成長との温度関係の速度曲線は、根本的に一致する。然し生長には光及び温度に対して、光合成とは異なる反応、即ち暗反応が含まれる。光及び温度の關係から生活環を概括的に見ると、DとLの生長過程は、光合成を主体とする明反応であり、LとDnの成熟及び分裂の過程は主として暗反応に属する。暗反応は温度によつて律せられることが大であり、且つ酸素呼吸を必要とする。以上述べたことから、クロレラの生活環には、光合成を含む明反応と暗反応との逐次反応が環状をなして成立することが明らかになつた。田宮君は多くの実験事實に基づいて、生長及び生活環中の發育現象を説明すると共に、特に生長に関しては、速度論的考察を行なつて、その理論が実験事実とよく一致することを確認した。

磷酸代謝及び核酸生成

吸収された磷酸塩は、メタ磷酸以外に、直接或いは間接に磷蛋白質、RNA (リボ核酸)、DNA (デオキシリボ核酸)、CoA (コエンチムA)、含Sポリヌクレオタイドの形成に役立つ。これ等のものの中には、核物質となり、或いは細胞分裂の誘起物質に近いものの形成に役立つものがある。

RNA及びDNA

RNA及びDNAの生成と消長とについて詳しい研究が行なわれたが、両者の間にかなり著しい差があることが知られた。殊にDNAは核物質としての意味があることは言うまでもないが、自生孢子 (L₄) の成熟からDnにかけて、重要な役割をすることも明らかにされた。光がないとき、細胞内にあるポリ磷酸はDNAに移行するが、その際のDNAの生成はDnにお

いて最高に達する。これは光合成には直接の關係をもたない。然るにRNAは、多く光の下で外部から吸収された磷酸から直接生成せられ、Dn放出の如き役には直接關係しない。磷酸代謝の中、メタ磷酸の作用にも期待がもたれるが、その他含Sペプチド・ポリヌクレオチド(SPN)、含Sデスオキシペントース・ポリヌクレオチド(SDN)、CoA(結合パントテン酸として)の生成及びその行動が追跡して見られたことは、暗反応部研究における重要な部分をなす。特にSを含むSDN及びCoAの意味が頗る大きいことが明らかとなつた。田宮君は、クロレラの細胞分裂には培養液中に必ず硫酸塩の如きS源が含まれなければならないこと、又光合成条件(光、CO₂存在)の下では、S源と同時に、N源の供給も必要であることを見出した。細胞分裂が起るときには、細胞内に必ずSDN及びCoAの増加出現を伴うが、分裂が起らない場合には、それらは増加して現われない。このことを田宮君は、次の如く説明した。即ち光合成産物は、細胞内にあるN分及びS分と、容易に蛋白質を生成するから、光合成条件では、外部からS源を与えても、それと共にN源を与えなければ、SDN、CoAの生成と、蛋白質合成との間に、N及びS源の争奪が起り、SDN、CoA生成に支障を来す。然しこの争奪による支障は、N源をも与えることによつて防がれる。又暗所或いはCO₂欠如の如き非光合成条件では、N源を与えずとも、S源を与えたのみで、SDNとCoAとは生成される。かくして細胞分裂と、SDN及びCoAの出現とが、必ず相伴うこと、又光がむしろ細胞分裂とSDN、CoA生成とに、不利に作用することを確認したことは、これ等の物質が、細胞分裂の誘起物質そのものであると、今直ちに断言することは出来ないにしても、これと密接な關係ある物質であることを示すものと言つてよからう。これは、細胞分裂誘起物質の研究に、有力な新たな手懸りを与えるものである。

阻害剤の影響

以上述べたことから、阻害剤或いは毒物の或る物に対しても、生活環の中、光を要する生長期と

暗所で起る分裂期とが、異なる反応を示すことが期待される。多くの種類の阻害剤を用いた実験により、事実この予想を確かめることが出来る結果が得られた。

生長と細胞分裂 体制の簡単なクロレラにおいて、一般植物細胞において見られると同様、生長が盛んなとき、分裂は起らないが、生長が弱まるか、或いは停止するとき、分裂が本格的に活動し始める傾向がある。従来かくの如き生長と分裂との背反関係は、むしろ単なる現象として記述されるに過ぎなかつた。然るに田宮君は、發育の各段階において、發育の代謝並びに發育の働き手となる物質について、物理学的並びに生化学的の解明を行なつた。かくして生長と分裂との間に見られる背反関係を、その原因に遡つて説明したことは、發育生理学に新しい大なる寄与をしたといふべきであらう。

主要な著書及び論文目録

- 1) H. Tamiya : Le bilan matériel et l'énergétique des synthèses biologiques. *Actualités scientifiques et industrielles*, Paris, 214 (1935).
- 2) … : Die Ammung, die Gärung und die sich daran beteiligenden Enzyme bei *Aspergillus*. *Adv. Enzymol.*, 2, 183 (1942).
- 3) H. Tamiya, T. Iwanamura, K. Shibata, E. Hase, and T. Nihei : Correlation between photosynthesis and light-independent metabolism in the growth of *Chlorella*. *Biochim. Biophys. Acta*, 12, 23 (1953).
- 4) H. Tamiya, K. Shibata, T. Sasa, T. Iwanamura, and Y. Morimura : Effect of diurnally intermittent illumination of the growth and some cellular characteristics of *Chlorella*. *Algol. Culture*, from Laboratory

- of Pilot Plant, Carnegie Inst. of Washington Publication, 600 (1953).
- 5) T. Nihei, T. Sasa, S. Miyachi, K. Suzuki, and H. Tamiya: Change of photosynthetic activity of *Chlorella* cells during the course of their normal life cycle. Arch. Mikrobiol., 21, 156 (1954).
 - 6) T. Iwamura, H. Hase, Y. Morimura, and H. Tamiya: Life cycle of the green algae *Chlorella* with special reference to the protein and nucleic acids contents of cells in successive formative stages. Suomalaisen Tiedekatemian Toimituksia Annales Academię Scientiarum Fennica, A, II, Chemica, 60 (1955).
 - 7) 田代幹' シロノミの発育中(回轉培養)の生理' 二七' 一 (一九五五)
 - 8) T. Nihei: Journ. Biochem., 42, 245 (1955).
 - 9) E. Hase, Y. Morimura, and H. Tamiya: Some data on the growth physiology of *Chlorella* studied by the technique of synchronous culture. Arch. Biochem. Biophys., 69, 149 (1957).
 - 10) H. Tamiya: Mass culture of algae. Ann. Rev. Plant Physiol., 8, 309 (1957).
 - 11) E. Hase, Y. Morimura, S. Mihara, and H. Tamiya: The role of sulfur in the cell division of *Chlorella*. Arch. Mikrobiol., 32, 89 (1958).
 - 12) E. Hase, H. Otsuka, S. Mihara, and H. Tamiya: Role of sulfur in the cell division of *Chlorella*, studied by the technique of synchronous culture. Biochim. Biophys. Acta, 35, 180 (1959).
 - 13) H. Tamiya: Process of growth of *Chlorella* studied by the technique of synchronous culture. Proc. Symposium Algal., New Delhi, December (1959).

- 14) E. Hase, S. Mihara, H. Otsuka, and H. Tamiya: Sulfur-containing peptide-nucleotide complex isolated from *Chlorrella* and yeast cells. Arch. Biochem. Biophys., **83**, 170 (1959).
- 15) E. Hase, S. Mihara, H. Otsuka, and H. Tamiya: New peptide-nucleotide compounds from *Chlorrella* and yeasts. Biochim. Biophys. Acta, **32**, 298 (1959).
- 16) 田村雄一 藤田謙三 柴田中興(田嶋謙三) 藤田正雄 山本 浩 山本 浩一 (1959)
- 17) E. Hase, S. Mihara, and H. Tamiya: Sulfur-containing deoxyribose-polynucleotide obtained from *Chlorrella* cells. Biochim. Biophys. Acta, **39**, 381 (1960).
- 18) E. Hase, Y. Morimura, H. Tamiya: A short remark on the role of sulfur in the cell division of *Chlorrella*. Journ. Gen. Appl. Microbiol., **6**, 68 (1960).
- 19) E. Hase, S. Mihara, and H. Tamiya: Role of sulfur in the cell division of *Chlorrella* with special reference to the sulfur compounds appearing during the process of cell division. I. Plant and Cell Physiol., **1**, 131 (1960).
- 20) E. Hase, S. Mihara, and H. Tamiya: Some data on the nature of sulfur-containing peptide-nucleotide compounds obtained from *Chlorrella* cells at different developmental stages in their life cycle. Journ. Gen. Appl. Microbiol., **6**, 61 (1960).
- 21) S. Miyachi and H. Tamiya: Some observations on the phosphorus metabolism in growing *Chlorrella* cells. Biochim. Biophys. Acta, **46**, 200 (1961).
- 22) H. Tamiya, Y. Morimura, M. Yokota, and R. Kunieda: Mode of nuclear division in synchronous

- cultures of *Chlorella*: Comparison of various methods of synchronization. Plant and Cell Physiol., 2, 383 (1961).
- 23) E. Hase, S. Mihara, and H. Tamiya: Capabilities of various sulfur substances in inducing the cell division of *Chlorella* arrested by sulfur deficiency. Journ. Gen. Appl. Microbiol., 7, 173 (1961).
- 24) ...: Role of sulfur in the cell division of *Chlorella* with special reference to the sulfur compounds appearing during the process of cell division. II. Plant and Cell Physiol., 2, 9 (1961).
- 25) S. Miyachi and H. Tamiya: Distribution and turnover of phosphate compounds in growing *Chlorella* cells. Plant and Cell Physiol., 2, 405 (1961).
- 26) H. Otsuka: Change of pantothenic acid content in *Chlorella* cells during the sulfur starvation and subsequent restoration as studied by the technique of synchronous culture. Journ. Gen. Appl. Microbiol., 7, Suppl. 1 (1961).
- 27) H. Tamiya, Y. Morimura, and M. Yokota: Effects of various antimetabolites upon the life cycle of *Chlorella*. Arch. Microbiol., 42, 4 (1962).
- 28) H. Tamiya: Control of cell division in Microalgae. Journ. Cell Comparat. Physiol., Suppl. 1, 62, 157 (1963).
- 29) ...: Cell differentiation in *Chlorella*. Symp. Soc. Exp. Biol., 17, Cell Differ. (1963).
- 30) 田嶋 豊・奥谷 栄一・藤村 祐次' ハロントの Cell Age ニ関する' 日本植物生理学会報' 三' 七三 (一九六三)
- 31) Y. Morimura, S. Yamagi, and H. Tamiya: Synchronous mass-culture of *Chlorella*. Plant and Cell Physiol., 5, 281 (1964).