



|                  |   |
|------------------|---|
| Title            | 水産動物臓器の有機リン酸化合物に関する研究 III : サケ肝臓中の酸可溶性核酸成分について                                    |
| Author(s)        | 関, 伸夫; SEKI, Nobuo  |
| Citation         | 北海道大學水産學部研究彙報, 19(1), 46-51   |
| Issue Date       | 1968-05   |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/23346">https://hdl.handle.net/2115/23346</a> |
| Type             | departmental bulletin paper   |
| File Information | 19(1)_P46-51.pdf  |



# 水産動物臓器の有機燐酸化合物に関する研究 III

## サケ肝臓中の酸可溶性核酸成分について

関 伸 夫

### Studies on the Organic Phosphates in Viscera of Aquatic Animals III.

#### Acid-soluble nucleotides in the liver of salmon

Nobuo SEKI\*

#### Abstract

As a part of the biochemical study of the salmon during the spawning migration, the acid-soluble nucleotides and related substances of the liver of salmon (*Oncorhynchus keta*) captured just before arriving at an estuary for spawning, have been separated by anion-exchange chromatography (Fig. 1). The following nucleotides in male and female salmon livers were identified and estimated; AMP, ADP, ATP, IMP, UMP, UDPH, UDPAH, UDPUA, GMP, GDP, CMP, XMP, NAD, NADP and ADPR (Table).

These nucleotide patterns are similar to each other and to those obtained from other fish livers. The amounts of adenine nucleotides and UDP-sugars found in female salmon liver were higher than in male, while those of pyridine nucleotides were somewhat lower in female salmon liver.

#### 緒 言

水産動物臓器,ことに肝臓は物質代謝の上から極めて重要な器官であることはいうまでもない。肝臓中の酸可溶性核酸成分の分布もウリジンヌクレオチドの含量が高く,このことを反映しているように思われる。また動物の種によりこれらの成分に質的,量的にかなりの差があることを認めており,比較生化学の立場から興味深く,この点からも検討を行っている。ここではサケ(*Oncorhynchus keta*)肝臓中の酸可溶性核酸成分について報告する。サケ肝臓中のヌクレオチド類については Tsuyuki<sup>1)</sup>が *Oncorhynchus tshawytscha* の肝臓で,定性的に分布をみているが,著者はさらに詳細な検討を行うとともに,サケの産卵洄游時,特に溯河後の飢餓代謝における肝臓の生理作用研究の面から,これらの成分の差異を知ることは意義のあることと考え,この点から,今回はまず溯河直前のサケ雌雄より別々に採取した肝臓を用いて分析を行ったので,その結果を報告する。またサケ肝臓の自己消化におけるヌクレオチド成分の変化についても一知見を得たので併せて報告する。

#### 実験方法および結果

試料は1966年10月28日,北海道上磯町近海で捕獲即殺したもので,溯河直前のものと考えられる雌雄のサケ(試料 I:体重 3.50kg,肝臓重量 47g,♂,および試料 II:体重 4.05kg,肝臓重量

\* 北海道大学水産学部生物化学講座  
(Laboratory of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

115g, ♀) および北洋 (167°42'E, 53°18'N) で1966年5月27日に捕獲し同年8月10日まで -18°~-20° に凍結保管したサケを使用した。

魚体より肝臓を摘出, 秤量後, 肝臓重量の2倍量の冷0.6N-HClO<sub>4</sub>で磨細抽出した。抽出液を遠心分離し, 得られた上澄液を活性炭処理後, アニオン交換クロマトグラフィーに供した。以上の実験方法ならびに得られた各画分の再クロマトグラフィー, 同定の方法は前報の方法<sup>2,3)</sup>に準じて行った。

サケ肝臓(試料 I および II)の酸可溶性核酸成分のクロマトグラムを Fig. 1 に示し, 得られた各画分の分析結果を Table に要約した。

Fig. 1 の A および 1 のピークは, ヌクレオシド, ベースの画分である。両画分とも Dowex 1×4 塩酸型カラムで再クロマトグラフィーを行い, さらにペーパークロマトグラフィーにより分別精製を行い, 試料 I (♂) から, Ad\*, AdR, UrR, Hx, HxR, GuR, nicotinamide を, 試料 II (♀) からは AdR, UrR, Hx, HxR, nicotinamide を検出したが, これらの成分の他に微量の未同定成分がかなり見出される。

B および 2 の画分は主として, CDP 誘導体 (CDP-X) と Xa より成るが, この両者は Dowex 1×8 義酸型カラムで 0.0005N 義酸または 0.001N 義酸を用いることにより分離溶出される。

ピーク 5 は n-ブタノール-酢酸-水 (2/1/1) でペーパークロマトグラフィーを行うと, Ad, AdR, AMP の他に R Ad 0.24 のニンヒドリン陽性のスポットが得られるが, このものは紫外線吸収がなく, リン酸, リボースの反応が陰性であったので検討しなかった。

ピーク H および 9 の画分は, いずれもペーパークロマトグラフィー [溶媒: エタノール-M-酢酸アンモニウム緩衝液, pH 7.5 (75:30)] により 4 個のスポットが得られる。展開距離の大きい方から ① ③③④ とすると (Rf 値は, それぞれ 0.74, 0.33, 0.13, 0.05), ① の紫外線吸収スペクトルは λ max 253 mμ (pH 2), 246 mμ (pH 11) にあり, リン酸, リボースともに検出されない不明のスポットである。② は UDPAH である。③ はアデノシンの紫外線吸収スペクトルを示すが, 量的に少なく検討出来なかった。④ はキサンチンのスペクトルを示し, 総リン酸, リボースが共にキサンチン 1 モルに対して各 1 モル存在すること, ならびに, カラムからの溶出位置<sup>4)</sup> から考えて, XMP と同定した。

ピーク 11 は, 主成分は GMP であるが, 少量の ADPR を含んでいる。

ピーク M および ピーク 13 は UDP 誘導体であり, ナフトレゾルシン反応<sup>5)</sup> で紫色を呈し, かつペーパークロマトグラフィーで標準の UDP-グルクロン酸に一致する [展開剤: エタノール-M-酢酸アンモニウム緩衝液, pH 3.8 および pH 7.5 (75:30), 下降法 8 時間でそれぞれ 30mm, 29mm 移動する]。糖部分をさらに pH 2, 80°, 30 分間ラクトン化するとグルクロン酸ラクトンの他にガラクトウロン酸に相当するスポットが得られるので, 恐らくこのものは UDP-グルクロン酸と UDP-ガラクトウロン酸の混合物であると推定した。

ピーク N, O およびピーク 14 は主成分は GDP であるが, 少量の AdR 系スペクトルを示す成分が混在する。このものについては未同定である。

次に北洋で捕獲したサケ肝臓のクロマトグラフィーの典型的なパターンを Fig. 2 に示した。北洋産サケは捕獲後, 気温 10° に 16 時間放置後母船内で急速凍結し -18°~-20° で 75 日間保管したものである。

ヌクレオシド・ベースの画分からは, Ur, UrR, Ad, AdR, Hx, HxR, nicotinamide が検出され, 他に微量の未同定成分がかなり存在する。

ピーク B (Fig. 2) は Ad と GuR より成る。次の巨大なピーク (ピーク C) は主として Xa であるが, 微量の未同定成分が含まれている。ピーク D は NAD である。

ピーク E, F, G はそれぞれ AMP, UMP, IMP である。ピーク H は溶出位置から UDPAH ま

\* ヌクレオシド, ベースの略号は Ad (Adenine), Ur (Uracil), AdR (Adenosine), UrR (Uridine) のごとく表わした。

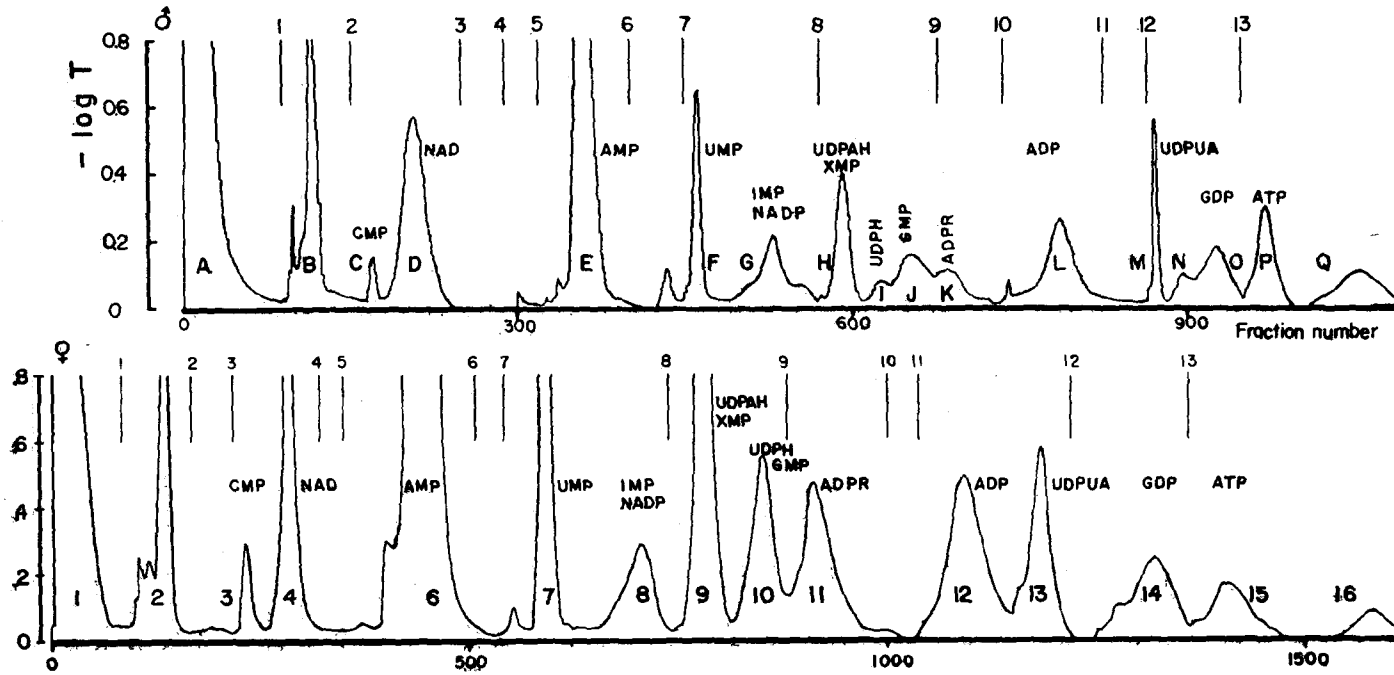


Fig. 1. Anion-exchange chromatograms of the acid-soluble substances in the liver of male (extract equivalent to 47 g) and female (115 g) salmon, captured just before arriving at an estuary for spawning  
 Exchanger used Dowex 1x8 formate, 100-200 mesh resin. Each 10ml fraction was collected.

Table Separation and characterization of acid-soluble nucleotides from the liver of salmon

| Sex | Fraction | Spectral type | Male          |                       |                 | Sugars after mild acid hydrolysis | Compound identified | Content $\mu$ moles/g wet weight | Female   |                     |                                  |
|-----|----------|---------------|---------------|-----------------------|-----------------|-----------------------------------|---------------------|----------------------------------|----------|---------------------|----------------------------------|
|     |          |               | Per mole base |                       |                 |                                   |                     |                                  | Fraction | Compound identified | Content $\mu$ moles/g wet weight |
|     |          |               | Ribose        | Acid-labile phosphate | Total phosphate |                                   |                     |                                  |          |                     |                                  |
| B   | 1        | Xa            |               |                       |                 | Xa                                |                     | 2                                | 1        | Xa                  |                                  |
|     | 2        | CyR           |               |                       |                 | CDP-X                             |                     |                                  | 2        | CDP-X               | 0.02                             |
| C   |          | CyR           | 0.78          |                       | 1.00            | CMP                               | 0.02                | 3                                |          | CMP                 | 0.03                             |
| D   |          | NAD           | 1.70          |                       | 1.93            | NAD                               | 0.17                | 4                                |          | NAD                 | 0.10                             |
| E   |          | AdR           | 1.05          |                       | 1.05            | AMP                               | 0.38                | 5                                | 1        | Ad                  |                                  |
|     |          |               |               |                       |                 |                                   |                     |                                  | 2        | AdR                 |                                  |
|     |          |               |               |                       |                 |                                   |                     |                                  | 3        | AMP                 |                                  |
|     |          |               |               |                       |                 |                                   |                     |                                  | 4        | non-nucleotide      |                                  |
| F   |          | UrR           | 0.79          |                       | 0.99            | UMP                               | 0.14                | 6                                |          | AMP                 | 0.85                             |
| G   | 1        |               |               |                       |                 |                                   |                     | 7                                |          | UMP                 | 0.18                             |
|     | 2        | HxR           | 1.02          |                       | 0.83            | IMP                               | 0.08                |                                  |          |                     |                                  |
|     | 3        | NAD           | 1.93          | 0.04                  | 3.33            | NADP                              | 0.17                | 8                                | 1        | IMP                 | 0.04                             |
| H   | 1        |               |               |                       |                 | non-nucleotide                    |                     |                                  | 2        | NADP                | 0.03                             |
|     | 2        | UrR           | 0.96          |                       | 1.94            | UDPAG                             |                     | 9                                | 1        | non-nucleotide      |                                  |
|     |          |               |               |                       |                 | N-acetyl glucosamine              |                     |                                  | 2        | UDPAG               |                                  |
|     |          |               |               |                       |                 | N-acetyl galactosamine            |                     |                                  |          | UDPAGal             | 0.27                             |
|     | 3        | AdR           | 0.85          |                       | 1.50            | unidentified                      |                     |                                  | 3        | unidentified        |                                  |
|     | 4        | XaR           | 0.81          |                       | 0.93            | XMP                               |                     |                                  | 4        | XMP                 |                                  |
| I   | 1        | UrR           | 0.88          |                       | 1.96            | Glucose                           |                     | 10                               | 1        | UDPG                |                                  |
|     |          |               |               |                       |                 | Galactose                         |                     |                                  |          | UDPGal              | 0.17                             |
|     | 2        | GuR           |               |                       |                 | GMP                               |                     |                                  | 2        | GMP                 |                                  |
| J   |          | GuR           | 0.95          |                       | 1.08            | GMP                               | 0.08                | 11                               | 2        | GMP                 | 0.12                             |
| K   |          | AdR           |               |                       | 2.10            | ADPR                              | 0.05                |                                  | 1        | ADPR                | 0.01                             |
| L   |          | AdR           | 1.10          | 0.95                  | 1.88            | ADP                               | 0.13                | 12                               |          | ADP                 | 0.16                             |
| M   |          | UrR           |               | 0.79                  | 1.81            | Uronic acid                       | 0.06                | 13                               |          | UDPUA               | 0.15                             |
| N   |          | AdR           |               |                       | 2.40            | unidentified                      |                     | 14                               | 1        | unidentified        |                                  |
| O   |          | GuR           | 0.84          | 0.92                  | 1.99            | GDP                               | 0.08                |                                  | 2        | GDP                 | 0.09                             |
| P   |          | AdR           |               |                       |                 | ATP                               | 0.09                | 15                               |          | ATP                 | 0.06                             |
| Q   |          | AdRS          | 1.02          |                       | 1.08            | AMPS or AMPS-X                    | 0.06                | 16                               |          | AMPS or AMPS-X      |                                  |

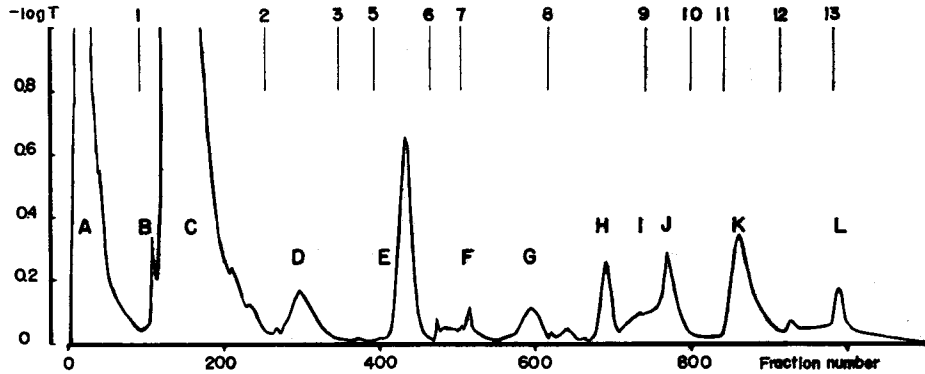


Fig. 2. Ion-exchange chromatography of the acid-soluble substances in the frozen liver of salmon

The extract, equivalent to 72 g of liver, was separated on a Dowex 1×8 formate column.

たは UDPH の画分であるが、紫外線吸収スペクトルは  $\lambda_{\max}$  240 m $\mu$  (pH 2) を示し、ウリジン系のスペクトルとは異なり、このものの本体は不明である。

ピーク I、ピーク J はいずれも単一の成分ではないが、主成分はそれぞれ GMP, ADPR と推定される。ピーク K は ADP, ピーク L は GDP と同定した。

#### 考 察

サケ肝臓中のヌクレオチドパターンは今までに分析を行ってきたコイ<sup>3)</sup>、ニジマス<sup>6)</sup> 肝臓中のパターンと定性的に類似しており、この点からは雌雄に差は認められなかった。またサケ肝臓について Tsuyuki<sup>1)</sup>、および Forrest and Hansen<sup>7)</sup> が報告している結果とも、ヌクレオチド成分は定性的に似た結果を得たが、新たに、CMP, XMP を検出した。

UDP-糖誘導体である UDPAH, UDPH については Tsuyuki らは UDPAG と UDPGal のみを認めているが、われわれの実験では、サケ、ニジマス、コイのいずれからも UDPAG, UDPAGal, UDPG, UDPGal を検出しており、Forrest and Hansen が指摘しているごとく、魚類の肝臓では哺乳動物と同様に、これらの化合物は普通に見出されるものと思われる。

ヌクレオシド・ベースについては、サケ肝臓については報告がないが、コイ、ニジマスの場合と全く同様のパターンを示し、AdR, Hx, HxR, Xa, は常に見出される。

ヌクレオチド含量は、コイ、ニジマスに較べると、かなり少量であるが、今回の試料が、平常状態でのサケ肝臓の分析でない点を考えると、直接比較は出来ない。雌雄の間では、かなりの差が認められた。雄の方がヌクレオチド含量は少なく、アデニンヌクレオチド、ウリジンヌクレオチドとも雌の 1/2 程度であるが、ピリジンヌクレオチドはむしろ雄の方が多い。特に雄では ADP 含量の差に比して AMP が少なく、また、糖代謝と関連の深い UDP-糖化合物も AMP と同様に低いことから、雄の方が物質代謝機能の低下を表わしているようにも考えられるが、捕獲時の条件や個体差などの点を考慮すれば即断は出来ない。本実験に使用したサケ雌雄の肝臓重量には大きな差があり、体重に対する肝臓重量の比は雌 2.8%, 雄 1.3% であった。この値は五十嵐・座間<sup>9)</sup> の報告している河口で捕獲されたサケ雌雄の値と同じ傾向にあるが、産卵場ではこの値は雌雄で逆になる点を考え合すと、溯河時の代謝におけるヌクレオチド関連化合物の差異は興味深い。

北洋産サケ肝臓の分析結果 (Fig. 2) は試料 I, II あるいはコイなどは全く異なるパターンを示し

ている。これは捕獲してから凍結保管するまで、あるいは保管中に自己消化を受けたためと考えられるが、この処理条件下では筋肉においては多量の IMP が蓄積されるが肝臓では、IMP の蓄積は見られず Xa が多量に検出された。このことから肝臓でのヌクレオチド類の分解は、関連酵素系あるいは酵素活性の面で、筋肉とはかなり異なることは明白で、この点にも肝臓機能の特異性が表われているように思われる。

#### 要 約

産卵溯河直前の雌雄のサケについて、肝臓中の酸可溶性核酸成分を分析し、アデニンヌクレオチド、ウリジンヌクレオチドともに雌の方に多いが、ピリジンヌクレオチドはむしろ雄に多い結果を得た。サケ肝臓中のこれらの成分は既報の無脊椎動物のアワビよりはコイに類似のパターンを示す。肝臓中のヌクレオチド成分の死後変化は筋肉とはかなり異なる。

本研究の遂行にあたり、終始御懇切な御指導を賜わった斎藤恒行教授に深厚なる謝意を表します。

#### 文 献

- 1) Tsuyuki, H., Chang, V.M., and Idler, D.R. (1958) *Can. J. Biochem. Physiol.*, **36**, 465.
- 2) 関 伸夫・新井健一・斎藤恒行 (1967) 北大水産彙報, **17**, 184.
- 3) ——— (1967) 同誌 **18**, 231.
- 4) 今田 哲・野上昱雄・中雄義雄・五十嵐政二 (1964). 武田研究所年報, **23**, 54.
- 5) 阿武喜美子・瀬野信子 (1965) 実験化学講座, **23**, 生物化学 I, p373 東京, 丸善株式会社.
- 6) 関 伸夫・斎藤恒行 (1967) 日本農芸化学会北海道・東北支部会発表.
- 7) Forrest, R. J. and Hansen, R. G. (1959) *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 751.
- 8) 五十嵐久尚・座間宏一 (1953) 日水誌, **18**, 618.