

脳のアミノ酸代謝 (IX)

成熟ニワトリ脳におけるトランスアミネーション

岡山大学医学部神経精神医学教室 (主任: 奥村二吉教授)

山田 龍雄

[昭和34年9月4日受稿]

序 論

生化学的な面で、あるいは他の面で動物の脳が現在の姿をもっているのは、その成熟した構造や機能にのみ関係があるばかりでなく、その起源にも関係があることは勿論であるが、栄養物から成熟器官が作りあげられることは、ある意味ではまったく生成の問題である。

しかしながらこの様な合成における時間的空間的因果関係は非常に複雑であり、化学的に理解されている面は、はなはだ少く、個体の発育及び分化に際して行われる脳の化学的事象を比較する為の資料もまた限られていると言つてもよい。

種々の動物、または一つの種についてその脳の発達を化学的な面から眺め、これを跡づけるということは、はなはだ興味のあることであり、また重要な課題でもある。私はこのような見地から、特異な機構をしめす脳アミノ酸代謝の酵素学的研究の一端として、先報¹⁾²⁾までに、孵化中のニワトリ胚胎脳及び孵化後のヒナ脳につき系統的にトランスアミネーション反応をしらべてきたが、今回は形態的にも機能的にも完成した段階にある成熟ニワトリ脳につきそのトランスアミネーション活性を測定したので、この結果を先報までにえた成績と比較検討すると共に、他の動物とも比較してみようと思う。

実験方法

1) 実験材料

実験にもちいたアミノ酸は先報におけるものと同じように一流メーカーの特級品を使用し、 β オキシ- γ アミノ酪酸及び ϵ アミノカプロン酸についても先報同様のものを使用した。また α -ケトグルタル酸は和光純薬特級品を使用した。

酵素材料としては主として産卵中の雌性ニワトリ(白色レグホン種)を、断頭直後速かにその全脳を

とり出し、pH 7.6, $1/15$ M リン酸緩衝液で10倍のホモジネートとしたものを使用した。

2) 実験手技

a) Incubation; Incubation はワールブルグ装置を利用し、38°C, 60分間無酸素的に行つた。

Incubation 系の構成は組織ホモジネート及びリン酸緩衝液各 1.0 ml 及び α ケトグルタル酸溶液 0.5 ml よりなつており、終容量 3.0 ml, 終末 pH 7.6である。

Incubation 終了後 7.0 ml の無水アルコールで完全に除蛋白し、定量的に採取した上澄液は、蒸発乾固した後 1.0 ml の蒸留水を加えた。

b) グルタミン酸の分離及び定量; ペーパークロマトグラフィーを用いて生成されたグルタミン酸を分離定量し、トランスアミネーション活性を測定した。

溶媒はブタノール、醋酸・水 (4.1.1) 及び75%含水フェノールのうち、各アミノ酸の Rf を考慮して、分離のよい方法をもちいたが、セリンの場合は先報同様、何れの溶媒をもちいてもグルタミン酸との分離は不完全であつた。

東洋濾紙 No. 50 に試料を 0.3 ml 塗布し、一次元上昇法で展開したのち、グルタミン酸に相当する部位をニンヒドリンで発色 (Troll & Cannan³⁾) 島津製分光光度計 570 m μ で比色定量した。

その他の細部にわたる手技はすべて先報に準じている。

実験成績

アミノ酸を加えずに α ケトグルタル酸だけで組織を incubate しても若干のグルタミン酸が形成されるので、各実験毎にこれを対照とし、転移グルタミン酸量はこの値で補正した。なお 10 μ g Per tube あるいはそれ以下の値は誤差の範囲であり確実でない。

1) α -アミノ酸と α -ケトグルタル酸とのトランスアミノーション。

第9表は先報¹⁾²⁾にひき続いて15種の α -アミノ酸についてのトランスアミノーション活性を測定した結果である。グリシン, アスパラギン酸, アラニン, イソロイシン, ロイシン, バリン, ノルバリン, フ

第 9 表 成熟ニワトリ脳における α -アミノ酸と α -ケトグルタル酸からのグルタミン酸生成

	ニワトリ脳				4)	4)	4)	4)
	1	2	3	平均	トノサマガエル脳	ナマズ脳	イシガメ脳	マウス脳
グリシン	21.3	16.5	15.8	17.8	30.0	13.3	4.1	3.8
l-アスパラギン酸	323.1	310.0	328.6	320.6	199.1	345.5	209.5	259.2
dl-アラニン	165.1	151.0	151.7	155.9	83.4	174.0	58.8	81.5
dl-イソロイシン	83.8	70.6	83.2	79.2	46.5	83.1	47.3	79.7
l-ロイシン	81.9	82.6	82.4	82.3	59.0	122.1	57.2	82.0
dl-バリン	67.8	54.3	57.9	60.0	53.5	95.0	12.0	65.8
dl-スレオニン	5.9	10.5	10.2	8.8	3.0	48.0	12.4	19.7
dl-ノルバリン	45.4	47.0	60.9	51.1	37.7	52.8	11.9	42.7
dl-セリン	分離不良	"	"	"	"	"	"	"
l-メチオニン	4.2	2.8	5.4	4.1	21.7	14.5	4.7	8.4
l-チロジン	3.8	3.1	7.8	4.9	6.4	82.6	16.6	54.5
l-ヒスチジン	1.5	1.0	1.0	0.5	2.7	4.2	2.4	4.3
pl-ノルロイシン	0.4	4.8	0.1	1.7	4.2	4.7	2.6	0.6
l-プロリン	1.7	1.3	1.2	0.6	2.2	4.4	2.0	2.2
l-フェニールアラニン	19.8	19.6	23.9	21.0	2.9	8.0	2.3	28.1

単位: $\mu\text{g per tube}$

エールアラニンなどの各アミノ酸がヒナ各時期に続いて活性をしめしているが、このうちアスパラギン酸がヒナ時期中最高値をしめしている第4日より第8日目に比べてかなり低い値をあらわし、その他、イソロイシン, バリン, ノルバリンがそれぞれヒナ時期に示す最高値よりやや下廻っている。アラニンが胚胎期よりヒナの各期を通じておよそ著しいPeakを見せず、わずかずつ上昇し、成熟ニワトリ脳において最高値となつている。

教室の今井がおこなつた各種動物、トノサマガエル脳⁴⁾、ナマズ脳⁴⁾、イシガメ脳⁴⁾、マウス脳⁴⁾のトランスアミノーション能と比較すると、アスパラギン酸、アラニンが、ナマズ脳及びマウス脳と、ロイシンがマウス脳と、バリンが、カエル脳、マウス

脳と、ノルバリンがナマズ脳、マウス脳と、グリシンが、ナマズ脳と、フェニールアラニンが、マウス脳とそれぞれほぼ同様の値をしめしているが、ナマズ脳、マウス脳でみられたスレオニンの活性は胚胎、ヒナ、成熟ニワトリを通じて、殆んどみられなかつたし、また胚胎末期よりヒナ各期を通じてややみられたチロジンの活性は成熟ニワトリにおいてはまったくみられず、その他ヒスチジン、ノルロイシン、プロリンなどには全期を通じてみられなかつた。

2) ω -アミノ酸と α -ケトグルタル酸とのトランスアミノーション。

第10表は4種の ω -アミノ酸と α -ケトグルタル酸のとトランスアミノーションについての成績で

第 10 表 成熟ニワトリ脳における ω -アミノ酸と α -K. G. A. からのグルタミン酸生成

	ニワトリ脳				4)	4)	4)	4)
	1	2	3	平均	トノサマガエル脳	ナマズ脳	イシガメ脳	マウス脳
γ -アミノ酪酸	54.8	68.1	70.9	64.6	36.5	73.6	16.4	89.5
β -アラニン	37.2	48.2	40.5	41.9	20.7	22.6	6.0	49.8
β -オキシ- γ -アミノ酪酸	45.0	46.1	45.3	45.4	32.9	26.2	23.1	73.9
ϵ -アミノカプロン酸	5.3	4.2	4.7	1.9	1.9	7.6	2.1	7.3

単位: $\mu\text{g per tube}$

あるが、 γ アミノ酪酸はヒナにおける最高値を上廻ることなく、 β アラニンはヒナ各時期におけるそれぞれの値よりやや低い傾向をしめす。 β オキシ γ アミノ酪酸はあまり変らない。各種動物と比較すれば、 γ アミノ酪酸は、ナマズ脳、マウス脳におけるよりやや低い値をあらわし、 β アラニンはナマズ脳

よりやや高く、マウス脳とほぼひとしい値をしめしている。 β オキシ γ アミノ酪酸はナマズ脳とマウス脳とのほぼ中間の数値である。

3) ジーアミノ酸及びシスチン酸と α -ケトグルタル酸からのグルタミン酸形成。

第11表は4種のジアミノ酸及びシスチン酸のト

第 11 表 成熟ニワトリにおけるチアミノ酸及びシスチン酸と α -K. G. A. からのグルタミン酸生成

	ニワトリ脳				4)	4)	4)	4)
	1	2	3	平均	トノサマ フェル脳	ナマズ脳	イシガ メ脳	マウス脳
dl- オルニチン	22.8	27.5	23.0	24.4	24.4	35.0	32.8	33.5
l- リジン	6.3	1.2	5.9	4.4	0.9	0.5	0.2	0.8
dl- シトルリン	3.9	1.4	4.8	2.4	5.0	6.6	6.1	3.8
l- アルギニン	8.0	13.9	10.2	10.7	4.2	2.8	20.8	2.5
l- シスチン酸	170.7	178.0	175.4	174.7	56.3	160.5	41.7	169.8

単位: $\mu\text{g per tube}$

ランスアミナーゼ活性の成績である。

胚胎末期からやや活性をしめしていたオルニチンはヒナ各期及び成熟ニワトリを通じて殆どその値を変化させていない。この値はトノサマガエルと同様の値を示した。

リジンは全期を通じて活性を示さない。チトルリンもまた同様であり、アルギニンも殆ど活性をあらわしていない。シスチン酸はヒナ初期にしめした最高値より下廻り、ナマズ、マウス脳とほぼ同様の値を示している。

考 察

ナマズ⁵⁾、ネズミ⁶⁾、カエル⁷⁾、カメ⁸⁾の遊離アミノ酸を測定した青山、那須らの研究は、哺乳動物に大量に存在するアスパラギン酸、グルタミン酸が、ナマズ脳においては、ネコ肝の程度⁹⁾にしか存在しないことなどにより、進化と系統発生の発展段階が脳の形態と機能においてのみならず、脳の遊離アミノ酸パターンという生化学的所見においても存在するという示唆を与え、またおなじように、ナマズ⁴⁾、ネズミ⁴⁾、カエル⁴⁾、カメ⁴⁾脳についてトランスアミナーゼ活性をしらべた今井は、脳のアミノ酸量は関連する酵素系となんらかの関連をもつであろうことを推察している。

また奥村らはニワトリ脳の遊離アミノ酸を測定している¹¹⁾がこの検索の結果ニワトリ脳の遊離アミノ酸は、ネズミ⁶⁾のそれと非常によく似ており、筆者のしらべた成熟ニワトリ脳に於けるトランスアミ

ナーゼ活性もまたネズミ⁴⁾に非常に近似した値をしめしている。これらの事からニワトリ脳では少くとも、その発育の最後の段階で、哺乳類とよく似たアミノ酸代謝を行うのではないかという推測が成立するように思われるが、胚胎及びヒナ各時期を通じてみられるトランスアミナーゼの行動及びその活性度の変化は、先報までに述べた如く成熟ニワトリ脳とは若干その性質を異にするものである。

私の検索したニワトリ胚胎脳、ヒナ及び成熟ニワトリ脳におけるトランスアミナーゼ活性が、Rundnick¹¹⁾らがニワトリ胚胎及びヒナ脳を含む神経系、肝、卵黄囊について測定したグルタモトランスフェラーゼ及びグルタミン合成酵素の活性度の変化と同じような行動をとっていることは興味ある事実である。しかしながら個体発生及び進化に際しての脳アミノ酸代謝及びこれと形態発生及び機能活動などとの因果関係の解明はさらに系統的な検索と諸々の面からの研究の蓄積を俟つて始めて解明せられる大きな課題である。

結 論

脳のアミノ酸代謝解明の一端として、発育中のニワトリ胚胎、ヒナ脳の各時期につき、15種の α -アミノ酸、4種の ω -アミノ酸、4種のジアミノ酸、及びシスチン酸と α -ケトグルタル酸とのトランスアミネーション反応について先報まで系統的に検索してきたが、今回は、成熟ニワトリ脳につき、前回と同様のアミノ酸をもちいてトランスアミネー

ション能を測定した。

1) 全アミノ酸を通じて胚胎, ヒナ各時期に活性をしめしてきたアミノ酸のうち, リジンが成熟ニワトリにおいては活性をあらわさなくなつた。

2) アスパラギン酸, イソロイシン, バリン, ノルバリン, β アラニン, シスチン酸の活性度はヒナ初期にみられた最高値より下廻っている。その他のアミノ酸ではアラニンが成熟ニワトリにおいて最も高い活性をしめすほかには, 成熟ニワトリ脳でヒナ時期中にしめた最高値を上廻る活性度をしめすものはない。

3) 少くとも成熟ニワトリにおいては, 比較生化学的にいつて, そのトランスアミネーション反応は哺乳類とくにネズミのしめすそれに近似している。

本稿を終るにあたり御懇篤なる御指導, 御校閲を賜つた奥村二吉教授に衷心より感謝の意を表します。

文 献

- | | |
|--|--|
| <p>1) 山田龍雄: 岡山医誌掲載予定
2) 山田龍雄: 岡山医誌掲載予定
3) Troll, W. & Cannan, R. K.: Biol. Chem. 200, 803 (1953)
4) 今井昭正: 岡山医誌, 71巻, 4号
5) 青山達也: 生化学, 30, 452 (1958)
6) 那須弘之: 生化学, 30, 205 (1958)
7) 青山達也: 岡山医誌, 70, 2131 (1958)</p> | <p>8) 青山達也・岡山医誌, 70, 2135 (1958)
9) Tallan, H. H. Moore, S. Stein, W. H.: J. Biol. Chem. 211, 927 (1954)
10) Rundnick, D. Mela, P. and Waelsch, H.: J. Exptl zool, 126, 297 (1954)
11) 奥村二吉, 大月三郎, 青山達也: 医学と生物学, 47巻, 4号, 160 (1958)</p> |
|--|--|

Amino Acid Metabolism of the Brains. (IX)

Transamination in the Chicken Brain.

By

Tatsuo Yamada

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

As a link in the studies on the transamination in the brain the author made a series of systematic studies on the transamination reactions in the brain of growing chick embryos, chicks at various stage of their growth, using 15 α -amino acids, 4 diamino acids, cysteic acid and α -ketoglutaric acid, and reported the result of such studies in previous papers.

In the present experiment the transamination in the adult chicken brain was estimated in the similar way with the use of the same amino acids as in the previous experiment.

1. Of all the amino acids that showed the transaminase activity in the chick embryo and the chick brains at every developmental stage, lysine did not shows the activity in the adult chicken brains.

2. The grade of the transaminase activity of aspartic acid, isoleucine, β -alanine and cysteic acid is lower than the peak of the same observed in the early stage of the chick brains. As for the other amino acids with an exception of alanine which showed the greatest activity in the adult chicken brain, none showed the activity surpassing the maximum shown in the chick brains at every developmental stage.

3. Speaking relatively and biochemically at least in the chicken brain the transamination reactions in the chicken brains, especially to that of the mouse brain.