

細胞膜透過性に及ぼす高圧の影響

第5編 原形質分離に就て

岡山大学医学部生理学教室 (主任: 林教授)

講師 岡田 勝 喜

[昭和29年9月17日受稿]

I 緒 言

種々な生体細胞組織に対して周囲から平等に圧力を加える時、其の細胞膜透過性が増大する事は著者¹⁻⁴⁾の実験で確められた。

今回は高圧が植物細胞の原形質膜透過性に与える影響を知る為に、植物細胞の各種溶液による原形質分離に対する高圧の作用を観察した。蓋し植物細胞の膜透過性を研究するのに最も簡便なのは、滲透圧法の一つである原形質分離法であると考えたからである。

II 実験方法

紫露草の裏面表皮細胞 (以下T細胞と略記する) を剥離して材料とした。此の細胞には一般の細胞と、気孔に関連した特殊な細胞とがあり、両者は種々の点で性質が異なる。本実験では凡て気孔に関係のない一般の細胞を観察した。

実験方法は簡単で、T細胞を種々な種類及び濃度の溶液に没した儘、圧力を作用させて後、同じ条件の溶液に浸して居た対照のT細胞と並べて顕微鏡下に原形質分離 (以下分離と云う) の程度を比較した。被圧細胞 (以下Dと略記) と対照細胞 (以下Kと略記) とは同一の葉の殆んど同じ位置から取った。同一条件に在つても個々の細胞の分離の程度には多少差があるが、50~100個の細胞をよく観察すると稍正確に分離の程度を比較観察する事が出来た。細胞を濃厚液に浸すと分離は初め速かに後徐々に進行するから、DとKとの比較は前記個体差もあつて相当難しく、かなり練習を要する。尚分離の程度は数量的に表現し難いので+、-で示した。本実験では凡

て殆んど同一時刻に見たDとKとの間の差異を観察したのであるから、分離の程度と云つても両者の相対的な差異を表して居るに過ぎぬ。加圧装置は教室の高圧ポンプ¹⁾で、圧力は2000気圧迄上昇する。

III 実験成績

個体差はあるが概して1500気圧、30分、2000気圧、20分以上の加圧によりT細胞は3%食塩水又は0.5mol蔗糖水溶液 (何れも高張) に対して分離しない。500気圧なら60分位加圧しても尚上記分離剤で分離する。以下の実験は凡て加圧後も分離が起る範囲内 (即ち細胞は生きて居る) で行つた。大きい圧力を長く作用させたT細胞の顕微鏡的構造を見ると、正常のものに比べて稍様相が異なる。概観的にはDは正常細胞に比し綺麗に見える。之は原形質の線状がはつきりしなくなる事、顆粒の位置が変る事等に由るが、根本的には細胞内の膠質状態の変化が原因の一つであるうと思像される。又加圧すると細胞核が正常のものに比し大きくなる事があり、更にトノプラスト分離を起す事もある。尚細胞を高張液に浸した儘加圧して起る変化を高圧の直接作用、細胞を等張或は低張液に浸した儘加圧して後、分離剤で分離させた時の変化を高圧の後遺作用と名付けた。

1. 食塩水 (第1表)

T細胞は季節で滲透圧が多少異り、分離を指標として測ると春では約0.75%食塩水、秋では約1%食塩水が等張である。T細胞を此の等張食塩水に没して1000~2000気圧、5~20分間加圧して後分離剤 (3%食塩水) に浸して其の分離の程度を対照と比較した。Dは

Kに比し分離の程度が稍小さく、又分離形はDが凸、Kは凹である。500気圧、10及び60分間の加圧では分離の程度、分離形共D、K間に差がない(第1表(a))。

第1表(a) 等張食塩水(後遺作用)

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離剤	分離の程度		分離形	
			加圧 (D)	対照 (K)	加圧 (D)	対照 (K)
1500	10	3% 食 塩 水	卍	卍	凸	凹
1500	5		卍	卍	凸	凹
1000	20		卍	卍	凸	凹
1000	10		卍	卍	凸	凹
500	60		卍	卍	凸	凸
500	10		卍	卍	凹	凹

2%及び3%の高張食塩水にT細胞を浸した儘加圧して後観察すると、DはKに比し分離の程度が著しく小さく、又分離形はDが凸、Kは凹である(第1表(b))。

第1表(b) 高張食塩水(直接作用)

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離の程度		分離形	
		加圧 (D)	対照 (K)	加圧 (D)	対照 (K)
2000	5	±	卍	凸	凹
1500	10	±	卍	凸	凹
1500	5	+	卍	凸	凹
1000	20	+	卍	凸	凹
1000	10	+	卍	凸	凹

尚冬のT細胞は色素(花青素)で紫紅色に着色して居り、加圧すると此の色素は細胞外へ流出して細胞は無色になる。その色素の流出は作用させる圧力が大きい程速かで且つ完全である。

2. 尿素(第2表)

0.5モル尿素水溶液(高張)にT細胞を浸して1000~2000気圧、5~20分間加圧して分離の程度を比較すると、DはKに比し遙かに小さい。300~500気圧、20~60分間の加圧ではD、K間の差が明瞭でない。

3. 塩化カルシウム(第3表)

0.5% CaCl₂水溶液(低張)にT細胞を浸して1000~2000気圧、5~10分間加圧し、0.5モル蔗糖水溶液を分離剤として分離させると、

第2表 0.5モル尿素水溶液(直接作用)

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離の程度	
		加圧 (D)	対照 (K)
2000	5	—	卍
1500	10	-(±)	卍
1500	5	-(±)	卍
1000	20	±	卍
1000	10	±(+)	卍
500	60	卍	卍
500	30	卍	卍
300	60	卍	卍
300	20	卍	卍
300	5	卍	卍

第3表

0.5%塩化カルシウム水溶液後遺作用

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離剤	分離の程度		分離形	
			加圧 (D)	対照 (K)	加圧 (D)	対照 (K)
2000	5	0.5モル	卍	卍	凹	凹
1500	10	蔗	卍	卍	凹	凹
1000	10	糖	卍	卍	凹	凹

DはKに比し分離の程度が稍大きく、分離形はD、K共に凹である。

4. 蒸溜水(第4表)

T細胞を蒸溜水に浸したまま、1500~2000気圧、5~10分間加圧し、0.5モル蔗糖水溶液を

第4表 蒸溜水(後遺作用)

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離剤	分離の程度		分離形	
			加圧 (D)	対照 (K)	加圧 (D)	対照 (K)
2000	5	0.5モル蔗糖	卍(卍)	卍	凸	凹
2000	5	0.5モル尿素	+	卍	凸	凹
1500	5	0.5モル蔗糖	卍	卍	凸	凹
1500	5	0.5モル尿素	+	卍	凹	凹
1000	10	0.5モル蔗糖	卍	卍	凸	凹
1000	10	0.5モル尿素	+	卍	凸	凹
500	60	0.5モル 蔗 糖 ・ 尿 素	卍	卍		
500	30					
300	60					
300	20					

分離剤として分離させると、其の程度はDがKに比し稍小さく、0.5モル尿素水溶液を分離剤とすると、DはKに比し分離の程度がかなり小さい。又分離剤に関せず、分離形はDが凸、Kが凹である。

300~500気圧、20~60分間の加圧ではD、K間に差が認められない。

5. 蔗糖 (第5表)

0.5モル蔗糖水溶液にT細胞を浸し、1000~2000気圧、5~10分間加圧して分離の程度を見ると、DはKに比し僅かに小さく、300~500気圧、20~30分間の加圧ではD、K間に差がない。又何れの場合もDは凸、Kは凹の分離形である (第5表(a))。

第5表(a) 0.5モル蔗糖水溶液(直接作用)

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離の程度		分離形	
		加圧 (D)	対照 (K)	加圧 (D)	対照 (K)
2000	5	卅(卅)	卅	凸	凹
1500	10	卅(卅)	卅	凸	凹
1500	5	卅	卅	凸	凹
1000	10	卅	卅	凸	凹
500	20	卅	卅	凸	凹
300	30	卅	卅	凸	凹

0.25モル蔗糖水溶液(等張)にT細胞を浸し1000~2000気圧、5~30分間加圧し、0.5モル蔗糖水溶液で分離を起させると、分離の程度ではD、K間に差がない。分離形はDが凸、Kは凹である。300~500気圧、10~30分間の加圧ではD、K間に差は認められない (第5表(b))。

第5表(b) 0.25モル蔗糖水溶液(後遺作用)

圧力 (気圧)	時間 (分)	分離剤	分離の程度		分離形	
			加圧 (D)	対照 (K)	加圧 (D)	対照 (K)
2000	5	0.5モル 蔗糖 水溶液	卅(卅)	卅	凸	凹
1500	10		卅	卅	凸	凹
1500	5		卅	卅	凸	凹
1000	30		卅	卅	凸	凹
1000	10		卅	卅	凸	凹
500	30		卅	卅	凸	凹
500	10					
300	30					
300	10					

6. 麻醉薬 (第6表)

1%及び3%食塩水(高張)に2%の割でアミルアルコール、エチルアルコール又はメチルアルコール等を混合した液にT細胞を10~30分間浸し、アルコールを混合しない食塩水に浸した対照のT細胞と分離を比較観察した。何れの場合もアルコール混合液側は分離の程度が小さく、分離形はアルコール混合液側が凸、対照は凹である。アルコールの種類に就て見ると、アミルアルコールは他のものに比し、作用が最も著しい。3%アミルアルコールにT細胞を10分間浸し、2%食塩水に浸して対照と比較すると、対照は著しく分離するのに、アルコール側は殆んど分離しない。尚紫紅色の色素のある冬のT細胞をアルコール-食塩水に浸すと、色素は次第に細胞外へ流出する。アミルアルコールの場合は特に著明である。

第6表

	時間 (分)	分離の程度		分離形	
		麻醉薬	対照	麻醉薬	対照
(1%食塩水 +アミルアルコール)	30	卅	卅	凸	凹
(3%食塩水 +アミルアルコール)	10	卅	卅	凸	凹
(1%食塩水 +エチルアルコール)	30	卅	卅	凸	凹
(1%食塩水 +メチルアルコール)	20	卅	卅	凸	凹

VI 総括並に考察

植物細胞は細胞膜と原形質膜とで二重に包まれて居り、細胞膜は凡ての溶質の透過を許すが、原形質膜は所謂半透性で、外液の溶質の種類と濃度により形質膜の内外に滲透圧差を生じ、就中濃厚溶液中では細胞膜と形質膜との結合が破れて分離が起る。従つて形質膜の透過性の亢進、半透過性の減退が期待される加圧下では、形質膜内外の滲透圧差が減じ、同濃度の濃厚外液でも形質膜分離の程度が軽度になる筈である。但し形質膜分離の難易は形質膜内外の滲透圧的力の他に細胞膜と細胞質との間に働く凝着力(Adhaesron)と細胞

質の凝集力 (Kohäsion) によつても生ずるのであろう⁶⁾。

実験成績を見ると期待した通り、加圧中に分離は起り難くなる(第1表(b), 高張食塩水, 第2表, 高張尿素液, 第5表(a), 高張蔗糖液)。蓋し加圧により形質膜透過性が増して外液粒子が原形質内に浸入し, 形質膜内外の滲透圧差が小になり, 分離が起り難くなるのであろう。其の効果の大小は, 外液粒子の特性による浸入の相違に由ろう。斯様な加圧の影響は圧力の大きさと時間により, 1000~2000気圧では5~10分間で効果が見られるが, 500気圧以下では認められない(第1表(a), 第2表, 第4表, 第5表(a)(b))。生体細胞の電導度が此の程度の低い圧に対して著しく減少し⁷⁾, 形質膜の透過性亢進を推察させる事実と, 上記今回の無作用とは一致しないが, 分離現象が不鋭敏な事に因るのであろう。

0.5% CaCl₂ 溶液中で加圧された細胞は対照に比し却つて分離が大きい(第3表)。併し考えて見れば当然で, 加圧による形質膜透過性の変化は単なる機械的のものではなく, 加圧に基く形質膜内外の物化学的性状の変化の結果として起るのであろうから, 外液の種類に異るに従い, 形質膜の透過性に対する影響が異つても不思議ではない。更に透過性が何れの場合も増すとしても, その結果原形質膜中に外液の溶質が浸入すれば, 各溶質の特性で原形質の水和性や, 膠質状態等所謂凝集力が変化する結果滲透圧による原形質分離力に+或は-に影響するであらう⁸⁾。

次に分離形に注目する。普通分離は細胞の隅角等から始まり凹形の分離形となり, 分離が進行すると, 細胞膜と形質膜の附着部分が次第に少なくなつて, 分離形は円滑(凸形)になり, 完全に離れると原形質は球形になる。此の凹形から凸形に移る迄の時間が分離時で, 外液その他の条件が同一なら凝着力が弱いと此の時間は短い。

実験成績(第1~第6表)に詳しく分離形が記載してある。例えば高張食塩水の場合は

作用する圧力が大きいと, 分離形は凸で対照は凹である。此れは勿論観察した時刻に於ける両者の相対的な差で, 換言すればDはKに比し分離時が短い事になる。食塩水(第1表), 尿素(第2表)でも又蔗糖(第5表), 水(第4表)でも1000気圧以上の加圧で一般にDはKに比し分離の程度が小になるのに, 分離時は短くなる。此らの例では加圧による膜透過性の増大で滲透圧差が減少し, 分離の程度は小となる。故に他の要因を考慮しないと, 分離形は対照と同様凹形の筈であるのに, 凸形になるのは1000気圧以上の圧作用で凝着力が弱まるのであろう。但し CaCl₂ 溶液の場合(第3表)は例外で分離の程度はKに比しDが大きく, 分離形はD, K共凹である。Caイオンには凝着力及び凝集力を強める作用があり⁹⁾, 正常状態ではCaイオンは形質膜を透過し得ないのに, 加圧によつてその透過が可能になれば, 凝集性に対するその作用から見て, DはKに比し強く分離する理であり, 分離形に就ては, Caイオンの為に凝着力が比較的強くなるのでDでも分離形は凹になるのであろう。

終りに, 細胞にアルコールを作用させると対照に比し分離し難くなる(第6表)。池宗¹⁰⁾によればアルコールは種々の細胞膜透過性を増大すると云う。著者の実験でも同じ結果と云える。又冬の紫露草の紫紅色の色素はアルコールの作用で細胞外へ流出する。更にアルコールを作用させた細胞の分離時は対照に比して短く, 細胞に対する高圧とアルコールの作用に類似点は多いが, 同質のものか否かは明かでない。

本実験の成績は上述の如く高圧による形質膜透過性の増大と云う解釈で凡て説明されるが, 又加圧によつてトノプラスト分離が起きたり, 核の大きさが変つたりする実験事実は夫々トノプラスト及び核膜(何れも半透過膜)に対する圧効果と考えると理解し易い。

V 結 論

紫露草の裏面表皮細胞を種々の溶液に

入れ、2000気圧迄加圧して原形質分離の状態を観察したところ、

a. 高張の食塩水、尿素溶液、蔗糖溶液等の中で加圧すると対照に比し分離は起り難くなり、分離時は短くなる(直接作用)。

b. 種々の等張又は低張溶液中で加圧し、除圧後、高張液に遭わせても分離は対照に比し起り難い(後遺作用)、併し一般にその程度は直接作用より軽度である。

c. CaCl_2 溶液中で加圧すると、却つて分

離は起り易くなる。

2. 形質膜透過性に及ぼす影響に関して、高圧の作用とアルコールの作用は似て居る。

3. 以上の事実は紫露草の裏面表皮細胞に2000気圧迄の圧力を作用させると、形質膜透過性は亢進し、又細胞膜と形質膜との間に働く凝着力は弱まる事を示す。

摺筆するに当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師林教授に対し深く感謝の意を表す。

文 献

- 1) 著者：第一編. 本誌.
- 2) 著者：第二編. 本誌.
- 3) 著者：第三編. 本誌.
- 4) 著者：第四編. 本誌.

- 5) 坂村：植物生理学.
- 6) 池宗 岡医誌. 52巻, 4号(1940) 781.
- 7) 北大理学部：植物生理学実習.

Department of 1 Physiology, Okayama University Medical School.
(Director Prof. Dr. K. Hayasi)

Effects of Hydrostatic High Pressure on the Permeability of Plasma Membrane

V. On Plasmolysis

By

Katuki Okada

If high pressure (almost 2000 atm. or so) has been applied to any plant cells (*Tradescantia*), its plasmolysis suffers some difficulty.

This may be ascribed to the abatement of difference of osmotic pressure due to augmented permeability of plasma membrane by high pressure.
