HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化－Ⅴ：ヒメマスのエネルギー代謝系酵素の産卵による変化
Author(s)	中井, 俊雄; 柴田, 猛; 斎藤, 恒行
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 21(3), 246-251
Issue Date	1970-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23433
Type	departmental bulletin paper
File Information	21(3)_P246-251.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化—V
ヒメマスのエネルギー代謝系酵素の産卵による変化

中井　俊雄・柴田　猛・斎藤　恒行*

Seasonal Variations in the Metabolic Activities of Tissue Constituents of Some Fishes-V
Changes in the activity levels of some energy-metabolizing enzymes by spawning of Kokanee salmon, *Oncorhynchus nerka f. kenerlyi*.

Toshio NAKAI, Takeshi SHIBATA and Tsuneyuki SAITO

Abstract

Seasonal variations in the activity levels of malate dehydrogenase (MDH), isocitrate dehydrogenase (ICDH), fructose-diphosphatase (FDPase), glutamate-pyruvate transaminase (GPT), glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and creatine kinase (CP) have been studied with the groups of one-year-old, two-year-old and three-year-old fishes of Kokanee salmon.

In the one-year-old fish, non-spawning group, the activity levels of G6PDH was increased gradually, while that of the other enzymes examined were almost constant.

In the two-year and three-year-old fish, spawning groups, the activity levels of the enzymes concerning TCA cycle, MDH and ICDH, FDPase, GPT and CP were increased during the spawning duration.

From these results it might be considered that the energy-obtaining mechanisms of glycolytic metabolism were largely superseded by those of the fat metabolism during the spawning duration of Kokanee salmon.

緒　　言

前報[1] ではヒメマス筋肉の解糖系酵素活性レベルについて，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その結果を報告したが，本論文では同一のサンプルについてのTCA cycle に属する MDH**，と ICDH，ペントース燐酸回路の G6PDH，糖合成系の FDP ase. アミノ酸代謝に関係する GPT と GOT，その他 CP の以上7種の酵素活性レベルの周年変化の結果を報告する。

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年魚と3年魚は北海道さけます孵化場千

* 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。
MDH: malate dehydrogenase, ICDH: isocitrate dehydrogenase, G6PDH: glucose-6-phosphate dehydrogenase, CP: creatine kinase, FDPase: fructose diphosphatase, GPT: glutamate-pyruvate transaminase, GOT: glutamate-oxaloacetate transaminase,

才支場で飼育されたものを使用した。産卵に関与しないヒメマス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使用した。毎回雌雄各5～7尾実験に供した。本実験は1969年6月から1970年4月にわたり行なった

2) **酵素液の調製**　前報[1]と同じ方法で行なった

3) **酵素活性の測定**　MDH と ICDH は Delbrueck らの方法[2]，FDPase は Taketa & Pogell 法[3]，CP は Tanzer & Gilvarg法[4]，GPT と GOT は Bergmeyer & Bernt の方法[5] G6PDH は Delbrueck らの方法[2]で測定した。緩衝液は CP が creatine-glycine buffer (0.1 M. pH 9.0). GPT と GOT が phosphate buffer (0.1 M. pH 7.6) を用い，他はすべて triethanolamine buffer (0.15M. pH 7.6) を使用した。活性測定の全容は 3.0 ml で 25°C, 3分間反応を行なった。活性測定はすべて還元型助酵素の吸収変化に基づき，活性は一時間の抽出蛋白 mg 当りの基質の減少量で表わした。

4) **蛋白の測定**　前報[1]と同じ方法でおこなった。

5) **試薬**　fructose-diphosphate の Na塩，glucose-6-phosphate の Ba 塩. DL-isocitrate は Sigma 製，oxaloacetate は British Drug House 製，NADH, NADP, ATP は Boehringer 製，L-malic acid, α-keto acid, alanine, asparatic acid, glycine, creatine は和光純薬製を用いた。活性測定の補助酵素は Boehringer 製を使用した

結　　果

TCA cycle の酵素である MDH と ICDH の結果を第1図に示した。結果は各時期における雌の活性の平均値で表わした。DMH の活性は産卵が予定されている2年魚，3年魚の筋肉では産卵直前の10月まで除々に活性の増加を示すのに対し，産卵しない1年魚では時期的に大きな活性変化がみられない。肝臓の場合1年魚では1月まで活性が減少するが4月には増加していた。ICDH 活性は筋肉では2，3年魚が産卵に至るまで増加する傾向にある。1年魚の筋肉では時期的な活性レベルの変化はみられない。肝臓の場合，1年魚では MDH と幾分傾向が異なり活性が減少する。2，3年魚については10月に急激な活性の減少が認められた。

糖合成系の FDP ase とペントース燐酸回路の G6PDH の活性レベルの変化を第2図に示した。FDP ase では 2,3年魚は6月，8月，10月と活性が上昇するのに対し，1年魚では11月まであまり大きな変化はなく，1月に活性が減少し，4月に再び増加する傾向を示す。G6PDH は 2年魚，3年魚では産卵直前の 10月に活性の減少を示すのに対し，1年魚では除々に活性が上昇する傾向が認められた。

CP とアミノ酸代謝に関係する GPT と GOT の結果を第3図に示した。CP は産卵するグループで産卵直前まで活性が上昇する傾向を示す。1年魚では時期的に大きな変化は認められないが，除々に活性が増加する傾向を示す。

GOT は2年魚，3年魚で8月に活性が上がり，産卵直前の10月に再び活性が下がる。1年魚では大きな活性レベルの変化はみられなかった

GPT は2年魚，3年魚では8月まで除々に活性が上昇するが，さらに産卵直前の10月には著しい活性の上昇がみられた。1年魚では時期的な活性の変化はほとんど認められなかった。

以上測定した7種の酵素活性の周年変化において，1年魚では時期的に大きな変化は認められなかったが2年魚，3年魚では比較的顕著な変化がみられ，産卵するグループと産卵しないグループとでは酵素活性の周年変化パターンはかなり違った様相を呈していた。

考　　察

ヒメマスの MDH と ICDH (TCA cycle)，GPT と GOT (アミノ酸代謝酵素)，FDPase (糖合成系) の活性レベルの周年変化において，産卵に関与しない1年魚では時期的に大きな活性の変動はみ

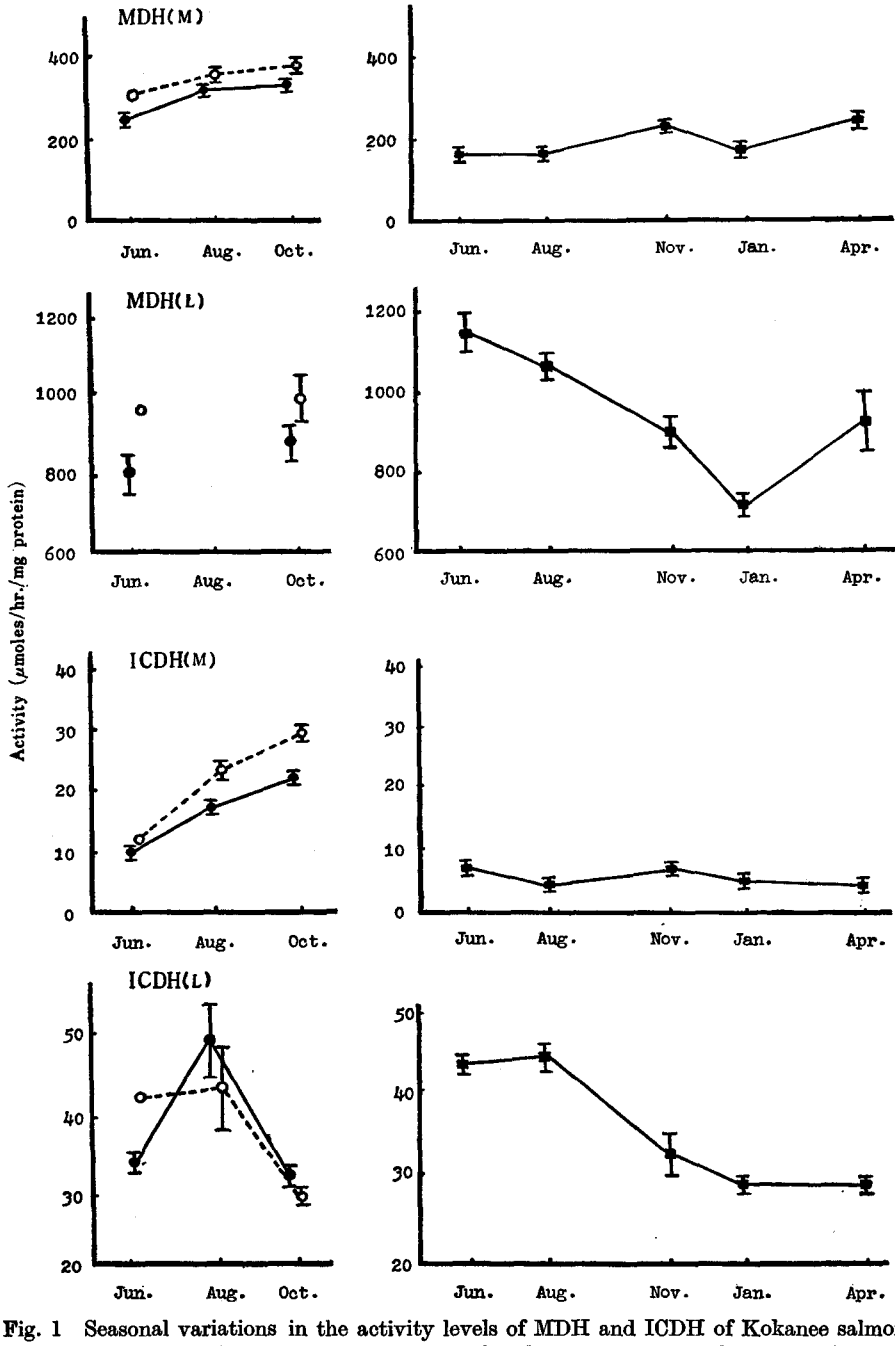

Fig. 1 Seasonal variations in the activity levels of MDH and ICDH of Kokanee salmon. The results are given as mean values of a female one. Bars are the standard error of the mean. Enzyme activities are expressed as μmoles/hr./mg protein.
▪, one year-old fish; ○, two-year-old fish; •, three-year-old fish

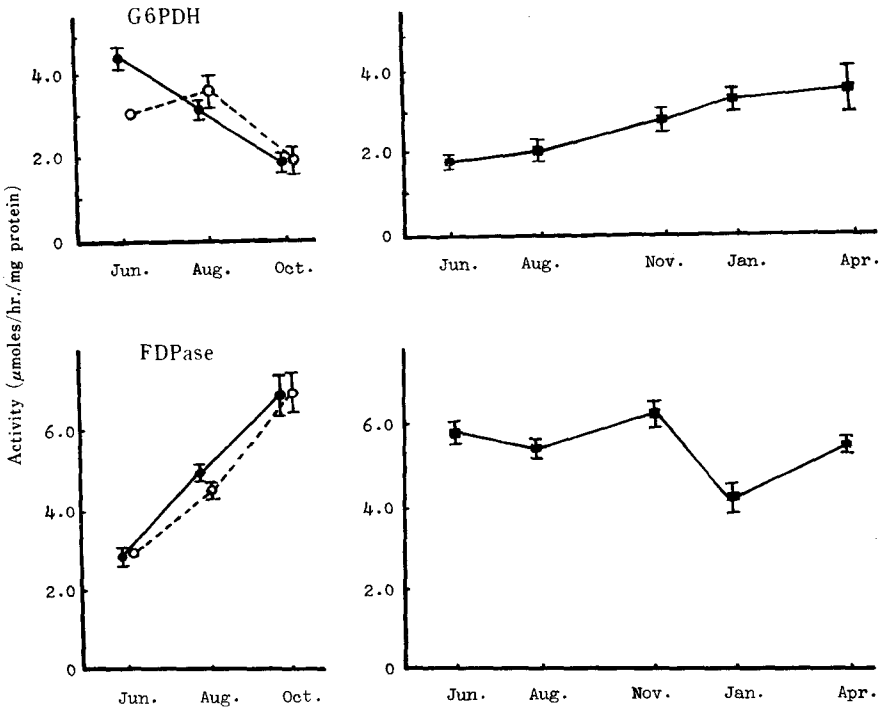

Fig. 2 Seasonal variations in the activity levels of FDPase and G6PDH of Kokanee salmon liver.
The results are given as mean values of a female one. Bars are the standard error of the mean. Enzyme activities are expressed as μmoles/hr./mg protein.
▪ one-year-old fish, ○ two-year-old fish, ● three-year-old fish

られない。一方産卵にあずかる2年魚と3年魚の場合には，1年魚とはかなり違った様相を呈しており，産卵がこれら酵素に影響を与えているものと考えられる。すなわち，糖合成系の FDPase や脂肪代謝と関連ある TCA cycle の酵素活性が産卵に至るまで除々に増加している。産卵に至るまでの周年変化において ATP citrate lyase や Malic enzyme など脂肪代謝に関係する酵素の活性が増加する[6]こと，また著者らと同一のヒメマスで測定されたアミラーゼやプロテアーゼ活性が産卵直前に著しく減少する[7]ことなどの結果を考え合わせると，ヒメマスは産卵直前にはすでに飢餓状態にあり，しかもその状態でエネルギー源を補給するためには TCA cycle や Malic enzyme などの脂肪代謝に関係する酵素の活性の上昇をまって行なわれるものと推察される。

また，産卵に至るまでの周年変化においてピルビン酸の代謝に関係する酵素すなわち乳酸脱水素酵素 (LDH)，TCA cycle 酵素，GPT の活性変化が顕著である。LDH の活性が減少することは解糖作用で生成したピルビン酸から乳酸への変化が緩慢となり，ピルビン酸の蓄積がおこることを意味する。Pyruvate dehydrogenase の存在はヒメマスについて確認していないが，この酵素によりピルビン酸を acetyl-CoA に転換して TCA cycle に送りこみ ATP を供給するという可能性が考えられる。このことは TCA cycle の MDH や ICDH 活性が産卵直前に増加しているという結果と一致している。この点に関しては詳細な検討が必要であるが，いずれにしても産卵期におけるピルビン酸の挙動は興味のある問題と考えられる。

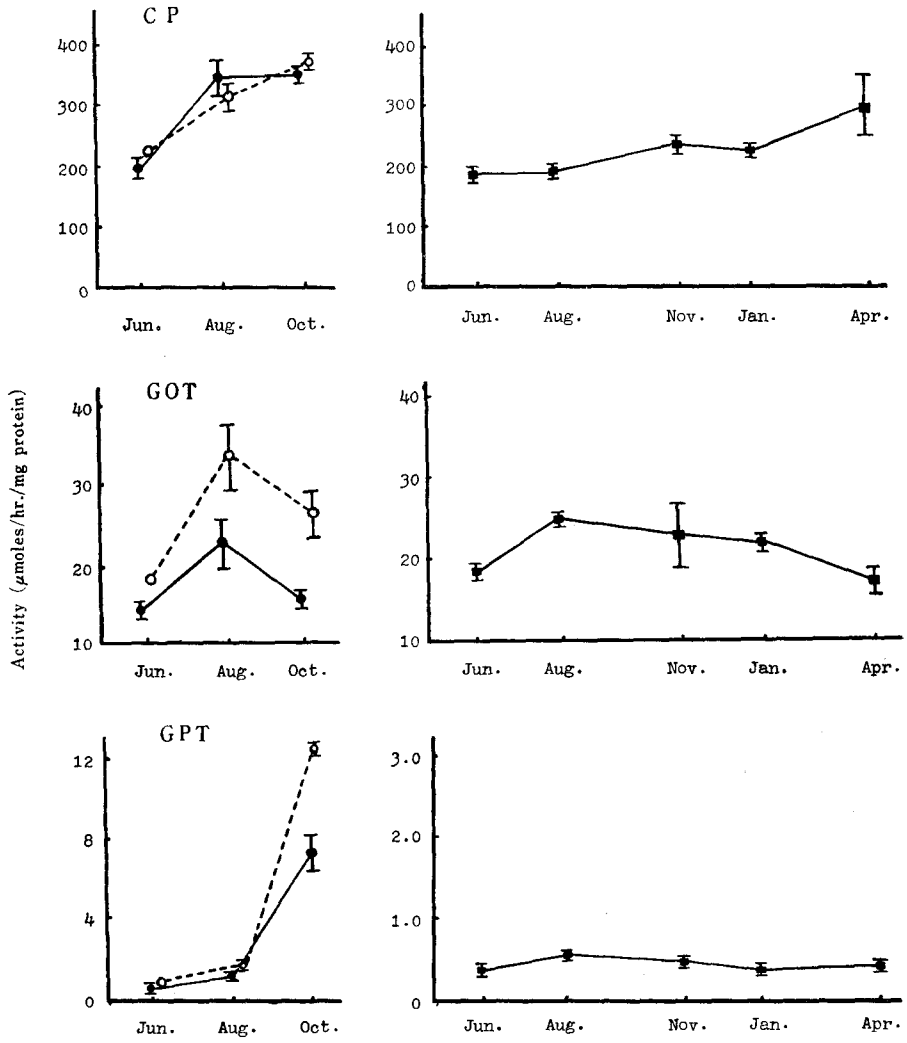

Fig. 3 Seasonal variations in the activity levels of CP, GPT and GOT of Kokanee salmon muscle.
The results are given as mean values of a female one. Bars are the standard error of the mean. Enzyme activities are expressed as μmole/hr./mg protein.
▪ one-year-old fish, ○ two-year-old fish, • three-year-old fish

要　　約

ヒメマスの1年魚と2, 3年魚のエネルギー代謝に関係する酵素7種 (MDH, ICDH, GOT, GPT, G6PDH, CP) の時期的変化を追跡した。その結果は次のように要約される。

1) ヒメマス1年魚 (産卵しないグループ) では G6PDH が除々に活性の上昇を示す。他の酵素では時期的に活性値が異なるがそれほど大きな変化はみられなかった。

2) 産卵するグループでは TCA cycle の MDH, ICDH. 糖合成系の FDP ase, その他 GPT,

CP が産卵直前まで活性が増加する傾向を示した。

3)　これらの結果より，ヒメマスは産卵直前には飢餓状態にあり，エネルギー源補給を脂肪の代謝に依存しているものと推察される。

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並びに同森支場の方々に厚く御礼申し上げます。

文　　献

1) 中井俊雄・柴田　猛・斎藤恒行 (1970). 北大水産彙報 **21**, 240.
2) Delbrueck, A., et al. (1959). *Biochem. Z.*, **331**, 273.
3) Taketa, K. & Pogell, B.M. (1965). *J. Biol. Chem.*, **240**, 651.
4) Tanzer, M.L. & Gilvarg, C. (1959). *J. Biol. Chem.*, 234, 3201.
5) Bergmeyer, H.U. & Bernt, E. (1963). *Method of Enzymatic Analysis*, 846 P. New York; Academic Press.
6) 中井俊雄・柴田　猛・斎藤恒行 (1969). 日本水産学会年会講演要旨, 66p.
7) 斎藤恒行・福永純治・西村弘子 (1969). 水産海洋研究会報, 15, 88.