水産動物のキチン分解酵素に関する研究—Ⅲ.

二、三の水産動物の消化系におけるキチナーゼの分布

奥谷 康一・木俣 正夫

(1964 年 3 月 12 日受理)

STUDIES ON CHITINOLYTIC ENZYME PRESENT IN
AQUATIC ANIMALS—III.DISTRIBUTION OF CHITINASE IN DIGESTIVE ORGANS OF
A FEW KINDS OF AQUATIC ANIMALS

Koichi OKUTANI and Masao KIMATA*

In the previous paper^{1), 2)} it was reported by the present authors that chitinase was present in the stomach and the liver of Japanese sea-bass, *Lateolabrax japonicus* and was suggested that the enzyme was not originated from bacteria but it was inherent in the fish itself.

The present study was carried out in order to ascertain whether chitinase was present or not, in digestive organs of a few kinds of aquatic animals.

After crushing, the tissue was used, as it was, as the enzyme preparation. Enzyme activity was estimated by the method as described before²⁾.

Results obtained are as follows:

1) Chitinase activity has been found in the stomachs, the livers and the spleens of all fish tested, while, with the cephalopoda tested, it was found in the stomach, the liver and the buccal mass (Table 1).

2) A considerably large amount of chitin-decomposing bacteria (1.7×10^4 cells per gram of gastric contents) was found in the gastric contents of Japanese sea-bass (Table 2).

著者らはさきにスズキの胃および肝臓にキチン分解酵素が存在することを認め、その粗酵素について二、三の性質を調べて報告した^{1) 2)}。著者らはその後、キチン含有物質を特に多量に摂取することが知られている数種の水産動物についてその消化系にキチナーゼが存在するか否かを確かめたので報告する。

実験材料および方法

供試動物: 1月に若狭湾で漁獲され、京都府漁連(舞鶴市)に揚げられた極めて新鮮な次に示す種類である。

- スズキ (*Lateolabrax japonicus* (CUVIER)).
- ハマチ (*Seriola quinqueradiata* TEMMINK et SCHLEGEL).
- アカガレイ (*Hippoglossoides dubius* (SCHMIDT)).
- ナガヅカ (*Stichaeus grigorjewi* HERZENSTEIN).
- マダラ (*Gadus macrocephalus* TILESII).
- ホシザメ (*Mustelus manazo* BLEEKER).
- ミズダコ (*Polypus döbleini* WULKER).
- スルメイカ (*Ommastrephes sloani pacificus* STEENSTRUP).

* 京都大学農学部水産学科 (Dept. of Fish., Fac. of Agr., Univ. of Kyoto, Maizuru, Japan).

いずれも氷冷して実験室に持ち帰り、ただちに開腹して各臓器を採取し、それぞれ実験に供するまでそのまま凍結して保存した。しかし胃は内容物を除いた後よく水洗して凍結保存した。

酵素標品の調製: 凍結臓器 0.5 g を凍結状態のまま細碎し、そのまま酵素標品とした。

基質の調製: 前報¹⁾と同様の方法で再沈澱キチン (P. Ch) を調製した。

酵素作用の測定: McIlvaine 緩衝液 2.0 ml (pH 5.0), 基質 (P. Ch) 懸濁液 2.0 ml およびトルエン 0.2 ml から成る混液に酵素標品 0.5 g を加え 25°C で 6 時間反応させた後沸騰水中で 10 分加熱して反応を止め、酵素作用によつて生成された N-アセチルアミノ糖およびキトビオースを測定した。N-アセチルアミノ糖およびキトビオースの測定は、前報²⁾にのべたごとくである。

細菌数の測定: スズキ胃内に存在する全細菌数およびキチン分解細菌数を測定した。胃内容物 3 g をできるだけ無菌的に採り、30 ml の滅菌ペプトン水 (2.5 % 食塩加) を加え、ブレンダーで軽くホモジェナイズし、これを常法にしたがつて順次 10 倍ずつ希釈を行ない、胃内容物 10^{-2} , 10^{-3} , ..., 10^{-7} g に相当する一定量 (0.1 ml) をペプトン 0.5 %, 酵母エキス 0.1 %, 食塩 2.5 % および再沈澱キチン 0.5 % を

含む液体培地 (pH 7) 試験管に接種し、25°C で 14 日間培養した。この際同一希釈度の試料についてそれぞれ 5 本ずつ行なつた。細菌の発育は濁濁の有無から、またキチン分解細菌の発育は N-アセチルアミノ糖およびキトビオースの測定²⁾により、キチン分解作用の有無から判定し、全細菌数およびキチン分解細菌数をそれぞれ各希釈度における陽性試験管の数から、一般に大腸菌の計数に用いられている方法に準じて胃内容物 1 g 中の最確数であらわした。また、同時に上記液体培地組織に寒天 2.5 % を加えた寒天平板培地に各希釈度に相当する一定量 (0.1 ml) をのせ、滅菌ガラス棒で平板上に広げ、上と同一条件で培養を行ない、発育したコロニーおよびキチンを分解することにより生ずる透明帯を観察することにより細菌数を測定した。

実験結果

Table 1 に示すように、キチナーゼはハマチの胆のうおよび脾臓ならびにホンザメの脾臓を除き試験した動物のすべての内臓諸器官に存在する。

Table 2. The bacterial population in the gastric contents of Japanese sea-bass (Dilution method).

Total bacteria (cells/g gastric contents)	Chitin-decomposing bacteria/g gastric contents
1.7×10^5	1.7×10^4

スズキの胃内に存在する全細菌数とキチン分解細菌数とを調べた結果を Table 2 に示す。キチン分解細菌数は、全細菌数の 10 % であり、このときの胃内容物は主としてカタクタイワシであつた。ま

Table 1. The distribution of chitinase in digestive organs of a few kinds of animals.

Species	Organs	Chitinase
Lateolabrax japonicus (CUVIER).	Stomach Liver Gall bladder Spleen	+++ ++ + ++
Seriola Quinqueradiata TEMINK et SCHLEGEL.	Stomach Liver Gall bladder Spleen Pancreas	+++ + - + --
Hippoglossoides dubius SCHMIDT.	Stomach Liver Gall bladder Spleen	++ + ++ +
Stichaeus grigorjewi HERZENSTEIN.	Stomach Liver Gall bladder Spleen	+++ + + +
Gadus macrocephalus TILESUS.	Stomach Liver Gall bladder Spleen	+++ ++ ++ ++
Mustelus manazo BLEEKER.	Stomach Liver Spleen Pancreas	++ ++ ++ -
Ommastrephes sloani pacificus STEENSTRUP.	Stomach Liver Buccal mass	+++ ++ ++
Polypus dofleini WULKER.	Stomach Liver Buccal mass	+++ +++ ++

+ : Slight activity. ++ : Considerable activity.
+++ : High activity. - : No activity.

た、寒天平板培地を用いた場合および食塩 2.5 % を添加した培養基の代りに海水を用いた培養基を用いた場合も、細菌の出現率には変化がなかった。

考 察

酵素の基質として実験に便利な再沈澱キチンを用いたが、これは酵素作用を受け易いと考えられるので、別にキチン片をそのまま用いて確かめた。その結果、再沈澱キチンを分解するものはいずれもキチン片を分解し得たが、反応は前者を用いた場合よりも緩慢なことが認められた。

キチナーゼが動物の消化系特に胃に分泌されるということについては、近年まではほとんど考えられていなかった。ところが 1951 年に TRACEY³⁾ によつてこれがミミズに見出されて以来、多くの無脊椎動物にも広く分布していることが明らかにされた。そして最近 JEUNIAUX は、多くの動物について研究し、消化系にキチン分解酵素を有する動物はキチン含有物質を主餌料として摂取するものであると報告し、かつ二、三の脊椎動物の消化系にもキチナーゼが存在することを確かめている⁴⁾⁵⁾。著者らの研究によつてもまた Table 1 に示すように、キチン含有物質を主な飼料として摂取すると考えられている水産動物に、キチナーゼが存在することは明らかである。

イカおよびタコがその消化管内でキチンを分解する事実は以前から認められていたが、これは主として消化管内に存在する細菌の作用によるものと考えられていた。しかし最近 SEKI らは⁶⁾、頭足類の消化管では細菌によるキチン分解量は、その動物が摂取したキチン量に比して微々たるものであると報告している。したがつてこのことと著者らが明らかにした事実とから、水産動物が摂取したキチンは、動物自身の分泌する酵素によつて主として分解を受けるのではないかと考えられる。

スズキの胃内容物中に存在したキチン分解細菌数および全細菌数を SEKI ら⁶⁾ が頭足類について研究し胃で得られた結果と比較すれば、前者はほぼ同数、後者は約 10 倍であり、腸で得られた結果と比較すれば、前者は 1/10、後者は 1/100 である。

キチン分解細菌が、胃の低 pH 値¹⁾ の条件下でどのような生活作用あるいは生化学作用を行なっているか。これらを明らかにすることは、キチンの消化と関連し興味ある問題である。

摘 要

数種の水産動物の消化系におけるキチン分解酵素の分布について追求し、次のことを明らかにした。

- 1) キチナーゼは、試験したすべての魚種の胃壁、肝臓および脾臓、ならびに頭足類の胃壁、肝臓および口球に存在する。
- 2) スズキの胃内容物中には、かなり多数のキチン分解細菌 (1.7×10^4 個/g) が存在する。

文 献

- 1) 奥谷康一・木俣正夫：本誌，**30**，262 (1964)。
- 2) 奥谷康一・木俣正夫：本誌，**30**，490 (1964)。
- 3) TRACEY, M. V.: *Nature*, **165**, 776 (1951)。
- 4) JEUNIAUX, C.: *Nature*, **192**, 135 (1961)。
- 5) JEUNIAUX, C.: *Ann. Soc. Soc. Roy. Zool. Belgique*, **92**, 27 (1961)。
- 6) SEKI, H. and N. TAGA: *Jour. Oceanogr. Soc. Japan*, **19**, 159 (1963)。