

クジラヒゲの形態と組成に関する予察的研究

関 谷 尚 子* 佐 俣 哲 郎**

1. はじめに

鯨類は、哺乳類でありながら海洋に生息しており、環境に高度の適応を果たして、著しく特殊化した哺乳類のグループである。鯨類は、漸新世から現世までのヒゲ鯨亜目と歯鯨亜目のほかに、始新世から漸新世にかけて生存していたとされる原鯨亜目に分類される(西脇, 1965)。

鯨類の進化の過程において、水中生活への適応に関するいくつかの機能の獲得が重要であった。その一つは、水中での運動機能であり、これは前肢の鱗化、後肢の消失、体型の流線型化などで、原鯨亜目の段階ですでに認められるものである。また、呼吸機能については鼻孔の背面への移動が特徴的である。これはテレスコーピングとして知られているもので、ヒゲ鯨亜目と歯鯨亜目では、全く異なる様式で行なわれている。さらに、水中生活への適応のために獲得しなければならなかったもう一つの機能は、食物に係わるものである。歯鯨亜目の歯は、一部の例外はあるが次第に同型多歯となるのに対して、ヒゲ鯨亜目の場合、歯は胎児期に吸収され、代わりに“クジラヒゲ”という特殊な器官を持つようになった。

これまでに、クジラヒゲの分析はほとんど行なわれておらず、わずかに、Fincham (1967) のイワシクジラのクジラヒゲの粗灰分などの分析結果や、Gillespie and Frenkel (1974) のシロナガスクジラのクジラヒゲの比較生化学的分析結果が報告されているにすぎない。

筆者らは、クジラヒゲの成分を明らかにするために、シロナガスクジラを用いて、その電子顕微鏡による観察と生化学的分析を行なった。これらの観察と分析を通じて、クジラヒゲがケラチンに分類されるタンパク質を主体としたものなのか、また、ケラチンであるならば、どのような種類のケラチンなのかを解明することを目的とした。

2. 試料

分析試料にはナガスクジラ (*Baleontolopie Physalus*) のクジラヒゲを用いた。この試料は、和歌山県太地町立くじらの博物館学芸員雑賀毅氏にご提供いただいた。

3. 分析方法

① 走査型電子顕微鏡による形態観察方法と元素分析装置による含有元素分析方法

電子顕微鏡観察用試料として、試料の長軸方向の横断面と破断面の角質管部分を用いた。観察は JOEL JSM-840 走査型電子顕微鏡 (日本電子(株), 東京) で行ない、元素分析はリンクシステム モデル 860 (リンクシステム社, イギリス) で行なった。

② アミノ酸組成分析方法

クジラヒゲ主部をエタノールと蒸留水で十分に洗浄し、乾燥させた後に、乳鉢中で粉末化した。この粉末試料 0.1mg を完全に脱塩し、封管したアンプル管中で、5.7N HCl, 110°C, 24時間加水分解した。加水分解試料は、脱塩した後、0.1N HCl に溶解し、ATTO-MLC703S 型アミノ酸自動分析機 (ATTO Co., Tokyo) で分析した。

③ 電気泳動法

電気泳動を行なうためには、まず試料を可溶化しなければならない。このため、前述の粉末試料を、Gillespie (1964) の方法に準じて可溶化して、S-カルボキシメチル誘導体を調製し、これを泳動用試料とした。電気泳動は、Anderson (1983) の方法に準じて、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) で行ない、50mA 定電流で12時間泳動した。泳動後のゲルの染色には、Coomassie Brilliant Blue R250 (C. B. B.) 染色、Stainsall 染色および銀染色 (銀染色キット、和光純薬工業(株), 大阪) を行なった。

4. 結果と考察

① 微細構造および成分元素について

Naoko Sekiya and Tetsuro Samata: Preliminary studies on the structure and composition of baleen

* 東京農工大学大学院修士

** 麻布大学 教養部

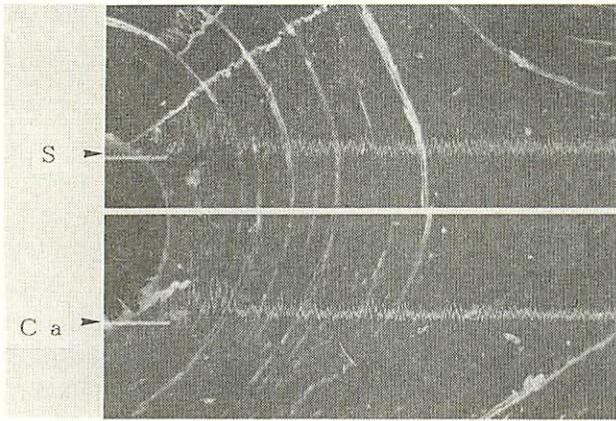


図1 クジラヒゲの横断面

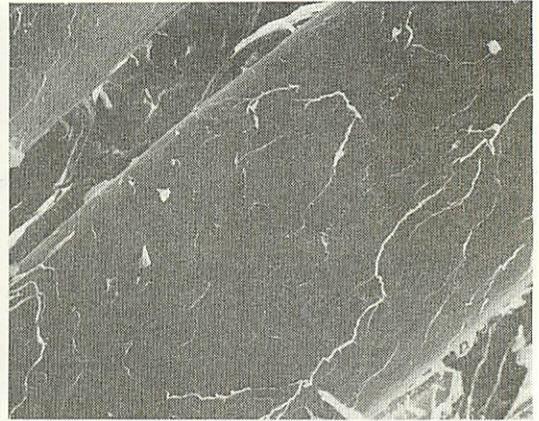


図2 角質管表面

クジラヒゲの長軸方向と垂直に切断したものを横断面とし、走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した (図1)。本図の左側から中央にかけてみられる同心円状の部分は角質管に相当し、この角質管の周囲にあって隙間を埋めている部分が外套角質に相当する。肉眼で観察できるクジラヒゲの縁にある繊毛は、外套角質が削り取られて、内部の角質管が露出したものである。角質管の内部には年輪のような縞模様が見られ、中央部は空洞になっている。この角質管の表面を図2に示した。本図で明らかなように角質管の表面にはキューティクル (毛小皮) に似た縞模様が認められた。

つぎに、SEMに付属の元素分析装置による角質管

内部と表面の分析結果を図3と図4に示した。両図から、角質管内部には、イオウ、リン、カルシウムが存在する事が明らかになったが、角質管表面ではイオウとリンのピークは認められるものの、カルシウムのピークは明瞭には確認できなかった。このことはカルシウムの存在部位が角質管内部に局在している可能性を示している。このため、角質管中央から外套角質にかけてイオウとカルシウムについて線分析 (Line Profile) を行なった。この結果は図1に付記してあるが、両元素とも角質管中央部に向かって含有量が高くなる傾向が認められた。

クジラヒゲ中に含まれる灰分については、Fincham

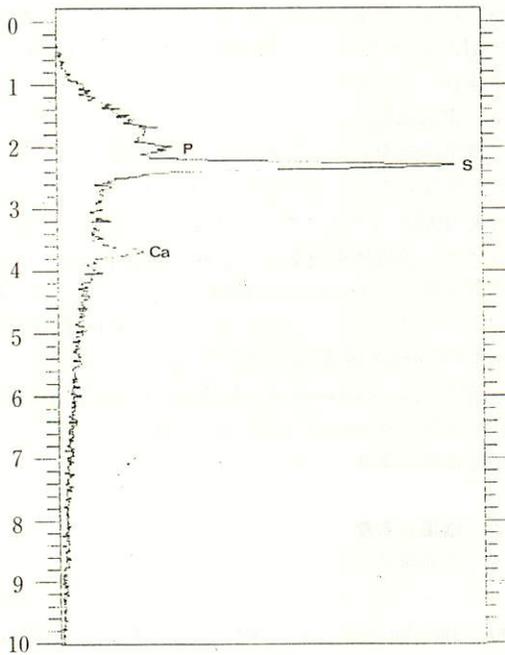


図3 角質管内部の元素分析

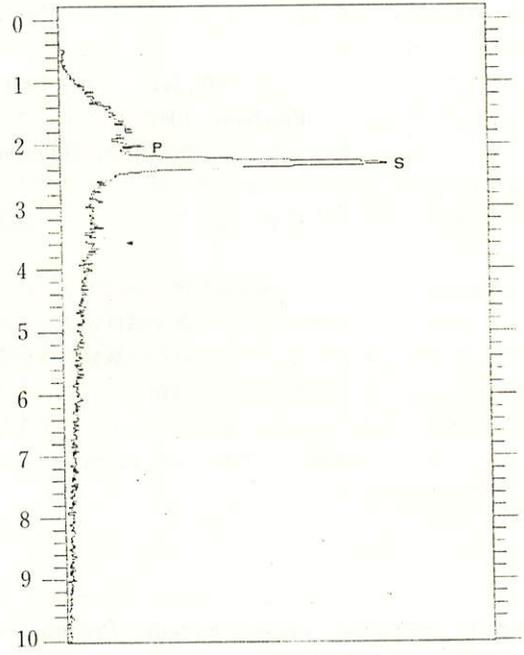


図4 角質管表面の元素分析

(1966)が粗灰分の分析を行ない、リン酸カルシウムの存在を示唆した。今回の元素分析の結果もリンとカルシウムの存在を示しており、クジラヒゲ中にリン酸カルシウムが含まれる可能性は大きい。しかし、今回の分析はあくまでも定性的なものであり、リン酸カルシウムが含まれるにしても、その含有量は不明である。また、リン酸カルシウムの結晶形の同定も行っていないため、歯クジラの歯を構成するハイドロキシアパタイトがクジラヒゲ中にも存在しているのかも判らない。クジラヒゲ中での石灰化部位の確認とともに今後の検討課題である。

② アミノ酸組成について

ナガスクジラのクジラヒゲ全体のアミノ酸組成分析の結果を図5にグラフ化した。本図に明らかなように、この試料はグルタミン酸を最も多量に含むほか、セリン、プロリン、アラニンなどに富み、メチオニン、ヒスチジンの含有量は非常に低い特徴を持っていた。このほか、システイン含有量が比較的高いことなどから、クジラヒゲの主成分はケラチンに相当するタンパク質であると推定できる。ケラチンはシステインを多量に含む特徴を持つが、動物の種差や部位によってその含有量に大きな差(5%~20%)がある(Gillespie and Frenkel, 1974)。今回の分析に供したナガスクジラではシステイン含有量は5%を越えていたが、ミンククジラでは2~3%という測定結果も出ており(関谷MS)、クジラヒゲを構成するケラチンではシステイン含有量が比較的低い特徴があるのかも知れない。一方、粗ケラチンの中には、少なくとも3種類の成分が含まれていることが知られている。すなわち低硫黄含有成

分(LS)、高硫黄含有成分(HS)、高チロシン/グリシン含有成分である。このため、クジラヒゲのシステイン含有量が低い理由として、HS成分が少なく、LS成分が多い可能性を考えることもできよう。いずれにしても、クジラヒゲ全体を加水分解してそのアミノ酸組成を調べるだけでなく、含有成分ごとの組成も明らかにする必要がある。さらに、システインの正確な定量には、加水分解に際して完全な脱気が必要であるため、適当な加水分解剤の開発が望まれるところである。

歯クジラの歯のエナメル質には、いわゆるエナメルタンパク質が含まれている。エナメルタンパク質には大別して幼若エナメル型の「アメロゲンin」と成熟エナメル型の「エナメルin」が存在するが、両成分ともグルタミン酸、プロリン、グリシンに富む特徴を持つ。ナガスクジラのクジラヒゲ中に、これらの3種類のアミノ酸が他のケラチンよりも多量に含まれていたことから、エナメルタンパク質との関連性も考えられ、注目される。

③ 電気泳動結果

S-カルボキシメチル誘導体を用いてSDS-PAGEを行ない、C. B. B.で染色した結果を図6に示す。本図に明らかなように、45~70kDの比較的大きな分子量領域に4~5本のバンドが認められるとともに、30kD付近にも不明瞭な2本以上のバンドが認められた。分子量の比較的小さい(30kD以下)領域のバンドは、

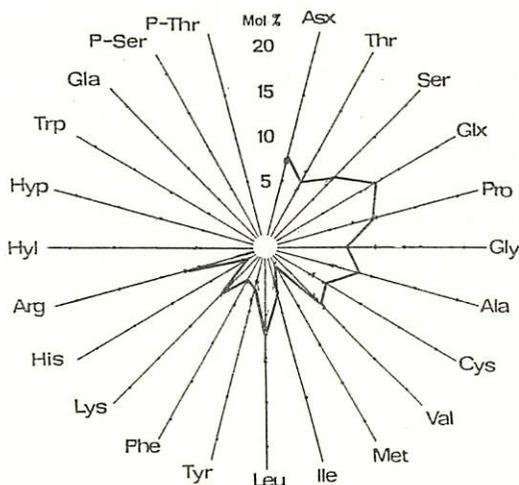


図5 クジラヒゲのアミノ酸組成

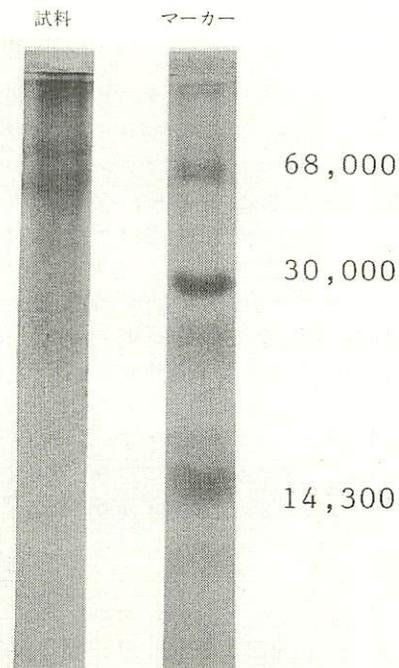


図6 クジラヒゲ可溶化生成物のSDS-PAGE

C. B. B.での染色性が余りよくないため、さらに感度の高い銀染色を試みた。その結果、30kD 付近のバンドのほかにも、10kD 以下の低分子量の領域 1~2本のバンドが識別できた。また、Stainsall 染色を試みた結果、高分子領域のバンドのうち1本と30kD 付近のバンドは青色に、それ以外のバンドは赤色に染め分けられた。

可溶化ケラチンの電気泳動のデータは数多く公表されているが、SDS-PAGE による分析結果は、動物種の違いにより多少のばらつきは認められるもののほぼ同一である (Gillespie and Marshall, 1977, Marshall, 1983)。すなわち、比較的高分子量の HS 成分、中間の分子量の LS 成分および低分子量の高チロシン/グリシン含有成分の 3成分が分離されている。クジラヒゲの可溶化生成物の分析結果もこれらのデータとほぼ一致しており、この点からも、クジラヒゲの主成分がケラチンである可能性が高い。

一方、Phosphoprotein の染色に用いられる Stainsall で可溶化ケラチンを染色した報告はない。この染色剤には、含有成分にしたがって異なる発色をする特徴があり、とくに、Sialglycoproteins, Phosphoproteins および Ca^{2+} -binding proteins の 3種類の成分に対しては青色に発色することが報告されている (Kevin et al, 1983)。上記の結果はクジラヒゲ中の特定成分と、リン酸やカルシウムイオンとの関連性を示唆しており、興味深い。

5. 要約

1. ナガスクジラのクジラヒゲのアミノ酸組成は、グルタミン酸、セリン、プロリン、アラニンに富み、メチオニン、ヒスチジンに乏しい特徴を持っていた。また、システインが約5.5%含まれていた。この組成上の特徴はケラチンに類似している。
2. クジラヒゲの可溶化生成物の電気泳動 (SDS-PAGE) を行なった結果、45~70kD, 30kD 付近、10kD 以下の分子量領域にそれぞれ数本のバンドの存在が確認された。この結果は、従来の可溶化ケラチンの泳動パターンとよく一致しており、この点からも、クジラヒゲの主成分がケラチンであることが強く示唆される。

3. クジラヒゲに含まれる成分元素として、イオウの他にカルシウムとリンが検出されたことから、クジラヒゲの特定部分が石灰化している可能性が考えられる。

6. 謝辞

本研究を行なうにあたり、鶴見大学柴貫芳夫博士には、電顕観察と元素分析に関してご助力いただき、また、麻布大学永井喜則博士には有益なご助言をいただき、深く感謝いたします。また、和歌山県太地町立くじらの博物館学芸員雑賀毅氏には、試料のご提供をいただき、心よりお礼申し上げます。

文 献

- Anderson, B. L., Berry, R.W. and Telser, A. (1983) : A Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide gel electrophoresis system that separates peptides and proteins in the molecular weight range of 2500 to 90000., *Anal. Biochem.*, 132, 365-375.
- Fincham, A.G. (1967) : A comparative study of some baleen S-carboxymethylkerateines., *J. Chromatogr.*, 28, 326-337.
- Gillespie, J.M. (1964) : The isolation and properties of some soluble proteins from wool. VIII. The proteins of copper deficient wool., *Aust. J. Biol. Sci.*, 17, 282-300.
- and Frenkel, M.J. (1974) : The diversity of keratins., *Comp. Biochem. Physiol.*, 47B, 339-346
- and Marshall, R.C. (1977) : Proteins of the hard keratins of Echidna, Hedgehog, Rabbit, Ox and Man., *Aust. J. Biol. Sci.*, 30, 401-409.
- Kevin, P.C., David, H.M. and Annelise, O.J. (1983) : Staining of the Ca^{2+} -binding Proteins, Calsequestrin, Calmodulin, TroponinC, and S-100, with the cationic carbocyanine dye "Stains-all", *J. Biol. Chem.*, 258, (18), 11267-11273.
- Marshall, R.C. (1983) : Characterization of the proteins of human hair and nail by electrophoresis., *J. Invert. Dermatol.*, 80, 519-524
- 西脇昌治 (1965) : 鯨類・鱗脚類, 東京大学出版会, 東京.