

発光魚 ツマグロイシモチ *Apogon ellioti* DAY 及びその 発光体と海螢とのルチフェリン、ルチフェラーゼ交 叉反応に就て

羽根田弥太*・フランク H ジョンソン**・謝威卓***

1 緒 言

生物発光に於て、ルチフェリン・ルチフェラーゼ反応が陽性を示す発光生物は僅かに、螢、海螢、発光エビ、発光二枚貝、ゴカイ類、バクテリア類等の限られた少数のものに見られ、而も、その反応は同種或は極めて近縁な同属の生物間にだけ見られ全く異った生物間にはこの反応は認められないと言うのが常識であった。

魚類では深海ソコダラ科 Macrouridae のマンジウダラ *Malacocephalus laevis* の発光体にこの反応があると HICKLING (1925—1926) が報告しているが、この魚の発光体は腺内に共棲する発光バクテリア (HANEDA 1938, 1951) であるから魚類に於けるこの反応の証明にはならない。

魚類に於けるルチフェリン・ルチフェラーゼ反応の最初の確かな例として著者等 (HANEDA and JOHNSON 1958) はキンメモドキ *Parapriacanthus beryciformes* を報告した。この魚は胸部及び腹部筋肉中に発光腺があり、この発光腺の熱水及び冷水浸出液を混合すると再び光を発すること、この魚と海螢との間にはルチフェリン・ルチフェラーゼ交叉反応がないことを報告した。

ここに報告するツマグロイシモチ *Apogon ellioti* DAY はルチフェリン・ルチフェラーゼ反応を示す魚類に於ける第2の明かな例であるばかりでなく、本魚と、キンメモドキ *Parapriacanthus beryciformes* 及び海螢 *Cypridina hilgendorffii* の間にこの反応があることであって、このことは最も興味ある重大なことである。

著者の一人羽根田は1958年6月、高知市御豊瀬魚市場に揚った小手繰と呼ぶ小型底曳網(40罟)の漁獲物より本魚多数を採集、その発光器を調べると共に発光内容が発光バクテリアによるものか自力発光によるものかを調べ、発光体のルチフェリン反応を調べた際、海螢との交叉反応に於ても陽性である事実を確かめた。更にこの発光体の化学を追究するため、現在まで数百個体による発光体の乾燥材料を得て、これをプリンストン大学に送り、ジョンソン及び謝が研究を進めており、その研究成果の一部に就ては1958年8月25日より28日にわたって Woods Hole 臨海実験所にて行われた Scientific Meeting に於て Luciferin and Luciferase extract of a fish, *Apogon marginatus*, and their luminescent cross-reactions with those of a crustacean, *Cypridina hilgendorffii* の題名で JOHNSON が報告、同文は Biological Bulletin Vol 115, No. 2 P. 337, October 1958 に発表した。

本報告はツマグロイシモチの発光器の構造を簡単に記載し、発光腺内容のバクテリアの培養試験の結果、及びルチフェリン、ルチフェラーゼ反応に就ての主として和文による報告である。

2 発光器の構造

本魚はテンジクダイ科 Apogonidae に属し、南日本の和歌浦、高知、鹿児島より記録されている。本魚の発光体は体表に現われて居らず腸管の一部に形成されている。加藤(1947)は高知県須崎にて採集した *Apogon marginatus* について研究の結果本魚の発光器は腸管に連絡する前部発光腺、腸部発光腺及び一対の後部発光腺よりなり、反射層、レンズ構造もなく、腸部発光腺の存在

*横須賀市博物館 ** ***プリンストン大学、生物学教室

即ち腸管自体の一部が発光腺となっており魚類の発光器の一新型を代表するものであると言う。岩井、浅野 (1958) は南支那海トンキン湾で採集された *Apogon ellioti* DAY について研究の結果 *A. marginatus* とは同種であり、発光器は、前部発光腺、一対の後部発光腺を認めるが、腸部発光腺に就ては疑問を持っている。前部及び後部発光腺の後方には反射層、筋肉は乳白色でレンズの作用をなすと言う。

尚、発光腺内容に就て、加藤氏は培養試験を行うまでもなく発光バクテリアではないと言い、岩井氏等は、この点に就ては確める機会を得なかったと述べている。

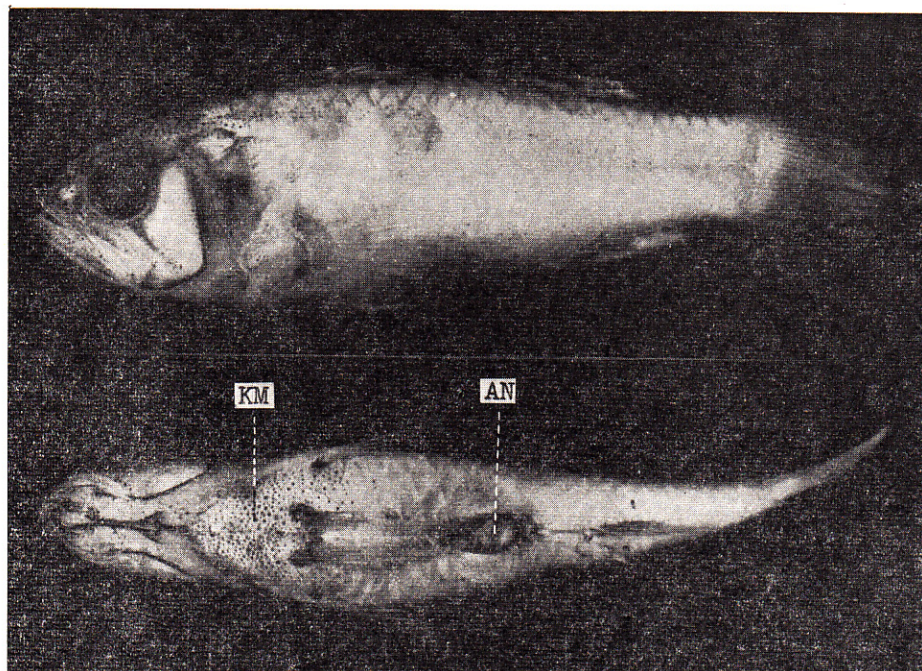


Fig. 1. ツマグロイシモチ *Apogon ellioti* DAY, KM keel muscle (胸部龍骨筋); AN, anus.

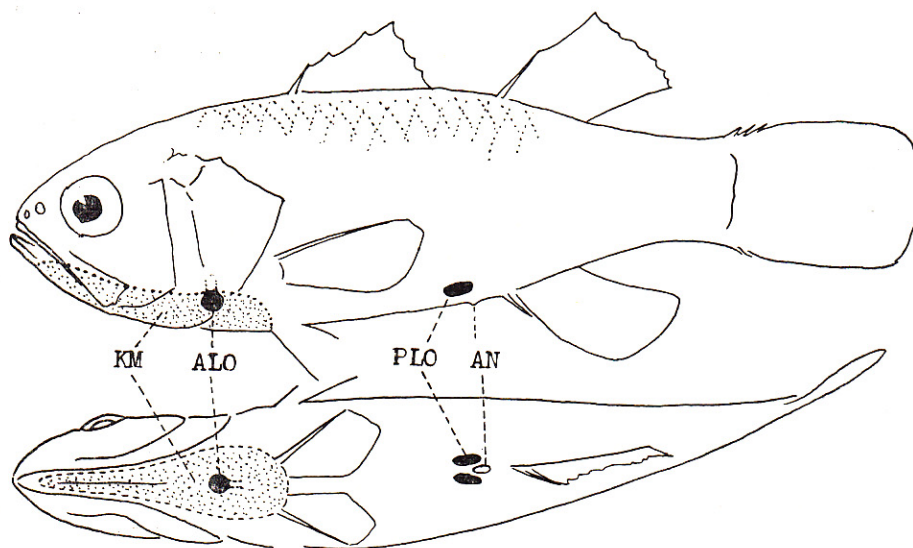


Fig. 2. Diagram of the luminous organs in *Apogon ellioti* DAY. ALO, anterior luminous duct; (前部発光腺); PLO, posterior luminous duct; (後部発光腺); KM, keel muscle; AN, anus.

羽根田は生の材料を解剖の結果、前部発光腺、一対の後部発光腺は極めて強い青紫色の光を放つのを認めたが、加藤氏が言う腸部発光腺には全く光を認めることが出来なかった。前部及び、後部発光腺は極めて美しいレモン色の黄色を呈し、岩井氏等が述べる如く前部発光腺は食道下方の腸の第2反転部より前方に突出する盲嚢で、乳白色半透明の胸部龍骨筋肉内にたれ下っており、この筋肉は、ヒイラギ *Leiognathus*, ハリダシエビス *Paratrachichthys*, キンメモドキ *Parapriacanthus*, の場合と同様にレンズの役目をしており、この筋肉の後方には白色不透明の層があり反射器の役目をしている。この発光腺は体長75mmのもので $2.5 \times 2.9 \times 2.3$ mm 程度、後部発光腺は肛門の直前、両端に対をなし長楕円形で筋肉内に埋没している。大きさ $2.6 \times 1.5 \times 0.5$ mm この器官の背面に反射層があるが、レンズに相当する筋肉は、胸部龍骨筋に見られるように特に乳白色半透明で光を拡散する性質はない。然し、光は勿論この筋肉を通して外部に出る。前部及び後部発光腺は腸管に連絡しているが、腺内は柱状の発光細胞 (Figs. 4, 6, LC) と少数の杯状細胞 (Fig. 5, GC) とよりなり、分泌物の腺内腔への開口も認められず、この器官が開孔式であるにもかかわらず発光液の分泌を見ない。即ち細胞内発光である。この点発光腺が開孔式であるキンメモドキ *Parapriacanthus beryciiformes* の肛門発光腺とは内部構造が全く異っている。又、ヒイラギ *Leiognathus*, ホタルジャコ *Acropoma*, トージン *Macrouridae*, ハリダシエビス *Paratrachichthys prosthemi* 等に見られる開孔式発光腺ともその構造に於て根本的に異っている。

3 発光腺内容

発光腺内容が発光バクテリアであるか否かを確かめるため培養試験を行ったが、いずれも陰性に終った。発光体を切りとり乾燥後、粉末にして、水を加えると再び発光する。発光腺を乳鉢でつぶし、海水及び水にて懸濁液を作ると全液が発光し、数時間発光を持続する。

ルチフェリン、ルチフェラーゼ反応は陽性であり、前部発光腺と後部発光腺の熱水、及び冷水浸水液を交叉反応させた場合、いずれも陽性であった。又、本魚とキンメモドキ *Parapriacanthus beryciiformes* との間の交叉反応も陽性であった。最も興味深い点は、本魚と、海螢との交叉反応に於て陽性であった点である。

本魚と海螢との交叉反応に於て定量的関係について今までに知り得た点を述べると、次のようである。

1. 単位時間あたりの光の放出量は一次反応に従う。
2. 酵素の濃度を倍加すると、単位時間あたりの光の放出量も倍加される。
3. 全光量は最初の濃度に正比例する。
4. 全光量は一方の組織から得たルチフェリンを二者の何れかの組織から抽出したルチフェラーゼに作用しても概ね同値を示す。

この反応に使用した Luciferin はツマグロイシモチの前部発光腺の乾燥したものの熱水浸出液で、冷却後、遠心沈澱により発光組織を除いた。Luciferase は1部海螢の抽出液の純粋のもので、 Na_2HPO_4 KH_2PO_4 buffer の100倍液 PH=6.8 を用いた。

Apogon ellioti の粗ルチフェリンは冷水に溶けにくいがメタノールには溶けやすく、その溶液は緑色の螢光をおびる。分光学的及びクロマトグラフ的研究並びに *Apogon* 系の補酵素についての研究は目下研究を続行中である。

尚、本魚と、海螢との間のルチフェリン、ルチフェラーゼ交叉反応のある原因について、或は本魚が、海螢を食べた結果ではないかとの疑問があるので、本魚数十個体の消化管内を調べたが未だ一度も海螢を発見することは出来なかった。

尚、海螢は内湾の砂地の数米の海底に棲息するのに反して、本魚は外洋性で40尋内外の海底を曳いた網にのみ入るので、両者の棲息場所も異り、本魚が、海螢を食ったため、この反応があるとは考えられない。

引用文献

- HANEDA, Y., Ueber den Leuchtfish *Malacocephalus laevis* (Lowé) J. Med. Sci. III; Biophysics, 5: 355-66. 1938.
- HANEDA, Y. and Frank H. JOHNSON, The Luciferin-Luciferase Reaction in a Fish, *Parapriacanthus beryciformes*, of Newly discovered Luninescence. Proc. Acad. Sci 44 (2) : 127-139 and Sci Rep. Yokosuka City Museum 3 : 25-30. 1958.
- HANEDA, Y., Frank H. JOHNSON and Edward H.-C. SIE, Luciferin and Luciferase extracts of a fish, *Apogon marginatus*, and their luminescent cross-reactions with those of a crustacean, *Cypridina hilgendorffii*. Biol. Bulletin 15 (2) : 366, 1959.
- HICKLING, C. F. J., Biol. Assoc. Un. King., 13 : 914-937, 1925 : 14 : 495-507, 1926.
- IWAI, T., and H. ASANO, On the Luminous Cardinal Fish, *Apogon ellioti* DAY. Sci Rep. Yokosuka City Museum 3 : 5-13, 1958.
- KATO, K., A new type of luminous organ of fishes. (In Japanese). Zool Mag. (Tokyo). 57 (12) 195-198, 1947.

Résumé

Luciferin and luciferase extracts of a fish, *Apogon ellioti* and their luminescent cross-reactions with those of a crustacean, *Cypridina hilgendorffii*.

Yata HANEDA,* Frank H. JOHNSON** and Edward H. -C. SIE. ***

Despite numerous attempts to obtain extracts containing the relatively heat-stable substrate, luciferin, and heat-labile enzyme, luciferase, respectively, which react with light emission in aqueous solution (the "luciferin-luciferase reaction"), such extracts have been obtained thus far from less than a dozen of the many types of luminescent organisms known. Moreover, until now, luminescent cross-reactions between these components from different organisms have been found only with extracts of fairly closely related types, such as different families of fireflies or different genera of ostracod Crustacea. Recently (1957), the first clear example of the luciferin-luciferase reaction among fishes was demonstrated, in extracts of *Parapriacanthus beryciformes*, family Pempheridae.

Apogon ellioti (Syn. *A. marginatus*), family Apogonidae found in Japan's southern Pacific waters, where it lives at depth of about 40 fathoms. It possesses three peculiar luminous ducts: one, shaped like a small bag and beautiful lemon yellow in color, is attached to the second bend of the intestine and lie in the translucent keel muscle (anterior luminous duct), and the other two, a pair of bean like appearance, which lie in the muscle on either side of the rectum immediately before the anus (posterior luminous ducts). Each duct is glandular in structure and all three open into the intestine.

A second example is reported herewith, in extracts of either the anterior or posterior photogenic organs of *Apogon ellioti*, and these extracts are found to produce light-emitting cross-reactions with partially purified luciferase of the ostracod crustacean, *Cypridina*

*Yokosuka City Museum **, ***Princeton University.

hilgendorffii. Extracts of fresh or desicated anterior and posterior *Apogon* light organs cross-react with each other, but not with extracts of non-photogenic tissues or of lanterns of the Japanese firefly, *Luciola*.

Quantitative data in cross-reactions between the *Apogon* and *Cypridina* systems reveal that (1), the rate of light emission follows first order kinetics; (2), doubling the enzyme concentration doubles the rate; (3), total light is proportional to initial luciferin concentrations; and (4), total light is nearly the same with the luciferase of either organism acting on equal aliquots of luciferin from one organism.

Crude *Apogon* luciferin dissolves poorly in cool water but readily in methanol, giving a yellow solution that fluoresces greenish in ultraviolet. Studies on spectroscopy, chromatography, and possible co-factors of the *Apogon* system are in progress.

1. Aided in part by the Office of Naval Research, National Science Foundation, Eugene Higgins Fund and Japanese National Commission for UNESCO.

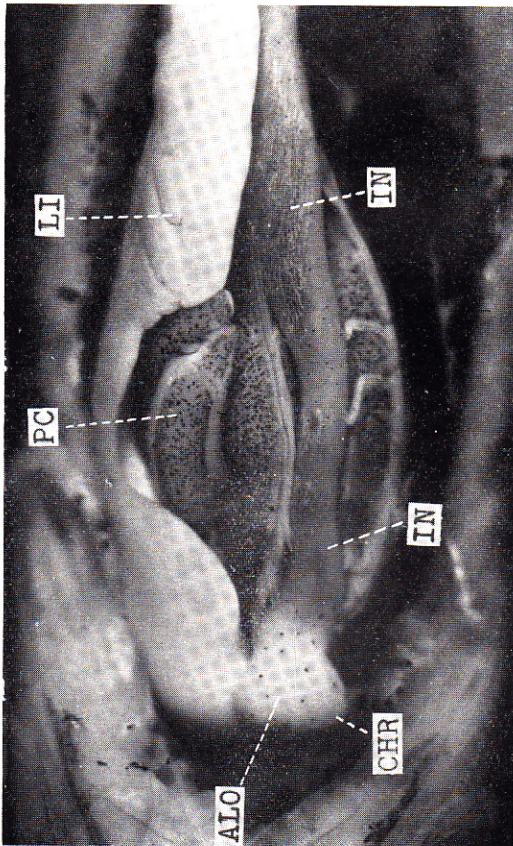


Fig. 3. Alimentary canal and its appendages. (消化管と発光器)
ALF, anterior luminous organ; IN, intestine;
PC, pyloric caeca; LI, liver; CHR, chromatophore.

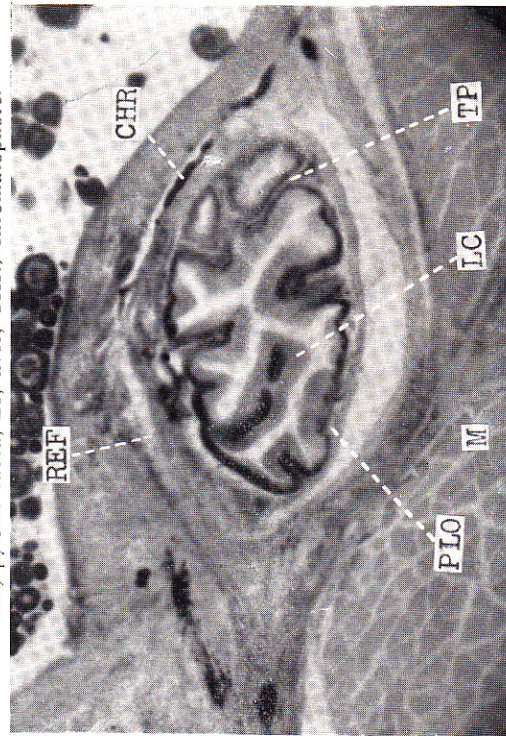


Fig. 4. Transverse section of posterior luminous organ. (後部発光器の断面)
PLO, posterior luminous organ; REF, refractor;
CHR, chromatophore; LC, luminous cell; M, muscles.

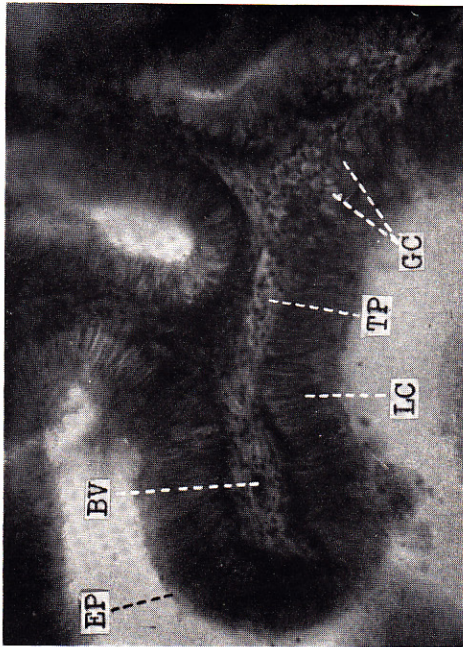


Fig. 5. Cross section of anterior luminous duct. (前部発光器の断面)
LC, luminous cell; GC, goblet cell; BV, blood vessel;
EP, epithelium; TP, tunica propria.

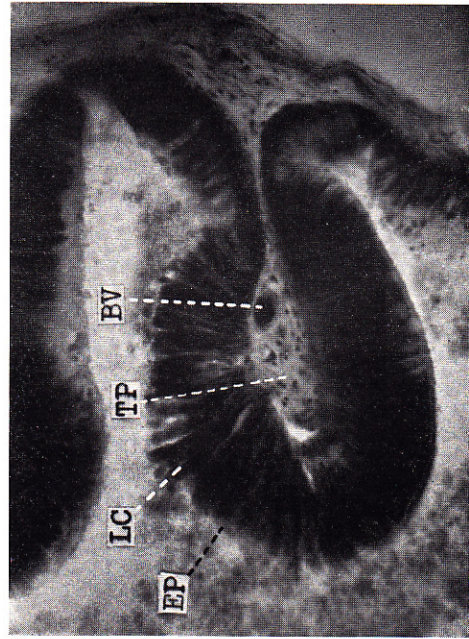


Fig. 6. Cross section of posterior luminous duct. (後部発光器の断面)
LC, luminous cell; GC, goblet cell; BV, blood vessel;
EP, epithelium; CHR, chromatophore; TP, tunica propria