

ヤマトシジミの脂質代謝に基づく生理調節機構の解明と栄養学的評価

生命工学科 准教授

地阪 光生

目的

多くの生物において、多価不飽和脂肪酸は多様な生理活性脂質を生合成するための出発物質である。これらの生理活性脂質は、ストレス応答、細胞の増殖・分化など、様々な生理過程に調節因子として関与する。貝類における多価不飽和脂肪酸に係る脂質代謝の研究は未だ少ないものの、生殖細胞の分化に関わることが示唆されている。本研究では、宍道湖に生息するヤマトシジミ (*Corbicula japonica*) における多価不飽和脂肪酸代謝系に関わる諸酵素および代謝系で生成する生理活性脂質を解明し、それらの知見に基づいて、ヤマトシジミの資源維持および栄養学的評価に資することを目的とする。今回、その基盤として、まず多価不飽和脂肪酸の代謝酵素に関する基礎的知見を検討した。多価不飽和脂肪酸の代謝において、その初発反応として、リポキシゲナーゼ (LOX) による位置および立体特異的な過酸化反応が用いられる場合が多い。当研究室では、これまでに動植物の LOX を幅広く解析してきており、先ず、ヤマトシジミの LOX を検討した。

研究成果

ヤマトシジミの多価不飽和脂肪酸代謝系を解析するために、先ず、ヤマトシジミのリポキシゲナーゼ (LOX) 活性を検討した。宍道湖漁協または地元スーパーで入手した新鮮な宍道湖産ヤマトシジミより、小さい体躯の中で明確に識別できる卵巣、精巣およびエラを摘出した。各試料臓器を 50 mM トリス塩酸緩衝液 (pH 7.5) 中で破碎した後、この破碎液を 13,000 rpm で遠心分離し、その上清として粗抽出液を得た。この粗抽出液を酵素液とし、アラキドン酸に対する LOX 活性を、紫外 (UV) 吸収スペクトル分析で解析した。LOX による位置および立体特異的な酸素付加反応により、多価不飽和脂肪酸に共役ジエン構造が生じ、この部分構造が 234 nm 付近の紫外線を吸収する。そのため、反応液の吸収スペクトルを経時的に測定することにより、LOX 活性を測定することができる。その結果、卵巣、精巣およびエラの粗抽出液を含む各反応液で、234 nm における UV 吸収が反応時間の経過とともに増大したことから (図)、各粗抽出液の LOX 活性を検出することができた。

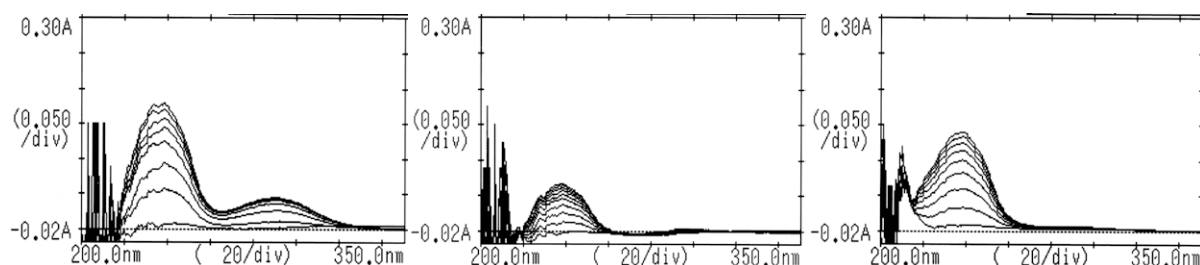


図 ヤマトシジミの臓器粗抽出液の LOX 活性

ヤマトシジミの卵巣 (左)、精巣 (中) およびエラ (右) の各粗抽出液を、50 mM Tris-HCl (pH 7.5) 中、10 mM アラキドン酸と 25°C で反応させ、反応液の UV スペクトルを 2 分毎に測定した。

卵巣の粗抽出液では、234 nm における吸収に加えて、290 nm における UV 吸収も増大した。これは、最初の LOX 反応で生成した過酸化脂質がさらに代謝され、共役ジエノンなどのより大きい共役構造を持つ生成物が生じたことを示唆している。また、これら2つの波長における各 UV 吸収が概ね同時に増大していることから、卵巣粗抽出液によるアラキドン酸の数段階の代謝反応が、速やかに進行することが伺える。精巣およびエラの粗抽出液では、専ら、最初の LOX 反応のみが検出された。これらの反応液より反応生成物を抽出し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析に供したところ、いずれの臓器粗抽出液の反応液からも、LOX の初発反応生成物としては、単一の主要な生成物および数種の微量生成物が検出された。現在、順相およびキラル相 HPLC を駆使して、これらのより詳細な同定を現在進めている。

社会への貢献

ヒトを含む哺乳動物では、*S*位の立体特異性を持つ数種類の LOX および1種類の *R*特異的 LOX を共通に保存している。一方、水棲無脊椎動物では、未だ報告が限られているものの、主に *R*特異的 LOX を有している。一部の水棲無脊椎動物では、LOX 生成物が卵母細胞の成熟に関与することが示唆されている。ヤマトシジミは、汽水での塩分濃度大きく変化し易い環境に生息し、また、共存する藻類の種類変化など、環境変化に絶えず応答している。また、近年、藻類同士の相互作用に多価不飽和脂肪酸由来の生理活性脂質が関与することが報告されている。貝類の脂質代謝系については未だ報多くが不明である。LOX をはじめ、ヤマトシジミの多価不飽和脂肪酸の代謝系に関わる諸酵素および生理活性脂質が明らかになれば、ヤマトシジミの環境応答や生殖の仕組みの理解が深まり、資源としてのより効果的な維持・活用に貢献できると期待している。

次年度に向けた検討状況

ヤマトシジミの産卵期 (7~9月) が過ぎると、卵巣および精巣が縮小し、臓器のサンプリングが困難になる。現在は、9月に入手したシジミ試料を用いて、各種解析の条件検討を行なっている。一方、遺伝子の解析に用いる試料は、RNAlater 処理で長期保存できる。実際に、この保存試料より全 RNA を調製し、さらに cDNA を合成できた。このシジミ cDNA を用いて、多価不飽和脂肪酸代謝系酵素の cDNA の検出を進めている。また、再び、シジミの活動が活発化する時期に備え、生殖細胞の保存方法等を検討している。

公表論文

学会発表等

受賞等

外部資金