HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究－VI：イカ筋肉中の核酸系化合物の変化に及ぼす貯蔵温度の影響 |
| Author(s) | 斎藤, 恒行; SAITO, Tsuneyuki; 新井, 健一 他 |
| Citation | 北海道大學水産學部研究彙報, 9(2), 121-126 |
| Issue Date | 1958-08 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/23036 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 9(2)_P121-126.pdf |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—VI

## イカ筋肉中の核酸系化合物の変化に及ぼす貯蔵温度の影響

斎藤恒行・新井健一・田中ツネ
(北海道大学水産学部水産化学教室)

# Studies on the Organic Phosphates in Muscle of Aquatic Animals VI.

## Effects of storing temperature upon the content of muscular nucleotides of squid.

Tsuneyuki SAITO, Kenichi ARAI and Tsune TANAKA

**Abstract**

Fresh muscles of squid were stored at −6°C. for 50 hours or at 17°C. for 24 hours. The changes in amounts of nucleotides, nucleosides and purine bases during these periods of storage have been followed by the techniques described previously. The results may be briefly stated as follows:

1) Values of ATP for fresh muscle of squid (μmole/g. muscle wet wt.) were 5.5～8.3. ATP was the main component of acid soluble nucleotides.

2) During the cold storage at −6°C. there was a rapid splitting of ATP accompanying the formation of AMP which furthermore was converted to inosine and then to hypoxanthine. In these cases IMP, found in carp muscle predominantly as a result of slow freezing, could not be observed.

3) When fresh muscle was held at 17°C. the changes occurred more rapidly than those observed at −6°C; as a result a large amount of hypoxanthine was accumulated.

4) According to the fact that in muscle homogenates adenosine was deaminated very rapidly, it may be considered that the major pathway for the conversion of AMP to inosine is via adenosine rather than via IMP.

---

著者らはさきに水産動物筋肉としてコイ筋肉を選び，筋肉中の酸可溶性核酸成分と貯蔵温度との関係について報告を行つた[1)2)3)4)]。又軟体動物としてイカ筋肉を用いて −6°C 附近で緩慢凍結を行い，筋肉内に起る核酸成分の変化を検索し，コイ肉の場合に於ける変化に比して特異な現象を認めたので速報したが[5)]，更に17°C 附近の温度で筋肉の自己消化を行つた際に起る同成分の変化をも併せ検討し知見を得たのでここに報告する。

### 実験方法

試料としてはいけすに生かしてあるマイカ（スルメイカ）を使用した。酸可溶性核酸成分の分析はイオン交換樹脂法並びにペーパークロマトグラフ法によつて行つた。之等の方法の詳細に関しては既述の通りである[2,4)]。筋肉の緩慢凍結（−6°C 附近），自己消化（17°C）の方法及び経過時間と共に採肉分析を行うことも，又 Nucleotide の酸分解及びそれ等の Norite 処理に就ても既に述べた[2)]。

### 実験結果

新鮮なイカ筋肉中の酸可溶性核酸成分のイオン交換樹脂からの分離曲線を第1図に示した。

第1図の結果から，新鮮なイカ筋肉では，酸可溶性核酸成分の主成分は ATP であつて，筋肉1g当り約 8.28μM を占め ADP，AMP は各々1.52，0.50μM の量にすぎないことが分つた。又 Adenine 以外の Purine,

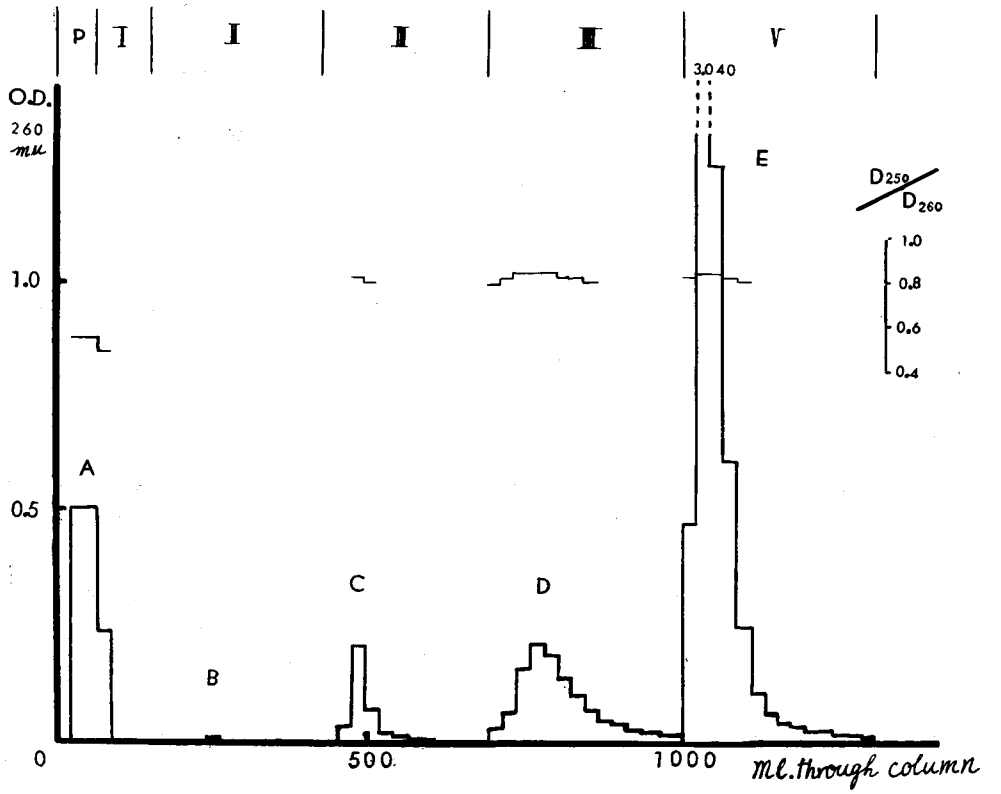


Fig 1 Separation of adenine nucleotides of squid muscle by ion exchanger
Exchanger: Amberlite IRA-400, Flow speed: 1 ml./min.
Solvent: P…Passed solution, I…0.01 M $NH_4Cl$-0.1 M $NH_4OH$, II …0.01 M $NH_4Cl$, III… 0.005 M HCl, IV… 0.02 M NaCl-0.01 M HCl, V… 0.2 M NaCl-0.01 M HCl
A… Unknown compound, B… Inosine+Hypoxanthine, C… AMP, D… ADP, E… ATP

Pyrimidine を含む核酸構成成分が殆んど存在しないことは，分画した各物質の酸分解液（N HCl, 100°C, 120分）が $\lambda_{max.}=260m\mu$, $D_{250}/D_{260}=0.78$, $D_{280}/D_{260}=0.20$を示す事実並びにこの分解液についてペーパークロマトグラフィーを行つた処，1ケのスポットしか検出されず而もそれが標準の Adenine と全く同一のRfを与えることからも想像される。

1) 筋肉の緩慢凍結と酸可溶性核酸成分の変化[5]

新鮮な筋肉を−5°〜−6°C で緩慢に凍結を行つた場合の酸可溶性核酸成分の変化と凍結時間との関連を第2図に示した。

筋肉は大体2〜3時間の間に外観的には凍結を完了するが，この場合は凍結という物理的現象とは余り関係なく ATP は減少し，それと対照的に AMP が漸次増加し，20時間を経過してから徐々に減少の傾向をたどる。又 ADP は8時間附近迄は僅かに増加するが，その後は減少する。之等の一連の変化の過程では IMP の蓄積と云う現象は全く認められなかつた。この点はコイ筋肉に於ては緩慢凍結によつて IMP が著しく蓄積する事実[1]と比較して誠に興味が深い。更に貯蔵時間が経過するに従つて Inosine が，次いで僅少の Hypoxanthine が徐々に生成してくる。

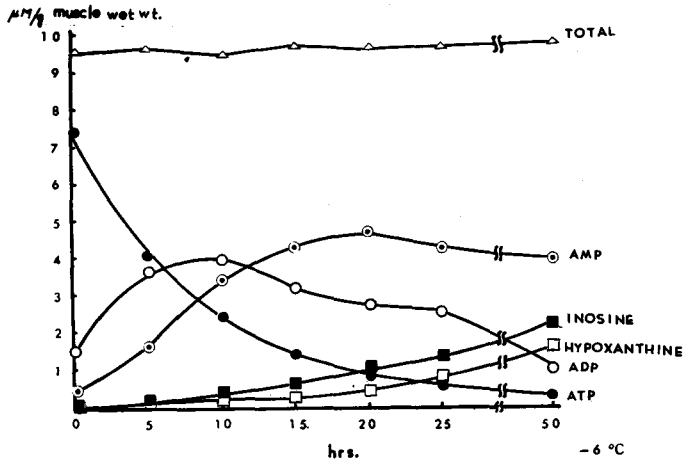


Fig. 2 Changes in adenine nucleotides of squid muscle by slow freezing

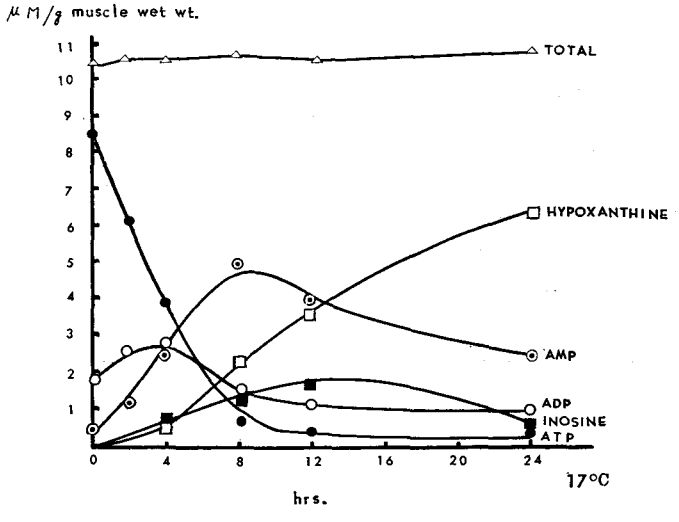


Fig. 3 Changes in adenine nucleotides of squid muscle at room temperature

2) 筋肉の自己消化と酸可溶性核酸成分の変化

新鮮な筋肉を+17°C±1°Cで放置し，この際におこる酸可溶性核酸成分の変化を第3図に示した。

図によつても明らかなように，+17°Cに於ては，−6°Cに於て認められた成分の変化が極めて速かに行なわれることが分つた。即ち，ATPが急速に減少し，対照的にADPは僅かに増大するが直ちに減少し，AMPは8時間前後まで急増し次いで減少して行く傾向が示された。但し反応生成物としては，Inosineは余り増加せず，14時間に至るまでに僅かに増加するのみでその後は減少の傾向をたどつている。一方 Hypoxanthine の増加の割合は−6°C の増合に比較すると非常に速く，大量に蓄積されて行く事実が明らかとなつた。尚この自己消化の過程に於ては，時間の経過と共に分画された ADP区分の $D_{250}/D_{260}$ が 0.9〜1.0 を示すことから，8時間以後になるとこの区分に IMP が混在する可能性が考えられる。このIMPの生成の度合に関しては再検討を要するが，生成したとしてもその量は余り多くないと考えている。イカ筋肉中の酸溶性核酸成分の変化はコイ筋肉中のそれに比較して甚だ速い傾向がある。例えば ATP が死後約50%にまで減少するに要する時間は，コイでは20°C で12時間であつたが，イカでは17°C で4時間にすぎなかつた。従つてイカを捕獲した後の貯蔵温度，時間及び処理が酸可溶性核酸成分に大きな影響を与えるであろうことは容易に推察される。種々の条件のイカについて得られた結果を第1表に示す。

即ち非常に変化は速かであつて，刺身として食ぜんに供することのできる程度の筋肉であつても ATP は殆んど消失していて AMP と Inosine, Hypoxanthine が主成分をなしている。

Table 1. The amounts of adenine nucleotides in squid muscle

| | μM/g mus. wet wt. | | | | | Remarks |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Inosine | AMP | ADP | ATP | Total | |
| *Loligo bleekeri Keferstein* "YARIIKA" | 0.57 | 4.68 | 1.57 | 0.66 | 7.48 | D |
| | 0.19 | 2.19 | 2.42 | 3.12 | 7.92 | D |
| | 0.20 | 3.62 | 1.68 | 1.21 | 6.71 | C |
| *Ommastrephes sloani pacificus Steenstrup* "SURUMEIKA" | 0.56 | 6.82 | 1.42 | 0.36 | 9.16 | C |
| | 0.25 | 1.57 | 2.76 | 5.66 | 10.24 | B |
| | 0.01 | 0.50 | 1.52 | 8.28 | 10.31 | A |
| | 0.01 | 0.39 | 1.53 | 7.48 | 9.41 | A |
| | 0.00 | 0.31 | 1.18 | 7.90 | 9.39 | A |

A: freshly killed, the muscle cut off, immediately extracted.
B: freshly killed, the muscle cut off, stored at 0°C. for 1 hr. and then extracted.
C: freshly killed, stored in ice for 4–5 hr. and then extracted.
D: fresh muscle in market.
A.B (body length=30–35cm), C.D (body length=20–25cm.)

前述の通りイカ筋肉中に於てはAMPからInosineを生ずる可能性が考えられるので，Adenosine deaminaseによる脱アミノ機構が当然想像される。そこで筋肉のホモジネートを用いてAdenosine deaminaseの活性の有無を検討した。その結果を第2表に示す。

但し本実験では酸素の調製，実験方法等に考慮の余地が多く残つているが，その一般的な傾向としてイカ筋肉中に強いAdenosine deaminase作用の存在することは察知される。従つてAMPはAdenosineを経てInosineに変る経路の方がむしろ強力であろうと考えられる。

## 考　　察

著者らが既に報告した[2)4)]処によれば，ヨイ肉に於ける酸可溶性核酸成分の変化は次図に示されるものが最もその可能性が大であろうと考えた。

$$ATP \longrightarrow ADP \longrightarrow AMP \xrightarrow{\text{脱アミノ}} IMP \longrightarrow Inosine \longrightarrow Hypoxanthine$$

即ち筋肉のある状態でIMPの蓄積が起るのは筋肉中に存在するAdenylate deaminaseの作用によつてAMP→IMPの変化を生ずるものと考えた。このことは筋肉のホモジェネート中で添加したAMPが速かにIMPに変化する事実[6)]によつても容易に想像される。尚本酵素の詳細については別の機会に報告する。然しながら軟体動物の試料として選んだイカ筋肉に於ては之等の物質の変化経路は次のように推定される。

$$ATP \longrightarrow ADP \longrightarrow AMP \longrightarrow (Adenosine) \xrightarrow{\text{脱アミノ}} Inosine \longrightarrow Hypoxanthine$$

このことは筋肉中に強力なAdenosine deaminaseの作用が認められる点から推定したのであるが，他方AMP

Table 2. Adenosine deaminase activity of squid muscle

| Reaction time (min.) | Substrate / Compd. found (μM) | Adenosine | AMP | IMP |
|---|---|---|---|---|
| 20 | Adenosine | 3.30 | | |
| | Inosine | 2.52 | | |
| | AMP | | 3.56 | |
| | IMP | | 1.43 | 3.98 |
| 60 | Adenosine | 0.00 | | |
| | Inosine | 6.10 | | |
| | AMP | | 3.58 | |
| | IMP | | 1.42 | 4.00 |

Muscle homogenate: 50 gr. of squid muscle was homogenated into 100 ml. water, dialysed against distilled water at 0°C. for 2 days, filtered through thin cloth, diluted with the same volume of water, stored at -6°C.

Reaction mixture: 2 ml. of succinate buffer (pH 6.1), 0.2 ml. of homogenate, Substrate; Adenosine (6.19 μM), AMP (5.20 μM), or IMP (4.16 μM), 35°C. 20-60min.

の脱アミノ作用も全然認められないと云う事実はなく，特に貯蔵温度が高いときに ADP 区分に IMP が混在すると考えられるような現象が認められた。この現象に関しては従来種々の無脊椎動物について報告[7][8]があり，何れも Adenylate deaminase の活性が殆んどないか或はあつても非常に弱いとされている。以上の事実を総合すれば筋肉中に於て AMP から Inosine を生ずる変化は，AMP→Adenosine→Inosine が主流をなすものであつて，AMP→ IMP → Inosine の変化は行われるとしても非常に少ないものであろうと結論できる。尚著者らは無脊椎動物としてアワビ，ホツキ等の貝類についても興味ある事実を発見しているが後報にゆずる。更に著者らが現在迄に得た結果からイカ筋肉及びコイ筋肉中に於ける之等の物質の変化を比較してみると，緩慢凍結の場合に於てコイでは筋肉が凍結完了する3－5時間の短時間に ATP→IMP の変化が急速におこるが，イカの筋肉では凍結完了後20時間にわたつて徐々に ATP→AMP の変化が起り，且つ IMP の生成は全く認められなかつた。然しその後の変化に於て Inosine, Hypoxanthine の生成してくる速さはイカ筋肉の方が大である。又自己消化の場合では既に述べたようにイカ筋肉中に起る変化は非常に速く起る。殊に Hypoxanthine が塩基の最終生成物として急速に蓄積して行く事実は，コイ筋肉に於て Inosine と Hypoxanthine がほぼ対等にゆつくり増加して行く事実と甚だ対照的である。又イカ筋肉中には1g 中に ATP は 5.7～8.3μM；ADP は 1.2～2.8μM が含まれているが，この値は同様の分析法で得られたコイ筋肉の ATP, 4.8～5.9μM；ADP, 0.6～1.0μM 及び Codling について得られた ATP, 5.3μM；ADP, 0.6μM[9] 等の値に比較すれば遙かに多く，又家兎を含む哺乳動物の筋肉について従来報告された分析値[10]をもしのぐものである。このことはイカの活動性を併せ考えて興味あるばかりでなく，Adenine nucleotide 類の有力な調製資源

となり得る可能性を示すものであろう。

## 要　　約

イカ筋肉を−6°C 或は17°C に保つて筋肉中の酸可溶性核酸成分の変化を追跡して次の結果を得た。

1) 新鮮なイカ筋肉中の ATP の量は筋肉 1 g 当り 5.5〜8.3μMol であり，然も酸可溶性核酸の主成分であつた。

2) −6°Cで冷却保存すれば，ATPは速かに減少し他方AMPは増加し更に之はInosine及びHypoxanthineに変る。この場合にコイ筋肉中に於けるような IMP の生成は認められなかつた。

3) 新鮮な筋肉を 17°C に保存すれば，変化は更に早くなり，可成の量の Hypoxanthine の生成が認められた。

4) 筋肉ホモジェート中で Adenosine は速かに脱アミノされることから，AMP から Inosine を生ずる経路は主として Adenosine を経て行われるものではないかと考えられる。

尚本研究は水産庁応用試験研究費補助金によつた。ここに感謝の意を表す。

## 文　　献

1) 斎藤恒行・新井健一 (1957). 日水誌 22, 596.
2) ——— • ——— (1957). 日水誌 23, 265.
3) ——— • ———. 未発表
4) Saito, T. & Arai, K. (1957, 1958). *Nature* 179, 820; *Arch. Biochem. Biophys.* 73, 315.
5) ———, ——— & Tanaka, T. (1958). *Nature* 181, 1127
6) 斎藤恒行・新井健一 (1957). 日水誌 23, 579.
7) Perry, S. V. (1956). *Physiol. Rev.* 36, 47.
8) Maruyama, K. & Tonomura, Y. (1957). *J. Reserch Inst. for Catalysis Hokkaido Univ.* 5, 55.
9) Jones, N. R. & Murray, J. (1957). *Biochem. J.* 66, 5P.
10) 宮崎英策・内田倖喜・佐藤寛 (1954). 札医誌 5, 371.