



Title	水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分 II : 貝類筋肉中の酸可溶核酸成分に及ぼす貯蔵温度の影響 2
Author(s)	新井, 健一; ARAI, Ken-ichi
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 11(4), 225-229
Issue Date	1961-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23115
Type	departmental bulletin paper
File Information	11(4)_P225-229.pdf



水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分 II

貝類筋肉中の酸可溶核酸成分に及ぼす貯蔵温度の影響 2

新 井 健 一

(北海道大学水産学部水産化学教室)

II. Acid-soluble Nucleotides in Muscle of Marine Invertebrates

Effects of storing temperature upon the content of muscular nucleotides of some seashells (2)

Ken-ichi Arai

Abstract

The changes in the amounts of nucleotides, nucleosides, and purine bases during the storage of fresh muscles of some seashells (surf clam and scallop) have been followed by means of ion exchange chromatography: the results were reported previously¹⁾.

The changes of the compounds found in the muscles of ark-shell and abalone during storage under different circumstances were described in this paper. The results of the study may be summarized as follows:

(1) Values of ATP, ADP, and AMP ($\mu\text{mole/g. muscle wet wt.}$) were 3.20-2.67, 0.97-1.27, and 0.35-1.21 for the fresh foot muscles of ark-shell (*Anadara broughttoni* Shrenk), 2.40-3.08, 0.38-0.50, and 0.15-0.25 for the fresh foot muscles of abalone (*Haliotis discus hannai*), 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 was finally accumulated as time passed. A very small amount of adenine was found only in the muscle of ark-shell. Generally, the changes in the muscle of ark-shell were faster than in abalone.

(3) When samples of both sorts of fresh muscles were held at room temperature scarcely any changes could be observed for about 20 hours from the start. After that changes in the amounts of inosine-like compound were found only in the muscle of ark-shell.

水産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分の変化を検討するために、著者は先に、ホタテ貝及びウバガイを試料として選び、筋肉中の酸可溶核酸成分量と貯蔵温度の関連について報告した¹⁾。

著者は更に、同じく軟体動物の貝類に属するアカガイ及びアワビの筋肉中の同成分と貯蔵温度の関連について検討した結果、明らかに先に報じたホタテ貝及びウバガイの場合と異なる特異な現象を認めたので、ここに報告する。

実験方法

試料は函館近海産のアカガイ (*Anadara broughttoni*) 及びアワビ (*Haliotis discus*) を用い、いずれも水揚げ後数時間以内で、必ず生存しているものを選んだ。筋肉の採取及びその後の処理については、前報に述

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X報とする。なお研究費の一部を土屋精彦教授担当(齋藤恒行教授分担)の文部省総合研究費(軟体動物エキスに関する研究)によつて支弁した。ここに感謝する。

べた¹⁾。酸可溶核酸成分の分析についても、先に述べた常法に依つた²⁾。

実 験 結 果

新鮮なアワビ筋肉及び -5°C で凍結貯蔵25日後の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図において分画されたB区分を除くA, C, D, Eの4溶出区分の成分組成については先に

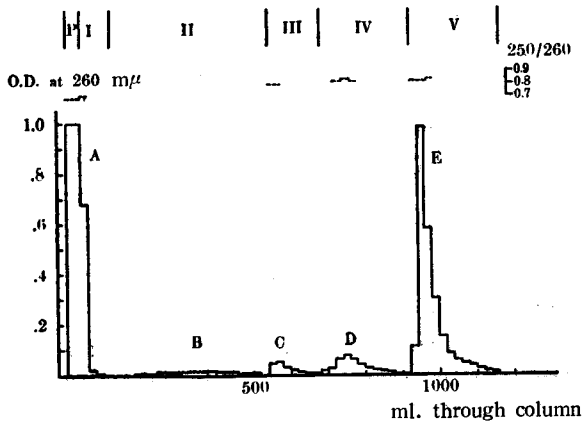


Fig. 1. Separation of acid-soluble nucleotides of the fresh foot muscle (abalone) by ion exchanger Exchanger: Amberlite IRA-400, Flow speed: 1ml./min. Solvent: P...Passed solution, I...0.01 M NH₄Cl+ 0.1 M NH₄OH, II...0.01 M NH₄Cl, III...0.005 M HCl, IV...0.02 M NaCl+0.01 M HCl, V...0.2 M NaCl+0.01 M HCl

A...Unknown compound, B...Unknown compound, C...AMP, D...ADP, E...ATP

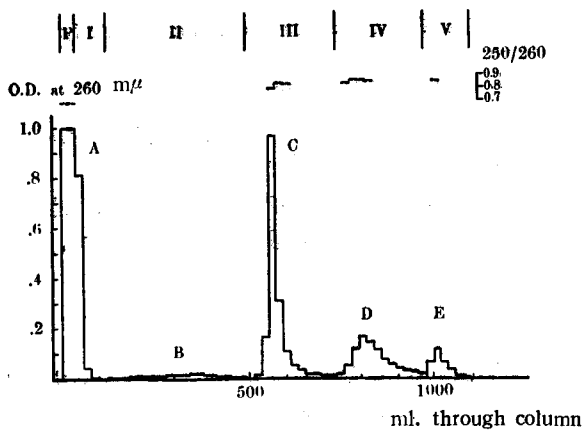


Fig. 2. Separation of acid-soluble nucleotides of the foot muscle (abalone) stored at -5°C. for 25 days, by ion exchanger The experimental conditions are the same as those in Fig. 1.

Eの4溶出区分の成分組成については先にホタテ貝及びウバガイについて報じたような理由で、それぞれ非核酸系化合物と推定される未知物質, Adenosine mono phosphate (AMP), Adenosine diphosphate (ADP), Adenosine triphosphate (ATP) である。ただし、アワビ筋肉について得られるB区分は、貯蔵時間の経過によつて全く増加しない上(第2図)、はつきりした極大吸収を示さないから、Inosine, Hypoxanthine またはその他関連物質の存在を認めるわけにはゆかない。この現象は筋肉をより高温で放置する場合においても同じことであつた。アカガイ筋肉についても全く同じ傾向の溶出ヒストグラフが得られるが筋肉が、16~17°Cに放置されるときは、このB区分に250/260=1.2位であつて、250mμに極大吸収を示し、paper chromatographyによつて Inosine と推定される物質が、また-5°Cで凍結貯蔵するときは、250/260=0.80~0.85で、260mμに極大吸収を示し、paper chromatographyによつて Adenine と確認される物質が、いずれも微量ではあるが溶出された。

A) アカガイ

アカガイは可食肉質部の中、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ついて分析を行つた。

新鮮筋肉を-5°C附近で緩慢凍結をする場合の変化を第3図に示した。第3図によると、新鮮な筋肉中の酸可溶核酸成分の主成分を成しているATPは、凍結貯蔵が12日間に及ぶと徐々に分解し、ADP次いでAMPが分解生成物として生成、蓄積することがわかつた。このAMPの蓄積は一方的であつて、微量のAdenineが見出される他は、Adenosine, Inosine, Hypoxanthine

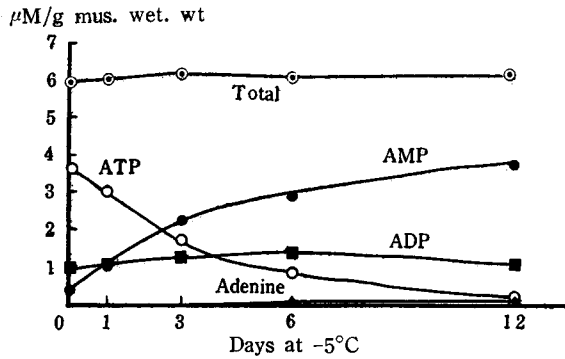


Fig. 3. Changes in adenine nucleotides of the foot muscle of ark-shell caused by slow freezing

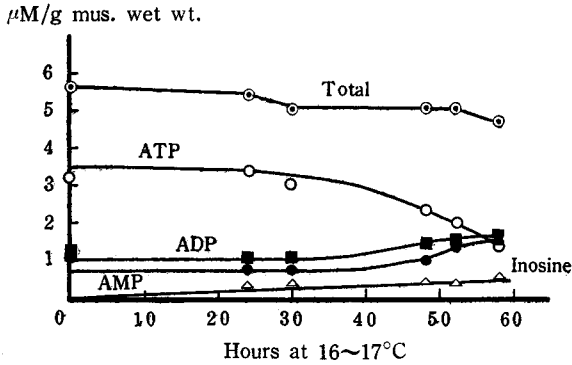


Fig. 4. Changes in adenine nucleotides of the foot muscle of ark-shell at room temperature

wet wt. の値を示し、ウバガイ筋肉の値と非常に近似している。

B) アワビ

アワビは可食肉質部の中、大部分を占める外観上均質の部分について、分析を行った。

まず、 -5°C 附近で筋肉を凍結貯蔵した場合の変化を第5図に示した。第5図によれば、新鮮なアワビ筋肉に主として存在するATPは、凍結貯蔵が25日後に至る間に、非常に緩慢に分解し、対应的にADPが15日後頃を最高に、次いでAMPが一時的に生成、蓄積することがわかった。AMPはアカガイにおける場合と同じく、それ以上分解、変化せず Adenosine, Adenine, Inosine, Hypoxanthine のような予想し得る分解生成物は見出すことが出来なかつた。この点アカガイ筋肉と同じく甚だ特異的である。ATPは凍結貯蔵が5日後で65%、15日後で21%まで分解しているが、この分解速度は現在まで検討したホタテ貝、ウバガイ、アカガイ、アカザラ³⁾などに比べて、非常に遅いものである。

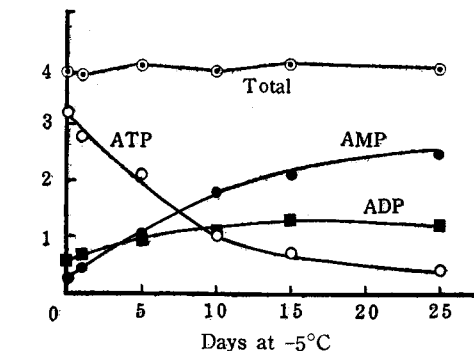


Fig. 5. Changes in adenine nucleotides of the foot muscle of abalone caused by slow freezing

のような分解生成物は全く見出されず、この点甚だ特異的であつた。ATPは凍結貯蔵が3日後で46%、6日後で20%に減少し、ホタテ貝の筋肉の場合と同じ分解速度を示した。

次に筋肉の放置温度が $16\sim 17^{\circ}\text{C}$ の場合の同成分の変化を検討して、第4図のような結果を得た。第4図によると、新鮮筋肉中に存在したATP、ADP、AMPは、約20時間以上に至るまで殆んど変化せず、30時間以上に及ぶとATPの分解が顕著にすすみ、ADP次いでAMPの生成が対应的に見られる。

なお、少量の Inosine と推定される物質が20時間以上になると生成してくるが、以後52時間以上に至るまで、顕著な増加を示さず、関連酵素系の活性の低さを暗示するものようである。なおこのとき、酸可溶核酸成分の総量が減少する傾向が見られるが、この事実は先に述べたホタテ貝及びウバガイばかりでなく、アワビ及びアカザラ³⁾などについても同じく観察されることであつて、その原因については現在検討中であるので次号にゆずる。

アカガイ新鮮筋肉中のATP量は、上述の代表的な2例において、 $3.20\sim 3.67\ \mu\text{mole/g}$ muscle wet wt., ADP、AMPはそれぞれ $0.97\sim 1.27$, $0.35\sim 1.21\ \mu\text{mole/g}$ muscle

次に筋肉の放置温度が $15\sim 16^{\circ}\text{C}$ の場合の変化を検

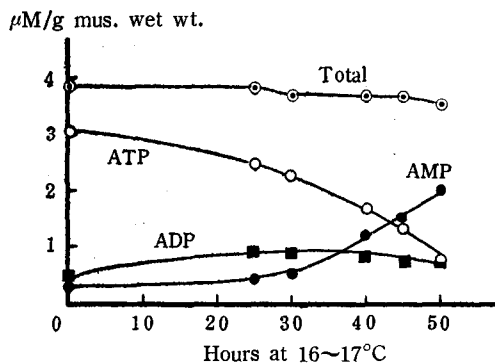


Fig. 6. Changes in adenine nucleotides of the foot muscle of abalone at room temperature

テ貝、ウバガイ及びアカガイなどに比べて少ない値であった。

考 察

筋肉中に存在するATPを中心とする酸可溶核酸成分の絶対量及び死後における変化は、いくつかの要因からなる筋肉の生理状態によつて影響をうけるであろう事をすでに述べたり。本報告にあげた結果は典型となる2例であつて、人間の肉眼的な観察による判断では予想出来得ない結果の変動は、ある程度不可避のものようであつた。即ちアワビ筋肉を -5°C 附近で凍結貯蔵する場合、第3図においては、ATPは5日後まで65%分解をうけるにすぎないが、他の実験では32%まで分解をうけていた。対応的にADP及びAMPが最大生成を示すに至る時間は、第3図の15、25日に對し、他の実験では5、15日後であつて速やかであつた。これらの個体による変化速度のずれは、著者が経験したすべての動物筋肉において観察されたが、各成分の変化の相対的な関連については変りはなかつた。

新鮮筋肉に見出されるATPの全酸可溶核酸成分量に対する割合は、本報告におけるアカガイでは60~73%、アワビでは80~85%であつて、すでに報じたイカ、ホタテ貝、ウバガイなどの筋肉の値と比べると、アカガイの場合は特に少ない。これらの値もまた、上述したようないくつかの要因に支配されるものと考えている。

アカガイ及びアワビ両筋肉を $16\sim 17^{\circ}\text{C}$ で貯蔵するとき、筋肉中のATPが約20時間後に至る間分解を受けず、AMP及びADPも変化しない現象は、先に報じたホタテ貝及びウバガイについても認められる貝類独特の共通現象であつて、特にアカガイ筋肉の場合、筋肉を切りとつた直後よりも1日経過後の場合の方がかえつてATPが多くADP、AMPが減少していることは、室温においてATPの再生産が、筋肉を切りとつた後もかなり長時間にわたつて、行われている可能性を暗示しているものと考えている。

アカガイ及びアワビ両筋肉におけるATPの酵素分解生成物としては、ADP及びAMPが認められ、AMPは最終生成物のように蓄積し、ホタテ貝及びウバガイの場合と同じく、Inosine monophosphate (IMP)は全く生成しなかつた。このときアカガイの筋肉の場合にのみ、貯蔵温度が低温のときはAdenineが、高温のときはInosineと推定される物質が微量生成する事実が認められた。(この事実はアカガイ貝柱筋肉で特に著しく、斧足筋の場合に比べると、多量のAdenineが確認されている。)これらの結果は、著者が先に報じたホタテ貝及びウバガイの場合と比べて、非常に異つている。更にホタテ貝及びウバガイの実験例と同じく、アカガイ及びアワビ両筋肉ホモジェネートを粗酵素液として使用し、Adenosine, AMP, IMP等の基質に対する酵素活性の有無を検討した結果、AMP-deaminase及びAdenosine-deaminaseは全く認められず、非常に特異的であつた。またAMPよりはAdenosineを基質とした場合に、より多くの

討して、その結果を第6図に示した。第6図によると新鮮筋肉中の主成分を成しているATPをはじめ、ADP、AMPの各成分は、約20時間に至るまで殆んど変化しないが、25時間後に至るとATPの緩慢な分解が起り、ADPは殆んど顕著な増減を示さないが、30時間以後になるとAMPの生成が顕著となつてくる。またこの場合も、AMPの分解生成物は全く見出すことが出来ず関連酵素系の欠除を暗示しているようである。

新鮮アワビ筋肉中のATP、ADP、AMPは、上記の2例においてそれぞれ2.40~3.08、0.38~0.50、0.15~0.25 μ mole/g muscle wet wt. であり、ホタ

Adenine を生成する酵素活性 (Riboside hydrolase⁵⁾ または Nucleoside phosphorylase⁶⁾ が、両筋肉ホモジェネートについて認められた⁷⁾。この酵素反応は 20~30°C の温度で、10~300 分の反応時間にわたって検討されたにも拘らず、両筋肉ホモジェネートの場合共、反応生成物としての Inosine は認められることはなかつたから、特にアカガイの筋肉で見出された Inosine と推定される物質は、筋肉内の酵素の作用で生成したものであるかどうかわからないと考えている。

以上述べたような結果から、アカガイ及びアワビ両筋肉における ATP の酵素分解の主経路は、ATP → ADP → AMP → Adenosine → Adenine であつて、先に報じたホタテ貝、ウバガイ及びイカ⁸⁾ の場合の主経路 ATP → ATP → AMP → Adenosine → Inosine → Hypoxanthine または魚類⁹⁾¹⁰⁾²⁾ 及び哺乳類¹¹⁾¹²⁾ の場合の主経路、ATP → ADP → AMP → IMP → Inosine → Hypoxanthine と明らかに異つていると考えられる。この事実は、比較生化学的見地から甚だ興味深い問題である。

要 約

ホタテ貝及びウバガイ両筋肉を -5°C または 20°C において貯蔵する間に、筋肉中の酸可溶核酸成分に起る変化について先に報じた。本報告ではアカガイ及びアワビ両筋肉に起る同様な条件下での変化について述べる。その結果は次のように総括出来る。

1) 新鮮なアカガイ及びアワビ両筋肉中の酸可溶核酸成分は、ATP, ADP, AMP がそれぞれ 3.20~3.67, 0.97~1.27, 0.35~1.21 及び 2.40~3.08, 0.38~0.50, 0.15~0.25 μ mole/g muscle wet wt. であつて、ATP が主成分であつた。

2) 両筋肉を -5°C で凍結貯蔵すると、ATP は分解し、ADP 次いで AMP が生成し蓄積する。アカガイ筋肉の場合にのみ微量の Adenine が見出されたが、この AMP はそれ以上変化せず、ホタテガイ及びウバガイの場合と非常に異つている。一般的にアカガイ筋肉の方が変化が速やかであつた。

3) 両筋肉を室温に放置すると、初めから 20 時間に至るまで殆んど変化が起らず、ATP は高いレベルに保たれるが、以後緩慢な分解が起り ADP 次いで AMP が生成する。アカガイ筋肉の場合のみ微量の Inosine と推定される物質が見出された。

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。また古河俱江氏に多大の技術的援助をうけた。併せて感謝する。

文 献

- 1) 新井健一 (1960). 本誌 11, 67.
- 2) 斎藤恒行・新井健一 (1957). 日水誌 23, 265.
- 3) Tarr, H.L.A. (1955). *Biochem. J.* 59, 386.
- 4) Kalckar, H.M. (1947). *J. Biol. Chem.* 167, 477.
- 5) Saito, T., Arai, K. & Tanaka, T. (1958). *Nature* 181, 1127.
- 6) Murry, J. & Jones, N.F. (1958). *Biochem. J.* 61, 218.
- 7) Schwan, J.M. & Jones, N.F. (1957). *J. Sci. Food Agri.* 8, 491.
- 8) Szentkiralyi, E.M. (1957). *Arch. Biochem. Biophys.* 7, 289.
- 9) Bendall, J.R. & Davey, C.L. (1957). *Biochem. et Biophys. Acta.* 26, 93.