



Title	水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分 I : 貝類筋肉中の酸可溶核酸成分に及ぼす貯蔵温度の影響 1
Author(s)	新井, 健一; ARAI, Ken-ichi
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 11(2), 67-72
Issue Date	1960-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23100
Type	departmental bulletin paper
File Information	11(2)_P67-72.pdf



水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分 I

貝類筋肉中の酸可溶核酸成分に及ぼす貯蔵温度の影響 1

新 井 健 一

(北海道大学水産学部水産化学教室)

I. Acid-soluble Nucleotides in Muscle of Marine Invertebrates.

Effects of storing temperature upon the content of
muscular nucleotides of some seashells (I)

Ken-ichi ARAI

Abstract

Fresh muscles of seashells were stored at -5°C for 15 days or at 20°C for 70 hours. During these periods of storage the changes in the amounts of nucleotides, nucleosides and purine bases have been followed by means of ion exchange chromatography. The results may be summarized as follows:

(1) Values of ATP, ADP, and AMP ($\mu\text{M/g}$ muscle wet wt.) were 3.10, 1.05, and 0.55 for the fresh foot muscle of surf clam (*Spisula sachalinensis*), 6.40, 1.20, and 0.60 for the fresh ligament muscle of scallop (*Pecten yessoensis*), respectively.

(2) During the cold storage of both sorts of fresh muscles at -5°C there was a decomposition of ATP accompanying the formation of ADP and AMP which furthermore were converted to inosine. A small amount of hypoxanthine was found only in the muscle of surf clam. Generally, the changes in the muscle of surf clam were faster than in scallop.

(3) When the samples of both fresh muscles were held at 20°C scarcely any changes could be observed for about 20 hours from the start. After that the changes in the amounts of nucleotides occurred rapidly.

すでに哺乳動物に関しては、骨格筋¹⁾、脳²⁾、肝臓その他種々の組織中³⁾の酸可溶核酸成分の定量及び種々条件下における変化に就てかなりの智識がえられている。

水産動物筋肉に就ては、N.F.Jones 等による Codling に関する報告⁴⁾及び斎藤等の鯉に関する報告⁵⁾、各種冷凍魚に関するもの⁶⁾、又はカツオ節に関する藤田等の報告⁷⁾がある。しかし水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分の定量及び変化に関する研究は、すでに M.Florkin 等⁸⁾が指摘しているように比較生化学的見地から非常に興味深い問題をもっているにも拘らず、斎藤及び著者の軟体動物のイカに関する報告⁹⁾の他には余り例を見ない。斎藤及び著者は先に、イカ筋肉には家兎筋肉に劣らない ATP が含まれており、死後は他動物筋肉に比べて非常に急速の分解が見られる事及び筋肉内に強い活性を示す Adenosine deaminase が認められたので、次の分解経路が主経路であつて ATP→ADP→AMP→Adenosine→Inosine→Hypoxanthine 従来、哺乳類、魚類等の脊椎動物筋肉において発見されている AMP deaminase による IMP の生成は、殆んど無い事をのべた。

本研究はイカと同じ軟体動物に属するが生活史の異なる貝類の中、ホッキ、ホタテの筋肉を試料として、

本研究は水産動物筋肉中の有機磷酸化合物に関する研究—第IX報とする。なお研究費の一部を斎藤恒行教授担当の農林省農林漁業応用試験研究補助金によつて支弁した。ここに感謝する。

酸可溶核酸成分の定量及び変化を検討した結果に就て報ずる。

実 験 方 法

試料は同じ二枚貝に属するホッキ及びホタテを用いた。いずれも函館近海で漁獲されたもので、水揚げ後数時間以内で必ず生存状態のものを選んだ。麻酔剤又は液体空気等を使用せず、先ず貝柱（閉殻筋肉）の一端を切り離し刺激を与えないように迅速に採取した。次いでこれをシャーレに入れて一定温度に放置し、時間経過に従つて一定量を採肉、常法どおり過塩素酸で磨碎、抽出を行い分析に供した。酸可溶核酸成分の分析はイオン交換樹脂法により、paper chromatography を併用した¹⁰⁾。又、nucleotides の酸分解による構成 purin base の確認に就てもすでに述べた。

実 験 結 果

新鮮なホッキ筋肉及び20°Cにおいて28時間放置した同筋肉中の酸可溶核酸成分のイオン交換樹脂からの溶出ヒストグラフを第1図及び第2図に示した。第1図及び第2図において、A区分は270 μ mに吸収極大を示し、イオン交換樹脂（Amberlite IRA-400）に再クロマトしても吸着されず、又、paper chromatography によつても明確なスポットを得る事が出来ない未確認の物質である。この区分は時間経過による規則的变化が無く、一連の核酸成分の動的変化とは無関係のようである。B区分は新鮮筋肉には無く、250 μ mに吸収極大を示し、250/260=1.4~1.5の値を与え、更に paper chromatography によつて Inosine と Hypoxanthine からなる事実を確かめた。C区分はAMP、D区分はADP、E区分はATPであつて260 μ mにいずれも吸収極大を示し、250/260=0.80~0.85であり、酸分解による構成塩基の確認では、Adenine が主成分で未確認の微かなスポットを一ヶ含んでいる。

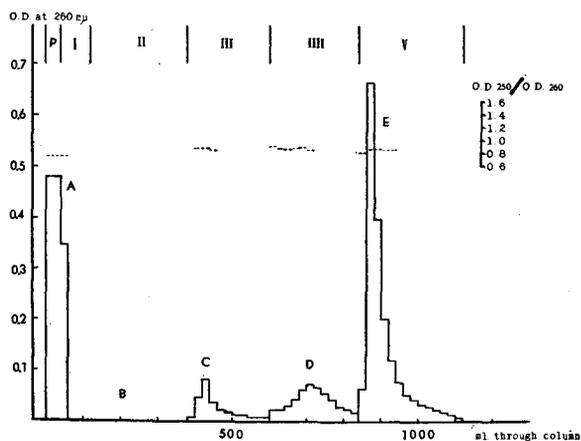


Fig. 1. Separation of acid-soluble nucleotides of the fresh foot muscle (surf clam) by ion exchanger
 Exchanger: Amberlite IRA-400, Flow speed: 1ml./min.
 Solvent: P...Passed solution, I...0.01 M NH₄Cl-0.1 M NH₄OH, II...0.01 M NH₄Cl, III...0.005 M HCl, IV...0.02 M NaCl-0.01 M HCl, V...0.2 M NaCl-0.01 M HCl
 A...Unknown compound, B...Inosine + Hypoxanthine, C...AMP, D...ADP, E...ATP

この微量成分に関する検討は今後行うつもりである。

尚又、ホタテ筋肉についても全く同様な溶出ヒストグラフが得られた。

A) ホッキ貝（うばがい）*Spisula sachalinensis*

ホッキは可食肉質部の中いわゆる斧足とよばれる部分で、外観上均質となつている部分に就て分析を行った。

先ず-5°C 附近で筋肉を緩慢凍結する場合の変化を第3図に示した。第3図によると、新鮮なホッキ筋肉には主成分として ATP が 3.10 μ mole/g mus. wet wt. 存在し、ADP、AMPはそれぞれ1.05、0.55 μ mole/g mus. wet wt. であるが、凍結貯蔵が15日間に及ぶと、ATP は比較的急速に分解し、ADP 次いで AMP

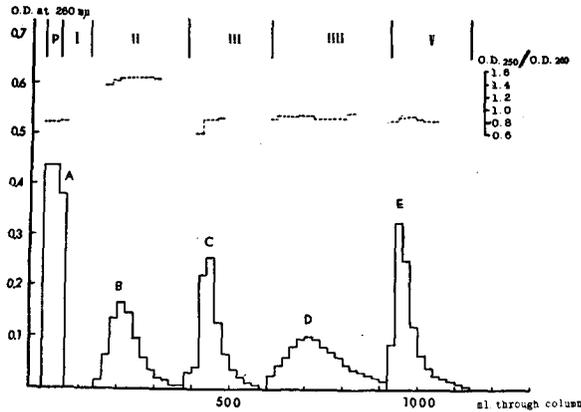


Fig. 2. Separation of acid-soluble nucleotides of the foot muscle (surf clam) stored at 20°C. for 28 hours by ion exchanger
Optical densities of B fraction were shown at 250m μ . The experimental conditions are the same as those in Fig. 1

が分解生成物として生成，増加し次いで減少，更に少し遅れて Inosine とその10%程度の Hypoxanthine が最終的に生成，蓄積してくることがわかった。ATPの分解は1日後で30%，3日後で16%に至ることから，他の貝類筋肉（アワビ，アカガイ）¹¹⁾に比べてかなり速いと云える。

次に筋肉の放置温度が20~22°Cの場合の同様成分の変化を検討し，その結果を第4図に示した。第4図によると，新鮮な筋肉に存在した ATP, ADP, AMP は約15時間に至る迄殆んど変化が無く（別に行つた予備的な実験結果から認めた），このような放置温度において切りとつた同筋肉の生存限界を暗示するものようである。15時間以後になると ATP は急速に分解し，これに対応的に Inosine

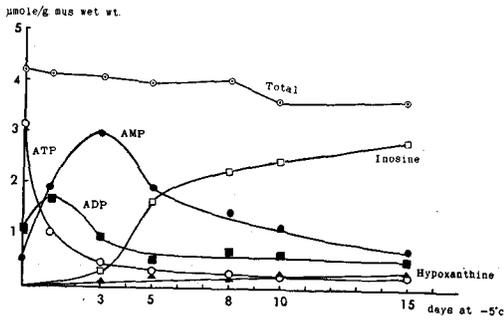


Fig. 3. Changes in adenine nucleotides of the foot muscle of surf clam caused by slow freezing

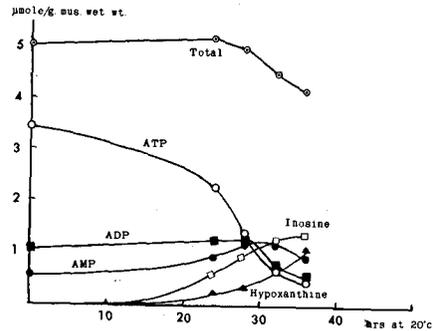


Fig. 4. Changes in adenine nucleotides of the foot muscle of surf clam at room temperature

次いで Hypoxanthine が生成，蓄積してくる。AMPは初め少し増加するがすぐ減少し，ADPは殆んど変化しないが後に減少する傾向を示す。36時間以後は肉質が腐敗し悪臭を発生した。なお放置時間が28時間以上になるとき，酸可溶核酸成分の総量が減少する傾向が見られるが，その原因については明らかでない。これは紫外吸収を示さない低分子化合物が最終産物として一部生産されるのか，あるいは筋肉が失うドリップの中に核酸成分の一部を溶出することによるものか不明である。

B) ホタテ貝 *Pecten yessoensis*

ホタテはその可食肉質部の大部分を占めている貝柱筋肉を選び試料とした。

先ず-5°C附近で筋肉を緩慢凍結する場合の変化を検討した結果を第5図に示した。第5図によると，新鮮なホタテ貝柱筋肉には ATPが6.40 μ mole/g mus. wet wt. 主成分として存在し，ADP, AMP はそれぞれ1.20, 0.60 μ mole/g mus. wet wt. であり，ATP 量及び総量 (ATP+ADP+AMP) はホッキ筋肉に比べて，略2倍に近い値で非常に多い。この ATP は凍結貯蔵が3時間後で45%，10時間後で13%に減少し，ホッキの場合より遅い分解速度を示した。ATPの分解に従つて，先ず3時間頃迄が ADP が徐々に生成次いで

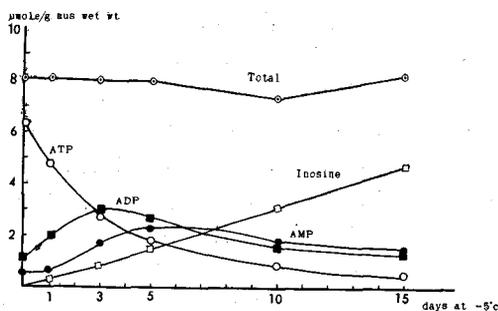


Fig. 5. Changes in adenine nucleotides of the ligament muscle of scallop caused by slow freezing

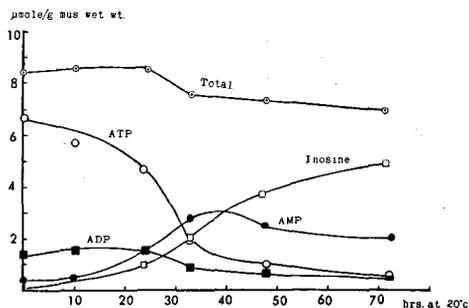


Fig. 6. Changes in adenine nucleotides of the ligament muscle of scallop at room temperature

減少し、更に AMP が 5～7 時間迄同じく徐々に増加更に減少の傾向を示し、対応的に Inosine が凍結日数に比例的に生成、蓄積している。なお、Hypoxanthine は paper chromatography によつては、全く認められず、生成しないようである。この点ホッキ筋肉と甚だ異つている。

次に筋肉を 18～20°C に放置した場合の同様成分の変化を検討してその結果を第 6 図に示した。第 6 図によると、ホッキ筋肉の場合ほど顕著ではないが、ATP の分解は初め非常に緩慢であつて 24 時間迄に 29% が分解をうけ残りの 71% が保持されているが、24 時間以後は急速の分解をうけて 33 時間後には 27% になる。ADP には大きな変化は無いが 15 時間前後に多少蓄積の傾向を示し、以後徐々に減少次いで AMP が 38～40 時間に至る迄増加し、更に緩慢に減少している。それに対応して最終的反應生成物として、Inosine が 24 時間迄は緩慢に以後急速に増加、蓄積の傾向を示した。Hypoxanthine は緩慢凍結の場合と同様に全く見出す事が出来ず、この化合物の生成に関連する酵素系の欠除を思わせる。

考 察

一般に筋肉中に存する ATP を中心とする酸可溶核酸成分の死後における変化は、筋肉の生理状態例えば疲労その他人間の外観的な観察による判断では困難なくつかの要因によつて、影響をうけるものと考えられる。従つて試料となる水産動物が漁獲された季節、及び漁獲後研究者が入手する迄の処理状態、及び放置温度、時間等々の条件に就ても検討すべき余地がが残されている。本実験の試料はすべて函館近海産のもので、水揚げ数時間内の必ず生存しているもののみを選んだ。しかし、そのような注意にも拘らず変化の過程に試料の個体差があらわれた。即ちホッキ筋肉において、ATP の分解にともなう ADP 及び AMP の最大生成を示す時間は、第 3 図の 1 及び 3 時間後に対して、別の実験では 3 及び 5 時間となつているなどその一例である。ただし特別な一成分のみの変化速度に差異があらわれることはなくて、各成分の変化の相対的な関連そのものに変わりなかつた。

生存している二枚貝から貝柱筋肉を切りとる場合には、不本意な刺激を与える事になるので ATP の分解を促す可能性があり、好ましくない。この場合、麻酔剤又は液体空気を使用する事が考えられるが、その点について得た結果は後報にゆずる。本実験では標準となつている新鮮筋肉での ATP の全酸可溶核酸成分に対する割合は、ホッキ筋肉では 70% でやや少く、ホタテ貝柱筋肉では 79% であつてイカについて斎藤及び著者が得た 80～90% に近い。筋肉内の ATP 絶対量に就ては、試料が採取される季節によつて多少の変動があるけれども、上記の百分率には殆んど変わらず生存時の筋肉中の ATP 量にかなり近似しているように考えられる。なお、ホッキ筋肉を 20°C 近辺に放置する場合、約 15 時間に至る迄 ATP の分解が殆んど進まず新鮮状態のまま保持される現象は、程度の差こそあれホタテの場合にも認められ、アカガイ、アワビにおいても認められる貝類独得の共通現象である。筋肉を他のすべての組織から切り離して放置する場合、魚類(コ

イニジマス¹²⁾、イカ¹³⁾、甲殻類(カニ、エビ)¹⁴⁾では、ただちに急速なATPの分解が観察されるにも拘らず貝類に限り変化が認められなく、ATPの再生産が長時間持続されている様な状態を保持する事は、貝類一般の生命保持力の旺盛さを裏づける事にもなるので興味深い。

ATPの酵素分解生成物としては、ADP、AMP、Inosineが認められまたホッキの場合のみ少量のHypoxanthineが見出された。これらの結果は、斎藤及び著者の報じた同じ軟体動物のイカ筋肉に甚だ良く類似している。ただしイカの場合は大量のHypoxanthineを生成する点だけが異つている。なお、哺乳類¹⁵⁾魚類¹⁶⁾両筋肉において必ず見出されるIMPは全く認めることが出来なかつた。著者は更にホッキ、ホタテ両筋肉ホモジェネートを粗酵素液として、Adenosine、AMP、IMP等の基質に対する酵素反応を検討した結果、両筋肉共に強力なAdenosine deaminaseを含みAMP deaminaseは殆んど存在しない事を知つたが、詳細は後報にゆずる。また二枚貝に属するアカガイとアワビ筋肉に就て酸可溶核酸成分の変化を検討した結果、ATPの酵素分解物としてADP、AMPの他に少量のAdenineを見出し、本報告に示されたホッキ、ホタテに就て知られた変化様式と明らかに異なる一群の貝類を認めたが、次号にこれを報告する。

要 約

ホッキ筋肉及びホタテ貝柱筋肉を -5°C 及び 20°C に保つて、筋肉中の酸可溶核酸成分の変化を検討し次の結果を得た。

1) 新鮮なホッキ筋肉中の酸可溶核酸成分は、ATP、ADP、AMPが筋肉1g当り3.10、1.05、 $0.55\mu\text{mole}$ であり、ホタテ貝柱筋肉中にはそれぞれ6.40、1.20、 $0.60\mu\text{mole}$ であつて、ATPが主成分であつた。

2) -5°C で凍結貯蔵すると、両筋肉ともATPが減少し、ADP、AMPが続いて増加次いで減少し、更にInosineが生成し、ホッキの場合のみ少量のHypoxanthineの生成が認められた。一般にホッキの方がホタテの場合より変化が早い。

3) 20°C で貯蔵するときは、両筋肉とも初めの中、ATPが減少せず新鮮な状態を保持するが、一定時間後に急速に減少し、各成分の変化が早く起る。

本研究は斎藤恒行教授の指導の下に行つた。ここに記して深く感謝する。

文 献

- 1) 宮崎英策・内田倅喜・佐藤寛(1954). 札医誌 5, 371.
- 2) Smillie, R. M. (1957). *Arch. Biochem. Biophys.* 67, 213.
- 3) Bishop, C., Rankine, D. M. & Talbott, J. H. (1959). *J. Biol. Chem.* 234, 1233.
- 4) Murry, J. & Jones, N. F. (1958). *Biochem. J.* 61, 218. : Schwan, J. M. & Jones, N. F. (1957). *J. Sci. Food Agr.* 8, 491.
- 5) Saito, T. & Arai, K. (1958). *Arch. Biochem. Biophys.* 73, 315.
- 6) 斎藤恒行・新井健一・松吉実(1959). 日水誌 24, 749.
- 7) 藤田孝夫・橋本邦郎・森高次郎(1959). 日水誌 25, 147.
- 8) Duchateau, G., Florin, M. & Frappez, G. (1941). *Bull. acad. roy. med. Belg.* 27, 169.
- 9) Saito, T., Arai, K. & Tanaka, T. (1958). *Nature* 181, 1127.
- 10) 斎藤恒行・新井健一(1957). 日水誌 23, 265.
- 11) 新井健一・斎藤恒行. 未発表
- 12) 斎藤恒行・新井健一・矢島敏克. (1959). *Nature* 184, 415.
- 13) ————. (1958). 本誌 9, 121.

- 14) 新井健一・斎藤恒行. 未発表
- 15) Szentkiralyi, E. M. (1957). *Arch. Biochem. Biophys.* 7, 289. : Bendall, J. R. & Davey, C. L. (1957). *Biochim. et Biophys. Acta.* 26, 93.