

脳 の 遊 離 ア ミ ノ 酸 に つ い て

(V)

冬 眠 状 態 に お け る ク サ ガ メ 脳 の 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

序 論

私は比較生化学の立場から脊椎動物門の各綱から代表的な動物を選び、その脳遊離アミノ酸および関連物質を Moore & Stein¹⁾ の発表したイオン交換クロマトグラフィー法によつて分離定量している。すでに私は魚綱からナマズ²⁾ を、両棲綱からトノサマガエルを³⁾ 選んで脳遊離アミノ酸およびその関連物質を分離定量し、那須⁴⁾ の発表したダイコクネズミ脳および Tallan 等⁵⁾ の発表したネコ肝、ネコ脳の値と比較してその間に著明なアミノ酸パタン相異のあることを報告した。

今回は爬虫綱の代表としてクサガメ (*Geoclemys reevesii*) を選び、その冬眠状態にあるものについて検索したので報告する。

実験材料及び方法

1) 試料の調製

冬眠状態のクサガメ (体重, 500 g ~ 800 g) 6 匹を生体のままで断頭、大脳・中脳を摘出、直ちにドライアイス・アセトン中に投入、氷結せしめ前回と同様にトーション・バランスで秤量し、90%エタノールでホモジネートし、その除蛋白濾液を蒸発乾固させ、それを pH 2.2 クエン酸ソーダ緩衝液で溶液とし不溶成分を遠沈除去した後、溶液の 1 定量を試料として用いた。

2) イオン交換クロマトグラフィー

前回と同様に Moore & Stein¹⁾ の方法に従つて行つた。

3) 定性および定量

前回と同様²⁾ に、定量は Moore & Stein⁶⁾ の発表したニンヒドリン改良反応により、L-ロイシン溶液を標準液として Coleman junior spectrophoto-

meter を用いて比色定量し、定性は Stein⁷⁾ に従つて行つた。

実験成績ならびに考察

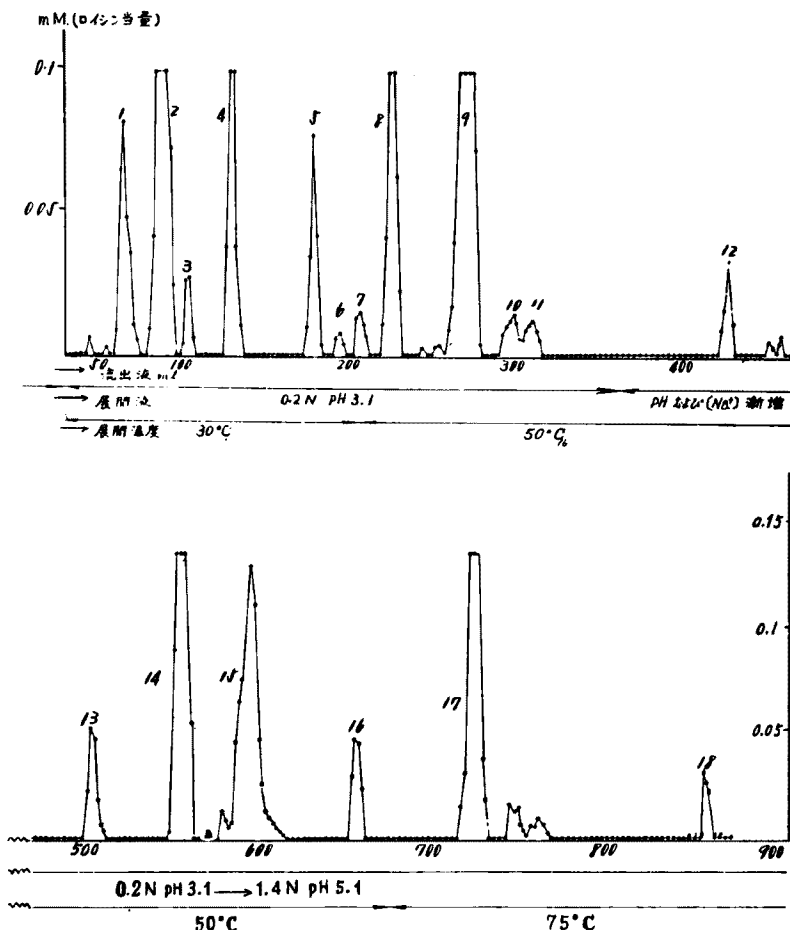
クサガメ脳の遊離アミノ酸およびその関連物質の溶出曲線を第 1 図に示し、定量値をナマズ脳、カエル脳、ネズミ脳およびネコ脳の値と並記して第 1 表に示す。

カメ脳においては X₁, イソロイシン, ロイシン, リジン, ヒスチジンのピークが認められずロイシンの溶出位置と γ -アミノ酪酸の間、 γ -アミノ酪酸とリジンの溶出位置の間およびヒスチジン溶出位置とアルギニンの間に 3 ヶの明らかなピークがみられ、それぞれ X₄, X₅, X₆, と仮称した。X₆ はカエル脳、カメ脳に共通して大量に存在しているのが注目された。これらの未同定ニンヒドリン陽性物質については現在、我々の教室で定性実験中である⁸⁾。

第 1 表に示すごとく、カメ脳の遊離アミノ酸パターンはカエル脳のそれによく類似している。ネズミ脳に比較してカメ脳では全アミノ窒素 0.7 倍、タウリン 0.1 倍、尿素 0.2 倍、X₂ 4 倍、アスパラギン酸 0.3 倍、スレオニン 0.2 倍、セリン 0.2 倍、グルタミン 0.7 倍、グルタミン酸 0.7 倍、グリシン 0.2 倍、アラニン 0.3 倍、グルタチオン 0.3 倍で γ -アミノ酪酸、アルギニン、グリセロホスホエタノールアミンには大差がない。

いずれも冷血動物に属するナマズ脳、カエル脳、カメ脳に共通して、温血動物であるネズミ脳、ネコ脳と異つているのはアスパラギン酸、グルタミン酸等のジカルボン酸を始めとする酸性アミノ酸群の量が少いことと、X₁, X₂ 等の未同定酸性物質の量の

第1図. 冬眠時カメ脳を試料とした Dowex 50-X4, 150×0.9 cm カラムの溶出曲線



1. グリセロホスホエタノールアミン 2. ホスホエタノールアミン+タウリン 3. 尿素 4. X_2 5. アスパラギン酸 6. スレオニン 7. セリン 8. グルタミン 9. グルタミン酸 10. グリシン 11. アラニン 12. グルタチオン 13. X_4 14. γ -アミノ酪酸 15. アンモニア 16. X_5 17. X_6 18. アルギニン

多いことである。アスパラギン酸、グルタミン酸の量は脳の機能の優劣に密接な関係を有するものと考えられると共に³⁾⁹⁾、アミノ基を失つて α -ケトグルタル酸になり、同じくアミノ基を失つて焦性ブドウ酸となるセリン、アラニンと共に炭水化物の重要な中間代謝成分と密接な関係を有している。これらのアミノ酸のいずれもが冷血動物脳には哺乳動物脳と比較して少量しか含有されていないと云うことは興味深いことである。

グルタミン酸量が少いにもかかわらず脳に特異的に高濃度に存在する γ -アミノ酪酸量が冷血動物脳と哺乳動物脳との間に著しい差異がないと云うことは両者間の脳におけるグルタミン酸と γ -アミノ酪酸の代謝に関与する酵素系の活性度にかんがりの変化

があることを示唆しているのであろう。

未同定物質 X_1 , X_2 については前報にカエル脳、ナマズ脳の少い酸性アミノ酸量を補充する役割を果しているのであろうと記載したが、カメ脳においても X_2 を除いた酸性アミノ酸量を、全アミノ-N量で除した値は3.5でありネズミ脳のその値は6.3である。 X_2 を酸性アミノ酸群に加えると値は5.3となり両者の相異は10%以下となる。 X_2 の値は現在、未同定であるためロイシン当量として計算したものであるがこれが冷血動物脳内で酸性アミノ酸群の不足を補充していることは十分に確実性のあることと考える。

カエル脳、カメ脳が共通して同じ冷血動物に属するナマズ脳の値と相異しているのは、タウリンの著

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

単位は mg/100 g 湿重量,

Xn はロイシン当量, 括弧内は mM/100 g 湿重量.

	カメ脳	カエル脳 ³⁾	ナマズ脳 ²⁾	ネズミ脳 ⁴⁾	ネコ脳 ⁵⁾
全アミノ-N	30.3	38.1	50.5	43.5	—
グリセロホスホエタノルアミン	14.8	31.0	16.9	17.8	< 2.9
X ₁	0	1.6(0.012)	5.4(0.041)	0	—
ホスホエタノルアミン	10.2	21.0	17.6	19.9	41.9
タウリン	3.9	0.6	42.5	47.8	24
尿素	20	66	0	56	25
X ₂	56.5(0.428)	41.7(0.316)	94.3(0.719)	1.4(0.011)	—
アスパラギン酸	6.3	8.9	3.9	30.0	29.7
スレオニン	0.5	1.8	7.9	3.6	2.6
セリン	1.3	2.1	2.9	10.1	7.6
グルタミン	30	80	90	65	> 50
グルタミン酸	68.0	64.2	74.2	147.0	128
グリシン	1.1	12.1	6.0	6.8	10.1
アラニン	1.1	2.1	2.2	5.0	8.4
グルタチオン	5.3	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
X ₄	2.5(0.019)	—	—	—	—
γ-アミノ酪酸	17.9	28.2	18.8	22.1	23.4
X ₅	3.0(0.023)	—	—	—	—
リジン	—	1.2	3.0	1.8	2.0
ヒスチジン	—	—	4.6	1.4	0.9
X ₆	19.3(0.146)	25.1(0.19)	—	—	—
アルギニン	1.8	1.2	1.3	1.9	1.4
N-アセチルアスパラギン酸	—	—	14.6	75.1	—

明な低値である。これは両者共にスレオニンが少いことも関連して恐らく冬眠時特有の現象と推察される。これらのアミノ酸群はシステイン、メチオニン等の含硫アミノ酸代謝と関連を有しているが、私の用いた方法ではこれらの含硫アミノ酸が分離定量出来ないため全体的な動態を知り得なかつた。

なお、カメ脳にはイソロイシン、ロイシン、リジン、ヒスチジン等の中性および塩基性アミノ酸の大部分が証明されず、これらの溶出部位に近接して3ヶの明らかな溶出ピークを認めた。これをそれぞれX₄, X₅, X₆と仮称し含有量をロイシン当量として計算した。これらについては今後の検索に待たねばならないが、ただそれらの総和が哺乳動物脳の中性および塩基性アミノ酸量をロイシン当量に換算した値に近似していることのみを附記するにとどめる。

結 論

比較生化学の立場から爬虫綱に属するクサガメ (*Geoclemys reevesii*) の冬眠期間中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, グリシンは哺乳動物脳に比較して非常に少量しか存在しなかつた。

2) タウリンはスレオニンと共にナマズ脳, ネズミ脳のいずれよりも低値であつた。

3) イソロイシン, ロイシン, リジン, ヒスチジンが認められず, それらの溶出部位に近接して X₄, X₅, X₆の未同定ニンヒドリン陽性物質を認めた。

4) γ-アミノ酪酸量はグルタミン酸量が少いに

もかわらず他の動物と著変がなかつた。

ミ脳のいずれよりも少量であつた。

5) 全アミノ-N量はナマズ脳, カエル脳, ネズ

文 献

- | | |
|---|--|
| 1) Moore, S., Stein, W. H.: J. Biol. Chem. 211 , 893 (1954) | 6) Moore, S., Stein, W. H.: J. Biol. Chem. 211 , 907 (1954) |
| 2) 青山達也: 生化学掲載予定. | 7) Stein, W. H.: J. Biol. Chem. 201 , 45(1953) |
| 3) 青山達也 岡山医学誌発表予定. | 8) 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) | 9) Roberts, E., Frankel, S., Harman, P. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 74 , 383(1950) |
| 5) Tallan, H. H., Moore, S., Stein, W. H.: J. Biol. Chem. 211 , 927 (1954) | |

Free Amino Acids in the Brain

(V) Free Amino Acids and Related Substances in the Brain of Common Turtle *Geoclemys reevesii* in Hibernation

By

Tatsuya Aoyama

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

From the comparative biochemical standpoint free amino acids and related substances have been isolated and quantitatively analyzed from the brain of the common turtle (*Geoclemys reevesii*) in hibernation, the animal belonging to the reptile family, and the following are the results.

1. In comparison with those in the brain of mammals, aspartic acid, glutamic acid, alanine, serine, and glycine have been found only in extremely small quantities.
2. The quantity of both taurine and threonine has been less than either of them found in the brain of a catfish or a rat.
3. No isoleucine, leucine, lysine, nor histidine can be detected, and unidentified ninhydrin positive substances such as X₄, X₅, and X₆ have been recognized.
4. Despite the small quantity of glutamic acid, the amount of γ -aminobutyric acid has been about the same as found in the brains of mammals.
5. The total quantity of amino-N is less than that in the brain of catfish, frog, or rat.