

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

32巻 6号 1970

原 著

佐藤恒久：ガマ骨格筋細胞膜の2, 3の酵素活性とその局在性に関する考察……………317

短 報

FUJIMOTO, M. and HIGAKI, K. : The use of ^{36}Cl and ^{14}C -inulin for the determination of erythrocyte chloride concentration and trapped plasma in the centrifuged hematocrit in the rat ……………329

IWAI, E., SAITO, S. and HASHIMOTO, T. : A possible role of olfactory lobe of goldfish in visual discrimination performance ……………331

FUJII, T., KUBO, S. and IWASE, Y. : Gas-blow and medium-flow method for stable recording of electrical activities in the sliced mammalian cerebral tissue *in vitro*…………333

第9回若手グループ・シンポジウム 能動輸送の細胞機序……………335

海外だより 第2回神経科学強化講習会（本郷利憲）……………345

会 報 科学研究費検討委員会関係（佐藤昌康）……………349

人体基礎生理学研究所設立委員会関係……………355

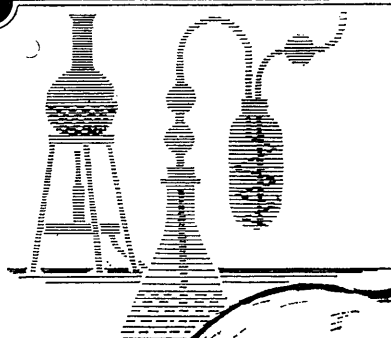
生理学会教育委員会報告（11）（高橋 愷）……………356

第25回国際生理学科学会議（2）（加藤元一）……………356

書 評 昆虫の生理活性物質（菊地鎌二）……………357

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



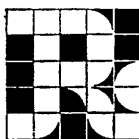
ラット Donryu

特長

- (1)吉田肉腫に対して高感受性を有す。
- (2)温順、発育良好、飼育容易。
- (3)性周期4日で安定。Skin Grafto 高率。
- (4)毒性、栄養、薬理、内分泌その他、
広く用いられます。

Donryu Rats を作り出した日本最大の
Conventional Rats 生産専門メーカー
です。今後なお皆様のお役にたつため
量・質ともに向上するよう努力いたし
ます。

飼育系統——〈Donryu〉〈Wistar〉〈Buffalow〉



日本ラット(株)

埼玉県浦和市根岸608-3
TEL(0488)61-6850・6401

第18回日本医学会総会第三分科会

第48回日本生理学会総会開催の御案内 (第1報)

下記の要領により第48回日本生理学会を開催致します。今回は日本医学会総会の分科会として開催されますので、例年の学会と異なり場所日時その他各種の制限を受け皆様にも御不満の点が生ずるかと思われませんが、事情御了承の程御願ひ致します。

1. 会 期：昭和46年4月3日(土) 4日(日)

(日本医学会総会は5日より7日まで行なわれます)

評議員会 3日

総会 4日

尚、常任幹事会は2日 14時～17時に開催

2. 会 場：東京都千代田区平河町 2-7

全共連ビル (地下鉄丸の内線、銀座線赤坂見付下車 徒歩約10分)

3. 演題申し込み

- 1) 演題申し込み締切 昭和45年11月25日(水) 申し込み用紙は10月初旬にお送り致します。
- 2) 演題申し込み要領
講座又は講座に準ずる研究単位それぞれ1単位につき2題以内で順位を付けて下さい。日本医学会総会シンポジウムに参加される講座又は研究単位は1題に留めて下さい。演題の採否は当番幹事にお任せ下さい。但し、口演不可能のものも予稿集には掲載の予定です。
- 3) 分科会会場に於ける実験供覧及び展示は会場の都合で困難かと思われま

昭和45年6月

当番幹事

東京医科歯科大学医学部生理学教室

勝木保次

東京医科歯科大学歯学部生理学教室

市岡正道

東京医科歯科大学医学部難聴研究施設

村田計一

《最新刊》

炎症の薬理

W.G.Spector ほか著 重井達朗・鹿取 信訳
A5判 140P 写真32・図49 / ¥2,000 千90

血管における透過性亢進の局在性を、形態学的に示し、炎症機構そのものに対する考え方や、諸事実をまとめあげた好著。著者は炎症の病理学的過程を理論的に究明している世界的な権威。豊富な経験と示唆に富む言葉によって、自由に述べているのが特徴である。研究者はもちろん、炎症というひとつの病理学的過程について学ぶ医学生や関連学科学生の座右の書として好適。

〈内容〉 炎症の歴史 炎症反応 炎症における血管透過性亢進の内因性 mediators ポリペプチドおよびポリペプチド生成系 ポリペプチドとその前駆物質の炎症における関与の証拠 抗炎症剤とキニン系の抑制 遅発型過敏性反応の mediators 血管透過性亢進の機序に関与する他の因子 白血球浸出 抗炎症剤の検定 将来の展望

最新刊 神経・筋・シナプス

Bernard Katz 著 熊本大教授 佐藤昌康 監訳
A5判 178p / ¥1,600 千70

神経・筋・シナプスの構造・機能および物理学的性質を解明した生理学分野での入門書。前半では単一神経・筋細胞の膜のもつ一般的な性質（静電位の維持と活動電位の発現・伝達機構）を、後半では細胞から細胞への情報伝達の機構（シナプスにおける伝達に関する知見）を解析。著者 B. Katz 教授は、神経・筋・シナプス研究の生理学分野における世界的巨峰。原書は各国の研究者・学生必備の定本。

最新刊 臨床薬理学入門

千葉大学医学部第一内科 関 隆 著
A5判 426p / ¥3,500 千90

「臨床薬理学」とは何か、諸々の概念規定がなされているが、本書は「薬物による診断学・薬物による治療学・薬物による中毒学」より成り立っているとの考えに基づいて執筆。総論は、「薬効検定の問題と安全性・副作用」について、各論では、薬理作用・副作用などを述べ、薬理学の研究と臨床のかけはしをめざしている。

医歯薬出版株式会社

東京都文京区本駒込 1-7-10
電話東京(03)944-3131(大代) / 埼玉東京13816

ガマ骨格筋細胞膜の 2, 3 の酵素活性とその局在性に 関する考察 612.015.1 : 612.014.3

佐藤 恒久 (東京慈恵会医科大学第二生理学教室)

Studies on activities and localization of membrane-bound enzymes in the cell membrane of toad skeletal muscles. Tsunehisa SATO

(Department of Physiology, The Jikei University School of Medicine, Tokyo)

Membrane-bound enzymes always have the relationship with such the functions of muscular cell membrane as its excitatory phenomenon, active transportation of substances with ATP splitting and distribution of localized ions. Action of Mg-ATPase or Na-K ATPase in the cell membrane, for instance, has been investigated, and existence of such the membrane-bound enzymes as adenylate-kinase, AMP deaminase, etc. has been reported by C. R. Dunkley et al. In the present experiment by use of intact toad muscles, AMP deaminase activity could not be observed but activity of ATPase or that of adenylate kinase could. Furthermore, by use of separated sarcolemma the existence of AMP deaminase could be observed. Consequently the experimental results mentioned above suggested that active sites of membrane-bound enzymes might have their own different localizations. As for sarcoplasmic reticulum separated from toad skeletal muscle fibers, similar results to those of the above sarcolemma were obtained. They manifested very high enzymatic activities. On the other hand, sarcolemma could be observed to take Ca ions. The determination of lipid as analysis of sarcolemmal chemical component, revealed that most of it was composed of phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine and triglyceride, and a little of cholesterol, which were also almost the same in analytical result of sarcoplasmic reticulum. Further studies on the present subject are now in progress. [J. Physiol. Soc. Japan (1970) 32, 317-328]

I. 緒 言

骨格筋細胞膜の酵素系, 化学組成に関して, C. R. Dunkley¹⁾らは細胞膜外表面に, ATPase, adenylate kinase, AMP deaminase の存在を実証している. K. Hotta²⁾らは, ATPase 活性の存在と, その活性に対する各種イオンの効果, 脂質分画について, 発表している. D. L. McColester³⁾らは ATPase 活性の存在を検索した結果, 解糖系酵素活性は極めて低いことを示した. J. J. A. Heffron⁴⁾らも, ATPase 活性を確認するとともに, 呼吸酵素系の存在を否定している. T. Kono⁵⁾らも, crude な状態の膜の酵素活性と蛋白質構成アミノ酸分画を発表している. J. M. Tobias⁶⁾は酵素化学的方法を駆使して, 細胞膜の機能と組成の関連性について, 詳細に研究し, いわゆる, Tobias 膜模型の基礎

とした.

つぎに, 形態学的研究では, これまで L. G. Abood⁷⁾ら, 前述の K. Hotta²⁾ら, T. Kono⁵⁾らが光学顕微鏡, 位相差顕微鏡, 電子顕微鏡を用いて, それぞれの観察方法によるレベルで膜の構造を観察している. 最近, J. D. Robertson⁸⁾, 品川⁹⁾らは膜モデルにおいて, 膜酵素は細胞膜内面に存在することを示している. すなわち, 膜における酵素活性の局在性について, 実験材料は異なるにしても, R. J. Barnett¹⁰⁾は, choline esterase, 品川⁹⁾らは ATPase 活性を形態学的に観察している. しかし, 骨格筋細胞膜では, C. R. Dunkley¹⁾らは前述の如く, 諸酵素が膜外側にも, 存在することを発表しているのみで, その他, 生化学的方法, あるいは, 形態学的方法による膜酵素系の局在の座に関しては, 未だ, 確定されているとは断言できない.

以上の研究状況を考え, 著者は, ガマ骨格筋

細胞膜を用いて、この形質膜にどのような酵素系が存在し、また、その active site の局在性が、どのようになっているかを検討する目的で、今回の実験を行なった。ガマ骨格筋膜を使用した目的は、単に生化学的な立場だけでなく、生理学研究に絶えず材料として使用され、幾多その知識の集積がある。これらの生理学的知見と、今回えた生化学的事実とを対応して、将来、膜の生理学的機能を総合的に考察したい念願があったからである。

II. 実験方法

1. Intact muscle ならびに sarcolemma の

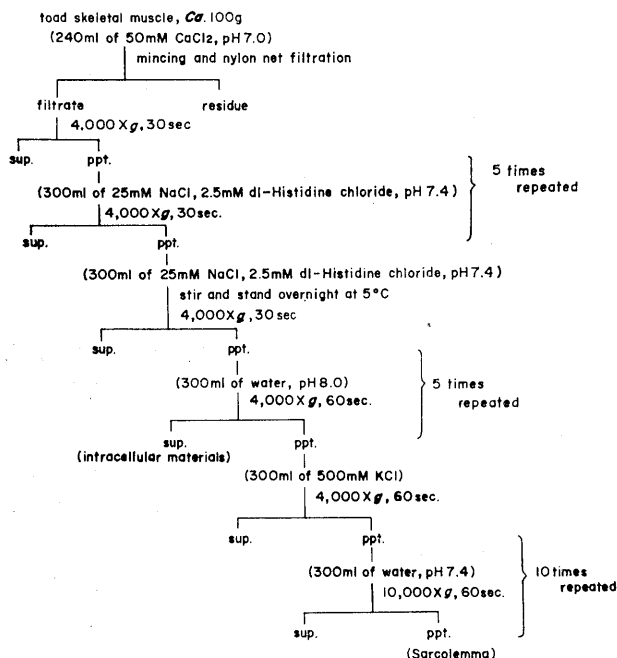


Fig. 1. Isolating method of sarcolemma. After homogenizing of toad skeletal muscles, the homogenate is poured over a nylon net stretched across the top of a 1000 ml beaker. The muscle cell segments in the homogenate are concentrated by a centrifuge. The supernatants are discarded, and the pellets are incubated in proper quantity of 25 mM NaCl, 2.5 mM DL-histidine chloride solution at 5°C for 48 hrs. Then they are resuspended in distilled water and centrifuged. The supernatant is decanted. The above mentioned process of suspension and centrifugation is repeated. Thus the intracellular material is dissolved in distilled water, and separated from sarcolemma which is sedimented in a pellet.

調製とその検討

実験動物として日本産ガマ (*Bufo vulgaris Japonicus*) を用いて実験を行なった。すなわち、Intact muscle を用いた実験では、ガマの脳脊髄を破壊して胸骨の中線にそって切開し、胸腔を広く開いて、大動脈を切断した。約30分放血した後、縫工筋を取り出して、Ringer 液に浸漬して、実験に供した。また、sarcolemma を用いた実験では同様の方法によって、脳脊髄破壊放血を行なった後、後肢筋を取り出して、あらかじめ用意した 5°C, 150 mM NaCl 溶液に貯え、D. L. McColester¹¹⁾ らの方法を改良した堀田¹²⁾の方法を用いて、sarcolemma を調製した (Fig. 1)。

堀田の改良点は 25 mM NaCl, 2.5 mM DL-histidine chloride 中に浮遊した試料を熱処理 (37°C, 30 min) を行なわず、5°C, 1 昼夜浸漬した後、水抽出を行なった点にある。この方法によって調整した sarcolemma と、熱処理を行なったものとの酵素活性を無機リンの生成量によって比較すると (Fig. 2), 明かに熱処理による酵素活性の低下が観察された。このようにして調製した sarcolemma を、さらに形態と機能の面より検討した。すなわち、筋線維の光学顕微鏡像は Fig. 3 A (×1500) に見られるような形態を示している。さらに拡大して観察すると、いわゆる、骨格筋の横紋構造が観察される (Fig. 3 B ×2500)。

つぎに、調製した sarcolemma 像は Fig. 4 A (×1500) に見られるように袋状を呈している。さらに拡大して観察しても、横紋構造は観察されない (Fig. 4 B ×2500)。

Sarcolemma 生成過程において、収縮蛋白系が横紋構造を保ったまま、流出する像が実際に観察される。この生成過程の光学顕微鏡像は T. Kono⁵⁾ によって詳細に報告されている。つぎ

に, myofibril の電子顕微鏡像 (Fig. 5 A) の2倍に拡大した sarcolemma の電子顕微鏡像: negative staining (Fig. 5 B) によって観察されるように, collagen (Fig. 5 C) の少い均質な sarcolemma が観察された. これらの電子顕微鏡像は, つぎのような処理を行なって試料を調製した後, 撮った.

すなわち, myofibril (Fig. 5 A) は, 前固定として, 燐酸緩衝液で, pH 7.4 に調整した 6% グルタルアルデヒドを用いて, 60分間室温で固定した. ついで, 後固定として, 燐酸バッファで, 同様に pH 7.4 に調整した四酸化オスミウム 2% 溶液を用いて, さらに 0°C, 60分間, 固定を行なった. その後, ethyl alcohol および acetone の各濃度溶液で, 水洗, 脱水を順

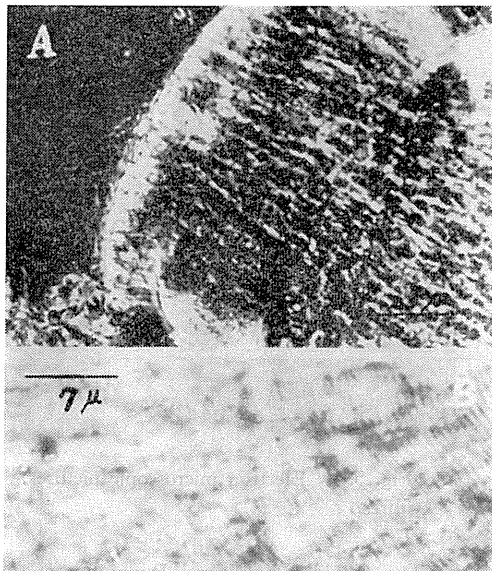


Fig. 3. Minced skeletal muscle fragments in 50 mM CaCl₂ after nylon net filtration. Note the presence of the cross striations in B.

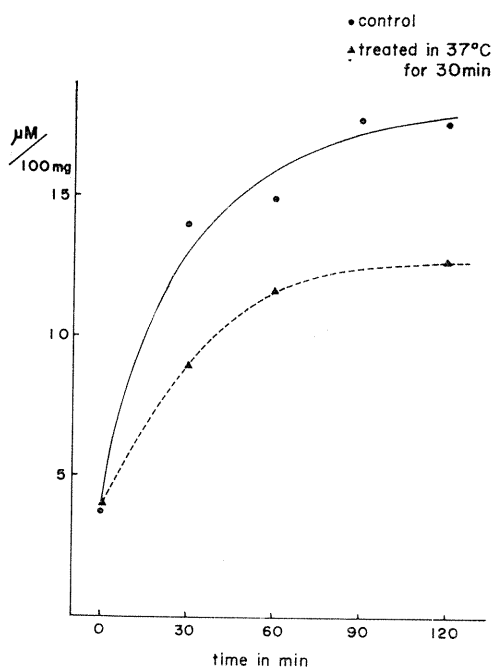


Fig. 2. Released Pi in media surrounding sarcolemma. Two materials of sarcolemma, one of which was treated in 25 mM NaCl, 2.5 mM DL-histidine chloride solution for 30 min at 37°C and the other of which was treated at 5°C for 48 hrs, were incubated in the ATP-added Ringer solution, and then the inorganic phosphates of both materials were analyzed.

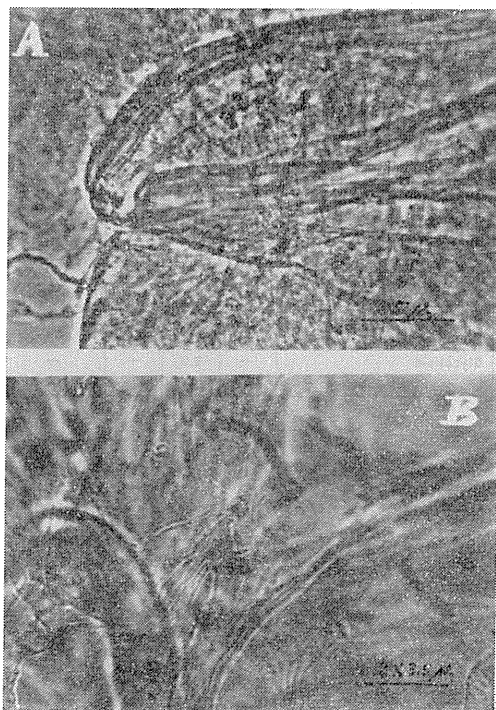


Fig. 4. Phase different microscopic pictures of prepared sarcolemma.

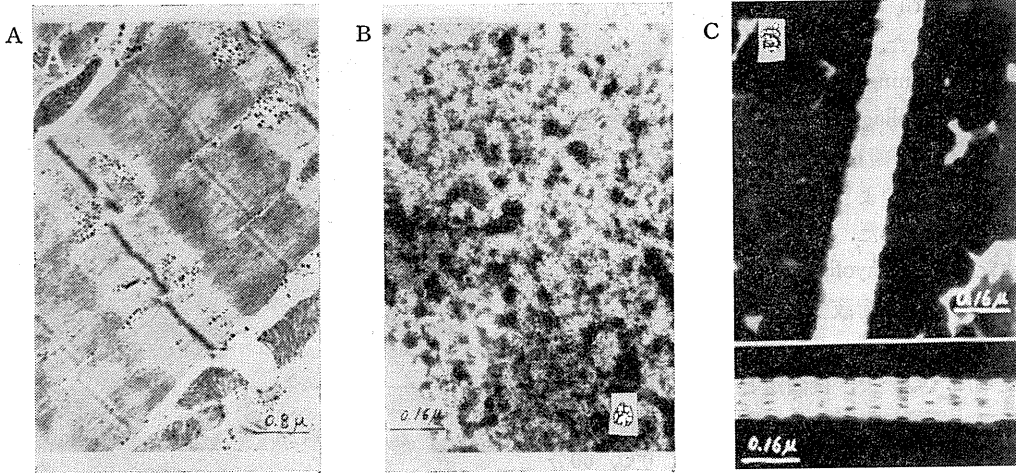


Fig. 5. Electron microscopic pictures. A : Skeletal muscle ; B : Sarcolemma ; C : Collagen fibres.

Table 1. Lipid compositions. Running the extracts of both sarcolemma and sarcoplasmic reticulum by TLC, lipid compounds of each material were analyzed. Our values of toad was referred from the analytical results of bull-frogs obtained by Koketsu and from those of rabbits by Hotta. Their indicated values in this table were expressed in percent (W/W)

Compounds	Sarcolemma			Sarcoplasmic reticulum
	Toad	Bullfrog	Rabbit	Toad
Cholesterol ester	1.0%	—%	—%	—%
Triglyceride	17.7	9.0	—	21.5
Cholesterol	3.3	30.0	4.0	3.0
Phosphatidic acid	1.9	3.0	—	3.4
Phosphatidyl ethanolamine	21.7	10.0	31.3	23.4
Phosphatidyl choline	46.1	24.0	51.1	43.4
Phosphatidyl serine	7.1	6.0	7.2	5.4
Sphingomyelin	1.3	trace	5.1	—
Phosphatidyl inositol	—	trace	—	—
Free fatty acid	—	8.0	—	—
Glycolipid	—	2.0	—	—
Lipid-peptid complex	—	10.0	—	—

次行なった。ついで、試料を Epon 樹脂に包埋し、加温、重合を行なった。染色には uranyl acetate を15分間、lead nitrate を20分間使用して、いわゆる、double staining を行なった。超薄切片作成には L. K. B. (Sweden 製) のウルトラ・マイクロトームを用いた。また、電子顕微鏡は JEM 7 (日本電子株式会社製) を用いた。Sarcolemma (Fig. 5 B) および collagen (Fig. 5 C) はいわゆる、negative staining によ

って染色を行なった。すなわち、試料に蒸留水を加えて、希釈液を調整し、これと同量の燐タングステン酸 2% 溶液 (pH 6.8) を加えて染色した。この懸濁液をコロジオン膜をはったシートメッシュに滴下、乾燥し、電子顕微鏡により観察した。ついで、化学組成の検討として、膜の諸機能に重要な役割を演じている脂質を Floch の方法¹³⁾によって抽出、TLC にて展開した後、各 spot を抽出し、発色定量¹⁴⁾⁻¹⁹⁾を行なった。この分析結果は Table 1 に示したように、sarcoplasmic reticulum (Toad), rabbit sarcolemma (堀田²⁾ら)と同様の傾向を示したが、bull-frog sarcolemma (L. G. Aboud⁷⁾ら)とはかなり異った値を示している。特に、cholesterol, triglyceride の値が著しく少量であり、この点、さらに検討するつもりである。

2. Nucleotides 添加 Ringer 液による intact muscle, sarcolemma の加水分解について

カエル用 Ringer 液に nucleotides を溶解して使用した。pH は K. Ahmed²⁰⁾らの実験結果を参考にして、ATPase 活性の高い pH 7.4 とした。実験はすべて 20°C で行ない、適時、sampling して、諸物質の定量を行なった。無機燐は Fiske-Sabbarow の方法²¹⁾によって定量した。Nucleotides の分離は薄層クロマトグラフィーによって、行なった。吸着剤は ecteola-

cellulose, 展開剤には n-butanol/acetone/acetic acid/5% ammonium hydroxide/water (3.5 : 2.5 : 1.5 : 1.5 : 1.0) を用い, K. Randerath の方法²²⁾によって行なった. その結果, Rf 値 (Table 2) は K. Randerath²²⁾の実験結果に近似の値を示している.

ついで, 展開された諸物質の spot を蒸留水に溶出して, それぞれの紫外部の分光吸光曲線を吟味し, その最大吸光の波長を求めて, 濃度吸光度曲線を検討した結果, その直線性を確認し (Fig. 6), 定量を行なった.

3. Sarcoplasmic reticulum の調製

Sarcolemma を調製した時と同様の方法を用い日本産ガマの後肢筋を取り出し, 80 mM KCl 溶液 (40 mM Tris-HCl 緩衝液 pH 7.2) に貯え, waring blender で1分間, homogenize した. この homogenate を 1,000×g 15分間遠沈し, その supernatant を 9,500×g 40分間, 遠沈して, その supernatant をさらに, 36,000×g 120分間遠沈して, その sediment を 50 mM KCl 溶液 (20 mM Tris-maleate 緩衝液 pH 6.8) に suspend した後, 再び 36,000×g 120分間, 遠沈した. その時の sediment が sarcoplasmic reticulum である. これらの material の蛋白量は Lowry 法³²⁾により測定した.

III. 実験成績

1. Intact muscle を用いた膜酵素活性の実験

Intact muscle を ATP 添加 Ringer 液を用いて, incubate し, 経時的に medium を sampling した. その時の ATP の分解過程を観察すると (Fig. 7), 時間の経過に伴って, ATP は急激に減少し, AMP が次第に生成される.

無機燐の生成も同様に時間の経過に伴って増加しているのが観察された. ついで, AMP 添加 Ringer 液を用いて, incubate し, AMP の分解ならびに無機燐の生成を観察した. すなわち, medium を薄層クロマトグラフィーによって展開したが, AMP の single spot がえられるのみであった. また, 無機燐の生成も全く観

Table 2. Rf values of nucleotides. After measurements in Rf values of ATP and some other nucleotides were carried out after running them 10 cm at room temperature

Solvent : n-Butanol-Aceton-Acetic Acid-5% Ammonium Hydroxide-Water (3.5:2.5:1.5:1.5:1.0)
Adsorbent : Cellulose Powder, Type MN 300

Compound	Rf
Adenosine-5-triphosphate	0.06
Adenosine-5-diphosphate	0.13
Adenosine-5-phosphate	0.24
Inosine-5-phosphate	0.16
Adenosine	0.55
Inosine	0.46

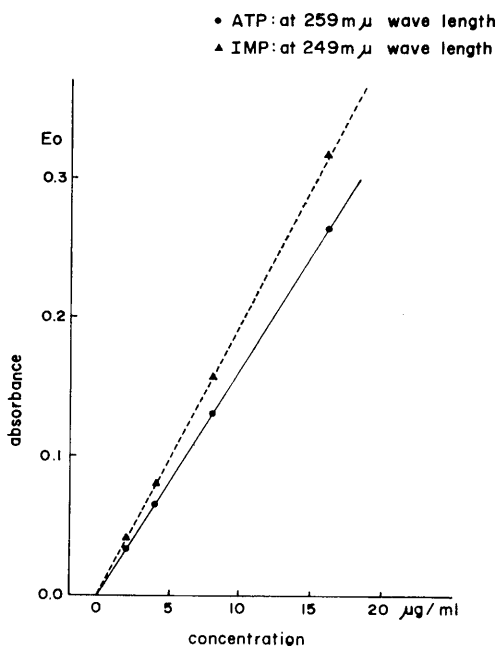


Fig. 6. Standard curves of ATP and IMP concentrations. The spots of ATP and IMP which were run in one dimension of TLC, were solved in distilled water. By use of the coefficient of optical density and microgram extinction at those two wave lengths, the concentrations of ATP and IMP were determined.

察されなかった.

2. Sarcolemma を用いた膜酵素活性の実験

Intact muscle を用いた実験と同様に sarcolemma を ATP 添加 Ringer 液を用いて incubate し, ATP の変化ならびに無機燐の生

成を経時的に観察すると、無機燐の生成は時間の経過とともに exponential に増加した。また、ATP は漸次、減少し、ADP の生成、ついで、IMP の生成が観察された (Fig. 8)。つぎに、AMP 添加 Ringer 液を用いて sarcolemma を incubate すると、無機燐の生成は全く認められない。しかし、AMP は急激に減少し、一方、IMP の生成が化学量論的に、これに見合

っただけの生成が観察された (Fig. 8)。

これらの実験は膜酵素として、ATPase, adenylate kinase, AMP deaminase の存在を示している。

3. 膜酵素に対する蛋白変性剤の影響

a. Intact muscle を用いた場合

蛋白変性剤 (過塩素酸) の種々の濃度の溶液に intact muscle を一定時間、処理した後、

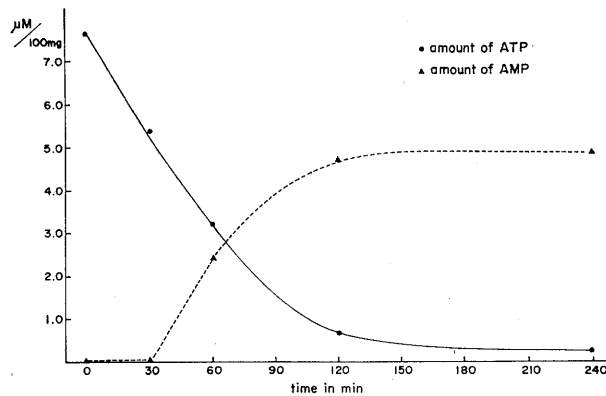


Fig. 7. Conversion of ATP to IMP in media surrounding intact muscles. Initial concentration of ATP was about 3 mM in Ringer solution.

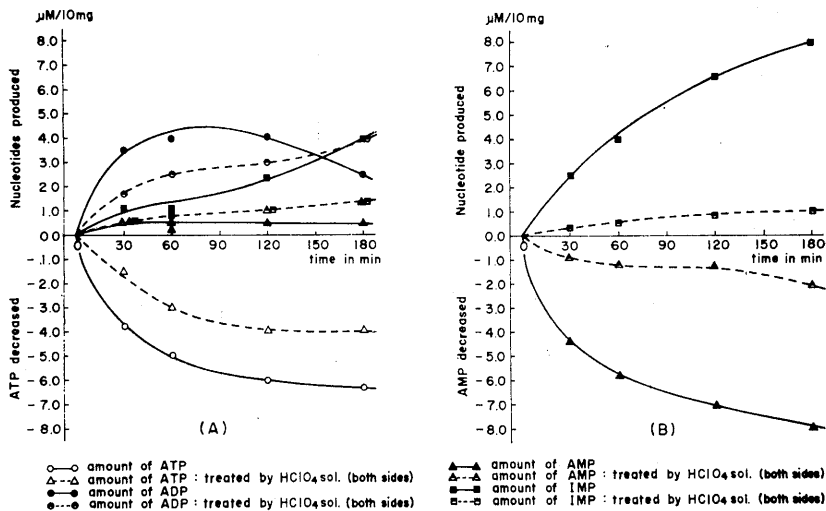


Fig. 8. A: Conversion of ATP to ADP, AMP and IMP in toad sarcolemma. After treatment in the dil. HClO_4 solution for 10 sec at room temperature, the obtained sarcolemma was incubated in the ATP-added Ringer solution, and compared with control material. B: Conversion of AMP to IMP in toad sarcolemma. Sarcolemma treated by the same way as in A, was incubated in the AMP-added Ringer solution.

ATP 添加 Ringer 液を用いて incubate し、経時的に無機燐を測定した結果 (Fig. 9), 低濃度では、処理時間が短いものでは、一次的に無

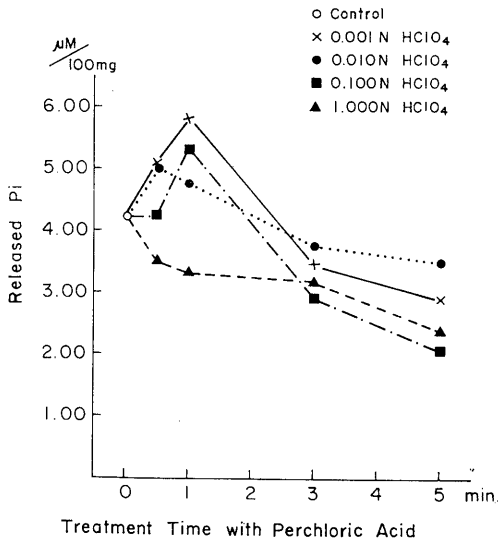


Fig. 9. Released Pi in media surrounding intact muscles. Intact muscles were incubated in ATP-added Ringer solution for 30 min after treatment with HClO₄ solution in various concentrations and periods. Produced inorganic phosphate was analyzed.

機燐の生成が増大した。高濃度になるにしたがって、酵素活性の低下が観察された。

このような傾向は、蛋白分解酵素処理 sarcolemmic reticulum を用いた実験でも同様の傾向であることが N. Ikemoto²³⁾ らによって報告されている。

b. Sarcolemma を用いた場合

調製した sarcolemma を過塩素酸溶液 (0.05 N) に10秒間、処理し (膜内外側の処理), ATP ならびに AMP 添加 Ringer 液を用いて incubate し、経時的に sampling した。その時のmedium中の nucleotides の定量を行なった (Fig. 8)。この図に示されるように、明らかに諸酵素活性の低下が観察された。つぎに膜外側処理の sarcolemma を調製した。すなわち、γ後肢骨格筋を mincing した後、過塩素酸溶液 (0.05 N) に、10秒間、処理し、前述の方法に準じて、sarcolemma を調製した。この sarcolemma を用いて、ATP ならびに AMP 添加 Ringer 液を用いて、その経時的な変化を観察すると (Fig. 10), 膜両側処理に比較して、ATPase, AMP deaminase 活性の低下がゆるやかであるといえよう。

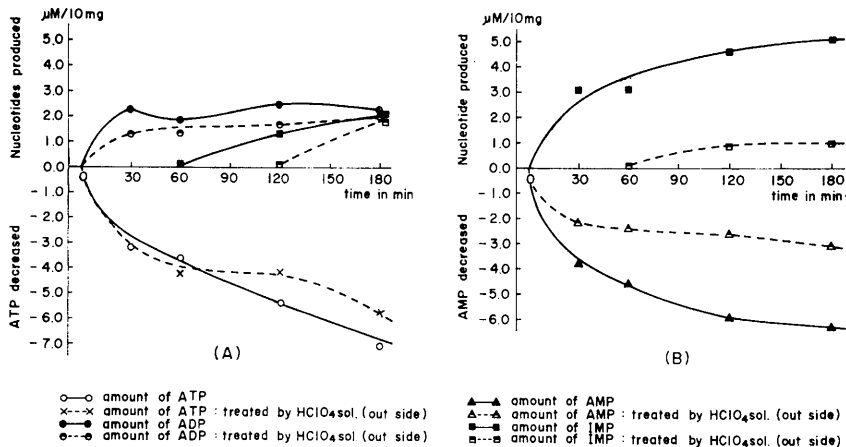


Fig. 10. A : Conversion of ATP to ADP, AMP and IMP in toad sarcolemma. After fragments of minced skeletal muscles were treated in the HClO₄ solution for 10 sec, sarcolemma was obtained through the process explained in Fig. 1. It was incubated in the ATP-added Ringer solution and compared with its control. B : Conversion of AMP to IMP in toad sarcolemma. Sarcolemma obtained as well as in A, was incubated in the AMP-added Ringer solution.

4. Sarcoplasmic reticulum 酵素系の実験

Sarcolemma と同様に ATP 添加 Ringer を用いて incubate し、その酵素系を検討した (Fig. 11). その結果、sarcolemma と同様に、ADP, AMP, IMP 等の生成が観察され、両者の酵素系の類似性を確認するとともに、その活

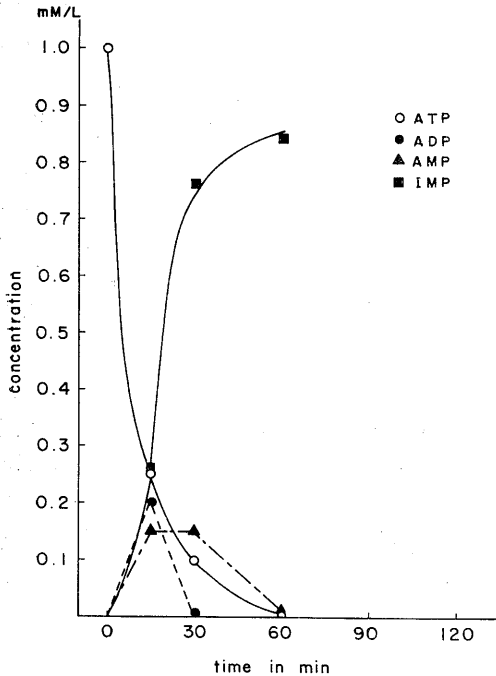


Fig. 11. Conversion of ATP to ADP, AMP and IMP in fragments of toad sarcoplasmic reticulum. The fragments of sarcoplasmic reticulum were incubated in the ATP-added Ringer solution.

Table 3. Comparison of sarcolemma with sarcoplasmic reticulum for ATPase activity and Ca uptake. Furthermore influence of oxalate on those activities is shown

	ATP ase Activity (released Pi) $\mu\text{M}/\text{mg protein}/2\text{min}$		Ca Uptake $\mu\text{M}/\text{mg protein}/2\text{min}$	
	1 mM Oxalate		1 mM Oxalate	
	-	+	-	+
Sarcolemma	1.17×10^{-2}	1.44×10^{-2}	1.43×10^{-5}	1.01×10^{-5}
Sarcoplasmic Reticulum	1.00×10^0	8.70×10^{-1}	2.86×10^{-2}	3.88×10^{-2}

性は非常に高く、1時間、incubate 後には、ATP は殆ど大部分が IMP に分解された。なお、溶液中の蛋白質濃度は $840 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。

5. Sarcolemma および sarcoplasmic reticulum の酵素活性と Ca uptake の比較

先ず、ATPase 活性の比較では、sarcolemma は sarcoplasmic reticulum に比べて、非常に低いことが観察された (Table 3). また oxalate (1 mM) の影響をみると、前者に有意の差はみられないが、後者では ATPase 活性がやや低下の傾向を示している。つぎに、Ca uptake の実験では前者はわずかに Ca uptake がみられた。しかし、oxalate を加えても Ca uptake に有意の差はみうけられなかった。これに対して、後者の Ca uptake は前者の約 2,000 倍で oxalate を加えると、さらに増加の傾向を示した。

IV. 実験成績に対する考按

ATP 添加 Ringer 液を用いて、intact muscle を incubate した実験では、Fig. 7 に示したように、ATP の減少と AMP の生成が観察された。しかし、C. R. Dunkley¹⁾ らの実験では AMP よりさらに分解され、多量の IMP の生成を報告している。この異った実験結果から、第 1 に考えられることは、実験動物の種差による膜酵素系の差異である。すなわち、著者の用いた動物は *Bufo vulgaris japonicus* であり、C. R. Dunkley¹⁾ らの用いた動物は *Rana pipiens schreber* である。この推論に好都合な実験として、つぎのような実験結果をえている。すなわち、*Rana catesbiana* の intact muscle を AMP 添加 Ringer 液を用いて incubate すると、かなりの量の無機燐の産生が観察された (Fig. 12).

第 2 に考えられることは、sarcolemma を用いた実験では、ATP→ADP→AMP→IMP あるいは AMP→IMP に示されたような分解過程を経て、IMP が生成される (Fig. 8). この事実より AMP deaminase は sarcolemma 内側にのみその活性があることを示唆している。この推

論を確認する意味で、蛋白変性剤である 0.05 N HClO₄ 溶液を用いて、sarcolemma の外側と内外両側を処理し、その酵素活性の active site の相違を比較した結果 (Table 4), 第1に、AMP deaminase は膜内側に存在すると考えられる。

さらに、膜外側の HClO₄ 溶液による短時間処理 (10秒間) の場合でも、かなり活性の低下が観察されることから膜構造はかなり粗であると考えられる。第2に、ATPase 活性は膜内外両側に存在すると考えられる。また、上述の実験に用いた HClO₄ 溶液の濃度を2倍にして処理した実験では、AMP deaminase 活性は殆ど零に近い程、低下したが、ATPase 活性は control に比べて約50%の活性を維持している。

さらに Fig. 9 で示されるように、intact muscle を稀 HClO₄ 溶液を用いて、処理すると、ATPase 活性の増大が観察される。これらの事実より sarcolemma 外側の ATPase は基底膜に覆われていると考えられる。以上の実験より、sarcolemma の酵素系については、ATPase, adenylate kinase, AMP deaminase の存在を確認するとともに、これら諸酵素の active site の局在について、ATPase 活性は膜内外側に AMP deaminase 活性は膜内側に存在すると考えられる。膜酵素の active site に関する実験として、D. S. Beattie²⁴⁾ は rat liver mitochondria を digitonin 処理によって、outer limiting membrane の欠損を電子顕微鏡によって確認し、膜内外の諸酵素活性を比較している。また、M. S. Jones²⁵⁾ らは swelling-shrinking-sonication method を用いて、rat liver mitochondria 酵素活性の active site を研究している。その他にも、品川⁹⁾ らは赤血球膜について、電子顕微鏡による観察の結果、ATPase 活性は細胞膜内側に存在すると報告している。今後、これらの方法を併用して、膜酵素の active site の局在性について、さらに実験を進めたい。膜の酵素系に関して、D. L. McColester³⁾ らは rat 骨格筋の sarcolemma を用いた実験により、ATPase の存在を確認している。しかし、解糖系諸酵素の存在には、否定的な結果を示している。また、J.

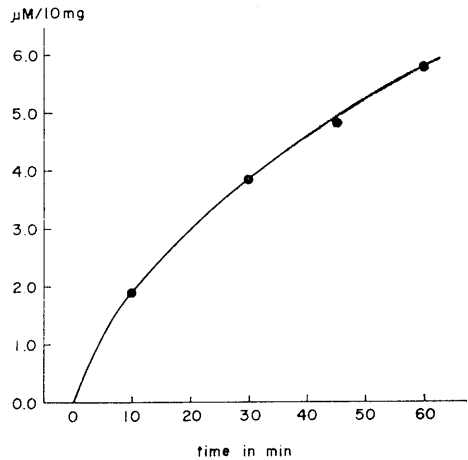


Fig. 12. Released Pi in media surrounding intact muscles. Intact muscle of *Rana catesbiana* was incubated in the ATP-added Ringer solution and inorganic phosphate was produced. In toad, however, it could not be produced.

Table 4. Conversion of ATP or AMP to IMP. A, B and their control were incubated in the ATP-added solution or the AMP-added. ATP or AMP was poured in those three sarcolemmal materials, which brought to reduce their nucleotides and produced IMP. The values of the above split-nucleotides and produced IMP in A and B materials were expressed in percent against the values in control. A: Sarcolemma (out side treated by 0.05 N HClO₄ solution), B: Sarcolemma (out and inner sides treated by 0.05 N HClO₄ solution)

INCUBATION TIME (min)	CONVERSION OF ATP TO IMP				CONVERSION OF AMP TO IMP			
	ATP CONSUMPTION		PRODUCED IMP		AMP CONSUMPTION		PRODUCED IMP	
	A (%)	B (%)	A (%)	B (%)	A (%)	B (%)	A (%)	B (%)
-30	97.0	39.5	00.0	45.5	58.7	20.4	00.0	00.0
60	117.0	60.0	00.0	72.8	52.2	20.7	00.0	00.0
120	76.0	65.5	00.0	41.7	44.1	17.1	18.5	12.1
180	81.7	62.5	85.7	35.7	49.2	26.3	19.6	12.5

J. Heffron⁴⁾ らは *Rana Temporaria* の骨格筋 sarcolemma を用いた実験により、電子伝達系の諸酵素の存在を否定している。この報告は著者が行なった sarcolemma の O₂ consumption の実験結果と一致している (未発表)。

つぎに、sarcolemma と sarcoplasmic reticulum の酵素系ならびに Ca uptake を比較し

てみると, ATPase を中心とした酵素系では殆ど類似の傾向を示したが, 活性の比較では, 前者に比べ, 後者は非常に高い値を示している. Ca uptake では ATPase 活性と同様に, 前者に比べ, 後者は著しく高い値を示している. これらの現象は, 両者の生理学的機能に相違があり, 前者は興奮, 後者は遊離 Ca の調節とそれぞれ, その役割を考えるならば, 当然とうなずける結果といえよう. Sarcolemma の Ca uptake に関して, K. Hotta²⁾らはカイウサギを用いた実験によると, ATP の有無に拘わらず, 否定的な結果を報告している. しかし, K. Koketsu²⁶⁾らは *Bull-frog* を用いた実験により, Ca uptake を観察している. さらに Na, あるいは K の添加により, Ca uptake が半減することも観察している. また, *isolated frog sartorius muscle* (K. Koketsu²⁷⁾ら)を用い, K, Ca 濃度の変化, あるいは cocaine, EDTA 等を添加して, Ca⁴⁵ の release を観察することによって, sarcolemma の Ca 結合遊離と膜の透過性の変化を実証している.

最後に, sarcolemma の構造と機能にとって不可欠の要素である脂質を定量した結果は, J. M. Tobias²⁸⁾が酵素化学的方法, 電気生理学的方法, あるいは電子顕微鏡の観察結果より考えた膜モデルの化学組成と定性的に一致している. また, 膜電位, 活動電位等の現象を説明するためには, イオンの不均一分布, さらに能動輸送を考えざるをえない. T. I. Shaw²⁹⁾, L. E. Hokin³⁰⁾らが考えたモデルによると, エネルギーを必要とするのは, 膜の内側のみである. 彼等のモデルによれば, ATPase 活性も内側にのみ存在すると考えられる. しかし, 著者の実験によれば, 膜外側にも ATPase その他の酵素活性が存在すると考えられる. また, 能動輸送における carrier と ion の結合物の膜内での移動はすべて, 拡散によって説明されているが, Daniell-Davson あるいは J. D. Robertson⁸⁾の膜モデルに示されるようなきれいな脂質二層膜とその親水側の蛋白質層を果して, ion や carrier が簡単に拡散するものであろう

か. これらの多くの問題をかかえた膜モデルも, D. O. Rudin らがいわゆる, 興奮性誘発物質 (EIM) なるものを調製し, 予め, 用意した脂質二層膜に附加して, イオン透過性, 興奮性等の機能をもった人工膜を調製することができた. さらに, 人工の脂質二層膜の片側に EIM を加えて, 膜を活性化した後, chymotrypsin によって処理すると, EIM の添加側であろうとなかろうと, 膜抵抗は再び EIM 添加前に戻ってしまった. このような R. C. Bean らの実験より, 高木³¹⁾はかなり不規則にならんだ脂質層を貫いた特別な構造部分に EIM が附着している構造を想像している. 仮に, 生体膜も, このような構造であるのなら, HClO₄ 溶液の膜外側短時間処理における内側の酵素活性の著しい低下, 膜脂質分析における cholesterol の予想に反した低含有量, 膜内外側の諸酵素活性の存在等, 理解に苦しむ結果でもなさそうである.

V. 要 約

細胞膜の興奮現象, 膜内外側のイオンの不均一分布, ATP の分解を伴った物質の能動輸送等を考える場合, これらの膜の諸機能と膜酵素系との関連性を考えざるをえない. 実際, 多数の研究者によって, ATPase の諸性質が解明されている. さらに, C. R. Dunkley¹⁾らは ATPase, adenylate kinase, AMP deaminase 等の酵素活性が細胞膜外側に存在することを実証し, 膜酵素の局在性に新たな問題を提起した. そこで, 著者は膜酵素活性の局在性の問題, さらに sarcolemma と sarcoplasmic reticulum の機能的類似性を検討した. その結果, 次の如き実験成績をえた.

1. Sarcolemma を調製し, その酵素系には ATPase, adenylate kinase, AMP deaminase 活性の存在を確認した.

2. Intact muscle を用いて, sarcolemma 外側に ATPase ならびに adenylate kinase 活性を確認した.

3. 蛋白変性剤を用いて, sarcolemma の外側ならびに, 内外側を処理し, 上述の諸酵素活

性を検討した結果, sarcolemma 外側の酵素活性は内側に比べて低く, また, AMP deaminase 活性は内側にのみ存在することを実証した。

4. Sarcoplasmic reticulum の酵素系は sarcolemma と類似しており, しかも, その活性はきわめて高い。

5. Sarcolemma と sarcoplasmic reticulum の ATPase 活性と Ca uptake を比較すると, 後者は前者に比較し, 特に Ca uptake において, 極めて高い値を示した。

6. 化学組成として, 脂質の分離定量を行なった結果では, phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine, triglyceride が大部分をしめ, cholesterol は極めて少く, 種々の提唱されている細胞膜モデルとの関連性について, さらに検討すべき問題である。また, これらの脂質の定量値は sarcoplasmic reticulum についても, 殆ど同様の結果がえられた。

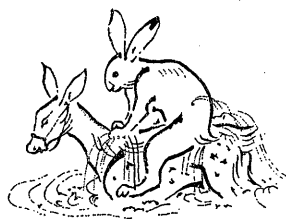
終りに臨み, 終始御懇篤な御指導ならびに御校閲を賜った恩師酒井敏夫教授に厚く感謝するとともに, 実験にあたって, いろいろ御指導御援助を頂いた中野昭一助教授, 藤井和明博士, 米本恭三博士, 酒井良介学士, 岩垣丞恒学士に心から感謝致します。

なお, 本論文の要旨は85回成医会総会, 第46回生理学会総会ならびに昭和44年度, 文部省総合研究「興奮収縮連関の生理学的研究」班会議において発表した。

文 献

- 1) Dunkley, C. R., Manery, J. F. & Dryden, E. E. (1966) The conversion of ATP to IMP by muscle surface enzymes. *J. Cell. Physiol.*, **68**, 241-247
- 2) Hotta, K. & Usami, Y. (1967) Enzymic activity of isolated skeletal muscle sarcolemma. *J. Biochem.*, **61**, 407-410
- 3) McCollester, D. L. & Randle, P. J. (1961) (5) Isolation and some enzymic activities of muscle cell membranes. *Biochem. J.*, **178**, 27 P
- 4) Heffron, J. J. A. & Duggan, P. F. (1967) The adenosine triphosphatase activity of skeletal muscle cell membranes. *Biochem. J.* 10312 (46 P)
- 5) Kono, T. & Colowick, S. P. (1961) Isolation of skeletal muscle cell membrane and some of its properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, **93**, 520-533
- 6) Tobias, J. M. (1955) Effects of phospholipases, collagenase and chymotrypsin on impulse conduction and resting potential in the lobster axon with parallel experiments on frog muscle. *J. Cell and Comp. Physiol.* **46**, 183-207
- 7) Abood, L. G., Kurahasi, K., Brunngraber, E. & Koketsu, K. (1966) Biochemical analysis of isolated bullfrog sarcolemma. *Biochim. Biophys. Acta*, **112**, 330-339
- 8) Robertson, J. D. (1960) The molecular structure and contact relationships of cell membranes. *Progr. in Biophys.*, **10**, 343-418
- 9) 品川嘉也, 小倉光夫 (1966) 膜の構造と機能, 膜の生物物理 吉岡書店 171-215
- 10) Barnett, R. J. (1962) The fine structural localization of acetylcholinesterase at the myoneural junction. *J. Cell Biol.* **12**, 247-262
- 11) McCollester, D. L. (1962) A method for isolating skeletal muscle cell membrane components. *Biochim. Biophys. Acta*, **57**, 427-437
- 12) 堀田 健 (1967) 筋細胞膜の調整法, 生体膜実験技術, 南江堂 218-225
- 13) Folch, J., Lees, M. & Sloane Stanley, G. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509
- 14) Araki, H. & Okazaki, N. (1966) 脂質の薄層クロマトグラフィー, 生物物理化学 **12**, 17-22
- 15) Wagner, H., Hörhammer, L. & Wolff, P. (1961) Dünnschichtchromatographie von Phosphatiden und Glykolipiden. *Biochem. Z.*, **334**, 175-184
- 16) Bartlett, G. R. (1959) Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, **234**, 466-468
- 17) Jatzkewitz, H. & Mehl, E. (1960) Zur Dünnschichtchromatographie der Gehirn-Lipide, ihrer Um- und Abbauprodukte. *Z. Physiol. Chem.*, **320**, 251-257
- 18) Stern, I. & Shapiro, B. (1953) A rapid and simple method for the determination of esterified fatty acids and for total fatty acid in blood. *J. Clin. Path.*, **6**, 158-160
- 19) Abell, L. L., Levy, B. A., Brodie, B. B. & Kendall, F. E. (1952) A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity. *J. Biol. Chem.*, **195**, 357-366
- 20) Ahmed, K. & Judah, J. D. (1964) Preparation of lipoproteins containing cation dependent ATPase. *Biochim. Biophys. Acta*, **93**, 603-613
- 21) Fiske, C. H. & Subbarow, Y. (1925) The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-400
- 22) Randerath, K. (1961) A comparison between thin-layer chromatography and paper chromatography of nucleic acid derivatives. *Biochem.*

- Biophys. Res. Commun., **6**, 452-457
- 23) Ikemoto, N., Sreter, F. A., Nakamura, A. & Gergely, J. (1968) Tryptic digestion and localization of calcium uptake and ATPase activity in fragments of sarcoplasmic reticulum. *J. Ultrastructure Research*, **23**, 216-232
- 24) Beattie, D. S. (1968) Enzyme location in the inner and outer membranes of rat liver mitochondria. *Biochem. Biophys. Research Communications*, **31**, 901-907
- 25) Jones, M. S. & Jones, O. T. G. (1968) Evidence for the location of ferrochelatase on the inner membrane of rat liver mitochondria. *Biochem. Biophys. Research Communications*, **31**, 977-982
- 26) Koketsu, K., Kitamura, R. & Tanaka, R. (1964) Binding of calcium ions to cell membrane isolated from bullfrog skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* **207**(2), 509-512
- 27) Koketsu, K. & Miyamoto, S. (1961) Significance of membrane calcium in calcium-free and potassium-rich media. *Nature*, **189**, 403-404
- 28) Tobias, J. M. (1958) Experimentally altered structure related to function in the lobster axon with an extrapolation to molecular mechanisms in excitation. *J. Cell Comp. Physiol.* **52**, 89-107
- 29) Shaw, T. I. (1955) Potassium movements in washed erythrocytes. *J. Physiol.* **129**, 464-475
- 30) Hokin, L. E. & Hokin, M. R. (1959) The mechanism of phosphate exchange in phosphatidic acid in response to acetylcholine. *J. Biol. Chem.* **234**, 1387-1390
- 31) 高木雅行 (1969) 二層膜の興奮, *生物物理* **9**, 49-66
- 32) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275



The use of ^{36}Cl and ^{14}C -inulin for the determination of erythrocyte chloride concentration and trapped plasma in the centrifuged hematocrit in the rat

Mamoru FUJIMOTO * and Koh HIGAKI **

* *Department of Physiology, Gifu University School of Medicine*

** *Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine*

Chloride ion has been known to distribute both in the intra- and extra- cellular spaces in any organ or tissue of the body, interacting the cation- and anion-balance¹⁾²⁾³⁾⁴⁾. The red cell is one of the representative materials into which Cl^- ions can penetrate in exchange for HCO_3^- ions⁵⁾ in association with a change of intracellular pH⁶⁾. In order to know the exact ratio of intra- and extra-cellular fluid volumes, a number of attempts were made to measure, directly or indirectly, the amount of trapped plasma within the column of packed cells in the centrifuged hematocrit tube⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾. There has been few report in which inulin is used as an indicator for this purpose in spite of the most useful indicator for the determination of extracellular fluid volume. Generally, the endogenous cellular components (e. g. hemoglobin, ^{32}P , ^{59}Fe) may not be used in abnormal situations such as presence of massive hemolysis. This paper is concerned with the method of determination for the trapped plasma and intracellular Cl concentration of red cells by a simultaneous use of ^{14}C -inulin and ^{36}Cl in the rat.

Sixteen healthy male rats weighing 200~250 g of wistar strain were used in this study. After intraperitoneal administration of sodium thiopental (25~30 mg/kg body wt), Na^{36}Cl was injected into the femoral vein at a rate of 5 $\mu\text{C}/\text{kg}$. After allowing 2 hours for equilibrium, about 4 ml of blood was drawn from the abdominal aorta into a heparinized syringe, which was served for measurement of hematocrit in duplicate, counting radioactivity with a gas-flow counter, and chemical analysis of plasma for Cl with Cotlove's titrator¹³⁾. Hyper-

chloremic acidosis was induced by intravenous infusion of 0.3 N HCl (5 mM/kg) in 5 rats and additional 5 rats were infused with normal saline as a control. In determination of the plasma, ^{14}C -carboxyl inulin (in 1~2 μl) was added to one part of blood (0.5 $\mu\text{C}/\text{ml}$) and mixed gently. Then, the blood was centrifuged at 3,000 rpm for 30 min with 15 cm radius in Wintrobe tube. After reading hematocrit, plasma was separated from blood corpuscles. One-fifth ml of sample (plasma or whole blood, both ^{14}C -labeled and nonlabeled) was dried up on a planchet under infra-red light and served for radiological examination. Self-absorption coefficient was determined preliminarily and specific activity of Cl was confirmed to be identical between plasma and red cells. The trapped plasma, (TP), and Cl concentration, [Cl], in the red cell were calculated according to the following equations ;

$$C_w \cdot \text{inulin} = C_w \cdot (\text{inulin} + \text{Cl}) - C_w \cdot c_1$$

$$C_p \cdot \text{inulin} = C_p \cdot (\text{inulin} + \text{Cl}) - C_p \cdot c_1$$

$$\text{TP} (\%) = \frac{C_w \cdot \text{inulin}}{C_p \cdot \text{inulin}} \times 100 - \text{Pct}$$

$$C_c \cdot c_1 = \frac{C_w \cdot c_1 \times 100 - C_p \cdot c_1 (\text{Pct} + \text{TP})}{\text{Hct} - \text{TP}}$$

$$[\text{Cl}]_c = [\text{Cl}]_p \cdot \frac{C_c \cdot c_1}{C_p \cdot c_1}$$

where C denotes radioactivity corrected for self-absorption and back-ground ; suffix w, p and c represent whole blood, plasma and red cell, respectively ; and plasmacrit (Pct %) = 100 - hematocrit (Hct %).

Data obtained from normal 6 rats without saline infusion are listed in Table 1. The mean value for hematocrit is $46.9 \pm 1.8\%$ and that of trapped plasma is $1.79 \pm 0.09\%$ with respect to the whole blood volume : i. e. plasma is trapped in packed red cell mass by 3.8% of hematocrit value. This is in accordance with those obtained

* 藤本 守 : 岐阜大学医学部生理学教室

** 檜垣 鴻 : 京都府立医科大学生理学教室

[Received for publication February 9, 1970]

Table 1. Trapped plasma volume in centrifuged hematocrit (3,000 rpm, 30 min, 1,500 g) in the rat

Rat No	Hct (%)	TP (%)	[Cl] _P (mEq/l Plasma)	[Cl] _C (mEq/l Red cell)
1	44.2	1.84	103	54.2
2	49.2	1.74	107	54.9
3	47.8	1.88	105	50.4
4	48.5	1.65	109	53.0
5	45.0	1.70	108	51.4
6	47.0	1.90	106	52.2
Mean	46.9	1.79	106	52.7
±S. D.	1.8	0.09	2	1.7

Table 2. Cl Concentration of plasma and red cells in normal and acidotic rats.

Normal					Acidotic				
Rat No	Hct+TP (%)	C/P- ³⁶ Cl Ratio	[Cl] _P (mEq/l Plasma)	[Cl] _C (mEq/l Red cell)	Rat No	Hct+TP (%)	C/P- ³⁶ Cl Ratio	[Cl] _P (mEq/l Plasma)	[Cl] _C (mEq/l Red cell)
1	47.7	.520	106	50.6	1	53.0	.489	109	53.3
2	45.2	.494	103	50.9	2	45.0	.495	109	54.0
3	47.5	.493	107	52.8	3	43.5	.475	114	54.2
4	43.4	.472	105	49.6	4	39.0	.523	115	60.1
5	44.6	.503	108	54.3	5	42.6	.506	111	56.2
Mean	45.7	.496	106	51.6	Mean	44.6	.498	112	55.5
±S. D.	1.7	.016	2	1.7	±S. D.	4.6	.016	3	2.5

by dye dilution method¹⁴⁾ and other isotope technique⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾. The above data were derived from the centrifugation at 1,500 g that is used most commonly in practice. Jackson and Nutt¹⁴⁾ pointed out that the trapped plasma volume becomes negligible by increasing the centrifugal force up to 4,000 g. This was also observed in our experiment in which a high speed centrifuge with 9,000~11,000 g was used.

Effect of metabolic acidosis induced by HCl infusion on the exchangeable Cl concentration in red cells are shown in Table 2. The mean [Cl]_C is 51.6±1.7 mEq/l and 55.5±2.5 mEq/l for normal rats and rats with hyperchloremic acidosis, respectively. The data indicate that [Cl]_C is increased by hyperchloremic acidosis to approximately the same extent as extracellular Cl concentration. Cotlove and Hogben¹⁵⁾ described 55~64 mEq/kg red cell mass for the total Cl concentration in circulating red cells of mammals (rat and dog), but these are less

reliable since they calculated from the other data which had been initially obtained to estimate whole body Cl content. The error correctable for the trapped plasma lies in the range of 1~3 mEq/l less in the final concentration of intracellular Cl ion. Thus, the realization of test condition with respect to the acid-base balance and of the exact procedure for space technique are essential for the validity in the determination of intracellular components.

References

- Higaki, K. & Fujimoto, M. (1969) *J. Physiol. Soc. Jap.* **31**, 164-172
- Yoshimura, H. (1965) *Proc. 23rd Int. Congr. Physiol. Sci. Ser. No. 87* 189-206
- Otsuki, Y. (1963) *J. Physiol. Soc. Jap.* **25**, 176-184
- Schwartz, W. B. (1966) *Proc. 3rd Int. Congr. Nephrol. Vol. 1*, 148-157
- Jacobs, M. H. (1962) *Circulation* **26**, 1013-1021
- Fujimoto, M. (1970) *J. Physiol. Soc. Jap.* **32**, 247-248
- Armstrong, W. D., Singer, L. & Dunshee, B. R. (1952) *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **80**, 630-642
- Vasquez, O. N., Newerly, K., Yalow, R. S. & Berenson, S. A. (1952) *J. Lab. Clin. Med.* **39**, 595-604
- Ebaugh, F. G. Jr., Levine, P. and Emerson, C. P. (1955) *J. Lab. Clin. Med.* **46**, 409-415
- Gamble, J. L. Jr., Klement, A. W. Jr. & Rogers, E. B. (1954) *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **85**, 172-174
- Klement, A. W. Jr., Ayer, D. E. & McIntyre, D. R. (1954) *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **87**, 81-85
- Huang, K. C. & Bondurant, J. H. (1956) *Am. J. Physiol.* **185**, 411-445
- Cotlove, E., Trantham, H. V. & Bowman, P. L. (1958) *J. Lab. and Clin. Med.* **51**, 461-468
- Jakson, D. M. & Nutt, M. E. (1951) *J. Physiol.* **115**, 196-205
- Cotlove, E. & Hogben, C. A. M. (1962) *In: Mineral Metabolism by Comar and Bronner*, **2 B** 109-173

A possible role of olfactory lobe of goldfish in visual discrimination performance

Eiichi IWAI, Susumu SAITO and Torao HASHIMOTO *

Department of Physiology Fukushima Medical College, Fukushima

Many studies¹⁾²⁾ have indicated that removal of the olfactory lobe in fish does not produce impairment of visual discrimination learning. In fact, it has been assumed that the olfactory lobe of fish involves a purely olfactory function. Recently, a small number of investigators³⁾⁴⁾, however, have reported that olfactory lesion results in visual disturbance, although the nature of underlying visual disorder still remains unclear. In view of possible characteristics involved in the testing procedures employed in the previous experiments, including both the studies with the positive and with the negative result, we have assumed that the olfactory lobe in fish might be involved in much of an inhibitory mechanism rather than in visual learning mechanism, *per se*. The present study attempts to identify the above possibility. For this purpose, goldfish with olfactory lesions were studied for retention of a simple color discrimination in two different kinds of testing situations; one group being performed by "go-left, go-right" testing procedure, and the other in "go, no-go" testing. Because, apart from "discrimination, in itself," implied in either testing, it may be interpreted or proposed that a well-established performance in "go, no-go" testing situation is implicated in a stronger inhibitory processes further than that in "go-left, go-right" testing does, so far as one and the same discriminanda are employed for each testing.

The testing was performed in an individual light-blue plastic tank, 29.0×24.5×11.5 cm. In either testing, discrimination was between a yellow and a red rectangle, 1.5×12.5 cm. The yellow rectangle was the positive cue and response to it by tapping with the mouth was rewarded with one or two pieces of small

worms. While, the red rectangle of the same size was the negative cue, and selection of it was neither rewarded nor punished. A given goldfish (about 10 to 15 cm in length) was tested by one of two different types of testing procedures mentioned above. In "go-left, go-right" testing, these two discriminanda were presented simultaneously 8.5 cm apart, and response to the yellow was scored correct. In "go, no-go" testing, on the other hand, the discriminanda were presented successively, one or the other in accordance with a pseudo-random sequence, and response to the yellow rectangle (rewarded) and no response to the red rectangle (unrewarded) were scored correct. In either testing, discrimination was performed for 10 trials a day until the fish attained the criterion of 45 or more correct responses in 50 trials. Soon after establishing the criterion, the fish were operated under urethane anesthesia. Following a recovery period of about 5 to 10 days, the subjects were retested until the same criterion was reestablished.

In "go-left, go-right" testing situation, none of fish with lesions of the olfactory lobe did show a significant impairment relative to the unoperated control fish. In "go, no-go" testing, on the other hand, the results obtained were inconsistent, with some operated fish exhibiting almost no impairment relative to the unoperated controls, and the others showing a marked visual deficit. This difference appeared to be quite distinguishable. In fact, the examination of the extent and locus of the olfactory lobe lesions revealed that only the fish which had bilateral damage extending into the posterior portion of the olfactory lobe had a significant impairment, while the fish in which even the unilateral posterior portion remained intact were not significantly affected (Fig. 1). Furthermore, it was found that, although the fish with the lesions of the posterior olfactory lobe could not relearn the visual task in "go, no-go"

* 岩井栄一, 齋藤 進, 橋本虎男: 福島医科大学第二生理学教室

[Received for publication March 5, 1970]

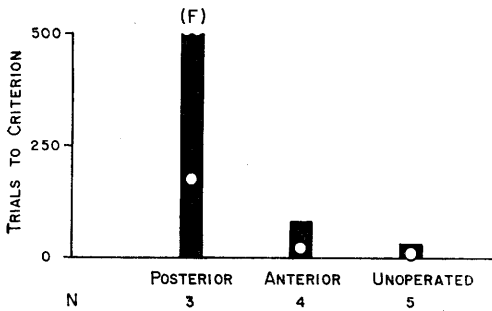


Fig. 1. Group mean scores of visual discrimination relearning, as studied in "go, no-go" testing situation. Groups were divided on the basis of extent and locus of olfactory lobe lesions: Posterior group had bilateral damage extending into posterior portion of olfactory lobe, while anterior group remained the posterior area intact. Black bars and open circles indicate group mean trials and errors, respectively. (F) denotes failure to relearn after 500 retraining trials. N; number of subjects in each group.

testing, while one and the same fish could easily relearn that task in "go-left, go-right" testing situation.

From these results, it may be concluded that

the posterior portion of the olfactory lobe, not the entire lobe, serves an inhibitory function for visual performance, but that it is not involved in visual discrimination learning, *per se*. Damage to this area might conceivably result in disinhibition, and thus the fish with damage to this area responded to both the positive and the negative cue. Our recent electrophysiological finding seems to support this conclusion inferred from the above behavioral study; an electrical conditioning stimulus of the posteroventral portion within the olfactory lobe significantly suppressed visual evoked responses recorded in the tectum which were induced by a test stimulus of the contralateral optic disk. Whereas, conditioning stimulations of any parts within the olfactory lobe other than the posteroventral portion were ineffective at all.

References

- 1) Nolte, W. (1933) *Z. Vergleich. Physiol.*, **18**, 255
- 2) Bernstein, J. J. (1961) *Exp. Neurol.*, **3**, 297
- 3) Hainsworth, F. R. et al. (1967) *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **63**, 111
- 4) Savage, G. E. (1969) *Nature*, **221**, 878

Gas-blow and medium-flow method for stable recording of electrical activities in the sliced mammalian cerebral tissue *in vitro*

Takanori FUJII, Satoshi KUBO and Yoshihiko IWASE *

Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto

Sliced mammalian brain tissues have been widely used in studies on the cerebral metabolism *in vitro*¹⁾²⁾. Electrical activities in isolated brain tissue were first recorded in the slice of prepiriform cortex by using the incubation method in which the brain slice was laid on a nylon mesh immersed in the medium (Krebs-Ringer solution) saturated with 95% O₂ and 5% CO₂ gas mixture³⁾. This method, however, was not appropriate for stable recording of electrical response for a long period. This resulted from the inconstancy of the short-circuiting effect of the medium, and also from the change in the rate of oxygen supply to the slice as the amount of medium covering the brain slice was not stationary throughout the experimental course.

The present report deals with a device which was improved in order to eliminate the troubles mentioned above, tentatively named gas-blow and medium-flow method. Brain slices from prepiriform cortex of guinea pigs, about 600 μ in thickness, including lateral olfactory tract and olfactory tubercle were prepared by the technique of Yamamoto and McIlwain³⁾. Immediately after isolation, the brain slice was placed on the nylon mesh spread in the middle of a glass funnel, where the nylon mesh was soaked just previously with the medium. The medium immersing the slice was drained away through the stem of the glass funnel (Fig. 1 A). Then the slice was covered with a thin film of the medium flowing continuously from one side through a thin polyethylene tube at the rate of 0.5 ml/min. The medium given to the slice flowed along cotton filaments placed on the slice very sparsely and sucked out from the other side through a pipette connected to

the filter pump. This procedure kept constant the flow rate of the medium surrounding the slice, while 95% O₂ and 5% CO₂ gas mixture was blown up gently from the funnel stem towards the slice. The glass funnel was warmed in the water bath kept at 37°C. Gas-blowing and medium-flowing was continued for 45 minutes without any other treatment to obtain the recovery of the slice from the damage due to incision or metabolic disturbance.

Bipolar stimulating electrode was placed on a frontal part of the lateral olfactory tract (LOT), while the recording electrode was placed on the olfactory tubercle of the sliced prepiriform cortex (Fig. 1 B). A typical response induced by a single stimulus is composed of three components: initial spike (IS), negative potential (N), and positive potential (P) as shown in Fig. 1 C. IS is a negative potential of short duration (about 1 msec), N is the most prominent negative potential of long duration (about 20 msec), and P is a positive potential of low amplitude and longer duration (150~300 msec) directly continuing from negative potential. The relationship between the gas flow rate and the amplitude of the negative potential is presented in Fig. 1 D. The negative potential held a constant and maximum amplitude, even when the rate of oxygen supply was decreased down to 100 ml/min from the initial 150 ml/min. However, at less than 100 ml/min, the potential gradually reduced in amplitude corresponding to the decreasing rate. Flowing of the gas mixture, therefore, was fixed at the rate of 150 ml/min in the following experiment. Next it was studied how long the brain slice responded to a long period of repetitive stimuli of 0.5 Hz. For the first 45 minutes after setting the slice on the device, the negative potential of each response was low and increased gradually in amplitude, probably suggesting recovery from damages due to the incision.

* 藤井崇知, 久保 哲, 岩瀬善彦: 京都府立医科大学第二生理学教室

[Received for Publication March 19, 1970]

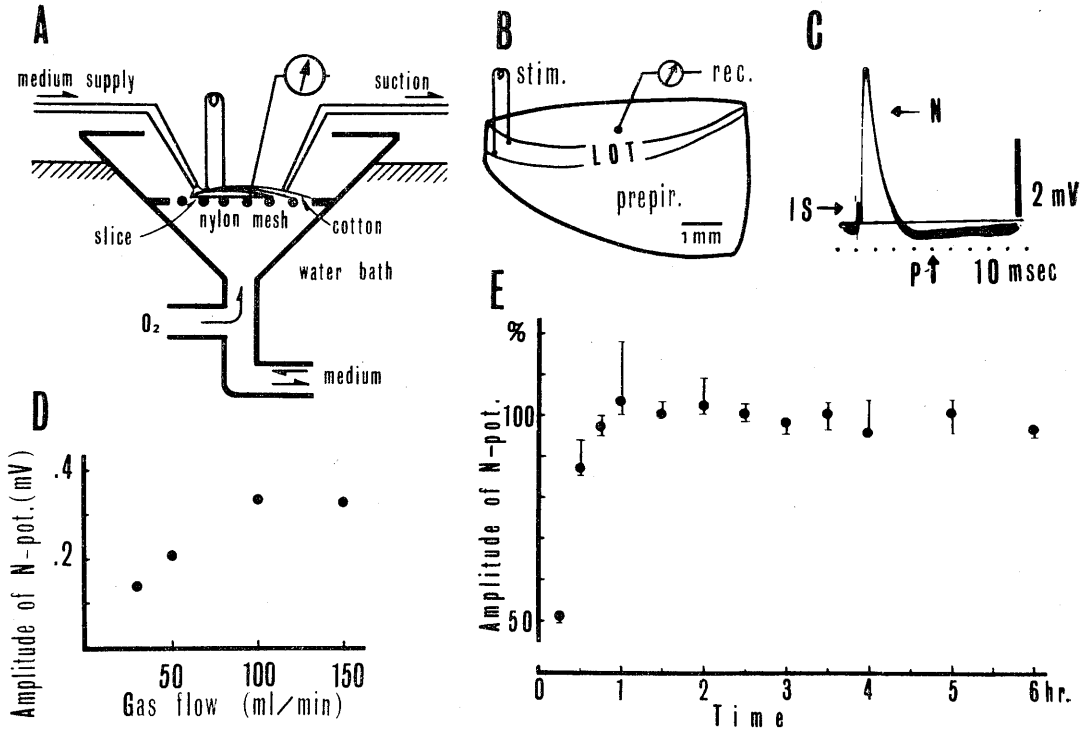


Fig. 1. A: Principal part of the revised equipment to record electrical responses from sliced brain tissue. The medium and oxygen gas were continuously supplied to the slice. B and C: Electrode assembly on the slice from the right prepiriform cortex and an example of the evoked response, respectively. Abbreviations are in the text. D: Relation between the amplitude of the negative potential and the flowing rate of 95% O₂ and 5% CO₂ gas mixture. E: A graph showing stability in the negative potential. 0.5 Hz repetitive stimuli were given for six hours. Amplitudes are expressed as a percentage of the average of ten responses at 90 minutes after setting the slice. Vertical bars represent ranges of amplitude in ten responses at each time, while black circles are averages in the ten responses.

Then the negative potential reached a maximum and stable amplitude after about 45 minutes and maintained its value for six hours or more (Fig. 1 E). The range of variation of amplitude was within $\pm 4\%$ after reaching the maximum value. These results suggest that oxygen gas might dissolve physically into the medium flowing along the brain slice and then the gas flowing around the tissue plays an important role in keeping the slice alive. Besides, it was possible to record the evoked response from thick brain slice over 600μ in this gas-blow and medium-flow method, although the res-

ponse was barely recorded in the preparation over 400μ in thickness by the incubation method⁴.

References

- 1) McIlwain, H. (1951) *Biochem. J.* **49**, 382-393
- 2) Yamamoto, C. & Kurokawa, M. (1970) *Kagaku* **40**, 157-166
- 3) Yamamoto, C. & McIlwain, H. (1966) *J. Neurochem.* **13**, 1333-1343
- 4) Richards, C. D. & Sercombe, R. (1968) *J. Physiol.* **197**, 667-683

第9回生理学若手グループ・シンポジウム

日時：昭和45年3月31日 午後 1:30-5:30

場所：昭和大会上条講堂

幹事：斎藤 望

テーマ 能動輸送の細胞機序

1. 膜 ATP-ase と能動輸送

東京医科歯科大学医学部生化学教室 長 野 敬

1. 問題の整理

輸送現象の研究で、能動・受動という区別は初期から重要視されていた。Ussing (1952) の古典的な式にもとづく定義等では、初輸送物質自体の動きの結果に注目してこの区別がなされる。しかし膜そのものについて知見が深まった現在では、膜でどのような機構が輸送にたずさわっているかを規準として、整理しなおしてみることも可能であろう (表 1)。Brown (1966) による能動輸送の再定義でも、膜における機構の存在ということが強調されている。

能動輸送の機構の円滑な運転のためには、いくつか異なった機能の側面が要請される。Pardee (1969) にしたがってそれらを列記すれば (a) 被輸送物質 (基質) の特異的認知ないし結合, (b) 膜内外間での基質の転移, (c) 結合した基質の解離, (d) a の状態への機構の復元, (e) エネルギー供給との共役などである。高等動物細胞膜での Na^+ と K^+ の能動輸送では、 Na^+ , K^+ -ATPase が、以上の全機能をカバーする 1 個の複合的実体であるように思われる。このことはこの酵素の研究に種々の複雑さ、困難さをもたらしているが、反面それを魅力ある研究対象にもしている。この酵素の研究の経過、現況の概略、また他の ATPase が能動輸送に関与する可能性などについて論じたい。

2. Na^+ , K^+ -ATPase の発見と定義づけ

Na^+ , K^+ の能動輸送機構としては '50年代後半に Hokin の phosphatidic acid cycle 説が一時おおいに注目されたが、やがてこの説の難点が指摘され、それと並行して Na^+ , K^+ -ATPase が発見され (Skou, 1957)、クローズアップされてきた。

Skou は最初の研究材料として海産のカニ *Maia* の神経節を選んだが、これは、生理学で Na^+ ポ

表 1.

- 1) 電顕的な膜の変形
 - a. 食細胞作用 (phagocytosis. 固形物とりこみ)
 - b. 飲細胞作用 (pynocytosis. 溶液のとりこみ)
- 2) 輸送 (やや広い意味の “transmembranosis”)
 - i. 担体 (carrier) と結合しての輸送
 - a. 高分子の担体 (酵素, 結合タンパク binding protein)
 - b. 低分子の担体 (輸送の kinetics から論ぜられていて, 実証例はないと思われる)
 - ii. 膜透過 (transmembranosis)
 - a. 低分子のイオン (膜面の “小孔” を通して?)
 - b. 親脂質物質 (lipophile) (膜の脂質層を通して?)

ンプ説がたてられたさいの有力な一材料が同じく海産のイカの巨大神経であったことと関係がある。彼は、 Mg^{++} 以外に Na^+ と K^+ を同時にしかも一定比率で要求する ATPase 活性を認め、これが、 Na^+ と K^+ の両イオンの交換的能動輸送を行なうのではないかと示唆した。この考えによれば Na^+ と K^+ は ATP 水解のための活性化イオンであると同時に、その水解エネルギーにより、化学変化のかわりに位置の移動という変化をうける特殊な基質でもあるという二重の性格をもつことになる。

しかし Skou の用いたのはマイクロゾーム画分なので、酵素が形質膜に局在することの証明は欠けていた。また intact の閉じた膜構造は破壊されているので、イオン輸送は実証しえない。ただ Na^+ と K^+ の synergeticity のほか、ウワバインが酵

素活性を低濃度でも阻害することが、輸送との関連をつよく示唆していた。

Post (1960) は赤血球膜での Na^+ , K^+ -ATPase 活性を研究して、両者の関連性の証明を補強した。すなわちウワバインの半阻害濃度 (Ki), K^+ や Na^+ の半促進濃度 (Km), K^+ を NH_4^+ で代替しうること等が、輸送と酵素反応との両者で共通していることを、数カ条に整理して提示した。

続いて多くの他の動物組織でも Na^+ K^+ -ATPase 活性と Na^+ 排出速度の比例関係が知られた。ことに赤血球ではヒト, ウサギ等細胞内外の Na^+ , K^+ イオン勾配の高いものからイヌ, ネコ等のように勾配のないものまで勾配の大きさと膜での酵素活性がほぼ比例している。

可逆溶血の手法で赤血球内部のイオン条件を変えることにより、膜面での *in situ* の酵素のイオン結合基にベクトル的な方向性のあることも認められた。

3. Na^+ , K^+ -ATPase の精製

酵素標品には一般に、 Mg^{++} のみによるATPase 活性が共存し (Mg^{++} -ATPase, “残存 ATPase”), Na^+ と K^+ は単にこれを一層活性化するの、または別個の Na^+ , K^+ -ATPase という実体があ

るのかにつき議論があった。特定因子ことにリン脂質により両者が相互に転換するとの主張もなされた。中尾等は赤血球膜につき NaI 処理法を創案し (1963), 他の材料にも適用して (1965, 表 2), 後者が別個に存在する実体であることを示した。活性ある Na^+ , K^+ -ATPase には脂質が必須成分として含まれてはいるが、特定リン脂質の除去、付加による Mg^{++} -ATPase との定量的また再現的相互転換は、 NaI 処理標品では認めがたい。

酵素標品は膜的性状をもっていて、これはこの酵素の本質であるのか、または精製の技術的困難によるのかにつき追求が続いている。現在、温和な活性剤処理と超遠心分画により $1000 \mu \text{ moles Pi/mg protein/hr}$ 程度までの高い比活性の報告がある (Skou, 1969)。中尾等もカラム処理で、予備的成績として同程度以上の比活性をえている。精製が進むにつれて、1の a~e の各個に相当するような部分系がえられる可能性は、一般論としては存在しうる。しかしこの酵素ではそのような確実な報告はないようであり、 Na^+ , K^+ -ATPaseはもし複合的なものであるとしても、一応緊密に結びついた1個の実体として扱うべきもののように思う。

表 2. Purification data of the ATPase from several tissues of the rabbit

Tissue		Specific activity in the presence of		Recovery of	
		Mg	Mg+Na+K	Activity	Protein
		($\mu \text{ mole Pi/mg protein/hr}$)		(per cent)	
Brain	Microsome *	15.0	48.5	(100)	(100)
	Enzyme	0.0	168	60	16
	Microsome *	18.0	63.5	(100)	(100)
	Enzyme	7.4	208	69	21
Kidney	Microsome *	20.0	53.0	(100)	(100)
	Enzyme	11.0	178	60	16
Intestine	Homogenate	2.9	2.9	(100)	(100)
	Enzyme	7.1	31	12	1.1
Stomach	Homogenate	1.0	1.0	(100)	(100)
	Enzyme	3.7	14.0	18	1.3
Heart **	Homogenate	—	—	—	—
	Enzyme	11.4	59.7	—	—

* Washed microsome ** Rat heart

Each tissue was homogenized in 10 volumes of cold 0.32 M sucrose solution containing 5 mM EDTA at pH 7.4. Microsomes were prepared from the tissue homogenates as described by Schwartz et al. (1962).

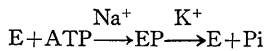
4. Na⁺ と K⁺ の作用部位

この酵素での Na⁺ と K⁺ の特殊な役割りからみて、その作用部位の確定は重要なことである。しかし多数の非特異的結合部位があるので、活性および輸送に直接関係する Na⁺ と K⁺ との結合のみを検知するのはむずかしい。藤田等 (1968) は pH を変えて活性を測定する実験から、Na⁺ 結合基と K⁺ 結合基は pK を異にする可能性を示唆した。たとえば pH 6 以下では K⁺ のみにより、軽度ではあるが確実な活性化がみられ、これはこの pH では Na⁺ 結合基は未解離でありその状態では K⁺ のみで弱く活性化される (“H⁺, K⁺-ATPase”) という解釈が可能である。

Na⁺ と K⁺ についての Hill-plot は n>1 であり、イオンは allosteric effector 的性格をもちまたこの n 値やイオンに対する pK 値は温度によって変化するなど (原等, 図 1, 1969), 複雑な機構であることを示唆している。

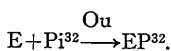
5. リン酸化中間体

酵素は ATP の末端高エネルギーリン酸を受取って、Na⁺ 依存性にリン酸化され、K⁺ によってこれが脱リン酸化される。リン酸の結合はアシルリン酸の性格をもつことが示された (長野等1965, Hokin 1965, Post et al. 1966)。そこで一応の反応模式は次のように提案された。



上式で EP がリン酸化された酵素を示す。酵素を ATP³² でラベル後 SDS で可溶化、ゲル濾過により EP³² に相当する単一のピークをうる事ができる。このピークは分子量約30万に相当し、左右対称で、再クロマトにより同一位置に再溶出するから、単一の分子の実体である (長野等, 1968, 図 2)。しかし最近の速度論的解析から少なくとも EP₁, EP₂ の 2 種類が区別され、これはタンパクの conformation の変化に対応するものと解釈される。

また最近、特異的阻害剤であるウワバインの存在下に無機リン酸によるリン酸化のおこることが観察されている (Albers 1968, Post 1969, 松井 1969)。



この EP も ATP から生成するものとまったく

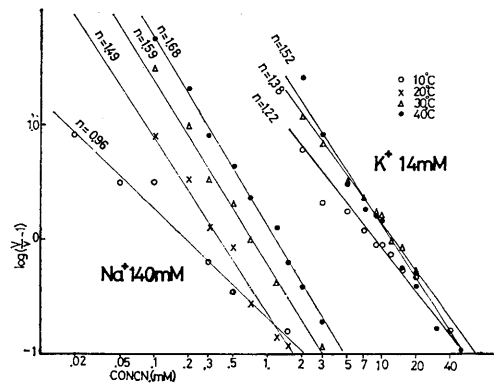


図 1. Na⁺, K⁺ 濃度についての Hill-plot. 右の直線群は K⁺=14 mM (一定) で Na⁺ を変化. 左方の 4 本は Na⁺=140 mM (一定) で K⁺ を変化. 横軸は変化させたイオンの濃度.

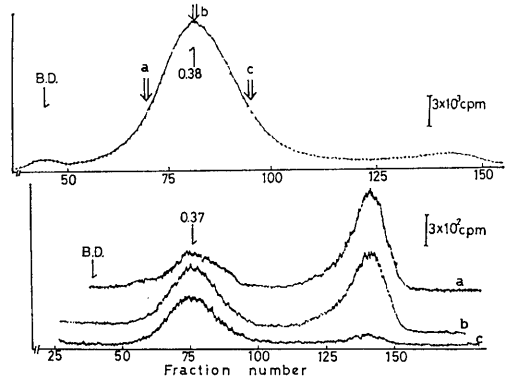


図 2. リン酸化中間体 (EP³²) のゲル濾過. Sepharose 4B 使用. 上方は原クロマト. 下方は. 原ピーク a, b, c の各部分の再クロマト. B, D, は void volume の位置. ピークの数字は Kav. 再クロマト図右方のピークは、自然分解で生じた Pi³² によるもの。

同一なので、エネルギー的、タンパクの conformation にかんして興味ふかい問題であり、注目を集めている。

6. 膜輸送と ATPase

i. Na⁺, K⁺-ATPase は動物細胞では一般的だが、植物と微生物からは確実な報告はないと思う。この酵素は動物進化の古い時期に起源をもつものなのかもしれない。

ii. 似た性格のものとして胃粘膜の陰イオン (HCO₃⁻ 等) 活性化 ATPase, 植物, 微生物では一

種類のみのカチオンで促進される ATPase が報告されている。

iii. Na^+ , K^+ -ATPase の“逆回し”の試みが報告されている (Glynn). 可逆溶血の手法で K^+ in を過度に高濃度にし, Na^+ out も高濃度にすると $\text{ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{ATP}$ が生ずるといふ。ただし結果は P^{32} のとりこみで観察されていて, 完全に説得的ではない。

iv. 細胞レベルでは Na^+ , K^+ -ATPase は, 糖等との co-transport で流入する Na^+ の汲みだし機構としての役割を担うものと思われる。 Na^+ , K^+ -ATPase の一方のイオンそのものが他物質におきかわって (たとえばアミノ酸) Na^+ , x-ATPase として作用する可能性は, 少なくとも一般的には認められないようである。

2. 微生物における物質の膜透過

— トランスポートキャリアーを中心として —

東京大学薬学部 安 楽 泰 宏

生細胞によって営まれる特異的な物質のとりこみと排出の反応は, 生体膜に固有な機能として, 古くから生物科学の重要な一分野をなしてきた。生体膜素材として研究に用いられているものには, 赤血球や培養細胞があり, また, イーストや大腸菌などが繁用されている。各個の詳細な反応分析とその成果は, たとえば carrier model, permease model, transporteur model などに総括されており, そのいずれにおいても, 立体構造特異的な, かつ, turnover capability を有する触媒蛋白の存在を指摘している¹⁾²⁾。

これらのモデルにおいて, 共通に認識されている, “物質の認知能をもった蛋白-carrier” の生化学的実体を究めめることは, 透過機構研究の一つの側面を荷うことになろう。本稿は, 微生物細胞における, そのような特殊機能をもつ蛋白の発見

の過程と研究方法のあらましについて述べられている。

膜透過の反応は, 方向性をもった物質の移動と蓄積の過程をあらわしている (図 1)。図 1 に示されている三つの透過形式は, いずれも, 透過物質の立体構造に依存した反応であり, 前二者は, 反応の前後にわたって, いかなる化学反応をも含まない。これに対し, group translocation の例では, 透過溶質 S が, 膜を通過 (ある場合は通過後の蓄積過程を含めて) する際に, 特定の化学反応とカップルしていることが示されており, たとえば, ホスホエノールピルビン酸依存の糖のリン酸化³⁾, ATP 依存のサイアミンのピロリン酸化反応⁴⁾ が知られている。

Group translocation の過程を触媒する膜の system は, 単一, 単純なものではなく, 多くの活性蛋白, リピドを含有する複合系であり, その系の少なくとも一つの因子として, 物質の認知能を有する蛋白の存在が想定されている。

大腸菌におけるガラクトースや, 多くのアミノ酸の透過系に対しては, 従来より, active transport の system が働いていることが知られていた。Group translocation の系とくらべても, 化学反応を含まないこの種の系は, かならずしも単純なものではなく, 数種の活性因子よりなる複合系であることが示されている。どのような透過系であれ, 物質透過の全反応の初発反応は生体膜近傍での透過溶質の構造認知であろうと思われる。多くの酵素反応と同じく, これは特異的な蛋白による, 可逆的な結合を介することが想像される。

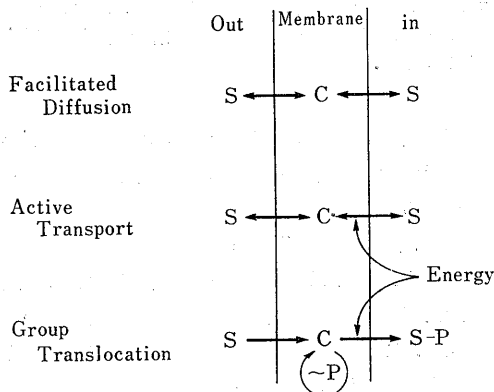


図 1. Transport system.

S: Solute, C: Carrier, ~P: P-donor.

Heppel による Osmotic Shock 法⁵⁾と、これらの考えの総合により、膜透過系の一因子と思われ種々の結合蛋白が発見された。大腸菌、サルモネラ菌の菌膜表面より遊離、精製された結合蛋白には、ガラクトース、グルコース、アラビノース、メチル-β-ガラクトシド、グルコース-1-P、UDPG、ロイシン、プロリン、アルギニン、硫酸などと、その構造に依存した可逆結合をする蛋白が報告された。

演者によって単離、結晶化されたガラクトース、およびロイシン結合蛋白は、分子量 3 万 5 ~ 6 千程度の単純蛋白であり、溶質と 1:1 の結合体を形成する。結合はエネルギーに依存せず、2 価イオンを要求しない点が特長的である⁶⁾。

この系のさらに細かい分析から、結合蛋白は、細胞膜近傍に存在する他の 2 種以上の因子およびエネルギーと機能的にカップルすることにより、turnover capability と高濃度蓄積能を付与される

ことが示された⁶⁾。これらの実験成績は、反応論の解析よりえられた概念的 carrier 機能が実体の上では、結合蛋白を含めた数種の因子複合体の総合的機能を反映したものであることを示すものである。演者らの成績にもとづく結合蛋白モデルは、物質の透過系、特に、リン酸化反応を含めない物質移動に対する一つの仮説を提出したものである²⁾。

文 献

- 1) 安楽泰宏 (1969) 医学のあゆみ **69**, 1
- 2) 安楽泰宏 (1969) 蛋白質, 核酸, 酵素 **14**, 627
- 3) Roseman, S. (1969) J. Gen. Physiol. **53**, 138
- 4) Kawasaki, T., Miyata, I., Esaki, K. & Nose, Y. (1969) Arch. Biochem. Biophys. **131**, 223-231
- 5) Heppel, L. A. (1967) Science, **156**, 1451
- 6) Anraku, Y. (1968) J. Biol. Chem., **243**, 3116, 3123, 3128

3. 非電解質、有機酸の Na⁺ 依存性能動輸送 (Cotransport) といわゆる輸送電位について

東北大学医学部第一生理学教室 星 猛

小腸や腎尿細管での特定の糖、アミノ酸の吸収や再吸収は、甚だしい濃度勾配に逆って行なわれており、かつその輸送は、正常な細胞内代謝に強く依存しているので、従来典型的な能動輸送の例として扱われてきている。しかしその輸送の細胞機序は、今日 Na⁺, K⁺ の能動輸送について知られている機序とはかなり様相を異にする事が近年次第に明らかになってきている。これら組織での糖、アミノ酸の能動輸送の大きな特徴は、外液、特に管腔側の液中に Na⁺ が存在しないと全く起らぬ事、これら有機物質の輸送と同時に Na⁺ も膜透過または輸送が促進され、両者の間に著明な相互作用が見られる事である。今日糖またはアミノ酸と Na⁺ は、恐らく管腔に面した細胞膜を通過する際に、共通の担体と結合し、一種の複合体を形成して通過するとの考えが有力である。細胞内にこのような機構で入った Na⁺ は、Na⁺ ポンプの活動によって細胞外に汲み出され、細胞内 Na⁺ 濃度は常に低く保たれる結果、細胞内外の Na⁺ 濃度差が複合体(糖-Na⁺-担体複合体)の正味の膜

内拡散を維持して、ある程度までの糖、アミノ酸の上り坂輸送を可能にしていると考えられている。近年このような輸送の形式に対して cotransport (Stein²²⁾) という名称が与えられているが、cotransport 機構による糖、アミノ酸の上り坂輸送は細胞内代謝によって利用しうる形となった自由エネルギーが直接糖やアミノ酸の上り坂輸送に供給されるのではないために、それらの上り坂輸送自体は Brown⁴⁾ が提唱しているような厳密なまたは狭義の能動輸送の範疇からははずれるものとなる。しかし単なる促進拡散とも異なり能動輸送の新しい形式と見做さなければならない。Cotransport は一種の連結輸送で、このような形の輸送がおこりうる事はかなり以前から熱力学的考察から指摘されていたが、その具体的事例として明らかになってきたものである。近年糖、アミノ酸のみならず、小腸では胆汁酸の吸収²⁰⁾ 腎では p-アミノ馬尿酸の分泌²⁵⁾、Ehrlich 腹水癌細胞¹⁷⁾ やハト赤血球²⁴⁾ でのアミノ酸のとり込み、ラット横隔膜筋の糖のとり込み¹⁵⁾ にも同様の機序が想定

されてきており、多くの有機物質の上り坂輸送に共通した一つの生物学的原則の如きものであろうと考えられてきている。本講演では主として小腸における糖輸送を中心に cotransport の概要、およびその重要な属性と考えられる電気現象（いわゆる輸送電位）について解説し、さらに腎尿細管の有機酸色素の分泌について同様の形式が考えうる可能性のあることを紹介したいと思う。

小腸での糖輸送の Na^+ 依存性: 小腸では天然の糖では D-glucose, D-galactose, D-xylose 等の限られた糖が甚だしい濃度勾配に逆って急速に吸収される(綜説¹²⁾参照)。これらの糖あるいは類同の構造をもった合成糖の能動輸送が行なわれている時の小腸組織内各部の糖の濃度を、上皮細胞剥離法¹⁹⁾やオートラジオグラフィ²³⁾によって検べると、上皮細胞内の濃度が最も高く、粘膜側液よりはかなり高濃度に蓄積され、漿膜側へは逐次下降する濃度勾配が形成されている。したがって組織を通しての全体的な上り坂輸送の中でも、最も重要な過程は上皮細胞の刷子縁膜での上り坂輸送であるといえる。外液に Na^+ が欠除すると、この部の上り坂輸送は起こらず、したがって細胞内の高濃度蓄積や、transepithelial の上り坂輸送はおこななくなる。すなわち刷子縁膜における糖輸送

に Na^+ が必須であることがわかる。これには他の1価、2価陽イオンで Na^+ の代用となりうるものはない。陰イオンについては必須なものはない²⁷⁾。

細胞の代謝を無酸素、4,6-dinitro-0-cresol 等で抑制すると、この上り坂輸送は著しく抑制される。しかし、代謝抑制時にも、 Na^+ を含む液と、無 Na^+ 液とで刷子膜を通しての細胞内への糖のとり込み量を比較すると、 Na^+ が存在する時の方が遙かに大である²⁾。小腸上皮細胞も水性細孔の半径は 4 \AA 程度と考えられるから¹⁸⁾、六炭糖の受動的拡散透過性は極めて低いが、 Na^+ が存在すると、代謝抑制時にもとり込みが増加するのは、代謝とは直接関係がなく、 Na^+ によって促進される膜透過機構がまず第一のステップとして存在することを示す。

能動的に輸送される糖の輸送速度とその糖の粘膜側液中の濃度との間には Michaelis-Menten kinetics 様の関係が見られ、その関係を Lineweaver Burk 方式にしたがってプロットすると、

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{1}{[S]} \cdot \frac{K_m}{V_{\max}}$$

の式で表現されるように $1/V$ 対 $1/[S]$ の関係は直線的となる。V は S の輸送速度、 V_{\max} は S の最大輸送速度、[S] は S の濃度、 K_m は見かけの Michaelis 定数。また競合現象についてもよく知られており、それらのことから従来上皮細胞の粘膜側の膜には、ある構造条件を満たした糖に対しては、それと結合する担体が存在すると考えられてきている。今外液の Na^+ 濃度を漸次低くしていくと、この直線の斜傾が漸次大となってくる⁶⁾。すなわち見かけの K_m が高い値をとるようになる。これに対し、直線の縦軸との交点、すなわち V_{\max} 値は変らぬ(図1)。このことから担体の糖に対する親和性は Na^+ 濃度が高い程大となるといえる。他方ウサギの回腸末端部では net の Na^+ 輸送(吸収)フラックスと短絡電流 (I_{sc}) より求めたフラックス値とが一致するが、能動的に輸送される糖を粘膜側に加えると、明らかに Na^+ 輸送量の増大がおこる²¹⁾。かつ Na^+ 吸収増加分については同じ組織で別の実験でえられた net の糖の吸収量とほぼ 1:1 に近い量的関係が見られる。これらの事実から、Crane 等⁵⁾⁶⁾は図2の如く、刷子縁

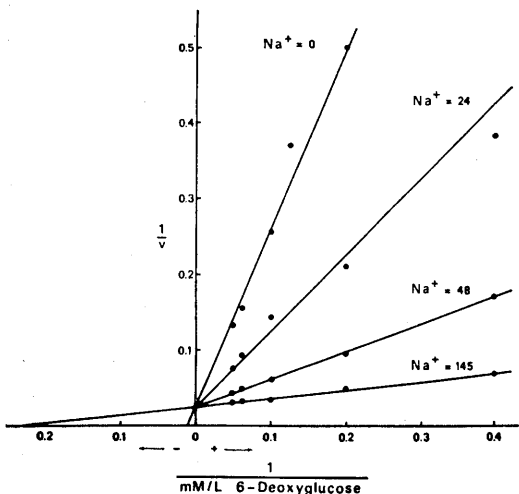


図1. 6-deoxyglucose (代謝され難く、能動輸送のみされる一種のモデル糖)の輸送速度と粘膜側液中の同糖濃度の関係(Lineweaver Burk型プロット)、およびその関係におよぼす medium- Na^+ 濃度の影響(Crane et al.⁶⁾)。

膜の糖担体には Na^+ と結合する site があり、糖、 Na^+ は互いに相互作用をおよぼして、その結合を促進し合い、糖- Na^+ -担体 (XSNa) の三重複合体を形成することにより膜を通過しようようになると考えた。細胞内 Na^+ 濃度は Na^+ ポンプによって低く保たれる結果、XSNa の膜内での平衡条件は $[\text{Na}^+]_{\text{外}}/[\text{Na}^+]_{\text{内}} = [\text{S}]_{\text{内}}/[\text{S}]_{\text{外}}$ に近い状態、すなわち $[\text{S}]_{\text{内}}$ は $[\text{S}]_{\text{外}}$ よりも高い状態で平衡する。すなわちこの系には直接外部からエネルギーが供給されなくとも、この輸送におけるエントロピー散逸関係 Φ が正である範囲内で $[\text{S}]$ の上り坂輸送が可能となる⁹⁾。

$$\Phi = \dot{J}_s \cdot \Delta\mu_s + \dot{J}_{\text{Na}} \cdot \Delta\mu_{\text{Na}} > 0$$

\dot{J}_s , \dot{J}_{Na} はそれぞれ糖、 Na^+ の net のフラックス、 $\Delta\mu_s$, $\Delta\mu_{\text{Na}}$ は S, Na^+ の化学ポテンシャル差 (荷電、ならびに膜電位の影響はこの際無視してある)。

糖担体の Na^+ site には K^+ が競合的に働き、 K^+ がその site を占有すると、S の解離を促進することを推定せしめる事実がある³⁾。したがって細胞内の高K濃度はさらに平衡時の $[\text{S}]_{\text{内}}/[\text{S}]_{\text{外}}$ の比を高めるように働く。かくて細胞内に高濃度に蓄積された S は細胞内では、能動輸送のみされる糖に関する限り、自由な溶質として浸透圧的にも活性の形で存在し⁸⁾、化学ポテンシャル勾配によって漿膜側に拡散していく。

糖の輸送電位: Na^+ 依存性の非電解質輸送の場合には基質 S の輸送と、同時に Na^+ の膜ならびに細胞を横ぎっての動きに変化が生じる結果、transepithelial または transmural に特有な電位差を生ぜしめる (綜説¹⁾ 参照)。この電位変化を S による誘発電位または S の輸送電位と呼んでいる。この電位は能動輸送される物質によってのみ誘起され、かつ Na^+ , S の濃度以外の条件を一定にすると、S の influx に比例した大きさを示す。糖の場合は能動的に輸送される D-glucose, D-galactose では著明におこるが、能動的に輸送されない D-mannose, fructose ではおこらぬ (図3)。また糖による電位とアミノ酸による電位は担体が異なるために相加的であるが、糖同志、中性アミノ酸同志では相加的ではない。S の濃度または Na^+ 濃度と電位の大きさの間には、Michaelis-Menten 様の関係が見られ、S に対する見かけの

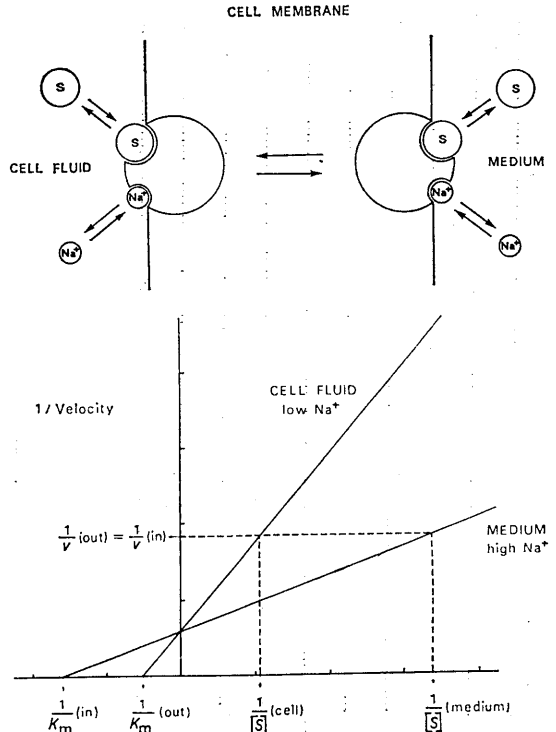


図2. 糖- Na^+ -担体の三重複合体 (ternary complex) 形成の模型図 (上), および担体系の平衡時における刷子縁膜内外の糖 (S) および Na^+ 濃度の関係 (Crane⁹⁾).

K_m は Na^+ 濃度を高めると減少し、図4に示す如く Na^+ に対する K_m は $[\text{S}]$ の上昇に伴って減少する¹¹⁾。すなわち ΔPD 発生機構も Na^+ , S とが相互作用をおよぼしながら結合する部位を有する事を示す。代謝抑制、無酸素下では一旦発生した電位は自然に減衰して、やがて消滅する。これは促進拡散系が時間と共に平衡に達することによるものと思われる。

代謝抑制時、一旦輸送電位を発生せしめてそれが消失した時点で、phlorizin を粘膜側に添加するかまたは粘膜側の糖濃度を急に下げると糖の efflux 上昇と共に Na^+ の efflux も同時に増加する。この時一過性に通常の糖誘発電位とは逆向きの電位変化の波が記録される¹³⁾。これを sugar-outflow potential と仮称しているが、代謝または Na ポンプ抑制時には糖輸送系は Na^+ と S の共通担体による単純な促進拡散系のみとなる事、平衡に達した促進拡散系が phlorizin によって対向輸

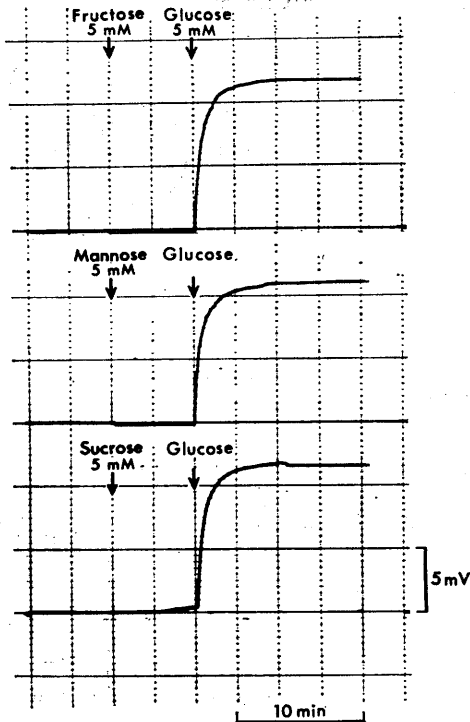


図3. 各種糖の小腸壁内外電位差におよぼす影響, ガマ小腸(十二指腸). Fructose, mannose の如き能動輸送されない糖は影響せぬが, 能動輸送される D-glucose では著明な粘膜側負電位の増加がおこる. Sucrose は時間経過の緩徐な小さな電位を発生せしめる (Hoshi and Komatsu¹¹⁾).

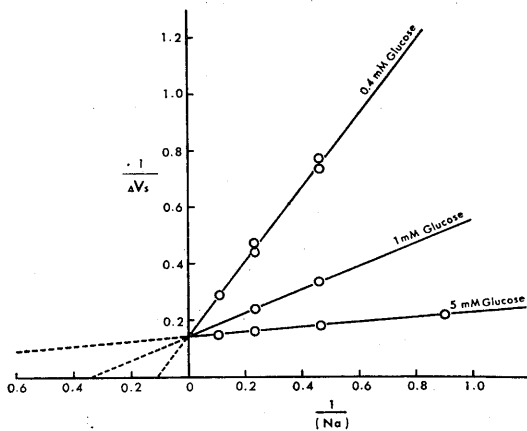


図4. 糖輸送電位の大きさ (ΔV_s , mV) と medium- Na^+ 濃度の関係, およびそれに対する粘膜側液中の糖濃度の影響. 輸送電位より見た糖- Na^+ 相互作用を示す (Hoshi and Komatsu¹¹⁾). 横軸は $\text{mEq}^{-1} \times 10$ の目盛.

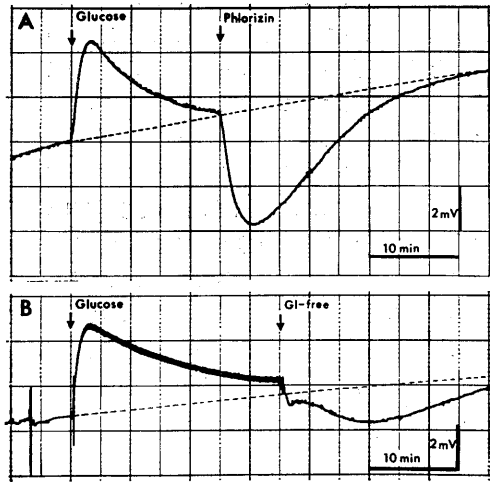


図5. 無酸素条件下の糖輸送電位とその減衰した時期における phlorizin 投与(粘膜側)ならびに粘膜側液糖濃度の急速低下により生ずる逆転電位. 逆転電位発生と同時に, ^{24}Na , ^{14}C -glucose effluxes の同時増加がおこる (Hoshi and Komatsu¹³⁾).

送 (countertransport) をおこし, 一過性に通常の輸送時とは逆向きに net の三重複合体の移動がおこる事によるものと説明される. 更にこの所見は三重複合体の膜内拡散に伴う荷電の分離が輸送電位の発生源であることを推定せしめる. 促進拡散の属性である交換拡散(または transconcentration effect) もこのような条件下では容易に示しうようになる. したがって輸送電位の諸性質の面からも三重複合体または cotransport の概念は支持されるように思われる.

尿細管における phenol red 輸送(分泌)の Na^+ 依存性: 腎における糖¹⁴⁾の再吸収または皮質 slice を用いたアミノ酸とり込み¹⁰⁾は何れも Na^+ 依存性であり, 本質的には小腸と同様の機序によっていると考えられる. 一方有機酸の尿細管分泌についての陽イオン依存性に関して異なった見解があり, また動物による分泌の様相も必ずしも一定せず, さらに詳細な陽イオンの役割については充分よく理解されていない. そこでわれわれは有機酸色素 (phenol red) の腎組織内とり込みに対する外液 Na^+ , K^+ 濃度の影響を淡水魚(金魚)で詳細に検べた結果, この分泌も直接的に依存しているのは Na^+ であり, 他の陽イオンは何れも間接的影響をおよぼしているとの所見をえた. また

外液 Na^+ 濃度を漸次低下せしめる実験から、あたかも小腸の糖輸送の場合の如く、輸送の最大速度 V_{\max} は不変で、輸送系の色素に対する K_m が漸次大となる事、 K_m は Na^+ 濃度の2乗に逆比例する関係を示すことが明らかとなった。また高 K^+ 濃度で Na^+ も同時に存在する場合の phenol red の輸送の様相は、正常 K^+ 濃度の場合（この場合は管腔内に外液の1000倍程度に濃縮、分泌されるが、細胞内には顕微鏡的には色素が見えない）と異なって、主に細胞質中に強く蓄積がおこる。この細胞内蓄積の場合も外液に Na^+ が存在しないとおこらず、かつ *P*-amino 馬尿酸の存在によってうける競合抑制の程度は、正常イオン組成の場合も高 K^+ - Na^+ 液中でも全く同じ程度であった。この事から考えると、 Na^+ 依存性の担体機構は細胞の基部側の膜 (peritubular membrane) に存在しているようにおもわれる。この部での輸送機構が Na^+ との cotransport であろうということは Na^+ 濃度の作用の様式から極めて可能性が強いように思われる。しかし cotransport 機序である事を明確にするためにはさらに、 Na^+ と phenol red の influx および efflux の連結性、輸送電位の証明などが必要であるが、それらは尚今後に残されている。

文 献

- 1) Barry, R. T. C. (1967) Brit. Med. Bull., **23**, 266
- 2) Bihler, I. & Crane, R. K. (1962) Biochim. Biophys. Acta, **59**, 78
- 3) Bosáckova, J. & Crane, R. K. (1965) Biochim. Biophys. Acta, **102**, 423, 436
- 4) Brown, A. C. (1965) Passive and active transport. In Physiology and Biophysics, edited by Ruch, T. C. & Patton, H. D., Saunders, Philadelphia, Chapt. **43**, p. 820
- 5) Crane, R. K. (1965) Fed. Proc., **24**, 1000,
- 6) Crane, R. K., Forstner, G. & Eichholz, A. (1965) Biochim. Biophys. Acta, **109**, 467
- 7) Csáky, T. Z. & Thale, M. (1960) J. Physiol., **151**, 59
- 8) Csáky, T. Z. & Esposito, G. (1969) Am. J. Physiol., **217**, 753
- 9) Curran, P. F., Schultz, S. G., Chez, R. A. & Fuisz, R. E. (1967) J. Gen. Physiol., **50**, 1261
- 10) Fox, M., Thier, S., Rosenberg, L. & Segal, S. (1964) Biochim. Biophys. Acta, **79**, 167

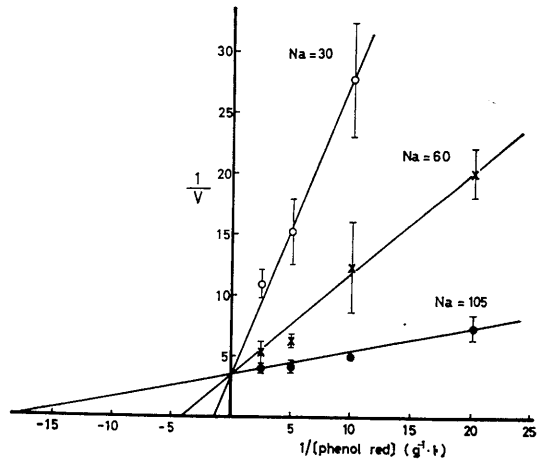


図6. 金魚腎組織の phenol red とり込みと medium-phenol red 濃度の関係、およびその関係に対する medium- Na^+ 濃度の影響 (星, 林, 未発表).

- 11) Hoshi, T. & Komatsu, Y. (1968) Jap. J. Physiol., **18**, 508
- 12) 星 猛, 小松行雄 (1969) 小腸における糖の輸送, “能動輸送” 井上, 品川編, 南江堂 p.53
- 13) Hoshi, T. & Komatsu, Y. (1970) Tohoku J. Exp. Med., **100**, 47
- 14) Khuri, R. J. N., Flanigan, W. J., Oken, D. E. & Solomon, A. K. (1966) Fed. Proc. **25**, 899
- 15) Kipnis, D. M. & Parrish, J. E. (1965) Fed. Proc., **24**, 1051
- 16) Kleinzeller, A. & Kotyk, A. (1961) Biochim. Biophys. Acta, **54**, 369
- 17) Kromphardt, H., Grobecker, H., Ring, K. & Heinz, E. (1963) Biochim. Biophys. Acta, **74**, 549
- 18) Lindemann, B. & Solomon, A. K. (1962) J. Gen. Physiol., **45**, 801
- 19) McDougal, D. B., Little, K. S. & Crane, R. K. (1960) Biochim. Biophys. Acta, **45**, 483
- 20) Playoust, M. R. & Isselbacher, K. J. (1964) J. Clin. Invest., **43**, 467
- 21) Schultz, S. G. & Zalsky, R. (1964) J. Gen. Physiol., **47**, 1043
- 22) Stein, W. D. (1967) The movement of molecules across cell membranes. Academic Press, New York and London, p.177
- 23) Stirling, C. E. & Kinter, W. B. (1967) J. Cell. Biol., **35**, 585
- 24) Vidaver, G. A. (1964) Biochemistry, **3**, 662,
- 25) Vogel, G. & Kröger, W. (1966) Pflügers Arch, **288**, 342



〔海外だより〕

第2回神経科学強化講習会に参加して

東京医科歯科大学歯学部生理学教室 本郷利憲

Neurosciences Research Program (M. I. T.) 主催の第2回神経科学強化講習会が、昨年(1969)の夏7月21日から8月8日にかけて、第1回(1966)のときと同様、米国のコロラド大学(Boulder)で行なわれた。会員では東邦大学の大島知一君(在米中)と私がこれに参加した。以下に簡単に御報告したい。

今回の参加者は約160名。おそらく前回もそうであったと思われるが、神経生理学者はむしろ少数で、物理化学、生物物理、生化学、分子遺伝学、電子工学、神経解剖学、発生学、神経薬理学、神経学、心理学など実に広範な関連領域から専門家が参加していた。それはかならずしも常識的な意味での関連分野に限られたものでなく、F. O. Schmitt 以下主催者側の意図は、神経科学の将来へのいわば種蒔きとして、思い切って領域をひろげ(とくに分子レベルの研究分野に)、異なる分野の専門家の接触から新しい展望が開けることを期待する、という所にあったようである。昨年度の受賞者である Delbrück をはじめ、Onsager, Eigen, Nirenberg といったノーベル賞受賞者が顔をそろえ、かれらがいずれも物理化学、化学、あるいは生化学といった、より基礎的な分野からの参加であることが、この事情を端的に表現しているように思われた。

強化講習会(Intensive Study Program)の名が示すように、会の日程は3週間の会期を通じて相当な強行軍であった。毎日、午前の総会には参加者全員が出席して、講演とそれについての討論が行なわれ、午後はグループに分かれてそれぞれ別のテーマのシンポジウムが平行して進められた。

総会講演

午前の総会の講演は、毎日異なるテーマについて、1日二人ずつ、合計24人の演者によってなされた。そのほか、各シンポジウムの総括的な報告もやはりこの場でなされた。

まず初日は、Nauta と Karten (ともに M. I. T.) が神経系の進化の問題を形態学の立場から論じ

て会の蓋をあけた。Nauta が、進化の過程で neostriatum が退化し neocortex が発達するとき起こる感覚系の線維結合の変化を強調しつつも、そのほかはごく一般的な話に終始したのになし、Karten は suprachiasmatic visual system にしぼって、系統発生の過程でみられる、異なる神経機構の“homology”の問題を論じ、なかなか興味深かった。余談であるが、この前日の7月20日にアポロ11号が月着陸を行なったので、テレビの実況放送にあわせて、会のプログラムを一部時間調整するという一幕があった。

翌22日は細胞小器官(organelle)に関する講演が Lehninger (Johns Hopkins Univ.) と Davis (Harvard Med. Sch.) によって行なわれた。いずれも主として神経系以外の細胞を材料とした話であったが、Lehninger がミトコンドリアの発生起源、その膜の構造と物質交換の機序、エネルギー代謝の過程などについて詳述し、Davis はリボゾームの機能、とくに蛋白合成にあずかる役割りを綜的に講演した。ここでは、現在 Wisconsin 大学で活躍中の野村真康博士の、リボゾームの作用機序を解明した画期的な研究(材料は大腸菌)が紹介され、脚光を浴びていた。

シナプスの微細構造に関する講演は Robertson (Duke Univ.) と Bloom (N. I. Mental Health) によってなされた。Robertson は現在までの知見を総括したあと、かれ自身の研究室で得られたさまざまな電顕像を披露して、シナプスの微細構造と伝達機序の関係について推論していた。ある条件下であろうが、presynaptic terminal の内部に規則的な構造が、また synaptic cleft にコイル状の構造が観察されることを報告し、伝達物質の放出機構についても想像をめぐらしてなかなか興味深かった。簡単に答えられる問題ではないが、synaptic vesicle が quantum 説の構造的基礎であるかどうかについても討論されていた。Bloom は細胞化学的な手法や固定法による相違を利用することにより、電子顕微鏡でより多くの情報がえ

られると、実例をあげて報告していた。

二人の物理化学者による膜の透過性についての講演は美事であった。Delbrück (Calif. Inst. Technology) はリポド二重膜の物理化学的性質を生体膜といろいろな面から比較し、とくに各種のイオンにたいする透過性、就中イオン特異性の問題を明解に綜説した。続いて Eigen (Max Planck Inst. Physic. Chem., Göttingen) は、ある種の抗生物質の作用を中心に、膜のアルカリイオン carrier について話した。イオンとの結合にとって carrier 分子の立体構造が本質的に重要で、結合に際しては carrier 分子のコンフォーメーションが変化する、そしてイオンによる特異性は carrier-ion complex の stability constant によってきまる、という考えを展開した。巧妙に作られた carrier 分子のモデルを手にして明解に話を進め、さらにこのメカニズムが実際に動きうるかをエネルギー計算その他から検討し、また時間的にもイオンの運搬がミリ秒単位の速さで行なわれると論じて、大変興味深い講演であった。

アマクリン細胞については、Shepherd (Yale Univ.) と Rall (N. I. H.) が話した。すでに J. Neurophysiol. (1968) に発表された研究を中心とした話であったが、その作業仮説は、嗅球において mitral cell の樹状突起と granule cell の樹状突起の間に両方向性にシナプス結合があり (dendro-dendritic synapse)、前者は後者を脱分極させ、その結果二次的に後者が前者を過分極させる、この場合伝達物質の放出にはかならずしもスパイク電位を必要としない、というものである。さらに、一つの granule cell の樹状突起が多数の mitral cell の樹状突起とシナプス結合しているのでこの系は反回抑制路として働かし、しかもこの場合 mitral cell の細胞体の興奮をかならずしも必要としないので、普通の Renshaw 抑制の形の反回抑制を trans-hillock type と呼ぶのにたいし、嗅球の場合は pre-hillock type と呼びうるであろうと提唱した。Shepherd は網膜のアマクリン細胞も同様の機能を営んでいるのではないかと類推していた。この仮説はアマクリン細胞の機能がなかなか明らかにされない現在、非常に興味深い推定であるが、それを基礎づける証拠が、dendro-dendritic synapse の電顕像で mitral cell の側の vesicle が円形、granule cell の側のそれが扁平で

あるという所見と、field potential の解析結果とにほとんど止まっているので、もっと直接的な証拠を固めて欲しいという印象をぬぐいえなかった。この dendro-dendritic synapse の問題と関連して、古く Cajal によって提唱されたニューロンの動的極性説 (theory of dynamic polarization) はそれほど単純なものではなく、細胞を部位によって receptor zone, trigger zone, conduction zone, effector zone などと固定的に分類するのはよくないだろうという議論もなされていた。

その後グリアの構造と機能について Bunge (Harvard Med. Sch.) が最近の Nichols やカリウムの蓄積に関する草野氏の研究も含めて綜説し、Cohen (Univ. Oregon) は脊椎動物と無脊椎動物のニューロンの違いを、両者の行動パターンの相違あるいは蛋白合成の問題とも関連づけて論じた。神経内分泌については Scharrer (Albert Einstein Coll. Med.) と Wurtman (M. I. T.) の講演があり、後者は副腎髄質、松果体、視束上核などの neuroendocrine transducer cell の構造と機能を、一般のニューロンと比較しつつ明解に話した。松果体については、哺乳類と両棲類を比べて、その入力相違から両者は系として異なるものであろうと推論していた。

Sensory transduction の問題は、視覚系と嗅覚系について、いずれも昆虫を材料とした話があった。Reichardt (Max Planck Inst. Biol. Cybern., Tübingen) はハエの視覚系について、photo-receptor の構造、photochemical reaction の過程、receptor potential からスパイクに変換される機構と、一連の反応を系統的に説明し、光量子一つで photochemical reaction が起こること、受容器と神経網の結合のパターンから解像能を説明することなど述べていた。さらに、視覚刺激に応じたハエの運動効果を巧みに測定し、この実験から視覚系における perception (図形認知) の問題にまで言及して大変すぐれた講演であった。嗅覚系については、Schneider (Max Planck Inst. Behav. Physiol.) が silk moth の sexual olfactant にたいする化学受容機構の話をした。そのほかに、perception, 行動, 情動, social communication に関する講演が 8 人の演者によって行なわれたことを付記する。

次に午後のシンポジウムであるが、これは以下

の6つのテーマで行なわれ、会の前半にはⅠ-Ⅲの3つのシンポジウムが、そして後半にはⅣ-Ⅵの3つがそれぞれ平行して進められた。

- Ⅰ Recognition and Control at the Molecular Level
- Ⅱ Communication and Coding in the Nervous System
- Ⅲ Development of the Nervous System
- Ⅳ Aspects of Molecular Neurobiology
- Ⅴ Neural Subsystems and Physiological Operations
- Ⅵ Determinants of Neural and Behavioral Plasticity

ほかのシンポジウムについてはお知らせできないが、筆者の出席したⅢとⅤの会について、簡単にその内容を御紹介したい。

Development of the Nervous System

シンポジウムⅢ(神経系の発達)の出席者はその大部分が embryologist で、それも形態学的方法に依拠する研究者が多かったため、その内容もおのずからそうした色彩の強いものであった。今まで蓄積された研究と経験から産み出されたものであろうが、独特の概念を持った言葉が頻繁に使われる討論は、門外漢の筆者にはいささかとりつきにくかった。しかしこの領域の研究者たちが何を考え、またどんな方法で問題にとり組んできたかを知るよい機会ではあり、とくに P. Weiss (Rockefeller Univ.)や V. Hamburger (Washington Univ., St. Louis)のように、この分野で永年研究を続けてきた人の折に触れての発言は、それだけ重味があって大変興味深かった。Weiss 博士はすでに70才を超える老齢にもかかわらず、うかがえる学問的情熱は実に若々しく、「自分は以前から日本を訪問したいと思っていたし、今年も日本の6カ所から招待状を貰っている。しかし今の自分は残り少ない時間を深刻に考えねばならない年齢に達しているのだから、手がけている研究を完成させるまでは、旅行で時間の無駄をしたくないのだ」と話しておられた。

その Weiss 博士の Introduction でシンポジウムは始まった。発達の種類々の段階で見られるいろいろの現象と、それにたいする実験的な試み、学説(たとえば Weiss 自身の contact guidance theory)を総説し、genetic neurology の問題点を

指摘した。

発達の初期にまず起こる神経細胞の proliferation と migration, そしてこれに続く differentiation と一部の細胞の死という一連の過程は、神経系の構成とその機能を解明する一つの重要な手がかりになると考えられるが、ラベルした thymidine を投与してこれを取り込んだ細胞を追跡する radioautography の方法は、いろいろと新しい情報を与えてくれる。この問題は Sidman (Harvard Med. Sch.) と Angevine (Univ. Arizona) によってその研究成果が報告され、日本の藤田氏の研究も話題になっていた。

神経細胞間、あるいは神経細胞と効果器の機能的結合がどのような機序で行なわれるか、とくにその特異性、選択性を決定する要因は何かという問題は、神経生理学者にとっても非常に興味深いことであろう。Jacobson (Johns Hopkins Univ.) と Conlombre (N. I. H.) がこのテーマで報告したが、とくに感覚系についての Jacobson の話が面白かった。カエルの皮膚を発生の種類々の段階で方向を変えて再移植したあと、皮膚反射のパターンがどのようになるかを調べると、ある時期までは脊髄で新しい神経結合ができるが、それ以後は特異性が確立されて、可変性が消失することが分るという。同様の結果がガマの retinotectal connection についてもえられるが、興味あることに、DNA の合成と網膜の ganglion cell の分裂が終る時期が、上記の特異性が確立される時とほぼ一致するという。この問題と関連して、一般にニューロンを特異性の高いものと低いものの2群に分類することができ、前者は早期に発達し、大細胞性で長い軸索を持ち、他の細胞との結合の特異性が高く、実験的な操作によってもその属性が変化しにくいのにたいし、後者はその逆である、という仮説が成り立つかどうか議論がなされた。いろいろの意見が交されたが、細胞によって特異的なものと非特異的なものにはっきりわかれるというよりは、むしろ神経細胞は一般に発生の初期には非特異性が大きい、ある時期から特異性を発揮するようになる、ただ細胞によってその時期は異なるようだし、また特異化されたとしてもその程度は細胞の種類によって違うだろう、という意見が強かった。

組織培養あるいは細胞培養によるいわゆる in

vitro の研究について, Varon (Univ. Calif. San Diego) が nerve growth factor の問題を含めて報告したあと, Bodian (Johns Hopkins Univ.) と Hamburger から, 発生過程での運動の発達について興味ある話題が提供された. いずれもすでに発表された研究をまとめたものであったが, Bodian はサルの胎児で, 自発性ならびに反射性運動の現われ方によって発達段階を区切り, その各時期の脊髄を電子顕微鏡で調べて, シナプス結合の発達と運動活動とを対応づけようと試みていた. 最初に反射活動が見られる段階では, 球形の vesicle をもったシナプスが運動細胞の樹状突起に現われ, さらに複雑な intersegmental の反射が出現する時期になると, axo-somatic のシナプスが形成されるという. Hamburger は chick embryo の運動活動を発達の過程を追って説明し, これらの運動にあずかる神経機構を, 破壊などの操作を加えた実験から考察していた. Weiss や Szentagothai (Univ. Med. Sch., Budapest) などからも, いろいろの破壊実験, 移植実験の貴重なデータが供されて議論を呼んでいたが, ここに集まった embryologist 達はかなり共通して, 末梢からの反射活動とは独立したいわば intrinsic な運動系が脊髄内に存在すると考えたいようであった. これは神経生理学者によっても示唆されていて大変興味あることだが, 反射系あるいは上位脳からの下行系が, 発達の過程でこの intrinsic な系とどのように関係してくるのか, 今後に残された大きな課題であろう. もっと基礎的なことだが, 個々のニューロン間の特異的な結合を決定する分子レベルでの機序については, 現在何も理解されていない. これも将来の研究に待つのみである.

Neural Subsystems and Physiological Operations

筆者の参加したもう一つのシンポジウムは, Bullock (Univ. Calif. San Diego) の座長による neural subsystem の集まりで, ここには神経生理, 神経解剖, 電子工学の分野から参加者が多かった. このシンポジウムの意図は, 複雑な脳の機能の中から, たとえ限られた系についてでも, ニューロン群の作動原理を明らかにして, その要素的な機能 (たとえば filtering, comparing, switching, modulating, gating など) を決めるよう試みてみようというものであった. おそらくシステム

工学とのアナロジーから示唆された企画であろうが, 脳についての個々の知識は急速に蓄積されているというものの, 神経細胞集団の, あるいは系の機能に関する論理がなかなか確立されないでいる現在, こうした計画の努力は高く評価されるものであろう. だが実際のシンポジウムでは, 座長の努力にも拘わらず, ある系の機能について新しい考えが持ち出されても, それを支える客観的な基礎に乏しかったり, また単なる言葉の言い換えに近かったり, 所期の目的がどこまで達せられたかいささか疑問であった. もちろん提供された話題としてはすぐれた研究, 示唆に富む研究が多かったが, 脳を構成する各系の内容の明確な機能単位として把えうるまでには, われわれはもっと多くを知らねばならないということであろう.

シンポジウムでの報告は, 節足動物神経節のニューロン機構 (Wilson, Stanford Univ.), 両眼視, visual depth とニューロン活動 (P. O. Bishop, Austr. Nat. Univ. Canberra), thalamocortical subsystem (Purpura, Albert Einstein Coll. Med., Scheibel, Univ. Calif. Los Angeles), 小脳のニューロン機構 (Llinas, A. M. A.), glomerular synapse その他の複雑なシナプスの構造 (Szentagothai) などであったが, この中のいくつかを御紹介する.

Wilson はとくに昆虫を用いて, 運動細胞やいわゆる command neurone など神経細胞の活動と myograph を同時記録した, 種々の興味ある实例を示した. しかし運動効果とこれらのニューロン活動の間にきれいな対応関係の見られない場合が多いそうで, filtering, phasing などの機能を論じていたが, その機序に関しては推測の域を出なかったようである. Bishop はネコの視覚領の細胞にたいする, 両側の網膜刺激の効果について論じた. Hubel と Wiesel の simple cell に限って報告がなされたが, 両側網膜の対応点および近傍を刺激して単眼視の場合と比較し, 両眼視の場合に現われる抑制の現象を visual depth あるいは disparity の問題と関連して議論していた. Scheibel は形態学の知見から視床特殊核の細胞構成を説明したのち, そこへ入力する感覚求心線維, 大脳皮質からの投射線維, 視床非特殊核からの線維のシナプス結合の様式を, 個々のニューロンでの部位的特異性および細胞集団にたいする空間的分布の両方に着目して述べ, その機能的意義を論

じた。また大脳皮質の層構造についてもシナプス結合のパターンから機能を考察していた。提示された組織学のデータはさすがに美事なものであった。小脳のニューロン機構に関する知識は近年急速に増大したが、Llinas は種々の脊椎動物の小脳を比較生理学的に研究した結果を報告し、他の研究者の考えも引用しつつ、climbing fibre system は phasic control, read out, clearing あるいは comparing の系, mossy fibre system は tonic control, timing あるいは coincidence detection の系とみなしうろという考えを紹介した。Llinas の研究で一つ重要と思われるのは、alligator の Purkinje 細胞で、mossy fibre によるスパイク発生が樹状突起で起こると示唆していることであろう。Szentagothai は小脳、視床（外側膝状体、視床枕）などで見られる glomerular synapse の微細構造を示したが、一つの glomerulus の中で数多くのニューロン要素が、たがいにまた複雑にシナプスを作るこの特異な構造の機能を明らかにすることは、生理学者に与えられた興味ある課題といえよう。プログラムにはなかったが、討論で話された Evans (Univ. Keele) の聴覚系の仕事は面白かった。それによるとネコの蝸牛神経核の背側部ニューロンでは、聴刺激の周波数に関して lateral inhibition の形の抑制がみられるが、腹側部のニューロンではこの抑制がなく、frequency modulated sound にたいしては背側部の細胞がよ

り特異的に反応するという。Evans は、deafferentation, microstimulation, 薬物作用の実験から背側部のニューロンは腹側部のそれよりも高次で、上記の抑制も腹側部から背側部への伝達過程で起こるだろうと考察していた。

会の様子は大体以上のようなものであったが、その詳細は第1回の場合と同様、近い将来に出版されることと思う（参照、The Neurosciences, A Study Program, Rockefeller Univ. Press, 1966）。

Neuroscience Research Program (N. R. P.) は、この強化講習会のほかにも、神経科学の種々のトピックスについてたえず会を持ち、恒常的な活動を続けている。その標榜する目的は前述したように、異なる領域の専門家の情報交換によって神経系を理解するための新しい考え、あるいは戦略を産み出そうというもので、Schmitt 以下のスタッフによるこの組織の運営は、一寸ほかの国では真似ることのできない位大規模なものである。その意味で、これは非常に貴重な、しかも意欲的な一種の実験とみなすことができようが、その効果の判定は将来に待たねばならないであろう。しかし、神経科学の現状を考え、また今度の会に参加したとくに若い研究者が、専門にとらわれず自由に発言していた様子を思い合わせると、この実験の意味はかなり大きいのではないかと考えられる。

〔会報〕

科学研究費に関する検討委員会準備委員会の経過報告

科研費検討委員会委員長 佐藤昌康

1. 準備委員として佐藤昌康（熊大、委員長）、岩間吉也（阪大）、入沢 宏（広大）、塚田裕三（慶大）、川上正澄（横浜市大）、伊藤正男（東大）の6名が昭和45年1月26日会合して第1回準備会を開き、「科研費検討委員会」の性格、目的、科研費に関する問題点について話し合った。

2. 昭和45年2月24日東京およびその近辺に在住の生理学会員有志と「科研費検討委員会」準備

委員会委員との懇談会を開き「科研費に関する問題点」「科研費検討委員会」の性格、目的について話し合った。

3. 昭和45年3月30日、昭和44年度文部省科学研究費審査委員と科研費検討委員会準備委員会委員とが会合して科研費に関する問題点について懇談した。その際岩間委員より下記の資料が提出された。

I. 昭和44年度科研費配分状況 (新規分のみ)

区 分	申請数 (採択数)	採択率 (%)	採択一題あたり 配分金 (千円)	充足率 (%)	
がん特別研究	369 (112)	30.4	3,705	59.0	
脳障害特定 I	24 (23)	95.8	2,900	49.4	
II	110 (28)	25.5	2,190	56.2	
生物物理特定 I	27 (24)	88.9	2,190	40.3	
II	94 (25)	26.6	2,020	71.8	
総合A 生物	21 (10)	47.6	2,383	55.6	
B 医学	114 (43)	37.3	2,019	38.5	
一般A 生物	198 (27)	13.6	15,993	69.0	
B 生物	530 (74)	14.0	3,930	67.0	
C 医学	1,488 (118)	7.9	1,100	63.1	
内訳の 一部	生理	92 (7)	7.6	1,621	86.7
	生化	62 (3)	4.3	1,433	58.0
	薬理	40 (3)	7.5	1,377	73.0
D 医学	920 (142)	15.4	238	22.6	
内訳の 一部	生理	49 (8)	16.3	238	29.9
	生化	41 (6)	14.6	245	32.7
	薬理	15 (2)	13.3	250	44.4
試験 医学	470 (78)	16.6	1,970	54.4	
奨励 医学	1,157 (202)	17.5	149	26.1	
	生理	65 (11)	16.9	150	44.0
	生化	52 (10)	19.2	150	31.6
	薬理	25 (8)	20.0	158	23.8

注：充足率とは採択課題について申請総額に対する配分総額の割合をいう。

II. 生理学各細目の申請採択状況 (新規分のみ)

		筋神経			生理学一般			環境・体力			計		
		申請	採択	採択率 (%)	申請	採択	採択率 (%)	申請	採択	採択率 (%)	申請	採択	採択率 (%)
総合	A	4	4	100.0	7	1	14.3	4	1	25.0	15	6	40.0
	B	0	0	—	1	0	0.0	1	1	100.0	2	1	50.0
一般	A	9	1	11.1	4	0	0.0	5	0	0.0	18	1	5.5
	B	15	3	20.0	8	2	25.0	9	2	22.2	32	7	21.9
	C	49	5	10.2	25	2	8.0	18	0	0.0	92	7	7.6
	D	23	5	21.8	22	3	12.6	5	0	0.0	50	8	16.0
試験		11	3	27.2	18	1	5.6	8	0	0.0	37	4	10.8
奨励		39	7	19.8	12	3	25.0	8	1	12.5	59	11	18.6
計		150	28	18.7	97	12	12.4	58	5	8.6	305	45	14.7

注：一般Dおよび奨励の申請総数が、第一表と一致しないのは資料の相違による。

4. 昭和45年4月2日第47回生理学会総会第2日目に、「科研費に関する討議」を行ない、科研費の性格、および配分の実状について下記の内容で説明および討議を行ない、総会参加者の意見を聴いた。その際上記岩間委員よりの資料を参加者に配布した。

司会 佐藤昌康教授

- [1] 科研費の性格 (文部省, 学術会議の見解)
朝比奈一男教授 (東邦大)
- [2] 第一段審査について
高木 貞敬教授 (群馬大)
- [3] 科研費二段審査の実状について

- 内菌耕二教授 (東大)
- (4) 特定研究「脳障害」の研究費配分
時実利彦教授 (京大)
- (5) 特定研究「生物物理」の審査の実状
真島英信教授 (順天堂大)
- (6) 質疑応答
5. 昭和45年4月20日第4回目の準備委員会を

開き, 第47回日本生理学会総会で行なわれた「科研費に関する討議」の内容およびこれまでの科研費に関する検討委員会準備委員会の経過を日本生理学雑誌に発表することが諒承された(本号所載). また科研費に関する正式の常置委員会を発足させる件について議論した.

科学研究費に関する討議についての報告

科研費検討委員会委員長 佐藤昌康

文部省科学研究費補助金の配分の方法, 実情を知り, 科研費のあり方について検討する資料とする為に, 下記により討議を行なった.

科研費に関する討議

日時 昭和44年4月2日 16.40-18.00

場所 第47回日本生理学会総会第一会場
(昭和大学医学部)

I. 科研費の性格

朝比奈一男 (東邦大)

従来科研費の性格についての見解で文部省と学術会議の間で一致しない点があった。文部省では, 大学での研究基盤を育てることは, 経常的な講座研究費で一応可能であるので, 科研費は extra のものとして, 特別の研究を推進するために補助するものであるとの見解を持ち, したがって原則的には重点配分の方針を強く出そうとしていた。一方学術会議の方では, 研究者一般の意見として, 経常研究費が不足であって, 基盤的な研究活動さえ保つ事が困難である。これでは国の科学の発展は期待できない。したがって科研費は経常費の補給として, 原則的に研究基盤強化費であり, 当然広く配分すべきであるという見解に立っていた。

この基本的見解の相違は大学の経常研究費が研究基盤を支えるに充分であるか否かという判断の如何にかかっている。この点で S. 41~42以前と以後とで, 実際に活動している研究者の実感が変わって来たように見える。それ以前は, 自然科学系, 人文系をとわず, 一般に経常費の不足を訴える声が強くなり, したがって科研費については学術会議の主張が支持されていたと思われる。

文部省ではそれ以前から, 学術奨励審議会で科研費制度の改正について検討をはじめていたし, また S. 42に学術審議会が引きついで, その改正案を作ったのであるが, 改正は次の各項について行なわれた。

1. 科研費総額の増加 (S. 42, 42億, S. 43, 50億, S. 44, 56億, S. 45, 72億).
2. 審査員の増員, 推薦方法の合理化
3. 審査方法の合理化 (二段審査方式)
4. 科研費種目の改正
5. 専門分科細目の改正

しかし, 2, 5の項目については, 学術会議側と意見が一致せず, 殊に2について問題がこじれ, 結局, S. 43の科研費事務は変則的なものとなった。

配分方針については, 上記の通り, 重点主義と, 多配分主義との不一致はあったが, S. 42以後, 自然科学系の教室では経常研究費が可成り増額されてきて, 基礎的研究活動のためには, ほぼ満足できる状態となったという事情もあって, 実際の研究者の間では, 科研費の重点配分方針に賛成する意見が強くなった。このことは, 当時生理学会で行なったアンケートの結果にも明らかに出ていることである。しかし人文系では, 少額でもできるだけ広範囲の配分が望ましいという意見が多かったし, また自然科学系でも, 特に若手研究者の間には重点配分に必ずしも賛成ではない意見も少なくなかった。

この事は, それぞれの専門分野, 学会, 研究機関などの事情によって差があるので, ある学会や, 大学では, それに対応して独自の方法, たとえば, 学会内での予備審査とか, 大学内での審査

委員会とか考えているところもある。

生理学会でも、この事について検討するものとするれば、次のような問題が討議の対象としてふくまれるのではないかと思う。

1. 総額増加の為の運動
2. 科研費配分の方針 (学会として)
3. 学会内での予備審査, 審査員の推薦方法
4. 採択課題の研究進行状況の確認
5. 専門分野細目の再編成

(他専門分野との共通領域, 境界領域および, 学門の進歩に伴う必然的な分野, 細目の離合を考慮に入れる必要に関連して)。

Ⅱ. 文部省科学研究費の第一次審査について

高木貞敬 (群馬大)

1. 委員の選挙について

昭和44年度審査委員の選挙は熊本における日本生理学会総会において幹事の互選によって行なわれた。当時文部省と学術会議とは委員の選出に関して意見が合わず、いたずらに時間が経過する許りであったので文部省は直接生理学会に問い合わせた。そこで当時の松田庶務幹事は恰度開催された熊本市における幹事会に相談し、幹事会の中から下記の人々を含めて各分野4, 5名ずつの委員を選出し文部省に報告した所文部省において各分野3名ずつを決定し委嘱した:

神経・筋生理学	高木貞敬, 本間三郎 (2年委員)
	岩間吉也 (1年委員)
一般生理	井上 章 (2年委員)
	福原 武, 伊藤真次 (1年委員)
環境生理	緒方維弘 (2年委員)
	藤森聞一, 朝比奈一男 (1年委員)

この中2年委員とは昭和44, 45年度の審査を担当する人である。昭和45年度の審査委員の欠員は全評議員の中から幹事会で選挙して次の氏名を文部省に推薦した。

神経・筋生理学 (欠員1名)	古河太郎, 真島英信, 吉井直三郎
一般生理 (欠員2名)	高橋 憲, 中馬一郎, 宮川 清, 吉村寿人
環境生理 (欠員2名)	猪飼道夫, 高木健

太郎, 高橋 憲, 和田正男

2. 採点法

各申請課題の採点は1点から5点までの評点をつける方法で行なわれ、次の要素に着目して総合的に判断するよう要請された。

A. 研究目的の明確さ, B. 研究計画の妥当性, C. 学界への貢献度, D. 独創性, E. 研究遂行の能力, F. 申請研究費の合理性, G. 申請機器等の当該研究課題に対する必要性, H. 組織の有機的協力の可能性 (これは総合研究の場合)。

5点	特に優れているもの
4点	優れているもの
3点	良好なもの (普通程度のもの)
2点	普通程度よりやや劣るもの
1点	劣るもの

各題につき3人が点をつけそれを第2段審査員内菌耕二教授が合計された。後で聞いた所では合計12点ないとパスしなかった由である。

3. 審査にあたって

責任の重大性に鑑み昭和40年以来「脳」や「生物物理」の特定研究を含めて誰が、いくら、どの枠でもらったかを調査しその資料を全委員に配布した。これにより少ない研究費が少数の人々に集中することなく広く行き渡るよう配慮した。

4. 審査の結果について

配布された研究者および額を通覧すると、今回ももらった人々は大体当然もらうべき人々であった。しかし当然もらうべき人々でもらえなかった人々が少くないことが誠に残念に思われた。これは全体の額が72億というジャンボジェット1機分の少額でなく、合計11点以上の人々ももらえることになっていれば、随分事態は改善されたと信ずる。その意味で、配分法の改善もさることながら科研費全体の枠を拡げることには生理学界あげて努力すべきである。

審査の評点についてはそれぞれの分野で長く研究している人々が点をつけたのであるから、3人の見る所それ程大差はないようであった。

Ⅲ. 科研費2段審査について

内菌耕二 (東大)

科研費審査は限られた予算をいかに適正に且つ

公平に分配するかを眼目として実施されている。1段審査は3名の専門審査員が独立の立場から、共通の規準によって極めて厳正に行なわれることを旨としている。1段審査は申請された課題について専ら academic な立場から行なわれる。このことについては1段審査委員の報告の通りである。

2段審査は1段審査員の採点を集計し、合格者を決定するのが役目である。可否の決定は1段審査員の採点数によって左右される。一定の点数以上のものは殆んど無条件に採用されるといってよい。ことに3審査員とも満点の場合は絶対といってよい。ただし、申請金額が事務レベルで検討して規格外れに多い場合には必ずしもそうでない。申請者の中には常識外れの巨大な金額を請求される方もあるが、これは審査側から見て不利である。2段審査は各専門分野のアンバランス、重複、大学間のアンバランス等を全国的なスケールで再検討するのが主な役目で、自己の所属する特定専門分野の利益代表ではない。自然科学系では医学、理学、農学が共通の生物科学系として取扱われる。医学分野における申請件数は他の分野のそれに比して圧倒的に多い。自然科学分野では他に物理化学系と工学系があってそれぞれの分野の内ではいゆる調整をはかっている。調整とは上記の重複やアンバランスの是正である。従来の方式によって予算のワクはかなりきつく限定されていて、調整しうる範囲は自ら狭められている。前年度の実績が80%の比率で固定化され、申請件数と申請金額がそれぞれ10%ずつの比率で考慮されるといういわゆる藤岡方式なるものがあって、予算の大きな変革はありえないことになっている。審査は慎重で conservative であるということができよう。2段審査で具体的に問題になるのは同一分野内の同点者のある場合である。例えば生理学と解剖学とから申請された課題が同点でともに borderline にある場合であって、どちらを優先するかが論議されることがある。この場合には申請者の過去の研究実績、今までの科研費実績等が勘案され、合議の上採否が決定される。

医学部における生理学は理学や農学の分野における生理学よりもはるかに規模が大きく研究者の数も圧倒的に多い。審査にあたっての責任もしたがって重いことになる。医学分野のみならず、他

の分野との関係を考慮し、バランスのとれた適正な配慮を加えなければならない。

Ⅳ. 特定研究「脳障害」の研究費配分

時実利彦(京大)

特定研究「脳障害」は、昭和39年から昭和41年までの3年間の特定研究「脳」の延長として、昭和42年から昭和44年までの3年間つづいたものである。前回の「脳」に比べると「脳障害」の方は、脳・神経疾患の研究がとりあげられたが、しかし、単なる臨床医学的な研究だけでなく、それを裏付ける基礎的研究の課題もかなり採択された。特に、特定研究(1)(総合研究班に相当するもの)では、班員の約半数は基礎医学研究者の参加が要請されていた。

昭和44年度の配分額と配分件数は次の通りである。

○配分額	128,000,000円
【特定研究全体(11課題)の配分額	
	729,410,000円】
○配分件数	
特定研究(1)(総合研究班)……	23件
配分額	66,690,000円
特定研究(2)(各個研究)……	28件
配分額	61,310,000円

特定研究(1)の班長で生理学会員は23名中6名、特定研究(2)をうけた方で生理学会員は28名中6名であった。なお、昭和44年度の配分審査員は、横浜市大・医学部・瀨瀬正教授、京大・医学部・岡本道雄教授、九大・医学部・勝木司馬之助教授、東大・医学部・白木博次教授、東大・医学部・山川民夫教授、新潟大・医学部・植木幸明教授と私の7名であった。

幸いにも「脳障害」は昭和45年から3年間引きつづき研究費の配分をうけることになり、今年度は150,000,000円の配分が内定している。過去3年間の配分の審査会では、基礎的研究が重視されており、直接に疾患に関係がない申請課題が採択されている。これから3年間の配分においても、無理に疾患に関係づけなくても、脳・神経系に関する立派な研究課題であれば、十分に考慮されることと思われる。そして、これまでも総括的でなく重点的に配分されたので、今後も同じような方針で配分されることと思われる。

これまでの申請者には、生理学会の会員の方がたくさんあるが、もっともっと申請していただいたらよいと思われる。私たち研究者は、必要な研究費は、声を大きくして要求すべきである。

なお、昭和45年度から「情報処理による基礎的研究」が採択されており、このなかに、生体情報もとりいれられているので、この方へもどんどん申請していただけたらよいのではないと思われる。

V. 特定研究「生物物理」の審査の実状

真島英信 (順天堂大)

特定研究生物物理は昭和44年から3年間継続される。昨昭和44年度は総額8,800万円が交付されたが、班研究的な総合研究(1)と各個研究的な(2)とに分けられている。その審査方法と決定については、雑誌生物物理9巻,4号(1969)p26-28に詳細に述べられているから、関心のある方はこれを参照されたい。審査は審査委員9名の合議制がとられているが、全体として5本の柱、すなわち生体物性、分子遺伝、分子生理、細胞生物、生体機能に対してそれぞれ5:5:5:3:1の割に配分するという案が考えられていた。しかし実際に申請課題と申請額とを集計してみると、生体機能の部に入れられるべきものが増加していたので、上の比率は5:5:5:2.5:1.5に改められた。

生理学会会員の中には上の5本の柱のそれぞれに関係を有する方がいると思われるが、特に生体機能の分野が多いであろう。その意味では割当額の方は非常に少ないと思わなければならない。しかし配分は重点的に行なうことが原則とされており、1件あたりの平均は100~200万円であるから、なるべく多数の方が申請されるようお薦めします。それによって上に示した比率の方も当然変っていくものと考えられる。特定研究のなかに各個研究的なものがあることを知らない方もいるのではないかと思います——私自身昨年審査委員となつてはじめて知った——蛇足を加えました。

VI. 質疑応答

吉村寿人 専門分野の細目別の再検討が重要である。大体様子は判ったが今後の問題としてとくに検討されたい。また栄養学会が生理学会に入っていないことは不合理であると思う。また配布された資料では3つの細目間に配分費の不平等があると思われるが、乏しきを憂えず、等しからざるを憂うの精神を強調したい。

内菌耕二 今後この資料を参考として行きたい。

吉村寿人 第7部の中に栄養学という分科または細目を作る必要があるのではないか。

佐藤昌康 生化学の人と相談して善処します。

亘 弘 学会で予備審査をやるかどうかについて早速きめてほしい。科研費審査員をどうやって決めるかについても至急考えを出してほしい。科学研究費のような重要なことを常任幹事会で簡単にきめることはどうかと思う。

猪飼公郎 配分方式と配分類との間の関係はどうなっているか。前年度の実績で決っているのではないか。配分類が3つの細目についてそれぞれ決っているのか。

内菌耕二 8,1,1方式は総枠についてのものであって細目間の不平等は1段審査の段階におこっているのではないか。

藤森聞一 有力な申請者が他からの資金をもらっているため除かれたという事情があったと思う。

笠原道弘 第1,第2段審査員の権限がよく判らない。応募課題、評点、第2段審査の政治的配慮の内容を公開してほしい。

内菌耕二 理学、農学の11.5点を合格とし、医学の11.5点を不合格とするようなことはあった。審査員の氏名、評点は非公開とされている。

笠原道弘 研究の内容に対して質を向上させようとする気運が低い。そういう意味で評点のつけ方を問題にしたかったのである。

人体基礎生理学研究所設立第18回業務専門委員会

日時 昭和45年3月14日 午後2時～6時30分
 場所 東京医科歯科大学 大ゼミナール室
 出席者 井上, 内菌, 名取, 藤森, 各実行委員
 広重, 岩崎, 塚原, 竹宮, 八木, 堀江, 遠藤,
 熊田, 品川, 北里, 亘, 磯本, 菅野義, 竹中,
 村田各業務専門委員

議事 司会 塚原委員
 報告

1. 生物関係研究所に関する懇談会(2月25日
 於, 赤門学生会館)に, 生物関係の三研究所設立
 準備関係者が集まり, 研究所設立について討論し
 た(内菌, 勝木各委員).

2. 基礎生物学研究所と本研究設立準備関係
 者が両研究所設立について討論を行なった(2月

28日, 於赤門学生会館, 朝比奈, 内菌, 勝木各委
 員および東大・杉さん).

協議事項

研究所設立案, 修正素案の検討

八木, 岩崎, 塚原, 橋本各委員により起草され
 た修正素案を検討, 修正し, 設立案修正案を作成
 した.

人体基礎生理学研究所設立第13回実行・業務専門委員会

日時 昭和45年3月15日 午前10時～午後5時
 場所 東京医科歯科大学 大ゼミナール室
 出席者 内菌, 勝木, 藤森, 各実行委員
 秩父, 岩崎, 塚原, 竹宮, 八木, 橋本, 鈴木,
 遠藤, 熊田, 品川, 北里, 亘, 磯本, 菅野義,
 竹中, 村田各業務専門委員

議事 司会 内菌委員
 報告

1. 経過報告(事務局)
 第7回準備委員会(12月20日開催)以降の経過
 報告が行なわれた.

2. 渉外報告(勝木委員)
 学会会議, 学術審議会, 関係官庁等に対する設

立準備活動の報告が行なわれた.

協議事項

1. 設立案修正素案起草の趣旨および同素案修
 正の結果作製された修正案の趣旨が, 八木および
 磯本委員より説明され, 引続き修正案を検討し
 た. その結果, 修正案の成案をえた

2. 次回委員会予定が, 事務局に一任された.

人体基礎生理学研究所設立第19回業務専門委員会

日時 昭和45年3月31日 午後6時～8時
 場所 昭和大学
 出席者 菅野富, 山岸, 秩父, 岩崎, 石田, 竹宮, 八木,
 橋本, 本田, 北里, 亘, 菅野義, 岡田, 河田,
 広重, 村田

議事

I. 渉外報告

学術会議長期計画委員会(松尾委員長)(於学術
 会議昭和45年3月19日, 出席内菌委員の代理塚原
 委員)において, 委員長より生物系四研究所設立

に関する新しい試案の提案が行なわれた.

II. 協議事項

日本生理学会総会(4月1, 2, 3日, 於昭和
 大・医)における同会員への研究所設立案概説
 (設立案修正案)の提示の具体的方法を討議した.

生理学会教育委員会報告(11) 第10回常任委員会

日時 昭和45年3月16日 午後6～8時
 場所 東京大学医学部生理学教室
 出席者 高橋, 菊地, 伊藤各委員, 事務: 野口, 小松
 (本間, 市岡, 島山委員欠席)

議事

1. 前回常任委員会議事録の確認. 一部字句修正の上決定し, 日本生理学雑誌に投稿することとなった.

2. 2月28日に行なわれた基礎医学会教育委員会の報告. 出席者高橋より3項目の検討内容について報告があり, とくに大学専門課程の教育についての意見について, 資料による説明があった.

3. 医学大学院制の改革意見の取扱いについて, 佐藤委員が学術会議第7部会, 大学制度特別委員会に紹介したことが報告され, 基礎医学会教育委員会の各委員に配布したことが報告され, 前回常任委に出された希望意見により, 図・表を附して日本生理学雑誌に掲載することとなった(当日投稿).

4. 昭和45年度における教育委員会活動計画. 3月31日開催される予定の教育委員会の上記議題について, 山田 守, 佐藤昌康, 藤森開一, 亘 弘, 高橋 憲各委員からの返書(後記)を中心に検討し, 文部省科学研究費申請とも考え合せて, 従来の活動を継続することを主とするが, 山田委員の意見, 基礎医学会教育委員会のとりあげた問題等について, 一般会員からの意見を求める活動を行なうべきであろうとの意見に一致した.

5. 常任委員数について. さらに2名程度増員の必要なことが話し合われた.

[後記]

山田 守委員の意見

中教審の原案が試問されている時ですので, 生理学会教育委員会としても,

1. 大学制度内での生理学の教育のあり方
2. 実習の範囲・予算面等の考慮
3. 大学院制度

について考えを纏め, アンケート等で学会の意見を統一して, 中教審に意見を述べるようにしたら如何でしょう.

藤森開一委員の意見

1. 昨年同様学生実験実習設備標準に準拠する概算要求を.
2. 各講座すくなくとも講師1名増の申請をしていただきたく思います.

亘 弘委員の意見

1. 継続の計画として

CAI (computer assisted instructions) の生理学教育に適用するための調査.

具体的方策として CAI の講演会を開催すること.

2. 新規計画として

各大学医学部でのカリキュラムを集めて集計すること.

(佐藤, 高橋委員の意見は省略)

第25回国際生理科学会議 (第2回報告)

日本生理科学連合委員長 加 藤 元 一

明年7月25日より31日の間, ドイツ ミューンヘン市において開催される第25回国際生理科学連合総会について, 事務総長 K. Thureau 博士より次のような4月28日付の書簡が到着しました. 内容は先に日本生理誌上に発表しました第1回報告

と多少の変更がありますので, ここに追加報告致します.

総会の第1回アナウンスメントは, 今夏ある時期に国際機関を通じて配布される予定ですが, 内

容のうち次の事項は特に参考となると考えます。

総会プログラムは、3～4時間の総会シンポジウムが約20あり、プログラムの約半分を占める自由報告は、10～12セッションが同時に行なわれます。

前回のワシントン総会における衛生シンポジウムが好評であったので、本組織委員会も、ヨーロッパの生理学者に欧大陸を通じて衛星シンポジウムを開催するよう依頼しました。いままでのところ25の衛星シンポジウムが総会の開かれる時期の1週間または1週後の間に開催されるように計画されました。これらのシンポジウムは総会とは独立に、それぞれの座長および組織委員達によって計画されており、これらのシンポジウムに関する問合せ先も、第1回アナウンスメントにのせられ

てあります。

費用に関して、本組織委員会は、援助を求める財源を持たない若い参加者に対しては、多少の財源を持っていますが、要求は使用できる金額をはるかに上廻るのが通例でありますから、参加希望者はそれぞれの国の機関とこの件について相談され、それぞれ局地的に援助についての可能性を検討してほしいとの事です。

先に私が生理誌上に報告した内容と、衛星シンポジウムの開催時期について、多少変更がありますので御注意下さい。この変更は団体飛行旅行の計画に支障がありますので、この件については協議の上改めて御報告致します。

[書 評]

石 井 象 二 郎 著

昆 虫 の 生 理 活 性 物 質 (化学の領域選書 1) 南江堂 (B 6版, 196頁, 750円)

東京女子医大第二生理 菊 地 鏡 二

この本を読み始めた時、かつて植物ホルモンに関する本を読んだ時と同様非常に興味を感じ一気に読み終えた。

いままで時たま昆虫の生産活性物質に関する断片的知識を耳にしたことはあるが、今回本書から初めて全般的知識をうることができた。そして本書で取扱われている研究がわれわれの生活にも、また研究にも少なからず係りがあることを改めて教えられた。

本書はホルモン、フェロモン、攻撃および防禦物質の三章に大きくわけて述べられている。各章はさらに昆虫の生態、生理活性物質の性質、そのあるものについては分離抽出、生物試験、構造決定、合成およびその検定についてなどかなり詳しく述べられている。そのため生物学、化学、農学、薬学といった広汎な読者に興味を起すだろう。

筆者は抽出法、合成法といったことにより生理活性物質の生物学的役割に特に興味をそそられた。例えば変態と昆虫のホルモンとの関係を知る

実験や、ある種のフェロモンが昆虫個体間のコミュニケーションの信号として重要な役割をもっていることなどである。筆者は昆虫に関する知識が僅少であるので、昆虫の生態、分泌腺などに関する記載があるのも理解を助けている。ただ本書中の昆虫のカラー写真や大きさ(いくつかの昆虫については記載されている)などがあつたらとも考えた。

読み終って感じたことだが、昆虫の生理、活性物質に対する化学受容器の活動、運動系との関係、生体内での合成、分泌、作用機序など今後こうした分野での業績がまとめて紹介されたらさぞ生物学関係の人の興味を煽るであろう。

著者も述べておられるが、この方面でのわが国の研究者は種々すぐれた業績をあげてきたが、化学的研究は欧米の研究者の手に渡ってしまったのは残念である。この点わが国の従来研究体制のもつ一般的欠陥の一端をみたわけで反省させられた。

第25回国際生理科学会議のための国費による旅費申請

庶務幹事 時 実 利 彦

1971年7月25日～29日まで、ミュンヘンにて開催の第25回会議へ出席される方で国費による旅費の交付を希望される方は、その理由を付けて来る9月末日までに日本生理学会庶務幹事宛にお申込み下さい、2名の枠があります。

編 集 委 員

真島 英 信 (幹 事)	市 岡 正 道	伊 藤 正 男
菊 地 録 二	高 橋 憲	戸 塚 武 彦
畠 山 一 平	望 月 政 司 (北海道)	星 猛 (東 北)
新 島 旭 (関 東)	東 健 彦 (中 部)	品 川 嘉 也 (近 畿)
入 沢 宏 (中・四国)	栗 山 熙 (九 州)	

第18回日本医学会総会からお願い

学 術 映 画 募 集

昭和46年4月開催の第18回日本医学会総会において、学術集会の一環として学術映画を上映する予定です。

ついでには、下記要領により学術映画を募集いたしますので、ふるってご応募下さいますようお願い申し上げます。

1. 内 容

学術的に新しさを持つ商品宣伝臭のないもの
発表手段として映画的手法が特に有効なもの
上映時間は10～30分間で、フィルム規格は16mmに限る。

有声、無声を問わない。(無声の場合は、説明者を要さぬよう配慮されたい。有声の場合は optic か magnetic かを書き添えられたい。)

2. 申し込み方法

上映希望者は上映内容を400字づめ原稿用紙3

枚程度にまとめ、昭和45年6月30日までに、榊原 任(東京都新宿区河田町、東京女子医科大学、日本心臓血圧研究所 〒162)宛に申し込むこと。

申し込みの時点で、映画が完成されていても、未完成でもよいが、応募原稿に完成、未完成の別を朱書し、未完成映画の場合は完成予定日時を付記する。

3. 採否の通知

応募者の抄録と各分科会長の意見を参考として、学術映画上映の採否を昭和45年9月30日までは決定し、申し込み者に連絡する。採用された者は昭和45年11月30日までに、榊原 任宛に、完成作品を提出する(多少、未完成でもよい)。当係で、その映画を上映審査し、12月16日までに、その作品を申し込み者に返却するとともに、最終的に、第18回日本医学会総会の学術映画として採否を通知します。

第18回日本生理医学会総会

学術映画担当

榊 原 任

北 村 和 夫

日本生理学雑誌投稿規定

本会の会員は誰でも本誌に投稿することができますが、下記の規定にしたがって下さい。原稿の採否は編集会議で決定します。

I. 原著

A. A4版(21×29 cm)の400字詰原稿用紙を用いて書き、別にコピーを1部つけます。

長さに制限はありません。しかし刷り上り2頁までの費用は学会負担ですがそれ以上は著者負担となります。また図版代や特別の費用を要するものは著者負担となります。

B. 表紙(原稿第1枚目)の上半には表題、欄外見出し、著者名、所属およびその所在地、国際十進分類(UDC, 日本語版:国際十進分類法, 日本ドクメンテーション協会, 1967参照)などを書き、下半には原稿の枚数、図表の数、別刷請求部数、編集者への希望などを書きこみます。

C. 英文の摘要(表題, 著者名, 所属および200語以内の抄録からなる)をダブルスペースでタイプしてつけます。これは2部(1部はコピー)必要です。

D. 本文とくにローマ字などではできるだけ読み易く書き、イタリック指定をしたいところはアンダーラインをしてその下にイタリックと書きます。動物名などは原則として片かなを用います。単位および単位記号はなるべく国際単位系(本誌28巻, 141頁, 1967参照)によって下さい。

E. 図表の説明は Fig. 1, Table 1 など英文で書きます。本文の欄外に赤字で図表を挿入すべき位置を指定しておきます。

F. 項目分けは I, II, ……さらに A, B, ……さらに 1, 2, ……さらに a, b, ……というように分けて下さい。

G. 文献表の作り方

1. 本文中に引用文献の著者名を書きこみ、その右肩に番号をつけます。3人以上連名の場合は“たち”または“*et al.*”を用います。

例1: 高木たち³⁾によれば……

例2: Hodgkin & Huxley¹⁾によれば……

2. 末尾文献表は著者名のABC順に整理し、本文中の番号と照合します。著者名は *et al.* と略さず全員を掲げます。

3. 雑誌は著者名(西暦年数)表題・雑誌名巻, 頁(始-終)の順に記します。

例1: 藤本 守, 宮尾賢爾(1969)電磁流量計の応用による腎血行調節機転の研究. 日本生理誌 31, 65-75

例2: Hodgkin, A. L., Huxley, A. F. & Katz, B. (1952) Measurements of current voltage relations in the membrane of giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116. 424-448

4. 単行本は著者または編者名(西暦年数)書名, 版数, 章名, 発行所, その所在地, 引用頁の順に記します。論文集などの場合は雑誌に準じますが, 雑誌名のところに上記単行本の項が入ります。

例1: Conway, E. J. (1957) Microdiffusion analysis and volumetric error, 1st Ed., Carbon monoxide, Cresby Lockwood, London, 326-330

例2: Scher, A. M. (1965) Electrical correlates of the cardiac cycle. In: Ruch, T. C. & Patton, H. D. Physiology and Biophysics, 19th Ed., Chap. 30, Saunders, Philadelphia, 365-599

5. 孫引きの場合は原典とそれを引用した文献およびその引用頁を明らかにし, “より引用”と明記します。

6. 雑誌名の省略名は雑誌により決めてあるものについてはそれに従がい, 決めてないものについては日本自然科学雑誌総覧(1969, 日本医学図書館協会編, 学術書出版会)または Index Medicus によって下さい。これらにないものについては国際標準化機構のとり決め ISO R4 (ドクメンテーションハンドブック, 1967, 文部省大学学術局編, 東京電機大学出版局, 39-42頁参照)に従って下さい。

II. 総説または解説

A. 400字詰原稿用紙40枚以内を希望します。超過分についての掲載料は著者負担となることがあります。専門外の人にもわかるように注意して下さい。

B. 図表の数は原稿4枚に1個以内です。

C. 原著の規定B~Gに準じます。ただし図表の説明は和文とし, コピーおよび英文摘要をつけ

る必要はありません。その代り表紙の表題、著者名、所属などは英文もつけて下さい。

Ⅲ. 短 報

速報や研究方法、教育法などの原稿は大略原著規定に準じます。

A. 和文短報

1. 刷り上り2頁以内とします, 400字詰原稿用紙約8枚です。

2. 図表は2個以内です。

3. 表紙をつけ, 表題, 著者名, 所属を和文と英文と両方記入します。

B. 英文短報

1. 刷り上り2頁以内とします。ダブルスペースでタイプ用紙約4枚です。コピーを1部つけて下さい。

2. 図表は2個以内です。

3. 表紙をつけ, 表題は英文で, 著者名, 所属は和文と英文と両方記入します(原著の規定B参照)。

4. 文献表はスペースの関係で表題名を省略することができます(原著の規定G参照)。

5. 和文要旨をつけて下さい。

Ⅳ. 抄録または講演要旨

A. 原則としてその集会の幹事の定める規定に従って下さい。

B. 抄録は通常, 表題, 著者名, 所属, 本文を含めて400字詰原稿用紙2枚以内(図表は不可)です。

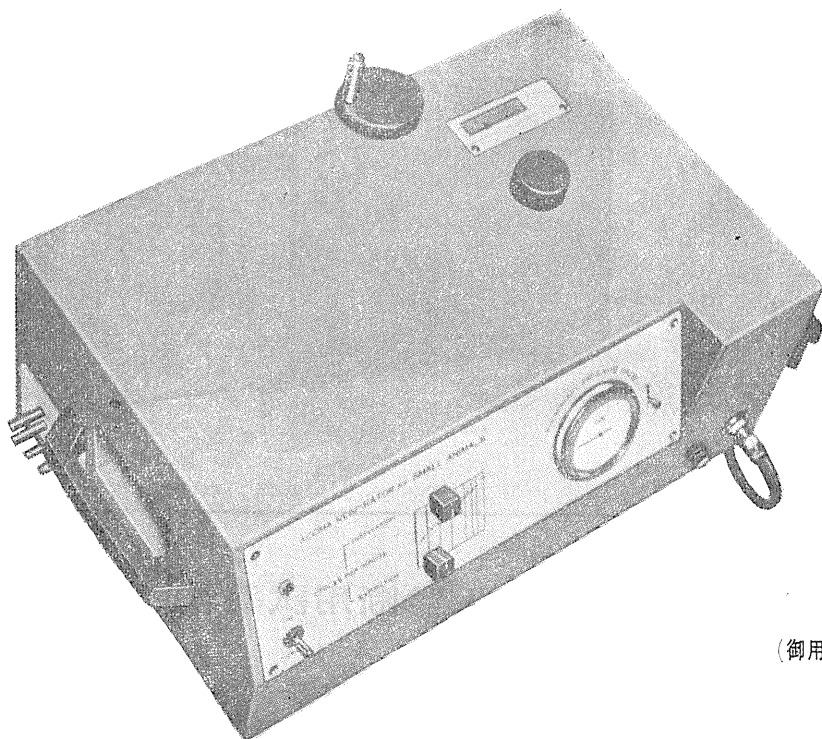
C. 講演要旨は通常400字詰原稿用紙10枚以内, 図表4個以内です。

Ⅴ. その他

集会などの内容紹介, 海外だより, ニュース, 討論, 意見, 書評, 随筆など生理学または生理学者に関係あるあらゆる投稿を歓迎します。すべて図表, 写真などを含めて400字詰原稿用紙10枚以内にまとめて下さい。(1970, 6月)

小動物よりうさぎ、猫までのレスピレーター完成 アコマ AR100

血圧計、麻酔器のメーカーとして広く御愛用を願って居りますアコマが数年前より研究致して居りました、小動物用レスピレーター(AR100) を完成致しました。従来の製品と一変し其の機能が高く評価されて居ります。貴院の研究室に是非一台御備え下さい



大きさ 520×330×210cm

重量 22kg

(御用命は全国有名医理化器械店へ)

レスピレーター (アコマAR100) 特長

- (1) 呼吸相比が自由にえられる (1 : 3 - 3 : 1)
- (2) 1回換気量が10cc-100ccと広いので小動物よりうさぎ、猫迄使用出来ます。
- (3) 換気量を変えても腔腔は全く変わりません。
- (4) 呼吸回数は10~60回まで連続可変です。
- (5) 電動式のため経済的です。AC100v 35w
- (6) 麻酔器に連動できます。

注 犬用は別にAR. 300 (20~300cc) を御使用下さい

ACOMA

アコマ医科工業株式会社

東京都文京区本郷2-14-14 TEL03(811) 4151

E-672A エルマ超微量炎光光度計 UF-1型

驚異的な微量のNaとKを

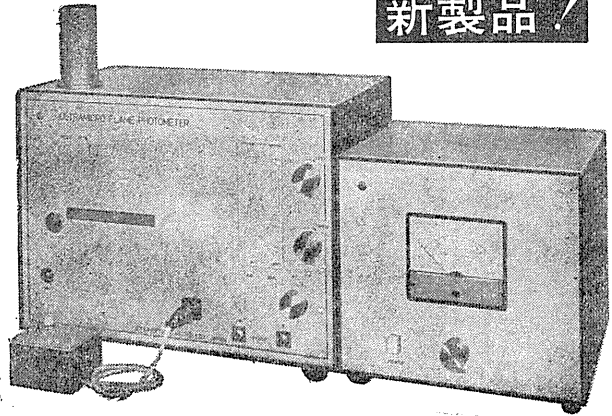
定量するエルマ超微量炎光光度計

本器は東大生理学部の御指導のもとに完成されたものです

本器の特長

1. 超微量の測定
・ $\left\{ \begin{array}{l} \text{Na } 1\text{mEq}/\ell \times 10^{-9}\ell \\ \text{K } 1\text{mEq}/\ell \times 10^{-9}\ell \end{array} \right.$
2. 稀釈操作不要
3. Na, K 同時測定
4. 再現性 $\pm 2\%$ 以内

新製品!



エルマ光学株式会社

東京都千代田区神田鍛冶町2-4
TEL (256) 0911 (代)

信頼度の高いシノテスト診断用試薬群

(新発売)

尿路感染検査には(TTC法)…………シノテスト 10号

定量培養法との相関が高く使用法簡易、保存性にすぐれている

血清総コレステロール測定には…………シノテスト 102号

使用法は簡易・光電比色法も可能

血清・膠質反応検査には(ハイエム試験)シノテスト103号

技術誤差、判定読みの主観差がなく、使用法が最も簡易

◆特約販売品

酵素法による血糖測定試薬キット

グルコメッター

(製造発売元 東京臓器化学株式会社)

●新処方製品5セット入(1セット30回分)150回分 ¥ 2,500

◆トランスアミナーゼ測定試薬キット「シノテスト」

●日本消化器病学会・肝機能研究班の処方・測定法・単位を採用

●包装・納入価格……100測定キット 7,000円

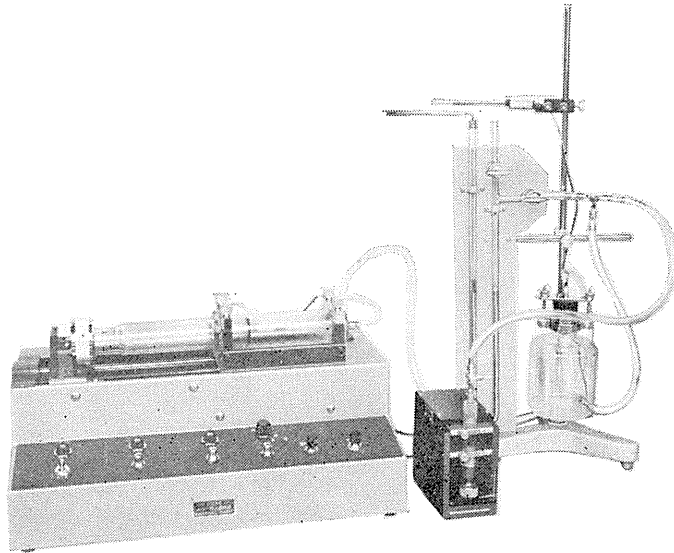
シノテスト商事株式会社

東京都千代田区麹町3-2 第3麹町ビルTEL (261) 5826~8

HAFFNER法

鎮痛効果測定装置

実中研 医学研究所 御指導

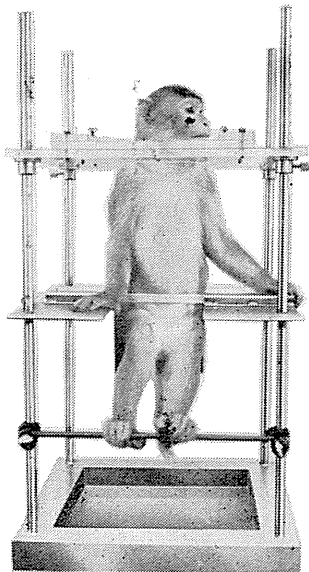


本装置は機械的的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。

尾部に加わる圧力はモーターにより加圧されマンメーターにより記録されますので常に一定の加圧速度が得られ、かつ反応閾値を記録紙上で求めることが出来ます。

モンキーチェヤ

実験動物中央研究所
医学研究所 御指導



- 本装置チェヤに依るモンキーの体重は3kg～6kg迄使用可能です。
- 汚物を取り出す引出しが下部後方に付いています。
- ステンレス製 上部はアクリル盤

特別附属品

- チェヤ固定盤 600×600×21mm (木製)

特別附属品

- 移動用固定盤 600×600×21mm キャスター4ヶ付 別途附属註文に応じます。

使用目的

- (1) 薬物の投与
- (2) 採血及採尿
- (3) 生体電気現象の誘導
- (4) 其の他無麻酔下で処置を加へる場合

KANO 株式会社 野上器械店

郵便番号113 東京都文京区本郷3丁目44～6 TEL(03)813-4811(代)

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 32, No. 6 (1970)

Original

SATO, T. : Studies on activities and localization of membrane-bound enzymes
 in the cell membrane of toad skeletal muscles317

Short communications

FUJIMOTO, M. and HIGAKI, K. : The use of ^{36}Cl and ^{14}C -inulin for the
 determination of erythrocyte chlorid concentration and trapped
 plasma in the centrifuged hematocrit in the rat.....329

IWAI, E., SAITO, S. and HASHIMOTO, T. : A possible role of olfactory lobe
 of goldfish in visual discrimination performance331

FUJII, T., KUBO, S. and IWASE, Y. : Gas-blow and medium-flow method for
 stable recording of electrical activities in the sliced mammalian
 cerebral tissue *in vitro*333

昭和四十五年五月二十日印刷

編集
 集人兼

東京都文京区本駒込二丁目八十二番
 三
 日本生理学会
 眞島英信

印刷者
 印刷所

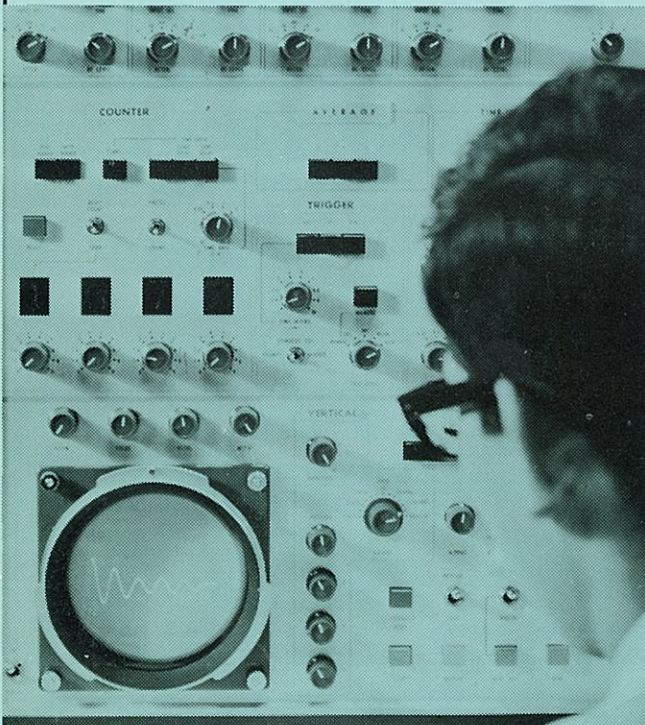
山形県鶴岡市山王町一四の三四
 平田眞
 鶴岡印刷株式会社

発行所

東京都文京区本駒込二丁目八十二番
 三
 日本生理学会

振替東京八六四三〇
 価
 参
 百
 円〇

生体と情報処理技術をON-LINEで結ぶ



ア タ ッ ク
ATAC

NIHON KOHDEN

データ処理用電子計算機
 ATAC-501-20

医学の研究に、臨床にぜひ
 1台
 使いやすく、プログラムの
 種類が豊富です。

*カタログ、使用例集お送りし
 ます。

日本光電工業株式会社

東京都新宿区西落合1-31-4 〒161
 ☎ 03 (953) 1181 大代表