

魚類酵素の至適温度に関する研究—(1)

環境水温に対する至適温度の適応性*

武 居 薫

Studies on Optimum Temperature of the Enzyme of the Fish.—(1)

The Adaptation of Optimum Temperature of the Digestive Enzyme
(Mackerel) on the Surrounding Water Temperature.

By

Kaoru TAKESUE

In spite of many observations on optimum temperature of the enzyme of the fish, none detailed enough to account for "Lower Temperature Digestion" has been published.

The fact that the optimum temperature of the enzyme of the fish is lower in the cold water inhabitant than in the warm water one appears to point to the conclusion that the optimum temperature of the enzyme is closely associated with that of environmental temperature. A question naturally suggests itself as to whether or not the optimum temperature of the enzyme of the fish changes as the environmental temperature ranges from lower to higher ones.

Casting about for a fish which enjoys considerable seasonal changes of water temperature, mackerel was chosen. Tests were made with protease of pyloric coeca of the fish caught in February (water temp. 12°C), August (water temp. 23°C), and October (water temp. 20°C) at temperatures 20°, 30°, 40°, 50°, and 60°C for respective duration 1, 2, 3, 4 and 5 hours, with the following results.

1) Shifting of the optimum temperature of the enzyme in accordance to change of environmental temperature could not be observed.

2) The optimum temperature of the enzyme changes with reaction time (digestion time).

The above seems to lead to an assumption that fishes have a mechanism to accommodate the optimum temperature of the enzyme to a temperature which stays around the environmental one, if not identical with it.

結 言

恒温動物にあつては、体温は酵素作用に適当な温度を示すに反し、低温動物では、体温が著

* 水産講習所研究業績 第177号.

しく低く、若し既に報告された様に魚類プロテアーゼの至適温度が $35^{\circ}\sim 45^{\circ}\text{C}$ の高温値を与えるものであるならば、 $10^{\circ}\sim 25^{\circ}\text{C}$ の低温を生活環境温度とする魚類にあつては、酵素力の非能率的な触媒力しか期待出来ない。然し事實は、魚類に於いても消化作用の渋滞は認められていない(低温消化)。これを説明するために魚類の消化酵素は哺乳動物のそれに比し低温でよく作用するという報告もあり¹⁾、又至適温度が低いという報告もあり²⁾、それぞれの否定もある³⁾。今仮にこの両者を肯定したとしても、未だ魚類の低温消化が完全に説明されたとは思えない。

酵素の見掛けの消化力(反応速度)は、作用湿度と共に促進されるが、一方作用温度が高まれば、それに伴い酵素自体の受ける失活も増大するはずであるから従来の結果は見掛け上の至適温度であつて、実はこれよりも可成り低温に真の至適温度が存在するのではないかと思われる。石田⁴⁾・BERRILL⁵⁾は、酵素の至適温度に関与する諸要因のうち、特に作用時間の長短が至適温度を左右する重要な因子であることを見ている。即ちブダイ肝臓アミラーゼでは作用時間が、1~3時間では至適温度が $38^{\circ}\sim 40^{\circ}\text{C}$ であるものが、90時間では 25°C となり⁴⁾、ホヤの一種のアミラーゼでは、1時間で 45°C のものが、57時間では 13°C を与えている⁵⁾。而もホヤでは適水温が 15°C 附近にあり、餌が鰓嚢から肛門に至る時間が35時間であることを見ている。従つて酵素の至適温度を測るには、魚類自体の消化時間を考慮した上で決めるべきだと思われる。最近福田⁶⁾は数種の供試動物についてその肝臓カタラーゼの種々の温度と時間に於ける反応速度恒数より Q_{10} を求め、 $Q_{10}=1$ なる点の温度より至適温度を求め(初反応至適温度)、それと棲息温度とを比較した結果、両者がよく一致することを見た。即ち動物酵素の至適温度が環境温度によつて異り、それぞれ環境温度に対して特異性のあることを認めた。

ところで、魚類にあつては同一種と雖も常に同一温度の水界に棲息出来るものではなく四季の遷移に伴い常に棲息水温の一定しない水界に棲むものである。環境温度によつて至適温度を異にするものならば、魚類にも、かかる可変環境水温に対する順応がなくてはならないはずである。適水温を追つて洄游する魚族でも可成りの環境水温の変化は、まぬがれないものであるから。

著者は酵素の至適温度を知る目的の一つとして、その環境水温に大きな差異がある鯖の特に幽門垂プロテアーゼについて、2月(水温 12°C)と8月(28°C)及びその中間の10月(20°C)の試料を用いて各種作用温度・作用時間により、その至適温度を比較したところ次の様な結果を得た。

- (1) 環境水温を異にする試料酵素の至適温度の差異は全く認められない(Fig. 2・3・4)。
- (2) 作用時間によつて至適温度が変ることを再確認した。

非能率的な触媒力しか期待出来ない環境水温にあつて魚類の消化に渋滞が認められない事は、上述の結果から判断して、その環境水温と同一、若しくはそれに近い温度が、便宜上至適温度となる様な消化機構を有するものと考えられる。

本文を草するに当り、種々御便宜を与えられた本所松井教授並びに有益な助言を頂いた藤井教授に深謝の意を表す。

実 験 方 法

(1) プロテアーゼ供試液

鮮度比較的良好と思われる⁷⁾鯖幽門垂を再溜水で洗滌后、アセトンで2分間振盪を再度繰

返したのち、エチルエーテルにて同様処理して脱水脱脂した粗乾燥物を真空デシケーター中に放置し粉末としたものを1%酵素液として供試した。

(2) プロテアーゼ活力の測定法

100 cc 容三角フラスコに上記酵素液 5 cc をとり作用温度に5分間俟つた后、予め同温度に係つた2%カゼイン溶液(カゼイン2gを15/M Na_2HPO_4 液75ccに加熱溶解し10/N NaOH液でpH=8.3にした)5cc、燐酸塩緩衝液20ccを手早く加え、正確に一定時間経過したとき0.4M CCl_3COOH 液10ccを吹き込み酵素力を停止させると同時に未反応のカゼインを沈澱させ、20分間放置后濾過し、その濾液について常法により CCl_3COOH 液可溶性全窒素を定量した。尚蒸溜水はすべて再溜水を用い、防腐剤としてトルオール1ccを加えた。

実験結果

(1) 鯖幽門垂プロテアーゼの至適 pH に就いて

上記の測定方法により作用時間60分、作用温度40°Cとして試験した結果pH=8.3を得た(Fig. 1)。これは、既往の実験結果⁵⁾に比し幾分高い値を示した。

(2) 至適温度と作用時間との関係

既往の結果^{4), 5)}と同様作用時間の長短によつて至適温度が異なることを見た。即ち作用時間を1時間とした場合には、各試料共44~46°C、3時間とした時に

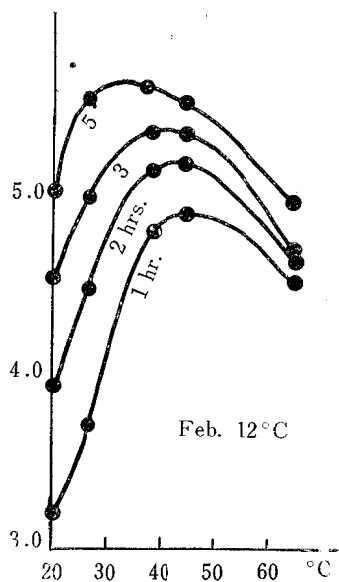


Fig. 2. The curve showing the opt. temp. of the protease on various reaction in mackerel. (Feb. 12°).

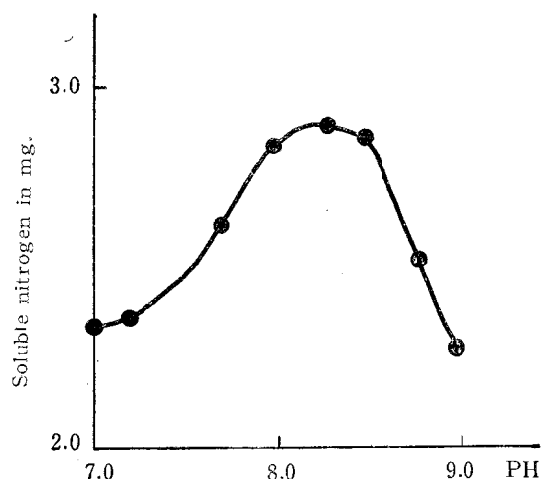


Fig. 1. Influence of pH on the protease in mackerel.

は38~40°C、4時間では34~36°Cで、更に5時間とした場合には32~34°Cを示した。

(Fig. 2, 3, 4)

(3) 至適温度と環境温度との関係

本魚は済州島・対馬近海では周年漁獲され、下関漁港に水揚げされるが、従つて時季により環境水温の変化も可成り大きいものがある。そこで環境水温を大いに異にする時季の試料について実験した。即ち

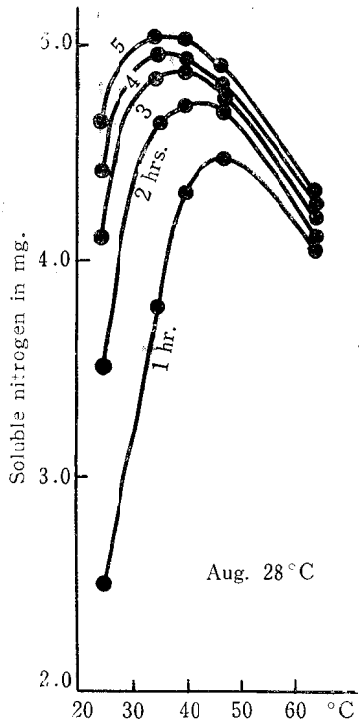


Fig. 3. The curve showing the opt. temp. of the protease on various reaction time in mackerel (Aug. 28°C.)

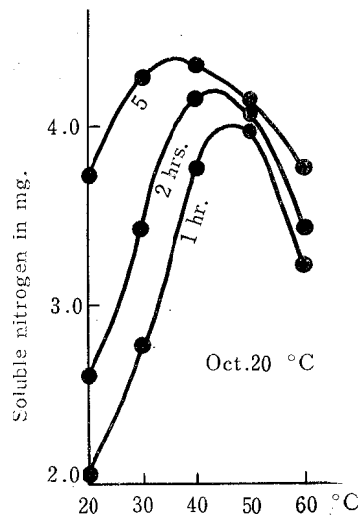


Fig. 4. The curve showing the opt. temp. of the protease on various reaction time in mackerel (Oct. 20°C).

- A ; 2月鯖……2月18日対馬にて採取水温 12°C。
 B ; 8月鯖……8月20日濟州島にて採取水温 28°C。
 C ; 10月鯖……10月25日濟州島近海にて採取水温 20°C。

その結果はA, B, C共に全く同一な至適温度を示し (Fig. 2, 3, 4) 環境水温の変化に対応して変動するものではなく、特有のものであることが解つた。

考 察

以上の実験結果から魚類特に鯖については環境水温の可成りな遷移にあつても、それに対して消化酵素の至適温度が不変であることから至適温度と棲息温度には関係がない様に思われる。このことは既往の諸説を否定することになる。

従来、至適温度と棲息温度がよく一致した報告がある⁶⁾。それに依ると冷水性魚類と温水性魚類の棲息温度の差は魚種によつても異なるだらうが大体5~10°C程度であり、この比較的僅かな温度差にも拘らず、至適温度にはつきりと区別が認められている。

本実験の場合には10~15°C 棲息温度差をもつにも拘らず、至適温度に全然差異が認められない事実は上述の事実と併考して注目に値する問題である。高木⁹⁾は、数十種の海藻カタラーゼにつき、その至適温度を精査し、海水温の季節的变化に伴い、その至適温度に変動のない

ことを報告していることから、環境水温に対する適応性のないことが類証される様である。

非効率な触媒力しか期待出来ない低い環境水温にあつて、消化に渋滞が起らないと云うことは従来の結果からでは、その低温消化を説明出来ないが、事実活動性に富む洄游魚にあつては、相当なエネルギーを必要とし、それがためには迅速且能率的な消化が行われなければならない。さりとて、強力な活力を有する酵素も未だ発見されていない。これを説明するためには本実験の2つの結果と、BERRILL⁵⁾の結果から推して結局はその棲息水温と同一、若しくはそれに近い温度が、便宜上至適温度となる様な消化機構を有するものとは考えられないだらうか。

即ち、作用時間によつて至適温度が異なるという結果から、棲息温度の高いときは比較的短時間で、低い時は長時間に亘つて消化を行い、魚類固有の消化酵素の活力と棲息温度とを有機的に結び、所謂低温消化を円滑にしているのではないかと思う。

次に各作用時間に於ける至適温度を結んで得られる至適温度変異線 (Variation line for opt. temp.) は本実験の場合、ほぼ直線で、この直線の示す傾きは酵素量によつて異なるので、これについては本魚の消化時間の推定と同時に次報に述べることにする。

摘 要

鱈幽門垂プロテアーゼの至適温度について、棲息温度を可成り異にする2月・8月・10月の三試料について比較し、環境水温に対する適応性を検討した。

- (1) 環境水温差による至適温度の変動は全く認められない。
- (2) 作用時間によつて至適温度は異なり、作用時間が長ければ長いほど至適温度は低くなり、本魚の場合では作用時間1時間差で約5°Cの変動がある。
- (3) 以上の結果より魚類の低温消化の機構について若干の検討をした。

文 献

- 1) LUCHAN: 1937. Winterstein, H. Handb. d. Vergleichenden Pysiol., 2, 1099.
- 2) 大谷武夫・中井甚二郎: 1937. ヒメアスの蛋白消化酵素に就いて, 日水学, 9 (1), 45~49.
- 3) CHESLEY, L. C.: 1934. The influence of temperature upon the Amylase of Cold-and Warm blooded animals, Biol. Bull., 66, 330~338.
- 4) 石田寿老: 1935. 魚類 Amylase の最適温度について, 動雑, 47 (565), 717~728.
- 5) BERRILL, N. J.: 1929. Digestion in ascidians and the influence of temperature, Brit. Jour. exp. Biol., 6, 275~292.
- 6) 福田博業: 1954. 魚体カタラーゼの研究—IV. 魚肝カタラーゼの至適温度について, 日水誌, 20 (6), 512~519.
- 7) 鈴木秋果・森尾忠夫: 1953. 魚類内臓の蛋白酵素に関する研究—I. 幽門垂プロテアーゼについて, 南水研誌, 1, 52~57.
- 8) 大谷武夫・畑中主計: 1927. 鱈の幽門垂に於ける蛋白酵素に就て, 水講試報, 22 (5), 352~359.
- 9) 高木光造: 1953. 海藻のカタラーゼに関する研究—III. 海藻カタラーゼの Opt. temp. に就いて, 日水学, 19 (7), 803~808.