

報告番号 ※ 甲第 1251 号

主論文の要旨

題名 家蚕の休眠覚醒に関する生理化学的研究
特にソルビニール代謝系について

氏名 柳沼 利信

主論文の要旨

報告番号

※甲第1254号

氏名

柳沼 利信

カイロ卵の休眠の誘導、開始、維持、覚醒と炭水化物代謝との間に深い関連性のあることは、休眠ホルモンと卵巣グリコーゲン量との相関性、休眠開始時でのグリコーゲン量の急減と、これに対応するソルビトールおよびグリセロール量の増加、さらに覚醒時での多価アルコールからのグリコーゲンの再合成等から明らかである。このような事実は、炭水化物代謝系の変化についてα解析が休眠現象の解明の糸口を与える可能性を示唆している。さらに、休眠の諸過程と対応して、炭水化物代謝系の中で、休眠誘導時にはトリアーゼ、開始時にはホスホリラーゼαが酵素であることが判明している。

従って、本研究では、特に休眠覚醒期での炭水化物代謝系を明らかにすることによって、休眠の諸過程での炭水化物代謝について言及することを目的とした。

そこで、まず、休眠の開始、維持、覚醒時期に亘って、グリコーゲン、ソルビトール、グリセロールの量的変動について概観した。その結果、休眠にともない、グリコーゲンの減少と、それに対応するソルビトールの増加が認められたが、グリセロールは前者とは異なるゆくりをして、連続的な増加の様相を示した。さらに、5°C冷蔵、浸酸処理による休眠覚醒期において、ソルビトールの減少と、対応するグリコーゲンの増加が見られたが、グリセロールはソルビトール消失後も一定のレベルを保った。すなわち、ゆくりとして増加の傾向を示した。以上のことから、グリコーゲンとソルビトールとの相互交換が、休眠の開始、覚醒期で認められたが、グリセロールはソルビトールとは異なる代謝系に依存すると考えられた。

休眠中にみける、グリセロールの独自に変動する様相の原因を理解するために、グリコーゲン、卵巣グリセロールの前駆物質として、それぞれ¹⁴C-グルコース、¹⁴C-グリセロールを、虫卵期に注射し、卵内の、主としてグリコーゲン、卵巣グリセロールに与り込ませた。14C源を追跡することによって、ソルビトール、グリセロールの、

休眠期における起源、傾向を調査した。セ-グルコースを用いた、炭水化物代謝系についての実験では、セ α 変動型とセ放射能とから、休眠開始と覚醒期に変わるグリコーゲンとソルビトールとの相互変換系が明らかにされたが、グリセロールの独自の α 変動型が認められ、グリセロールの炭素当りの放射能はソルビトールよりも低かった。さらに、セ-グリセロールを用いた、脂質代謝系についての実験では、前述のグリコーゲン \leftrightarrow ソルビトール相互変換系を再確認するとともに、脂質グリセロールが、グリセロールの蓄積に関与することが明らかにされた。前の炭水化物代謝系の実験と合わせて、脂質グリセロールの関与は、グリセロール蓄積量の約20-30%と算定された。この事実は、炭水化物代謝系と脂質代謝系とが同一のグリセロールプールを共有することを示すものである。

休眠の開始、維持、覚醒と並行して作動するものは、グリコーゲン \leftrightarrow ソルビトール変換系であることが明らかにされた。そこで、覚醒時の、ソルビトール \rightarrow グリコーゲン系の中で、速度段階を把握するために、ソルビトール α 代謝酵素として、特に、ソルビトールキナーゼとソルビトール脱水素酵素について検討を加えた。

カイロプラ中のソルビトールキナーゼの存在は、有核生物で初めての報告であり、このソルビトールキナーゼの性質として、最適pHは9.5付近、ATPに対する K_m 値は0.1mM、ソルビトールに対する最大活性の v を示す値は4.0mMであり、3mM以上の Mg^{++} を必要とした。休眠の経過における酵素活性の α 変動の様相から、ソルビトール \rightarrow グリコーゲン変換系で、この酵素の関与の稀薄さが指摘されたが、幼虫体で高い活性が認められること、ムカ虫、虫蛹の血液中にはソルビトール-6-リン酸の濃度の高いことから、ムカ虫、虫蛹期のソルビトール代謝系での役割が考えられた。

NAD-ソルビトール脱水素酵素の存在については、これまでカイロプラでは報告がなかったが、NADp-ソルビトール脱水素酵素と同一、カイロプラ中に存在することが明らかとなった。NAD-ソルビトール脱水素酵素の性質として、最適pHは8.8、NADとソルビトールに対する K_m 値はそれぞれ0.20mMと136mMを示し、この酵素はソルビトール \rightarrow フルクトース反応を触媒した。NADp-ソルビトール脱水素酵素の性質として、最適pH9.6、NADpとソルビトールに対する K_m 値

はそれぞれ 0.013mM, 200mM を示し、この酵素はソルビトール→グリコース反応を触媒する。

NAD-ソルビトール脱水素酵素は、非休眠卵、休眠卵、さらに休眠芽発育過程の成体若虫、ほぼ一定の活性値を示す。NAD-ソルビトール脱水素酵素は非休眠卵で産卵直後 活性は非常に低く、産卵後 20日経つた後 活性の上昇が認められる。休眠卵では、産卵直後から休眠中、低い活性値のままであるが、5℃冷蔵や浸酸処理による休眠覚醒期に活性の上昇が認められる。すなわち、この酵素はソルビトール量の変動様相とよく対応して活性変動を示し、休眠覚醒時におけるソルビトール→グリコ-ゲン変換系での急速酵素と考えられる。さらにソルビトール酸化系における代謝的相関を理解するために、休眠覚醒時の卵を N_2 ガスによる嫌気的条件下にすると、ソルビトールの減少が阻害される。この場合に、NAD-ソルビトール脱水素酵素 α と β の活性には、影響が認められないことから、ソルビトール→グリコ-ゲン変換系には好意的な酸化が必須である過程が存在すると考えられる。このこと、およびこのカク卵での知見から、NAD-ソルビトール脱水素酵素と α GP サイクルが連動している可能性が考えられる。この系によれば、ソルビトール当り 2分子の ATP が生産され、この 2分子の ATP は、ソルビトールからグリコ-ゲン再合成系に必要で、2段階の大酸化、F-6P と UDP-グリコースの産生、ために消費されることになる。この α GP サイクル連動 α 、エネルギー的相関の妥当性が指摘される。

以上の結果は、カク卵の休眠覚醒時における炭水化物代謝系としてソルビトールからグリコ-ゲンへの変換が主要な経路であり、この過程は NAD-ソルビトール脱水素酵素によって調節されていることを明らかにした。