

## 73.

612 .III .II : 612 .019 .54

## 甲 蟹 ノ 「ヘ モ チ ア ニ ン」 ニ 就 テ

岡山醫科大學生理學教室 (主任生沼教授)

中 富 和 夫

[昭和 11 年 5 月 19 日受稿]

*Aus dem Physiologischen Institut der Okayama Medizinischen Fakultät  
(Vorstand: Prof. Dr. S. Oinuma).*

## Respiratorische Funktion des Häemocyanins.

Von

Nakatomi-Kaduo.

Eingegangen am 19. Mai 1936.

Verfasser nahm Untersuchungen über die respiratorische Funktion des Limulusblutes, welches Häemocyanin enthält, vor und kam zu folgendem Resultat:

1) Die Sauerstoffkapazität des Limulusblutes ist durchschnittlich 16,9 %.

2) Vom Mittelwert der Sauerstoffkapazität des Limulusblutes berechnet, verbindet sich ein Atom Sauerstoff mit einem Atom Kupfer im Häemocyaninmoleküle. Jedoch schwankt der Kupfergehalt des Häemocyanins individuell ziemlich stark und je nach den verschiedenen

Jahreszeiten.

3) Die Dissoziationskurve des Häemocyanins ist der des hämoglobinhaltigen Blutes sehr ähnlich und zeigt sich S-förmig.

4) Das Bindungsvermögen des Häemocyanins für Sauerstoff wird durch Kohlensäure herabgesetzt.

5) Häemocyanin hat keine Affinität für Kohlenmonooxyd, und zwar wird von diesem das Bindungsvermögen des Häemocyanins für Sauerstoff nicht beeinflusst.

(Autoreferat)

## 目 次

第 1 章 緒 言

第 2 章 實驗材料

第 3 章 酸素含有量及び結合酸素量

第 4 章 「酸化ヘモチアニン」ノ解離曲線

第 5 章 銅ト酸素トノ結合比

第 6 章 「炭酸ガス」ノ「酸化ヘモチアニン」ニ及ボ  
ス影響

第 7 章 1 酸化炭素ニヨル影響

第 8 章 結 論

文 獻

## 第1章 緒言

無脊椎動物ノ多數ハ其ノ血液中ニ呼吸作用ニ與ル細胞ヲ持ツテ居ナイデ、銅ト蛋白質ニ屬スル色素トノ化合物デアル Hämocyanin トシテ血液中ニ溶ケテ居ル。Bert<sup>1)</sup>ハコノ Hämocyanin ハ Hämoglobin ノ如ク呼吸作用ニ重大ナル意義ヲ有スルモノデアルト稱ヘ以後 Dhéré<sup>2)</sup>, Winterstein<sup>3)</sup>, Stedman, E., and Stedman, E.<sup>4)</sup>等其ノ他多數ノ人々ガコレ等無脊椎動物血液ニ關シテ研究ヲ行ツテ居ル。コノ中甲蟹 (Limulus polyphemus) ノ血液ニ就テハ Alsberg and Clark<sup>5), 6), 7), 8)</sup>, Redfield, Coolidge and Hurd<sup>9)</sup>, Redfield, Coolidge and Shotts<sup>10)</sup>, Redfield, Coolidge and Montgomery<sup>11)</sup>等ノ詳細ナ報告ガアル。

日本産甲蟹 (Limulus longispina v. d. Hoven) ノ「血液ガス」ニ就テハ森部<sup>13)</sup>ガ研究サレテ居ル。私モ亦日本産甲蟹ノ血液殊ニ Hämocyanin ニ就テ少シ研究シテ得タトコロノモノヲ報告スルノデアル。

## 第2章 實驗材料

實驗ニ用ヒタ甲蟹ハ岡山縣兒島灣デ捕獲シタモノデ、コレヲ教室ノ水族館ニ飼養シテ必要ニ應ジ採血實驗ニ供シタ。甲蟹ハ7月8月ノ頃産卵ノタメ淺イ海ニ來ルノデアツテ、從ツテ容易ニ捕ヘルコトガ出來ルガ、冬ハ困難デアル。採血スルニハ甲蟹ノ背ニ小サイ孔ヲ穿テ、其ノ部分カラ心臟ヲ箸デ突キ刺シ流れ出ル血液ヲ廣口ノ容器ニ受ケ、次ニ其ノ箸デ血液ヲヨク攪拌スル、カクシテ暫時其ノママニ放置シテオクト凝塊ガ沈下シテ來ル。コレヲ清潔ナ「ガーゼ」デ濾過シ濾液ヲ實驗ニ使ツタ。以下ニ於テ云フ血液トハコノ濾液ヲ云フノデ

アル。甲蟹血液ハ主ニ白血球ト Hämocyanin トカラ成リ、其ノ凝固作用ハ Fibrinogen = 依ラズンテ白血球ノ凝集作用ニ依ルモノデアルト云フ。而モ普通使用セラレテ居ル凝固防止藥デハ其ノ凝固ヲ防グコトガ出來ナイト云ハレテ居ル。

第3章 O<sub>2</sub>含有量及ヒ結合酸素量

充分血液ト酸素トノ平衡ヲ得ルタメニ容器中デ血液ヲヨク攪拌シ、後其ノ 1.0cc ヲ採ツテ測定シタ。使用シタ分析器ハ、京都ノ柳本ニ於テ作ツタ ヴァンスライク氏測壓式「血液ガス分析装置」デアツテ、「炭酸ガス」ノ吸收ニハ一定規苛性曹達溶液ヲ用ヒ、酸素ノ分離吸收ニハ苛性加里ト水トノ比ガ 16:13 ノ溶液ニ焦性没食子酸ヲ 5% ニ溶カシ、各 2cc 宛使用シタ。コレ等ノ事ハ同器ノ説明書ニ記載シテアル。Redfield ハ KCN 液ヲ加ヘルト多量ノ酸素ヲ得タト云ツテ居ルガ、私ハカカル差異ヲ見出スコトガ出來ナカツタ。測定シタ時ノ溫度ハ室溫デアツテ 18°C 乃至 30°C ノ間デアツタ。其ノ成績ハ第1表ノ示スヤウデアル。

第 1 表

實驗日	番 號	性	酸素含有量容量 (%)	結合酸素容量 (%)
28/VII	1	♀	2.039	1.549
29/VII	2	♀	2.003	1.513
30/VII	3	♂	2.012	1.522
31/VII	4	♀	2.282	1.792
4/VIII	5	♂	2.562	2.072
5/VIII	6	♂	2.766	2.276
10/VIII	7	♀	2.790	2.300
17/VIII	8	♂	2.526	2.036
2/IX	9	♀	2.146	1.656
6/X	10	♂	2.012	1.522
10/X	11	♀	1.553	1.063
12/X	12	♀	1.543	1.053
14/X	13	♂	2.282	1.792

即チ酸素含有量ハ 1.54% カラ 2.79% ニ至ル間

ニ在ツテ、之ヲ赤色血液ニ比ベルト Hämocyanin ノ酸素ニ對スル結合カノ少ナイノヲ知ル。ソレ故ニ理學的ニ溶存スル酸素量ヲ知ルコトハ赤色血液ノ場合ヨリモ大切ナコトデアル。Redfield ハ 30cc ノ甲蟹血液ニ 10% KCN ヲ加ヘ Hämocyanin ト酸素ト結合スルコト能ハザルニ至ラシメタル後 21°C ニ於テ空氣中ニテ酸素ヲ飽和セシメ眞空中ニ出ヅル酸素量ヲ測リ 0.484% ノ酸素量ヲ得テ居ル。即チ吸收係數 0.0235 ニ相當シテ居ル。上表ノ溶解酸素量ハ抽出酸素量ヲ 0.49% トシテ算出シタモノデアル。Redfield ハカクノ如クシテ結合酸素量 1.66 Vol % ヲ得テ居ル。Alsberg, Clark ハ平均 0.5% ヲ得テ結論シテ云フニ、Hämocyanin ノ酸素ハ單ニ酸素壓ノ低下ニノミヨリテ呼吸ノ目的ニ利用シ得ルモノデナイト。森部氏ハ最大酸素包容量平均 2.17 Vol % ヲ得テ居ル。コレヲ私ノ實驗成績ト比ベルニ Alsberg and Clark ノ成績ノ外ハ略ボ一致シテ居ル。個々ノ甲蟹血液ノ酸素量ニ大キナ差ノアル原因トシテ Redfield, Alsberg, Clark 等ハ甲蟹ハ産卵ノタメ淺海ニ來テ居ル際ニ捕獲サレテ使用ノタメ飼育サレルノデコレヲ自然ノ状態ニ放ツテアルモノニ比ベルト飼養ノ時日ト共ニ酸素量ガ減少スルト云ツテ居ル。シカシ第 1 表デ明カナ様ニ寧ロ捕獲ノ時期ニヨルノデアラウト思ハレル。即チ 8 月頃ガ最多量ニ、7 月、9 月、10 月頃ハ少量ノ酸素ヲ含有シテ居ルコトニナツテ居ル。尙ホ産卵ヲ終レル雌ノ甲蟹血液ハ雄ノモノニ比ベテ大イニ血液ノ手指ニ感ジラレル粘稠度ガ低ク、酸素ニ觸レタ時ノ色調モ殆下半減シタカニ思ハレル位デアル。依ツテコレ等雌ノ血液ノ酸素量モ僅カデ第 1 表ノ 11, 12 例ノヤウデアル。

第 4 章 「酸化ヘモチアニン」ノ解離曲線

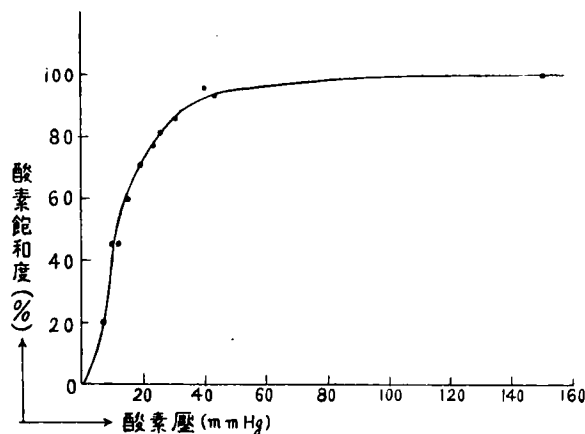
Begemann<sup>11)</sup> ハ「かたつむり」(Helix pomatia) ノ酸素解離曲線ヲ求メタノニ Krogh ノ所謂 ten-

sion of loading ハ酸素壓 160 mm Hg 以上デ tension of unloading ハ 50mm Hg デアルカラ一般ニ「ヘモグロビン血」ト「ヘモチアニン血」トノ間ニ酸素ノ新陳代謝生理上大差ガアルト云ツテ居ル。Redfield, Coolidge, Hurd ハコレニ反シテ甲蟹血液ノ酸素解離曲線ヲ求メテ、「ヘモグロビン」ト同様ナ S 字狀ノ曲線ヲ得テ居ル。私モ次ノヤウニシテ曲線ヲ求メテ同様 S 字狀ニ近イ曲線ヲ得タ。即チ種々異ナツタ酸素壓ヲ得ルタメ大體豫定量ノ酸素ト水素トヲ内容 350cc ノ「トノメーター」ニ充タシ、コレニ 2cc 乃至 5cc ノ血液ヲ入レ、定溫器中ニ 20 分間廻轉シ酸素ト Hämocyanin トノ間ニ平衡ヲ起サシタ後、コノ血液 1cc ヲ採リ出シ Van Slyke ノ法ニ依ツテ酸素量ヲ測定シタ。定溫器ノ溫度ハ 25°C 乃至 30°C 間デ血液ヲ「トノメーター」ニ入レル時モ出ス時モ 1cc ノ注射器ニ依リ空氣ニ觸レナイヤウニ心シタ。酸素壓ノ測定ニハ Haldane ノ「ガス分析器」ヲ使用シ酸素ノ百分率ヲ計算シテ酸素壓ヲ算出シタ。各々ノ酸素壓ニ於ケル Hämocyanin ノ飽和度ハ第 2 表ニ示シタ如ク其ノ解離曲線ハ第 1 圖ノヤウデアル即チ「酸化ヘモチアニン」ノ酸素解離曲線モ亦 S 字狀デアル。

第 2 表

例	酸素壓 (mm Hg)	酸素含有容量 (%)	飽和度 (%)
I	10.0	1.25	45
	18.0	1.91	70
	25.0	2.27	81
	30.0	2.39	86
	150.0	2.79	100
II	7.0	0.51	20
	15.0	1.52	60
	20.0	1.78	72
	40.0	2.28	96
	150.0	2.53	100
III	12.0	1.25	45
	23.0	2.13	77
	44.0	2.53	93
	150.0	2.74	100

## 第 1 圖



## 第 5 章 銅ト酸素トノ結合比

Dhéré ハ甲殻類及ビ軟體動物ノ血液ガ等量ノ銅ヲ含有スル時ハ甲殻類ノ血液ハ軟體動物ノ血液ヨリ多量ノ酸素ト結合スルト云ヒ、Begemann<sup>14)</sup>ハ「かたつむり」(Helix pomatia)ト「かに」(Carcinus maenas)ニ就キ兩者ハ何レモ其ノ銅量ニ應ジテ等シイ比ヲ結合スル、而モ1原子ノ銅ハ1原子ノ酸素ト結合スルト云ツテ居ル。Redfield, Coolidge, Montozomery モ Begemann ノ説ニ同意シテ居ル。私モ大體同様ノ結果ヲ得タ。

定量方法ハ通常毒物檢索ニ用ヒラレテオル Fresenius u. Babo<sup>15)</sup> 氏法ニ依ツタ。先ヅ例ノ如ク採集シタ血液ノ容量ヲ測定シ、Fresenius u. Babo 氏法ニ依リ血中ノ有機質ヲ破壊シタ後、式ノ如ク銅ヲ硫化銅トシテ沈澱サシ、次ギニ Bruhns<sup>16)</sup> 氏法ニ從ツテ銅ノ定量分析ヲ行ツタ。即チ上述ノ硫化銅ヲ純硝酸ヲ以テ溶解シ、此溶液ヲ重湯煎上ニ蒸發セシメ、其ノ殘渣ヲ一定規硫酸 25 cc ニ溶解シ、水ヲ加ヘ 200 cc トスル、コレヨリ 10 cc, 20 cc, 50 cc ヲ採リ、先ヅ 0.2 g ノ沃度加里ヲ加ヘ、次ギニ 10% ノ「ロダーン加里液」10 cc ヲ加ヘ析出シ

テ來ル沃度ヲ直チニ N/50 ノ「次亞硫酸ナトリウム」液ヲ滴定スル、カクテ求ムル銅量ハ 1 cc N/10 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> = 0.006357 g Cu. デアルカラ容易ニ算出スルコトガ出來ル。今上記ノ方法ニ從ツテ得タ 3 例ノ血液中ノ銅量ハ第 3 表ノ示ス如キモノデアル。

第 3 表

例	試供血量	滴定ニ要セル Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	100 cc ノ血中ニ存スル銅量
I ♀	340 cc	25.5 cc	0.00953 g
II ♂	150 cc	11.5 cc	0.00974 g
III ♀	300 cc	14.0 cc	0.00551 g

上表ヨリ酸素ト銅トノ結合比ハ次式ヨリ得ルコトガ出來ル。

$$\text{結合酸素量(cc)} \times \frac{2}{22400} : \frac{\text{銅量(g)}}{63.6}$$

コレヨリ各々ノ結合酸素量ヲ測定スレバ容易ニ算出シ得ル第 4 表ノ如キ結果トナル。

第 4 表

例	血液 100 cc 中ノ結合酸素量		血液 100 cc 中ノ銅含量		酸素對銅ノ結合比
	實測値 (cc)	換算原子數 (cc/22400)	實測値 (g)	換算原子數 (g/63.6)	
I	1.656	$1.48 \times 10^{-4}$	$9.74 \times 10^{-3}$	$1.54 \times 10^{-4}$	0.96
II	1.522	$1.36 \times 10^{-4}$	$9.53 \times 10^{-3}$	$1.50 \times 10^{-4}$	0.91
III	1.053	$0.94 \times 10^{-4}$	$5.51 \times 10^{-3}$	$0.87 \times 10^{-4}$	1.08

以上ニ依レバ、大體 1 原子ノ銅ハ 1 原子ノ酸素ト結合スト云フ説ニ一致スル。

即チ甲蟹血液モ亦赤色血液ト同様ニ CO<sub>2</sub> ノ存在ニ依リ酸素含有量ヲ低下セシムルモノデアル。從テ (CO)<sub>2</sub> ハ O<sub>2</sub> ノ結合スルト同ジ場所ニ結合スルモノト思ハレル。

第 6 章 「炭酸ガス」ノ「酸化ヘモチアニン」ニ及ボス影響

Redfield, Coolidge, Hurd (1925) ハ (CO)<sub>2</sub> ノ「酸化ヘモチアニン」ニ及ボス影響ニ就テ、甲蟹血液ノ Hämoeyanin ト酸素トノ平衡ハ赤色血液ノ場合ト反對ニ作用サルルモノデ、「炭酸ガス壓」ガ増加スレバ Hämoeyanin ノ酸素ニ對スル親和力ヲ増加スル、殊ニ Busycon ノ血液ハ著明デアルト云ツテ居ル。依ツテ私ハ次ノ方法ニヨリ實驗シテ見タガ赤色血液ト同様ニ (CO)<sub>2</sub> ニ依リ作用サレルノヲ見タ。即チ 350 cc ノ「トノメーター」ニ空氣及ビ豫定%ニ近ク「炭酸ガス」ヲ充タシコレニ 2 cc 乃至 5 cc ノ血液ヲ入レ 20 分間定溫器中デ廻轉シ血液ト CO<sub>2</sub> 並ニ O<sub>2</sub> 間ニ充分平衡ヲ起サシメ、後 Van Slyke<sup>(14) (15)</sup> 氏法ニ從ツテ酸素量ヲ測定シ、「炭酸ガス壓」ヲ Haldane ノ分析器カラ算定シタ。第 5 表ノ如クデアル。

第 5 表

例	CO <sub>2</sub> 壓 mm Hg	O <sub>2</sub> Vol %	例	CO <sub>2</sub> 壓 mm Hg	O <sub>2</sub> Vol %
I δ	Spur	2.14	II δ	Spur	2.07
	22.8	1.78		20.0	1.68
	38.0	1.48		35.0	1.55
	60.8	1.07		59.0	1.29

第 7 章 1 酸化炭素 (CO) ニヨル影響

1 酸化炭素ノ Hämoeyanin ニ及ボス影響ニ就テハ未ダ文獻ナキモノノ如クデアル。私ハ種々ノ割合ニ酸素トノ酸化炭素トシ混ジタ「トノメーター」中ニ血液ヲ入レ平衡ヲ起サシメ測定シタルニ第 6 表ノ如クデ、血液ノ酸素含有量ニハ變化ナク

第 6 表

例	CO 壓 mm Hg	O <sub>2</sub> Vol %	例	CO 壓 mm Hg	O <sub>2</sub> Vol %
I	38.0	2.23	II	40.0	2.44
	70.0	2.23		90.0	2.44
	300.0	2.23		450.0	2.44

1 酸化炭素ノミノ中ニ入ルノ時特有ノ「酸化ヘモチアニン」ノ青味ヲ失フガ空氣中ニ出セバ直チニ青色トナリ舊ノ酸素量ヲ得ル、即チ 1 酸化炭素ハ甲蟹血液ニ無關係デアル。尙ホコレヲ實證スルタメ次ノ實驗ヲモ行ツテ見タ。先ヅ「エルレンマイヤー」ノ「コルベン」ニ蟻酸ト濃硫酸ヲ入レ加熱シ發生シタ CO ハ一度「カメレオン水」ヲ通シテ動物ヲ入レタ容器ニ導ク。容器ニハ甲蟹ト對照トシテ

蛙3匹ヲ入レテオク。CO<sub>2</sub>ハ比重ガ輕イカラ(空氣ヨリモ)器ノ上部カラ入レ下部カラ空氣ヲ除クノデアル。スルト(O)ヲ入レテカラ約20分デ1匹ノ蛙ハ死シ、40分後ニ他ノ2匹ノ蛙ハ死亡シタ。然ルニ甲蟹ハ1時間後ニ取り出シテモ普通ト變ラヌ元氣ヲ保有シテ居タノデアル。死亡シタ蛙ヲ剖檢スルト、皮下及ビ筋肉間ニ出血ガアリ、心房ハ極度ニ擴張シテ血液ガ充滿シテ居ルニ反シ、心室ハ血液ヲ認メナイ。コノ蛙ノ血液ヲ Hartridge ノ „Reversion spectroscopie“ デ檢スルト75%ノ(O)ヲ血液ガ含ンデ居タノデアル。

尙ホ蜘蛛、「かたつむり」等モ何レモ同様ニCO<sub>2</sub>ニ依リ作用サレナカツタノデアル。

以上ヨリシテ次ノ結論ヲ得ル。

### 第8章 結 論

- 1) 甲蟹血液ノ結合酸素量ハ平均16.9%デアル。
- 2) 結合酸素量ハ銅量ニ比例シ、銅量ハ時期ニ依リ差異アリ。
- 3) 「酸化ヘモチアニン」ノ酸素解離曲線ハS字狀デ「ヘモグロビン」含有血液ノソレニ類似スル。
- 4) 甲蟹血液ノ酸素量ハ「炭酸ガス」ニ依リ影響サレ、「炭酸ガス壓」ノ増加ハ「ヘモチアニン」ノ酸素ニ對スル親和力ヲ減ズル。
- 5) 「ヘモチアニン」ハ1酸化炭素ニ對シ抱合力ヲ有セズ、從ツテ酸素結合量ニ影響ヲ及ボサズ。

拙筆スルニ當リ恩師生沼教授ノ御懇篤ナル御指導ト御校閲トヲ深謝ス。

### 文 獻

- 1) Bert, Compt. rend. Acad., LXV, 300, 1867, zit. nach J. of biol. chem., Vol. 69, P. 475, 1926.
- 2) Dhéré, Compt. rend., Acad., 157, 309, 1908, zit. nach J. of biol. chem., Vol. 76, P. 185, 1928.
- 3) Winterstein, Biochem. Z., Bd. 19, S. 384, 1909.
- 4) Stedman, E. and Stedman, E., Biochem. J., Vol. 19, P. 545, 1925.
- 5) Alsberg and Clark, J. of biol. Chem., Vol. 8, P. 1, 1910.
- 6) Alsberg and Clark, Ibid, Vol. 19, P. 503, 1914.
- 7) Alsberg, J. of biol. Chem., Vol. 19, P. 77, 1914.
- 8) Alsberg, Ibid, Vol. 23, P. 495, 1910.
- 9) Redfield, Coolidge and Hurd, Ibid, Vol. 69, P. 475, 1926.
- 10) Redfield, Coolidge and Shotts, Ibid, Vol. 76, P. 185, 1928.
- 11) Redfield, Coolidge and Montgomery, Ibid, Vol. 76, P. 197, 1928.
- 12) Redfield, (The biol. Bulletin, June P. 238, 1930.
- 13) 森部庫司, 福岡醫科大學雜誌, 第21卷ノ下.
- 14) Begeman, Zeitschr. f. vergleichende Physiol., Bd. 2, S. 381, 1925.
- 15) Fresenius und Babo, Liebigs Ann. d. Chem., Bd. 49, S. 287, 1844.
- 16) Bruhns, Chemiker Z., Bd. 42, S. 301, 1918, zit. nach Gadamer's Lehrbuch d. chem. Toxikolog., S. 234, 1924.
- 17) Van Slyke and Neill, J. of biol. Chem., Vol. 61, P. 523, 1924.
- 18) Van Slyke, Ibid, Vol. 71, P. 121, 1927.