カツオの生化学的研究—V. 幽門垂に於ける磷の分布

堀口吉重・柏田研一

(鹿児島大学水産学部)

Biochemical Studies on Skipjack (*Katsuwonus vagans*)—V.

Distribution of Phosphorous in Pyloric Coeca

Yoshishige HORIGUCHI and Ken'ichi KASHIWADA

The authors studied the distribution of phosphorous in pyloric coeca of skipjack, and obtained the following results.

1) The total phosphorous content was about 130 mg%, inorganic phosphorous 48 mg% and organic phosphorous 82 mg%—lipoid phosphorous 5 mg%, nucleic-acid phosphorous 37 mg% and phosphoprotein phosphorous 2 mg%, respectively, in the organic phosphorous.

2) The amount of lipoid phosphorous did not change by storing, but nucleic-acid and phosphoprotein phosphorous decreased rapidly with the lapse of time.

3) Pyloric coeca contained much more organic phosphorous and less lipoid phosphorous as compared with the muscle of skipjack.

緒 言

幽門垂に関する化学的研究は一般に極めて少く、無機物についても単に灰分量として示されている分析例は二三見られるが、各成分別にその形態を研究したものは殆ど見当らぬようである。よつて著者等はまずカツオ幽門垂の無機成分について定性並びに定量分析を行い、Cation として Al, Fe, Zn, Ca, Mg, Na, K を、Anion として P, S, Cl の合計 10 元素を検出し、且つこれら各元素の含有量を測定したが、その結果は本研究の第 2 報¹⁾として本誌に発表した。これら元素の中、磷は動物体に於ける多くの重要な生理作用に關与する種々の化合物の成分として含まれているので、その形態を調べた所二三の知見を得たので茲に報告する。

カツオのような外洋性魚類では一般にその生活時に於ける成分の実態を知ることとはかなり困難である。殊に消化系器官のように酵素作用の旺盛な部分の成分を知るためには屠殺直後に試料調製を行い、而も直ちに実験にとりかゝらなければその実態を明らかにすることはむづかしいが、斯ることは著者等の現状では実行出来なかつた。そこでこの実験では成分の死後変化を出来るだけ起していないものを用いるために本県山川町に行き、いわゆる近海物と言われるカツオから採取したもので、死後 2—3 日を氷蔵状態で経過した普通適当地方で得られるカツオとしては最も新鮮なものを入手した。これらの試料につき時間の経過による成分の変化を調べてカツオの生活時に於ける成分の形態を類推して見た。

実 験

試料 昭和 26 年 10 月、上記の如く山川町で体重約 4 kg のカツオ（早合混合）から採取した幽門垂を

1952 年 8 月 16 日受理、昭和 26 年 11 月 7 日九大農学部開学 30 周年記念大会（福岡）にて講演

魔法罌中で水冷しつゝ実験室に運び直ちに分析に供した。その一部は小型冷蔵庫 (5-6°C) 内に貯蔵し、一定時間の後取出して分析し、時間の経過による成分変化を調べた。

各種形態燐の定量法 燐化合物を次の4区分に分けて定量した。(1) 酸可溶性物質(燐酸、モノヌクレオチッド、糖類その他低分子燐酸エステル等)(2) 燐脂質(3) 核酸(4) 燐蛋白質。これら各区分への分離は SCHNEIDER 法²⁾ 及び SCHMIDT 及び THANNHAUSER 法³⁾ を併用したが、その操作の概要を述べると次の通りである。

1) 溶酸性燐化合物区分 皮膜及び内部の脈組織を除去磨砕した幽門垂を秤取し、水冷した 7% TCA (三塩化醋酸) を加え攪拌後速かに遠心分離して上澄液を除き、沈澱は更に 2 回冷 TCA で抽出する。この上澄液を合して溶酸性燐化合物区分とする。これを二分して全燐酸及び無機燐酸を BELL-DOISY 法によつて比色定量した。前者の値から後者の値を減じたものを溶酸性有機燐酸とする。

2) 燐脂質区分 燐脂質、核酸、燐蛋白質は冷 TCA に溶解しないので 1) の操作に於ける残渣中にはこれらが存在する。よつてこの残渣をアルコールで洗滌して TCA を出来るだけ除去し、次でアルコール・エーテル混液 (3:1) を加え 3 分間煮沸し冷後遠心分離する。残渣に対して同じ操作を更に 2 回繰返し、3 回分の抽出液を合して燐脂質区分とする。これを硫酸で分解し燐酸を BELL-DOISY 法によつて定量した。

3) 核酸、4) 燐蛋白質区分 TCA 可溶性物質及び燐脂質を除いた残渣に N-KOH を加え密栓して 37°C に 15 時間放置すると骨以外の組織は殆ど溶解するが、この場合 DNA (Desoxypentosenucleic acid), PNA (Pentosenucleic acid), 燐蛋白は次のように変化する。DNA は変化せず鉍酸によつて沈澱する。PNA はヌクレオチッドになり鉍酸によつては沈澱されない。燐蛋白質中の燐は凡て無機燐酸に分解される。よつて分解液を遠心分離し上澄液の一部をとつて前記の如く全燐酸を求め、別に上澄液の一部をとつて塩酸及び TCA を加えて沈澱を生ぜしめ、濾液を二分し一部で全燐酸を、他の一部で無機燐酸を DELORY⁴⁾ 法により処理して定量する。各定量値を用い次式によつて各形態の燐を算出する。

(アルカリ処理の全燐酸)-(酸性濾液の全燐酸)=DNA の燐

(酸性濾液の全燐)-(酸性濾液の無機燐)=PNA の燐

(酸性濾液の無機燐)=燐蛋白の燐

成績並に考察

以上の方法によつて行つた実験成績は次表の通りである。

Table 1. Distribution of phosphor in pyloric coeca of skipjack.
(mg. per 100 g. of fresh matter)

Days of storage (at 5-6°C.)	0	7	11
Total P	129	129	129
Acid soluble total P	85	111	124
" inorganic P	48	100	122
" organic P	37	11	2
Phospholipid P	5.4	5.1	5.0
DNA-P	17	2	0
PNA-P	20	+	0
Phosphoprotein P	2	0	0

本実験に供した幽門垂の全燐は鮮組織中 129 mg% であつた。その大部分は前記の区分に従えば TCA 溶性で、最初 85 mg% (全燐の 66% 弱) であるが、これはその後次第に増加し 11 日後に於ては全燐の約 96 % を占めるに至る。溶酸性燐の中では最初は無機性燐の方が有機性燐よりも少しく

多いが、時間の経過につれて後者は急減して 11 日後に於ては殆ど消失し、無機燐の方は次第に増加して前記の如く殆ど全燐の大半がこの形の燐に変化して来る。この溶酸性燐の増加は溶酸性有機燐から変生による外、DNA や PNA の分解によることが示されている。燐脂質の燐は約 5 mg% にすぎず、時間の経過によ

つて僅かに減少する傾向にあるが、その程度は甚だしい。DNA-P と PNA-P は最初は夫々 17 mg, 20 mg% も存在するが速くに分解し、5—6°C 程度の温度に於ても PNA-P は 7 日後にはもはや認められず、DNA-P は 7 日後に 12 mg%, 11 日後には消失した。即ち幽門垂中にはかなり強力なヌクレオフォスファターゼが存在し、比較的低温に於ても作用することが推定される。従つて核酸態磷はカツオの生活時に於ては著者等の実験で得られた第 1 表の値よりも更に多く存在することが想像される、と同時に極めて新鮮な幽門垂を用いなければ核酸の分離が困難であることも自ら了解される。磷蛋白の磷は極めて微量で、最初僅かに 2 mg% 定量せられたに過ぎず 7 日後、11 日後は全く検出されなかつた。

以上の値を SCHMIDT, THANNHAUSER 氏³⁾ 等が陸上動物の組織に於ける DNA-P, PNA-P 及び磷蛋白の磷を定量しているものと比較して見ると第 2 表の通りで、カツオ幽門垂に於ける含量は概して遙かに少いことが解る。

Table 2. Desoxypentose nucleic acid (DNA)- and ribonucleic acid (RNA) phosphorous content in fresh tissue. (mg. %)

Tissue	DNA	RNA	Phosphoprotein
Thymus (Calf)	145	37	±
"	182	56	"
Pancreas (Cattle)	6.5	100	"
Liver (Rat)	26.0	87.3	"
"	22.5	102	"
Spleen (")	54.5	70.0	"
Brain (")	51.1	32.6	"
Kidney (")	33.5	47.0	"
Pyloric caeca (Skipjack)	17	20	2

筋肉に含まれる磷の形態につ

いては既に温血動物及び魚類で研究されており、竹内氏が多数の魚肉について磷の分布を調査した所によれば全磷酸は鮮肉中約 0.5 % で、その 60—70 % は無機状、残りは大部分リポイド状磷酸で蛋白質その他の有機状磷酸は甚だ少い。又奥田氏がカツオの筋肉に於ける磷酸の分布を研究した所によると、全磷酸は 0.6 % 強でその中リポイド状磷酸は普通肉に於ては全磷酸の約 30 %、血合肉では約 40 % に相当しているが、これらカツオ幽門垂に於ける磷の形態と比較すると、リポイド状磷が筋肉に於けるより遙かに少いことが注目せられる。

磷は動物体に於ては Ca 及び Mg と化合して骨の主体をなすが、更に核蛋白質の構成分子となつて細胞核を形成し、磷脂体として脳、神経細胞を構成し、クレアチン磷酸或はアルギニン磷酸として筋肉の収縮に関与し、又体液中に存在して酸、塩基の平衡に重要な作用を行い、又核酸が蛋白合成に必要であるとの仮説も一般に行われて来つゝある等、生活現象上極めて重要な諸種の作用を営んでいる。即ち筋肉その他の軟組織に於ては有機磷化合物は特に重要な生理現象に関与しているが、幽門垂には有機磷が甚だ多く、少くとも全磷の約 2/3 を占めていることは、幽門垂が魚体に於て極めて重要な生理作用を営むものであることを推定せしめるに足るものと思う。

摘 要

カツオ幽門垂に含まれる磷の分布を研究し次の結果を得た。

- 1) 生鮮組織中全磷は約 130 mg% で、無機磷 48 mg%, 有機磷 82 mg% であつた。有機磷の中にはリポイド状磷 5 mg%, 核酸磷 37 mg%, 磷蛋白磷 2 mg% が存在した。
- 2) リポイド状磷は幽門垂を貯蔵しても殆ど減少しないが核酸磷と磷蛋白磷は時間の経過につれて急激に減少するので、カツオの生活体に於ては此等の有機磷は更に多量存在することが想像される。
- 3) 以上をカツオの筋肉に於ける磷分布と比較すると幽門垂の方が有機磷が遙かに多く、リポイド状磷は

極めて少い。有機磷の多いことから幽門垂が生理上重要な作用を営む器官であることが想像される。

本研究は昭和 26 年度文部省科学研究費によつてなされたものの一つであることを附記する。

文 献

- 1) 堀口, 柏田, 柿本: 日水誌, **18**, 279 (1952)
- 2) W. C. SCHNEIDER: *J. Biol. Chem.*, **161**, 293 (1945).
- 3) SCHMIDT and THANNHAUSER: *J. Biol. Chem.*, **161**, 83 (1945).
- 4) DELORY: *Biochem. J.*, **32**, 1161 (1938).