

氏 名 (本籍) なか がわ へい すけ
中 川 平 介 (大阪府)

学位の種類 農 学 博 士

学位記番号 農 博 第 6 2 号

学位授与年月日 昭和 4 4 年 7 月 1 0 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当

研究科専攻 東北大学大学院農学研究科
(博士課程) 水産学専攻

学位論文題目 虹鱒卵の生化学的研究
(発生過程を中心として)

(主 査)
論文審査委員 教授 土屋 靖彦 教授 志村 憲助

助教授 秦 満夫

論文内容要旨

従来魚卵の発生に関する研究は組織化学的方法によって見てゆくものが多く、成分変化を定量的に追跡していったものは極めて少ない。それに反し鶏卵に含まれる成分とそれらの生成機作については近年比較的多くの研究がなされ、魚卵の研究に参考となるものが少なくない。翻って我国の水産養殖業は近年頓に盛んになりつつあるが、それに必要な種卵や仔魚に関する基礎的知見が充分得られていない。又魚卵は珍味加工品その他に利用されているが、その製造の爲の化学的根拠を与える研究が殆んど行われていない。

ここに於て以上の諸問題の解明に必要な基礎的資料を得ようとすると同時に、比較生化学的知見を拓める爲に本研究を行った。特に魚卵の化学的性状並びにその発生過程に於る生化学的変化の追求を一括して行なう事を目的として、著者は入手の容易な虹鱒 (*Salmo gairdnerii irideus*) の卵について以下の様な研究を行った。

(I) 未成熟卵の化学的性状

宮城県遠刈田養鱒場から入手した虹鱒未成熟卵について、先ず卵黄囊内容物を第1図に見られる様な方法によって分画をした。即ち2%食塩水で抽出した内容物を遠心分離して油球、食塩水不溶部 (L D F) 及び可溶部 (H D F) にわけける。少量のL D Fはエーテルを加え、エーテル可溶部と食塩水可溶部 (L D F-S) に分離する。H D Fは組織化学的には卵黄球と呼ばれるものに相当するが、それは更に水に透析して可溶部 (H D F-S) と沈澱部 (H D F-P) にわけける。未成熟卵に於てはH D F-Sは殆どないからH D F-Pについてのみ分析を行った。

たん白質：未成熟卵内容物から油球を除いた所謂卵黄球の分析結果は第1表に示した。卵黄球は水分とトリクロル酢酸不溶物を合すると98.4%を占め、

内容物の殆んどが蛋白質である事がわかる。同時にそれは大部分がHDF-PでHDF-Sは極く微量である。HDFをPH 9.8でチセリウス電気泳動にかけると第2図の様な三成分を示すので、それぞれを分離して分析した結果が第3表である。HDFのうち84%を占める蛋白質は脂質を20%以上含むリボ蛋白質である。且つその脱脂後の蛋白質部には更に第2表に示す様な炭水化物を含む事が明らかになった。従ってこのものは鶏卵卵黄のビテリンと似た蛋白質である事が考えられる。以上のリボ蛋白質に次いで多い成分は、リン含量が少なく、ヘキソースを0.28%、ペントースを0.33%含む一種の糖蛋白質である。また第三の蛋白質はリンを多量に含むフォスピチン様のリン蛋白質と考えられた。

LDFは脂質を多量に含む蛋白質であるが両者の結合は弱く、エーテル処理で容易に切れる。従ってこの様な処理によって脂質の一部を除いたLDF-Sについてその性質を見ると、食塩水に可溶であり、電気泳動的にはHDFと類似の三成分から成る事が明らかになった。しかしながらLDF-Sの大部分を占める成分は脂質及び炭水化物を含むリボ蛋白質であるが、電気泳動的性質でHDFのリボ蛋白質とは異っている。鶏卵卵黄にもLDF様物質のある事が知られているがその意義については明らかでない。尚、残る二つの蛋白質については精査しなかった。

脂 質：油球及び卵黄球の脂質を分析した結果、油球にはリン脂質を全く含まない事を明らかにした。大部分がトリグリセライドで他に少量のステロールエステル、ステロール及び非エステル脂肪酸であった。一方卵黄球の脂質、即ちリボ蛋白質の脂質は半分近くをリン脂質が占め、次いでトリグリセライドが多く、さらにステロール、非エステル脂肪酸及び痕跡程度の高級アルコールを含んでいた。カロチノイドは主に油球に含まれ、卵黄球には僅に成熟卵のものに認められる程度である。リボ蛋白質の脂質の半分を占めるリン脂質の組成はレシチンが主で他にケファリン、スフィンゴミエリン、リゾレシチンが含まれる。油球とリボ蛋白質の脂質の脂肪酸組成には明らかに違いがみられ、後者に高度不飽和脂肪酸が多い。

L D Fのエーテル抽出物の脂質組成はリン脂質、トリグリセライド、ステロールエステル、ステロール、非エステル脂肪酸からなり、他に少量のカロチノイドが含まれる。脂肪酸組成は油球とリポ蛋白質の脂質との中間的な値を示した（脂質の吸収曲線は第3図に示す）。

(II) 受精後の化学変化

たん白質：未成熟卵の分析からリポ蛋白質の性状が明らかになったので、受精後卵黄が胚に吸収される過程を調べた。内容物の大巾な変化は主にふ化後に起り、そのうち最も減少の著しいものはH D Fの蛋白質である。これは発生するに従って非蛋白質態窒素へ分解され、卵黄囊内に蓄積されてから徐々に胚に吸収される（第4図）。成熟した未受精卵ではリポ蛋白質の脂質は油球より多いが、発生が進むにつれて消費が激しい為、ふ化後は油球の方がむしろ多くなる。第3表の如く発生するにつれリポ蛋白質の脂質含量は変化するが、電気泳動的にみたH D Fの各蛋白質の組成には未成熟期から卵黄吸収期に至る迄大きな変化は見られない（第5図）。従って蛋白質の三成分は卵黄囊内で均等に分解をうけるものと考えられる。

分解吸収されてゆくH D Fの蛋白質の性状を調べると、しだいに水に溶け易くなり、初め殆んどがH D F-Pであったものが受精後42日目の卵黄ではH D F-Sが20%でH D F-Pが80%という比に変わった。H D Fは又発生と共にペプシンに対して安定性の低くなる事が明らかとなった。

未受精卵から受精後29日目及び42日目の卵黄のH D Fについてゲル濾過による分画を行うと、前二者のH D F蛋白質は電気泳動の時に見られたと同様の三成分を示したが、後者はH D F-Pで三成分、H D F-Sではリポ蛋白質が二つに分離して合計四成分を示し、前二者とは明らかに異った（第6図）。

42日目の卵黄のリポ蛋白質をH D F-Pに一成分、H D F-Sに二成分あるとしてアミノ酸組成をみると、成熟未受精卵リポ蛋白質では蛙卵や鶏卵のそれと違って、アラニンとフェニルアラニンが多く、セリン、トリプトファン、チ

ロシン、アルギニン、シスチンの少ない事がわかった。残りの半分のアミノ酸組成比はかなり似ているので、それぞれのリボ蛋白質のアミノ酸配列にはかなりの共通点があるものと推察される。

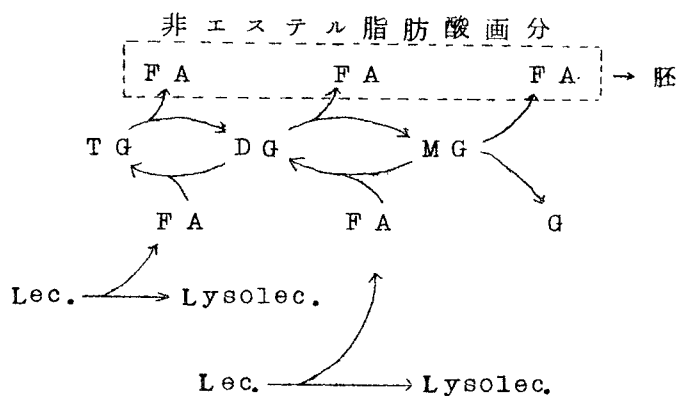
虹鱒卵のリボ蛋白質のアミノ酸組成はメチオニンとチロシンを除くと発生中には殆ど変化がない。42日目のHDF-Sのリボ蛋白質であるコンポネン_T42-I_γのみが他と異なり、メチオニンとチロシンが少ない。必須アミノ酸であるメチオニンが選択的にリボ蛋白質から遊離して消費された事は発生後期にメチオニンが仔魚の成長に重要な意味をもつ事が示唆される。

未成熟卵のコンポネン_{II}にはリンが少なかったが成熟すると、リン含量が増しリボ蛋白質のリン含量より多くなる。アミノ酸組成は成熟未受精卵と42日目のそれでは殆ど変化がない。

脂 質：油球の消費は緩慢で、主にリボ蛋白質の脂質が発生中に大きく減少する。油球の脂質組成は発生が進んでも変化は殆どなく、各々の組成は常に均等に消費されてゆく。なお注目される事はその際カロチノイド色素の減少が著しい事である。油球の主成分はトリグリセライドであり、未成熟卵の油球のそれと変化はない。

リボ蛋白質の脂質も未成熟卵と同様の組成をもつが、発生に伴ない脂質の減少が著しい反面、非エステル脂肪酸が増加する(第4表)。またリン脂質の減少はレシチンの減少による事が大きく、同時にリゾレシチンの増加が特徴である(第5表)。非エステル脂肪酸とリゾレシチンは成熟未受精期では少ないが、発生につれて絶対量が増加してくる。リボ蛋白質の脂質を分画せずに脂肪酸組成をみた場合、特定の脂肪酸のみが胚へ選択的に吸収されるという事は認められないが、各脂質画分の脂肪酸組成は大きく変化する。トリグリセライド画分は29日目の卵ではその絶対量は減少しないにもかかわらず脂肪酸組成は変化している。非エステル脂肪酸は受精前はC22=6、C20=5が圧倒的に多いが、42日目になるとC16、C16=1、C18=1

の割合が増してくる。以上の事からリボ蛋白質の脂質の分解について次の様な図式を考えた。



T G : トリグリセライド D G : ジグリセライド
 M G : モノグリセライド G : グリセロール
 F A : 脂肪酸 L ec: レシチン
 L ysolec. : リゾレシチン

リボ蛋白質中の T G は酵素作用により D G になり F A を生ずる。この F A 非エステル脂肪酸としてリボ蛋白質内に一度蓄積されてから胚に移行する。生じた D G は L ec. から F A を取り、内因性の T G に再合成されその結果 L ysolec. を生ずるのである。

リボ蛋白質の脂質の組成変化を酵素を用いて in vitro で行わせると、ステアブシンを H D F に作用させた場合が最も類似した結果を示した。よって素餌を開始した仔魚の飼料にはステアブシン様の酵素にあったものを投与する事が成長によいと考える。

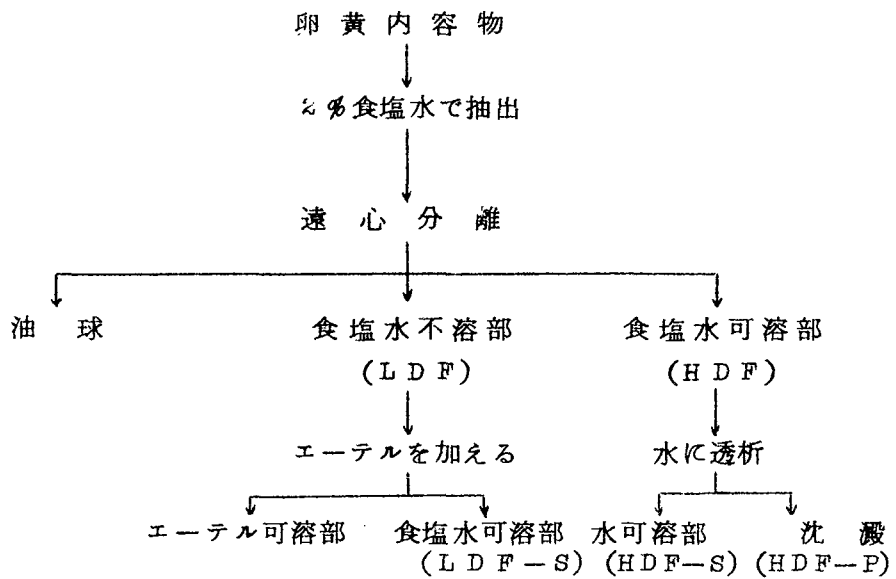
結 論

虹鱒卵の油球はトリグリセライドを主成分とし、ステロールエステル、ステロール、非エステル脂肪酸が少量存在するがリン脂質は全発生期間を通じて認められなかった。油球は他の卵黄成分と比較して消費は緩慢である。発生中カロチノイド色素は減少してゆくが脂質組成には殆ど変化がなかった。

卵黄球は主に蛋白質からなる。即ちリポ蛋白質、糖蛋白質の一種及びフォスピチン様リン蛋白質の三成分からなり、そのうちリポ蛋白質が80%以上を占める。

リポ蛋白質の蛋白質部分のアミノ酸組成は未成熟期から成熟期迄は殆ど変化がないが、発生後期になるとメチオニンとチロシンが少なくなる。一方リポ蛋白質の脂質は約半分がリン脂質からなり、他にトリグリセライド、ステロールエステル、ステロール、非エステル脂肪酸から構成される。発生と共に脂質部分の半分を占めるリン脂質は著しく減少し、非エステル脂肪酸が増加する。リン脂質の組成はレシチン、ケファリン、スフィンゴミエリン及びリゾレシチンからなるが、その内発生と共にレシチンの減少が著しく起り、リゾレシチンの増加がみられる。結局卵の中では非エステル脂肪酸とリゾレシチンが発生につれて多くなる。リポ蛋白質の脂肪酸は主にトリグリセライドから遊離し、非エステル脂肪酸となつて胚に吸収され、同時に生じたジグリセライドはリン脂質から脂肪酸を得て内因性のトリグリセライドとリゾ化合物が生ずる事が推察される。この場合の酵素作用はステアブシン様酵素によるものと考えられる。

糖蛋白質は未成熟期ではリンが少ないが、成熟するとリン含量が増加する。アミノ酸組成は成熟未受精期と発生後期では殆ど変化は認められなかった。



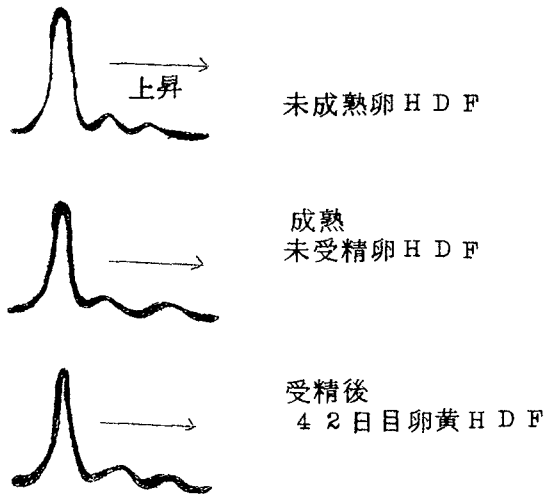
第1図 卵黄内容物の分画方法

第1表 未成熟卵の卵黄球とHDF-Pの一般分析

	水分 (%)	脂質 (%)	窒素 (%)	蛋白質* (%)	TCA不溶物** (%)
卵黄球	64.0	6.6	4.2	26.3	34.4
HDF-P画分	—	19.1	13.6	85.0	100.0

* 窒素含量 × 6.25 より算出

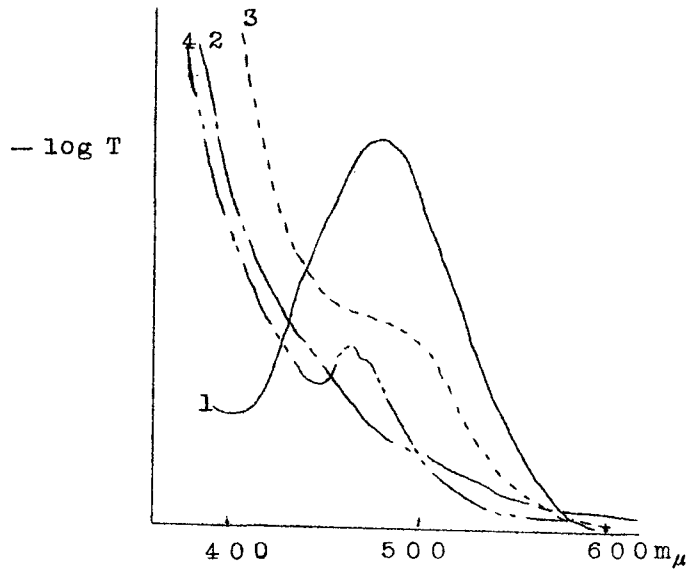
** トリクロル酢酸



第2図 HD Fの各発生期に於けるチセリウス電気泳動像 (PH9.8、炭酸緩衝液)

第2表 未成熟卵の蛋白質の炭水化物

	コンポネント I (脱脂)	コンポネント II
ヘキソース(%)	0.23	0.28
ペントース(%)	0.02	0.33
ヘキソサミン(%)	0.34	
シアル酸(%)	0.14	



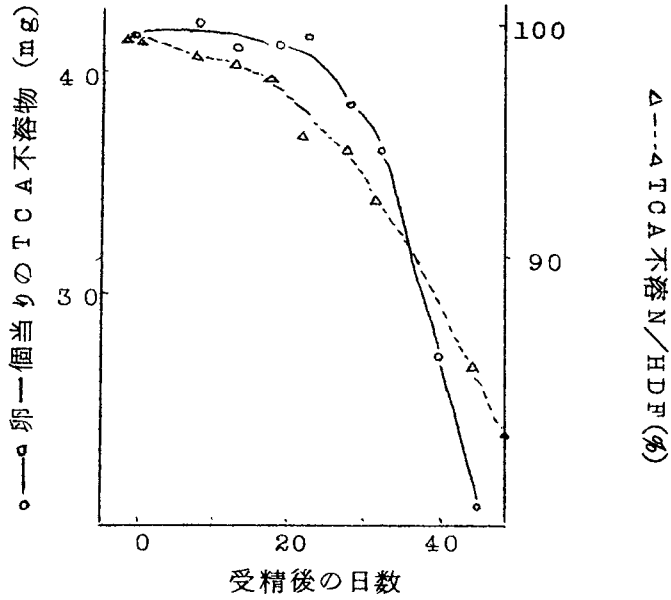
第3図 未成熟卵及び成熟未受精卵中の脂質の可視部の吸収スペクトル

- 1 未成熟卵油球 2 未成熟卵リボ蛋白質の脂質 3 未成熟卵LDFのエーテル可溶部 4 成熟未受精卵リボ蛋白質の脂質

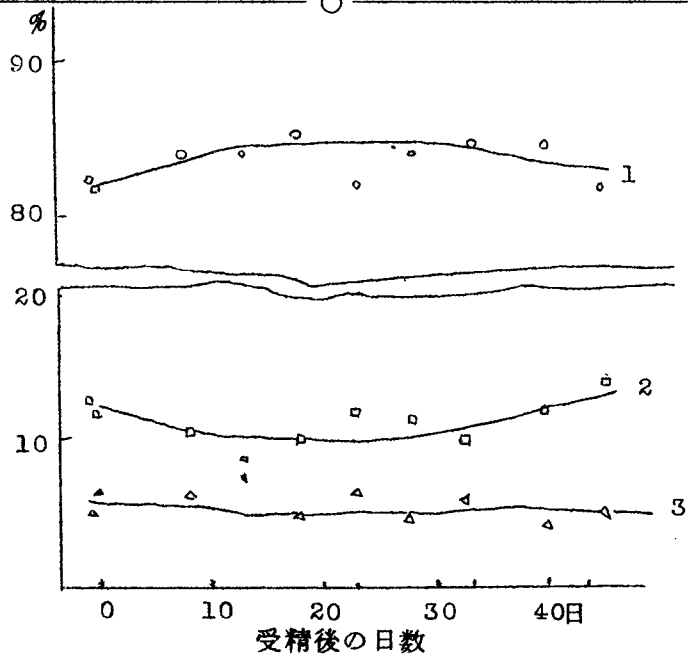
第3表 発生段階別にみた卵黄蛋白質の分析値

	未成熟卵			成熟卵						
	I	II	III	未受精		受精後29日		受精後42日		
				U-I	U-II	29-I	42-I _α	42-I _β	42-I _γ	42-II
窒素(%)	11.9	12.7	14.3	11.8	12.6	12.4	12.3	12.1	12.6	12.4
リン(%)	0.5	0.1	8.2	0.5	0.7	0.5	0.3	0.4	0.5	0.8
脂質(%)	22.8			28.4		23.6	17.7*		17.9*	
脂質のリン(%)	2.0			2.6		2.5	2.1		1.8	

*コンポネント42-II及び42-IIIを計算に入れない場合の定量値である。

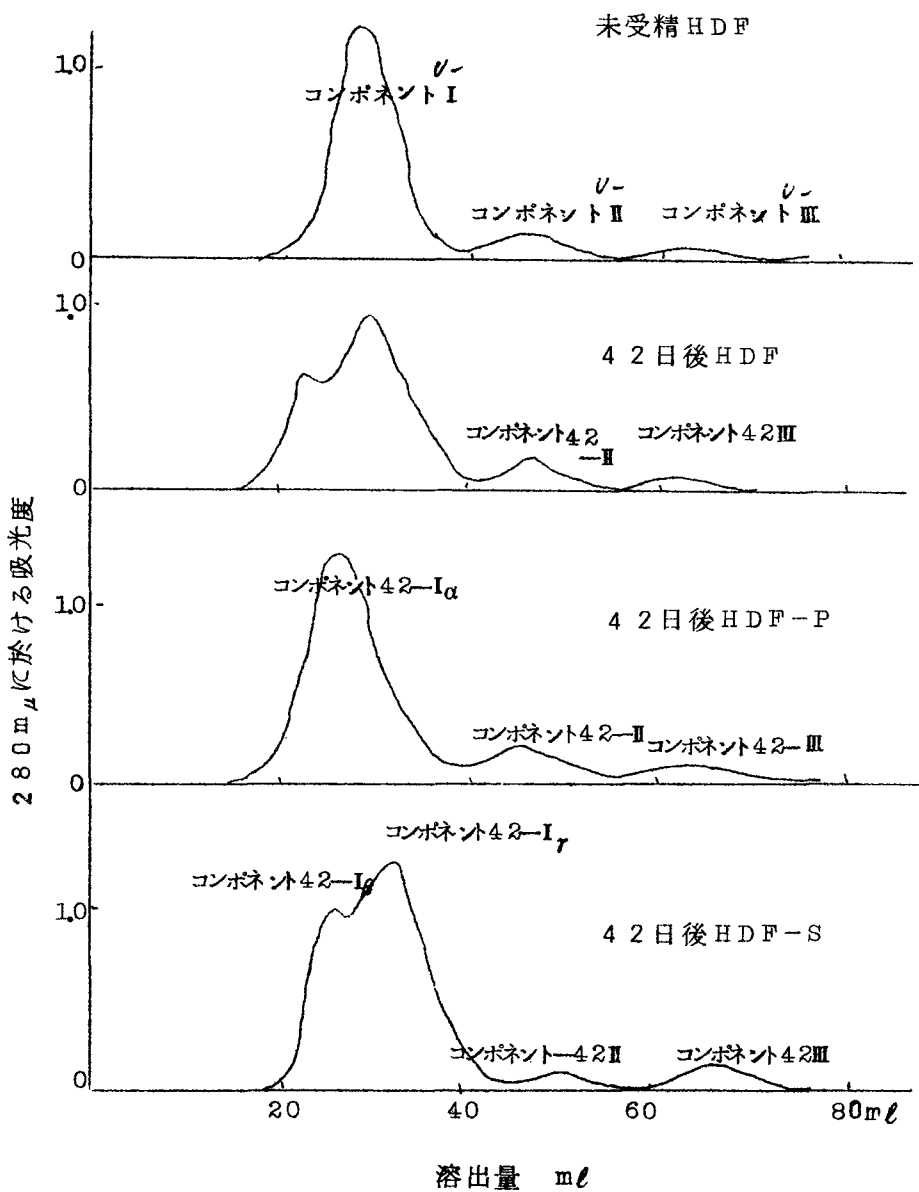


第4図 受精後のHDFのTCA不溶物の変化



第5図 受精後のHDF蛋白質組成の変化

1 リポ蛋白質 2・糖蛋白質 3. フォスビチン様リン蛋白質



第 6 図 セファデックス G-200 による HDF のゲル濾過

第4表 受精後のリポ蛋白質の脂質組成

		受精後42日目			
		未受精卵	受精後29日目	HDF-P	HDF-S
リン脂質	(%)	56.5	46.6	39.0	33.0
モノグリセライド	(%)	痕跡	痕跡	3.7	3.1
ジグリセライド	(%)	3.7	5.5	6.6	3.1
ステロール	(%)	10.7	6.9	9.6	7.2
非エステル脂肪酸	(%)	4.0	9.6	15.4	28.8
高級アルコール	(%)	痕跡	痕跡	—	—
トリグリセライド	(%)	20.8	28.8	19.2	18.8
ステロールエステル 他	(%)	4.3	2.7	6.6	6.2

第5表 受精後のリポ蛋白質のリン脂質組成

		受精後42日目			
		未受精卵	受精後29日目	HDF-P	HDF-S
リゾレシチン	(%)	痕跡	2.5	12.8	23.3
スフィンゴミエリン	(%)	7.1	2.4	7.8	10.7
レシチン	(%)	84.5	88.3	73.0	60.0
ケファリン	(%)	8.4	6.8	6.4	6.0

審査結果の要旨

魚卵の発生過程中的成分変化については従来組織化学的研究が多く見られ、定量的な検討は甚だ少く断片的である。本論文は前編でニジマス未受精卵の成分を詳細に分析してその性状を明かにすると共に、後編でその主要部分の発生過程中的における変化の様相を明かにしたものである。

ニジマス未受精卵内容を2%食塩溶液と処理して遠心分離すると食塩液に可溶部と不溶部及び油球部の三に分けられる。食塩液可溶部は80%以上を占め主体であるが、それは三種の蛋白質からなっている。主体はビテリン類似のリボ蛋白質で、その脂質は高度不飽和脂肪酸が多く、レシチン、リゾレシチン、セファリン、スフィンゴミエリンを含んでいる。更に少量の中性、酸性及び塩基性糖類を含んでいる。残り二つの僅少蛋白質は一つは糖蛋白であり他はフォスピチン類似の磷蛋白である。次の食塩溶液不溶部は三種の蛋白からなるが、その主要は脂質、糖質及び磷を含むリボ蛋白質である。これはしかしながらカロチノイドを含むことと高度不飽和酸を余り多く含まない点で前記食塩溶液可溶のリボ蛋白と違っている。油球部は高度不飽和酸の少い中性脂肪が主体で、他にステロール、カロチノイド及び遊離脂肪酸を少量含んでいる。

これらニジマス卵黄の諸成分は受精後に色々変化するが、最も変化の著しいのは食塩溶液可溶部のリボ蛋白質である。それは発生が進むと次第に水溶性となって卵黄内に貯えられた後、徐々に胚へ吸収されて行く。受精後42日後は20%が水溶性になる。それと共にペプシンに対する抵抗性が減じる。同時にアミノ酸組成ではチロシン及びメチオニンの減少が著しい。更に磷脂質の変化、特にレシチンが発生の進むにつれて著減し、遊離脂肪酸とリゾレシチンの増加が目立つ。しかしそこに遊離する脂肪酸は中性脂肪又はその同族体へとり込まれ、それに代って遊離する脂肪酸が胚に吸収されて行く。そこに関係する脂肪分解酵素はステアプシン様の酵素と推定される。一方食塩溶液可溶の糖蛋白は始め磷含量が低いが発生後期には高くなる。アミノ酸組成はしかしながらその間著しい変化を示さない。油球部分は量、質ともに変化が少ないが、カロチノイドのみは減少する。

以上本論文はニジマス卵の成分を詳細に分析してその特質を明かにすると共に、従来量的に殆ど捉えられていなかった主要成分の発生過程中的における消長を明かにして、その間いくたの新知見を加えたことは水産学の基礎ならびに応用上への貢献が大きいと考え、審査員一同は著者に農学博士の学位を授与するに値するものと認める。