貝殻の加熱処理によるアミノ酸組成の変化

秋山 雅彦*

I はじめに

貝化石のなかに、化学化石として各種のアミノ酸が結合または遊離の形で含まれていることは、よく知られている事実である。それらのうち塩酸不溶性のフラクションを加水分解して得られたアミノ酸の組成は、現生の同一種の貝殻に含有されるコンキオリンタンパク質のアミノ酸組成と類似していることが予想されるが、事実は化石貝殻中ではアスパラギン酸・セリンの含有率が著しく低く、先の予想と反していることが指摘されている(秋山, 1971)。この事実はホタテガイ(Akiyama, 1971)やイタボガキ(Matter et al., 1969)の化石で明らかにされている。

コンキオリンタンパク質は、真珠層で少なくとも3種の相互に異なった分子から構成されている、といわれている(Grégoire et al., 1955; 波多野, 1959)。ホタテガイのように葉状構造からなる貝殻中のタンパク質も2種以上の分子から構成されていて、それらの続成作用における安定性に差異があるとすれば、化石のコンキオリンは選択的に分解を受けて、より安定なタンパク質のアミノ酸組成に近づいていくものと考えられる。

この小論では、以上のような予測を確かめるため、ホタテガイの貝殻を加熱処理することによって、コンキオリンタンパク質の分解実験を行なった。その結果、ほぼ予測を裏づける結果を得ることができたので、ここに報告し、ご批判を仰ぎたいと考える。

II 分析試料と実験方法

分析試料は北海道の噴火湾で採集したホタテガイ(*Patinopecten yessoensis*(JAY))の死貝である。殻高5cm前後の右殻4個を歯科用エンジンを使って完全に殻皮の除去を行ない、ブラシ

でよく洗浄した後、乾燥させて粉末試料とした。ホタテガイの貝殻は、主として葉状構造をしたカルサイトからなるが、筋痕部は光輝層のアラゴナイトから構成されている。しかし、後者は量的には問題にならないほど少量であるため、とくに葉状構造から分離することをしないで試料を作成した。

粉末試料1.0gを試験管にとり、試験管内の空気を窒素ガスで完全に置換してからその口を封じ、加水分解炉を $138 \pm 3^\circ\text{C}$ に保ち、25, 50, 76, 118の各時間加熱処理を施した。比較のため、加熱処理を行なわない試料も分析に加えた。

加熱処理の終わった上記試料はそれぞれのピーパーに移し、2N塩酸20mlを加え、マグネティック・スターラーで攪拌しながら脱灰を行なった。脱灰終了後、8000rpmで遠心分離し、沈殿はIフラクションとして加水分解に十分な量の6N塩酸と少量のフェノールを加え、窒素ガス下で 108°C 、22時間加水分解を行なった。得られた加水分解物はロータリーエバポレーターで塩酸を除去し、1/100N塩酸で適当な濃度にして分析に供した。次に、溶液はロータリーエバポレーターで乾燥後、Iフラクションと同様な方法で処理し、Sフラクションとした。

このようにして作成した分析試料は、日本電子製アミノ酸分析機(JLC-6AH)で分析した。分析の条件は、2mmの検出器セルを使用した外は、すでに報告したものと全く同一であるのでここでは省略する(秋山・水島, 1975)。ただし、この分析法では、緩衝液の切り換えがメチオニンとアロイソロイシンの溶出位置と重なって、それら2種のアミノ酸の定量が思わしくない。さらに、それらの含有量は他のアミノ酸に比べて微量であるため、メチオニン・アロイソロイシン・イソロイシンに限って次の条件で再度分析した。

ロングカラム; 8φ×500mm JEOL レジン

* 北海道大学理学部地質学鉱物学教室

Table 1. Amino acid compositions of insoluble and soluble fractions in the heated scallop shells (residues/1000 residues)

Time of Heating(hours)	0		25		50		76		118	
	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S
Lys	27		32		38		37		44	29
His	3		6		6		5		8	
Arg	20	7	48	11	55	12	43	13	48	10
Asp	263	263	152	348	145	345	160	354	157	339
Thr	20	25	61	12	54	11	52	11	50	11
Ser	224	204	89	112	80	97	77	85	81	50
Glu	54	86	92	61	91	62	90	66	84	66
Pro	27	29	62	24	56	26	54	26	56	26
Gly	250	293	227	319	205	324	210	320	225	324
Ala	47	64	73	74	74	80	73	79	77	98
Cys/2	+									
Val	13	10	46	6	50	7	46	8	44	7
Met	5	+		2	27	2	19	2	15	2
Allo-ile	0	0	0	+	0	+	0	+	0	1
Ile	9	5	28	3	30	2	35	4	25	4
Leu	22	15	40	17	42	17	52	22	39	23
Tyr	10	+	15	7	21	7	24	7	23	6
Phe	7	+	29	3	27	3	23	4	25	3
Total($\mu\text{M/g}$)	25.04	2.40	1.81	22.90	2.19	23.53	3.16	24.04	2.26	19.20

LCR-2

カラム温度; 52°C

クエン酸緩衝液; pH 4.25, Na⁺ 濃度 0.2 N

サンプリングポンプ流量; 0.42 ml/min

ニンヒドリンポンプ流量; 0.21 ml/min

検出器セル; 10mm

III 結果と考察

第1表に分析結果をアミノ酸1000残基中の残基数で、総量は貝殻1.0g中に含まれるアミノ酸の μM で示した。スレオニンとセリンは、加水分解中の損失を考慮して、補正係数として1.05と1.03の値を使った。IおよびSフラクションの処理方法はすでに述べているが、Iフラクションは不溶性のコンキオリンタンパク質構成アミノ酸であり、Sフラクションはタンパク質・ペプチッド・遊離アミノ酸などの可溶性の部分構成アミノ酸である。

第1表を検討すると、貝殻に加熱処理を施すこ

とによって、不溶性コンキオリンは25時間以内に可溶化し、その後は量的にもアミノ酸組成の上からもほとんど変化しない。さらに、次の3点を指摘することができる。

1) 加熱処理をしないホタテガイの貝殻では、IフラクションとSフラクションの間に有意の差は存在しない。

2) 加熱処理によってIフラクションの量は著しく減少するとともに、アミノ酸組成も異なってくる。とくに、アスパラギン酸・セリンの含有率の減少とバリン・イソロイシン・フェニルアラニンなどの増加が顕著である。加熱処理後のIフラクションのアミノ酸組成は、化石ホタテガイのそれ(Akiyama, 1971)と著しく類似していることが指摘できる。

3) Sフラクションでは、加熱時間の長さとは無関係に、Iフラクションに比較して、アスパラギン酸の含有率が高く、バリン・イソロイシン・フェニルアラニンの含有率が低い値を示している。し

かし、セリンだけは、加熱時間の増加とともに含有率が小さくなり、分解の起っていることが示唆されている。セリン・スレオニン是不安定なアミノ酸であり、すでに Vallentyne(1964)によって、加熱処理でグリシンやアラニンに変化することが示されている。

以上のような考察を通して、次のような分解過程を推論することができる。加熱処理によって、Iフラクションは可溶化し、アスパラギン酸の含有率の高いタンパク質フラクションが選択的にSフラクションに移行する。ただし、セリンについては、I、Sフラクションとともに含有率が低くなっているため、側鎖の切断による分解が生じていると予想されるが、その分解がI・S両フラクションで同時におこっているのか、それとも可溶化したSフラクションにセリン含有量が多く、その後分解が生じたのか、この実験から結論を導くことはできない。

いずれにしても、ホタテガイ化石に認められるIフラクションのアミノ酸組成の特徴は、加熱処理実験によって生成されたIフラクションのそれに類似しており、この種の実験によって化石コンキオリンの分解過程をシミュレートすることができるものと、結論できよう。

今後、Sフラクションの分子量分布やそれらの組成上の特徴などについて検討を加える予定である。

引用文献

Akiyama, M.(1971): The amino acid composition of fossil scallop shell proteins and non-proteins. *Bio-mineralisation*, 163, 65-70.

秋山雅彦(1971): 古生化学の研究とその課題。

地質雑, 77巻, 9号, 563-573.

秋山雅彦 水島徳太郎(1975): 死貝の殻におけるアミノ酸の保存. 化石研究会誌, 1610, 1-5.

Grégoire Ch. et al.(1955): La trame Protidique des nacrés et des perles. *Amm. Inst. Océanogr.* Vol. 31, 1-36.

波多野博行(1959): コンキオリンについて. 蛋核酵, 4巻, 44-48.

Matter, P. et al.(1969): The composition of fossil oyster shell proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 64, 970-972.

Vallentyne, J.R.(1964): Biogeochemistry of organic matter II-Termal reaction kinetics and transformation products of amino compounds. *Geochem. Cosmochim. Acta*, Vol. 28, 157-188.

(1976年6月30日受理)

Amino Acid Compositions in Heated Scallop Shells

Masahiko AKIYAMA

(abstract)

Amino acids of the insoluble(I) and soluble(S) fractions in the heated scallop shells under nitrogen atmosphere at $138 \pm 3^\circ\text{C}$ were analysed by an automatic amino acid analyser JLC-6AH. The insoluble fraction of the heated shells are different from that of the unheated, but closely resemble to that of the fossil scallop shells in amino acid composition.

(書評)

川本信之・福田芳生著(1969): 魚類組織図説。硬骨魚類編。151p., 2700円, 石崎書店。

本書は、硬骨魚類に関する組織解剖図集で、皮膚・血液ならびに脈管系・呼吸器系・鰓・消化器系・泌尿器系ならびに滲透圧調節器・内分泌器・生殖器系・運動器系・神経組織ならびに感覚器・発電器・発光器・吸着装置・刺毒器に分けて、114枚の凸版図版に298図を掲載している。

巻末の索引によって、組織・解剖についての便

利な用語解説集ともなっている。また、最後に上述の各系統ごと分類した295篇の参考文献が付けられている。(大森昌衛)

希望者は、下記あてに、定価の8掛+送料(240円)をそえて、申しこまれば求められる。

〒284 千葉県印旛郡四街道町1585

福田古生物学研究所 福田芳生