生物發光ニ關スル研究（其ノ2）

岡山醫科大學生理學教室（主任生沼教授）
林　香苗
奥山美佐雄

内容目次

海螢ノ發光ニ就テ
第1章　實驗材料及ビソノ保存法
第2章　酸素及ビ青酸ノ發光ニ及ボス影響
第3章　二三藥品ノ發光ニ及ボス影響
第4章　海螢ニ於ケル所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ノ存在ト分布
第5章　熱水「エキス」ノ性質ニ關スル實驗
第6章　冷水「エキス」ノ性質ニ關スル實驗
第7章　冷水「エキス」成分ノ純化
第8章　發光ノ再發性
第9章　海螢並ニ源氏螢ノ發光ノ際ノ酸化機轉ニ就テ
第10章　總括
發光細菌ノ發光ニ就テ
第1章　實驗材料
第2章　發光ニ對スル溫度ノ影響
第3章　發光ト酸素
第4章　發光ニ及ボス二三試藥ノ影響
第5章　發光菌ニ於ケル所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ノ存否ト分布
第6章　總括
化學發光ニ關スル研究
第1章　緒論
第2章　焦性沒食子酸ノ發光
第1節　反應物質ニ就テ
第1項　第1物質．焦性沒食子酸及ビソノ代用品
第2項　第2物質．過酸化水素及ビソノ代用品
第3項　第3物質
（イ）植物搾汁
（ロ）血液
（ハ）化學藥品
第2節　發光ト水素「イオン」濃度トノ關係
第3節　二三藥品ノ發光抑止現象
第4節　各發光反應物質ノ作用機制
第3章　次亞鹽素酸「ソーダ」ニヨル發光
第4章　生物發光トノ關係
第5章　總括
文獻

海螢ノ發光ニ就テ

第1章　實驗材料及ビソノ保存法

實驗材料

本實驗材料タル海螢ハ，瀨戸内海宇野港沖ニテ採集セシモノニシテ，ソノ方法ハ夏秋ノ候（極寒ノ候ニハ採集シ得ザリキ）夕刻（薄暗クナリカカリタル頃ヨリ夜半マデヲ可トスルモノノ如シ）海藻茂レル深サ

2—3 m ナル海上ニ出デ餌トシテ腹頭魚（コノシロ），鰹ノ頭，或ハ此地方ニ於テ「ママカリ」ト俗稱セル魚等軟肉性ノ魚類ヲ細キ網ニテ紮リ，海中ニ沈メ數分乃至十數分ノ後網ヲ引上ゲソノ餌魚ノ主ニ內臟內ニ無數附着シ來ル海螢ヲ容易ニ採集セシモノナリ．本海螢ハ學名 Cypridina Hilgendorfi Müller ト云ヒ節足動物（Anthropoda）甲殼綱（Crustacea）介形目（Ostracoda）ニ屬スルモノニシテソノ發光器官ハ腺狀組織ヲ呈シソノ腺ヨリ出ヅル分泌物ガ海水中ニテ發光スルモノト云ハル．余等モ發光菌培養基例ヘバ食鹽加寒天或ハ食鹽加「ブイヨン」培養（後述）ヲ用ヒテ海螢發光分泌液中ニ發光菌ノ有無ヲ檢セシニ陰性ニ終レリ．而シテ余等ガ以下實驗材料トシテ使用セシモノハ次述ノ如ク此海螢ヲ可及的迅カニ分離シ乾燥貯藏セシモノ或ハソノ發光性分泌液ヲ含メル海水ナリ．

海螢ノ光ハ著シク藍色ヲ帶ビ海水中ニテ1匹1回ノ光約 30—40 cm ノ徑ナル光輪トナルベシ．

保　存　法

此海螢ノ發光物質ハ保存法宜シキヲ得バ耐久性大ニシテ例之動物採取後，直チニ吸水紙上ニ擴ゲ，夏秋ノ日光ニ數時間曝露シテ迅カニ水ヲ蒸發セシメ後乾燥器中ニ貯フレバ可成リ永ク保存シ得．「エーテル」中ニ保存スルモ一法ナレ共，余等ノ經驗ニヨレバ前者ノ方便宜ニシテ數箇月以上貯藏シ得．

又海水中ニ出デタル分泌物モ之又長時日發光物質ヲ保有スルモノニシテ容器ニ入レ密栓シテ貯藏スルトキハ數十日後ト雖モ之ヲ空氣ト接觸セシムルトキハ著明ニ藍白色ノ發光ヲ認メシム．卽チ此現象ハ一見發光菌ノ繁殖ノ爲メナラズヤト疑ハシムル所ナレドモ

水　100.0 g　「アスパラギン」1.0　「グリセリン」1.0　燐酸加里　0.001　食鹽　3.0

ナル發光菌培養液ヲ用ヒテ檢セシトコロニテハ何等發光菌ヲ證明シ得ザリキ．

第 2 章　酸素及ビ青酸ノ發光ニ及ボス影響

動物體ヲ含マズ分泌物ヲ含有シテ著シク發光セル海水ヲ密栓セル試驗管ニトリ之ニ水素瓦斯ヲ通ズルトキハ螢ノ場合ニ比シ遙ニ長時間ヲ要スレドモ遂ニ漸次發光ヲ認メザルニ至リ次デ空氣ヲ入ルコトニヨリ再ビ光發現ス．

Harvey[28] ニヨレバ酸素壓 $\frac{1}{250}$ Hg ニ於テモ發光スト爲セリ．卽チ螢ニ比シ必要酸素量ハ甚ダ少量ナラムモ酸素ガ發光ニ必要缺ダベカラザルコトハ螢ノ場合ト同樣ナリ．

又動物體ヲ含マズ分泌物ヲ含ミ發光著明ナル海水ヲ密栓セル試驗管內ニ入レ暫ク青酸瓦斯ヲ通ゼルニ光力ニ變化ナカリキ．惟フニ此程度ニテハ此操作ニ伴フ液中ヨリノ酸素ノ驅逐甚ダ多カラザラムヲ以テ螢ノ場合ト異ナリ必要酸素量少ナキ海螢ノ發光ニ對シテハ酸素量減少ニヨル影響ヲ示サズ青酸ノ發光ニ對スル無作用ガ如實ニ現レシモノナルベシ．蓋シ此成績ハ青酸加里ハ海螢ノ發光ニ無影響ト見做シ得ベシトイヘル Harvey ノ記載[29] ト一致スルモノナラム．

第 3 章　二三藥品ノ發光ニ及ボス影響

海螢ノ分泌液ヲ含メル發光海水或ハ乾燥貯藏セシ海螢ヲ再ビ水ヲ加ヘテ擦リ碎キ發光セルモノハ螢ノ場合ト同樣「エーテル」，「クロロホルム」ヲ加フモソノ中ニ溶解セズシテ消光セズ．

卽チ海螢ノ發光物質モ亦一般脂肪又ハ類脂肪ニハ屬セザルモノノ如シ.

然レドモ，純「アルコール」並ニ「アセトン」ニ混合スルトキハ消光ス.(「アルコール」ニヨル影響ニ關シテハ後述ス.)

又螢ニ於テハ過酸化水素ハ何等發光ニ對シ影響ヲ示サズ. 「アルカリ」ハ著シキ一時性ノ發光ヲ與ヘタルモ海螢ニ於テハ共ニ螢ニ用ヒシ程度ニテハ却ツテ發光ヲ抑止ス. 尙ホ鑛酸硫酸「アンモン」, 「アルカリ」性「ヂアスターゼ」, 酸性「ペプシン」液モ又發光ヲ停止セシム.

第 4 章　海螢ニ於ケル所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ノ存在ト分布

既ニ屢々述ベタル如ク Harvey[30] 及ビ神田[31] 等ハ海螢ニ於テ所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ヲ證明セリト. 余等モ亦螢ノ條下ニ揭ゲタルト同樣ノ方法ニテ調製セシ海螢ノ冷水「エキス」或ハ消光セシ分泌物ヲ含有セル海水ハ海螢ノ熱水「エキス」又ハ分泌物含有ノ海水ヲ 100°C 3 分煮沸セシ液ト合スル時發光セシメ得タルヲ以テ海螢體部並ニ體外分泌物何レモソノ中ニハ冷水並ニ熱水「エキス」成分ヲ有スルモノナルコトヲ認メタリ. 而シテ該動物以外ノ熱水「エキス」ガ螢ニ於ケルガ如ク發光ヲ起スヤ否ヤトイフニ Harvey[32] ハ海螢ト緣遠キ他ノ非發光動物例之 Amphineura 屬 Chiton ノ熱水「エキス」ガ海螢ノ冷水「エキス」ヲ發光セシメタリトテ之ヲ海螢ノ熱水「エキス」ト區別シテ Photophelein ト名付ケタレドモ余等ノ實驗ニテハ Chiton, 烏賊, うみしか, 麻蟲, ごかい, 藻蝦, 木喰蟲, 蠶蘚蛸等ノ熱水「エキス」ハ何レモ海螢ノ冷水「エキス」或ハ海螢ノ分泌物ノ消光セルモノヲ發光セシメ得ザリキ. 此成績ヲ Harvey ニ從ヒ解釋スルナラバ海螢熱水「エキス」中ニハ Luciferin ヲ含ムモノニシテ之ヲ Luciferase ヲ含有セル冷水「エキス」ニ混ズルトキ發光スルハ當然ナリ. 然レ共余等ノ例ノ如ク, 他ノ非發光動物熱水「エキス」ヲ加ヘテ發光セザリシハ之ヲ Harvey ノ見解ニ從ヒ Photophelein ヲ發見シ能ハザリシモノト解釋シテ果シテ誤ナキヤ. 余等ガ既報ノ螢ニ就キテノ考按ヨリ推ストキハ, 海螢ノ熱水「エキス」モ寧ロ唯海螢冷水「エキス」ニ適當ナル Photophelein ニ屬スルモノニ過ギズシテ又余等ノ實驗ニ供セシ他非發光動物ヨリノ熱水「エキス」ハ海螢ノ冷水「エキス」ニ作用シテ發光セシメ得ベキ適當ナル Photophlein ニ非ザリシモノト思ハル.

此條下ニ於テ特ニ注意スベキハ海螢ノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水ニ少シ溫カナル液例之微溫水或ハ微溫 Ringer 氏液等ヲ加フルトキハソノ程度弱シト雖モ光リノ現ルルコトナリ. モトヨリ此微溫水ノ作用, カノ活性ノ熱水「エキス」(溫カナラザル)ノ作用ヲ說明スルモノニハ非ザラムモ, 少ナクトモ此事實ハ海螢ノ消光セル分泌物ヲ含メル海水ニハ容易ニ發光ニ導カルル光質ノ存スルコトヲ明カニ示スモノナリ.

第 5 章　熱水「エキス」ノ性質ニ關スル實驗

海螢ノ分泌物ヲ含メル海水ヲ 100°C ニ 3 分煮沸シ冷却セシ活性ノ所謂熱水「エキス」成分ハ

「エーテル」ニ溶解セザルヲ以テ一般脂肪又ハ類脂肪ニハ非ザルベク又骨炭ヲ加ヘテ濾紙ニテ濾過セバ骨炭ニ吸着サレテソノ作用微弱トナルモ，濾紙及ビ「コロヂユーム」膜ヲ容易ニ濾過シ得.

又「ビウレツト」反應陰性ニシテ，「アルカリ」ニテ沈澱セズ，螢並ニ蠣蛹熱水「エキス」ニテハ Millon's reaction 陽性ナリ．次ニ乾燥セル海螢ヲ 5% 乳酸中ニテ碎磨スルトキハ普通ノ水ト共ニ碎磨スル際ト異ナリ發光ヲ認ムルコト能ハザレドモ之ヲ苛性曹達ヲ以テ中和セバ光現出ス．反之最初ヨリ 15% 乳酸ヲ用ヒルトキハ中和スルモ光ラザレドモソノ中和セシモノニ熱水「エキス」ヲ加フル際ハ發光シ，冷水「エキス」ヲ追加スルモ發光スルコトナク 30% 乳酸ヲ用ヒルトキハ直チニ消光シ中和後何レヲ加フルモ發光スルコトナシ．之ヲ以テ觀レバ酸度稀キトキハ冷熱兩「エキス」成分破壞サレズ唯恐ラク酸度ガ發光反應ニ不適當ナリシカ，反之今少シ濃キトキハ遊離セル光質ガ破壞サレ冷水「エキス」成分ハソノママ殘存セシモノナルベク，尙ホ海螢中ニ乳酸ノ含有サレ，夫レガ冷或ハ熱水「エキス」成分ニヨリ作用サレ發光スルモノニモ非ザラン．

第 6 章　冷水「エキス」ノ性質ニ關スル實驗

海螢ノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水ハ 55°—60°C 3 分ニヨリテ最早活性ノ熱水「エキス」ト合スルモ發光セザルニ至ルベシ．故ニ冷水「エキス」ノ有效成分ハ略ボ 55°—60°C 3 分ニテ破壞サルモノナルベシ．而シテ螢ニ於ケルガ如ク是レ亦「エーテル」ニ少シモ溶解セザルヲ以テ一般脂肪又ハ類脂肪ニハ非ザルベシ．骨炭ヲ加ヘテ濾紙ニテ濾過セシ濾液ハ之ニ活性熱水「エキス」ヲ加フモ光ラザルヲ以テ骨炭ニハヨクソノ有效成分ハ吸着セルモノノ如シ．尙ホ濾紙ハ通過スレドモ「コロヂユウム」膜ヲ通過シ難ク，膜ヲ隔テテ熱冷水兩「エキス」ヲ安置スルトキハ冷水「エキス」ヲ含メル方ノ發光ヲ認ムベシ．

活性ノ冷水「エキス」ニ「サポニン」水溶液，或ハ人尿ヲ煮沸セシモノヲ加フルモ發光ニ導キ得ザリキ．是レ活性熱水「エキス」成分ノ作用ハ夫レガ「サポニン」ノ如ク單ニ表面張力減退作用ヲ有スルニ因ルモノデナク，又ソノ成分ハ煮沸人尿中ニ含有サルガ如キ新陳代謝物質ニ非ザルヲ示スモノナラム．

又冷水「エキス」ハ Trommer 反應並ニ Nylander 反應共ニ陰性ニシテ，Lugol 氏液ヲ加フルモ藍變或ハ酒赤變セズ．唾液ヲ混ジタル後，糖反應ヲ檢スルモ陰性ナルヲ以テ d-glucose，澱粉又ハ「グリコゲン」ニハ非ザラン．

尙ホ一般臨牀上尿中蛋白證明ニ使用サル蛋白質證明法何レモ陰性ニシテ，螢ニテハ Millon's Reaktion, Molisch's probe 卽チ Glykoproteid 反應陽性ナリ．

螢ノ發光體ノ冷水「エキス」ハ單ニ「アルカリ」或ハ「メトール」，「ヒドロキノーン」現像液ノ注加ニヨリ只一度切リナレドモ著シキ一過性ノ發光ヲ惹起スルモノナレドモ海螢ノ冷水「エキス」ハ之等ニヨリテ發光ニ導カレザルノミナラズ．發光セルモノモ「メトール」，「ヒドロキノーン」

現像液ノ注加ニヨリ直チニ消光シ又苛性曹達, 或ハ「アンモニヤ」水ノ注加ニヨリ沈澱物ヲ生ズ. 濃硝酸ニヨリテハ沈澱セザレドモ發光モ現レズ.

第 7 章 冷水『エキス』成分ノ純化

海螢並ニ海螢ノ分泌物ヲ含メル海水ハ活性冷水「エキス」成分ヲ含有シ, 此海水ヲ熱スルコトニヨリテ活性熱水「エキス」成分ヲ製出シ得ルコトハ既述ノ如シ. 余等ハ海螢並ニソノ分泌物ヲ含メル海水ハ活性冷水「エキス」成分ノミヲ含ミ活性熱水「エキス」成分ヲソノ形ニ於テ含有セザルベシト思惟スレドモ從來ノ考ヘ方ヨリセバ活性熱水 (so-called luciferin) 並ニ冷水「エキス」成分 (so-called luciferase) ヲ有シ, 夫レヲ熱シタルモノハ活性熱水「エキス」成分 (so-called luciferin) ノミヲ含ムモノト見做スベキナリ. 余等モ一歩進ミテ兩「エキス」成分ノ性質, 作用方法等ヲ明瞭ナラシメンガ爲メ, コノ從來ノ見解ヨリシテモ活性冷水「エキス」成分 (so-called luciferase) ノミシカ含マズ活性熱水「エキス」成分 (so-called luciferin) ヲ含マザルベシト認メ得ベキモノヲ——余等ノ意見ヨリセバ活性熱水「エキス」ヲ製出シ得ザルモノヲ——得ント試ミタリ.

今濃キ海螢ノ分泌物並ニ海螢ヲ含メル海水ニ約 2 倍量ノ純酒精ヲ加ヘ 24 時間浸出スルトキハソノ溶液ハ夫レヨリ活性熱水「エキス」ヲ製スルコトヲ得ルモ活性冷水「エキス」成分ヲ含マズ. 後者活性冷水「エキス」ハ沈澱物中ニ殘留セリ. 然レ共此沈澱物ハ夾雜物多クシテ不純ナルヲ以テ例之麥芽ヨリ「ヂアスターゼ」ヲ分離スル方法ニ倣ヒ, 上記海水ニ初メ 20% ニナル樣酒精ヲ注加シ 24 時間後之ヲ濾紙ニテ濾過ス此時勿論殘渣中ニモ冷水「エキス」成分存スルモ此濾液ニ 2 倍量ノ純酒精ヲ加ヘテ 24 時間沈澱セシメ濾紙ニテ濾過スルトキハ濾液中ニハ活性冷水「エキス」成分ナク熱水「エキス」成分ヲ製シ得ルモ殘渣中ニハ活性冷水「エキス」成分ノミヲ含有シ之ヨリ活性熱水「エキス」成分ヲ得ルコト能ハズ. 故ニ余等ハ此殘渣ヲ今 1 回 20% 酒精, 次デ純酒精ニヨリテ精製シ乾燥セシメテ, 水ニ溶カシ之ヲ假リニ純化冷水「エキス」ト名付ケ之ヲ以テ例之所謂 Luciferin ト Photophelein ノ異同研究等ニ使用セリ卽チモシ此純化冷水「エキス」ニ對シ海螢熱水「エキス」ト他動物ヨリ得ル Harvey ノ所謂 Photophelein トノ作用ガ發光的ニ關係ヲ異ニセンカ, 此兩者ハ異ナルモノニシテ或ハ Luciferin 及ビ Photophelein ノ名ヲ兩者ニ與フルヲ至當トスベキナラム. 但シモシ兩者ノ作用ガ發光的ニソノ關係等シキトキハ兩者ハ恐ラク同一物ナラム.

然レ共, 余等ハ遺憾ナガラ今日迄研究ニ資シタル材料ニ於テ遂ニ海螢ノ所謂 Photophlein (Harvey ニヨル) ニ當ルモノヲ見出シ得ザリシ事既述ノ如シ. 玆ニ於テ余等ハ Harvey ノ云ヘル所謂 Luciferin, Luciferase 及ビ Photophelein ノ 3 者ヲ容易ニ求メ得ル, カノ源氏螢ニ就テ之等 3 者ノ關係ヲ更ニ研究セントセリ. 然レ共螢ニ於テハ上記ノ如キ純化冷水「エキス」成分ノ製出ハ冷水「エキス」成分ガ既述ノ如ク易變性ナル爲メ遂ニ實驗不成功ニ終レリ.

第8章　發光ノ再發性

一度發光シテ後消光セシ光質ハ再ビ發光性ヲ得ルモノナリヤ否ヤ. Harvey[33] ハ發光ハ恰モ Methylenblue ⇄ Leucomethylenblue ノ如ク可逆性ヲ有スルモノニシテ發光物質ヲ L トセバソノ關係次ノ如シト.

$$LH_2 \rightleftarrows L + H_2$$

試ミニ海螢並ニソノ分泌物ヲ含メル海水ヲ遠心沈澱シテ夾雜物ヲ除キソノ上澄液ヲ低溫ニテ乾燥濃縮セルモノニ海螢ノ熱水「エキス」ヲ加ヘテ一旦發光セシメ，ソノ光ノ消エシモノヲ硝子管ニ密栓貯藏シ一晝夜後空氣ヲ通ズルトキハ再ビ發光ス之ヲ空氣中ニテ振盪シ消光シ密栓貯藏シ前回ト同樣處置セバ又發光シ數回モ之ヲ反覆セシメ得ベシ. 此事實ハ一度發光セシ光質ガ此時間內ニ可逆反應ニヨリ或ハソノ中ニ含有セラルカモ知レザル細菌ノ作用ニヨリテ還元セラレ發光能力ヲ得，酸素ノ侵入ニ遭ヒテ再度酸化サレ發光セシモノナルカ前回發光ノ際例之細粒ノ型ニテ未ダ發光セズシテ殘留シタル光質ガ貯藏中水中ニ微細溶解ニ次デ入リ來リシ酸素ニヨリテ發光ニ導カレシモノナルカ. 此點ニ關シテ上記同樣ナル發光「エキス」混合液中ニ石炭酸或ハ昇汞水ノ少量ヲ入レ封ジタルモノ並ニ青酸瓦斯ヲ通ジタル後封ジタルモノニ就テ一晝夜後空氣送入ニヨル發光如何ヲ見タルニ決シテ發光ヲ認ムルコト能ハズ. 但シ昇汞或ハ石炭酸ヲ加ヘタルモノハ或ハ光質ヲ denaturalize シタルヤモ計ラザレド，少ナクトモ既述ノ如ク光質ニ無害ナル青酸瓦斯ヲ用ヒタル例ヨリ觀テ此事實ハ寧ロ何レモ發光「エキス」混合液中ニ一度發光シタル光質ヲ再ビ發光性ニ復歸セシムル細菌ノ生存シ，夫レガ毒物作用ニヨリ殺滅セラレシモノナラム. 殊ニ Harvey[34] ガ腐敗菌ヲ一度消光セシ發光液中ニ混入シ密封放置後，再發光ヲ得シ事實ハ此感ヲ深クスベシ. 因ニ玆ニ注目スベキコトハ次ノ事實ナリ.

(1) 海螢及ビソノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水ニ青酸瓦斯ヲ通ジ密栓貯藏ニヨリテ再ビ發光セザルモノヲ 100°C 3分熱セシモノ (a) ＋ 海螢及ビソノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水 (b) …… 弱キ光

(2) (1) ノ青酸瓦斯ノ代リニ Carbol, $HgCl_2$ ヲ用ヒタルモノヲ 100°C 3分熱セシモノ ＋ (1. b) …… 不光

(3) 海螢及ビソノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水ニ青酸瓦斯或ハ Carbol 或ハ $HgCl_2$ ヲ入レ密栓貯藏ニヨリテ再ビ發光セザルモノ ＋ 普通ノ活性熱水「エキス」…… 著シキ發光

即チ之等3藥物ニヨリテ冷水「エキス」成分ハ特ニ影響セラレザルモ，熱水「エキス」成分ハ Carbol 及ビ $HgCl_2$ ニヨリテ侵害サレ青酸瓦斯ニヨリテハ然ラザルコトナリ. 若シ熱水「エキス」成分ガ假リニ Harvey 等ノ言フガ如ク光質 Luciferin ナラムニハ Carbol 並ニ $HgCl_2$ ノ場合酸化 Luciferin ガ細菌死滅ノ爲メ還元サレザリシカ，或ハ denaturalize サレシモノナラムモ，特ニ青酸瓦斯ノ場合ニ於テ夫レヨリ得ラルル熱水「エキス」モ冷水「エキス」モ活性ナルニ拘ラズ，發光セザル事ハ冷水「エキス」ト合シテ發光セシムル熱水「エキス」成分ハ斯ノ密栓貯藏サレテ空氣ヲ混ジテモ再ビ發光セザル液ノ中ニソノママノ型ニテ存在スルモノニ非ズシテ熱スルコトニヨリテ初メテ作成サレタルモノト云フベク，即チ熱水「エキス」成分ハ發光冷水液中ニアルベキ光質 Luciferin ト考フヨリハ Luciferin 以外ト考フルヲ妥當トスベク，又上記 Carbol,

$HgCl_2$ ノ作用モ，ソノ作用ヲ受ケシ液ヨリ活性熱水「エキス」ヲ得ラレザル點ノミヨリ光質ガ denaturalize 云々ト論斷スルガ如キハ當ラザル所ナルベシ.

Harvey[35] ハ尙ホ「フオルムアルデヒド」ノ存在ニ於テ「メチレン」青ヲ還元シ得ル乳汁モ亦酸化 Luciferin ヲ還元スト. 併シ余等ハ人乳ヲ生ノママ海螢及ビソノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水ニ加ヘ密封シ 24 時間後空氣ト接觸セシニ發光ヲ認メ得ザリキ. 反之人乳ヲ加ヘザル對照ハ明カニ發光セリ. 卽チ乳汁中ニハ一般無機及ビ有機化合物ノ外ニ生理的意義不明ナルモノ例之酵素トシテ Amylase, Saccharase, Lipase, Oixdase, Reductase, Fibrinferment 等存スト稱サルレドモ之等ノモノモ人乳中ニ含マレタル狀態ニテハ酸化光質ヲ還元シ或ハ何等カノ法ニヨリテ再發光ニ導キ得ザルモノノ如シ. 余等ノ實驗ニテハ蛙筋「エキス」モ亦消光セシ海螢竝ニソノ分泌物ヲ含メル海水ヲ再ビ發光セシム樣變化セシメ得ザリキ.

Harvey[36] ハ鹽類溶液中ノ Luciferin ト Luciferase 混液中ニ金屬電極ヲ入レ兩極間電位差 2 volts 內外ナル電流ヲ通ズルトキ陰極ニ於テ發光ヲ認メ，是レ同極ニテハ發生水素ニヨリテ酸化 Luciferin ガ Luciferin ニ還元サレ Luciferase 及ビ酸素存在ノ下ニ發光ストナセリ.

余等ハ海螢及ビソノ分泌物ヲ含ミ消光シタル熱水或ハ夫レ等冷水「エキス」ニ熱水「エキス」ヲ加ヘ發光セルモノニ線狀或ハ板狀白金電導子ヲ入レ，兩極間ノ距離ヲ 1—5 cm トナシ電壓 2—4 volts ナル直流電氣ヲ通ジタルニ水素瓦斯發生ヲ認ムル程度ニ至リテモ何レノ電極部ニモ光ノ現レ，又ハ發光ノ光度ノ增强スルヲ證セザリキ.

余等ハ尙ホ細菌等働カズバ發光反應ソノ可逆性ヲ有スルヤ否ヤヲ檢センガ爲メ，精製セシト思ハルル斯ノ純化冷水「エキス」ト熱水「エキス」トヲ混合シテ一度發光後消光セシモノヲ滅菌管中ニ密栓貯藏スルトキハ翌日或ハ翌々日ニ至リテ空氣ト接觸スルモ發光セザルコトヲ證シタルヲ以テ上述ノ如ク，一度發光セシ酸化光質ハ細菌等ニテ恐ラク還元セラルベキナラム. 但シ今消光セル冷水「エキス」ニ熱水「エキス」ヲ加ヘテ一度發光セシメシ後，消光シタルモノニ就テ見ルニ此消光液ハソノ中ニハ光質ガ總テ殘ラズ酸化サレ盡シタル爲メ最早發光セザルニ至リシモノニハ非ザルコト. 之ニ縱令結合光質ニセヨ，光質ヲ確カニ含メル消光セル冷水「エキス」ヲソノママ加フルモ光ラザルコトニヨリテモ想像サレ得ル所ニシテ，尙ホ此消光セル液ニ熱水「エキス」ヲ加フルトキハ發光スルヲ以テソノ中ニハ未ダ縱令結合セルニセヨ光質ヲ含ムモノト考ヘ得ラルヲ以テ前述細菌等ノ作用モ亦結合光質ヲ徐々ニ遊離セシムル作用ヲ有スルナラムトモ說明シ得ル理ナリ.

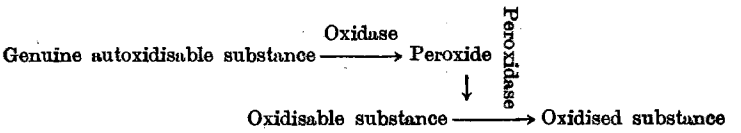
第 9 章　海螢竝ニ源氏螢ノ發光ノ際ノ酸化機轉ニ就テ

生物ノ發光ハ常ニ酸素ヲ必要トスル化學反應卽チ酸化現象ニ關聯スルモノトセバ如何ナル型ノ酸化現象ナリヤハ興味アル問題ナリ.

一般ニ組織內酸化ト稱セラルモノノ主ナルモノハ Peroxidase-oxidase 系統ト Glutathione

系統ナリ．然ラバ之等生物ノ發光ハソノ何レニ屬スルモノナリヤ又何レニモ屬セザル特種ノモノナリヤ．勝沼[38]ハ組織染色學的ニ Indophenolblau 形成反應ニヨル檢査方法ヲ以テ，源氏螢海螢等發光生物ノ發光器ノ Oxidase 含有量ヲ測定シタルニソノ特ニ多量ナルヲ認メザリシト．

言フ迄モナク，Peroxidase-oxidase 系統ニ屬スル酸化ハ Oxidase ニヨリテ Autoxidisable substance ガ Peroxide ノ型ニ酸化サレ此過酸化物ガ Peroxidase ノ助ケニヨリテ被酸化物質ヲ酸化スルモノナルコト次ノ如シ．



而シテ Peroxidase ノ存否ハ「グアヤク」丁幾ヲ用ヒテ簡單ニ證明シ得ベク，卽チ此丁幾中ニアル「グアヤック」酸ハ O_2 或ハ H_2O_2 ノ如キ Peroxide ニテハ酸化サレザルモ Statu nascendi ノ酸素ニヨリテ容易ニ酸化サレテ青色ヲ呈スヲ以テ此丁幾ヲ加ヘテ青色トナルモノハ Peroxidase 竝ニ此 Peroxidase ニ作用サルル Peroxid ヲ作ル Oxidase ノ共存スルヲ示シ，丁幾ト共ニ例之過酸化水素ヲ加ヘテ初メテ青色トナルモノハ Oxidase 無ク Peroxidase ノミヲ含メルモノナルベシ．

而シテ源氏螢ノ發光部ノ冷水「エキス」モ，海螢竝ニソノ分泌物ヲ含ム海水モ共ニ之ニ「グアヤク」丁幾ヲ加フルモ青色ヲ呈セズ，又夫レニ過酸化水素ヲ追加スルモ青變セザルヲ以テ少ナクトモ之等ノ方法ニテ證明シ得ル程度ニ Peroxidase ハ存在セザルモノニシテ，又源氏螢ノ尾部冷水「エキス」或ハ Harvey 等ニヨレバ光質ヲ含有スベキ海螢熱水「エキス」ニ Peroxidase ヲ有スル馬鈴薯搾汁ヲ加フルモ發光セシムルコト能ハズ，之ハ發光物質ヲ酸化セシムルニハ特種ノ Peroxidase ヲ要スルモノナルカ或ハソノ酸化現象ハ此 Peroxidase 系統ニ屬スルモノニ非ザルニヨルナラム．

然ラバ之等生物ノ酸化發光現象ハ Hopkins ノ所謂 Glutathione 系統ニ屬スルモノナリヤ．

既ニ Harvey[39] ハ光質 Luciferin ノ酸化ハ酸素ヲトルニ非ズシテ，水素ヲ放ツニアリト云ヘリ．又既述ノ成績例之熱水「エキス」成分ハ Glutathione 系統ニ於ケル Oxidisable substance ノ如ク耐熱性ナル點等ヨリ見テ或ハ寧ロ此系統ニ屬スルニ非ズヤト想像セシムルモノナリ．

此 Glutathione 系統ニ屬スル酸化反應ニテハ Oxidisable substance ハ耐熱性ノモノニシテ，ソノ H 原子ヲ—S—S—ナル Glutathione ニ攝取サレテ酸化シ此際 HS—HS トナリシ所謂 Reduced Glutathione ハ次ニ所謂 H_2—acceptor ナル例之 O_2 ニソノ H ヲ渡シ直チニ元ノ S—S ナル安全型ニ復歸スルコト下ノ如シ．

(Oxidisable substance)

$$X<^{H}_{H}+G—S—S—G \rightarrow 2\,GSH+X$$

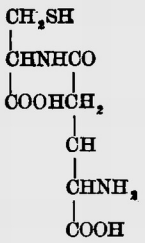
(Thermostabile tissueresidue)

(H_2—acceptor)

$$2\,GSH+A \rightarrow G—S—S—G+A<^{H}_{H}$$

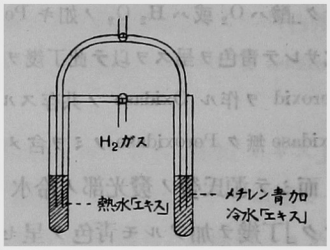
(Methylenblue or O_2 in air)

而シテ此 Glutathione



ハ Nitroprussidereaction ニテ容易ニ證明サルヲ以テ

余等ハ源氏螢ノ發光部冷水「エキス」，胴部熱水「エキス」及ビ海螢並ニソノ分泌物ヲ含メル海水，ソノ熱水「エキス」等ニ就キテソノ反應ヲ檢セシニ源氏螢ニ於テハ(±)海螢ニ於テハ全然陰性成績ヲ得タリ．又此系統ニ屬スル酸化ハ無酸素ノ狀ニテモ H_2—acceptor 例之 Methylenblue ノ同時ニ存スルトキハ Methylenblue ノ存在スル限リ酸化ハ進行スルモノナルニ次ノ略圖ニ示スガ如キ裝置ニヨリテ水素瓦斯ヲ以テ器中並ニ液中ノ酸素ヲ驅逐シタル源氏螢尾部冷水「エキス」ヲ同樣ニ酸素ヲ追ヒ出シ Methylenblue ヲ含ミテ青藍色ナル源氏螢胴部熱水「エキス」ニ酸素ナキ狀態ニ於テ混合スルモ室溫(20°C)ニ於テ 10—20 分間觀察シタル所ニテハ Methylenblue 依然存在スルニ拘ラズ遂ニ發光ヲ認ムルコト能ハズ反之是レニ空氣ヲ通ゼバ忽チニシテ著明ナル發光現レタリ．卽チ之等ハ發光ニ關スル酸化現象ガ Glutathione 系統ニモ屬スルモノニ非ザルヲ示スモノニシテ，生物ノ發光現象ハ之等 2 系統以外ノ特種ノ酸化反應ニ因ルモノノ如シ．



第 10 章 總 括

1) 本實驗材料ニハ瀨戸內海，宇野港沖ニ產スル海螢，學名 Cypridina Hilgendorfii Müller ヲ用ヒタルモノニシテ，此動物ノ發光物質ハソノ保存法ヨロシキヲ得バ耐久性大ナリ．

2) 海螢ニ於テハソノ發光腺ヨリ出ヅル分泌物ガ發光スルモノニシテ，ソノ發光ハ發光菌ノ寄生ニ因ルモノニ非ズ．然レ共一度發光シテ後消光セシ發光液ハ細菌等ノ作用ニヨリ再ビ發光性ヲ得．之ハ或ハ一度發光セシ酸化光質ノ細菌等ニヨリ還元サレシ結果ナルベク，比較的人工的ニ純化セシ發光液ハ無菌ノ狀態ニ於テ再ビ發光性ヲ得ズ．

3) 海螢ノ發光ニハ螢ノ場合ニ比シソノ量甚ダ小ナレ共酸素ヲ必要トス．

青酸ハ發光ヲ抑制セズ．

4) 海螢ノ發光物質ハ「エーテル」並ニ「クロロホルム」ニ溶解セズ．故ニ恐ラク一般脂肪或ハ類脂肪ニハ非ザラン．

5) 海螢ノ消光セル冷水「エキス」或ハ海螢並ニソノ分泌物ヲ含ミ消光セル海水ニ，海螢ノ熱水「エキス」或ハ上記海水ヲ 100°C 3 分煮沸シタル物ヲ加フルトキハ發光ス．反之余等ノ使用セ

シ海螢外ノ動物ノ熱水「エキス」ヲ加フルモ發光セザリキ.

6）此活性熱水「エキス」成分ハ「エーテル」ニ溶解セズ骨炭ニ吸着サルレ共，濾紙並ニ「コロヂューム」膜ヲ通過ス.

7）活性冷水「エキス」成分ハ55°C乃至60°C 3分ニテソノ作用ヲ失フ.「エーテル」ニ溶解セズ，骨炭ニ吸着サレ濾紙ヲ通過スレドモ「コロヂューム」膜ヲ通過セズ.

活性冷水「エキス」ハ一般糖反應，蛋白沈澱反應陰性ナレ共，唯 Molisch 反應陽性ナリ. 螢ノ場合ト異ナリ「アルカリ」ニ依リテ發光セズ.

8）海螢ニ於テハ次ノ如キ手段ニヨリ冷水「エキス」成分ヲ含ミ熱水「エキス」成分ノ得ラレザル物ヲ造リ得.

海螢並ニソノ分泌物ヲ含ム海水 + 1/4 倍量 alkohol
- 沈澱物（熱水「エキス」－ / 冷水「エキス」＋）
- 濾液 + 2 倍量純「アルコール」
  - 沈澱物（冷水「エキス」＋ / 熱水「エキス」－）
  - 濾液（冷水「エキス」－ / 熱水「エキス」＋）

此方法ヲ用ヒテ所謂 Luciferin 並ニ Photophelein ノ異同ヲ決定セント試ミタレ共海螢並ニ螢ニ於テ不成功ニ終レリ.

9）海螢並ニ螢ノ發光ニ關與スル酸化現象ハ Peroxidase 系統ニモ，Glutathione 系統ニモ屬セザル特種ノ酸化反應ニ因ルモノノ如シ.

發光細菌ノ發光ニ就テ

第1章　實驗材料

本實驗材料ハ矢崎[40]ガ「まつかさ」魚（Monocentris japonica）ノ發光器中ヨリ分離シタル發光性細菌ニシテ之ヲ3%食鹽加寒天或ハ「ブイヨン」ニ培養シテ使用セリ. 此發光物質ハ細菌ヲ瑪瑙ノ乳鉢中ニテ可及的細磨シ Chambeland 氏 Tonfilter ニテ濾スモ通過セズ. 但シカノ海螢ノ發光性分泌物モ此 Tonfilter ヲ通過セザルヲ以テ以上ノ事實ノミヨリシテ發光細菌ノ發光物質ハ細菌體內ニノミ存スルトノ斷定ヲ許サズ.

第2章　發光ニ對スル溫度ノ影響

試驗管內ニ注入シタル發光菌ノ「ブイヨン」培養基ヲ種々ノ溫度ニ變更シテ，カノ Hess 氏 Differential pupilloskope 附屬ノ所謂 Double frame ヲ使用スル光度測定法ニヨリテ各溫度ニ於ケル光度ヲ觀察セシニ室溫 20°C ヨリ漸次溫度低下スルニ從ヒ光度段々減弱シ 0°C—(—5)°C ニ於テ全ク發光ヲ認メシメザルニ至ル. 併シ之ヲ溫ムルトキハ再ビ光ヲ發シ 30°C 前後迄ハ次第ニ光度增强シ是レ以上ニ於テハ急ニ光薄クナリ 40°C ヲ超ストキハ遂ニ光消ユベシ. 又 40°C 前後ノ溫度ニアル事短時間ニシテ冷却セバ幾分發光シ初ムト雖モ

40°C ニ昇ラザル以前ノ同溫度ノ時ト比較シテソノ光度餘程減弱スルヲ以テ光質ハ 40°C 前後ニ於テ既ニ破壞サルルモノノ如シ Morrison[41] モ亦 Princeton fish ヨリ得シ Bact. phosphorescens ニ於テ殆ド同樣ノ事實ヲ認メ溫度係數ハ van't Hoff 氏規則ニ從ハズシテ，ヨリ甚ダ高ク且非常ニ變動性ナリト稱セリ．

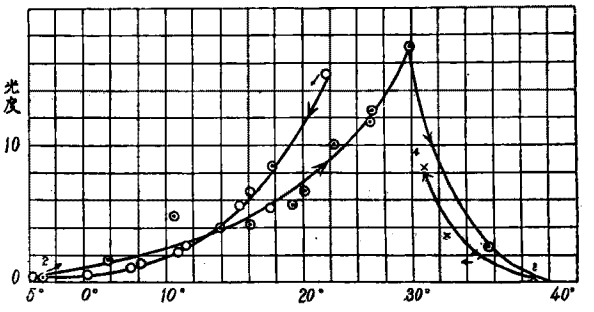
余等ノ成績ハ次ノ附圖ニ示ス如クニシテ，ソノ溫度係數モ

0°—10° ノ間デハ	6.0—5.0	13°—23° ノ間デハ	3.0
1°—11° ノ間デハ	5.0	16°—26° ノ間デハ	2.7
3°—13° ノ間デハ	4.5	19.5°—29.5° ノ間デハ	2.6
10°—20° ノ間デハ	3.4—2.3		

30°C 以下ニ於テハ大約6.0—2.6ノ間ニシテソノ範圍內ニテハ低溫度ニ於ケルホド係數ノ高キ傾向アリ．30°C 以上ナルトキハ却テ光度減弱シテ急劇ナルコト既述ノ如シ．

細菌發光ニ及ボス溫度ノ影響

變溫順序 ○[1] → ⊙[2] → ×[3] ← ×[4]



第3章 發光ト酸素

Harvey 及ビ Morrison[42] ハ發光菌ノ發光ハ 0.005mm Hg 以下ノ酸素分壓ニテ始メテ消光スト．

余等ノカノ寒天培養基中ニテ發光セル細菌ニテ檢シタル成績ニテハ Harvey 等ノ云フガ如クソノ必要酸素量恐ラク小ナル爲メカ空氣中ノ酸素量ニテ既ニ最モ强ク發光セルモノラシク，更ニ純酸素一氣壓ニ昇ルモ光度ニ增加ナク又4氣壓迄ニ上昇シタル程度ニテハ減光スルコトモ認メザリキ．

第4章 發光ニ及ボス二三試藥ノ影響

本發光菌ノ發光ハソノ浮游液ニ酸或ハ「アルカリ」ヲ注加スルトキハ抑止サルモノニシテ，「メトール」，「ヒドロヒノーン」現像液モソノ「アルカリ」性ナル爲メカ發光ヲ抑止セリ．源氏螢ニ於テハ何等作用ヲ特ニ認メザリシ過酸化水素モ發光ヲ中止シ，消光シタル螢ノ發光部冷水「エキス」ヲ著シク再ビ發光セシメタル，2% 苛性「ソーダ」，「メトール」，「ヒドロヒノーン」現像液モ本菌ノ發光減弱乃至消光セルモノヲ增强或ハ再ビ發光セシムルコト能ハズ．又北里氏培養

皿ニ培養シタル發光菌ノ發光ハソノ中ヘ青酸瓦斯ヲ長時間通ズルトキハソノ中ノ酸素驅逐ニ依ル爲メカソノ光度著シク減弱シタレドモ遂ニ全ク消光スルニ至ラザリキ.

第5章　發光菌ニ於ケル所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ——ノ存否ト分布

未ダ發光細菌ニテハ所謂 Luciferin モ Luciferase モ分離シ得ザルモノナリ. 余等モ發光セル發光菌ヲ含メル「ブイヨン」培養基ヲ3分間100°C ニ熱シ濾紙ニテ濾過セシモノヲ, 同樣「ブイヨン」培養基ヲ瑪瑙乳鉢ニテ細磨シ光薄クナレルモノニ加フルモ光度ノ毫モ增スヲ認ムコト能ハズ. 又海螢ノ活性冷水「エキス」ニ加フルモ發光セシムルコト能ハズ. 故ニ本發光菌ヲ含メルカカル培養基中ヨリハ同菌ニ對シ發光的ニ作用スル所謂熱水「エキス」成分モ, 海螢ニ對シ活性ナル熱水「エキス」成分モ製出スルコト能ハザルモノナリ.

又海螢ノ冷水「エキス」ニ對シテ活性ナル海螢ノ熱水「エキス」, 又ハ螢ノ發光體部冷水「エキス」ニ對シテ活性ナル蠶蛹ノ熱水「エキス」ヲ發光減弱セル本發光菌ノ「ブイヨン」培養基中ニ加フルモ光度增スコトナシ. 故ニ海螢或ハ源氏螢ノ冷水「エキス」ニ對シ發光的作用アル物質ニ作用サル物質モ本發光菌ヲ含メル斯カル培養基中ニハ發見出來ザルモノトス.

以上余等ノ實驗成績ニヨレバ, 發光細菌ニ於テハ源氏螢及ビ海螢ニ於テ證明セシガ如キ所謂 Luciferin ナル熱水「エキス」竝ニ所謂 Luciferase ナル冷水「エキス」成分ヲ發見スル事能ハズ.

第6章　總　括

1) 本實驗ニハ矢崎ガ松笠魚ヨリ分離シ3% 食鹽加寒天或ハ肉汁培養基ニ養培シタル發光細菌ヲ使用ス.

2) 本菌ノ發光ニハ30°C 內外ナル至適溫度ヲ有シ低溫0°C 乃至 −5°C, 高溫40°C 以上ニ於テ發光停止ス. 而シテ前者ノ場合ハ再ビ溫ムルトキハ發光スレドモ後者ノ場合ハ再ビ冷却スルモ最早發光セズ.

又30°C—0°C 間ニ於テハソノ溫度係數ハ2.6—6.0 ニシテソノ範圍ニ於テハ溫度低キ程係數高シ.

3) 本菌ノ發光ハ酸素壓1/5氣壓以上4氣壓迄ニ於テハソノ光度ニ變化ナシ.

4) 本菌ノ發光ハ酸及ビ「アルカリ」ニヨリテ抑制サレ青酸瓦斯ニヨリテハ直接ニ影響サレザルモノノ如シ. 又螢ノ場合ニ於ケルガ如ク消光セル菌液ヲ「アルカリ」ニヨリ發光セシムルコト能ハズ.

5) 本菌ニ於テハ同菌ニ對シ有效ナル所謂 Luciferin 卽チ熱水「エキス」竝ニ所謂 Luciferase 卽チ冷水「エキス」ヲ發見スルコト能ハズ又海螢ニ對スル活性熱水「エキス」モ海螢竝ニ螢ノ活性熱水「エキス」成分ニ作用サル物質モ製出或ハ發見シ得ズ.

化學發光ニ關スル研究

(本實驗成績ノ一部ハ大正15年秋岡山生化學會ニ於テ講演發表シタルモノナリ.)

第1章　緒　論

生物發光ガ化學現象ナルコトハ既述ノ諸觀察ヨリシテモ明カナルヲ以テ化學發光ニ向ヒテ些カ研究ノ歩ヲ進メルコトトセリ. 但シ古來化學發光トシテ例之Trautz[43]ノ如キモ多數ノ例ヲ列記スレドモ.ソノ多クハ例ヘ夫レ等ノ發光物質ガ生物體內ニ於テ發見サレ或ハ存在可能ノモノニシテモ, ソノ發光反應ニ或ハ生體內ニテ想像シ難キ濃度ノ「アルカリ」ヲ要シ, 或ハ生體ニテハ堪ヘ得ベカラザル高溫度ヲ必要トスルガ如キ物ナリ.

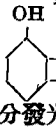
故ニカカル物ガ生物體內ニテ發光スル爲メニハ吾人ハ又何等カ他ノ力ヲ假定導入セザルベカラズ. ヨリテ余等ハ夫レ等ノ內, 低溫ニ於テ生體現象トシテ考ヘ餘リ無理ナラザル試藥乃至方法ニヨリテ發光セシメ得. 殊ニHarvey[44]ニヨレバ過酸化水素ノ存在ニ於テ植物性Oxidaseニヨリテ發光セシメ得トイフ焦性沒食子酸ノ發光並ニMallet[45]ノ發表セル「アルブミン」ノ發光ヲ引用研究シ, ソレヨリ進ミテ既ニ生物發光現象ヨリ得タル斯ノ冷水並ニ熱水「エキス」ノ性質作用方法等ヲ比較參照シ, 生物發光ノ原理ノ闡明ニ探索ノ緒ヲ求メントセリ.

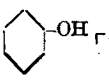
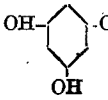
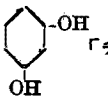
第2章　焦性沒食子酸ノ發光

焦性沒食子酸ノ水溶液ハTrautz[46]ニヨレバ,「フォルムアルデヒド」ノ存スル所ニテ過酸化水素ニヨリテ酸化サレシ時, Harvey[47]ニヨレバ過酸化水素ノ存在ノ許ニ植物性Oxidaseノ作用ニヨリテ發光スト. 余等モ亦焦性沒食子酸ノ水溶液ニ過酸化水素ノ存在ニ於テアル種第3物質ヲ加フトキハ室溫ニ於テ數分間恰モ細菌性發光ノ如キ光ノ現ルルヲ認メ, 此第3物質トシテ余等ハソノ成績ヨリ植物搾汁, 動物血液及ビ化學藥品ト大別セリ.

第1節　反應物質ニ就テ

第1項　第1物質. 焦性沒食子酸及ビソノ代用品

焦性沒食子酸  ハ水溶液ニ於テ其微量ナルモ本法ニヨリ認識シ得ルモノニシテ $\frac{m}{10000}$ ノ濃度ニテハ充分發光スルモノナリ. 而シテ焦性沒食子酸ノ類緣「タンニン」(分子量化學的構造未ダ十分明カナラズ) ノ水溶液モ同樣發光スルモノニシテ吾人ノ飲用スル番茶, 紅茶等並ニ「ゲンノショーコ」, 含羞草, 柿等ノ水製「エキス」等ヲ焦性沒食子酸ト同樣發光ニ導キ得ルハソノ內ニ恐ラク「タンニン」ヲ含有スル爲メナルベシ.

焦性沒食子酸ト化學構造上關係アリ或ハ焦性沒食子酸ノ還元性ヨリ想像シテ生體內ニテ形成可能ニシテ還元性アル「ヒドロキノン」  「プロログルチン」  「レゾルチン」  「ヂアミ

ドフエノール」$C_6H_3\begin{cases}NO_2\\NO_2\\OH\end{cases}$「フエノール」$C_6H_5OH$「トルオール」$C_6H_5CH_3$ 安息香酸「ナトリウム」C_6H_5COONa「サルチル」酸 $C_6H_4\begin{cases}OH\\COOH\end{cases}$「テオフイリン」$C_7H_8N_4O_2$「アドレナリン」$C_6H_3(OH)_2CH—OHCH_2NHCH_3$ 乾燥甲狀腺末蟻酸 HCOOH 抱水「クロラール」$CCl_3C\begin{cases}H\\OH\\OH\end{cases}$「アセトアルデヒド」$CH_3C\begin{cases}H\\O\end{cases}$「エチールアルコール」$C_2H_5OH$「アミールアルコール」$C_5H_{11}OH$.「グアヤコール」$C_6H_4\begin{cases}OH\\OCH_3\end{cases}$ 葡萄糖 $C_6H_{12}O_6$「オレーフ」油,「カテヒ」油, 五倍子,「メートル」,「ヒドロキノン」現像藥等ヲ焦性沒食子酸ノ代リニ夫レト同樣方法ニテ使用シタレドモ, 發光ヲ認ムルコト能ハズ. 只阿仙藥（阿仙藥鞣酸ト阿仙藥素トヲ含ム）ノ熱湯抽出液並ニ酒精抽出液及ビ「ミルラ」丁幾ノ發光ヲ見.「アルカリ」加「フオルマリン」ガ過酸化水素ト馬鈴薯搾汁ノ注加ニヨリテ發光スルヲ認メタリ.

第2項　第2物質. 過酸化水素及ビソノ代用品

常ニ過酸化水素ヲ必要トシ, 之ニ代ルベキ物質ヲ發見シ得ザリキ.

第3項　第3物質

（イ）植物搾汁

例之馬鈴薯ヲ「ワサビオロシ」(山葵卸)ニテ布片上ニ卸シ, ソノ搾汁ヲ採集シテ用フ. 此搾汁ハ可成リノ酸性反應ヲ呈スルヲ以テ之ヲ沈降炭酸「カルシウム」ニテ中和シテ用フレバ更ニ有效ナリ. 然レドモ搾汁ハ暫時放置スルトキハ容易ニ作用ヲ失ヒ, 又 60°C 5分ニテモ無效トナルモノナリ.

大根ノ搾汁,「きくいも」ノ搾汁モ亦作用ヲ有シ, 松茸ノ冷水抽出液モ酸性ニシテ有效ナレドモ, 柿ノ搾汁ハ此作用ヲ缺ゲリ.

（ロ）血　液

山羊, 犬等ノ新鮮ナル血液ヲ水ニテ稀釋シタル液, 犬ノ乾燥セシ血液ノ水溶液並ニ牛ノ纖維素ヲ焦性沒食子酸及ビ過酸化水素ト混ジ發光セシムルコトヲ得タリ.

（ハ）化學藥品

第3物質トシテ「フオルマリン」, 沃度丁幾並ニ Lugol 氏液ヲ用ヒ得ルモノニシテ是レハ使用上甚ダ簡便ナリ.

就中「フオルマリン」ハ既述ノ如ク夫レ自體光質トシテ發光ニ導カレ得ルモノナルベケレド此際ハ後ニモ述ブル如ク光質トシテ働カザルモノニシテ, 同時ニ「アルカリ」例之苛性「ソーダ」水溶液ヲ必要トシ生物發光ノ場合ト異ナリ相當著シキ溫熱發生ヲ伴ヘリ. 然レドモ, 焦性沒食子酸ノ微量ヲ人體皮膚, 爪, 兎, 犬, 猫, 鼠等ノ白髮, 死シ漂白シタル動物ノ皮等ニ塗布シ, ソノ上ニ過酸化水素並ニ「フオルマリン」(「アルカリ」ヲ加フトキハ著明) ヲ加フル時ハ毫モ溫感ヲ感ゼザル程度ニ於テ乾燥スルニ從ヒ區劃鮮明ナル蒼白ノ恰モ發光菌ノ發光ノ如キ發光現象ヲ認メ得ルモノニシテ此發光ハ試藥ノ乾燥ト共ニ著シクナリ長時間繼續シ人體皮膚ニ於テハ脂肪ヲ被ラザル部位ニ於テ著シク, 皮膚ニ塗布スル試藥ハ夫レヲ皮膚ニヨク擦リ込ミオク程著シキ效果ヲ發揮ス. 此事實ハ余等ノ1人ガ偶々上記ノ實驗中試藥ニ染ミタル指尖ノ暗室中ニテ發光

セルヨリ發見シタルモノナリ.

以上3種試藥ノ外2% 黃色血鹵鹽並ニ赤色血鹵鹽水溶液ヲ用ヒタレドモ發光セシムルコト能ハザリキ.

第 2 節 焦性沒食子酸ノ發光ト水素「イオン」濃度トノ關係

焦性沒食子酸水溶液ノ發光ニ對シテ第3物質トシテ血液，又ハ植物搾汁ヲ用フトキハソノ反應中性附近ヲ可トシ酸性或ハ「アルカリ」性ニ偏スルコト甚ダシク發光スルコト能ハズ. 又ハ發光セルモノ消光スベシ.

之ニ反シ「フオルマリン」ヲ用フトキハ「アルカリ」性ナルヲ可トシ，「アルカリ」ヲ特ニ加ヘザルモ發光ヲ認ムルコトアルモ甚ダ微弱ニシテ多クノ場合認ムルコト能ハズ. 又「アルカリ」ヲ加ヘテ著シク發光セルモノニ酸ヲ加フトキハ消光シ，之ニ「アルカリ」ヲ入ルレバ再ビ發光シ又酸ヲ加フトキハ消エ. 更ニ「アルカリ」ニヨリテ發光ヲ認メ得タルガ如キ例アルヲ以テ酸性ハ發光ヲ抑制スルモノノ如シ.

第 3 節 二三藥品ノ焦性沒食子酸ノ抑止現象

Harvey[48] ハ焦性沒食子酸ノ過酸化水素並ニ植物性 Oxidase ニヨル發光ハ n/1280 濃度ノ KCN ニヨリテ抑制サレリト. 余等ハ NaCN 及ビ KCN 水溶液ヲ用ヒ焦性沒食子酸ノ過酸化水素，「フオルマリン」，「アルカリ」ニヨル發光ノ影響ヲ檢シタル所ニテハ抑止サレザリキ. 又源氏螢ノ發光ニ於テハ抑制作用ヲ認メタル KBr ハ第3種物質トシテ「フオルマリン」，馬鈴薯ノ何レヲ用ヒタル場合モ發光ヲ抑止セズ. 只「ブローム」水ノミソノ發光ヲ抑制スルヲ認メタリ.

第 4 節 各發光反應物質ノ作用機制

焦性沒食子酸水溶液ノ發光ニ關與スルカノ3種ノ物質ノ各作用方法ヲ按ズルニ，植物搾汁血液並ニ「アルカリ」加「フオルマリン」等總テ第3種物質トシテ一括シタル各物質ハソノ作用恐ラク同一ニシテ過酸化水素ノ共存ニ於テ作用スル點，カノ植物搾汁ガ 60°C ニ 5 分間ニシテソノ作用ヲ失フ點，松茸ノ熱湯抽出液ノ無作用ナル點等ニヨリテ之等ガ過酸化水素ナル過酸化物質ニ作用スル所謂 Peroxidase 機能ヲ有シ，ソノ結果酸化サレ易キ焦性沒食子酸ヲ酸化シ此際發光ヲ伴フモノナラムトハ容易ク想像サルル所ナリ.

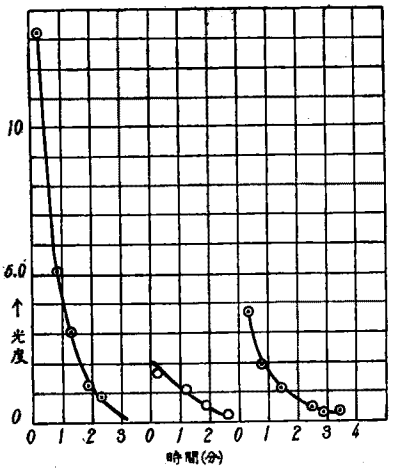
而シテ果シテ此所謂第3物質ガ Peroxidase ノ作用ヲ有スルトセバ，他ノ Peroxidase 反應例之「グアヤック」反應ヲ有スベキ筈ニシテ余等ハ焦性沒食子酸及ビ過酸化水素ト合シテ發光能力ヲ有スル血液ハ勿論，馬鈴薯，大根，「きくいも」等ノ植物搾汁並ニ松茸ノ冷水抽出液等ニ於テ「グアヤック」反應ヲ檢シソノ陽性ナルヲ認メシメシノミナラズ. 「アルカリ」ヲ加ヘタル「フオルマリン」モソノ陽性ナルヲ認メ(「アルカリ」ナキ「フオルマリン」ハ陰性ナリキ) 反之，同ジク植物搾汁ナレドモ，焦性沒食子酸並ニ過酸化水素ニ混ズルモ發光能力ナキ例之柿ノ實ノ搾汁ニテハ「グアヤック」反應モ陰性ナルヲ認メタリ. 尙ホ又馬鈴薯又ハ大根ノ搾汁ヲ純「アルコール」ニテ沈降セシメ沈澱物ヲ水ニ溶カシ分離セル Peroxidase (「グアヤック」反應陽性ナリ) ハ勿論焦性沒食子酸水溶液ト過酸化水素ノ混液ニ合スルトキ發光ノ發現スルヲ見タリ.

然レドモ余等ハ尙ホ本發光反應ニ缺クベカラザル焦性沒食子酸屬及ビ過酸化水素ノ作用方法ヲ確實ニ決定センガ爲メ本反應ニ關與スル之等ノ各物質ノ量ヲ增減シ發光現象ニ及ボス影響ヲ檢シタリ．但シ植物搾汁ノ如キハソノ製成毎ニソノ效力異ナリ且ソノ作用刻々減弱シ，ソノ量ヲ增減シ比較スルガ如キ此實驗ニハ不都合ナルヲ以テソノ效力變化增減シ難クソノ效果一定セル化學藥品ヲ用フルコトトシ，焦性沒食子酸水溶液，過酸化水素，苛性「ソーダ」水溶液及ビ「フオルマリン」ヲ選ベリ．

ソノ成績次圖ノ如シ．

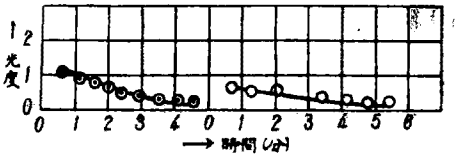
全實驗ニ於ケル對照ト焦性沒食子酸減量

0.8	0.2+0.6水	0.4+0.4水	Pyro
1.0	1.0	1.0	H_2O_2
0.5	0.5	0.5	NaOH
0.5	0.5	0.5	Form.



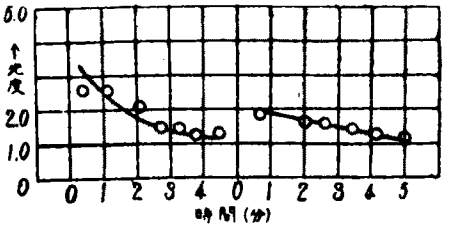
過酸化水素量ノ減少

Pyro	0.8	0.8
H_2O_2	0.5+H_2O 0.5	0.5+H_2O 0.5
NaOH	0.5	0.5
Form.	0.5	0.5



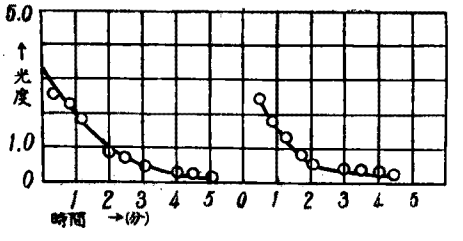
「フオルマリン」量ノ減少

Pyro	0.8	0.8
H_2O_2	1.0	1.0
NaOH	0.5	0.5
Form.	0.25+H_2O 0.25	0.25+水0.25



「アルカリ」ノ減量

Pyro	0.8	0.8
H_2O_2	1.0	1.0
NaOH	0.25+水0.25	0.25+水0.25
Form.	0.5	0.5



此成績ニヨレバ焦性沒食子酸量ノ增減ハソノ反應速度ヨリモ寧ロ絕對光度ヲ變ジ，反之，過酸化水素及ビ「フオルマリン」，「アルカリ」ノ增減ハ發光漸消速度，卽チ反應速度ニ影響スルモノラシク此點ヨリ觀ルモ此發光反應ハ焦性沒食子酸ヲ被酸化物質，過酸化水素ヲ過酸化物，「アルカリ」加「フオルマリン」ヲ Peroxidase トセル Peroxidase 系統ニ屬スルモノラシク一般ニ本發光現象ニ於テハ被酸化物質焦性沒食子酸ナル發光質ガ過酸化水素ナル Peroxid ノ存在ニ於テ「アルカリ」加「フオルマリン」，或ハ血液，植物搾汁ナル Peroxidase ノ作用ニヨリ發生サレシ Statu nascendi ノ酸素ニヨリテ酸化サレソノ際發光ヲ伴フモノナラムコト明カナリト信ズ.

然レドモ玆ニ特ニ注意スベキコトハ既述ノ人體皮膚ソノ他動物ノ皮膚，白髮，加之，實驗白衣等ニ附着シタル上記反應物質ノ混合物ガ著明ナル發光現象ヲ認メシムルコトナリトス．是ハ試驗管內ニテ認ムル發光ト甚ダシクソノ狀ヲ異ニシ，試驗管內ニテハ相當溫熱ヲ放散シ，發光急劇ニ現レ持續時間モ短キニ比シ，長時間繼續スルモノニシテ例之皮膚ニ用ヒタルモノニテハ毫モ溫覺ヲ伴ハズ．發光ハ徐々ニ乾燥スルト共ニ著シクナル．此著シキ現象ハ死屍ニ於テモ同樣ナルヲ以テ體溫ノ室溫ヨリ高溫ナル爲メニ非ズ．又時間持續スルヲ以テ空氣トノ接觸面積ノ廣キガ爲メニモ非ザルベシ．焦性沒食子酸水溶液ニ過酸化水素「フオルマリン」ヲ混ジタルモノニ食鹽ヲ加フトキハ發光シタルモ，汗ノ成分ノミナラバ發光ニ影響ナク，漂白シタル死屍ニ於ケル事實ハ勿論汗ノ爲メナリト想像スルコトヲ得ズ．唯，特ニ試藥ヲ擦リ込ミ置キタルトキ暫クシテ全ク乾燥シタル皮膚ニ於テ最著明ナル發光ヲ示ス事實ハ皮膚內ニ存スル Oxidase ノ共同作用ニヨルカ，或ハ之等ノ試藥ガ何カ身體蛋白體等ト結合シ此狀態ニ於テ試驗管內ノ純無機的發光ト程度ヲ異ニセル發光狀態ヲ呈セルモノナルヲ暗示スルモノニ非ザルカ．遮莫，余等ノ觀察セシ所ニテハ人體皮膚等ニ於ケル發光ガ試驗管內發光ヨリ餘程自然界ノ生物發光ニ類似セルコトハ甚ダ興味アルコトナリト思惟ス.

第 3 章　次亞鹽素酸「ソーダ」ニヨル發光

余等ガ焦性沒食子酸ノ發光ニ關シ研究セシ翌年 1927 年 Mallet[49] ハ Javel 氏液ト觸レタル皮膚ノ發光スルヲ認メテ是レ恐ラク皮膚角質ニソノ因アルベシト想像シ，「ゼラチン」，「アルブミン」竝ニソノ誘導體ニ就キ檢シタルニ之等ノ物質ハ次亞鹽素酸鹽類，或ハ次亞「ブロームム」酸「ソーダ」ノ存在ニ於テ發光スルヲ認メタリト報告セリ．當時余等ハ既述ノ如キ皮膚上ニ於ケル焦性沒食子酸使用時ノ發光ニ多大ノ興味ヲ有シ居タルヲ以テ Mallet ノ云フ所ヲ追試スル傍ラ，些カ余等ノ發光ニ對スル知見ト比較研究スルコトトセリ．ソノ大要ヲ下ニ述ベン.

今 10% 卵白水溶液ニ次亞鹽素酸「ソーダ」(NaClO) ヲ加フトキハ發光ス．是レ卵白中ニハ「アルブミン」等ガ含有サルヲ以テ Mallet ノ言フ所ノ事實ナルベシ．而シテ此反應ニ於ケル兩者ノ作用方法ハ如何ト云フニ

卵白水溶液ハ之ニ過酸化水素ヲ加フルモ，過酸化水素ト「フオルマリン」ヲ加フルモ過酸化水素ト「フオルマリン」ニ「アルカリ」ヲ加フルモ光ラズ．又卵白水溶液ニ焦性沒食子酸水溶液ヲ混ズルモ，尙ホ夫レニ過酸化水素或ハ過酸化水素ト「アルカリ」ヲ加フモ焦性沒食子酸ヲ發光セシメザルニ反シ

次亞鹽素酸「ソーダ」液ハ之ニ過酸化水素ヲ加フルトキハ盛ニ酸素ヲ發生シ之ヲ焦性沒食子酸水溶液ニ加フトキハ發光スルヲ以テ此物質ハ水溶液ニ於テ恐ラク

$$ClONa + H_2O = HCl + NaOH + O$$

ノ如キ反應ニヨリテ發生機ノ酸素ヲ放チ卵白成分ヲ酸化シソノ際發光ノ伴フモノナルベシ．

次ニ余等ハ皮膚ニ次亞鹽酸曹達液ヲ塗リ，尙ホツノ上ヘ卵白水溶液或ハ過酸化水素ヲ塗擦シタルモ何レモ發光ヲ認メズ．只次亞鹽素酸曹達ト焦性沒食子酸水溶液並ニ過酸化水素トヲ皮膚ニ塗布セルトキ發光ヲ認メタリ．但シ此發光ハ單ニ焦性沒食子酸ノ發光條下（第2章第1節第3項(ハ)ニ述ベタルモノト同樣ナルベク，特ニ身體皮膚ガ之等藥品ニヨリ酸化サルノミニテ發光スルヲ證スルコト能ハザリキ．

反之，次亞鹽素酸曹達液ニ馬鈴薯搾汁ヲ加フルトキハ發光ヲ認ム．之ハ馬鈴薯ヲ 100°C ニ 3 分間熱シタルモノニ於テモ發現スルモノナルヲ以テ此發光ハ馬鈴薯中ニ含マルル Peroxidase ノ作用ノ關與ト云ハンヨリソノ中ノ他ノ成分ノ次亞鹽素酸曹達ノ作用ニヨリテ酸化サルニ因ルモノト云フベシ．

斯ク，卵白ノ如キ動物蛋白質ガアル狀態ニ於テ發光現象ニ關與シ，或ハ焦性沒食子酸屬ヲ含マザル馬鈴薯成分モ發光スルガ如キ事實ハ又甚ダ興味アルコトナリ．

尙ホ卵白水溶液ト次亞鹽酸「ソーダ」液トノ發光ハ青酸加里ニヨリテ影響サレザルモノナリ．

附　記

次亞鹽素酸「ソーダ」液ニ「フオルマリン」ト過酸化水素ヲ混ズルトキハ發光スルヲ認ムベシ．然レドモ是ハ次亞鹽素酸「ソーダ」ノ發光スルニ非ズシテ「フオルマリン」ノ酸化サル際發光スルモノナルコト焦性沒食子酸發光條下既述ノ理由ニヨリテ明カナリ．

第 4 章　生物發光トノ關係

以上ノ化學發光ニテ觀察シ得タル事實中生物ノ發光ト關聯シテ特ニ注目サルルコトハ既述ノ如ク被酸化發光物質焦性沒食子酸及ビソノ類緣ガ例ヘ植物體內トハ云ヘ生物體ニ存在セルモノニシテ之ヲ含有スル植物成分ガ或手段ニヨリ發光ニ導カルコト，又馬鈴薯ノ如キ此種以外ノ植物成分モ他手段ニヨリテ發光スルコト生物體中ニ存スル血液，植物搾汁等ノ Oxidase ガ發光ニ關スル酸化現象ニ作用ヲ有スルコト，動物體成分卵白ノ水溶液モアル種酸化物質例之次亞鹽素酸「ソーダ」ニヨリテ發光セシメラルコト，皮膚類ニ塗擦セシモノガ殊ニ生物發光ニ外觀的類似シ或ハ身體蛋白トノ結合ガ何等カ生物發光ノ要約トシテ重大ナル意義アルニ非ザルカヲ考ヘシ

ムル點等ニシテ，余等ハ更ニ斯ノ發光生物ニテ分離シタル所謂熱水並ニ冷水「エキス」成分ト化學發光ニ關與シタル物質トヲ比較研究セントセリ.

先ヅ源氏螢發光部冷水「エキス」又ハ海螢ノ冷水「エキス」中ニハ既述ノ焦性沒食子酸ノ發光ノ際ノ反應物質ガ含有サルモノナラズヤトイフニ，之等冷水「エキス」ハ夫レニ焦性沒食子酸ヲ加ヘ，或ハ更ニ過酸化水素ヲ加フルモ發光セズ，「グアヤツク」反應既述ノ如ク陰性ナルヲ以テ Peroxidase ヲ含マズ，又同上冷水「エキス」ニ過酸化水素，「フオルマリン」，馬鈴薯搾汁及ビ「アルカリ」等ヲ單獨ニ或ハ混合シテ加フルモ發光スルニ至ラズ．且過鹽化鐵液ヲ注グモ藍黑トナラザルヲ以テ冷水「エキス」ハ焦性沒食子酸類ヲモ含ムモノニ非ザルベシ.

次ニ海螢ノ熱水「エキス」或ハ源氏螢胴部熱水「エキス」成分ニ就キテ見ルニ之等熱水「エキス」ニモ既述ノ如ク，「グアヤツク」反應陰性デアリ，又焦性沒食子酸及ビ過酸化水素ヲ加フルモ發光セザルヲ以テ Peroxidase ヲ含マズ，尙ホ同上熱水「エキス」ニ過酸化水素，「フオルマリン」，馬鈴薯搾汁，「アルカリ」等ヲ單獨ニ或ハ二三混和シテ加フルモ發光セズ且過「クロール」鐵ヲ注グモ藍黑變セザルヲ以テ焦性沒食子酸屬ヲ含マザルモノノ如シ.

カクテ生物發光ニ關與スル物質ハ焦性沒食子酸ノ發光ニ與ル反應物質 Peroxidase 並ニ焦性沒食子酸ニモ該當セズ，故ニ生物ノ發光現象ヲ起ス被酸化物質ハ沒食子酸ニ特有ナル反應ヲ呈セザルモノニシテ又ソノ物質ノ酸化ヲ誘導スベキ物質モ普通ノ Peroxidase 反應ヲ呈セザルモノナリトス.

第5章 總 括

1） 焦性沒食子酸ノ水溶液ハ過酸化水素ノ存在ニ於テ植物搾汁，動物血液或ハ「アルカリ」加「フオルマリン」等或種化學藥品ト合スルトキ室溫ニ於テ數分間恰モ發光菌ノ發光ノ如キ發光ヲ現ス.

焦性沒食子酸ノ發光ハ m/10000 ノ濃度ニ於テ明カニ認ムルコトヲ得．ソノ類緣「タンニン」ヲ含メル物質モ亦ヨク發光ス.

〔イ〕 有效ナル植物搾汁ハ馬鈴薯，大根，「さくいも」，松茸等ヨリ得ラレ，此物ハ 60°C 5分ニテ無效トナリ室溫ニテモ短時間ニ於テソノ作用ヲ失フ.

〔ロ〕 動物血液ハ新鮮ナル物モ，乾燥セシモノノ水溶液モ有效ニシテ，血液纖維素モ亦血液ト等シキ作用アリ.

〔ハ〕「アルカリ」加「フオルマリン」ト等シキ作用アルモノニ沃度丁幾，Lugol 氏液アリ.

2） 焦性沒食子酸ノ少量ヲ人體皮膚，或ハ爪，動物白髮，晒シタル屍ノ皮ニ塗擦シ過酸化水素並ニ「アルカリ」加「フオルマリン」ヲ加フルトキハ乾燥スルト共ニ區劃鮮明ナル蒼白色ノ發光ヲ呈ス，此發光ハ試驗管內發光ト異ナリ極メテ長時間繼續シ且生物發光ニ近似ス.

3）焦性没食子酸ノ過酸化水素並ニ「アルカリ」加「フオルマリン」ニヨル發光ハ青酸加里青酸曹達ノ水溶液或ハ臭剝ニヨリ抑制サレザレドモ臭素水ニヨリテハ抑制サル.

4）焦性没食子酸ノ發光反應ハ Peroxidase 系統ニ屬スル一酸化反應ニシテ被酸化物質ナル焦性没食子酸ガ過酸化水素ナル Peroxide ノ存在ニ於テ，植物搾汁，動物血液或ハ「アルカリ」加「フオルマリン」等ノ Peroxidase 作用ニヨリ酸化サレ，ソノ際發光ヲ伴フモノナル事，諸種ノ事實殊ニ本反應ニ關與スル各反應物質ノ量ヲ加減シテソノ發光ニ及ボス影響ヲ檢シタル成績ヨリ明カナリ.

5）10% 卵白水溶液ニ次亞鹽素酸曹達ヲ加フル時ハ發光ス. 是ハ後者ガ水溶液ニ於テ發生機ノ酸素ヲ放チ前者成分ヲ酸化スル際發現スルモノナリ.

6）次亞鹽素酸曹達ハ之ヲ動物皮膚ニ塗ルモ皮膚ハ發光セズ只被酸化劑トシテ焦性没食子酸ヲ塗布セル皮膚ヲ發光セシメ得. 反之，次亞鹽素酸曹達ハ馬鈴薯搾汁(耐熱性)ナル植物成分ヲ發光セシム.

7）源氏螢及ビ海螢ノ冷水「エキス」並ニ熱水「エキス」中ニハ焦性没食子酸或ハソノ類緣物ナク又焦性没食子酸ヲ酸化發光セシムル Peroxidase ヲ證明スル事ヲ得ズ. (3. 9. 17. 受稿)

文　　献

（本文獻ノ番號ハ本研究其ノ1ノ夫レニ續ク）

28) Harvey, (2) ニ同ジ P. 90. 29) Harvey, Studies on bioluminescence. IV. The chemistry of light production in a Japanese Ostracod Crustacean Cypridina hilgendorfii, Müller. Amer. Journ. of physiol. Vol. XLII. P. 318. 30) Harvey, (28) ニ同ジ. 31) 神田, (19) ニ同ジ. 32) Harvey, Studies on bioluminescence XIV. The specifity of luciferin & luciferase. Journ. of general physiol. Vol. IV. P. 284. 33) Harvey, (21) ニ同ジ. 34) Harvey, (21) ニ同ジ. 35) Harvey, (21) ニ同ジ. 36) Harvey, Studies on bioluminescence XV. Electroreduction of oxyluciferin. Journ. of general physiology. Vol. V. P. 275. 38) 勝沼, (13) ニ同ジ. 39) Harvey, (25) ニ同ジ. 40) 矢崎, On the nature of the luminescence of the knightfish (Monocentris japonicus) Jour. Exp. Zool. V. 50, No. 3. p. 395. 41) Morrison, (8) ニ同ジ. 42) Harvey & Morrison (10) ニ同ジ. 43) Trautz Studien über Chemiluminescenz. Zeits. f. physik. Chemie Bd. 53. P. 1. 44) Harvey, Studies on bioluminescence III. On the production of light by certain substances in the presence of oxidases. Am. Jour. of Physiol. Vol. xli. P. 454. 45) Mallet, Phénomènes de luminescence au cours de réactions oxydantes en solutions aquenses. C. R. de Academie des Sciences. T. 185. No. 5. P. 352. 46) Trautz, (43) ニ同ジ. 47) Harvey, (44) ニ同ジ. 48) Harvey, (44) ニ同ジ. 49) Mallet, (45) ニ同ジ.

Abstract.

Studies on the bioluminescence. (II. report)

By Dr. Kanae Hayasi and Dr. Misao Okuyama.

From the Physiological Laboratory of the Okayama-University, Japan.
(Directer; Prof. S. Oinuma.)

Received for publication September 17, 1928.

A) Results obtained on the Cypridina Hilgendorfii Müller (Umihotaru).

1) Cypridina Hilgendorfii Müller used as experimental material lives in the Setonaikai and its photogenic substance in this animal undergoes little alternation for long time (over several monthes.) in fair preservation.

2) The light of the cypridina emits from the secret of the luminous glands and not from the parasitic luminous bacteria. But the luminous liquor whose light once extinguished reproduces its light by means of the action of bacteria and etc. In this case, the bacteria can probably convert the oxidized photogenic substance into the reduced form. The sterile luminous liquor, or chemically purified one can not give light again after extinguished.

3) The light production requires oxygen, but much smaller dose than in the case of the firefly is sufficient. Cyanic acid does not affect the light production.

4) As the photogenic substance is not soluble in ether and chloroform, it might not belong to fat or lipoid.

5) The light appears when hot water extract from cypridina was added to cold water extract from cypridina. Hot water extract of any other animals than cypridina is not efficacious for the light production of the cold water extract of cypridina.

6) The active substance in hot and cold water extract is not soluble in ether, absorbed by charcoal, and the principle in the hot water extract passes through filter paper and collodium membrane, while the principle in the cold extract can not filter through collodium membrane.

7) The active component in the cold water extract loses its action by warming at 55°—60°C. over 3 min.

8) The active cold water extract from cypridina does not emit light on addition of alkali, like that from firefly.

9) The active cold water extract does not respond to ordinary tests for glucose and proteine.

10) The active substance have the following solubility;

4 parts of sea water containing luminous secret from cypridina + 1 part of alkohol

- sediment [hot water extract (−), cold water extract (+)]
- filtrate ... ... + double volume alkohol
  - sediment [hot (−), cold (+)]
  - filtrate [hot (+), cold (−)]

With the aid of this solubility we can obtain relatively purified cold water extractive principle.

11) The oxidation concerned with light production of the firefly and cypridina seems to belong neither to the peroxidase system nor to the glutathione system.

B) Results obtained on the luminous bacteria which were isolated from the knight-fish (Matukasa-uo) by Dr. Yasaki and cultivated on 3% salt-agar-agar or bouillon.

1) The bacteria give light at brightest in the neibourhood of 30°C. and no light at 0°—(−5)°C. or over 40°C. The bacteria held in cool for some time below 0°C. give out light again by warming, while that held over 40°C. no more emit light by cooling.

2) The temperature coefficient for 10°C. is 2. 6—6. from 30°C. to 0°C., and it becomes higher at lower temperature within that limit.

3) The intensity of the light suffers no remarkable change at partial oxygen pressure between 1/5 to 4 atmosphere.

4) The luminescence is inhibited by acid and alkali, but not affected by HCN-gas.

5) Bacteria emulsion in which light once has gone out does not shine again by alkali in opposition to case of the firefly.

6) We could obtain neither the effective cold water extract nor hot water extract from the luminous bacteria.

C) Results obtained on the chemiluminescence.

1) Pyrogallol solution and also water extract from substances containing tannin give light almost equal to that of luminous bacteria several minutes at room temperature in prescence of oxyfull and plant juice or blood or formalin with alkali.

a) The efficacious substance of the plant juice is obtainable from potato, garden radish, Jerusalem artichoke or mushroom etc., and loses its power in warming over 5 min. at 60°C. also after short time even at room temperature.

b) Not only fresh or dried blood, but also fibrin of blood is effective.

c) Tincture of jodine or Lugol's solution may take the place of formalin with alkali.

2) This light production is not inhibited by KCN, NaCN or KBr, but bromwater.

3) Such a luminous reaction of pyrogallol is one of the oxidation reaction of the peroxydase system; i. e. pyrogallol, an oxidizable substanse, is oxidized by the action of a peroxidase in the plant juice or so on, in presence of oxyfull, and thereby emits the light. This is proved especially by examining the effect of the concentration of every reactant on luminescence.

4) When the skin or craw of man, white hair or bleeched hide is painted with a small dosis of pyrogallol and over-painted with oxyfull and formalin with alkali, a pale and distinct luminescence is given out. This light lasts for rather long time in comparison with that in the test tube experiment, and resembles the bioluminescence exceedingly.

5) 10% solution of eggwhite emits light by NaClO. This occurs probably by the oxidation of the oxidizable substance by NaClO.

6) No visible light was detected on the skin painted with NaClO, but when pyrogallol has been applied on the same skin, luminescence appears. Thermostable component in potato juice gives out light on adding NaClO.

7) In cold and hot water extracts from the firefly and cypridina there exists neither pyrogallol, nor peroxidase which oxidizes pyrogallol and lets it shine.