

ダルマガエル 2 倍体及び 3 倍体の肝臓及び 筋肉に於ける遊離Amino酸について (第 1 報)

杉 田 隆 三

R. Sugita : The free-amino acids in the liver and muscle of diploid and triploid, *Rana nigromaculata brevipoda*.

カエルの 2 倍体と 3 倍体とを比較した場合 3 倍体は体細胞及びその核が大きく、温度薬品に対する抵抗力が大であるが発育速度及び変態後の外部形態には殆んど差を認めることは出来ない。

そこで今回は物質代謝に於て何等かの差が認められるか否かを確かめようとし、先ず肝臓及び筋肉内の遊離 Amino 酸に着目し Paper chromatography を用いて定性的比較実験を行った。

この研究をなすにあたり、あたたかい御援助と論文の校閲を賜わつた神戸大学の恩師佐藤教授、懇篤なる御助言をいただいた麓助教授並びに熱心に実際指導を下さつた釜江講師に対し深甚の感謝の意を表します。

実験材料と方法

材料： この研究に用いた 3 倍体は 1958 年 5 月人工授精を行つた卵を 40°C で 15 分間高温処理して得たものを変態後はヨコバイ類を主とする野外小昆虫を餌として与え 10 月上旬まで実験室で飼育した 15 個体であり、この頃には各個体は平均して体重は約 2.2g 程度に発育していた。

2 倍体は同じ頃野外より採集した本年産のものうち 3 倍体と同程度発育したものをを用いた。

試料： 材料が小さいので 2 個体ずつ肝臓及び大腿部の筋肉を摘出し、各々 0.3g ずつとり (1 個体の全肝臓重量は約 0.15g である) 小磁製乳鉢でよくすりつぶし 10 倍量の 75% Alcohol を加え、短管瓶にうつし約 3 分間湯せん鍋上で

煮沸、蛋白質を凝固させる。これを第一図の如き、ろ過装置で吸引ろ過し、ろ液を再び小短管瓶にとり湯せん鍋上で約 0.05cc まで濃縮し試料とした。

ろ紙： 30cm × 30cm の東洋ろ紙 No. 50 を用いた。

溶媒： 二次元法の一次展開には Phenol (0.1% Ammonia 水 20% を含む) を、二次展開には n-Butanol : Acetic acid : Water = 4:1:1 を用いた。

容器： 高さ 40cm 直径 10cm の標本用瓶を用い、ろ紙をステンレス製渦巻で固定、或は輪にまいて Clip でとめて挿入した。

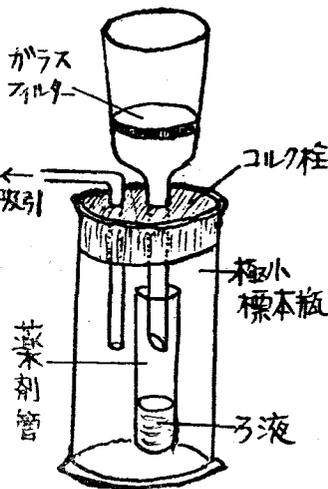
展開： 上述の試料を直径 0.5mm 程度のガラス Capillary を用い、ろ紙上の相接する二辺の内側夫々 5cm に鉛筆で線を描き、その交点を本試料をつける Original spot とし滴下した。Spot は直径 2mm 以下となるように注意した。溶媒は展開開始の 2 時間程前に入れて、器内がその Gass で充満されるように巾掛けた。展開時間は Phenol 系では約 26 時間、Butanol 系では約 14 時間を要した。

検出： 展開を終了した、ろ紙は直ちに液の浸透前線線 mark し、室内で風乾後 0.2% Ninhydrine Butanol 液を十分に噴霧、風乾後 100°C の電気乾燥器中に 10 分間入れて発色後検出した。なお Amino 酸の種類決定にあつては、味の素株式会社川崎工場研究部製造の純 Amino 酸 18 種類を同一条件のもとで展開して Standard map をつくり、その Rf の外、すでに発表されている研究の Map をも参考とした。

実験結果

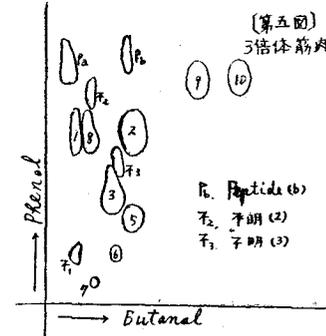
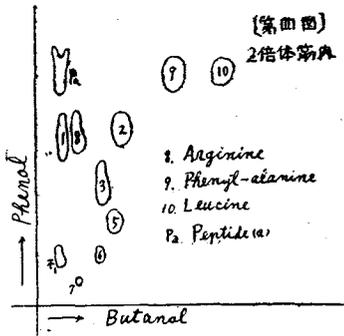
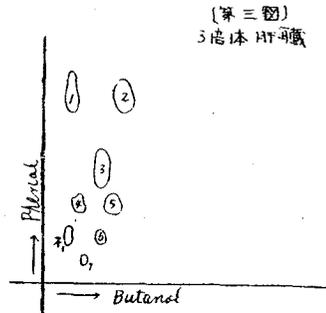
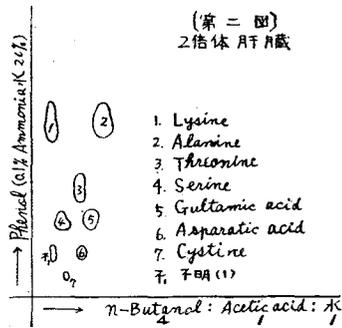
肝臓については 2 倍体 3 倍体ともに第二図・第三図に示す 8 種の Spot 即ち Cystine, Asparatic acid, Glutamic acid, Serine, Threonine, Alanine, Lysine 及び不明の Spot 一つを検出し得て何等の差をみとめることは出来なかつた。

筋肉に於ては 2 倍体では第四図に示す 11 種の Spot 即ち Cystine, Asparatic acid, Gultamic acid, Threonine, Arginine, Alanine, Lysine, Phenyl-alanine, Leucine 及び不明の Spot 一つ、Peptide と思われるもの (乾燥器よりとり出し更に加熱するとあらわれた青色の Spot) を検出し得たのに対し、3 倍体では 2 倍体にて検出された Spot のうゑに Peptide と思



〔実験に使用した
ろ過装置〕

(第 1 図)



われるものと不明の Spot 二個を加えた14種が認められた。(第五回)、尚それぞれの肝臓と筋肉とを比較して見ると2倍体3倍体ともに筋肉では肝臓に認められたSerineがなく、Arginine, Leucine, Phenyl-alanine 及び Peptide と思われるものが認められ顕著な相違がみられた。

次に本実験は定性を主眼として行つたものであるが試料調製当初より出来るだけ条件を等しくして比較したため或程度の定量的比較も可能ではないかと考え、Spot の発色の濃淡、面積の大小を勘案の上、表をつくつた。

考察

ダルマガエルの2倍体と3倍体における生理的差異のあることは、従来より知られている。

この差異のおこる原因はおそら

くいろいろあつて単純なものではなからうということは容易に推測されるが、この生理的差異は物質代謝の差異にあると考えられる。代謝を考えるには、まず物質の存在形態より明かにすることが必要である。そこでまずはじめに肝臓と筋におけるAmino酸等の存在形態はどのようなものかということに着目して実験したところ、上述のような結果を得た。

これによれば肝臓においては2倍体3倍体ともに何等の差異は認められないが筋においては二点において差異が認められる。すなわち、Peptide と思われるもの一つ、不明のもの二つが3倍体において認められる。

2倍体と3倍体との生理的差異のおこる原因についてはAmino酸以外の物質についても広く検出して比較検討しなければならぬから、本実験による二点の差からだに生理的差異と関係があるとは速断することはむろん不可能である。而し筋に物質的の差異があることはたしかめられた。今回の実験は個体数も少なく、また小さい個体を用いたが今後は個体数も多く、また大きな個体について実験を繰返すとともに

Amino 酸	2 倍 体		3 倍 体	
	肝 臓	筋 肉	肝 臓	筋 肉
Cystine	+	+	+	+
Aspartic acid	++	++	++	++
Glutamic acid	+++	+++	+++	+++
Threonine	+++	+++	+++	+++
Alanine	++	++	++	++
Lysine	++	++	++	++
Serine	++	—	++	—
Arginine	—	++	—	++
Phenyl-alanine	—	+	—	+
Leucine	—	+	—	+
不明 (3)	—	—	—	+
Peptide (a)	—	+++	—	+++
Peptide (b)	—	—	—	+
不明 (1)	++	++	++	++
不明 (2)	—	—	—	+

+++ 特に多量
++ 多量
+ 確実に判別可能
+ 存在確実なるも色うすく判別難
— 存在しない

Amino 酸以外の物質について順次実験を続行していく必要がある。

要 約

1. ダルマガエルの2倍体と3倍体の肝臓及び筋肉内の遊離Amino酸を Paper chromatography により分析比較してみた。
2. 展開は二次元法を用いPhenol系を一次にButanol系を二次に使用した。
3. 0.2% Ninhydrine Butanol 液にて発色、Rf の Standard としては純粋 Amino 酸18種を同時に展開させて決定した。
4. 肝臓中の遊離 Amino酸についてはともに8種みとめられたが2倍体と3倍体における差は認められなかった。
5. 筋肉では2倍体は11種、3倍体は14種の Spot が検出され、その差を認めることが出来た。
6. このことは2倍体と3倍体では筋肉内の Amino 酸代謝に差がある様に思われる。

参 考 文 献

- 佐竹 一夫 著：クロマトグラフィー (共立全書)
桑田 智 著：クロマトグラフィー (広川書店)
日本化学会 編：実験化学講座23生物化学(1)

備 考

1. 3倍体のつくり方、オタマジヤクシの飼育法については Vol.3 No.3 P. 142を参照されたい。
2. ダルマガエルは亜種であり、一般にトノサマガエルと呼ばれているものの中に2種類ある。「種」でよべばこの2種は共にトノサマガエルであるが亜種でよぶと真正トノサマガエルとダルマガエルとなる。

Rana nigromaculata (トノサマガエル)

Rana nigromaculata nigromaculata
(真正トノサマガエル)
Rana nigromaculata brevipoda
(ダルマガエル)

神戸、加古川、姫路、岡山地区にはダルマガエルが圧倒的に多い。

県下に於けるスギタニルリシジミの一新産地

吉 阪 道 雄・中 谷 貴 寿

1918年、京都の当時の三高の教授であつた杉谷岩彦氏に依り洛北貴船溪谷より発見されて *Celastrina su gitanii MATSUMURA* として発表を見た全国的に特異な分布を示す此のシジミチョウ科に属するチョウは従来、本県下では松井俊公氏に依つて1952年5月3日、宍粟郡の鳥取県境、戸倉峠(991m)に於て♂♀20教頭が採集されこれが唯一の産地であつた。筆者の一人、吉阪は恐らく他にも産地が有るものと考えその食草トチに関係の有る神崎郡長谷村栃原や美方郡水ノ山にトチの有る事からその希望を託して調査も行ったが今日迄、得られなかつた。ところが本年(1958)4月13日、ウスバシロチョウの幼虫採集の目的を以つて筆者等二名は飾磨郡雪彦山に赴いた処、偶然にも中谷に依つて先ず最初の本種1♂が得られ、二人で採集注意を払つた結果、可成りの本種の産する事を確めた。産地、標高としても重要な意義を持つもので、恐らく県

下に於ける最南部の産地と思われる。我々は多数の乱獲を避けたが往年の名産地、貴船がネットの波と化した大減した事を考えれば憂うべき事もあながち先んずるものではないと考えられるのである。狭義の意味でなく学術的に意義の有る産地として保護して行きたいのが我々の要望である。トチの花穂を喰す幼虫及びその生活史の探査も志して努力したが本年は失敗に終つた。来るべき年には県下でのその生活史の完成を期したい。

尚、成虫標本に就いて我々の所蔵する北海道産(ssp. *ainonica* MURAYAMA)本州(青森・新潟・長野・京都)、九州産(ssp. *kyushuensis* SHIROZU)と比較したが、そのタイプ・ローカリティーの京都貴船ものより可成り裏面は白化に近づき九州産に近似の傾向が(特に♀に於て)見られる事は興味深い。

(25. V. '58記)