

脳の遊離アミノ酸について

(IV)

冬眠状態のカエル脳遊離アミノ酸 およびその関連物質

岡山大学医学部神経精神医学教室 (主任: 奥村二吉教授)

青山達也

〔昭和33年4月16日受稿〕

序 論

私は系統発生の段階において脳の遊離アミノ酸がどのように変化しているかを追求するために、脊椎動物門の下等なものから高等なものにいたる各綱の代表的な動物について、Moore & Stein¹⁾の発表したイオン交換クロマトグラフィー法を用いて脳の遊離アミノ酸およびその関連物質を分離定量し、先にナマズ脳²⁾についての値をダイコクネズミ脳およびネコ肝と比較考察し、その間に著明なアミノ酸パタンの相異があることを報告した。今回は両傍綱の代表としてトノサマガエル(*Rana nigromaculata*)を選び、その冬眠状態における脳遊離アミノ酸およびその関連物質を分離定量した。この値とナマズ脳、ダイコクネズミ脳およびネコ脳の値と比較考察して報告する。

実験材料及び方法

1) 試料の調製

冬眠状態のトノサマガエル (体重; 30g ~ 50g) 40匹を冬眠状態のまま断頭し全脳を摘出し試料とした。

ナマズ脳について行つたと同じく²⁾全脳を、ドライアイス・アセトンで氷結、トーション・バランスで秤量、90%エタノールでホモジネートし、エタノール除蛋白濾液を蒸発乾固し pH 2.2 緩衝液で溶液とし不溶成分を遠沈除去後、溶液の一定量を試料とした。

2) イオン交換クロマトグラフィーおよび定性、定量。

すべて前回の報告と同様の方法によつて行つた。なお今回の実験より比色定量には Coleman junior spectrophotometer を用いた。

実験成績ならびに考察

試料を添加した Dowex50-X4, 150×0.9cm カラムの溶出曲線を第1図に示す。カエル脳遊離アミノ酸およびその関連物質の定量値を、ダイコクネズミ脳⁴⁾、ネコ脳⁵⁾、ナマズ脳²⁾の値と並記して第1表に示す。表中X₁, X₂, X₆とあるのは未同定のニンヒドリン陽性物質で定量値はロイシン当量で記載した。これらについては現在定性中である³⁾。

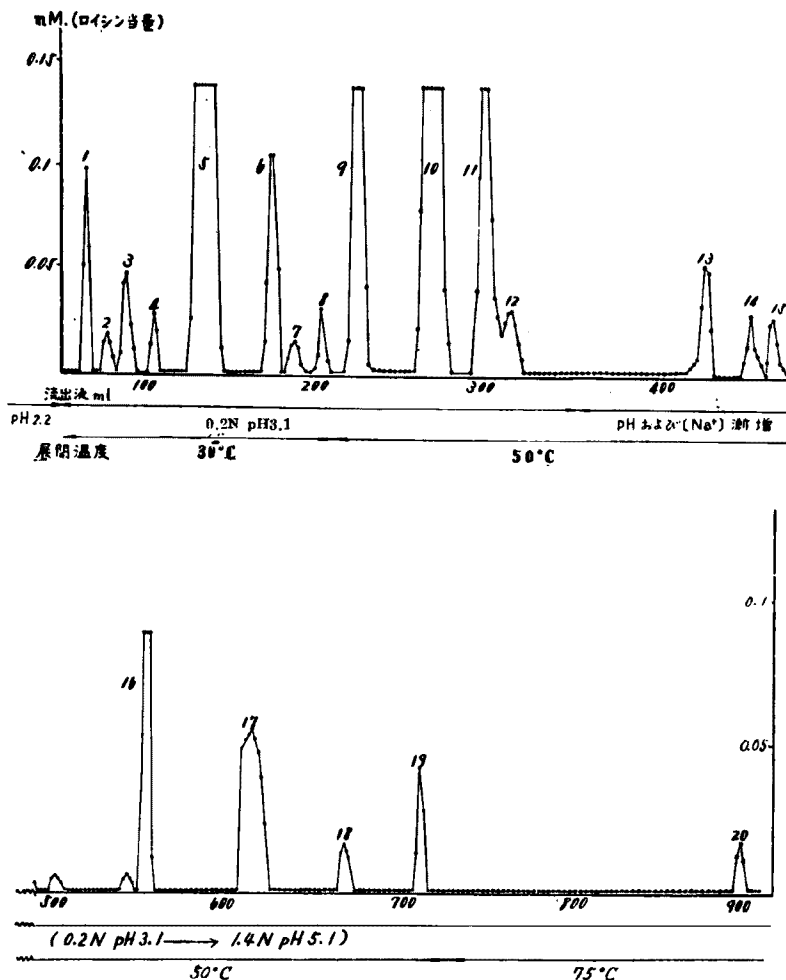
第1表に示すごとくカエル脳遊離アミノ酸パタンはタウリン、尿素、スレオニンを除いてナマズ脳の値によく類似しており、ネズミ脳、ネコ脳の値とはかなりの差異が認められる。

ナマズ脳に比較してグリセロホスエタノールアミン2倍、タウリン^{1/70}、アスパラギン酸2.5倍、スレオニン^{1/4}、グリシン2倍、イソロイシン^{1/2}、ロイシン^{1/3}、リジン^{1/2}、に近い値を示し、ネズミ脳に比べてグリセロホスホエタノールアミン2倍、タウリン^{1/80}、アスパラギン酸^{1/3.5}、スレオニン^{1/2}、セリン^{1/5}、グルタミン酸^{1/2.5}、グリシン2倍、アラニン^{1/2.5}、グルタチオン^{1/2}、の値を示した。

いずれも冷血動物に属するナマズとカエルの脳遊離アミノ酸が哺乳動物であるネズミのそれと著しく異つているのはアスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン、セリン、グルタチオンの量が少いと云うことである。ただしグルタチオンについては試料処理の段階ですべてを酸化型にしていけないので確言は避ける¹⁾。

アスパラギン酸、グルタミン酸はアミノ基を失つて、 α -ケトグルタル酸に、アラニン、セリンは焦性ブドウ酸になる。このように炭水化物代謝の重要中間成分と密接に関係するアミノ酸がカエル脳、

第1図. 冬眠時トノサマガエル脳を試料とした Dowex50-X4, 150×0.9cmカラム溶出曲線



1. グリセロホスホエタノルアミン 2. X₁ 3. ホスホエタノルアミン+タウリン 4. 尿素 5. X₂ 6. アスパラギン酸 7. スレオニン 8. セリン 9. グルタミン 10. グルタミン酸 11. グリシン 12. アラニン 13. グルタチオン 14. イソロイシン 15. ロイシン 16. γ -アミノ酪酸 17. アンモニア 18. リジン 19. X₆ 20. アルギニン

ナマズ脳において著明な低値を示すことは興味ある事実である。殊にアスパラギン酸の低値はカエル脳にN-アセチルアスパラギン酸が殆んど存在しないと云う Tallan⁶⁾の報告と何等かの関連を思わすものであろう。ナマズ脳とカエル脳で異つているのはグリシン、イソロイシン、ロイシン、スレオニン、リジン、タウリンの低値である。この中でタウリンの低値は特に目立っている。タウリンはシステイン酸の酵素的脱炭酸によつて生成されるものと推定されておりシステイン、メチオニン等の含硫アミノ酸量との関連において理解すべき事柄であるが Dowex 50-X4, 150×0.9cm カラムを用いるイオン

交換クロマトグラフィー法ではこれらの含硫アミノ酸を定量的に分離できないため相互の動態を知り得ない。また測定が冬眠中のカエルを対象としているので、あるいは冬眠状態における特殊現象である可能性も存在する。従つて冬眠より覚醒した後再び検討すると共に冬眠中の他の動物を用いて検討する予定である。

グリシン、イソロイシン、ロイシン、スレオニン、リジンはナマズ脳よりもむしろ哺乳動物脳の値に近い。脳に特異的に高濃度に存在する γ -アミノ酪酸はナマズ脳、カエル脳、ネズミ脳、ネコ脳を通じてほぼ同様の値を示している。未同定物質では X₁, X₂

第1表 カエル脳遊離アミノ酸およびその関連物質濃度と、ナマズ脳、ダイコクネズミ脳およびネコ脳における値との比較

	カエル脳	ナマズ脳 ²⁾	ネズミ脳 ⁴⁾	ネコ脳 ⁵⁾
全アミノ-N	38.1	50.5	43.5	—
グリセロホスホエタノルアミン	31.0	16.9	17.8	< 2.9
X ₁	1.6(0.012)	5.4(0.041)	0	、—
ホスホエタノルアミン	21.0	17.6	19.9	41.9
タウリン	0.6	42.5	47.8	24
尿素	66	0	56	25
X ₂	41.7(0.316)	94.3(0.719)	1.4(0.011)	—
アスパラギン酸	8.9	3.9	30.0	29.7
スレオニン	1.8	7.9	3.6	2.6
セリン	2.1	2.9	10.1	7.6
グルタミン	80	90	65	> 50
グルタミン酸	64.2	74.2	147.0	128
グリシン	12.1	6.0	6.8	10.1
アラニン	2.1	2.2	5.0	8.4
グルタチオン	13.5	14.3	25.9	27.1
イソロイシン	1.3	2.8	1.6	1.2
ロイシン	1.3	3.9	1.7	1.8
γ-アミノ酪酸	28.2	18.8	22.1	23.4
リジン	1.2	3.0	1.8	2.0
ヒスチジン	—	4.6	1.4	0.9
X ₆	25.1(0.19)	—	—	—
アルギニン	1.2	1.3	1.9	1.4
N-アセチルアスパラギン酸	—	14.6	75.1	—

単位は mg/100g 湿重量。

X₁, X₂, X₆ はロイシン当量, 括弧内は mM/100g 湿重量。

がナマズ脳よりも少く、ネズミ脳よりも多い。X₁, X₂ は脊椎動物中で下等なものほど多く高等なものほど減少しているようで、興味ある物質である。尚カエル脳ではヒスチジンのピークを証明せず、ヒスチジン溶出部位よりやや後に明かなピークが存在する。これを X₆ と仮称し現在定性実験中である。

カエル脳においては哺乳動物脳と比較してグルタミン酸、アスパラギン酸、N-アセチルアスパラギン酸⁷⁾等の陰イオンとして働くアミノ酸濃度がナマズ脳におけると同様に低値を示している。これらの酸性アミノ酸群の和を全アミノ-N量で除した値についてナマズ脳、カエル脳、ネズミ脳の三者で比較すると、5・7：9、となる。カエル脳においてもナマズ脳におけると同様に未同定物質 X₁, X₂ が大量に存在しその値はナマズ脳とネズミ脳の中間値を示している。この事実とカエル脳の酸性アミノ酸群

の和が同様にナマズ脳とネズミ脳の中間値を示している事実から、陰イオン不足の補充と云う役割の一部を X₁, X₂ が果していると言う前報ナマズ脳における推論をより確かなし得たものとする。

Verjbinskaya⁸⁾ はカエル脳は形態上からも機能上からも魚類と哺乳類の中間移行型を示すと共に、脳の糖代謝過程においても両者の中間移行型を示していると記載している。私も脳遊離アミノ酸およびその関連物質を検索した結果、上述のようにこのことについてもカエル脳は両者の中間移行型を示していることを確認した。

結 論

比較生化学の立場から、冬眠中のトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) の脳遊離アミノ酸およびその関連物質を分離定量した。

- 1) アスパラギン酸, グルタミン酸, アラニン, セリンは哺乳動物脳に比し著明な低値を示した.
- 2) タウリンはナマズ脳, ネズミ脳のいずれよりも著明な低値を示した.
- 3) グリシン, イソロイシン, ロイシン, スレオ

ニン, リジン等の中性および塩基性アミノ酸はナマズ脳よりもむしろ哺乳動物に近似した値を示した.

- 4) γ -アミノ酪酸は他の動物と著変がなかつた.
- 5) 全アミノ N-量はネズミ脳の値と殆ど同量であつた.

文 献

- 1) Moore, S., Stein, W. H.: J. Biol. Chem. **211**, 893 (1954)
- 2) 青山達也: 生化学掲載予定.
- 3) 奥村二吉, 大月三郎, 那須弘之, 青山達也, 本郷 亮: 医学と生物学, **47**, 8 (1958)
- 4) 那須弘之: 生化学, **30**, 205 (1958)
- 5) Tallan, H. H., Moore, S., Stein, W. H.: J. Biol. Chem. **211**, 927 (1954)
- 6) Tallan, H. H.: Fed. Proc. **15**, 368 (1956)
- 7) Tallan, H. H.: J. Biol. Chem. **224**, 41 (1957)
- 8) Verjbinskaya, N. A., Palladin, A. V., 松本淳治訳: 神経系の生化学, 協立書店, 京都(1957)

Free Amino Acids in the Brain

(IV) Free Amino Acids and Related Substances in the Brain of Frog *Rana nigromaculata* in Hibernation

By

Tatsuya Aoyama

Department of Neuro-Psychiatry Okayama University Medical School
(Director: Prof. Nikichi Okumura)

Attempts have been made from comparative biochemical standpoint to isolate and determine free amino acids in the brain of the frog (*Rana nigromaculata*) in hibernation, the animal belonging to the amphybian family by the ion exchange chromatography, and the following are the results:

1. Aspartic acid, glutamic acid, alanine, and serine have been found markedly decreased as in the case of the catfish brain as compared with those in the mammalian brains.
2. Taurine has been found more markedly decreased than either in the case of the catfish brain or of the rat brain.
3. The amounts of unidentified substances X₁, X₂ and acidic amino-group show the values intermediate between those in the catfish brain and those in the rat brain.
4. The amount of γ -aminobutyric acid does not show any marked difference in the brains of all the animals tested.
5. Glycine, isoleucine, leucine, threonine, and lysine yield the values closer to those found in the mammalian brains than those in the catfish brain.