



| | |
|------------------|---|
| Title | 魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化－Ⅲ：ヒメマス筋肉および肝臓におけるエネルギー代謝酵素について |
| Author(s) | 中井, 俊雄; NAKAI, Toshio; 柴田, 猛 他 |
| Citation | 北海道大學水産學部研究彙報, 21(3), 234-239 |
| Issue Date | 1970-11 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/23431 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 21(3)_P234-239.pdf |



魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化—Ⅲ
ヒメマス筋肉および肝臓におけるエネルギー代謝酵素について

中井 俊雄・柴田 猛・斎藤 恒行*

Seasonal Variations in the Metabolic Activities of Tissue Constituents
of Some Fishes—III

On the activity of energy-metabolizing enzymes in the muscle and
liver of Kokanee salmon

Toshio NAKAI, Takeshi SHIBATA and Tsuneyuki SAITO

Abstract

Seasonal variations in the activity levels of some energy-metabolizing enzymes, eleven glycolytic and three concerning the TCA cycle, have been studied in the muscle and liver of Kokanee salmon, *Oncorhynchus nerka f. kenerlyi*.

In June, Bücher's principle of constant proportion groups of glycolytic enzymes was seen to hold for the enzymes including triosephosphate isomerase (TIM), glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GPDH), phosphoglycerate mutase (GPM), phosphoglycerate kinase (PGK) and enolase (EN) found in the muscle and liver.

In October and November this principle did not hold for the muscle but did for the liver.

From these results it may be considered that in the fish muscle the constant proportion in the activity of glycolytic enzymes is closely related to the physiological conditions of the fish.

緒 言

生物は組織内部機能の恒常性を維持するために多様な機構、種々の代謝調節機能を有している。ミトコンドリアに結合して存在している呼吸系ではそれに関与する種々の酵素やチトクロームが一定の整数比で存在していること¹⁾が知られ、解糖系酵素についてもある酵素群は組織の如何を問わず常にその活性が一定の比で存在していることが Bücher らにより報告されている^{2,3,5)}。Bücher らはこの酵素群を constant-proportion groups と称し、これには GPDH**、TIM、GPM、PGK、EN が属しており、LDH や GDH などでは組織により活性の相対値が著しく異なっているとされている。

しかし、魚類の場合には Bücher らのいう constant-proportion groups が必ずしも見いだされない⁴⁾。特に GPDH がこれからはずれる現象がみられる。著者らはヒメマスの筋肉、肝臓におけるこ

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

** 本報告では酵素名は以下の略称を用いた。
ALD: aldolase, EN: enolase, GDH: alfa-glycerophosphate dehydrogenase, GPDH: glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GPM: phosphoglycerate mutase, LDH: pyruvate dehydrogenase, PEK: phosphofructokinase, PGK: phosphoglycerate kinase, PK: pyruvate kinase, PGM: phosphoglucose mutase, TIM: triosephosphate isomerase, MDH: malate dehydrogenase, ICDH: iso-citrate dehydrogenase, FUM: fumarase

れらグループの存在の確認と、産卵という生理状態の変化に伴って起こる酵素活性の移動を追跡し、併せてその他の解糖系酵素 (PGM, PFK, ALD, GDH, PK, LDH), TCA cycle 酵素 (MDH, ICDH, Fumarase) の活性レベルの変化についても検討した。

実 験 方 法

- 1) 試料 北海道さけます孵化場千才支場で飼育されたヒメマス2年魚を使用し、1968年6月、10月、11月(産卵直前)にサンプリングを行った。各回とも雌雄各5尾を試料とした。
- 2) 酵素液の調製 ヒメマスを即殺後筋肉(背筋部)、肝臓を9倍量の冷0.3M マンニット溶液(10mM トリエタノールアミン+3mM EDTA, pH7.2)で磨砕抽出した。その懸濁液を凍結し、実験室に搬入した。融解後6000 r.p.m. 10分遠心分離し、その上清液をさらに105000×gで30分間超遠心分離した。上清液を酵素液として活性の測定に供した。超遠心分離機は日立製55-P型を用いた。
- 3) 活性測定 ALD, TIM, GDH, LDH, MDH, ICDH は Delbrueck らの方法⁵⁾, GPDH と PGK は Adam 法⁶⁾, PFK は Vogell 法⁸⁾, GPM, EN, PK, PGM は Boehringer 社の資料(Jan. 1961), Fumarase は Racker 法⁷⁾で測定した。緩衝液はトリエタノールアミン緩衝液(0.15M, pH7.6)を使用した。反応液の全容は3mlで25°C. 3分間反応で活性を測定した。Fumarase 活性はL-リンゴ酸を基質として生成するフマル酸の量で表わした。それ以外の酵素活性は還元型助酵素の吸収変化に基づくものであり、一時間の組織g当りの基質の減少量で示した。なお、340 m μ の吸収は富士工業製 ADS-Fuji-UV メーターを使用して測定した。
- 4) 試薬 基質の fructose-6-phosphate と fructose-diphosphate の Na 塩, glyceraldehyde-3-phosphate, dihydroxyacetone, DL-isocitrate は Sigma 製, NADH, NADP, ATP, ADP は Boehringer 製, 3-phosphoglycerate の Ba 塩, L-malic acid は和光純薬製, oxaloacetic acid は British Drug House 製を使用した。glucose-1-phosphate⁹⁾, glucose-1,6-diphosphate¹⁰⁾, 2-phosphoglycerate¹¹⁾, phospho-enol-pyruvate¹²⁾, pyruvate¹³⁾ はそれぞれの方法で調製した。活性測定の補助酵素はすべて Boehringer 製を用いた。

結 果

ヒメマス筋肉の解糖系酵素と TCA cycle の MDH, ICDH, Fumarase の 6月, 10月, 11月(産卵直前)における酵素活性レベルを第1図に示した。各回とも雌雄の活性レベルの間に大きな差が認められなかったので雌の活性レベルを代表して示した。結果は5尾の平均値を対数目盛りでプロットして表わした。

6月においては TIM の活性が一番強く、GPDH, PGK, GPM が大体同じ活性レベルを示し、次いで EN の順となっており、Bücher らの提唱する constant-proportion groups が存在している。

10月には TIM, GPM, PGK, EN は6月と大体同じ活性レベルを維持しているのに対し、GPDH において著しい活性レベルの減少がみられる。その結果これら5つの酵素群の活性バランスがくずれ、constant-proportion groups の存在が認められない。

産卵直前の11月には、これら5つの酵素の活性はいずれも低下しているが、GPDHの低下が大きく活性レベルが EN より低くなっている。この結果、10月と同様に constant-proportion groups の存在が認められない。

ALD, PK の活性レベルは時期的に変化するが、ほぼ同一の活性比を保っている。このことは Bücher らも認めており、彼らの報告と一致している。また、PFK と PGM も時期的に変化するがほぼ同一の活性比を保っていた。他の解糖系酵素においても時期的に活性が変化するが、特に LDH で酵素活性の変化が著しく、10月に活性が上昇し、産卵直前の11月に減少を示していた。

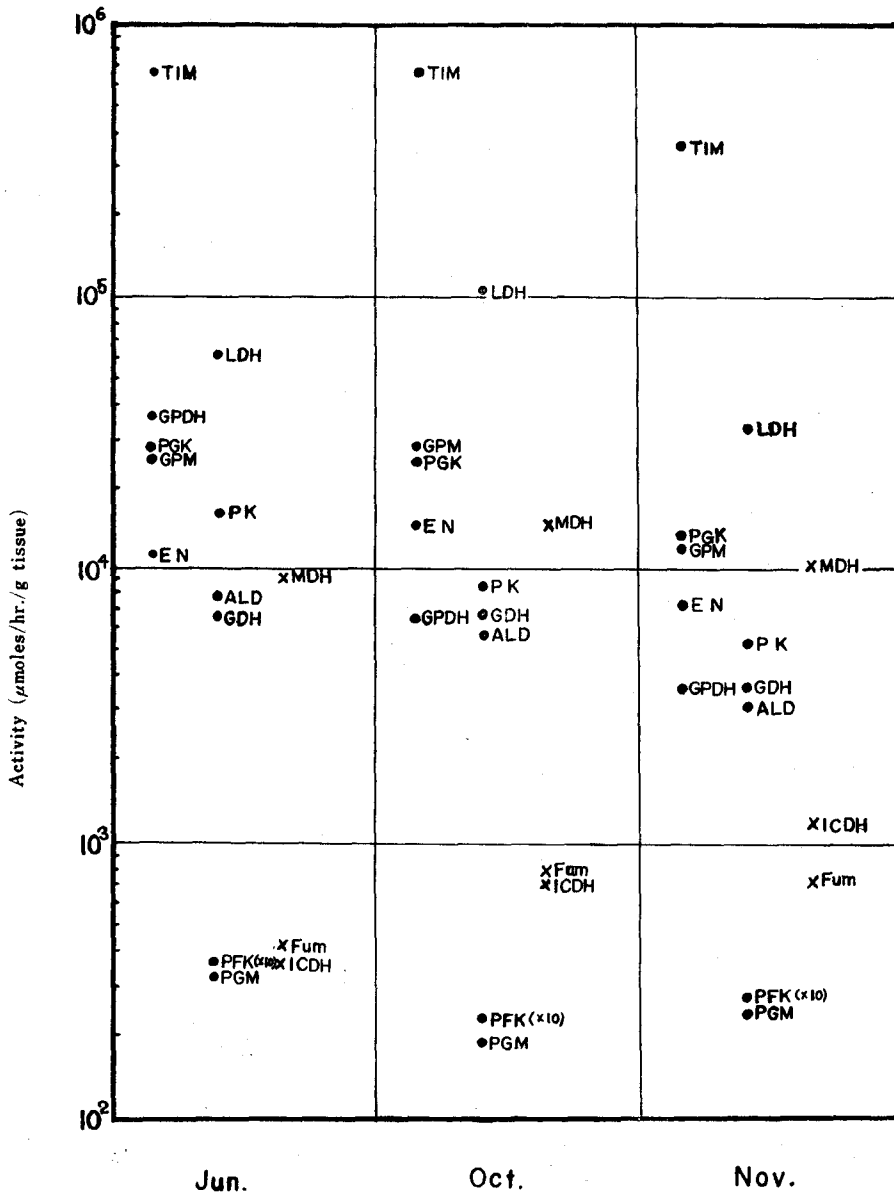


Fig. 1. Seasonal variations in the activity levels of some energy-metabolizing enzymes of Kokanee salmon muscle.

Enzyme activities are expressed as $\mu\text{moles/hr./g tissue}$.

The results are given as mean values for five fishes of a female one.

•, glycolytic enzymes; X, TCA cycle enzymes.

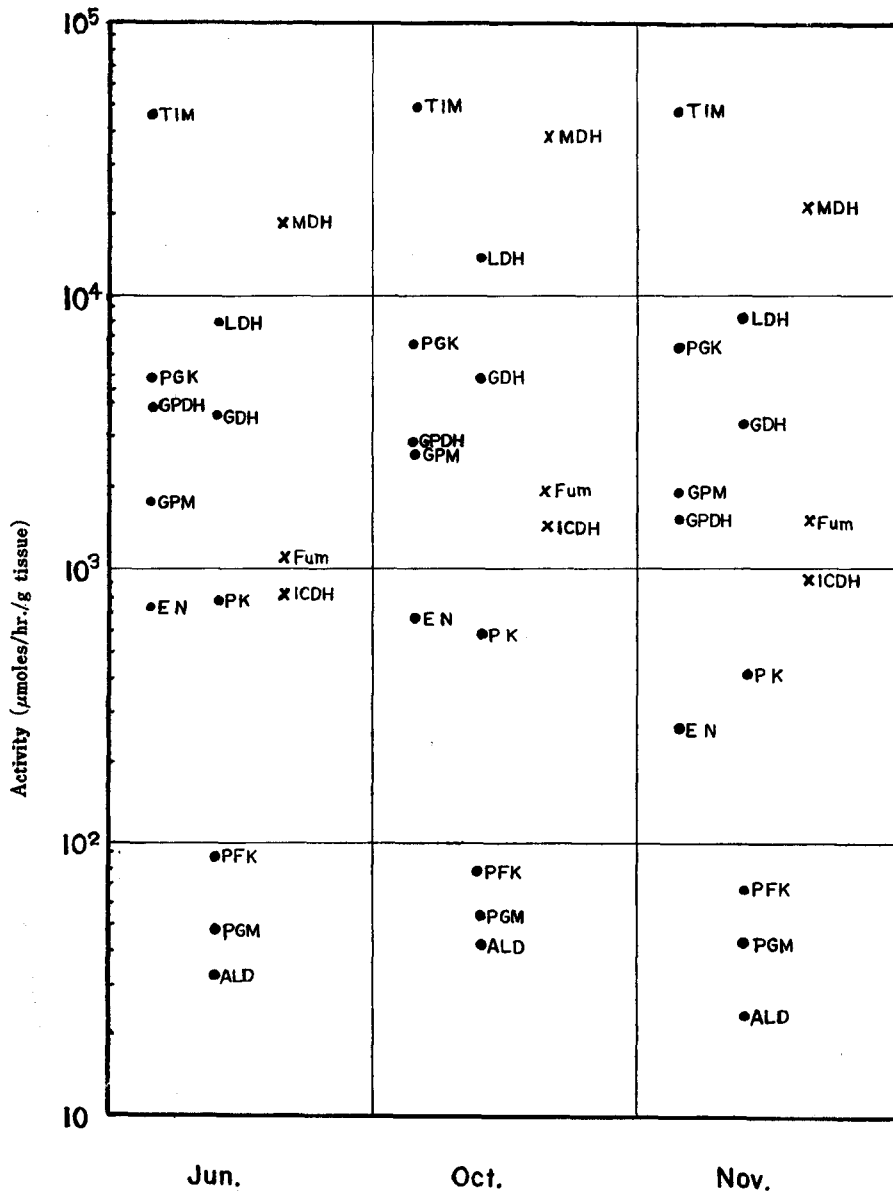


Fig. 2 Seasonal variations in the activity levels of some energy-metabolizing enzymes of Kokanee salmon liver.

Enzyme activities are expressed as $\mu\text{moles/hr./g tissue}$.

The results are given as mean values for five fishes of a female one.

●, glycolytic enzymes; X, TCA cycle enzymes.

一方、TCA cycle 酵素の MDH, ICDH, Fumarase では活性が時期的に一定ではない。ICDH は徐々に活性が増加する傾向を示した。

ヒメマス肝臓の解糖系および TCA cycle 酵素 (MDH, ICDH, Fumarase) の 6 月, 10 月, 11 月における活性レベルを第 2 図に示した。

6 月には, TIM, PGK, GPDH, GPM, EN の順に活性レベルが低くなっており, 筋肉の場合と同様に, 解糖系の constant-proportion groups が存在している。

10 月, 11 月にはこれら酵素群の活性の間に若干差はみられるが, ほぼ constant-proportion groups が存在していると判断される。解糖系全体としてみた場合にも, 筋肉に比較すると, 産卵に至るまでの各時期において著しい活性レベルの変化はみられなかった。したがって, 筋肉と肝臓の解糖系酵素の変化の間には, 一定の相関性は認められなかった。

考 察

Bücher らの提唱する解糖系の constant-proportion groups の存在は哺乳動物や鳥類で確認されているが魚類においてはほとんど検討されていない。これら 5 つの比例関係を示す酵素はいずれも triose と glyceric acid の代謝に関係する酵素群 (phosphotriose-glyceratephosphate group) であって, これらの基質段階では解糖系は重要な側路をもたないから, これら酵素間の量的関係が遺伝的に一定の比に活性が決められていることは機能的な意味をもつと理解されており, この点から考えれば 6 月にヒメマス筋肉と肝臓において, このグループが存在することは当然な結果といえよう。

しかし, ヒメマスの産卵に至るまでの 10 月, 11 月において, 筋肉では GPDH の挙動が顕著でありそのためこのグループの存在が認められない。このことは魚の場合には, 5 つの酵素群の比例関係は常に一定ではなく, 産卵などの生理状態の変化に伴って影響を受けるものと推察される。一方, 肝臓の場合にはどの時期においてもこれらの酵素群はほぼ同一の活性比で存在しており, 筋肉とは異なった挙動を示す。これは筋肉と肝臓の機能の差, すなわち肝臓の場合には, 多少の環境変化が起っても生体を常に一定に保持しようとする機能を裏付けているものと推察される。

また, ヒメマス筋肉においては産卵などの生理状態の変化により, この constant-proportion groups も変化することから, 魚類の場合に必ずしもこの存在が認められないのは実験材料の生理状態の差が関係しているものと推察される。

要 約

ヒメマス筋肉, 肝臓について Bücher らの提唱している解糖系の constant-proportion groups の存在の有無と, 産卵という生理状態の変化に伴う酵素活性の変動を目的として, 解糖系酵素 11 種と TCA cycle (MDH, ICDH, Fumarase) 酵素の活性を 6 月, 10 月, 11 月 (産卵直前) に測定した。その結果は次のように要約される。

- 1) 6 月には, Bücher らのいう constant-proportion groups (TIM, GPDH, GPM, PGK, EN) の存在が筋肉, 肝臓において認められた。
- 2) 10 月, 11 月では筋肉において, GPDH 活性の減少が著しく, この constant-proportion groups の存在が認められない。
- 3) 肝臓では 10 月, 11 月においてもこのグループが存在する。
- 4) ヒメマス筋肉において, constant-proportion groups は不変ではなく産卵などの生理状態により影響を受けるものと考えられる。
- 5) 他の解糖系酵素では LDH の活性変化が顕著であった。

謝 辞

ヒメマスの採取に御便宜をいただいた。北海道立水産孵化場中山忠衛氏，寺尾俊郎氏並びに北海道さけます孵化場千才支場の方々に厚く御礼申し上げる。

本研究費の一部は昭和43年度文部省科学研究費によった。

文 献

- 1) 水原舜爾・菊池吾郎 (1966). 新化学 (上巻) 483 p. 東京; 医学書院.
- 2) Pette, D., Luh, W. & Bücher, Th. (1964). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **7**, 419.
- 3) Bücher, Th. & Pette, D. (1963). Vth. International Congress of Biochemistry, Evolutionary Biochemistry, 271 p. New York; Pergamon Press.
- 4) 柴田 猛・未発表
- 5) Delbrück, A., et al (1959). *Biochem. Z.*, **331**, 273.
- 6) Adam, H. (1961). *Biochem. Z.*, **335**, 25.
- 7) Racker, E. (1950). *Biochim. Biophys. Acta.*, **4**, 221.
- 8) Vogell, W., et al. (1959). *Biochem. Z.*, **332**, 81.
- 9) Mc Creary, R.M. & Hassid, W. Z. (1957). in Colowick, S.P. and Kaplan, N. O. (Editors), *Methods in Enzymology*, **3**, 137 p. New York; Academic Press.
- 10) Leloir, L.F. & Paradini, A.C. (1957). in Colowick, S.P. and Kaplan, N. O. (Editors), *Methods in Enzymology*, **3**, 143 p. New York; Academic Press.
- 11) Warburg, O. & Christian, W. (1941). *Biochem. Z.*, **310**, 389.
- 12) Clark, V.M. & Kirby, A.J. (1963). *Biochim. Biophys. Acta*, **78**, 732.
- 13) 細谷憲政 (1953). 標準生化学実験 565 p. 東京. 文光堂.