放射性同位元素によるアコヤガイ及び
イケテフガイの生化学的研究—I
 Ca^{45} によるイケテフガイのCa代謝*

堀口吉重・三宅正人・吉井義一・岡田彌一郎

(三重県立大学水産学部)

井上義雄・宮村光武

(三重県水産試験場)

Biochemical Studies with Radioactive Isotopes on *Pteria* (*Pinctada*)
martensii (DUNKER) and *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS)—I
Ca Metabolism by Ca^{45} Tracer in *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS).
Yoshishige HORIGUCHI, Masato MIYAKE, Güichi YOSHII, Yaichiro OKADA,
Yoshio INOUE, and Mitsutake MIYAMURA.

To clarify the mechanism of the shell and pearl formations, we carried out the measurement of the metabolism of Ca in *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS) using Ca^{45} as the tracer.

Accumulation Experiments : the shellfishes were immersed in the culture solution containing Ca^{45} for 5, 30 min. and 1, 2, 5, 7, 10 hr. respectively, and then washed thoroughly. After being dissected into mantle edge, mantle, gill, foot, liver, retracator muscle, digestive and other organs, and gonad, they were laid in ashes to be measured in the radio-activities with Geiger-Mueller counter.

Disappearance Experiments : after being immersed in the culture solution containing Ca^{45} for 5 min. the shellfishes were transferred into nonradioactive water ; after 2, 14, 40, 60 hr., they were respectively taken up for the measurement of the disappearance. The deposition of Ca^{45} on the shell of the shellfishes used for the accumulation experiments was also measured.

The Results : the accumulation of Ca^{45} (Fig. 1 a and b.) was carried on chiefly in the gill and mantle ; of the total Ca^{45} given for 5 hr., 31 % was accumulated in the gill, 41 % in the whole mantle, 12 % in the digestive organs and 16 % in the other organs. The disappearance was carried on mainly by the mantle ; of the whole amount of Ca^{45} disappeared for 12 hr. 65 % was discharged by the whole mantle. The deposition of Ca^{45} on the shell was started 2 hr. later the initial accumulation.

From these results, it is concluded that the main organs for the accumulation of Ca^{45} are the gill and mantle, and the main organ for discharge is the mantle, the 'edge' of which is especially active.

* 三重県立大学水産学部業績 No. 16. 三重県水産試験場業績 No. 1

1953年11月6日日本水産学会秋期大会に発表した。 1954年5月7日受理(印刷費負担)

I 緒 言

貝殻の構成成分中、 CaCO_3 は 90—95 % を占めており、貝類の Ca 代謝は活潑に行われていると推測されるが、貝体が水界より Ca を摂取し貝殻に沈着せしめるまでの Ca 代謝機構については不明の点が少なくない。真珠母貝の Ca 代謝に関し放射性同位元素を追跡子として利用した研究は近年次第に行われつつあり、三重県水試¹⁾と松井及びその協力者²⁾の共同研究によりアコヤガイ各器官の Ca^{45} 吸収量及び Ca^{45} の貝殻沈着量等が報告され、松井及びその協力者²⁾は更にイケテフガイについて Ca^{45} の貝殻沈着量を測定した。最近辻井及びその協力者³⁾はアコヤガイの Ca^{45} 及び P^{32} の吸収を radioautography により追究している。又カキ類の貝殻形成について WILBUR と JODREY⁴⁾、JODREY⁵⁾ は Ca^{45} を用いて研究し貝殻形成における外套膜の作用を報告している。JODREY によれば外套膜の Ca^{45} 排出量と貝殻に沈着する Ca^{45} 量は略一致するとのべており、Ca 代謝を中心とした貝殻形成のための各器官の重要度は Ca 吸収量よりも排出量がより以上重要性を持つと推定される。著者等はかゝる観点よりイケテフガイ及びアコヤガイを用いて各器官の Ca^{45} 吸収量と共に排出量を測定した所、イケテフガイは特に鰓において吸収量と排出量に大差のあることを見出した。即ちイケテフガイでは Ca^{45} の吸収は大部分鰓と外套膜で行われるが Ca^{45} の排出は大部分が外套膜、特にその周縁で行われ鰓は吸収が活潑なるに比べ排出は極めて不活潑なことからイケテフガイの主要な Ca 吸収器官として鰓と外套膜を、又主要な排出器官として外套膜を推定した。先ず、イケテフガイの Ca^{45} 代謝について報告する。

II 実 験

i) 試 料 貝

1953 年 7 月に滋賀県水産試験場にて飼育中の琵琶湖産イケテフガイ (3 年貝, 200~250 g) 30 個の分譲を受け三重県立大学水産学部前の貯水池の池水を用いた室内タンクにて飼育し、7 月 7 日より 7 月 25 日の間実験に供したが飼育中外観上の異状は認められなかった。特に最初にイケテフガイを用いた理由はアコヤガイに比べて室内飼育が容易なこと、大形で解剖が比較的簡単であり、又最も放射能の汚染を受易いと思われる粘質物の少いこと、海水に比べて Ca 含量の極めて少い淡水に産するにもかかわらず貝殻の生長は良好であり従って Ca 代謝も比較的活潑に行われるものと推測したためである。

ii) 培 養 液

Ca^{45} 原液は $\text{Ca}^{45}\text{Cl}_2$ の塩酸溶液で 1952 年 6 月 28 日製造、経過日数は 385 日、池水にて原液を 50 倍に稀釈して培養液とした。本溶液の放射能は当教室の Geiger-Mueller 計数管では 1216 counts/min./0.1 cc に測定された。稀釈した培養液は NaOH で中和し培養中の pH を 6.6~6.8 に保った。尚イケテフガイは Cl^- に対して抵抗力が弱い本培養液中の Cl^- は 0.3 % で淡水に比し著量である。これは自然条件とは相当異なるが入手した Ca^{45} 溶液の放射能単位が低いので上記の条件のものを止むを得ず用いた。

iii) 試料の調製

○ 吸収量及び排出量の意味について、本報告において Ca^{45} 吸収量とは一定時間 Ca^{45} を吸収させた後各器官に含有される Ca^{45} を測定した counts により示される。(この間 Ca^{45} は水界より直接各器官に吸収され、又吸収された Ca^{45} は一部直接水界へ排出される。更に吸収された Ca^{45} は体内循環により他の器官への出入が行われ、これらの差引残存量が吸収量として表わされる)。排出量は Ca^{45} 吸収貝を非放射性溶液に培養し、一定時間後に各器官に残存した Ca^{45} 量を当初の Ca^{45} 量より差引いた量で示される。(この間各器官より直接水界へ排出され、又体内循環により各器官間の出入りがある。) 従って吸収及び排出量の大きな外套膜の如きは測定値に比較して実際にはより以上活潑な Ca^{45} 代謝が行われ得ると見做される。

○ 吸収実験試料は Ca^{45} 培養液 3 l に木栓にて約 1 cm 開口せるイケテフガイを入れ、水温 28~30°C で 5, 30 分, 1, 2, 5, 7 及び 10 時間培養した後とり上げ、開口部より流水を注いで貝肉表面に附着せる

放射能を除去する。10~15 分間の水洗にて洗液中の放射能は殆ど認められなくなるので 15 分間の洗滌により貝肉表面に附着している Ca^{45} は除去されたとした。洗滌後は外套膜周縁、外套膜（周縁除去）、閉殻筋、鰓、肝臓、足、生殖巣、消化管を含むその他器官の 8 部分に解剖しルツボに入れ乾燥、灰化して各器官の新鮮物、乾物、灰分量を求めた。

○ 排出実験試料は Ca^{45} 培養液に 5 分間培養後直ちに池水中に放養して 14, 40 及び 60 時間毎にとり上げ直ちに開殻し吸収実験と同様に処理した。

○ Ca^{45} の貝殻沈着実験として上記吸収実験の貝殻を用い、20 分水洗して汚染放射能を除去*した後貝殻内面上に沈着した Ca^{45} の放射能を検した。

iv) 放射能測定

使用せし Geiger-Mueller 計数管は計数域 200 V であり、窓の直径 25 mm, 厚さ 2 mg/cm² である。灰分 10 mg 前後を出来るだけ同様の幾何学的条件下におき Geiger-Mueller 計数管にて窓より試料を 8 mm 離して 1~5 分間測定し 3~5 回の平均値をとった。貝殻は凹みの少い平面の部分 Geiger-Mueller 計数管より 2 mm 離し直径 25 mm の円面積の放射能を測定した。

v) 心臓搏動数の測定

培養液と略同条件の 0.47 % CaCl_2 溶液中に 0, 5, 30 分, 2, 5, 7 及び 8 時間培養した後直ちに開殻して心臓搏動数を測定し貝の衰弱度を知る一方法とした。

III 実験結果及び考察

実験結果は各器官の乾物は 1 g, 灰分は 100 mg より 1 分間に放射される Ca^{45} の放射能測定数を表示した。新鮮物は水分含有量が解剖操作等により変動し易く、灰分は培養時間の長短により灰分含有量が変化するので比較的变化の少い乾物単位量の counts で比較するのが妥当と思われる。尚測定誤差は主に試料測定時の幾何学的条件により異なるが 10 % 以内である。測定日数は 10 日間で同期間中の Ca^{45} 自然崩壊は 4 % 以下に過ぎず補正は省略した。実験結果は各測定時間について 1~2 個の貝の測定結果を示す。実験例中吸収 1 時間と 10 時間は異状と思われる測定値を得たので除外した。

Table 1. Beating of the heart of *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS) immersed in the 0.47 per cent solution of CaCl_2 .

Time of culture	0	5	30 min.	2	5	7	8 hr.
Number of beating/min.	20	19	19	17	13	8	6

イケテフガイは含塩化物培養液中では培養時間の経過と共に次第に衰弱するので代謝の正常性について検討する必要がある。Table 1. は培養時間の経過に伴う心臓搏動数であり、これより正常代謝の限界は決めるのが 7 時間では当初の半数以下に減じたので一応 5 時間迄の結果について考察した。

イケテフガイの Ca 吸収は Fig. 1 (a, b) に示す如く相当量の Ca^{45} を無機 Ca の形で各器官により直接水界より吸収されることが推定される。各器官の吸収能は無水物単位重量で比較すると鰓が最大の吸収能を有し、次いで外套膜、特にその周縁が強力に消化管は中程度の吸収能を示した。5 時間後の吸収結果を比較すると鰓乾物単位重量の Ca^{45} 吸収量を 100 とすれば全外套膜 55 %, 消化管を含むその他器官 40 % 肝臓 24 % で残余器官は 20 % 以下に過ぎない。灰分単位重量による比較で鰓が少いのは鰓の灰分含有量が極めて多いためである。

* 対照実験として死貝殻を培養液に浸した後同様条件下に水洗して Ca^{45} 汚染の有無を検した。

Fig. 1 (a, b) Rate of the accumulation of Ca^{45} in each organ of *Hyriopsis schlegelii* (v. (MARTENS)) immersed in radioactive pond water. (1) Gill, (2) Mantle edge, (3) Mantle, (4) Digestive and other organs, (5) Adductor muscle, (6) Liver, (7) Gonad, (8) Foot

Fig. 2 (a, b) Rate of the disappearance of Ca^{45} from each organ of *Hyriopsis schlegelii* (v. MARTENS) immersed in nonradioactive pond water. (1) Gill, (2) Digestive and other organs, (3) Mantle edge, (4) Mantle, (5) Liver, (6) Gonad, (7) Adductor muscle, (8) Foot.

乾物及び灰分単位重量に対する Ca^{45} 排出量は Fig. 2 (a, b) に示した。鰓は吸収の場合とは逆に排出量は極めて僅少であるが、外套膜、特にその周縁は最大の排出量を示した。14 時間排出後の各器官の排出量を比較するに外套膜周縁の乾物単位重量に対する Ca^{45} 排出量を 100 とすれば外套膜 64 %, 肝臓と消化管等は共に 25 %, その他器官は 20 % 以下である。尚 half-time⁶⁾ を比較するに排出 2 時間後に各器官に残った Ca^{45} 含量に対しその半量になるに要する時間は外套膜周縁は約 4, 外套膜約 5, 足と閉殻筋は約 6, 肝臓約 7, 消化管約 15, 生殖巣約 16 時間に対し鰓は約 52 時間を要した。鰓は吸収能が強力なるにかゝらず排出能が微弱なことを考えると Ca の吸収及び貯蔵器官ではないかと想像される。

次に各器官の単位重量に対する Ca^{45} 代謝量に夫々の器官の全重量を乗ずれば各器官全体の Ca^{45} 代謝量が算出され、Fig. 3, 4 が得られる。吸収 5 時間後の各器官全体の Ca^{45} 吸収量を 100 とすれば鰓は 31 %, 外套膜全体で 41 %, 消化管等は 12 % 吸収し、その他器官の合計量は 16 % に過ぎず鰓と外套膜は主要な Ca^{45} 吸収器官であることが推定される。同様に 14 時間後の全排出量に対し外套膜全体は 65 % 近くを排出し主要な Ca^{45} 排出器官と推定される。以上の Ca^{45} 吸収及び排出量の測定結果は貝体と水界間の吸収及び排出と共に、貝体内各器官の移動量の合計量と見られるので、 Ca^{45} の代謝測定量は直ちに Ca

Fig. 3 Percentage of Ca^{45} accumulated in each organ.
(Time for accumulation.....5 hr.)

Fig. 4 Percentage of Ca^{45} disappeared from each organ.
(Time for disappearance12 hr.)

CO_2 の分泌量を表すものとは決定出来ないが、カキの mantle-shell preparation⁷⁾ を使った実験では外套膜より排出された Ca^{45} は略全量が貝殻に沈着するとの報告⁵⁾ もあるので外套膜周縁が最強の Ca^{45} 排出力を持ったことより同器官が CaCO_3 の主要分泌器官であることが推測される。また、この推測は真珠養殖において真珠袋形成のために移植する細胞に外套膜周縁を利用している事実とも一致する。各器官に吸収された

Fig. 5 Rate of Ca^{45} deposition on the inner surface of shell.
(Back ground..... 16.8 ± 0.5 counts/min.)

Ca^{45} の一部は $\text{Ca}^{45}\text{CO}_3$ として貝殻に沈着されるが培養時間 5, 30 分, 1, 2, 5 及び 7 時間に於ける貝殻内面
○ 上の沈着 Ca^{45} の測定結果を Fig. 5 に示した。測定時の back ground は 16.8 ± 0.8 counts/min. で 17.6 counts/min. 以上を有意とすれば培養液中の Ca^{45} は吸収後約 2 時間で貝殻に沈着しはじめることになる。吸収 7 時間まで増加が見られたがその後も引き続き増加するものと想像される。

イケテフガイの実験結果を JODREY⁵⁾ のカキの結果と比較するに多少実験条件は異なるが、カキの mantle-shell preparation における外套膜周縁の Ca^{45} 吸収は約 30 分で大部分が吸収され 3~4 時間で略最高値に達し平衡を保つが、イケテフガイは 7 時間でも尙吸収値は最高に達しなかつた。又カキの外套膜周縁の Ca^{45} 排出を見るに half-time は 16.5 分で、約 90% 排出には 1 時間 30 分を

要するがイケテフガイの外套膜周縁では half-time は約 4 時間で、90% 排出に 40~60 時間を要した。更に Ca^{45} を吸収してから貝殻に沈着しはじめるまでに要する時間はカキの約 1 時間に比しイケテフガイは約 2 時間である。これらの結果よりイケテフガイの Ca 代謝はカキに比して相当緩慢であろうと推定される。

本実験の如く自然的条件とは相当に異なる環境水中で得られた Ca^{45} 代謝の結果より天然条件下の Ca 代謝を推測するには慎重を要するが各器官間の Ca 代謝の比較には或程度意味があると思われる。

IV 摘 要

真珠母貝の貝殻及び真珠の代謝機構を解明する目的で Ca^{45} を追跡子として用いイケテフガイの Ca^{45} 吸収量と排出量を測定し次の結果を得た。

- 1) イケテフガイの Ca^{45} 吸収は鰓と外套膜が最も活発で吸収 5 時間では全吸収量の 72% が両器官によ

り吸収された。

2) イケテフガイの Ca^{45} 排出は外套膜が最も活潑で排出 12 時間では全排出量の 65% を排出した。

3) イケテフガイの鰓は Ca^{45} 吸収が活潑で排出が最も不活潑なことより Ca の吸収及び貯蔵器官ではないかと推測される。

4) イケテフガイの外套膜, 特にその周縁は Ca^{45} の吸収並に排出が活潑なことより貝殻物質の主要な分泌器官と推定される。

5) イケテフガイの Ca 代謝はカキに比べて不活潑らしい。

本研究の一部は文部省自然科学研究助成補助金により行われた。尙試料員を提供された滋賀県水産試験場, イケテフガイ解剖に御助言を賜わった本学椎野季雄教授に深謝の意を表する。

文 献

- 1) 三重県水産試験場時報, 169, 18—29 (1952)
- 2) 松井佳一, 内田洋一, 田中正三等 :
1951 年 10 月 11 日 日本動物学会 (広島市) 発表
1953 年 11 月 6 日 日本水産学会 (津市) 「養殖真珠シンポジウム」講演
- 3) 辻井禎, 吉井義一, 岡田彌一郎, 井上義雄, 宮村光武 :
1953 年 11 月 6 日 日本水産学会 (津市) 発表
- 4) K. M. WILBUR, and L. H. JODREY : *Biol. Bull.*, **103**, 269-273 (1952).
- 5) L. H. JODREY : *Biol. Bull.*, **104**, 389-407 (1953).
- 6) J. SACKS : "Isotopic Tracers in Biochemistry and physiology", p. 80 (1953).
McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.
- 7) A. HIRATA : *Biol. Bull.*, **104**, 394-397 (1953).