生體發光ニ於ケル水素化作用ノ意義ニ就イテ

中 村 浩

HIROSI NAKAMURA: Über die Bedeutung der Hydrogenation bei Biolumineszenz.

Eingegangen am 28. Juni 1940.

生體發光ノ機構ニ關スル問題ハ DUBOIS ノ Luciferin-Luciferase 作用説ノ提唱ニヨリ一時曙光ヲ見出シタノ感ガアツタガ未ダ兩物質ノ單離ハ成功サレズ、從ツテソノ化學上ノ性質ニ關シテモ未ダ明カデナイ。併シ生體發光ガ一種ノ酸化反應ヲ以テ示サレル事ハ疑ナク思ハレル、コノ反應ハ N. HARVEY ニ從ヘバ

ノ如ク示サレル、コゝニ LH_2 ハ Luciferin ヲ、 L' ハ Oxyluciferin ヲ、 A ハ Luciferase ヲ示シ、**ダッシュ** (') ハ過剰**エネルギー**ヲ示ス。

最近 JOHNSON, VAN SCHOUWENBURG 及 VAN DER BURG ハ葡萄糖ノ如キ水素供與體ガ存在スル場合

ノ如ク生體內ニ於テ Luciferin ガ生ズルモノトナシタ。

N. HARVEY ハ Luciferin-Oxyluciferin 系ヲ脱色素色素ニ擬ヘ、Luciferin ノ酸化ニヨリ生ズル Oxyluciferin ハ種々ナル還元劑、例ヘバ發生期ノ水素、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 、筋肉組織及ビ他ノ生物學的原因ニヨツテ再ビ Luciferin ニ還元サレル。然シテコノ酸化反應デハ熱モ CO_2 モ生ジナイ故 Luciferin ノ酸化ハ分子内ニ於ケル些細ナ變動ニヨリ起ルト論ジテキル。又 ANDERSON ハ Luciferin ハ純粹ニ化學的ナ酸化 (Luciferase ノ介在シナイ酸素或ハ**フェリチアン**加里ニヨル) ハ發光ヲ伴ハズ且可逆的デアアルガ、Luciferase ノ介在スル場合ノ酸素ニヨル酸化ハ發光ヲ伴ヒ且還元不可能ナ酸化生成物ヲ生ズルト報告シテ居ル。

Luciferin-Oxyluciferin 系ノ酸化ガ不可逆的デアアルカ否カラ探究スル事ハ生體發光ノ機構ノ研究ニ際シ重要ナモノト考ヘルノデ著者ハ Luciferin-Oxyluciferin 系ノ酸化還元ニ就イテ水素化作用ヲ考慮ニ入レ實驗ヲ行ツタガ、ソノ結果ヲコゝニ報告シヨウト思フ。

實 驗 方 法

實驗ニ用ヒタ Oxyluciferin 溶液ハ發光性甲殻類 *Cypridina hilgendorfi* ヨリ N. HARVEY ノ方法ニヨリ Luciferin, Luciferase ヲ分離シ兩者ヲ混合シ空氣中デ充分發

光セシメ、Luciferin フ全部 Oxyluciferin = 變ゼシメテ得タ。使用=際シテハコノ溶液ヲ更ニ 100° = 3 分間加熱シテ用ヒタ。

水素化酵素ハ未ダ純粹ニ得ル方法ガ未知ノタメ、水素化作用ヲ顯著ニ示ス數種ノ細菌、例ヘバ *Bacterium coli communior*, *Bact. coli formicum* 及ビ *Rhodobacillus palustris* 等ノ懸濁液ヲ用ヒタ。

實驗ニハ水素瓦斯ヲ通ズルニ便ナル様變形シタ Thunberg 管ヲ用ヒ、主室中ニ 5 cc. Oxyluciferin-M/6 磷酸緩衝液混合液 (pH 7.2), 側室中ニ 2 cc. Luciferase 溶液ヲ裝備シ、瓦斯腔ハ洗滌セル水素瓦斯或ハ窒素瓦斯ヲ以テ滿シタ。實驗溫度ハ 30°デアツタ。

實 驗 結 果

種々ナル細菌ガ水素化酵素 (Hydrogenase) ヲ含有シ、水素化作用ヲ示ス事ガ知ラレテキルガ¹⁾、Oxyluciferin ガコノ水素化作用ニ於ケル水素受容體トシテ働キ得ルヤ否ヤヲ檢スルタメ、Thunberg 管主室中ニ *Cypridina* ヨリ得タ Oxyluciferin 含有液ヲ裝備シ、コレニ更ニ水素化酵素ノ存在顯著ナル細菌ノ懸濁液ヲ加ヘ、瓦斯腔ヲ水素瓦斯デ置換シ、24 時間約 30°ニ放置シタ後、豫メ側室中ニ裝備シタ同ジク *Cypridina* ヨリ得タ Luciferase 含有液ヲ添加シ、瓦斯腔ニ酸素ヲ通ジ發光ノ有無ヲ肉眼デ觀察シタ、若シ Oxyluciferin ガ水素化作用ノ水素受容體トシテ働クナラバ、ソノ結果 Oxyluciferin ハ Luciferin ニ還元サレルカラ、Luciferase ノ添加ニヨリ發光ヲ發現スル理デアル。實驗結果ハ第 1 表ニ示ス如ク、*Bacterium coli communior*, *Bact. coli formicum*, *Rhodobacillus palustris* 等ノ細菌懸濁液ノ添加ニヨリ *Cypridina* ノ Oxyluciferin-Luciferase 混合液ハ發光スル事ガ確メラレタ。從ツテ

ナル反應ガ考ヘラレル。コノ事ハ瓦斯腔ヲ窒素デ滿シタ對照實驗デハ發光ガ見ラレナカツタ事カラモ確ヅケラレル。

第 1 表

種々ナル細菌ニヨル *Cypridina*-Oxyluciferin 含有液ノ發光回復現象

細菌種	發 光 ノ 有 (+) 無 (-)	
	H ₂ -瓦斯中ニ設置セルモノ	N ₂ -瓦斯中ニ設置セルモノ
<i>Bact. coli communior</i>	+	-
<i>Bact. coli formicum</i>	+	-
<i>Rhodobac. palustris</i>	+	-

1) 水素化作用ニ關シテハ 山縣春次, 中村 浩 (1938) 參照。

論 議

JOHNSON, VAN SCHOUWENBURG 及 VAN DER BURG ハ發光細菌 *Phmotobacterium Fischeri* フ用ヒタ實驗デ細菌ヲ水素中ニ無酸素状態ニ置クト、媒介質中ニフマル酸鹽ノ如キ物質ヲ添加シタ場合ハ酸素ヲ通ズル事ニヨリ閃光ヲ發シ發光度ヲ増加スル事ヲ報告シ、ソノ原因ヲ無酸素状態ノ爲ト述ベテキル。著者ハ最近發光細菌 *Micrococcum phosphoreus* ガ顯著ナ水素化作用ヲ示ス事ヲ報告シ、メチレン青、フマル酸鹽、硝酸鹽、酸素等ガ該作用ニ於テ水素受容體トシテ働ク事ヲ示シタガ、JOHNSON 等ノ觀察シタ事實ハ著者ノ考ヘニヨレバ全ク水素化作用ノ爲デ

トナリ、L (Oxyluciferin) ガ還元サレテ LH₂ (Luciferin) ヲ生ジ、ソノ結果發光ノ強サガ増大セラレルモノト考ヘル。從ツテ JOHNSON 等ノ説明シテキル如キ無酸素状態ノ爲デハナイト思ハレル。コノ考ヘヲ確ヅケルベク著者ハ JOHNSON 等ノ行ツタト同様ナ實驗ヲ發光細菌 *Micrococcus phosphoreus* ニ就イテ行ヒ、對照トシテ窒素瓦斯中ニ於ケル實驗モ併ビ行ツタ。JOHNSON 等ハコノ窒素氣中ニ於ケル實驗ヲ行ツテキナイ。ソノ結果 JOHNSON 等ノ觀察シタト同様ノ事實ガ水素氣中ニ於テハ明カニ證明サレタガ、窒素氣中ニ於テハ全ク見ラレナカツタ。コノ事實ハフマル酸鹽添加ニヨル發光度増加ガ分子狀水素ト密接ナ關係ヲ有スル事ヲ明示スルモノデ JOHNSON 等ノ説明スル無酸素状態ノ爲デハナイ事ガ明カデアル。

從ツテ發光細菌ニ於テハ著者ノ示シタ如ク

↑
水素化酵素

ナル反應式ニ從ヒ分子狀水素ガ直接 L ニ作用シ LH₂ ヲ生ズルカ、或ハ JOHNSON 等ノ考ヘノ如ク、L ノ還元ニハ葡萄糖、琥珀酸等ノ如キ物質ガ直接ノ水素供與體デアリ

↑
脫水素酵素

ナル反應ガ行ハレルモノトシテモ

↑
水素化酵素

ノ如ク L ノ還元ニ關與スル水素供與體ガ生體內ニ於テ一旦水素化作用ニヨツテ生ズルモノトモ考ヘラレル。JOHNSON 等ノ示シタフマル酸鹽添加ニヨル發光度増加ノ事實ハコノ反應ガ實際ニ行ハレテキル事ヲ示スモノデアル。

何レニセヨ發光細菌ニ於テハ發光過程ニ水素化作用ガ密接ナ關與ニアルモノト考ヘラレル。生體內ニ於テハ水素化作用ニ與ル分子狀水素ハ著者ガ既ニ *Microc.*

phosphoreus = 就イテ示シタ如ク放水素酵素 (Hydrogenlyase) = ヲツテ供給サレル事ハ容易ニ了解サレヨウ。

今回ノ *Cypridina* ノ Oxyluciferin ヲ用ヒタ Luciferin-Oxyluciferin 系ノ酸化還元ニ關スル研究ト發光細菌ノ水素化作用ノ研究トヨリコ、ニ結論セラレル事ハ、ANDERSON ノ言フ如ク發光ヲ伴フ Luciferin ノ酸化反應ハ必ズシモ不可逆的デハナク、水素化酵素ニヨル水素化作用ノ結果、直接或ハ間接ニ Oxyluciferin ヲ再ビ Luciferin ニ還元シ發光ヲ再發セシメルニ役立ツモノト考ヘラレル。從ツテ N. HARVEY ノ言フ “或生物的原因ニヨリ生體內ニ於テ Oxyluciferin ガ再ビ Luciferin ニ還元サレル事ガアル” ト言フハ結局細菌ノ示ス水素化作用デアルトナス事ガ出來ルト考ヘル。

終リニ臨ミ本研究ニ對シ終始御懇篤ナル御教示御鞭達ヲ賜ツタ 柴田桂太先生ニ對シ深甚ナル感謝ノ意ヲ表シタイト思フ。

尙本研究ハ財團法人服部報公會ノ援助ニヨツテナツタモノナル事ヲ附記スル。

引用文獻

- R. S. ANDERSON: Journ. gen. Physiol., **19** (1935), 301; Journ. Cell. and Comp. Physiol., **3** (1933); **8** (1936), 261.
 R. DUBOIS: La Vie et la Lumière, Paris, 1914.
 E. NEWTON HARVEY: The Nature of Animal Light. Philadelphia, 1920; Erg. Enzymforsch., **4** (1935), 365.
 F. H. JOHNSON, K. L. VAN SCHOUWENBURG & A. VAN DER BURG: Enzymol., **7** (1939), 195.
 中村 浩: Acta Phytochimica, **11** (1939-40), 159; **11** (1939-40), 239; 植物及動物 **8** (1940), 701.
 山縣春次, 中村 浩: Acta Phytochimica, **10** (1937-38), 297; 科學, **8** (1938), 152.

Resume.

Die Oxyluciferin-Lösung von *Cypridina* wurde mit Suspension von *Bacterium coli communior*, *Bact. coli formicum* bzw. von *Rhodobacillus palustris* u.a., worin die Hydrogenase deutlich vorkommt, gemischt und in einer H₂-Atmosphäre ca. einen Tag stehen gelassen. Das Leuchtvermögen wurde dann durch Leciferin-Zusatz und zwar anschliessenden O₂-Zufuhr wiederhergestellt. Daraus kann man vermuten, dass Oxyluciferin mit

Hilfe von Hydrogenase wieder in Luciferin rückreduziert wurde.

Neulich haben JOHNSON, VAN SCHOUWENBURG und VAN DER BURG mitgeteilt, dass eine Leuchtbakterie, *Photobacterium Fischeri*, die Fumarat u.a. m. in Anaerobiose (in H_2 -Atmosphäre) gestanden, stärker anblinken als beim Fehlen von Fumarat. Nach der Meinung dieser Autoren sollte diese Ursache auf die Anaerobiose selbst zurückgeführt werden. Eine meiner Versuche, wobei ein solches Verfahren in einer N_2 -Atmosphäre ausgeführt wurde, hat kein Anleuchten ergeben, während in einer H_2 -Atmosphäre deutliches Leuchten beobachtet wurde. Also kann man hieraus entnehmen, dass diese Erscheinung nicht infolge der Anaerobiose, sondern behufs der Hydrogenase-Wirkung stattgefunden hat. In einer früheren Mitteilung habe ich praktisch gezeigt, dass die Hydrogenase in einer Leuchtbakterie *Micrococcus phosphoreus* deutlich vorkommt. Daher kann man sich vorstellen, dass die Biolumineszenz mit Hydrogenation in enger Beziehung stehen kann.

Die umkehrbare Oxydoreduktion bei Oxyluciferin-Luciferin-System dürfte also unter Anteilnahme von Hydrogenase vonstatten gehen. Diese Beziehungen würden wie folgt dargestellt.