HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	海産無脊椎動物筋肉中のホマリンに関する研究
Author(s)	西田, 清義; 新井, 健一; 斎藤, 恒行
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 16(2), 114-119
Issue Date	1965-08
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23251
Type	departmental bulletin paper
File Information	16(2)_P114-119.pdf



Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

海産無脊椎動物筋肉中のホマリンに関する研究

西田清義・新井健一・斎藤恒行
(北海道大学水産学部水産化学教室)

Occurrence of Homarine in the Muscles of Some Marine Invertebrates

Kiyoyoshi NISHITA, Ken-ichi ARAI and Tsuneyuki SAITO

Abstract

(1) Homarine-like crystals were isolated from the acid soluble extract of the muscle of the abalone by ion exchange chromatography. Since the crystals showed the same characteristics, cation exchange chromatogram, Rf values, color reactions, ultraviolet and infrared spectra, as synthesized homarine, these were identified as homarine.

(2) Methods for determining homarine in the tissue extract by ion exchange chromatography were considered, and the amounts were estimated on the muscles and livers of some molluscs and crustacea.

(3) Except for seahare in others examined here, the observation of homarine in the muscles was generally accepted; On the other hand, in those of some invertebrates, living in fresh water or on land, marsh snail, *Cipangopaludina malleata*, amber snail, *Succinea lauta*, and fragile fresh-water mussel, *Anodonta woodiana*, which are considered of the same origin as abalone, homarine was not observed.

緒　　言

海産無脊椎動物組織中のホマリンについては，既に Ackermann[1)~6)] 等, Hoppe-Seyler[7)], Welsch[8)] 等の報告があり，またGasteiger[9)]等はホマリンの分布及び機能について報告している。最近福島[10)~12)]はスルメイカから主としてポーラログラフィーによりホマリンを単離同定し，定量を行なっており，Leonard[13)] 等は Australian crustacea からホマリンを分離確認している。更に平野[14)~15)]等はホマリンの生成機構についての考察を行なっている。

一般に海産無脊椎動物筋肉中の酸可溶核酸成分の，イオン交換クロマトグラフィーによる分析を行なうとき，強塩基性陰イオン交換樹脂に吸着されずに通過する紫外部波長 273 mμ に吸収極大を示す物質が，かなり多量に存在することをすでに中島[16)]等および新井[17)]は認めている。この物質は紫外線吸収スペクトル，呈色反応，その他の性質からみると，先にのべたホマリンと非常に類似していることから，著者らはこの物質がホマリンであることを確認するとともに，本物質の定量分析法を考案し，数種の無脊椎動物組織中の含有量を定量したのでここに報告する。

実　験　方　法

材　料: 昭和39年4月から9月にわたり下記の材料を試料として使用した。エゾアワビ(*Haliotis*

discus hannai), ウバガイ (*Spisula sachalinensis*), アサリ (*Venerupis japonica*), アカガイ (*Anadara broughtonii*) は函館近海産で生きているものを, またスルメイカ (*Ommastrephes sloani pacificus*), トヤマエビ (*Pandalus hypsinot*) は生存状態に近いものを市場から求めた。ホタテ (*Pecten yessoensis*) は生きているものを市場から求め, 本学部機械学講座にて凍結乾燥したものを新鮮肉重量に換算して採肉した。アメフラシ (*Aplysia kurodai*) は函館近郊茂辺地海岸にて, またオカモノアラガイ (*Succinea lauta*) は函館山にて採捕した。マルタニシ (*Cipaugopaludina malleata*), ドブガイ (*Anodonta woodiana*) は本学部動物学教室より分与して載いた。

分光々度計は島津製 QB-50 型, 赤外分光々度計は日本分光製光研 DS-301 型を使用した。

海産動物筋肉からホマリンの単離：新鮮な無脊椎動物筋肉約 170 g を 3 倍量の 0.6*N*-$HClO_4$ でホモジナイズ抽出し, KOH で中和して, 生じた沈澱を遠沈除去後アンモニアで pH 10.0 とした。この抽出液を Dowex-1X8 カラム (formate, ϕ 2.9×40.0 cm) に通し, 不純物 (主として核酸関連物質) を吸着除去せしめ, そのあと蒸溜水を流して極大吸収 273 mμ を示す物質を完全に溶出せしめる。通過液およびこの水洗液を合せて総量約 100 cc までに 40°C 以下で減圧濃縮したあと, HCl で pH 2.0 に調整し, Dowex-50X8 (H^+, ϕ 1.4×30.0 cm) に吸着させた。そのあと水で溶出を行ない $\lambda_{max.}$ 273 mμ を示す画分を集め, 減圧濃縮乾固後, 無水エタノールから再結晶によりホマリンの針状結晶を得た。

ペーパークロマトグラフィー：酢酸で充分に洗浄した東洋濾紙 No. 3 を使用した。展開剤として次の 2 種を用いて上昇法により行なった。ペーパー上のスポットの位置は紫外線ランプ (東芝 F1-3S 型) を用いて確認するとともに, 発色剤として Alkaline-α-naphthol[18], Dragendorff の試薬[18]を使用した。

動物組織中のホマリンの定量法：組織 1 g を 10 cc の 0.6*N*-$HClO_4$ で摩砕抽出し, 遠心分離後, 残渣を同量の 0.6*N*-$HClO_4$ で再抽出する。内臓の場合には, このあと上澄液をエーテルで 4～5 回振って, 脂肪, 色素を除いた後, エアレーションを行なってエーテルを完全に除去する。この上澄液を KOH にて中和後, 沈澱を遠沈除去して抽出液とする。この抽出液を pH 10.0 に調整して Dowex-1X8 カラム (Cl^-, ϕ 1.1×6.0 cm) を通過させて核酸関連物質を吸着除去したあと, 約 30 cc の水を流してカラムを洗い, この水洗液と通過液を合わせて全量約 50 cc として HCl で pH 2.0 に調整し, Dowex-50X8 (H^+, ϕ 1.1×12.0 cm) に吸着させる。このあと水にて溶離を行ない, 10 cc ずつ分取し, 分光々度計により 270 mμ の吸光度を測定した。溶出したホマリンの定量値を算出するために, 水溶液におけるホマリンの分子吸光係数を既知の値[18]と比較して 6100 と決定して使用した。

ホマリンの合成：Hoppe-Seyler の方法[7]によりホマリンを合成した。

実　験　結　果

I　ホマリンの同定

アワビ筋肉約 170 g からホマリンの結晶約 100 mg を得た。この物質の種々 pH における紫外線吸収スペクトルを Fig. 1 に示した。pH の変化によってもスペクトルはほとんど変化せず, $\lambda_{max.}$ 273 mμ を示し, 合成ホマリンと一致する。2 種類の展開剤でペーパークロマトグラフィーを行なったところ, 紫外線ランプにて単一スポットを検出し, さらに濾紙上において Alkaline-α-naphthol により黄色に, Dragendorff の試薬により赤橙色に発色した。また, 単離したホマリンおよび合成ホマリンのペーパークロマトグラム *Rf* 値, 赤外線吸収スペクトルをそれぞれ Table 1, Fig. 2 に示した。Table 1, および Fig. 2 から明らかのように, 合成ホマリンと単離したホマリンとは完全に一致している。

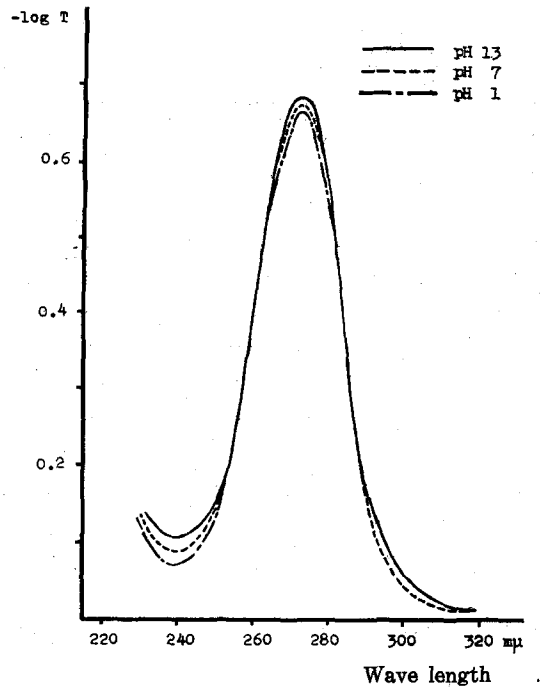


Fig. 1. Absorption Spectra of Homarine Obtained from the Muscle of Abalone

II 動物組織中のホマリンの定量

はじめに，単離したホマリンの強塩基性および強酸性イオン交換樹脂カラムに対する態度を検討した。ホマリン水溶液をアンモニアにて pH 10.0 に調整して Dowex-1X8カラム(Cl^-, ϕ 1.1×6.0 cm)に流通させたが，ホマリンは樹脂カラムに吸着されずに通過し，そのあと 20～30 cc の水を流すことによって完全に洗い出された（回収率101.2%)。また HCl にて pH 2.0 に調整して Dowex-50X8 カラム（H^+, ϕ 1.1×10.0 cm）に流過させたところ，ホマリンは完全に吸着保持され，水で溶離することが出来た（回収率 96.0%)。尚，合成ホマリンも同じ態度を示した。よってこの方法を先に述べたような方法として動物組織の抽出液の定量分析に応用した。

イカ筋肉およびアワビ筋肉 1 g の抽出液を直接イオン交換分析した結果を，それぞれ Fig. 3, Fig. 4 に示した。

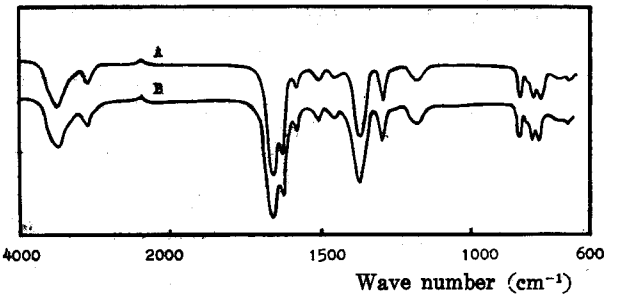
ホマリン画分は斜線で示されており，

Table 1. *Rf* values of Homarine

	Synthesized	Isolated
Solvent 1[(a)]	0.25	0.25
Solvent 2[(b)]	0.71	0.70

(a) *n*-butanol-acetic acid-water (73:10:17)
(b) tert.-butanol-28% NH_4OH-water (60:30:10)

不純物との分離は完全である。動物の種類によっては，例えばアワビ，ウバガイ，アサリなどでは $\lambda_{max.}$ 330 mμ を示す物質が多量に混在するので，両者を完全に分離するために，Dowex-50 カラムを 10.0 cm ではなく 12.0 cm とやや長くするのが良い。またアワビ内臓 1 g の抽出液に対して合成ホマリンを添加して回収試験を行なった結果，99.5% の回収率が得られた。従って，この方法により内臓抽出液のような不純物の多い試料についても定量分析を行なうことが出来る。以上の方法で数種の動物の組織について，ホマリンを定量分析した結果を Table 2 に示す。その結果によれば，ホマリンは海産の無脊椎動物のみにみられ，例外的にアメフラシには認められない。また淡水産および陸産の無脊椎動物には見出されなかった。このことは従来からの考えを裏づけるものであって，例外は見られなかった。



A....Synthesized B....Isolated from squid muscle

Fig. 2. Infrared Spectra of Homarine

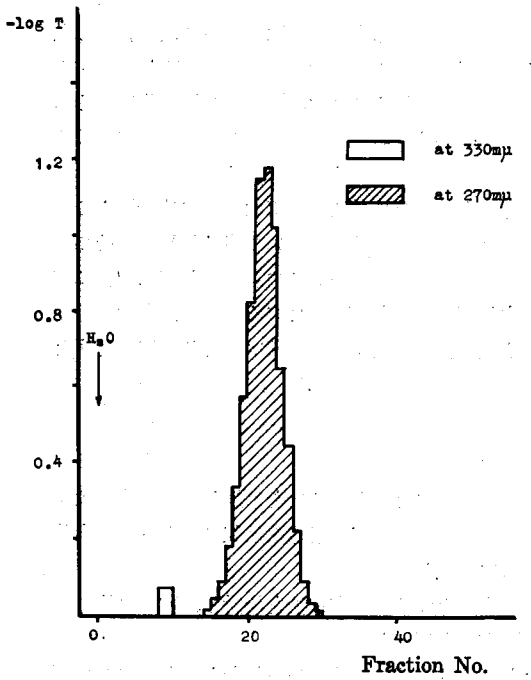


Fig. 3. Separation of Homarine from the Acid-soluble Extract of Squid Muscle by Cation Exchanger

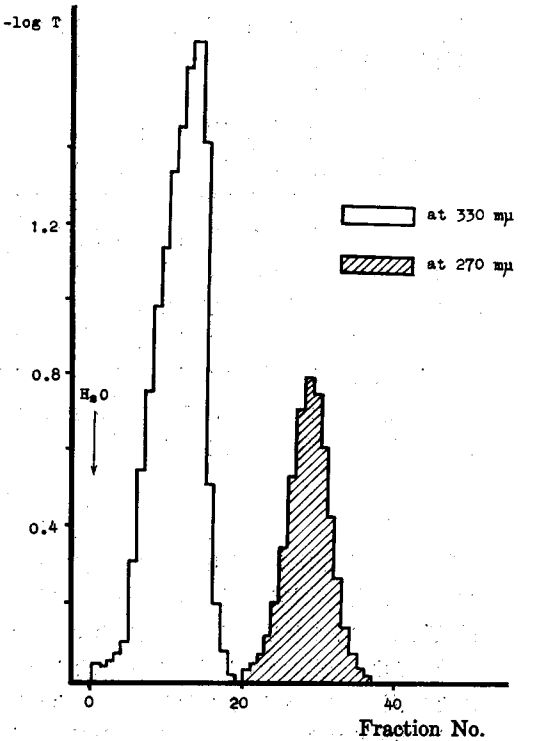


Fig. 4. Separation of Homarine from the Acid-soluble Extract of Abalone Muscle by Cation Exchanger

Table 2. Content of Homarine in the Muscles of Some Marine Invertebrates

(mg/g of fresh muscle)

	Muscle	Liver		Muscle
Abalone	1.3	0.7	Seahare	0.0
Squid	1.6	1.2	Scallop	0.5
Surf-clam	1.0	—	Marsh snail	0.0
Short-necked clam	1.8	—	Fragile fresh-water mussel	0.0
Arkshell	0.9	—	Amber smail	0.0
Prown	1.2	—		

考　　察

既に得られた結果によれば，ホマリンの含有量はアサリ，スルメイカ，エゾアワビ，トヤマエビ，アカガイ，ホタテの順で多く，またスルメイカ，アワビでは筋肉の方が肝臓よりも含有量が多いことになるが，これはその他の組織成分と同じように，動物の生理的条件，捕獲の時季などによって可成の差も認められることも予想されるから，必ずしも上述の含量を示すものとは考えられない。然しながら発生学的には極めて近似的だと考えられているアワビ，マルタニシ，オカモノアラガイについて，その成育環境条件の相違によりアワビにのみホマリンが認められることは，海産無脊椎動物にのみホマリンが見出されるとする従来の考えを裏づけるばかりでなく，ホマリンの海産動物組織内における生成機構およびその生理的意義に関して今後の発展的研究が期待されるわけである。

なお，ホマリン定量の際に同時に発見される $\lambda_{max.}$ 330 mμ の物質については，既に辻野[19]らの研究において，紅藻類の特殊成分として報ぜられたものとその化学的性質が極めて良く類似し，その後の比較研究によっても，その両者は同一物である可能性が極めて大きい。この点に関しては後報に詳述することとする。仮にこの両者が同一物であるとすれば，海藻を食習慣とする動物筋肉中に特殊成分が出現したことにもなり，この物質の生体における生理化学的な役割の探求は，その構造の解明と相俟って大きな期待が寄せられる。

要　　約

1) アワビ筋肉抽出液からイオン交換クロマトグラフィーによりホマリンを単離した。本物質はイオン交換樹脂に対する態度，ペーパークロマトグラフィー，呈色反応，紫外線吸収スペクトル，赤外線吸収スペクトルなどの諸点で，合成ホマリンと完全に一致した。

2) イオン交換クロマトグラフィーによる動物組織中のホマリンの定量法を検討し，数種の軟体類および甲殻類について，筋肉および肝臓のホマリン含有量を測定した。

3) ホマリンは海産動物に見出されたが，例外としてアメフラシには認められなかった。またエゾアワビと比較対照して，マルタニシ，オカモノアラガイ，ドブガイについて定量分析を行なったが，後3者に関してはその存在が認められなかった。

文　献

1) Kutscher, F. and Ackermann, D. (1933). *Z. Physiol. Chem.* **221**, 33.
2) Ackermann, D. (1953). *Ibid.* **295**, 1.
3) ——— (1955). *Ibid.* **302**, 80.
4) ——— (1958). *Ibid.* **313**, 30.
5) ——— & List, P. H. (1957). *Ibid.* **306**, 260.
6) ——— & Pant, R. (1961). *Ibid.* **326**, 197.
7) Hoppe-Seyler, F. A. (1933). *Ibid.* **222**, 105.
8) Welsch, J. H. & Proch, P. B. (1959). *Biol. Bull.* **115**, 551.
9) Gasteiger, E. L., Haake, P. C. & Gergen, J. A. (1960). *Annals of the New York Acad. of Sci.* **90**, 622.
10) 福島　清 (1962). 日本水産学会誌 **28**, 810.
11) ——— (1962). 同誌 **28**, 818.
12) ——— (1962). 同誌 **28**, 909.
13) Leonard, G. J. & MacDonald, K. (1963). *Nature* **200**, 78.
14) 平野敏行・岡田郁之助 (1964). 日本水産学会秋季大会.
15) ——— ・ ——— (1965). 日本水産学会年会.
16) 中島宜郎・市川恒平・鎌田政喜・藤田栄一郎 (1961). 日本農芸化学会誌 **35**, 803.
17) 新井健一 (1960). 北大水産彙報 **11**, 67.
18) Brehoff, H., Roberts, E. & Delwiche, C. C. (1953). *J. Biol. Chem.* **205**, 565.
19) 辻野　勇・斎藤恒行 (1961). 北大水産彙報 **12**, 49.