

報告番号 ^{*} 甲 第 2168 号

主論文の要旨

題名

STUDIES ON PROTEIN TURNOVER IN LAYING HENS

(産卵鶏の蛋白質代謝回転に関する研究)

氏名 平本 恵一

主論文の要旨

報告番号	※甲第	号	氏名	平本 恵一
------	-----	---	----	-------

動物の体内では常に蛋白質の合成、分解が行なわれており、この両方の過程を合わせて蛋白質代謝回転と呼ぶ。この蛋白質代謝回転速度の測定にはこれまで主として放射性同位元素で標識されたアミノ酸が用いられてきた。しかし、放射性同位元素の使用は常に使用者の健康への障害や環境汚染の危険が伴う。そこでそのような危険のない安定同位元素を用いて蛋白質の代謝回転を測定することが考えられてきた。本実験においては、安定同位元素を用いて産卵鶏の体蛋白質の合成を測定する方法を確立すると共に、摂取栄養素や産卵と蛋白質合成との関係を調査することを目的とした。

まず第一に体全体の蛋白質の代謝回転の測定法を確立した。産卵鶏の左右の翼下静脈にカテーテルを挿入し片側から $[^{15}\text{N}]$ メチオニンを約1時間注入量に相当する量を投与後、直ちに6時間連続注入し(以下ブライムド連続注入と略す)、もう片側のカテーテルから6時間後まで1時間毎に血液を採取した。血漿は除蛋白してアミノ酸を誘導体化し、ガスクロマトグラフマススペクトロメーターを用いて同位体比を測定した。同位体比は3~6時間でほぼ一定になり、血漿中の遊

離メチオニンにおける同位体の平衡が到達された。この3～6時間の同位体比の平均値を用いて体全体のメチオニンフラックスを計算した。

次に、産卵鶏の各組織における蛋白質の合成の測定法を確立し、各組織の蛋白質合成を実際に測定した。産卵鶏に $[^{15}\text{N}]$ メチオニンを6時間ブライムド連続注入した。注入終了後直ちに鶏を屠殺し、肝臓、卵管、腸、筋胃と腺胃、皮膚、浅胸筋そして大腿二頭筋を摘出した。摘出したサンプルは、遊離アミノ酸分画と蛋白質分画に分け、蛋白質分画は、加水分解した後、遊離されたアミノ酸をそれぞれ誘導体化して同位体比を測定した。肝臓の蛋白質合成率は調査した組織中では最も高く93%/日であるのに対して浅胸筋では最も低く15%/日であった。またそれぞれの組織が体全体の蛋白質合成に占める寄与率では、肝臓、腺胃と筋胃、腸の消化系器官の合計は約22%を占め、浅胸筋と大腿二頭筋は約13%であった。測定した組織の寄与率の合計は約60%で、残りは未測定の骨格筋による部分とその他の臓器によって説明されると考えられた。またこのように各組織において蛋白質合成率が異なる原因を調査したところ、蛋白質合成率とRNA対蛋白質比の間に高い相関が得られた。従って各組織の

蛋白質合成率の差は主としてRNAの蛋白質に対する濃度の差によって説明されるものと考えられたが、この点に関してはさらなる調査が必要であろう。

天然に存在するメチオニンはL型でありD型は体内に取り込まれてからL型に変換されるため、安定同位元素標識アミノ酸としてDL- $[^{15}\text{N}]$ メチオニンを用いる場合、蛋白質合成を計算するうえで何らかの影響を与えることが考えられる。そこで産卵鶏を2群に分け、一方にはDL- $[^{15}\text{N}]$ メチオニンを他方にはL- $[^{15}\text{N}]$ メチオニンをそれぞれブライムド連続注入し、体全体および各組織における蛋白質合成率を比較した。体全体の蛋白質の合成量および腺胃、皮膚、浅胸筋の蛋白質合成率はL型の方がDL型に比べ有意に高くなった。他の組織においても有意差は見られなかったがL型の方が高くなった。以上の結果よりDL型を用いて測定した体全体の合成率には1.3を、皮膚の合成率には1.5を、腺胃と浅胸筋には1.2を、肝臓、卵管、腸、筋胃、大腿二頭筋には1.1を乗じて補正しなければならないことを示した。

以上のようにして確立された方法を用い、蛋白質飢餓および蛋白質含有飼料の再給与が蛋白質代謝におよぼす影響を調査した。産卵鶏を市販の産卵鶏用飼料（

粗蛋白質 15.5%) を自由摂取で1週間予備飼育し、ついで無蛋白質飼料を1週間にわたり体重1kg当り1日30g給与し、その後再び市販飼料を1週間自由摂取させた。それぞれの期間の最終日には $[^{15}\text{N}]$ メチオニンをブライムド連続注入し体全体の蛋白質代謝回転を測定した。無蛋白質飼料を給与すると市販飼料給与に比べ合成量、分解量共に4割近く低下し、また分解量が合成量より多くなった。市販飼料を再給与すると最初の市販飼料給与時よりも分解量、合成量共に高くなった。以上より無蛋白質飼料を与えると産卵鶏の体蛋白質代謝回転は減少し窒素出納は負となるが、市販飼料を再給餌すると速やかに元の状態に戻ることが示された。

この蛋白質飢餓と蛋白質含有飼料の再給与の影響をさらに詳しく検討するため、産卵鶏の体全体の蛋白質代謝回転を経時的(無蛋白質飼料給与後0, 1, 2, 3, 5, 7日目、および市販飼料再給与後0, 1, 2, 3, 5, 7日目)に調査するとともに無蛋白質飼料を1週間与えた際の肝臓と卵管の蛋白質合成を測定した。無蛋白質飼料を給与した時、体蛋白質の合成量は1日目で急減し分解量が合成量より多くなり、市販飼料の再給与では1日目ですでに合成量が急増し分解量を上回った。

肝臓と卵管は無蛋白質飼料給与により合成量は大幅に減少し特に卵管においてその影響は大きいものであった。また、体全体の蛋白質合成量の減少のうち約半分は肝臓および卵管の蛋白質合成量の減少によって説明されることが示された。

次に単一の必須アミノ酸不足について、飼料の制限アミノ酸となりやすいメチオニンとリジンの不足の影響について調査した。実験は要求量の約60%を含むメチオニン不足飼料と要求量の約35%を含むリジン不足飼料を産卵鶏に2週間自由摂取で給与した後、 $[^{15}\text{N}]$ フェニルアラニンのプライムド連続注入によって体全体および肝臓、卵管膨大部、膨大部以外の卵管の蛋白質合成量を測定した。体全体の蛋白質合成量は、両不足区ともに対照区より有意に低下した。各組織でも両不足区においては対照区に比べ合成量は低下したが、その影響は卵管においてより強く認められた。このような肝臓と卵管の合成量の低下はRNA対蛋白質比の低下ばかりでなくRNA含量の低下によっても説明されることが示された。従って、必須アミノ酸の飼料中の欠乏によってRNA合成の制御が行われていることが考えられた。メチオニンまたはリジン欠乏による肝臓および卵管における蛋白質合成量の低下は、蛋

白質飢餓の場合と同様体全体の蛋白質合成低下量のかなりの部分を説明することが示された。

産卵生理と体蛋白質合成との関連性を明らかにするため、卵形成期間と体全体および各組織の蛋白質合成量との関係を調査した。卵形成期間は、 $[^{15}\text{N}]$ メチオニンのプライムド連続注入終了時で卵管中に滞留している卵の位置によって推定した。体全体の蛋白質合成量には卵の卵管中における位置によっては有意な変動が見られなかった。卵管自身の蛋白質合成量は卵が膨大部にあるとき最も高い値を示した。卵管における蛋白質合成上昇は、かなりの部分が卵白蛋白質で説明されるものと推定された。肝臓ではほとんど変化はみられなかった。その他の組織においては卵が膨大部にあるとき、合成量が低くなる傾向にあった。これは卵が膨大部に存在する時に、各組織からの卵管へのアミノ酸の供給を助長し、卵管での蛋白質合成を促進するためには合目的であると考えられた。