



Title	魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化－Ⅳ：ヒメマス筋肉中の解糖系酵素活性の産卵による変化
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), 240-245
Issue Date	1970-11
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/23432">https://hdl.handle.net/2115/23432</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	21(3)_P240-245.pdf



魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化—Ⅳ  
ヒメマス筋肉中の解糖系酵素活性の産卵による変化

中井 俊雄・柴田 猛・斎藤 恒行\*

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

Changes in the activity levels of the muscle glycolytic enzymes by  
spawning of Kokanee salmon

Toshio NAKAI, Takeshi SHIBATA and Tsuneyuki SAITO

Abstract

The seasonal variations in the activity levels of seven glycolytic enzymes obtained from the muscle of Kokanee salmon, *Oncorhynchus nerka f. keneryli*, have been studied over a 10-month period.

The fish examined were divided into two groups, one group included the two- or three-year-old spawning fish, and the other the one-year-old non-spawning fish.

The activity levels of the enzymes observed showed a slight difference between the two groups during the spawning period (Oct.) e.g., the decreasing rates of the levels were very remarkable, especially those of lactate dehydrogenase (LDH) and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GPDH), in the spawning group as compared with the non-spawning one.

These results are expected to show a slowdown of the metabolic rates of the fish during the spawning period.

緒 言

養殖魚は環境、栄養、生活周期などその置かれている状態の変化に伴いその生活機構も大きな影響を受ける。著者らはこれら諸条件の変化と魚体の生理機構との関係を主として生化学的な立場で検討する目的をもって、組織の酵素作用に着目した。従来この種の研究は比較的少なく、ことにエネルギー代謝系の酵素活性についての発表はほとんどない。従って本研究においては特に生体内で重要な役割りを演じている解糖系を中心としたエネルギー代謝に関係する酵素の活性レベルの面から検討し新知見を得ようと試みた。

まず、その一つの条件として著しい生理状態の変化を伴うことが予想される産卵を含む周年変化を追跡し、産卵が解糖系酵素活性レベルにいかなる影響を及ぼすかを調査した。そのために産卵することが予定されているグループ（2,3年魚）と産卵をしないグループ（1年魚）について、その筋肉の酵素活性の時期的変化を追求し両者について酵素活性の比較検討を行った。

実 験 方 法

1) 試料 産卵が予定されているグループのヒメマス2年魚および3年魚は北海道さけます孵化場千才支場で飼育されたもの、ヒメマス1年魚は北海道さけます孵化場森支場で飼育されたものを毎

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

回雌雄各5～7尾使用した。なお、本実験は1969年6月から1970年4月にわたって行った実験結果である。

2) 酵素液調製 断頭直後のヒメマス筋肉を9倍量の冷0.3Mマンニット溶液(pH 7.2, 10mMトリエタノールアミン+3mM EDTA)で磨砕抽出し、6000 r. p. m. で遠心分離後上清液をさらに105000×gで30分間超遠心分離した。この上清液を酵素液として活性測定に供した。超遠心分離機は日立製55-P型を使用した。

3) 酵素活性の測定 PGI\*\*、ALD、LDHはDelbrueckらの方法<sup>3)</sup>、GPDHとPGKはAdam法<sup>4)</sup>、PKとPGMはBoehringer社の資料(Jan. 1961)によって測定した。緩衝液はtriethanolamine buffer(pH 7.6 0.15M)を使用し、25°Cで3分間反応を行って活性を求めた。活性測定はすべて還元型助酵素の吸収変化に基づいており、活性は抽出蛋白mg当りの一時間の基質の減少量で表わした。340m $\mu$ の吸収は富士工業製ADS-Fuji-UVメーターを使用した。

4) 蛋白の測定 蛋白量は5%過塩素酸沈澱物を0.2N NaOHに溶解し280m $\mu$ の吸光度を求め、係数を乗じてKjeldahl法によるN含量に換算した。なお280m $\mu$ の吸収は島津製の光電分光光度計QV-50を使用して測定した。

5) 試薬 基質のglucose-1-phosphate<sup>5)</sup>、glucose-1, 6-diphosphate<sup>6)</sup>、phosphoenol-pyruvate<sup>7)</sup>、pyruvate<sup>8)</sup>はそれぞれの方法で調製した。fructose-diphosphateとfructose-6-phosphateのNa塩はSigma製、NADH、NADP、ATP、ADPはBoehringer製、3-phosphoglycerateのBa塩、その他の試薬は和光純薬製を使用した。活性測定の補助酵素はすべてBoehringer製を用いた。

## 結 果

全期間を通して雌雄の活性レベルの差は少なく、また変化の傾向もほぼ一致しているので、本報告では雌の変化のみを記載して検討を進めた。

PGM、PGI、ALDの結果を第1図に示した。結果は5～7尾の測定値の平均値と平均の標準誤差で表わした。なお、2年魚の6月の結果は3尾の平均値で示した。産卵する2年魚と3年魚の場合、PGMでは8月に活性が上昇し、産卵直前の10月に減少を示す。PGIも10月に活性が減少し、ALDも産卵に至るまで徐々に活性が下降する傾向を示した。それに対し、産卵に関与しない1年魚ではPGM、PGI共に活性が上昇する傾向を示すが大きな変化はみられない。ALDの場合は時期的に活性のばらつきが認められ、一定の傾向がみられない。

GPDH、PGK、PKの結果を第2図に示した。産卵するグループではGPDHが産卵に至るまでに著しい活性低下を示す。PGK、PKの場合は共に8月に活性が上昇し、10月に活性が減少している。

1年魚の場合にはGPDHでは時期的に大きな活性レベルの変化はみられない。PGKは11月まで活性が上昇し、水温の低い1月に活性が低下するが、4月には再び活性が上昇する。PKでは1月に活性の上昇がみられるが、4月には減少する傾向を示す。

LDHの結果を第3図に示した。産卵するグループでは活性が徐々に上昇し、産卵直前の10月に著しい活性の低下を示している。一方、産卵しない1年魚においては、1月にわずかな活性の低下がみられるが、他の時期においては徐々に活性の増加する傾向を示した。

以上、産卵するグループと産卵しないグループでは活性の周年変化パターンが異なり、特にLDHとGPDHの変化において顕著な差がみられた。

\*\* 本報告では酵素名は以下の略称を用いた。

PGM: phosphoglucose mutase, PGI: phosphoglucose isomerase, ALD: aldolase, GPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, PGK: phosphoglycerate kinase, PK: pyruvate kinase, LDH: lactate dehydrogenase

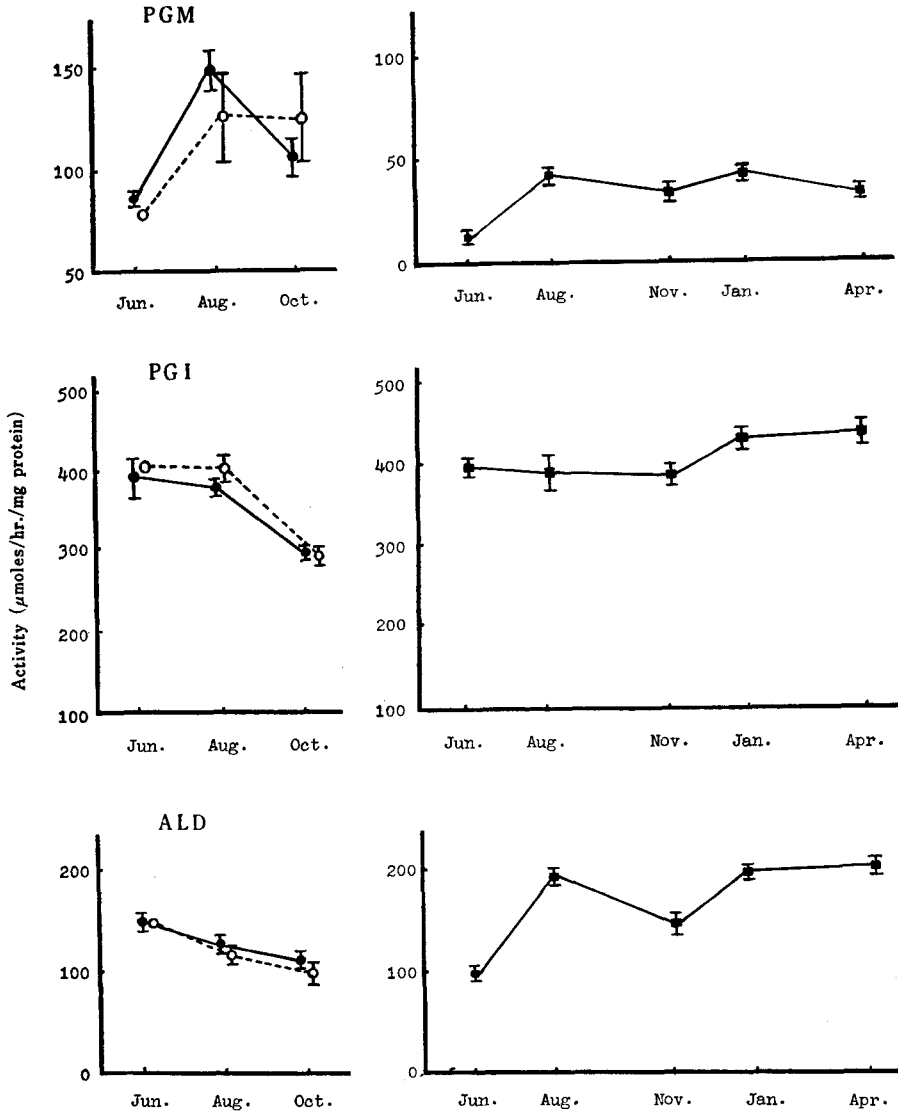


Fig. 1 Seasonal variations in the levels of phosphoglucose mutase (PGM), phosphoglucose isomerase (PGI) and aldolase (ALD) activities of Kokanee salmon.

Each point represents the mean value from five to seven fishes.

Bars are the standard error of the mean. Enzyme activities are expressed as  $\mu\text{moles/hr./mg protein}$

■, one-year-old fish; ○, two-year-old fish; ▲, three-year-old fish

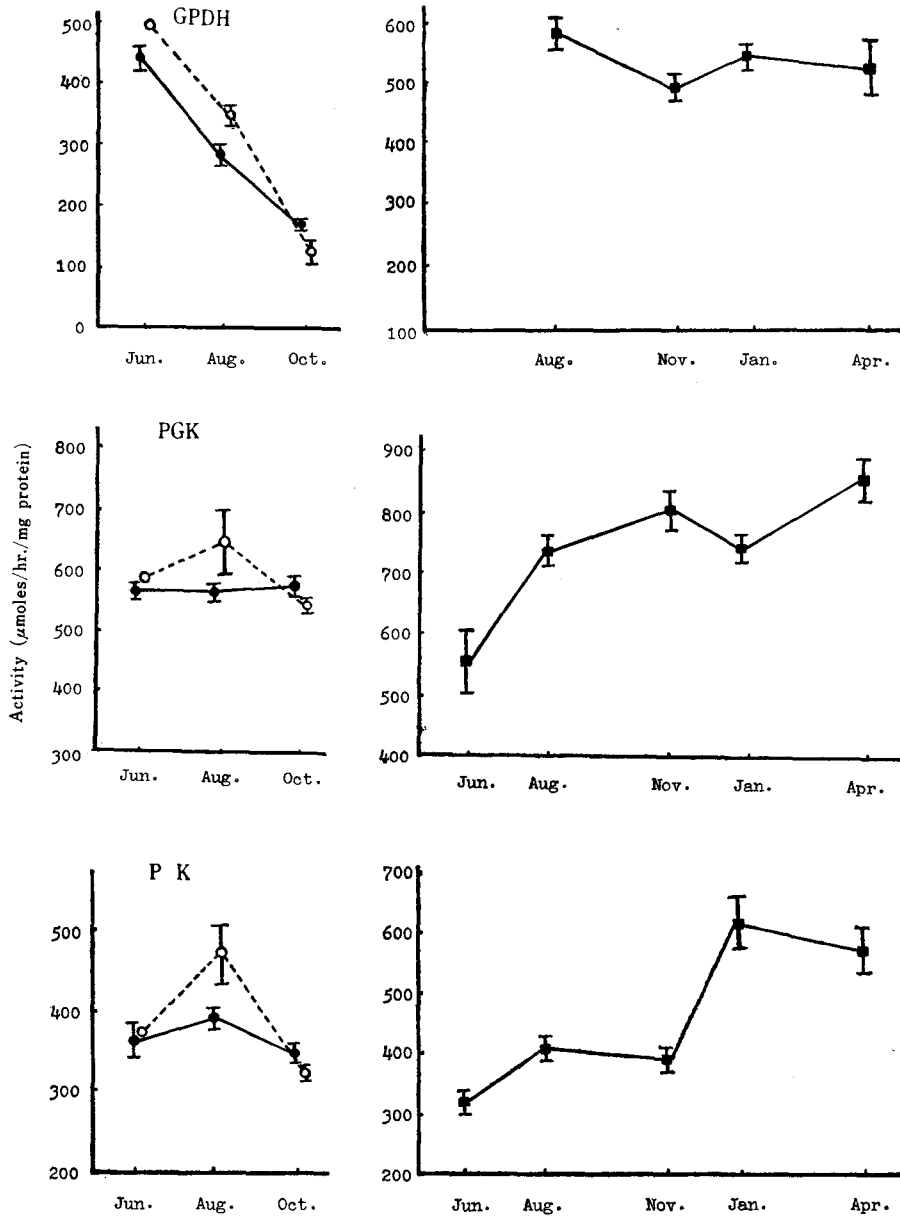


Fig. 2 Seasonal variations in the levels of glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GPDH), phosphoglycerate kinase (PGK) and pyruvate kinase (PK) activities of Kokanee salmon.

Each point represents the mean value from five to seven fishes.

Bars are the standard error of the mean. Enzyme activities are expressed as  $\mu\text{moles/hr./mg protein}$

■, one-year-old fish; ○, two-year-old fish; ▲, three-year-old fish

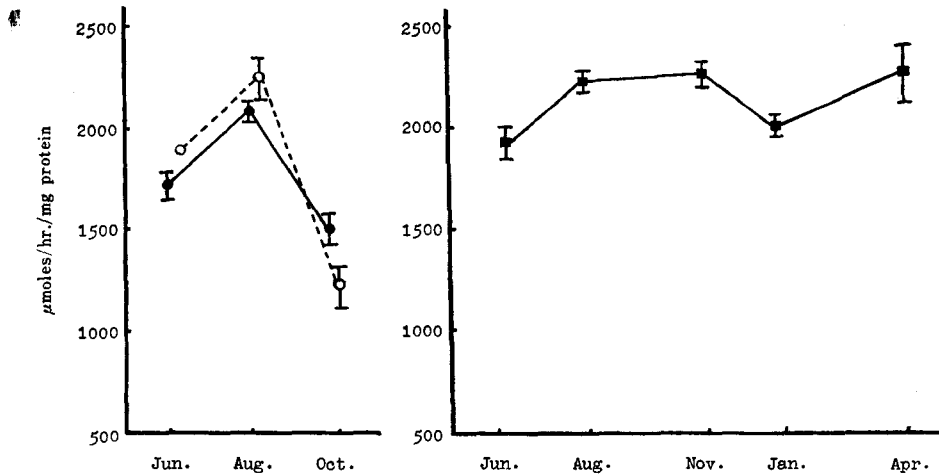


Fig. 3 Seasonal variations in the level of lactate dehydrogenase (LDH) activity of Kokanee salmon.

Each point represents the mean value from five to seven fishes.

Bars are the standard error of the mean. Enzyme activities are expressed as  $\mu\text{moles/hr./mg protein}$

■, one-year-old fish; ○, two-year-old fish; ▲, three-year-old fish

### 考 察

ヒメマス筋肉の酵素活性の産卵に至るまでの周年変化において、解糖系酵素の活性が時期的に異なり、Bücher らのいう constant proportion groups の存在が認められなくなることはすでに報告<sup>7)</sup>したが、解糖系酵素のうち特に GPDH と LDH の活性レベルの変化が顕著である。産卵する2年魚と3年魚では8月に LDH の活性が増加しているが、GPDH の活性が逆に著しく減少しており、解糖系全体の速度が上昇しているかどうかは酵素活性からだけでは判断できない。しかし、産卵直前の10月にはいずれの酵素の活性も減少しており、解糖系全体の速度が減少していると考えられる。産卵に至るまでの酵素活性の増減が何に起因するかは一元的に判断することは困難であるが、死に連がる現象として全般的にエネルギー生産低下の現われとして受け取ることはできよう。

LDH の場合にはラッテやヒト胎児において、成長に伴い LDH の活性が上昇するがそれはアイソザイムの変化に起因するという報告<sup>8)</sup>もあり、事実ヒメマス筋肉には5つの LDH アイソザイムが存在している<sup>10)</sup>ことから、LDH 活性の変化をアイソザイムの面から考察することの可能性も考えられる。

また、GPDH の場合にも 0.3 M mannit 溶液抽出よりも KCl 抽出の方が活性が高く出ること<sup>11)</sup>や構造蛋白質に結合するという報告<sup>12)</sup>もあり、本酵素の活性変動に酵素抽出性の変化が関係する可能性も推察される。

しかし、酵素活性が変動する要因としては酵素蛋白量の増減、酵素や基質の局在性、阻害剤、活性剤またはその他の effector の存在、チモーゲンの存在など種々考えられるが、最終的にはこれら1つ1つの問題に関して検討を加える必要がある。

### 要 約

ヒメマスの産卵するグループ(2年魚3年魚)と産卵しないグループ(1年魚)について筋肉の解

糖系酵素 7 種 (PGM, PGI, ALD, GPDH, PGK, PK, LDH) の酵素活性レベルの時期的変化を追跡し、両者の比較検討を行った。その結果は次のように要約される。

- 1) 1年魚では時期的に活性が異なるが、除々に活性が増加する傾向のものが多かった。
- 2) 2年魚, 3年魚では産卵直前の10月には、いずれの酵素も活性レベルの減少を示した。特に LDH と GPDH の変化が顕著であった。
- 3) 産卵するグループと産卵しないグループでは酵素活性の変化パターンが異なっていた。
- 4) 産卵時期には、解糖系酵素の活性が減少することから、ヒメマスの代謝速度が落ちていることが推察される。

#### 謝 辞

ヒメマス採取に御便宜をいただいた北海道さけます孵化場千才支場と森支場の方々に深謝致します。

#### 文 献

- 1) Delbrueck, A., et al. (1959). *Biochem. Z.*, **331**, 273.
- 2) Adam, H., (1961). *Biochem. Z.*, **335**, 25.
- 3) Mc Cready, 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.
- 4) Leloir, L.F. & Paladini, A.C. (1957). in Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (Editors), *Methods in Enzymology*, **3**, 143 p. New York; Academic Press.
- 5) Clark, V.M. & Kirby, A.J. (1963). *Biochim. Biophys. Acta*, **78**, 732.
- 6) 細谷憲政(1953). 標準生化学実験 565 p. 東京. 文光堂.
- 7) 中井俊雄・柴田 猛・斎藤恒行 (1970). 北大水産彙報 **21**, 234.
- 8) Singh, S.H. & Kanungo, M.S. (1968). *J. Biol. Chem.* **243**, 4526.
- 9) Clausen, J. & Hustrulid, R. (1969). *Biochem. J.* **111**, 219.
- 10) 中井俊雄・柴田 猛・斎藤恒行・未発表
- 11) 柴田 猛・中井俊雄・斎藤恒行 (1969). 北大水産彙報 **20**, 217.
- 12) Arnold, H. & Pette, D. (1968). *European J. Biochem.*, **6**, 113.