

生物發光ニ關スル研究 (其ノ1)

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

(此稿ヲ起スニ當リ本研究ニ關シ御懇切ナル御教導ト不斷ノ御鞭撻トヲ賜ハリシ
恩師生沼教授ニ對シ深甚ノ謝意ヲ表ス)

内 容 目 次

序 論

實驗方法殊ニ光度測定法

- (1) 寫眞乾板撮影ニヨル法
 - (イ) 陰畫濃度比較法
 - (ロ) 陰畫面積比較法
- (2) 寫眞「フィルム」撮影法
- (3) Hess 氏 Differential pupilloskope 附屬ノ
Millimeterseale ヲ有スル所謂 Double frame
ヲ用ヒテノ明度比較法

日本産源氏螢及ビ平家螢ノ發光ニ就テ

- 第 1 章 實驗材料及ビソノ發光器
- 第 2 章 光ノ性質
- 第 3 章 發光神經ノ存否
- 第 4 章 溫度ノ影響ト發光作用
- 第 5 章 發光ニ對スル酸素ノ影響
- 第 6 章 發光ニ對スル一酸化炭素ノ影響
- 第 7 章 發光ニ及ボス靑酸ノ影響
- 第 8 章 發光ニ伴フ炭酸瓦斯發生
- 第 9 章 發光ノ化學

緒 論

第 1 節 螢ニ於ケル所謂 *Luciferin* 及ビ *Luciferase* ノ存在ト分布

第 2 節 熱水「エキス」ニ關スル研究

第 1 項 熱水「エキス」ト溫度

第 2 項 耐久性

第 3 項 濾過性

第 4 項 骨炭吸着性

第 5 項 藥品ニ對スル溶解性

第 3 節 冷水「エキス」ニ關スル研究

第 1 項 冷水「エキス」ト溫度

第 2 項 耐久性

第 3 項 濾過性ト骨炭吸着性

第 4 項 藥品ニ對スル溶解性

第 4 節 發光ハ如何ナル種類ノ化學反應ニ屬スルヤ

第 5 節 熱水及ビ冷水「エキス」ノ作用方法

第 10 章 總 括

文 獻

序 論

原生生物ヨリ高等生物マデ、殊ニ動物界ニ於テハ單細胞動物ヨリ魚類ニ至ル凡ソ 36 目ニ亙リテ、海ニ、陸ニ、或ハ空ニ各ソノ光ヲ撞ニ輝シ、各種多様ノ發光裝置ヲ備ヘル發光生物ノ發光ハ古來幾多ノ研究觀察ノ的トナリ、⁽¹⁾ ⁽²⁾ ソノ發光原因ニ至リテモ、螢光、燐光、結晶光或ハ

摩擦光等ニ非ズシテ化學光ナラムト稱スレドモ、然ラバ如何ナル化學發光ナリヤ。總テノ生物發光ハ同一軌範ニヨルモノナリヤ否ヤ。實ニ發光機轉ニ關スル穿鑿ハ縱令照明界ニ貢獻スル迄ニ至ラズトモ、必ズヤ複雑ナル一般生物細胞内生活機轉ノ闡明ニ對シテ何等カ暗示ヲ與フベシ。

實驗方法殊ニ光度測定法

各實驗目的ニ從ヒ、ソノ實驗裝置及ビ實驗方法ヲ選ビタルハ勿論ナレドモ、茲ニハ特ニ殆ド何レノ實驗觀察ニモ必要ナリシ光度測定法ニ就キテ余等ノ採用セシ方法ヲ述ベントス。蓋シ余等ノ求メテ得ラルル器械ト知識ニテ本實驗ニ見ラルル如キ微光ノ光度ヲ測知スルコトハ甚ダ困難ナルモノニシテ余等ノ實驗觀察ニ當リテ最モ苦心セシ所ナリ。從テ以下述ベントスル方法ト雖モ素ヨリ完全無缺ニハ非ザランモ余等ノ使用セシ 2—3 ノ方法ニ就テ簡單ニ述ベテ諸家ノ參考ニ資セントス。

以下總ベテ肉眼ノ助ケヲ要スル方法ニヨル時ハ暗室ニ於テ充分檢者ノ眼ヲ暗所適合セシメテ後實施スルコトトセリ。然ラバ白晝ト雖モ 30 分乃至 1 時間ヲ待タバヨク觀察シ得ベク、余等ハ朝 8 時ヨリ夜半 2 時ノ間ニ於テ實驗セリ。

(1) 寫真乾板撮影ニヨル法

乾板トシテ Ilford 會社製ノ全色ニ感應スルトイフ Panromatic plate ノ“special rapid” 型ヲ用ヒ、各實驗ニ適應セル裝置ノ外ニ毎常ソノ標本ニ相對シテ一定距離ニ寫真乾板ヲ位置セシメ秒時計或ハ「メトロノーム」ニテ任意時間宛曝寫セシメ得ル様ニシ、撮影後ハ絕對暗黒ニテ次ノ如キ處方ノ現像液ヲ以テ一定時間現像シ 25% 酸性「ハイポ」液ヲ以テ固定ス。

現像液第 1 液	水	1000.0 cc	第 2 液	水	1000.0 cc
	「メトール」	5.0g		「ハイドロキノーン」	5.0g
	「ハイドロキノーン」	5.0g		結晶亞硫酸「ソーダ」	75.0g
	結晶亞硫酸「ソーダ」	75.0g		炭酸加里	70.0g
				臭 剝	1.5g

使用時上記 2 液ヲ混和シソレト等量ノ水ニテ稀釋セシモノヲ用フ。

然ルトキハ檢體ヨリノ光度ニ應ジテ種々ノ大サノ種々ノ濃サノ陰畫ヲ得。

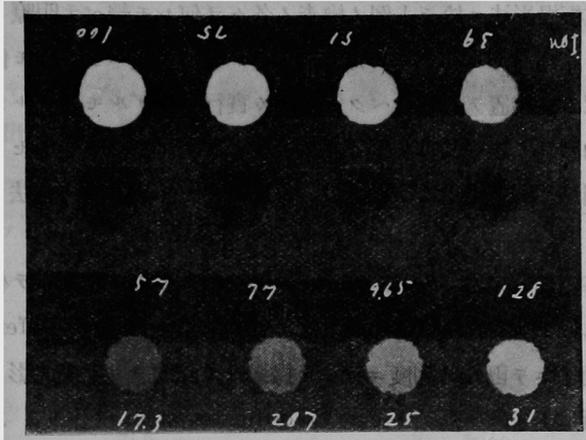
(イ) 陰畫濃度比較法

濃淡ヲ區別シ得ル程度ノ濃度ヲ有スル陰畫ニ於テ適用セルモノニシテ次ノ如キ手段ヲ用ヒタリ。

即チ豫メ別ニ豆電燈ノ光ヲ艶消硝子及ビ綠色硝子ヲ通過セシメテ檢光ト殆ド等シキ色調ヲ帯ビシメタル一定ノ光線(ソノ「スペクトルム」ハ後章螢ノ光ノ性質條下ニ掲ゲリ)一定時間、種々ノ距離ヨリ、カノ乾板ニ投射セシメ、得タル濃淡アル陰畫ニ於テ光度ト濃淡トノ關係ヲ示セルモノヲ標準トシテ檢體ノ光度ヲ測定スルモノナリ。

例之、次ギニ用ヒタル標準陰畫 (此ノ附圖ニテハ陽畫トナリ表ハレタリ) ノ 1 枚ヲ示サンニ

陰畫濃度比較法ニ用ヒタル標準陰畫



No. 1 No. 2 No. 3 No. 4

No. 12 No. 11 No. 10 No. 9

No. 8 No. 7 No. 6 No. 5

No. 1 ヨリ No. 12 ニ至ル各光影ハ各曝寫時間 20 秒。乾板マデノ距離ハ次ノ如ク、從テ距離ノ自乗ニ反比例スル光度モ附記セルガ如クナルヲ以テ

光影ノ番號	光源ヨリ乾板マデノ距離(d)	d ²	$\frac{1}{d^2}$ = 光度
1	10 cm	100	100
2	12	142	75
3	14	196	51
4	16	256	39
5	18	324	31
6	20	400	25
7	22	484	21
8	24	576	17
9	28	784	12.8
10	32	1035	9.7
11	36	1130	7.7
12	42	1760	5.7

今若シ假リニアル實驗例ニ於ケル陰畫ノ例之 2 ツノ光影ノ濃度ガ上掲標準陰畫ノ No. 1 ト No. 4 ナリトセバ、ソノ檢體ヨリノ光度ハ 100 ト 39 トナリト推定スルモノナリ。實際ニ於テハ種々ノ濃度アル陰畫ニ遭遇スベキヲ以テ以上ノ如キ標準陰畫ハ色々ノ濃度ノモノヲ豫メ多數用意シ置クモノトス。

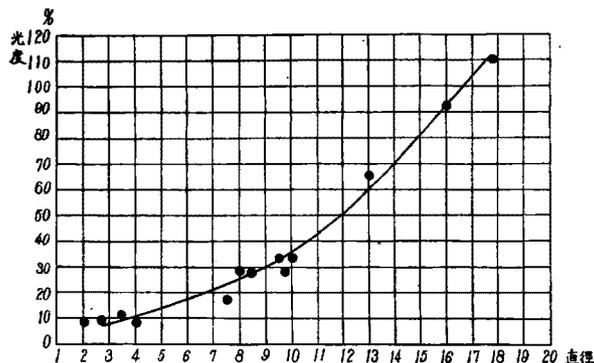
(ロ) 陰畫面積比較法

光度ヲ算出スルニハ濃度ノ變化ヲ目標トスルコト妥當ナルベケンモ、絶對暗室ニテ現像シテ後初メテソノ濃淡明カトナル寫眞乾板撮影法ニ於テ1例ノ検査ノ各々ヲ何レモ總ベテ明瞭ニ區別シ得ル濃度ヲ有セシム様、確カニ調節撮影スルコトハ毎實驗例ニテ光度ヲ異ニシ、而モ何レモ刻々ト光度ヲ變ズル材料ニテ簡單ナル裝置デハ言フベクシテ仲々實行シ得ザルモノナルヲ以テ、カカル場合即チ濃淡ノ差比較の區別シ難キ陰畫ヲ得タル時ハ止ムヲ得ズ本法ヲ適用セリ。而シテ感光面積ト光源ノ光度トノ關係ハ簡單ナ數式ヲ以テ表ハシ難カリシヲ以テ次ノ方法ヲ選ベリ。

即チ別ニ檢體ト乾板トノ距離ト等距離ニ光度一定ノ明度アル光源ヲ他ノ乾板ト相對シテ位置セシメ、種々ノ曝寫時間ヲ以テ撮影セシ陰畫或ハ曝寫時間一定ニシテ光源ヲ Hess 氏 Differential pupilloscope ニ附屬セル灰白硝子ニテ既知ノ明度ニ變ジテ撮影セシ陰畫ヨリ陰畫光影ノ面積ト光度トノ關係ヲ實驗上求メテ面積ト光度ヲ兩軸トセル Co-ordinates system ヲ作り、之ヲ標準トシテ實驗シ得タル陰畫ノ各光影ノ大サヲ光度ニ換算セルモノニテ下ニ標準用ニ供セシ曲線ヲ掲ゴコトセリ。而シテ光影ノ面積ハカカル場合、面積ヲ圓周率ニテ除シタル數ノ平方根ノ2倍ナル直径ヲ以テスルモ同意義デアリ、測定算出上、前者ヨリ數段簡便ナルヲ以テ直径ヲ以テ之ニ換へ、光度ハ灰白硝子ヲ濾シテ來ル光線ノ明サト曝寫時間トノ積ヲ以テス。

本法ニテ特ニ不便乃至不都合ヲ感ズル點ハ境界不鮮明ナル陰畫ニ於テソノ直径ノ測定シ難キコトナリトス。

面積比較法ニ用ヒタル標準曲線



(2) 濃度比較用寫眞「フィルム」撮影法

廻轉圓壻ニ Eastman 會社製寫眞「フィルム」ヲ卷キテ暗箱中ニ入レ、暗箱ノ一定箇所ニ裝置セル一定形ノ間隙ヲ經テ發光體ヨリノ光線ヲ任意時間宛毎回少シ宛廻轉移動シタル暗箱内ノ被

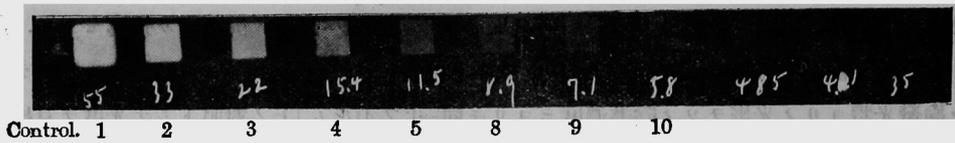
ノ「フィルム」上ニ投射セシメ、尙ホ常ニ同一「フィルム」ニ檢發光體ヨリノ光ト略ボ等シキ色調ヲ有セル人工光線(既述)ヲ「フィルム」面ヨリノ距離ヲ種々換ヘテ彼ノ間隙ヨリ投寫セシム。此「フィルム」ニ前記ノ現像處置ヲ施シテ得ル陰畫ニハ各曝寫セシ光度ニ應ジテ濃淡アル光影ヲ得ベク檢發光體ヨリノ光影ヲソノ陰畫濃度ニヨリテ同一「フィルム」上ノ對照トシテ光度ヲ算出シ得ベキ人工光線ヨリノ光影ト比較ス。即チ、此對照陰畫ノ光度ハ「フィルム」ト光源トノ距離ヨリ算出スルコト次ノ如シ。

「フィルム」ト光源トノ距離 (d) cm	d ²	光度 ($\frac{1}{d^2} \times 100$)
10.0	100	100.0
13.5	182	55.0
17.5	307	32.7
21.5	463	21.7
25.5	656	15.4
29.5	870	11.5
33.5	1125	8.9
37.7	1405	7.1
41.5	1725	5.8
45.5	2070	4.9
49.5	2450	4.1
53.5	2875	3.5
57.5	3320	3.0
61.5	3780	2.7
65.5	4300	2.3
69.5	4830	2.1
73.5	5400	1.9

例之、次ノ如キ實驗例ニ於テ No. 2 ハ對照陰畫ノ Cont. 5 ト略ボ濃度等シキヲ以テ、ソノ光度ヲ Cont. 5 ノ光度ナル 11.5, No. 7 ハ Cont. 7 ト似タルヲ以テソノ光度ヲ Cont. 7 ノ光度ナル 7 ト爲シタリ(附圖參照)。

此方法ニ於テ若シモ檢發光體ヨリノ光線ヲ充分鮮カニ「フィルム」ニ感光セシメ得ル程度ニ圓壙ヲ適度ノ速カヲ以テ常ニ廻轉セシメ置カバ刻々ノ光度ニ應ジ濃淡ノ差アル帶狀陰畫ヲ得ベク光度測定上甚ダ好都合ナルコト明カナリ。但シ Panchromatic ナラザル「フィルム」ヲ使用セザルベカラザルハ本法ノ一般缺點トモ言フベキカ。

所謂對照陰畫ヲ陽畫トセシモノ



所謂檢體陰畫ヲ陽畫トセシモノ

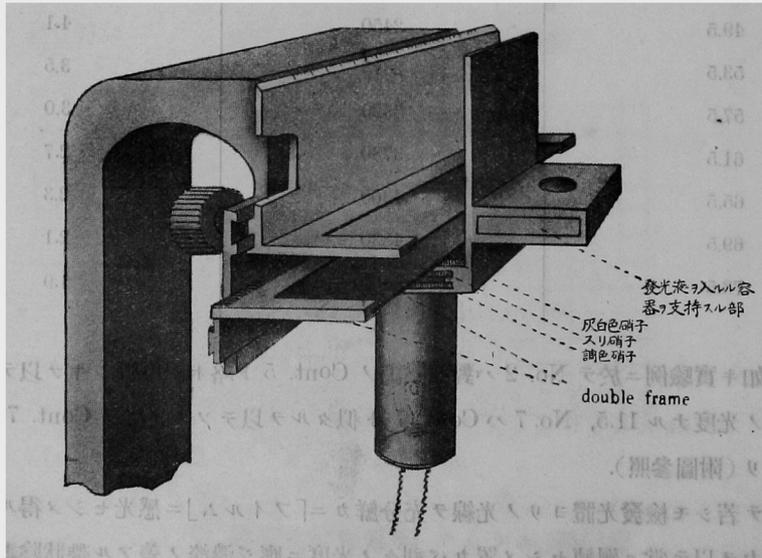


(3) Hess 氏 Differential pupilloskope 附屬ノ Millimeterscale ヲ

有スル所謂 Double frame ヲ用ヒテノ明度比較法

一側眼ニテ檢發光體ヨリノ光線ヲ觀察シ, 同時ニ既述ノ如ク檢セントスル光ト殆ド等色調ヲ與ヘラレタル人工光線ヲ Hess 氏ノ Differential pupilloskope 附屬ノ Millimeterscale ヲ備ヘル所謂 Double frame ヲ通過セシメタルモノヲ他側ノ肉眼ニテ觀察シツツ明暗ヲ加減シ得ル彼ノ Double frame ヲ調節シテ兩側光線ノ明度ヲ等シカラシム. 然ルトキハ檢體ノ光度ハ Double frame = 附屬セル Millimeterscale = ヨリ表ニテ見出シ得ル Double frame 通過光線明度ニ比例スルヲ以テ容易ニ算出シ得ベシ(略圖參照).

Differential pupilloskope 附屬ノ double frame ヲ用ヒテノ光度測定裝置略圖



本法實施ニ當リテハ特ニ充分暗所ニ適應セル眼ヲ以テスベキハ勿論ニシテ然ルトキハ本法ハ一般比色法ニ於ケル如キ多少ノ觀察誤差ハ免レザルモ色々ノ點ニ於テ過誤ノ起リ得ル寫真撮影

ノ手順ヲ省略シ得ル點、寫眞ニ比シ遙カニ短時間ニ(熟練スレバ1分間以内ニテ)觀察ヲ終ルコトヲ得)而モ寫眞感光度以下(實施上)ノ遙カニ弱キ光ニ對シテ遙カニ微細ニ光度ヲ頻繁區別シ得ル點等、上記諸法ニ比シ遙カニ卓越セルモノニシテ余等ハ光度測定ニ當リ最モ多ク本法ニ據リタリ。

唯本法ハ肉眼ヲ以テ觀察スルモノナルヲ以テ檢者ノ眼ノ暗所適應ヲ變ゼザラシメンガ爲メ、Millimeterscaleヲ讀取ラスベキ助手ヲ要スル不便アリ。

日本産源氏螢及ビ平家螢ノ發光ニ就テ

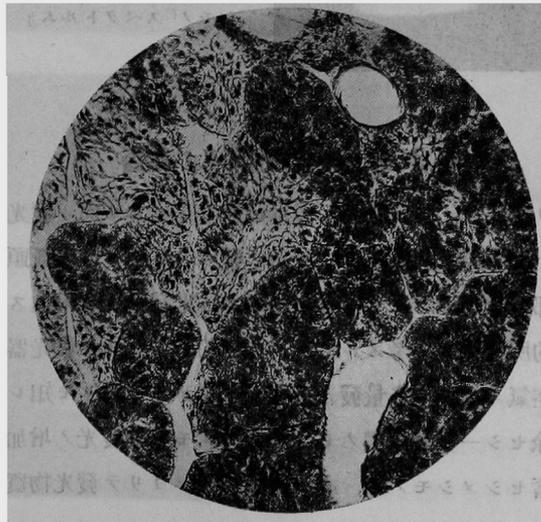
(大正14年秋ソノ一部ハ岡山醫學會例會ニ於テ報告セルモノニシテ螢ノ發光生理ノ研究ハHarvny³⁾及ビ神田⁴⁾ノ業績等主ナルモノナリ)

第1章 實驗材料及ビ其ノ發光器

岡山縣下ニ産スル鞘翅目(Coleoptera)螢科(Telephoridae)ニ屬スル源氏螢(*Luciola vitilicollis* Kies.)及ビ平家螢(*L. parva* Kies.)ヲ使用シ殊ニ旭川右岸地方例之祇園、四御前、吉井川流域殊ニ天王御休地方ヨリ採集セリ。ソノ雌ハ外觀大キク太クシテ源氏螢ニテハ體長2cm内外、平家螢デハ1cm弱、雄ハ小形ニテ細ク源氏螢ニテハ體長1.5cm、平家螢ニテハ0.6cm位ナリ。

ソノ發光器ハ腹側尾部ニ位シ横ニ帶狀ヲナシ雌ハ1列、雄ハ長短2列ヲ有シ顯微鏡下ニ檢スル時ハ(附圖參照)腺様構造ヲ示シ無數ノ細小分枝セル氣管ト實質細胞ヨリ成リソノ實質細胞ハEosinニ好染スル略ボ同大ノ大ナル顆粒ノ充滿セル群ト然ラザル群トヲ區別シ得。但シ此顆粒ノ消長ハ唾液腺ニ於ケルモノノ如ク機能ノ活動ニ關係スルモノニ非ザルカ。

日本産源氏螢發光器ノ顯微鏡の所見



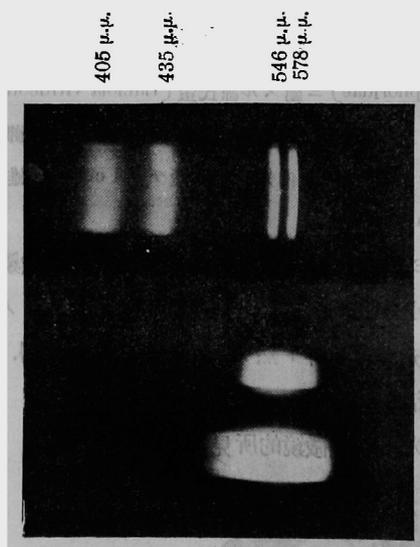
本材料ハ「エーテル」中ニ貯藏スルカ乾燥器中ニテ保存スルトキハ可成長時日保存シ得ルモノニシテ硫酸乾燥器中ニテ貯藏サレタル源氏螢ノ尾部發光器ハ採取後1箇年以上ニテ水分ヲ與フル時ハ尙ホヨク可成著シク發光ス。

第2章 光ノ性質

源氏螢ノ發光ヲ「アダム・ヒルガー」社製分光寫真機(Spectrograph)ニテ撮影スルニ大納波長 $660\mu\mu$ ヨリ $480\mu\mu$ ノ間ノ連續「スペクトルム」トシテ現レ Photinus, Pyrophorus⁵⁾ノ光ニ於ケルガ如ク可視放射線ノミヨリナリ之ヲ多量ノ熱線乃至紫外線等ヲ伴フ他ノ照明器ト比較センカ能率上遙カニ理想ニ近キ照明光ナラン。

次ニ硝子「プリズマ」ニヨル既述豆電燈竝ニ源氏螢ノ光ノ分光像ヲ水銀ノ夫レト對照セシム。

「スペクトルム」



水銀「スペクトルム」

源氏螢「スペクトルム」(3時間曝寫)

3.5「ボルト」豆電燈ニ一定ノ綠色硝子ヲ覆ヒテ檢光ト可及の色調ヲ等シカラシメシモノ「スペクトルム」(30秒曝寫)

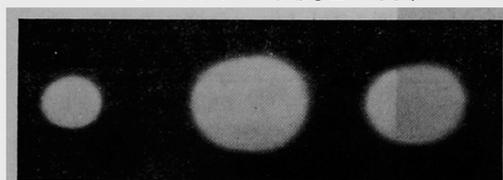
第3章 發光神經ノ存否

螢ノ發光部ヲ頭部ヨリ切離シ, 又ハ發光部ヲ zerpupfen スルモ尙ホ發光スルハ周知ノ所ナレドモ此器械的刺戟ノ加ハリシ際一時特ニ著シキ光ヲ發スベシ。ソノ他斷頭セシ螢ノ體腔内ニ電導子ヲ挿入シ, 或ハ尾部ニ電導子ヲアテ電流ヲ通ズル時光度著明ニ増加スル事實ハ(寫真甲參照) 上述セシ如キ解剖的所見ヨリ推考スル時ハ, 電氣的刺戟ニヨリ發光器中ニ分歧侵入セル氣管枝壁ノ筋肉ガ攣縮シ空氣ノ一時ニ多量發光細胞ヘ送達サルシ爲ヤモ知レザレドモ可及的ニ發光器外ノ氣管枝部ヲ摘除セシ一見發光體ノミヲ刺戟スルモ幾分發光ノ増加スル點ハ刺戟ガソノ部ニ分布セル神經ヲ興奮セシメシモノカ, 或ハ電氣刺戟ニヨリテ發光物質ガ例之, 分解發光サ

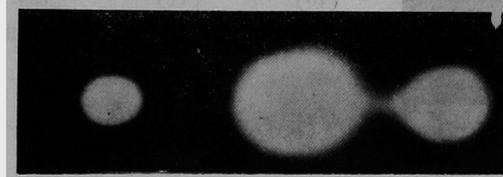
レシモノナリヤ計リ難シ。然レドモ滑平筋ニ特ニ強ク作用スル「アンモニヤ」水ヲ殊ニ氣管ノ殘存セルモノニ滴下セバ殊ニ著明ニ光度ノ増スコト(寫眞丙參照)電氣刺戟前ノ絶對光度弱小ニシテ消滅經過緩漫ナルモノガ刺戟ニヨリテ絶對光度強大トナリ漸消經過急劇トナルコト(寫眞丁及戊參照)刺戟中止後一時刺戟中ヨリモ發光往々増加スルコトアルコト(寫眞甲參照)刺戟中ハ「アンモニヤ」水ノ作用無効ナルコト(寫眞己參照)等ハ寧ロ電氣刺戟ノ影響ハソノ興奮ハ直接發光細胞ノ發光ヲ増進セシムル純發光神經ノ存在ヲ示スルモノナリト考フルヨリモ直接或ハ間接(氣管枝ニ分布セル神經ヲ介シテ)氣管枝滑平筋攣縮ノ結果ニヨル多量空氣ノ侵入ニ因ルモノナリト考フルノ至當ナランカ。

(註) 螢ノ發光ニ空氣一酸素ノ重大ナル意義ハ後述セリ。

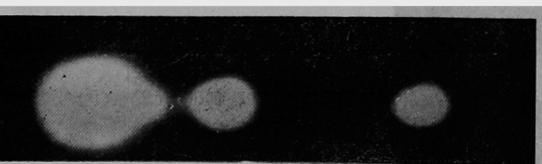
電氣刺戟ノ影響 (甲)



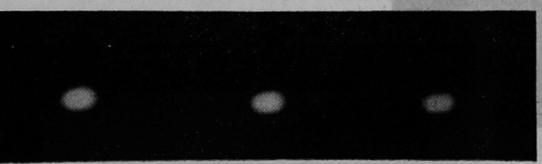
(1)
刺戟前



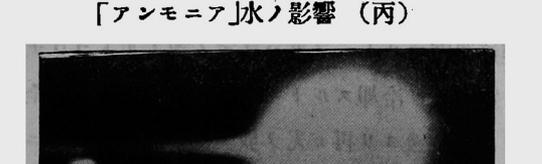
(2)
刺戟中



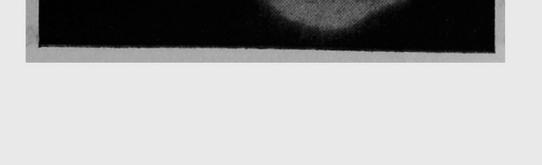
(3)
刺戟中止直後



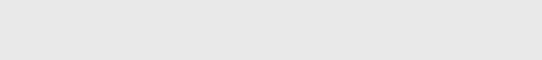
(4)
中止後



(5)
刺戟中



(6)
刺戟中



(7)
刺戟中止後

(8)
刺戟中止後

(9)
刺戟中止後

(10)
刺戟中止後

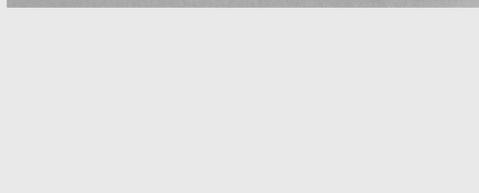
(11)
刺戟中止後

(12)
刺戟中止後

「アンモニア」水ノ影響 (丙)

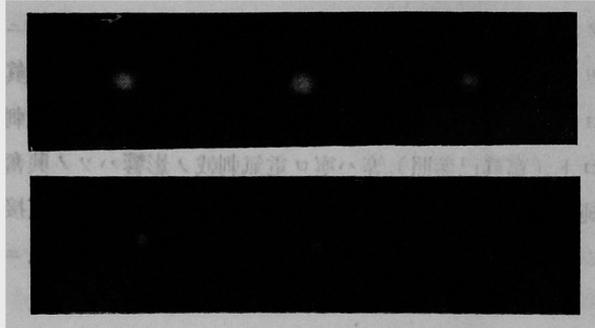


作用前



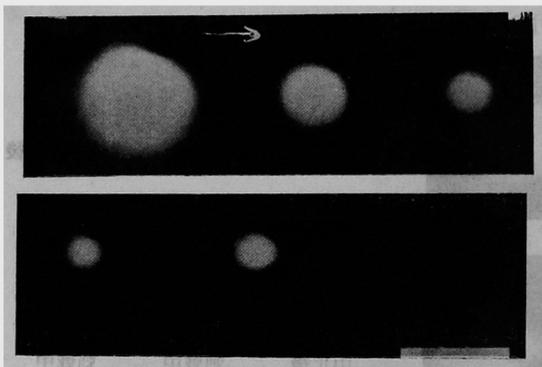
作用後

電氣刺戟前ノ消滅經過 (丁)



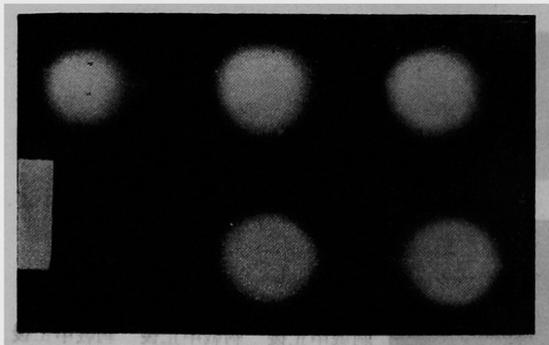
- (1)
- (2)
- (3)
- (4)
- (5)
- (6)

電氣刺戟中ノ消滅經過 (戊) (丁ノ續キ)



- (7)
- (8)
- (9)
- (10)
- (11)
- (12)
刺戟中止

電氣刺戟中「アンモニア」水ヲ加ヘタル例 (己)



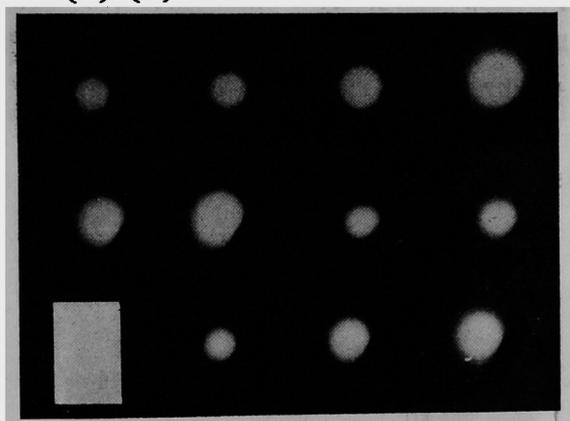
- (1)
刺戟前
- (2)
- (3)
- (5)
- (4)
「アンモニア」水加フ

第 4 章 温度ノ影響ト發光作用

一般ニ生物發光ニ對シテ一定範圍内ノ至適温度アリト云フ事ハ諸家ノ認ムルトコロナリ⁶⁾。螢ニ於ケル余等ノ觀察デハ螢ノ發光部ヲ室温ヨリ冷却スルトキハ 0°—7°C ニテ完全ニ發光ヲ認メ得ザルニ至リ、之ヲ再ビ温ムルトキハ 0°C 邊ヨリ再ビ光ヲ放チ初メ温度高マルニ從ヒ漸次明クナルヲ見ルベシ。然レドモ 40°C 以上ニ至ラバ漸次光ハ赤味ヲ帯ビ來リ 48°—54°C ニテ全ク光消滅シ之ハ冷却スルモ再ビ發光セシムルコト能ハズ。而シテ此兩極端間温度ニ於ケル温

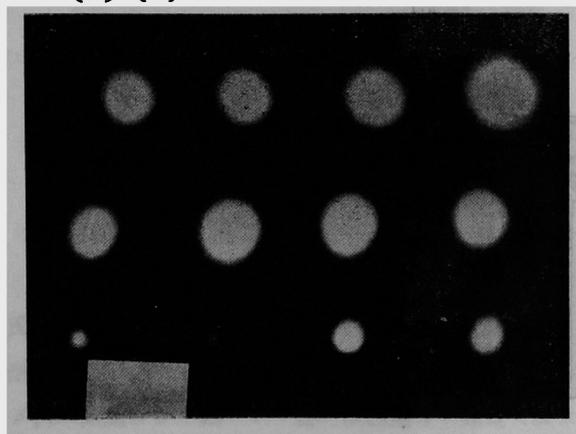
度ノ光度ニ對スル影響ノ詳細ハ如何トイフニ、Amberson⁷⁾ハ海螢ノ所謂Luciferin-Luciferase混液(後述)ニテハ溫度係數約4.5(15°—25°Cノ間)乃至3.0(25°—35°C)ナリト稱シ、Morrisen⁸⁾ハ發光菌ニ於テハVan't Hoffノ化學反應速度ノ規則ニ從ハズシテ溫度係數ハヨリ甚ク高ク而モ各溫度間隙ニテ著シク變動スト云ヘリ。然レドモ余等ハ螢ニ於テ同一檢體ノ高低兩溫度ニ於ケル發光度ヲ觀察スルニ1°C—40°Cノ間ノ發光度ノ溫度係數 Q_{10} ハ寧ロ1ニ近キ傾向ヲ認メリ(例之、寫真辛ノ例ハ $Q_{10}=1.2$ 、庚ノ例ハ $Q_{10}=1.3$)。蓋シ古來生物發光ハ所謂冷光ト稱ヘラレ嘗テ溫熱ノ發生ヲ證明シタモノナク、余等モ亦余等ノ熱電針トAyrton-Mather型Moving coil galvanometerヲ用ヒテハ後述螢ノ冷溫兩「エキス」混液ノ發光時ニ於ケル發熱現象ヲ檢出スルコトヲ得ザリシヲ以テ若シ發光ニシテ眞ニ溫熱發生ヲ伴ハザラムカ Q_{10} ハ當然1トナルベキナリ。但シ高低兩溫度ニ於ケル同一檢體ノ發光ノ漸消經過ノ溫度係數 Q_{10} ハ大約2ナル値ヲ得タリ。(例之、寫真辛ノ例 $Q_{10}=2.1$ 、庚ノ例 $Q_{10}=1.9$)

(1)—(6) 1°C =於ケル漸消經過 (庚)
(7)—(11) 23°C



(4) (3) (2) (1)
(8) (7) (6) (5)
(11) (10) (9)

(1)—(6) 24°C =於ケル漸消經過 (辛)
(7)—(12) 39°C



(4) (3) (2) (1)
(8) (7) (6) (5)
(12) (11) (10) (9)

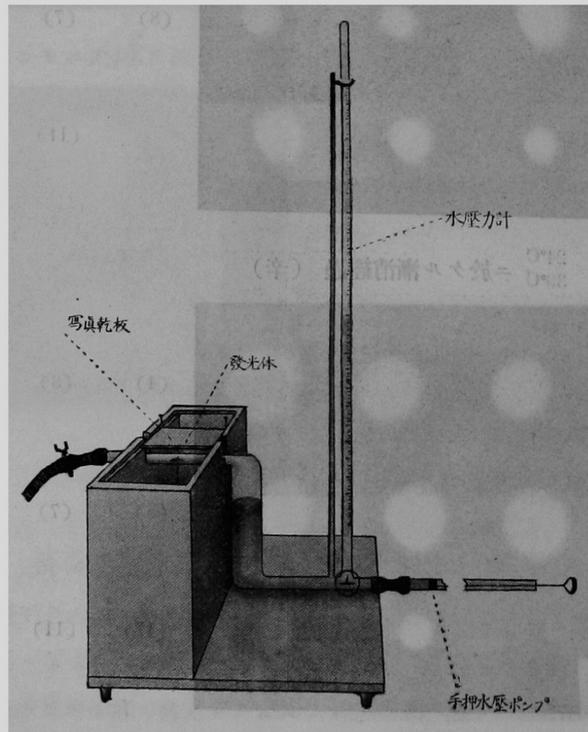
第 5 章 發光ニ對スル酸素ノ影響

發光ニ對スル酸素ノ影響ヲ檢スルコトハ發光現象ガ酸化反應ニ關係セルヤ否ヤヲ決定スル上ニ重要ナルコトナリ。

神田⁹⁾ハ源氏螢ノ發光ニハ酸素ヲ要スルモノニシテ螢ノ發光器ノ光度ハ酸素瓦斯中ニ於テ最モ強ク、一度眞空ニシタル後再ビ空氣ヲ入レタル場合、之ニ次ギ1%ノ比ニ酸素ヲ混ゼシ窒素中ハソレヨリモ弱ク單ニ空氣中デハ最モ弱シト。又 Harvey 及ビ Morrisen ニ依レバ¹⁰⁾發光菌ニ於テハ酸素重量一部ガ 37 億倍ノ水ニ含マレル水中ニ充分發光スト。

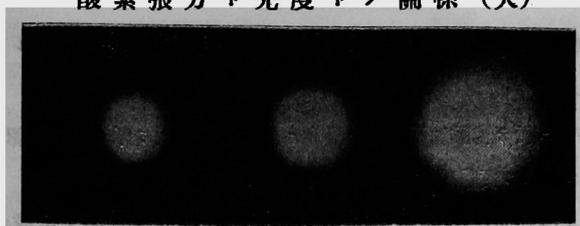
余等ハ源氏螢ノ尾部ノ發光器部ヲ摘出シ酸素含有量種々ナル瓦斯中、或ハ壓力種々ナル純酸素中ニ於テソノ光度ヲ檢シタルニ、附圖(天地人)ニテモ見ラルル如ク螢ニ於テハ酸素分壓 1/40 氣壓以下ニ於テ發光停止シ夫レヨリ 1 氣壓マデ急劇ニ光度ヲ増進スルヲ認メタリ。次ギニ磷ニ於テハ附圖(壬)ノ如ク酸素分壓 1/10 氣壓以下ニテ消光シ夫レヨリ 1/5 氣壓即チ普通空氣中ノ酸素量マデハ増進スレドモソレ以上ノ酸素壓ニ上昇スルトキハ漸次光力減退シ、最早酸素壓 1 氣壓即チ純酸素中ニ於テハ光り全ク消ユルヲ常トス。螢ニ於テハ果シテ如何。余等ノ實驗裝置(附圖參照)ニテハ 4.5 氣壓以上ニ氣壓ヲ昂騰セシメ得ザリシガソノ成績ハ酸素壓 1 氣壓以上 4.5 氣壓迄ノ間ニ於テハ光度ニ認ムベキ變化ナカリキ。(附記 ソノ後 15—20 氣壓ニ於テモ消光ノ傾向ヲ認メザリキ。)

余等ノ使用シタル簡易酸素壓加減裝置略圖



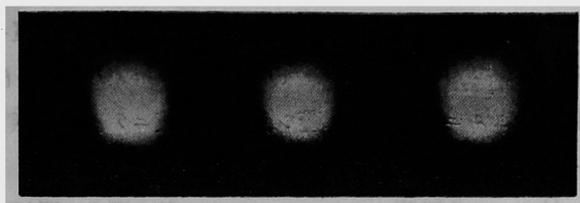
即チ螢ノ發光ニ際シテハ相當多量ノ酸素ヲ必要トスルモノニシテ螢ノ發光現象ハ酸化反應ニ關係セルコトハ明カナリト信ズ。然レドモ此酸素ハ如何ナル方法ヲ以テ發光反應ニ關與スルモノナリヤソノ他ハ手段ニヨリ闡明ニナサザルベカラザルベク余等モ又些カ此問題ニ就テ後ニ述ベントス。

酸素張力ト光度トノ關係 (天)



1/10
酸素氣壓 1/5 1/2

(地)



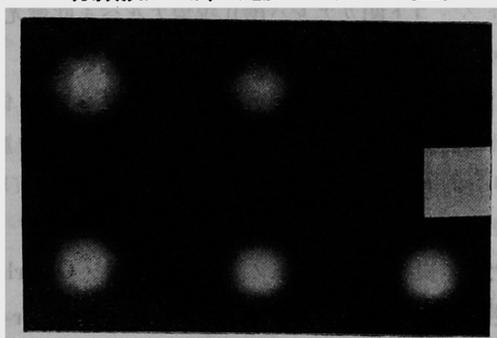
酸素
1 氣壓 1.8 氣壓 3 氣壓

(人)



酸素
4.1 氣壓 2 氣壓 4 氣壓

酸素張力ト燐ノ光度トノ關係 (壬)



1/2
酸素氣壓 1/3 1/5

1/10 1/9 1/7

第 6 章 發光ニ對スル一酸化炭素ノ影響

源氏螢ノ尾部發光部ヲ乳鉢中ニテ水ト共ニ磨碎キ、ヨク光レルモノヲ注射筒中ニトリ、次ギ一酸化炭素ト空氣ト等分ニ混和セシ混合瓦斯ヲ吸込ミカノ發光セシ螢ノ發光液ト混和スルニ光度ノ特ニ減弱シタル觀ナシ。蓋シ血色素等ノ場合ニ於テハ一酸化炭素トノ親和力ガ酸素トノ

夫レヨリモ強大ナル爲メー酸化炭素ハ酸素トノ結合ヲ妨グルモノナレドモ、カク發光ガー酸化炭素ニ影響サレザルヨリ推考セバ、發光ニ關與スル被酸化物質ハ酸素トノ親和力ガー酸化炭素トノ親和力ヨリ強キコトヲ示セルモノナラムカ。

第 7 章 發光ニ及ボス靑酸ノ影響

螢ノ發光ガ前述ノ如ク酸化現象ニ關係スルモノナリトセバ、カノ細胞内酸化ヲ抑止スル靑酸ハ螢ノ發光ニ對シテ如何ナル作用アルヤ。

Harvey ハ *Cavernularia*¹¹⁾ 及ビ *Firefly*¹²⁾ ニ於テ靑酸加里ハソノ發光ニ對シ何等作用ヲ示サザラ認メタリト稱スレドモ發光ニ對スル靑酸ノ作用ニ關スル實驗成績ハ古來一致セズリ。

余等ノ觀察セシ所デハ硝子管ニ入レシ發光セル螢ノ尾部ハソノ硝子管ニ靑酸瓦斯ヲ可成多量ニ通ズルトモ幾分ソノ光度ヲ減ズルノミニシテ遂ニ消光スルコト無シ。後述ノ螢ノ尾部ノ冷熱水兩「エキス」ヲ合シテ發光セル混合液モ靑酸瓦斯ヲ通ズルコトニテ消光セザリキ。此事實ハ靑酸瓦斯ハ本來發光反應ニ影響スルコトナク、唯多量ニ通ズルトキハ器械的ニ酸素ヲ放逐シ酸素量ノ減少ノ結果發光光度ヲソレ丈減退セシムルニ非ザルカ、蓋シ上記混合液ニテハ單ニ無害ナルベキ水素瓦斯ヲ多量ニ通ジタルトキモ著シク光度減弱スルヲ以テナリ。

靑酸ハ鐵ト關係セル酸化現象ノ際ニ於テソノ作用著シキモノナルヲ以テ螢ノ發光ニ關係セル酸化現象ハ他ノ種ノ酸化反應ニヨルモノナランカ、勝沼¹³⁾モ螢ノ發光器ニ於テ組織鐵ト關係セル Indophenol 反應ヲ檢シソノ特ニ著明ナラザリシ成績ヲ報告セリ。

第 8 章 發光ニ伴フ炭酸瓦斯發生

既ニ發光ニハ相當多量ノ酸素ヲ必要トスルコト明カナレバ酸化現象ナルベキ此發光ニ際シ炭酸瓦斯ノ發生如何ハ甚ダ興味アル所ナリ。

神田¹⁴⁾ハ分離セル源氏螢ノ雌 60 匹ノ發光器ハ 25 時間内ニ 5.66 cc ノ炭酸瓦斯ヲ發生セリト。併シ氏自ラモ云ヘル如ク此實驗ニハ幾多ノ缺點ヲ含ミ此成績ニヨレバ發光ニハ相當多量ノ炭酸瓦斯生成ヲ意味スルモノナリ。Harvey¹⁵⁾ガ海螢ノ所謂 Luciferin-Luciferase 混合液(後述)ニテ發光ト共ニソノ液ノ〔H⁺〕ノ變化ヲ觀察セシトコロニヨレバ發光ニ CO₂ノ發生ヲ伴フモノナルコトハ認メ得ザリキ。

余等ハ發生スルトシテモ恐ラク微量ナラム炭酸瓦斯ノ發生ヲ測定センガ爲メ Osterhout ノ創意ニ係リ Parker¹⁶⁾ガ神經纖維ヨリノ炭酸瓦斯測定ニ用ヒタル一標示藥法(Indikator-method)ヲ使用セリ。蓋シカノ田代ノ所謂 Biometer ハ鋭敏ナラムモ定量用トシテハ余等ノ經驗デハ此標示藥法ニ劣ルガ如シ。本標示藥法ノ主旨ハ一定濃度ノ重碳酸曹達水溶液ハ一定炭酸瓦斯含量ニ於テハ一定ノ〔H⁺〕ヲ有シ從テ一定ノ標示藥例之、Phenolsulphon-phthalein ニヨリテソノ色調一定ナルヲ以テアル濃度ノ重曹水溶液ガ炭酸瓦斯ヲ吸收シテ一定〔H⁺〕ヨリ他ノ一定〔H⁺〕マデ移動スルニ要スル時間ヲ既知ノ〔H⁺〕ノ一定セル溶液及ビ色素ノ助ケヲ借リテ測定シソノ

間ニ發生セシ炭酸瓦斯量ヲ算出シ得ルナリ。裝置及ビ實施等詳細ハソノ後此裝置ヲ以テ實驗セシ我教室小堀²⁶⁾ガ發表セリ。

實驗材料トシテハ源氏螢ノ發光器殊ニ發光部ト思ハレザル部分ヲ肉眼的ニ可及的剝離シ腹側ノ帶黃白色帶狀部ノミヲ用ヒ對照トシテ發光器ト近接セル胸腹壁「キチン」層(内臟ヲ剝ギトリシ)ヲ用ヒタリ。帶狀ノ發光部ハ10四分乃至20四分ニテ重量約0.015—0.03gヲ算シ之ヲ止針ニ挿シ重曹水ト接觸セザル様「ゴム」栓ニ固定シ發生炭酸瓦斯測定管中ニ垂下セシム。對照モ亦約同數ノ螢ヨリ採リ重量モ略ボ前者ト等シキモノヲ選ビ前者ト同様ニ取扱ヘリ。

尙ホ新鮮ナル材料ノ他ニ余等ハ試驗前12時間乃至24時間硫酸乾燥器中ニテ乾燥セシ螢ノ尾部ニ少量ノ水分ヲ加ヘ發光セシメ得タル材料ヲ用ヒタルアリ。此對照トシテハ勿論同様乾燥セシ「キチン」層ヲ用フ。

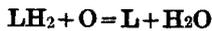
測定管ハ常ニ純酸素ヲ充スヲ以テ發光部ヲ有スルモノハ著明ナル發光狀態ニアリ。何等材料ヲ入レザル時ハ終日觀察スルモ標示藥加溶液ノ色調殆ド變化ナキヲ證シタリ。

實驗成績ハ次表ノ如シ。

炭酸瓦斯發生量

實驗番號	材 料	炭酸瓦斯發生量 (pro min. pro gr.) mg	摘 要
No. 78	發 光 部	0.030	新鮮ナモノ
No. 79	〃	0.016	同 上
No. 82	〃	0.015	同 上
No. 87	〃	0.019	同上 zerzupft
No. 93	〃	0.018	同上 試験後明カニ未ダ光レリ
No. 96	〃	0.013	同 上
No. 99	〃	0.015	同 上
		以上平均 0.018 ± 0.0052 mg	
No. 80	非發光部	0.021	新鮮ナモノ
No. 83	〃	0.011	同 上
No. 88	〃	0.012	同 上
No. 94	〃	0.006	同 上
No. 95	〃	0.012	同 上
No. 99	〃	0.009	同 上
		以上平均 0.012 ± 0.0046 mg	
No. 90	發光部 (試験前12時間乾燥器ニ貯ヘルモノ)	0.0109	試験後材料光リ居ラズ
No. 97	〃 (試験前24時間乾燥器ニ貯ヘルモノ)	0.0057	同 上
No. 100	〃 (同 上)	0.0069 以上	同 上
No. 98	非發光部 (試験前24時間乾燥器ニ貯ヘルモノ)	0.0105	同 上
No. 91	〃 (試験前12時間乾燥器ニ貯ヘルモノ)	0.0132	同 上
No. 101	〃 (試験前48時間乾燥器ニ貯ヘルモノ)	0.0049	同 上

上記ノ成績ヲ通覽スルニ新鮮ナル發光器ヲ含メル部ハ最高 0.03 mg CO₂ pro min. pro g, 最低 0.013 mg CO₂ pro min. pro g, 平均 0.018±0.0052 mg CO₂ pro min. pro g 之ニ對シ發光器ヲ含マザル「キチン」層部ハ最高 0.021 mg CO₂ pro min. pro g, 最低 0.006 mg CO₂ pro min. pro g, 平均 0.012±0.0046 mg CO₂ pro min. pro g ニシテ發光器ヲ含メル部ノ方ノ炭酸瓦斯發生ガ「キチン」層ニ比シ幾分多キガ如キモ「キチン」層ヨリハ少シハ物質代謝盛ナルベシト思惟サルル内臓ヲ僅含メル材料ヲ用ヒテモ其 2 例ニ於テ 0.049 mg CO₂ pro min. pro g 及ビ 0.023 mg CO₂ pro min. pro g ノ發生ヲ認メ, 上表ノ「キチン」層部トノ差ハ發光體部ト「キチン」層部トノ差ヨリ却ツテ著シク殊ニ發光體ハ純酸素瓦斯中ニアリテ極度ニ發光セルモノナルヲ以テ炭酸瓦斯ノ增加率ハ發光ノ爲メニ増加セルモノト見做スニハ餘リニ不著明ナリトイフベシ。殊ニ一旦乾燥セシ標本ニ於テハ發光體部ガ却ツテ非發光體部ヨリ炭酸瓦斯發生量少量ナル成績ヲ得タルガ如キ場合アリシヲ以テ寧ろ發光體部及ビ非發光體部ノ間ニハ炭酸瓦斯發生上差異ナシト爲スヲ妥當トスベク, 螢ノ發光ニハ炭酸瓦斯發生ハ隨伴セザルモノト考フルヲ眞ニ近キト信ズ。而シテ發光ニ關係スル酸化現象ハ Harvey²⁵⁾ ガ海螢ニテ氏ノ所謂 Luciferin ニ與ヘタルモノノ如ク,



但シ L ハ Harvey ノ如ク Luciferin ナ必ズシモ意味セズ單ニ被酸化物質ナル式ニテ現サルベキ形式ノ酸化反應ナランカ。

第 9 章 發 光 ノ 化 學

緒 論

上記ノ諸觀察ヨリ見ルモ螢ノ發光ガ化學光ノ一種ナルハ想像セシメテ餘アル所ナレドモ又螢ノ發光部ヲ乾燥器中ニテ乾燥シ或ハ「エーテル」中ニテ「カチカチ」トナシタルモノハ最早發光セズ之ニ水分ヲ加フルトキ再ビ發光スルコト即チ發光ニハ水分ノ存在ガ必須條件ナル事實モ亦化學反應トシテ最モヨク理解サレ易キ所ナリ。

既ニ螢ノ發光ガ化學光ナルコト殊ニ酸化現象ニ關聯セルコトハ以上ニヨリ明カナリ。然ラバ此化學反應ニ關與スル物質ハ如何ナル形ノモノナリヤ如何ナル性質ヲ有セルモノナリヤ。一ナリヤ多數ナリヤ。余等ハ之等ノ問題ヲ穿鑿センガ爲先ヅ 1885 年 R. Dubois¹⁷⁾ ニヨリ船喰蟲ニ於テ發見サレシニ物質即チ Luciferin 及ビ Luciferase ニ就キテ研究ヲ進メタリ。蓋シ前者ハ耐熱性, 後者ハ煮沸ニヨリテ破壊サルコトヲ根本差異トナスモノニシテ此方面ノ研究ハ Harvey¹⁸⁾ 神田¹⁹⁾ 等ニヨリ廣ク深く檢索サレ殊ニ Harvey²⁰⁾ ハ螢ニ就キテモ兩者ヲ區別シ得タリト。

以下余等ノ研究成績ヲ述ベントス。

第 1 節 螢ニ於ケル所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ノ存在ト分布

所謂 Luciferin 及ビ Luciferase ハ溫度ニ對スル抵抗ニヨリテ區別サレ, 兩者ヲ混合スルトキハ發光スト

ノ R. Dubois 以來ノ定義ニ基キ余等ハ一方材料ヲ乳鉢中ニテ冷水ト共ニ磨リ碎キ發光器ヲ含メル材料ニテハ消光セシメタル溷濁液(余等ハ之ヲ冷水「エキス」ト呼ベリ)ヲ作り、他方ハ材料ヲ乳鉢中ニテ沸騰セシ熱湯ト共ニ手速ク磨リ碎キノ液ヲ2枚重ネノ「ガーゼ」ニテ濾過シ、其濾液ヲ熱湯中ニテ煮沸スルコト3分濾紙ニテ濾シ透明ナル fluorescend ノ液ヲ作り(余等ハ之ヲ熱水「エキス」ト稱ヘリ)テ實驗セリ。

發光生物、螢ヨリ材料ヲ得ル場合ニハ發光器トシテハ發光器ヲ有スル尾部ヲ用ヒ、尙ホソノ他ニ發光器外體部トシテ尾部ヲ除ケル螢ノ體ノ殘部ヲ使用セリ。又非發光生物ヨリ材料ヲ得ル場合ニハ螢ノ出現季節ニ多數採集シ得ラルル松姑蜥、時季ニヨリテハ蠶ノ繭中ニアル生或ハ乾燥セル蛹ヲ使用シタリ。次ニソノ成績ヲ擧グ。

螢ノ尾部冷水「エキス」	不光
同 熱水「エキス」	不光
螢ノ胴部冷水「エキス」	不光
同 熱水「エキス」	不光
松姑蜥 冷水「エキス」	不光
同 熱水「エキス」	不光
螢尾部冷水「エキス」+螢尾部熱水「エキス」	光
同 十螢胴部熱水「エキス」	光
同 十螢胴部冷水「エキス」	不光
同 十松姑蜥熱水「エキス」	光
同 十松姑蜥冷水「エキス」	不光
螢尾部熱水「エキス」+螢胴部冷水「エキス」	不光
同 十螢胴部熱水「エキス」	不光

即チ螢ノ尾部一發光器ノ冷水「エキス」ト螢ノ尾部即チ同ジク發光器ノ熱水「エキス」トヲ混合スルトキハ發光ス。故ニ前述ノ所謂 Luciferase 及ビ Luciferin ナルモノハ螢ノ發光器ヨリ得ラルルコトハ事實ナリ。尙ホ螢ノ尾部冷水「エキス」ハ螢ノ尾部以外ノ部(假リニ螢ノ胴部ト呼ベリ)ノ熱水「エキス」或ハ松姑蜥ノ熱水「エキス」等ト合スルトキニモ發光ス。即チ螢尾部發光器冷水「エキス」ト合シテ發光スル物質ハ同發光生物ノ非發光部及ビソノ他或種ノ非發光生物ノ熱水「エキス」中ニモ存在ス。夙ニ Harvey²¹⁾ ハ發光生物ノ發光器外及ビ非發光生物體內ニモ發光ニ關與シ得ル物質アルヲ認メ之ヲ photophlein ト名付ケ發光器熱水「エキス」ト異ナレルモノナリトセリ。余等モソノ異同問題ニ就テハ後章ニ於テ論及スベキモ只茲ニハ螢ノ發光ニハ常ニ螢ノ尾部ノ冷水「エキス」ノ必要ニシテ缺グベカラザル事實ヲ特記セン。

第2節 熱水「エキス」ニ關スル研究

〔水ニ述ベントスル諸實驗成績ハ螢ノ尾部熱水「エキス」、螢ノ非發光部(略シテ螢胴ト記載セリ)熱水「エキス」及ビ非發光性生物殊ニ松姑蜥並ニ蠶ノ繭中ノ蛹ノ熱水「エキス」ニ於テ得タルモノニシテ特ニ以上3

者ノ内何レカニ獨特ノモノ或ハ何レカ1—2者ニ於テノミ實驗セシモノハ螢尾, 螢胴, 松姑蜥等ト特ニ明記スルコトトセリ.]

第1項 熱水「エキス」ト溫度

螢尾部冷水「エキス」ニ螢尾部或ハ螢胴部或ハ松姑蜥等ノ所謂熱水「エキス」ヲ加フトキハ發光スルコトハ既述セシ所ナレドモ此熱水「エキス」ノ有效成分ハ

(イ) 既ニ初メヨリ夫レ等動物體內ニ存シ冷水ニヨリテハ抽出サレズ熱水ニヨリテ抽出サルモノナリヤ。

(ロ) 或ハ冷水ニモ抽出サルモノナレドモ溫熱ニヨラデハ有效成分ノ作用ヲ妨グル物質破壊サレザル爲カ。

(ハ) 或ハ豫メ夫レ等動物體內ニハ熱水「エキス」成分ノ前階級物ト云フガ如キモノアリテ溫熱ニヨリテ初メテ有效成分ヲ生ジソレガ水中ニ抽出サレ來ルモノナリヤ。

(ニ) 或ハ冷水デモ抽出サルモノナレドモ溫熱ニヨリテ初メテ活性トナルモノナリヤ。

トイフニ, 螢胴部冷水「エキス」或ハ松姑蜥冷水「エキス」ヲ100°C 3分沸騰水中ニテ煮沸シタルモノヲ螢尾部冷水「エキス」ニ混和スルモ光ラザルヲ以テ(ロ)或ハ(ハ)ノ如キモノニ非ザラン。而シテ

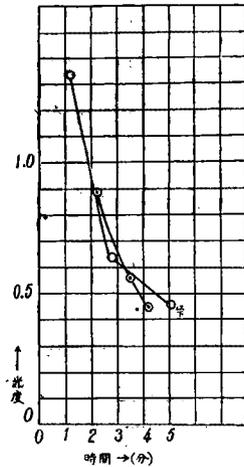
螢尾部冷水「エキス」+松姑蜥熱水「エキス」ニテ光レルモノニ松姑蜥冷水「エキス」ヲ加ヘバ消光スル

- ◇ + 螢胴部熱水「エキス」ニテ光レルニ螢胴部冷水「エキス」ヲ加ヘバ消光ス
- ◇ + ◇ ニテ光レルニ水ヲ加フトキハ光變セズ
- ◇ + ◇ ニテ光レルニ螢胴部冷水「エキス」ヲ50°C 3分ニ保テタルモノニ加フルトキハ消光ス

螢尾部冷水「エキス」+螢胴部熱水「エキス」ニテ光レルモノニ松姑蜥熱水「エキス」ヲ加フルモ光變セズ等熱水「エキス」ノ作用ガ同體部ヨリ得シ冷水「エキス」ニヨリテ阻碍サル事竝ニ水或ハ他種動物ヨリ得シモノニテモ熱水「エキス」ナラバ熱水「エキス」ノ作用ヲ妨害セザル事ヨリ見レバ當ニ(イ)或ハ(ハ)ニヨルモノニモ非ザルガ如ク, 豫メ冷水「エキス」中ニ在シ熱水「エキス」有效成分ノ作用ヲ妨害スル物質ガ熱ニヨリテ無力トナルト共ニ熱水ニヨリテ有效成分ガ初メテ溶解サルカ或ハ前階級物ヨリ作成サレテ茲ニカノ活性ノ熱水「エキス」ノ生ズルモノナルベシ。而シテ熱水「エキス」ノ有效成分ハ後述ノ如ク(濾過性ノ條下)冷水ニモ溶解シ得ルモノナルヲ以テ後者ナルベシ。

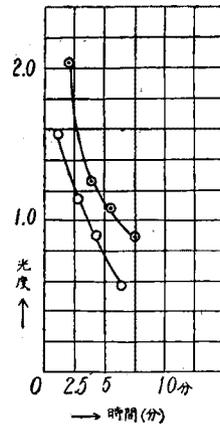
然ラバ熱水「エキス」ヲ得ルニ要スル有效溫度如何ト云フニ細片トセル材料ニ熱湯ヲ振り掛ケ迅速ニ磨碎キテ二重ノ「ガーゼ」ニテ濾過セシ濾液ノ程度ニテ既ニ有效ナレドモ尙ホソレヲ沸騰水中ニテ煮沸スルコト2—3分ナルモノ作用最強力ニシテ松姑蜥ニテハソレ以上8分, 11分煮沸スルモ作用ニ著變ナク螢胴部ニテハソレ以上7分, 10分等煮沸時間長キトハ却ツテ作用ノ薄ラグヲ見タリ(附圖第1—2圖)。反之浸出溫度低クシテ例之, 螢胴部ヲ50°Cニテ浸出セシモノハ熱水「エキス」トシテノ作用殆ド見ラズ。

第 1 圖



松蟲熱 X 100°C 3分 + 尾冷……○
 松蟲熱 X 100°C 8分 ○ △ ……+

第 2 圖



○……胴熱 100°C 11分 + 尾冷
 ◎……△ 100°C 7分 + △

第 2 項 耐 久 性

有效熱水「エキス」成分ハ硫酸乾燥器中ニ數箇月以上貯藏セシ螢ノ胴部或ハ乾繭倉庫ヨリ得シ乾繭蛹ヨリモ製出シ得ルモノナルガ熱水「エキス」ノ水溶液トナシタルモノモ可成耐久性大ニシテ例之、一定標準ノ下ニ調製シテ後長短種々ノ時間ヲ經過セシ松蝸熱水「エキス」ニ同一螢尾部冷水「エキス」ヲ混和シテ發光度ヲ檢スルニ

- 34分後ノモノ……………4.15
- 3時間48分ノモノ……………3.2
- 7時間25分ノモノ……………5.8
- 11時間37分ノモノ……………5.7

約12時間ニテハ特ニ變化セル傾向ナク螢ノ胴部熱水「エキス」ニテモ調製後20時間ヲ經タル後、同時間經過セル螢尾部冷水「エキス」ヲ加フルトキハ發光セザレドモ新タニ製セル螢尾部冷水「エキス」ヲ追加スルトキハ發光セシメ得タル例アリ。又熱水「エキス」ハ後述ノ如ク種々ノ處置ヲナスモ猶ホソノ作用ヲ失ハザル點等ヨリ見レバソノ耐久性ハ可成大ニシテ容易ニ變化スルモノニハ非ザルベシ。

第 3 項 濾 過 性

螢胴部熱水「エキス」竝ニ松蝸熱水「エキス」ハ何レモ濾紙ヲ通過シ Chambeland 濾過器ヲモ通過シ得又「コロヂウム」膜中ニ熱水「エキス」ヲ入レ螢尾部冷水「エキス」中ニ浸ストキハ暫時ニシテ外液即チ螢尾部冷水「エキス」ガ光ヲ放ツニ至ルヲ以テ「コロヂウム」膜ヲ通過スルモノナリ。

我教室ノ安武²²⁾ハ既述ノ如キ方法ニテ製セシ蠶ノ繭ノ蛹ノ熱水「エキス」ハ蛙心ニ vagomimetisch ニ作用シソノ作用ハ Cholin 物質ニヨルニ非ズシテ KCl ニ由ルトナセドモ, 余等ノ實驗ニヨレバ松姑蜥熱水「エキス」成分ハ濾紙及ビ Tonfilter ヲ通過シ 100°C 低壓ニテ初メヨリ 15 時間後ニ乾燥セシメタルモ特ニ結晶形物質ヲ含マズ而モ之ヲ水ニ溶解セシモノハ熱水「エキス」トシテノ作用ヲ明カニ保有シタリキ。

併シ斯クノ如キ易濾過性ハ此有效成分ガ一般酵素或ハ膠質ノ如ク分子ノ大ナルモノニ非ザルヲ示スモノナラム。

第 4 項 骨炭吸着性

螢胴部熱水「エキス」竝ニ松姑蜥熱水「エキス」成分ニ骨炭ヲ加ヘ濾紙ニテ濾液ヲトリ, 螢ノ尾部冷水「エキス」ト混合スルニ殆ド全ク發光セザルカ, 對照ニ比シ發光度甚弱シ。濾過性相當強キニ拘ラズヨク吸着サル性アルコトハ注意スベキコトナラム (次表參照)。

混合後經過時間	熱水「エキス」ニ濾紙濾過ノ螢尾部冷水「エキス」ヲ混ゼシモノノ光度	左同熱水「エキス」ニ骨炭ヲ加ヘ濾紙ニテ濾過セシモノニ左同冷水「エキス」ヲ混ゼシモノノ光度
松姑蜥熱水「エキス」ノ例		
直後		既ニ光弱クシテ測定不能
1 分	7.0	
3 分	3.5	
6 分	1.0	
螢胴熱水「エキス」ノ例		
1 分		0.5
2 分	3.3	
3 分		光弱クシテ測定不能
4 分	2.5	
8 分	1.6	
12 分	0.6	
17 分	光弱クシテ測定不能	

第 5 項 藥品ニ對スル溶解性

熱水「エキス」有效成分ノ熱水ノミナラズ冷水ニモ溶クルコトハ上述ノ諸觀察中ニ於テモ認ムル所ナルガ螢ノ胴部ヲ熱「アルコール」ニテ數分抽出シ, ソノ水溶液ヲ螢ノ尾部ノ冷水「エキス」ニ加フルモ發光現レズ, 然ルニソレニ更ニ螢胴部熱水「エキス」ヲ追加スレバ發光ス。溫「エーテル」ニヨリテモ抽出サレズ。「エーテル」ニテ抽出サレシ残渣ヲ熱水ニテ抽出スレバ有效成分ハソノ中ニ殘存セリ。

第3節 螢尾部冷水「エクス」ニ關スル研究

第1項 冷水「エクス」ト溫度

螢ノ尾部ヲ乳鉢中ニテ水ト共ニ擦リ光ノ消エシモノヲ3分間種々ノ溫度ニ保チ夫レニ螢胴部熱水「エクス」ヲ混和シ發光ノ起否ヲ檢セルニ

37°C 3分	著光
40°C—39°C 3分	弱光
42°C—43°C	僅カ
45°C—44°C	無光
50°C	無光

即チ42°—43°C 3分ニテ冷水「エクス」ハ發光上ノ能力ヲ失ヘリ。

第2項 耐久 性

螢ノ發光器ヲ含メル尾部ヲ切り出シ乾燥器中ニ約2箇年許リ貯ヘラレシ、「カチカチ」トナルモノモ水ヲ加ヘテ碎磨セバ發光シ、又ソノ光消エシモノニ螢胴部熱水「エクス」ヲ加フレバ再ビ光ヲ發スルモノナルガ冷水「エクス」トナシタルモノノ耐久性ハ如何トイフニ冷水「エクス」トナシテ後種々ノ時間室温ニ放置シタルモノニ螢胴部熱水「エクス」ヲ加ヘ檢セルニ次ノ例ニテ見ル如ク水溶液ノ形ニテハ室温1—2時間ニシテ冷水「エクス」トシテノ作用ハ著シク減弱スルコトヲ知レリ。冷水「エクス」ニ加ヘシ螢胴熱水「エクス」ハ前述ノ如ク1—2時間ノ短時間内ニテハソノ作用異ナラザルヲ以テ次ノ2例ニ於テハ試驗前約20分ニ調製シテソノ熱水「エクス」ヲ逐次螢尾部冷水「エクス」ト混和セルモノニシテ上記ノ成績ヲ示セリ。然レドモ尙ホ成績ヲ大體確ムル爲メ前晚調製シタル螢胴部熱水「エクス」ヲ(1)新鮮、(2)調製後30分、及ビ(3)45分ヲ經過セル螢尾部冷水「エクス」ニ混ジタルニ新鮮ナルモノノミ發光ニ導クコトヲ得タレドモ他ハ無發光ニ止マレリ。

螢尾部 耐久 試驗 成績

0分ヨリ擦リ10分ニテ光消エ初メシモノヨリ順次0.3cc宛6回トリ、ソレニ20分前ニ作リシ螢胴部熱水「エクス」ヨリ同ジク2.0cc宛6回トリテ加フ

	冷水「エクス」 調製後ノ時間	光 度		冷水「エクス」 調製後ノ時間	光 度
例	14分	5.7	例	10	64
	30	4.5		35	64
	45	1.5		60	57
	55	1.0		76	41
	1	62		1.0	2
70		不能測	108	17	

第 3 項 濾過性ト骨炭吸着性

螢ノ尾部冷水「エクス」ハ濾紙ヲ通過スレバソノ作用幾分減弱シ、「コロヂウム」膜ヲ通過セザルハ前記熱水「エクス」ノ濾過性ノ條下ニ述ベタル實驗ニテ觀察シ得ル所ナルガ、此冷水「エクス」ハ又 Chambeland ノ Tonfilter モ通過セザルガ如シ、即チ由之觀是、此冷水「エクス」有效成分ハソノ分子比較的大ナルモノナルベシ、然ルニ本冷水「エクス」ハ骨炭ニ對シテ濾過性ニ富メル熱水「エクス」ニ比シテ吸着性比較の弱キガ如キ觀アリ、即チ一定ノ螢胴部熱水「エクス」ニ螢尾部冷水「エクス」ヲ骨炭ト混合シ濾紙ニテ濾過セシモノヲ加ヘ、一方濾紙濾過ノミノ螢ノ尾部冷水「エクス」ヲ加ヘタルモノト對照セシニ例之、次ノ 1 例ノ如シ。

混合後經過時間 (分)	螢胴熱水「エクス」ニ濾紙濾過セシ螢 尾冷水「エクス」ヲ混ゼシ液ノ光度	骨炭ヲ加ヘテ濾紙濾過セシ螢 尾冷水「エクス」ヲ左同熱水 「エクス」ニ加ヘシ液ノ光度
5		1.2
6	4.5	
7.5		0.7
8	2.3	
12		0.6
13	2.0	
15		0.5
18	1.4	
19		0.4
21	1.3	
35	0.8	
50	0.4	

第 4 項 藥品ニ對スル溶解性

螢ノ發光器ヲ含メル尾部ヲ乳鉢中テ「エーテル」ト共ニ碎磨スルトキハ粘稠餅狀ト變ズ此浸出液ヲ乾カシ水ニ溶カセシモノニモ亦熱「エーテル」ニテ浸出セシモノニモ冷水「エクス」トシテノ有效成分ヲ含マズ却テソノ残渣ニ水ノ加ハルトキハ發光ス、即チ水溶性ナル此冷水「エクス」成分モ「エーテル」ニハ溶ケザルモノニシテ、此點ヨリ考フレバ冷水「エクス」有效成分乃至發光物質ハ普通ノ脂肪或ハ類脂肪ニハ非ザラム。

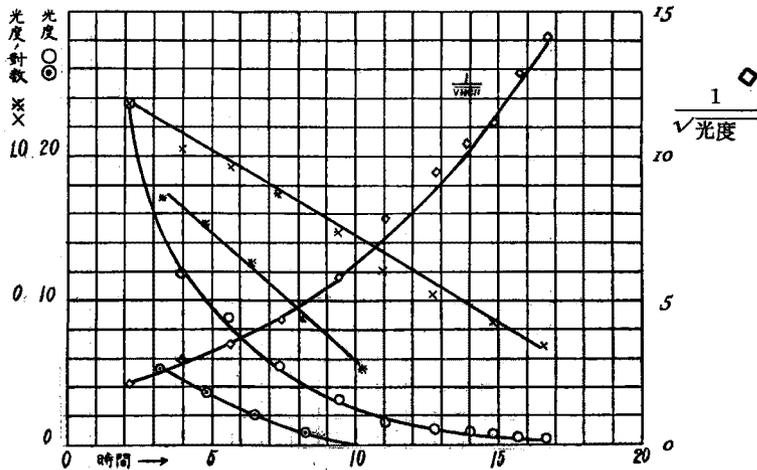
尙ホ螢ノ尾部ヲスリ少量ノ水ヲ加ヘテ發光セルモノニ純「アルコール」ヲ加フルトキハ直チニ消光ス之ヲヨク混和攪拌シタル後遠心沈澱シ先ヅ上澄ヲトリテ蒸發セシメテ水液トシ、ソレニ螢胴部熱水「エクス」ヲ加フルモ光現レズ、即チ冷水「エクス」有效物ハ純「アルコール」ニ溶ケザルガ如シ、サレド沈澱物中ニモ螢胴部熱水「エクス」ト合シテ光ルモノナシ、此上澄、沈澱兩物中ニ發見サレザルハ變化シ易キ冷水「エクス」有效成分ガ此操作中ニ破壞變化セシモノナルヲ示スモノナラム。

第4節 如何ナル種類ノ化學反應ニ屬スルヤ

發光現象ガ確カニ化學現象ノ一種ナリトセバ如何ナル種類ノ化學反應ニ屬スルモノナリヤ螢ノ發光ニ於テハ彼ノ冷熱兩水「エキス」ノ混和ニヨリテ發光スル事實ヨリ推セバ或ハ2分子反應ニ屬スルモノニ非ザルカ、或ハ一方ガソノ反應經過ニ於テ減少極少ニシテ一分子反應ナルカ、或ハ兩者以外ノ複雑ナルモノニ屬スルヤ。此決定ニ向ツテハソノ反應速度ヲ檢スルヲ以テ捷徑トスベク、二分子反應ナラムニハ、二次反應ノ速度トシテ假リニ兩物質ノ最初ノ濃度ガ相等シキトキノミソノ反應經過ト共ニ變化スル反應速度ノ自乗根ノ逆數ハ時間ニ對シテ直線ノ關係ヲ有スベキモ一分子反應ナラムニハ一次反應ノ速度トシテ反應速度ノ對數ト時間トガ直線ノ關係ヲ示スニ至ルベシ。又更ニ不均一系ニ於ケル反應ナラバ、ソノ速度ハ化學反應自身ノ速度ニ非ズシテソノ分子ノ擴散速度ソノ他ニ關係スベシ。而シテ Trautz²³⁾ノ云ヘル如ク光度ハ反應速度ニ比例スルモノニシテ光度ハ反應速度ノ直接目標トナシ得ルモノトセバ時間ト共ニ變化スル光度ヲ逐次測定シ所謂 decay curve ヲ求ムルコトニヨリテ此間ノ關係ヲ明カニスルコトヲ得ベシ。

即チ余等ハ螢ノ尾部冷水「エキス」ニ螢ノ胴部熱水「エキス」或ハ松蝨熱水「エキス」ヲ加ヘテ發光セシメタルモノニ就キテソノ混液ヲ頻繁ニ攪拌シツツ Hess 氏 Differential pupilloscope 附屬ノ double frame ヲ應用スル前述ノ光度測定法ニ依リテソノ光度ノ漸消經過ヲ測定セシニ發光ハ附圖ニ示セルガ如キ漸消經過ヲトリ、光度ノ對數 (log I) ハ經過時間ト直線ノ關係ノ存スルヲ認メシメ、Amberson²⁴⁾ノ海螢ニ於テ觀察シタルト等シク、螢ニ於テモノノ發光ガ一分子反應ニ非ザルカヲ推定セシム。蓋シ

○×◇……尾部0.3 + 松蝨熱1.5
 ◎※……尾部0.3 + 松蝨熱0.5 + 水1.0



A=單反應物質ノ初ノ濃度

X=時間 t 内ニ消失スル Reactant ノ量

k=速度恒數

ナル一分子反應ニテハ質量作用ノ方則ニヨリテ

$$\frac{dx}{dt} = k(A-X)$$

積分シテ $k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-X}$

或ハ $kt = \log A - \log(A-X)$

$\log(A-X) = \log A - kt \dots\dots\dots 1$

然ルニ今 I = 光度トセバ Trautz ノ假説ニテ

$$I = \frac{dx}{dt} = k(A-X)$$

對數ヲトレバ $\log I = \log k + \log(A-X)$

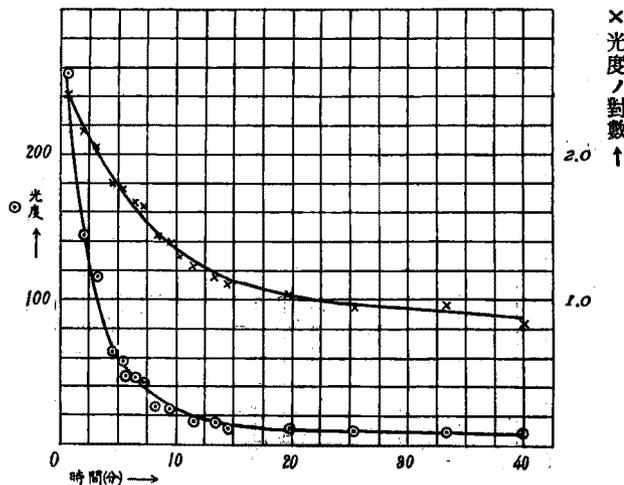
之ニ式(1)ヲ代入シテ

$\log I = \log k + \log A - kt$

或ハ $\log I = \log Ak - kt$

トナリ此式ハ即チ log I ト t トヲ變數トセル直線ノ方程式ニシテソノ傾斜ハ負ニシテ k 即チ速度恒數ニ比例スルコトヲ示スヲ以テナリ。惟フニ此 A ナル物質ハ所謂光質ニテ之ガ何等カノ方法ニテ酸素ノ作用ニヨリテ反應發光スルモノデアリ此酸素ハ余等ノ實驗ニ於ケルガ如ク頻繁ニ振盪セバ剩餘ニ存スル爲メ所謂一分子反應トシテ現レタルモノナルベシ。此事ハ殊ニ decay ニ於テ混液ヲ振盪セザルトキ、或ハ空氣トノ接觸不充分ナリト思ハル時(次圖)ニ於テ上述ノ如キ單純ナル成績ヲ與ヘズ速ニ光力減弱スル事實ヨリ想像スルモ容易ニ思考シ得ラル所ナリ。

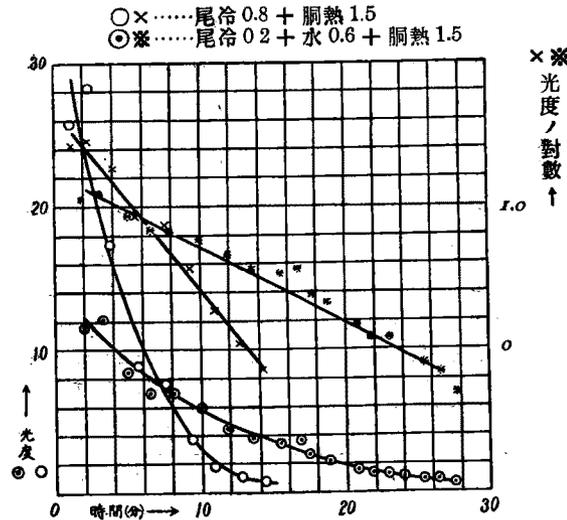
螢尾部半摺標本ノ發光漸減經過



第5節 熱水及冷水「エキス」ノ作用方法

殊ニ海螢ニ就キテ廣汎ナル研究ヲ遂ゲタル Harvey²⁵⁾ ノ意見ニヨレバ發光體ノ熱水「エキス」ハ酸化スル際發光現象ヲ呈スル一種ノ蛋白質 (proteose) ナル所謂 Luciferin ヲ含ミ、冷水「エキス」ハ酸化セシ所謂 Oxyluciferin ト、他物質ト結合セル Combined luciferin 並ニ Luciferin ノ酸化ヲ助クル酵素作用アル Luciferase トヲ含ムモノナリトナシ Amberson²¹⁾ モ亦海螢ニ於テハソノ冷水「エキス」ガ酵素作用ヲ爲シ、熱水「エキス」ハ光質ヲ含メルモノナラント云ヘリ。

然レドモ余等ハ以上源氏螢ニ就キテノ諸觀察成績ノ説明ニハ必ズシモ上記ノ如キ假説ヲ必要トセザルベシト思考セシヲ以テ本問題ニ關シテ特ニ興味ヲ以テ次ノ如キ實驗ヲ重ネタリ。即チ先ヅ螢尾部ノ冷水「エキス」ガ所謂 Luciferase ナル酵素様物質ヲ含ムヤ否ヤヲ確カメン爲メニハ此冷水「エキス」ノ量ヲ増減シ(全量ハ水ヲ以テ一定トシ)螢胴部或ハ松姑蜥ノ熱水「エキス」ノ一定量ヲ加ヘタル混液ノ光度漸消經過ヲ檢スルコトトセルニ次ニソノ1例ヲ圖示シ他ヲ表示セル如ク冷水「エキス」量多キモノハ少ナキモノヨリ初メハ光度強クシテ速カニ消光スルヲ常トシ、螢ニ於テモ發光器ノ冷水「エキス」中ニハ少ナクトモ發光ニ關與スル酵素様物質ノ含ムモノナルコトヲ推察セシム。



各種熱水「エキス」ノ一定量ニ加フル螢尾冷水「エキス」量増減ニヨル發光ノ影響
 (冷水「エキス」量多キ方ノ少ナキ方ニ對スル所見ヲ記ス)

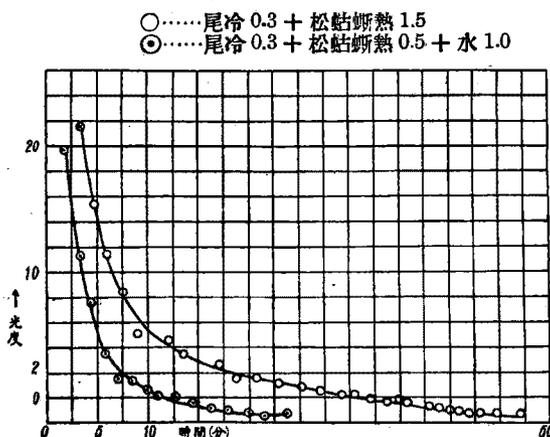
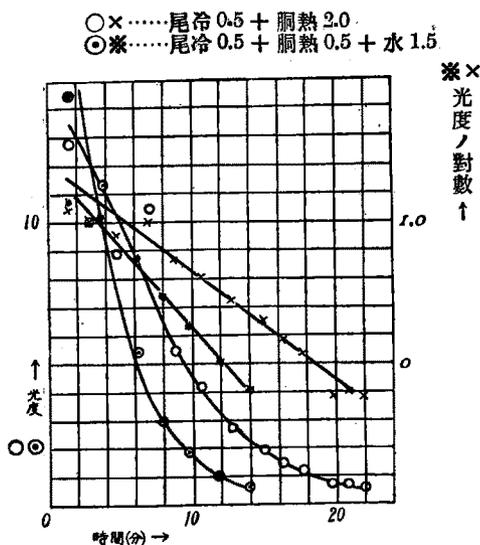
螢 胴 部 熱 水 「 エ キ ス 」		松 姑 蜥 熱 水 「 エ キ ス 」	
第三光度測定法ニヨル成績		第一光度測定法ニヨル成績	
No. 49 初明早消	No. 25 初明早消	No. 54 初明早消	
No. 46 初明早消	No. 35 初明早消		
	No. 32 初明早消		
	No. 33 初明早消		
	No. 27 初明早消		
	No. 28 初明早消		

次ニ然ラバ發光體熱水「エキス」ガ何等カノ方法ニテ發光ニ導カルル光質ヲ含ムモノナリヤ。又發光體以外ノ體部分及ビ或種非發光生物ノ熱水「エキス」ハ如何ナルモノヲ含ムモノナリヤ。萬一之等同様方法ニテ調製シ外觀上全ク同様ニシテ有效ナル三種熱水「エキス」ハ全ク同一ノモノニ非ザルカ或ハ後二者ハ Harvey²⁶⁾ノ稱フルガ如ク特ニ photophelein ト名付クル發光體熱水「エキス」ト全然異ナリタル作用方法ヲ有スル物質ヲ含ムモノナリヤ。此檢索ニ向ツテハ海螢ト異リ一發光生物體ニ於テ發光體部ト非發光體部トヲ容易ニ完全ニ分離シ得。又蠶ノ繭ノ蛹等容易ニソノ種非發光生物ヲ求メ得ル螢ハ實驗材料トシテ甚ダ便利ナルモノナリ。今螢ノ尾部冷水「エキス」ノ一定量ニ各種熱水「エキス」ノ量ヲ増減シテ(水ヲ以テ全量ハ一定ニシ)混和シテソノ消光經過ヲ檢セシニ發光器ヲ含メル螢ノ尾部熱水「エキス」量ヲ加減セシモノニ於テハ次表ノ如ク僅カ3例ナレドモ常ニ發光持續時間ガ熱水「エキス」多量ナル方ガ長キヲ認ム。是レ或ハ發光體熱水「エキス」ハ光質ヲ含ムモノナルコトヲ示スモノナルヤ知レザレドモ更ニ螢胸部熱水「エキス」或ハ松姑蠶熱水「エキス」ヲ用ヒシ場合ニ於テモソノ量多キ方ガ少ナキ方ヨリモ常ニ消光經過緩慢ニシテ發光持續時間ノ長キコトヲ示セルヲ以テ、熱水「エキス」ノ有效成分ハ何レモ螢發光體部冷水「エキス」ニテ何等カノ方法例之、蛋白體等ト結合シ未ダ非活性ナル光質ヲ何等カノ方法ニテ例之、結合セルモノナラバ之ヲ遊離シテ活性トナシソノ光質ト遊離ノ酵素樣物質ト結合發光セシムルモノデアリ一方酵素樣物質ハソノ際何等カノ方法例之、光質ト離レシ蛋白體等ニ結合シ或ハ酸化光質ト結合シ全體トシテ酵素作用減弱シ緩慢ナル消光經過ヲ與フルモノニ非ザルカ。然ルトキハ發光器ヲ含メル部ヨリノ熱水「エキス」モ非發光體部ノ熱水「エキス」モ、非發光生物ヨリノ熱水「エキス」モ總テ identical ノモノトシテ説明シ得ベシ。

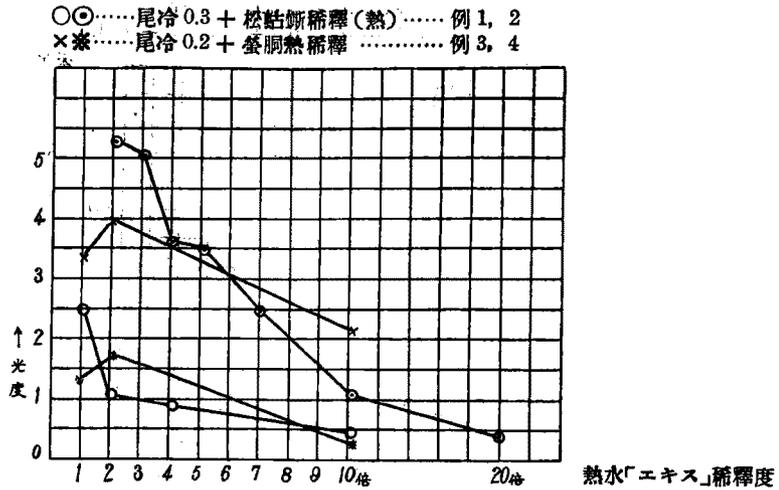
螢尾部冷水「エキス」ニ加フル各種熱水「エキス」量増減ニヨル發光ノ影響

(熱水「エキス」量多キ方ガ少ナキ方ニ對スル所見ヲ記載ス)

螢 胸 部 熱 水 「 エ キ ス 」		松 姑 蠶 熱 水 「 エ キ ス 」	螢 尾 部 熱 水 「 エ キ ス 」
第三光度測定法ニヨル	第一光度測定法ニヨル	第三光度測定法ニヨル	第一光度測定法ニヨル
No. 48 初暗永續	No. 21 初暗永續	No. 59 初明永續	No. 37 初明永續
No. 42 初暗永續	No. 34 初暗永續	No. 53 初明永續	No. 39 初明永續
No. 45 初明永續	No. 31 初明永續	No. 55 初明永續	No. 36 初明永續
No. 60 初明永續	No. 38 初暗永續		
No. 61 初暗永續	No. 40 初暗永續		
	No. 41 初暗永續		
	No. 24 初暗永續		
	No. 36 初暗永續		
	No. 26 初明永續		
	No. 19 初明永續		
	No. 29 初明永續		



但シ上記成績表ニアル如ク熱水「エキス」ヲ多量用ヒタルモノガ少量ノモノヨリソノ初ニ於テ明ルキアリ或ハ暗キアルハ熱水「エキス」量ハソレト混和スベキ冷水「エキス」量ニ對シ一定ノ Optimum ヲ有スルコト次ギノ成績(圖示)ガ示ス如ク、カカル場合例之、次圖ノ第3例或ハ第4例ノモノニテ熱水「エキス」2倍稀釋ト1倍稀釋トヲ用ヒタラムニハソノ消光經過ハ濃キ即チ熱水「エキス」量多キ1倍ノ方ガ長カラムモ、ソノ初メニハ却ツテ淡キ即チ熱水「エキス」量少ナキ2倍ノ方ガ明ルカルベク、反之10倍稀釋ト2倍稀釋トヲ比較セバ濃キ即チ熱水「エキス」量多キ2倍ノ方ガ消光經過ハ長クシテ而モ初メヨリ淡キ方ニ比シヨリ明カルベシ。而シテ此至適濃度ノ事實ハソノ液ノ PH ノ影響ナルカ或ハ光ニ對スル透明度ノ關係ナルヤ或ハソノ他ナリヤ不明ナレドモ、蜷胴部ニテハ熱水「エキス」有效成分餘リニ濃クナリ易キ爲メカ或ハ多量ニ得ラルル爲メカ此圖ニモ現ル如ク特ニ認メラレタルモノニシテ此事實ガ前表中蜷胴部熱水「エキス」ノ量ヲ増減セル例ニ於テ初期發光度ノ成績ニ不一致アル所以ナリト信ズ。



次ニ螢ノ尾部冷水「エキス」ニ冷水「エキス」ノ量ニ比シ甚ダ少量宛螢朧部熱水「エキス」ヲ毎回消光スルヲ見テ順次追加セシコトアリ。然ルトキハ次ノ表ニ示ス如ク初メ數回ハ殆ド同程度ノ發光ヲ認ムルモノソノ後漸次光度減弱シ遂ニハ螢朧部熱水「エキス」ヲ加フルモ發光セザルニ至リ之ニ螢尾部冷水「エキス」ヲ加ヘバ再び發光スルヲ見ル。此事實ハ螢朧部熱水「エキス」ノ逐次追加ニヨリテ活性ニナルル螢發光器冷水「エキス」中ノ非活性ノ光質ノ消失ニ基クモノナリヤ。酵素樣物質ノ消失ニ因ルモノナリヤ。或ハ兩者共ニ消失セシモノナリヤ不明ナレドモ、次ノ實驗例ノ如ク熱水「エキス」ヲ混和スル毎ニソノ發光漸消經過ノ漸次緩慢トナル事實ハ少ナクトモ酵素樣物質ノ作用ハ發光ト共ニ減少スルヲ示スモノナラムカ。

螢尾部冷水「エキス」ニ螢朧部熱水「エキス」ヲ少量宛反覆混和シタル發光成績

螢冷尾部冷水「エキス」1 cc, 螢朧部熱水「エキス」1 回量 0.1 cc

混和順序	混和後ノ時間	發光度	混和順序	混和後ノ時間	發光度
第1回熱水「エキス」混和	30〃	15.8	第4回熱水「エキス」混和	50〃	12.3
	1'30〃	13.4		1'50〃	10.0
	2'30〃	7.4		2'45〃	8.0
	3'30〃	4.4		3'30〃	7.9
	4'25〃	不能測		4'15〃	6.2
第2回	40〃	8.0	5'10〃	6.0	
	1'20〃	7.6	6' 0〃	4.8	
	2'20〃	6.8	7' 0〃	不能測	
	3' 5〃	5.0	第5回	50〃	6.7
	4' 〃	4.8		1'50〃	5.4
第3回	4'45〃	不能測	3'45〃	不能測	
	1' 0〃	8.5	第6回	1'20〃	4.8 殆ド不能測
	1'45〃	7.0		第7回	發光甚微弱
	2'30〃	5.5	第8回		〃
	3'30〃	5.5		螢尾部冷水「エキス」0.2 cc 混和	發光度強クナル
4' 0〃	4.8				
4'50〃	不能測				

以上ノ實驗觀察ヨリ得タル余等ノ見解ニヨレバ螢發光器ノ冷水「エキス」中ニハ非活性光質並ニ酵素樣物質存在シ熱水「エキス」中ニハ何等カノ法ニヨリテ發光器ノ冷水「エキス」中ノ非活性光質ヲ活性化スル作用アル物質ヲ含ムモノニシテ熱水「エキス」トシテノ作用ニ於テ發光體部非發光體部及ビ非發光生物ヨリ得ラレタル熱水「エキス」ニ根本的差異アルナシ。故ニ螢發光器冷水「エキス」ハ之等熱水「エキス」混和以外、何等カノ處置ニヨリテ發光ニ導キ得ベク、反之熱水「エキス」ハ光質ヲ加フルニ非ザレバ發光セザル筈ナリ。

詳細ハ化學發光ノ條下ニ後述センモ例之、表面張力ヲ減少セシムル「サポニン」水溶液或ハソノ他螢胴部熱水「エキス」ト同様ノ方法ニテ製セシ fluorescence アル外觀上螢胴部熱水「エキス」ト異ナラザルヲ註筋ノ熱水「エキス」、「ミオジン」、過酸化「マンガン」水溶液、鹽化「アドレナリン」水溶液等ハ螢發光器冷水「エキス」ヲ發光セシムルコト能ハザリシモ單ニ 2% NaOH 水溶液等「アルカリ」ハ酸素ノ存スル所ニ於テ螢發光器冷水「エキス」ヲ一時性ナレドモ著明ニ發光セシメ酸素ナキ所ニ於テ發光セシメズ而シテ以上使用セシ螢胴部熱水「エキス」ハ認ムベキ程度ノ「アルカリ」性ヲ有セザルモノナリ。

又余等ノ實驗ニヨレバ如何ナル物質ヲ加フルモ熱水「エキス」ヲ今日迄發光ニ導クコトヲ得ズ過酸化水素、「ルゴール」氏液、焦性沒食子酸ト過酸化水素、亞硝酸含有硝酸、「アンモニア」性「ピクリン」酸等ノ混和モ何等效果ナカリキ。

最後ニ熱水「エキス」ト爲サバ螢ノ尾部「エキス」ト合シテ發光ヲ惹起スル物質ノ冷水「エキス」ガ發光ヲ抑制スル事實ハ既述セシ所ナルガ尙ホカノ寫真現像ニ當リテ試藥ノ還元作用ヲ抑制スル臭素加里モ又發光ヲ抑止スルモノニシテ冷熱兩「エキス」ノ混和ニヨリテ光ヲ放散ル液ニ臭素水ノ少量ヲ加フトキハ直チニ消光ス、是ハ更ニ「アルカリ」ヲ加フコトニヨリテ又發光ニ導クヲ得ルモノニシテ尙ホ「エリトロジン」モ發光ヲ抑止スレドモ、カノ青酸加里ハ此兩「エキス」混和ニヨル發光ニモ影響ヲ與ヘズ。

第 10 章 總 括

1) 實驗材料トシテ岡山縣下ニ産スル源氏螢並ニ平家螢ヲ用フ、是ハ乾燥器中ニ保存スルトキハ採取後、1 箇年以上猶ホヨク發光ニ導クコトヲ得。

2) 源氏螢ノ發光光線ハ約波長 660—480 μ . μ . ノ連續「スペクトルム」トシテ現レ紫外線並ニ赤外線ヲ認メズ。

3) 螢ノ發光器ヲ電氣的或ハ化學的ニ刺激スルトキハソノ發光度ヲ増ス、此成績ハ純發光神經ノ存在ヲ示スニ非ズシテ、直接或ハ間接ニ發光器中ノ氣管枝滑平筋ノ攣縮ニヨリ多量ノ空氣ノ侵入スル爲メナラムカ。

4) 發光器ハ 0°C 乃至 -7°C ニ冷却スルトキハ完全ニ消光シ、溫ムルトキハ再ビ發光ス。反之 40°C 以上ニ溫ムル時ハ光漸次赤味ヲ帶ビ 48°C—54°C ニテ全ク消光シ冷却スルモ再光セズ。1°—39°C 間ニテソノ溫度係數ハ率口 1 ニ近ク、消光經過ノ夫レハ大約 2 ナル成績ヲ得タリ。

5) 螢ノ發光器ニ發光ニハ必ズ酸素ヲ要スルモノニシテ酸壓分壓 1/40 氣壓以下ニテハ發光停止ス。夫レ以上1氣壓迄ハ酸素ノ増加ト共ニ光度ヲ増ス。然レ共酸素分壓 4—5 氣壓迄尙ホ15氣壓ニテモ發光ヲ減ジ或ハ消光スル事ナシ。

6) 發光器ヲ碎磨セルモノニ於テハソノ發光ハ一酸化炭素ニヨリテ影響サレズ。是レ發光ニ關與スル被酸化物質ガ血色素ト異ナリ、一酸化炭素ト抱合スルモノニアラザラ示スモノナラン。

7) 螢ノ尾部ノ冷熱水兩「エキス」ヲ合シテ發光セル混合液竝ニ發光器ハ青酸瓦斯ニヨリ發光ヲ妨ゲラレズ。螢ノ發光ニ關係セル酸化現象ハ鐵ト關係セル酸化現象以外ノモノナラン。

8) Osterhaut ノ創意ニ掛リ Parker ガ神經纖維ヨリノ炭酸瓦斯測定ニ用ヒタル一標示藥法ヲ使用シテ、源氏螢ノ尾部ヨリヨク分離シタル發光器ノ炭酸瓦斯發生量ヲ檢セルニ對照トシテ用ヒタル非發光部ニ比シテ多量ノ炭酸瓦斯發生ヲ認メズ。故ニ本發光ニ與ル酸化反應ハ炭酸瓦斯發生ヲ伴ハザルモノカ。

9) 螢ノ發光器ヲ含ム部ノ冷水「エキス」ハソノ部或ハ發光器ヲ含マザル部又ハ或種非發光生物ノ熱水「エキス」ヲ加フルトキ發光ス。

10) 螢ノ發光部冷水「エキス」ニ胴部或ハ松姑蝸熱水「エキス」ヲ加ヘ發光セシメタルモノニ就キソノ光度漸消經過ヲ觀察スル時ハソノ發光ハ一分子反應ニ屬スルモノノ如シ。

11) 螢發光部冷水「エキス」量ヲ増減シ、螢胴部或ハ松姑蝸熱水「エキス」ノ一定量ニ加ヘタル混液ノ發光漸消經過ヲ檢スルニ冷水「エキス」量多キトキハ初メ光度強クシテ速ニ消光ス。故ニ螢發光器ノ冷水「エキス」中ニハ發光機轉ヲ促進セシムル酵素樣物質ヲ含ムモノノ如シ。反之螢發光部、非發光部竝ニ非發光生物ノ熱水「エキス」量ヲ増減シ、螢發光部冷水「エキス」一定量ニ混和シソノ漸消經過ヲ檢スルニ熱水「エキス」量多キ方ハ常ニ發光持續時間長クシテ、シカモ常ニ消光經過緩漫ナリ。故ニ熱水「エキス」有效成分ハ何レモ螢發光部中ニテ何等カノ方法例之、蛋白等ト結合シ未ダ非活性ナル光質ヲ何等カノ方法ニテ例ヘバ結合セルモノナラバ之ヲ遊離シテ活性トナシソノ光質ト遊離ノ酵素樣物質ト結合發光セシムモノデアリー方酵素樣物質ハ何等カノ方法例ヘバ光質ト離レシ蛋白ト結合シ全體トテシ酵素作用減弱シ緩漫ナル漸消經過ヲ與フルモノナリ。但シ熱水「エキス」量大量ナルモノガ少量ナルモノヨリ初メニ於テ或ハ明ルク或ハ暗キハ熱水「エキス」量ハ夫レト混和ス可キ冷水「エキス」量ニ對シ一定ノ至適濃度ヲ有スルニヨル。是レハ螢ノ胴部熱水「エキス」ニ於テ特ニ認メラルトコロナリ。

12) 活性熱水「エキス」ト雖モ今日迄如何ナル手段ニヨルモ發光セシメ得ザリシモ活性冷水「エキス」ハ例ヘバ「アルカリ」ヲ少量加フルコトニヨリ著シク發光セシムルコトヲ得。

13) 尙ホ臭剝水又ハ「エリトロゲン」溶液ハ兩「エキス」混和ニヨル發光ヲ抑止シ青酸加里ハ影響ヲ與ヘズ。

14) [イ] 活性熱水「エキス」ハ熱ニヨリテ前階級物ヨリソノ有效成分作成サレ一方豫メ冷

水「エキス」中ニ在シ熱水「エキス」有效成分ノ作用ヲ妨害スル物質ガ熱ニヨリテ無カトナリ生ズルモノナリ。之ニ要スル溫度ハ50°C 3分以上, 100°C 數分乃至10數分ナリトス。

〔ロ〕 活性熱水「エキス」ハ水溶液ノ型ニ於テ室溫12時間以內, 變化ノ傾向ナク24時間後モ有效ナリ。

〔ハ〕 熱水「エキス」有效成分ハ濾紙, Chamberlandノ濾過器, 「コロヂューム」膜ヲ通過シ。一般酵素或ハ膠質ノ如ク分子大ナラザルモノノ如シ。

〔ニ〕 熱水「エキス」有效成分ハ骨炭ニヨク吸着サル。

〔ホ〕 熱水「エキス」有效成分ノ如キ物質ハ冷或ハ熱「アルコール」及ビ「エーテル」ニヨリテ抽出形成サレズ。

15) 〔イ〕 冷水「エキス」有效成分ハ42°C—43°C 3分ニテソノ作用ヲ失フ。

〔ロ〕 冷水「エキス」有效成分ハ水溶液ノ型ニ於テ室溫1—2時間ニシテ著シクソノ作用ヲ減ズ。

〔ハ〕 冷水「エキス」有效成分ハ濾紙ヲ通過スレ共「コロヂューム」膜ヲ通過セザルヲ以テ有效成分ハソノ分子比較的大ナルベシ。

〔ニ〕 骨炭ニハ熱水「エキス」ニ劣ルガ如キモ, ヨク吸着サル。

〔ホ〕 冷水「エキス」有效成分ノ如キモノ乃至發光物質ハ冷或ハ熱「エーテル」ニヨリ抽出サレズ故ニ一般脂肪或ハ類脂肪ニハ非ザルベシ。(3. 9. 17. 受稿)

文 獻

- 1) Mangold, Die Produktion von Licht. Handb. d. vergleichenden Physiologie. 1910, Bd. 3, Ht. 2, s. 225.
- 2) Harvey, The nature of animal light. 1919.
- 3) Harvey, Studies on bioluminescence. V. The chemistry of light production by the firefly. Amer. J. of physiology. Vol. 42. P. 342.
- 4) Kanda, 生物發光物質ノ理化學的研究, III. 源氏螢ノ發光ハ酸化作用デアル, 動物學雜誌, No. 375. P. 413.
- 5) Coblenz, Physikal study of the firefly. 1912. P. 26.
- 6) (1)=同ジ.
- 7) Amberson, Kinetics of the bioluminescent reaction in Cypridina, II, Journ. of general physiol. Vol. IV. P. 535.
- 8) Morrison, Studies on luminous bacteria, I. The influence of temperature on the intensity of the light by luminous bacteria, J. of general physiol. Vol. VII, P. 741.
- 9) 神田, (4)=同ジ
- 10) Harvey, and Morrison, The minimum concentration of oxygen for luminescence by luminous bacteria. J. of general physiol. Vol. VI, P. 13.
- 11) Harvey, Studies on bioluminescence. VI. Light production by a Japanese Pennatulid, Cavernularia Haberi. American J. of physiol. Vol. XLII. P. 349.
- 12) Harvey, (3)=同ジ.
- 13) 勝沼, Intracelluläre Oxydation and Indophenolbiosynthese, 1924, s. 179.
- 14) (4)=同ジ
- 15) Harvey, Studies on bioluminescence. X. Carbon dioxide production during luminescence of Cypridina luciferin. Journ. of general physiol. Vol. II. P. 133.
- 16) Parker, The

production of carbon dioxide by nerve. *J. of general physiol.* Vol. VII. p. 641. 17) Dubois, Note sur la fonction photogenique chez les pholades, *Compt. rend. soc. biol.* 1887, P. 564. 18) Harvey, Studies on bioluminescence. IX. Chemical nature of *Cypridina luciferin* and *Cypridina luciferase*, *J. of general physiol.* Vol. 1. P. 269. Harvey, Studies on bioluminescence. II. On the presence of luciferin in luminous bacteria. *American Journal of physiol.* Vol. 41. P. 449. Harvey, Studies on bioluminescence. IV. The chemistry of light production in a Japanese ostracod crustacean, *Cypridina hilgendorffii*, Müller. *American J. of physiol.* Vol. XLII, P. 318. Harvey, Studies on bioluminescence. XIV. The specificity of luciferin and luciferase. *J. of general physiol.* Vol. IV. P. 284. 19) 神田, 生物發光物質ノ理化學研究, 1. 海螢ノLuciferin 及ビ Luciferase ニ就テ. *動物學雜誌*. No. 360. P. 409. 20) Harvey, (3)ニ同ジ. 21) Harvey, Studies on bioluminescence. VII. Reversibility of the photogenic reaction in *Cypridina*. *J. of general poysiol.* Vol. 1. P. 133. 22) 安武, 迷走神經素ノ研究. *岡山醫學會雜誌*, No. 456. P. 44. 23) Trautz, Studien über Chemiluminescenz. *Zeitschrift für physikalische Chemie*. Bd. 53, S. 1. 24) Amberson, (7)ニ同ジ. 25) Harvey, Studies on bioluminescence. IX. Chemical nature of *Cypridina luciferin* and *Cypridina luciferase*. *Journ. of general physiol.* Vol. 1. P. 269. 26) Harvey, Studies on bioluminescence. XII. The action of acid and of light in the reduction of *Cypridina oxy-luciferin*. *J. of general physiol.* Vol. II, P. 207. 27) 小堀, 脊髓ノ糖原消費及ビ炭酸排泄ニ及ボス「ストリヒニン」ノ影響ニ就テ, *岡山醫學會雜誌*, No. 462. P. 1413.

*Abstract.***Studies on the bioluminescence.**

By

Dr. Kanae Hayasi and Dr. Misao Okuyama.

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

Received for publication September 17, 1928.

The bioluminescence is especially interesting for physiologists in the sense that the end of the intracellular mechanism of the light producing cells is revealed by the light. Whole energy liberated by the process is represented by the light only, unmixed by other energies e. g. movement or heat. This special fact simplifies the experiment enormously, because the light intensity can be measured accurately and conveniently.

Photometries used for these studies were following two, according for the purpose.

a) Photographic method comparing either of the intensity grade or the diameter of the dark spot on the negative plate or film.

b) Comparison method of the brightness of the light with the aid of the adjustable dark glasses (double frame detached from the Hess' differential pupilloscope).

The results obtained on the Japanese firefly (Genzi-hotaru and Heike-hotaru) were summarised as follows.

1) The light producing organ kept in exsicator could be brought to emit light again by moisting with water, even after two years.

2) The spectrum of the light of the Japanese firefly extends continuously from the reddish orange ($660 \mu\mu$) to the bluish green ($480 \mu\mu$).

3) The intensity of the light increases by the stimulation of the light producing organ with the faradic current or by the chemicals which affect only muscle but not nerve. This phenomenon does not suggest the excitability of the organ, or the presence of the exciting nerve for the organ, but can be explained by the increased supply of air by the contraction of the tracheal muscle.

4) The light extinguishes at temperature 0° — 7°C ., it reappears again by warming. At the temperature over 40°C . the light becomes gradually reddish and extinguishes at 48° — 54°C . It does not reappear by cooling. The temperature coefficient for intervals 10°C . of the light intensity is 1.2—1.3. The same for the velocity of decay of light is 1.9—2.1.

5) Oxygen is indispensable to the light production of the light producing substance of firefly, which does not emit light under $1/40$ atmospheric pressure of oxygen. The intensity of the light increases proportional to the oxygen pressure in the extent of $1/40$ to

I atmospheric pressure ; over that pressure the light intensity approaches asymptotic to the maximum. Further increase of pressure beyond the maximum, also until 4—5 atmospheric pressure or even to 15 atm. pr. does not show any tendency to decrease the light intensity.

6) The light emission from the minced light producing organ of the firefly is not affected by carbon monoxide. It shows that the oxidizable substance does not combine with CO more forcible than with oxygen as haemoglobin does.

7) The light is given out, when the hot water extract from the light producing organ or the non-luminous part of the firefly or from certain animals like cocoonworm (Kaikono-Mayu) which have no light producing organ, is added to the cold water extract from the light producing organ of the firefly.

8) HCN-gas has no influence upon light production of the light producing organ or the mixture of cold water and hot water extracts from the light producing organ, the oxidation concerned with the light production by the firefly would refer to other than the oxidation connected with iron.

9) The authors measured the CO_2 production from the isolated light producing part and non-luminous part of the firefly with Osterhout's indicator method applied for the CO_2 -gas measurement of nerve fibre by Parker and came to the conclusion that the oxidation reaction does not accompany with CO_2 production, for the light producing part did not give out more CO_2 -gas than the non-luminous part.

10) The decay curve of the light emitted from the mixture of the hot water extract from non-luminous part of the firefly or from the larva of the *Dendrolimus pini* (Matu-Kemusi) and the cold water extract from the light producing part of the firefly indicates that the luminescent reaction in the firefly belongs to a monomolecular reaction, provided the light intensity at any instant is assumed to be proportional to reaction velocity at that instant.

11) The velocity of the decay of the light intensity which emits from the mixture of cold and hot extract quickens by the increase of the quantity of the cold water extract of the light producing part of firefly. From this fact it seems that the cold water extract contains an enzymlike substance which hastens the luminescent reaction.

On the contrary, when the quantity of the hot water extract from luminous part or non-luminous part of the firefly or from non-luminous animals increases, the light of the mixture decays slowly and lasts longer. This fact is explained by an assumption that the hot water extract lets the photogenic substance active (e. g. it sets the inactive photogenic substance combined with protein free.) and at the same time enzymlike substance becomes correspondingly inactive (e. g. by the adsorption).

At the addition of the cold water extract into the cold and hot water mixture, it sometimes brightens the emitted light and sometimes lessons it. This initial flash is accounted for granting that the hot water extract acts at bravest at an optimal concentration which

is proved especially in case of that from non-luminous part of the firefly.

12) The extinguished but still active cold water extract emits the light by the addition of alkali instead of the hot water extract. On the contrary, we could not let shine the hot water extract by any means.

13) Potassium bromide or erythrosin inhibits luminescence of the light mixture, but potassium cyanide does not.

14) The active hot water extract is formed by heat from the firefly or certain non-luminous animals; i. e. by the conversion of the precursor into its efficacious form and by the destruction of material preventing the action of the active substance. Required temperature and time for this purpose is about over 3 min. at 50°C. or 15—16 min. at 100°C..

On the contrary, the active cold water extract loses its power by warming at 42°—43° C. over 3 min.

15) The active hot water extract in solution does not degenerate in half a day, and is efficacious even after a day, but the active cold water extract diminishes in power remarkably in 1—2 hours at room temperature.

16) The active component in the hot water extract passes easily through filterpaper, Chamberland filter and collodium membrane, but the active substance in the cold water extract does not filter through collodium membrane.

17) Charcoal adsorbs the active part both in hot and cold water extracts, but the latter is less adsorbed than the former.

18) Such an efficacious component as that in the active hot or cold water extract can not be extracted by alcohol or ether.

