[農化 第 44 卷, 第 9 号, p. 433~436, 1970]

ヤギとラットの血中, 肝臓中の遊離アミノ酸の観察

新 林 恒 一

(農林省家畜衛生試験場)

昭和 45 年 1 月 16 日 受 理

Observation on Free Amino Acids of Goat and Rat [Note]

By Koichi SHIMBAYASHI

National Institute of Animal Health

The free amino acids in the plasma or serum of goat and rat were investigated by using ion-exchange chromatography. The free amino acids in the liver of the both animals were also investigated. In general, the pattern of the free amino acids in the plasma or serum were found to be similar to each other. However, the concentration of free glycine was significantly higher in goats than in rats and that of threonine was conversely lower in goats than in rats in the case of plasma. And the concentration of leucine was very similar to that of isoleucine in goats, but the former was higher than the latter in rats.

The concentration of most free amino acids in the liver was remarkably high compared with that in the plasma. The concentration of ornithine was higher than that of lysine and the concentration of arginine was very low in the both animals in the liver.

From the observation on the free amino acids in the content of the intestine, the portal blood, the liver, and the jugular vein, it is thought that serine may be actively used for the biosynthesis of phospholipid.

(Received January 16, 1970)

緒 言

血中, 組織液などの生体液状成分中の遊離アミノ酸に関する研究は, 自動アミノ酸分析機の普及とともに急速に増加している。著者らは主として乳牛の血漿中遊離アミノ酸を検討してきた⁽¹⁻⁶⁾。これらの研究において, 反芻動物が単胃動物と若干異なる血漿遊離アミノ酸を示すことを知った。本実験では, 反芻動物であるヤギを用いて肝臓中の遊離アミノ酸を定量して血漿中のそれと比較した。他方, ラットの血清, 肝臓中の遊離アミノ酸を定量し, ラットとヤギを比較検討した。

実 験 方 法

動物 ヤギは未經産のザーネン種で体重約 30 kg 前後のものを用いた。飼料は当時使用のもので組成を第 1 表に示したが, 1 日約 600 g の配合飼料と 200 g の乾草

第 1 表 ヤギの飼料の化学的組成*

	配 合 飼 料 (%)	市販購入野乾草 (%)
水 分	11.00	11.4
粗 蛋 白 質	18.64	9.1
粗 脂 肪	3.95	1.6
粗 纖 維	4.47	29.2
粗 灰 分	5.10	5.5
可溶無窒素物	56.84	43.2
DCP**	13.7	2.8
TDN**	71.3	38.0

* 配合飼料の材料組成

大 豆 粕	10.0%	とうもろこし	16.0%
大 麦	25.0	ふ す ま	25.0
あまに粕	10.0	米 ぬ か	10.0
炭 酸 石 灰	3.5	磷酸三石灰	0.35
混合無機物	0.05	ビタミンA-D剤	0.1
(武田ミネフィードM)		(武田 303)	

* 分析は畜産試験場の飼料分析法によった。

** DCP: digestible crude protein

TDN: total digestible nutrients

を朝夕2回与えた。飲水は自由摂取とした。

ラットは Wister-今道系を用いた。体重平均 200 g で、一部はオリエンタル酵母工業株式会社製 MF (蛋白質含量 24%) を用いたが、主として第2表に示した自家配合飼料で飼った。飼料、飲水は自由摂取とした。

分析方法

1) 試料採取: ヤギは 10 頭、ラットは約 20 匹を用いた。ヤギは頸静脈から採血し、ラットではネブ

ータル麻酔下に心臓採血した。ヤギの門脈血採取はネブータル麻酔下に開腹して行なった。

通常、朝飼は8時から8時半まで、前記のごとく配合飼料 300 g と野乾草 100 g を給与したが、一部のヤギについて給与前と給与約2時間後に殺処分し、開腹して小腸、胃を取出してその内容物を切開して採取した。小腸内容物は十二指腸から空腸までであった。第4胃内容は二重ガーゼ濾過し、小腸内容はそのまま 9000 rpm, 20 分で遠心分離して得た上清を用いて分析に供した。

肝臓は採血後殺処分して速やかに摘出して、代謝による変化を可及的に少なくするために液体窒素にて凍結させた。

2) アミノ酸分析: 血液については、血漿(ヤギ)、血清(ラット)をこれまで行なってきたピクリン酸脱蛋白処理をし⁽¹⁾、著者が組立てた装置を用い、カラムクロマトグラフィー⁽²⁾を行なって分析した。ラットの場合、採血量が少ないため数四分を一緒にして用いた。肝臓も用いた血液の量に比例して一緒にして用いた。肝臓について

第2表 ラットの自家配合飼料の材料組成

シ ョ 糖	57%
カ ゼ イ ン	30
マツカラム塩 No. 115	4
酢酸セルロース	4
大 豆 油	5
mg/飼料 kg	
ビタミン B ₁ 塩酸塩	5.0
塩酸ピリドキシン	2.5
リボフラビン	8.0
パントテン酸カルシウム	20.0
ニコチン酸アミド	10.0
ビオチン	0.1
葉 酸	2.0
ビタミン B ₁₂	0.02
イノシット	100
α-アミノ安息香酸	100
ビタミン K ₃	0.5
ビタミン A	10,000 IU
ビタミン D ₃	2,000 IU
ビタミン E	100 IU

は、5 g を 5 ml の蒸留水とともにワーレングブレンダーにてホモジェネートを作り、31 ml の 1% ピクリン酸を加え、40°C, 15 分間よく攪拌し、遠心後上清を得た。この上清を Dowex-2, Cl⁻ 型樹脂の小カラムにて脱ピクリン酸を行ない、溶出液 4 ml をカラムクロマトグラフィーに供した。

胃、小腸内容については、既述の上清を血漿の場合に準じてピクリン酸にて脱蛋白処理、脱ピクリン酸処理をしたものを濃縮してアミノ酸分析に供した。

今回、著者らの用いた方法では、グルタミンはニンヒドリン陰性化合物であるピロリドンカルボン酸へ移行するため定量しなかった。アスパラギンはセリンのピークに若干含まれていると思うが、その量は多くないと考え⁽³⁾。

結果と考察

1. 頸静脈血、門脈血、肝臓中の遊離アミノ酸について 頸静脈血、門脈血、肝臓中の酸性、中性アミノ酸につ

第3表 ヤギの静脈血、門脈血、肝臓の酸性、および中性遊離アミノ酸などの比較

	No. 22**			No. 27**		
	頸静脈 (mg/dl)	門 脈 (mg/dl)	肝 臓 (mg/ 100g)	頸静脈 (mg/dl)	門 脈 (mg/dl)	肝 臓 (mg/ 100g)
グリセリルフォ スフォリルエタ ノールアミン	0.81*	2.53*	147*	7.56*	3.87*	649*
フォスフォリル エタノールアミ ン	1.78*	1.89*	52*	2.02*	1.88*	98*
タ ウ リ ン	0.60	0.66	14.7	0.72	2.54	82.7
アスパラギン酸	0.40	1.19	52.6	0.12	2.16	56.7
ス レ オ ニ ン	0.57	0.62	5.9	0.75	0.84	7.0
セ リ ン	1.66	1.16	34.0	0.66	1.45	41.0
グルタミン酸	1.86	3.57	121	1.46	4.78	126
グ リ シ ン	4.34	4.48	49.5	3.80	4.74	58.8
ア ラ ニ ン	2.37	2.62	25.5	1.71	2.22	37.9
シ ス テ ィ ン	0.19	0.31	6.2	0.30	0.16	18.5
バ リ ン	1.48	1.45	11.6	1.80	1.73	22.3
メ チ オ ニ ン	0.19	0.21	0.8	1.22	0.46	5.6
イ ソ ロ イ シ ン	0.69	0.69	4.6	0.91	0.84	8.5
ロ イ シ ン	0.89	1.11	7.5	1.13	1.25	11.2
チ ロ シ ン	0.60	0.42	5.9	1.19	1.32	9.3
フェニルアラニン	0.92	0.53	1.9	1.40	0.55	7.7
シトルリン	1.07	1.20	***	2.35	1.33	***
ブ ロ リ ン	1.69	2.34	***	1.67	1.17	***

* μmole/dl あるいは μmole/100 g で表わした。

** No. 22, 27 は性別ともに♀で、測定時の体重はそれぞれ 30, 35 kg であった。

*** 肝臓中の遊離プロリン、シトルリンははっきりした値を得ることができなかったの
で削除した。

ラットとヤギの血中アミノ酸パターンでとくに異なっている点は、ヤギではスレオニンとセリンを比べるとスレオニンが低濃度であるが、ラットでは逆に高濃度であった。グリシン濃度はヤギでは著しく高濃度であったが、ラットではそれほど高くない点である。自家配合飼料を

第5表 ラットの血中と肝臓中の酸, 中性遊離
アミノ酸*

	血 清		肝 臓	
	市販固 形飼料 (mg/dl)	自家配 合飼料	市販固 形飼料 (mg/100 g)	自家配 合飼料
タ ウ リ ン	1.45	0.92	30.7	55.3
アスパラギン酸	0.01	0.50	9.0	10.7
ス レ オ ニ ン	2.47	3.38	1.5	19.4
セ リ ン	1.99	2.33	15.1	40.5
グルタミン酸	1.12	1.87	36.0	40.5
シ ト ル リ ン	1.29	0.85	5.2	0.63
グ ル シ ン	2.12	0.75	18.1	19.6
ア ラ ニ ン	2.86	2.30	28.7	39.9
シ ス チ ン	0.18	0.50	7.4	10.6
バ リ ン	1.90	1.56	8.5	10.6
メ チ オ ニ ン	0.60	0.68	12.2	7.97
イ ソ ロ イ シ ン	1.16	0.91	3.82	8.54
ロ イ シ ン	1.75	1.36	5.4	19.9
チ ロ シ ン	1.76	1.72	5.3	16.0
フェニルアラニン	1.06	1.97	4.1	10.3
プ ロ リ ン	1.71	1.95		2.66

* これらの値は3匹を合わせた試料を2回(計6匹ずつ)分析したものの平均である。

与えたラットで、グリシンがとくに低濃度なのはグリシン含量の少ないカゼインを蛋白質源としているためと考える。ヤギで、ロイシンとイソロイシンに差が少ないのに、ラットでは差が大きい違いがみられた。さらに、ヤギ、ラットともプロリンは血中にかなりの濃度にあるが、肝臓中には他のアミノ酸に比して著しく低濃度であった。

4. 肝臓中の塩基性遊離アミノ酸について

塩基性のアミノ酸中ヒスチジンやアルギニン酸は、中性アミノ酸に比して低濃度であった。とくにアルギニンはきわめて低濃度であったが、これは蛋白合成に用いら

第6表 ヤギ肝臓中の塩基性遊離アミノ酸

動物No.							
	22	23	24	27	28	29	30
アミノ酸	(mg/生重量 100 g)						
オルニチン	15.6	39.3	26.1	16.1	29.5	20.0	16.4
リジン	t***			7.6	10.0	17.0	
ヒスチジン	t	18.0	10.0	3.6	15.1	5.6	4.6
エタノール アミン*				89.8	59.8	86.8	29.7
アルギニン	t	2.5	t	t	4.0	3.2	t

動物は7頭使用した。

* $\mu\text{mole}/100\text{ g}$ で表わす。 ** tは痕跡を示す。

第7表 ラットの肝臓中の塩基性遊離アミノ酸

動物No.	1	2	3	4	5	6	7
アミノ酸	(mg/生重量 100 g)						
オルニチン + リジン	10.5	15.1	21.4	10.3	20.8	20.6	24.9
ヒスチジン	0.4	2.6	t	0.5	0.3	0.9	2.0
エタノール アミン*	49.0	129	28.8	57.2	103	57.5	94.5
アルギニン	t**	t	10.1	6.4	3.9	4.8	15.4

自家配合飼料のものを用了。動物は7匹用いた。

* $\mu\text{mole}/100\text{ g}$ で表わす。 ** tは痕跡を示す。

れる反面、アルギナーゼによってオルニチンへ転化されるものと考えられる。塩基性アミノ酸中、オルニチン濃度は他の塩基性アミノ酸に比べて高かった。オルニチンの給源は食餌によるものでないから、体内で他の化合物から生成したものである。酸、中性アミノ酸に比べるととくに高くはないが、尿素合成回路の一員として重要な因子である。高蛋白質飼料によって、より多くの尿素が肝臓で合成されることは明らかであって、このような場合にはアルギニンから転化するオルニチン量も高くなっていると考えられる。尿素合成系におけるオルニチントランスカルバミラーゼが、基質であるオルニチン量の増加によって活性が増強されることが認められている。他方、オルニチンはオルニチンケト酸トランスアミナーゼの基質であって、オルニチンがこれら両酵素の基質として用いられる割合は飼料条件、とくに蛋白質含量によって影響されることが考えられる⁽⁹⁾。

- (1) K. Shimbayashi and T. Yonemura: *Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart.*, **3**, 36 (1963).
- (2) K. Shimbayashi and T. Yonemura: *ibid.*, **5**, 202 (1965).
- (3) K. Shimbayashi and T. Yonemura: *ibid.*, **5**, 213 (1965).
- (4) K. Shimbayashi *et al.*: *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 13 (1965).
- (5) K. Shimbayashi *et al.*: *ibid.*, **31**, 628 (1967).
- (6) 新林恒一, 伊出 優, 佐野洋二: *農化*, **41**, 375 (1967).
- (7) S. Moore, D. H. Spackman and W. H. Stein: *Analyt. Chem.*, **30**, 1185 (1958).
- (8) J. Kanfer and E. P. Kennedy: *J. Biol. Chem.*, **239**, 855 (1964).
- (9) 新林恒一, 梅村泰清: 日本農芸化学会大会講演(1970).