

ホタテガイの閉殻筋とマイコンボード Arduino を用いた 簡便な電気刺激筋収縮実験

A Simple Experiment for Electrically-Stimulated Muscle Contraction Using Scallop Adductor Muscle and Microcontroller Arduino

岩井 草介*・細川 瑞希*・齋藤 和哉*

Sosuke IWAI*, Mizuki HOSOKAWA*, Kazuya SAITO*

要 旨

電気刺激による筋収縮の実験は高等学校の生物などでもよく扱われる題材であるが、実際に学校で実験を行うのは簡単ではない。そこで本研究では、電気刺激による筋収縮の実験について簡便な実験方法を検討した。その結果、1) 実験材料としてホタテガイの閉殻筋（貝柱）、2) マイコンボード Arduino を用いたパルス刺激発生装置、3) スマートフォンによる動画撮影と画像処理ソフトウェア ImageJ による画像解析を用いたキモグラフ作成、の3つを用いることによって、実験を簡便かつ安価に行うことができた。特に、ホタテガイの内臓神経節付近にパルス刺激を与えることによって、閉殻筋の単収縮や強縮を観察し、そのキモグラフを作成することができた。さらに研究の過程で、ホタテガイ試料の入手方法が異なれば閉殻筋の収縮特性も異なることが判明したので、それについても報告する。

キーワード：筋肉、収縮、神経、教材

1. はじめに

電気刺激による筋収縮の実験は、高等学校の生物でもよく扱われる題材である。電気刺激によって骨格筋が収縮するしくみは以下の通りである¹⁾。まず運動神経の電気刺激により発生した活動電位が神経・筋接合部に達すると、筋細胞との間に形成されているシナプスに神経伝達物質のアセチルコリンが放出される。アセチルコリンが筋細胞膜上の受容体に結合すると、筋細胞膜に活動電位が生じる。生じた活動電位が横行小管（T管）を通じて筋繊維内部に伝わると、横行小管に接している筋小胞体から筋細胞内にカルシウムイオンが放出されて筋収縮が起こる。脊椎動物の骨格筋では、放出された Ca^{2+} がトロポニンに結合するとアクチンとミオシンが結合しやすい状態になり、両者の間で ATP の加水分解エネルギーによる滑り運動が起こる。二枚貝類の閉殻筋の収縮も Ca^{2+} によって制御されているが、 Ca^{2+} がミオシン軽鎖に直接結合するという点が異なる²⁾。1回の活動電位によって刺激され

た筋肉では単収縮と呼ばれる単一の収縮が起こる。一方、短い時間間隔で連続的に刺激を与えると、単収縮が加重して強縮と呼ばれる持続的な強い収縮が起こる。

実習などで電気刺激による筋収縮の実験を行う場合、実験材料としては大型のカエルの腓腹筋がよく用いられる³⁾。カエルから運動神経（坐骨神経）をつけたまま腓腹筋を取り出すことによって、「神経筋標本」を調製することができるのが特長である。調製した腓腹筋の一端に重りを吊り下げ、坐骨神経に電気刺激を与えて筋肉の収縮の波形（キモグラフ）を記録する。カエルの神経筋標本は、神経に刺激を与えてその反応を調べることができるため、歴史的にもよく用いられてきた材料である⁴⁾。しかし、カエルは入手が簡単とは言えず解剖にも労力を要するため、学校で実験に用いるのは簡単ではない。加えて従来の電気刺激による筋収縮の実験では、数ミリ秒のパルス刺激を発生させるための刺激装置や、キモグラフを作成するための記録装置が高価という問題もあった。

*弘前大学教育学部理科教育講座

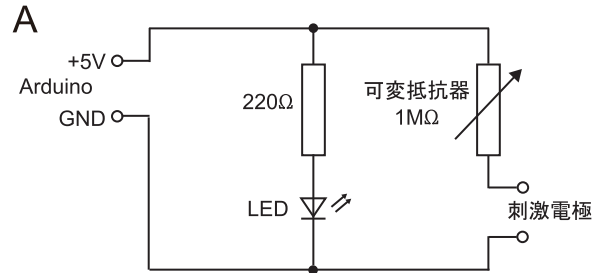
Department of Biology, Faculty of Education, Hirosaki University

そこで電気刺激による筋収縮の実験を学校で行うことをめざして、本研究ではその簡便な実験方法を検討した。まず実験の材料としては、ホタテガイの閉殻筋を用いた。ホタテガイ (*Mizuhopecten yessoensis*) は、軟体動物門-二枚貝綱-イタヤガイ科の仲間であり、中央部に殻を閉じるための大きな貝柱 (閉殻筋) があるのが特徴である⁵⁾。閉殻筋は、半透明な横紋筋と白色の平滑筋に分かれている。閉殻筋の大部分を占める横紋筋は、素早く殻を閉じることによって水を噴出して移動し、外敵から逃避するために使われる。それに対して平滑筋は、エネルギーをほとんど消費せずに収縮し続けること (キャッチ収縮) によって殻を強固に閉じた状態を維持し、外敵から身を守るために使われる²⁾。ホタテガイは、青森県などでは鮮魚店等で容易に生きたまま入手できる材料であり、体内の構造が比較的単純なため解剖も容易である。本研究では他にも、安価にパルス刺激を発生させる手段として、PCによって制御可能なマイコンボード Arduino を用いた刺激装置を作製した。さらに安価にキモグラフを作成するために、閉殻筋に取り付けた針の動きをスマートフォンで撮影してから、動画をオープンソースの画像処理ソフトウェア ImageJ によって解析する方法を考案した。以下では、これらの実験方法とその結果について紹介する。さらに研究の過程で、ホタテガイ試料の入手方法によって閉殻筋の収縮特性が異なることが判明したので、それについても報告する。

2. 実験方法と結果

2-1 Arduinoを用いた電気刺激装置

本研究では、パルス刺激を発生する電気刺激装置を作製するために、Arduino Uno (<https://www.arduino.cc>) を用いた。Arduino は PC 上で作成したプログラムによって制御できるマイコンボードである⁶⁾。まず Arduino Uno にジャンプワイヤを介してブレッドボードを接続してから、ブレッドボードに部品を差し込んで図 1A に示した簡単な回路を作製した。神経を刺激する電極にはテスター用の電極を流用した。刺激電極に並列接続されている LED は、電気刺激を可視化するためのものである。LED はキモグラフ作成の際に筋肉に取り付けた針と一緒に撮影する必要があったため (2-3 項)、2 本のジャンプワイヤを介することによってブレッドボードから 50 cm 以上離れた。また Arduino の出力は 5 V に固定されているため、刺激電流を減らせるように可変抵抗器を刺激電極と直列接続



```

B
const int duration = 5; // 刺激持続時間 (ミリ秒)
const int interval = 995; // 刺激間隔 (ミリ秒)

void setup()
{
  pinMode(13,OUTPUT); // ピン 13 を出力に設定
}

void loop()
{
  digitalWrite(13,HIGH); // ピン 13 に 5 V 出力
  delay(duration); // duration ミリ秒間待機
  digitalWrite(13,LOW); // ピン 13 に 0 V 出力
  delay(interval); // interval ミリ秒間待機
}

```

図 1, Arduino を用いた電気刺激装置。A, 作製した刺激装置の電気回路図。ブレッドボードに部品を差し込んで作製した。刺激電極にはテスター用の電極を用いた。可変抵抗器の抵抗値は通常 0 とした。B, Arduino で実行したプログラムの例。この例では、持続時間 5 ミリ秒・間隔 995 ミリ秒 (=1 Hz) のパルス刺激をピン 13 に繰り返し発生している。

した。ただし刺激電極の間の抵抗値が試料や電極の当て方によって異なるため、刺激電流を任意の値に調節することはこの回路では難しい。以降の実験は断りのない限り、可変抵抗器の抵抗値は 0、刺激電極の出力は 5 V とした。

Arduino Uno を PC に接続し、PC 上で作動するソフトウェアによって、図 1B に示したプログラムを Arduino で実行した。プログラムは、パルス刺激として、任意の持続時間 (パルス幅) および間隔でピン 13 に 5 V を出力するだけの簡単なものである。持続時間 5 ミリ秒、間隔 995 ミリ秒の設定でプログラムを実行したところ、毎秒 1 回 (=1 Hz) の LED の点滅が確認できた。また間隔を 95 ミリ秒に変更したところ、毎秒 10 回 (=10 Hz) の LED の点滅が確認できた。以上のように、マイコンボード Arduino を活用することによって、簡単に任意の周波数で 5 V のパルス刺激を発生させることができた。

2-2 ホタテガイ閉殻筋の電気刺激による収縮

試料の調製法について検討するために、まずホタテガイ成員の閉殻筋のさまざまな場所に電気刺激を与えて反応を調べた。その結果、閉殻筋に付着している内

臓神経節付近を刺激した場合に、最も大きく閉殻筋が収縮することが分かった。内臓神経節は二枚貝類の中枢神経系の1つである^{5,7,8)}。ホタテガイ類では、閉殻筋の大部分は横紋筋が占めており、その横紋筋の速い収縮を引き起こす運動神経は内臓神経節から出ている⁷⁾。そのため、内臓神経節付近を刺激することによって、そこから出ている運動神経が刺激されて横紋筋が主に収縮したと考えられる。内臓神経節以外の場所を刺激しても反応が小さかったのは、内臓神経節から横紋筋に向かう運動神経は、筋の表面は通らずすぐに筋内部に入り込んでいるためと考えられる⁷⁾。

以上の結果に基づき、ホタテガイ試料の調製は、以下のように内臓神経節の露出を優先させることにした。まず白色で膨らみが大きい右殻を外套膜や閉殻筋

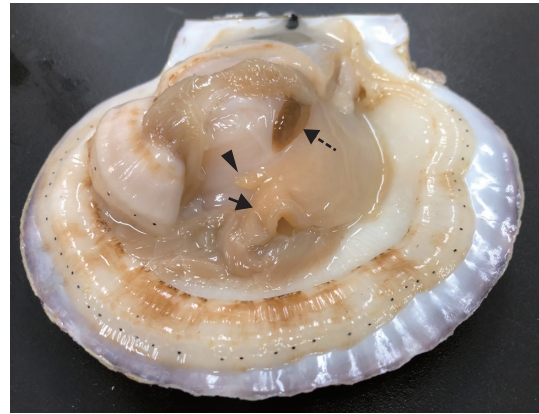


図2, ホタテガイ試料の調製の様子。成貝の右殻を取り外したところ。矢尻は露出した内臓神経節、矢印は生殖巣(ここでは精巣)の切り離した部分、点線の矢印は腎臓を示す。

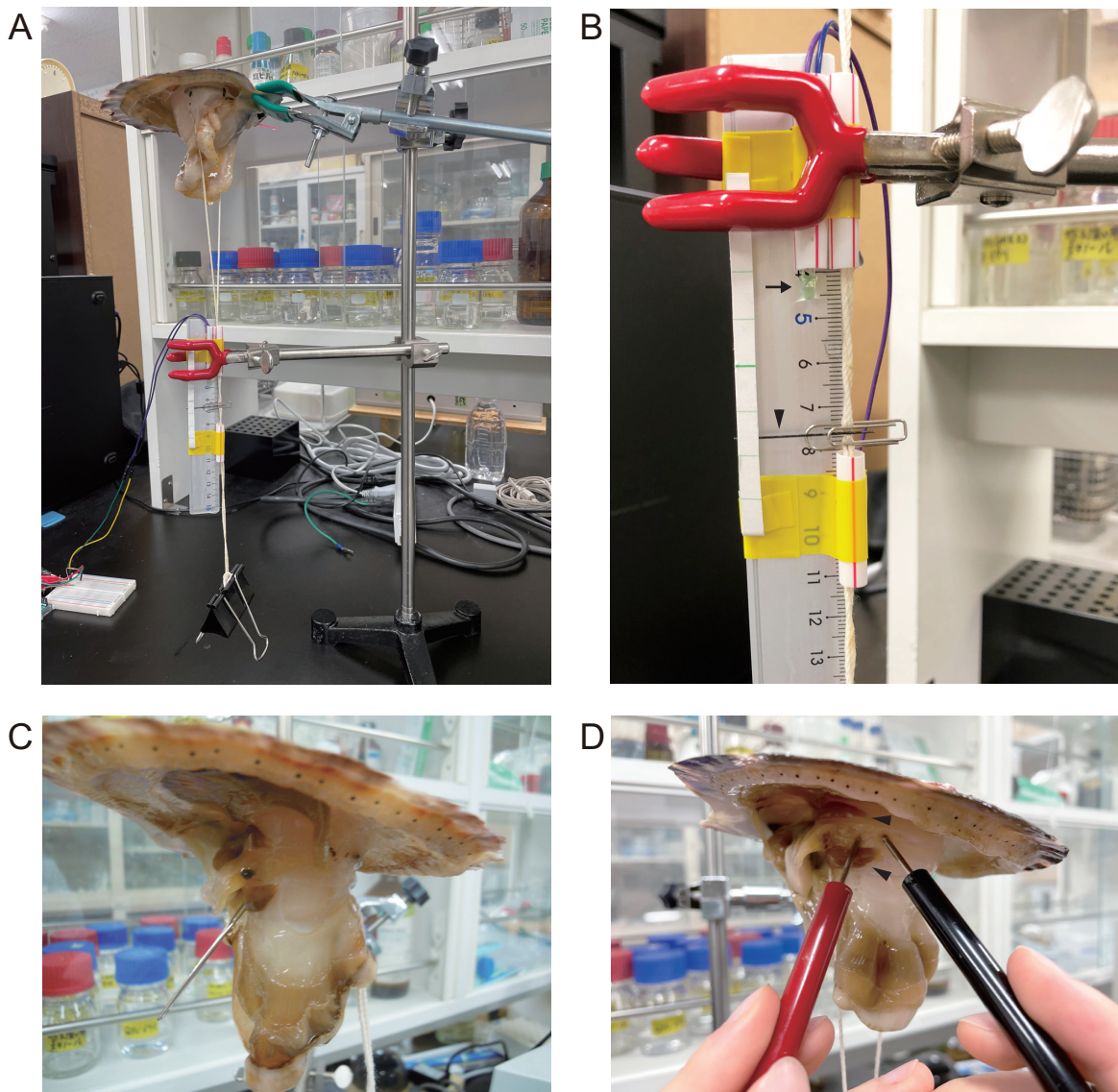


図3, ホタテガイ試料の設置と刺激の様子。A, 設置した試料の全景。B, 収縮幅測定部。閉殻筋から下がるたこ糸は2本のストローに通すことによって振り子運動を防いだ。たこ糸には収縮幅測定用の針(矢尻)を取り付けた。別のストローには電気刺激表示用のLED(矢印)を通した。C, 閉殻筋に針を使ってたこ糸を通す様子。D, 電気刺激の様子。左右1対の腎臓(矢尻)の間の内臓神経節付近に2本の刺激電極を当てた。

から切り離してから、右殻を取り外した。その後解剖用はさみとピンセットを用いて、淡黄色の内臓神経節が露出するまで、閉殻筋に癒着する生殖巣（精巣や卵巣）を閉殻筋から切り離した（図2）。その際、閉殻筋自体を傷つけないように注意した。内臓神経節は左右1対の褐色の腎臓の間にあるため、腎臓の先端が見えるまで生殖巣を切り離すことを指標とした。ただし一部には、内臓神経節が不明瞭な個体も見られた。後述のように試料設置の際に保持するために、左殻は閉殻筋から切り離さなかった。また、閉殻筋や神経の余計な損傷を減らすため、これ以上器官や組織を取り除くことはしなかった。

調製したホタテガイ試料は、閉殻筋の収縮がよく観察できるように、以下のように設置した（図3A）。まず左殻の蝶番の前後にある耳殻をクランプではさみ、閉殻筋が鉛直下向きに垂れ下がるようにスタンドに固定した。試料を自由に回転できるように、クランプは回転式ムフを介してスタンドに取り付けた。さらにスタンドには別のクランプで定規を固定してから、重りを吊り下げるたこ糸を通すために、ストローを取り付けた（図3B）。重りを吊り下げるたこ糸は、毛糸用の針を用いて、垂れ下がった外套膜の上に引っかけることによって閉殻筋のなるべく下の方に通した

（図3C）。閉殻筋に通したたこ糸は、両端をまとめて定規に取り付けた上下2本のストローに通してから、重りの大型クリップ（26.0 g）ではさんだ。ホタテガイの閉殻筋の収縮力は場合によっては1 kg 以上にもなることから⁹⁾、ホタテガイは本来この重りよりはるかに重いものを持ち上げられるはずである。しかし本研究では殻を1枚取り外して閉殻筋が破損しやすい状態になっているため、重りの重量についてはこの程度とした。重りが閉殻筋から鉛直に吊り下がるように、試料の角度を調整した。

設置したホタテガイ試料に対して、2-1項で作製した刺激装置を用いて内臓神経節付近に電気刺激を与えた。電気刺激は、陰極と陽極の2本の電極を、内臓神経節付近に1 cm 程度の間隔をあけて同時に軽く押し当てることによって行った（図3D）。1 Hz のパルス刺激を与えたところ、閉殻筋が大きく収縮と弛緩を繰り返す様子が観察できた（図4）。可変抵抗器の抵抗値を増加することによって刺激電流を減少させたところ、電流の減少に伴って収縮の度合いも減少し、やがて収縮しなくなった。1 Hz の刺激を加え続けたところ、100回以上の刺激を加えても収縮は継続していた。ただし刺激が50回を超えると、収縮の幅は小さくなった。これは、収縮を繰り返したことにより、エ

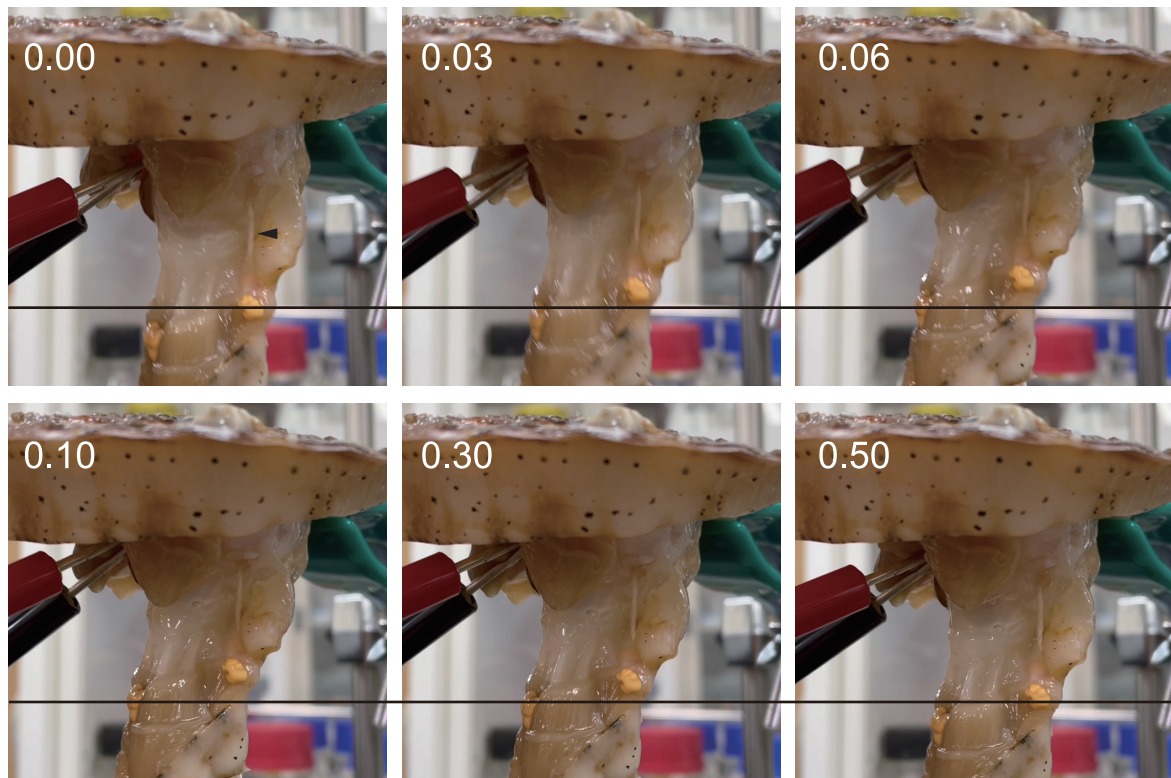


図4、1 Hz のパルス刺激を与えた閉殻筋が単収縮・弛緩する様子（連続画像）。各画像の左上に、刺激を与えてからの時間（秒）を示した。収縮が分かりやすいように、最初(0.00)にたまたま寄生虫が付着していた位置に直線を引いた。矢尻は閉殻筋に通したたこ糸。

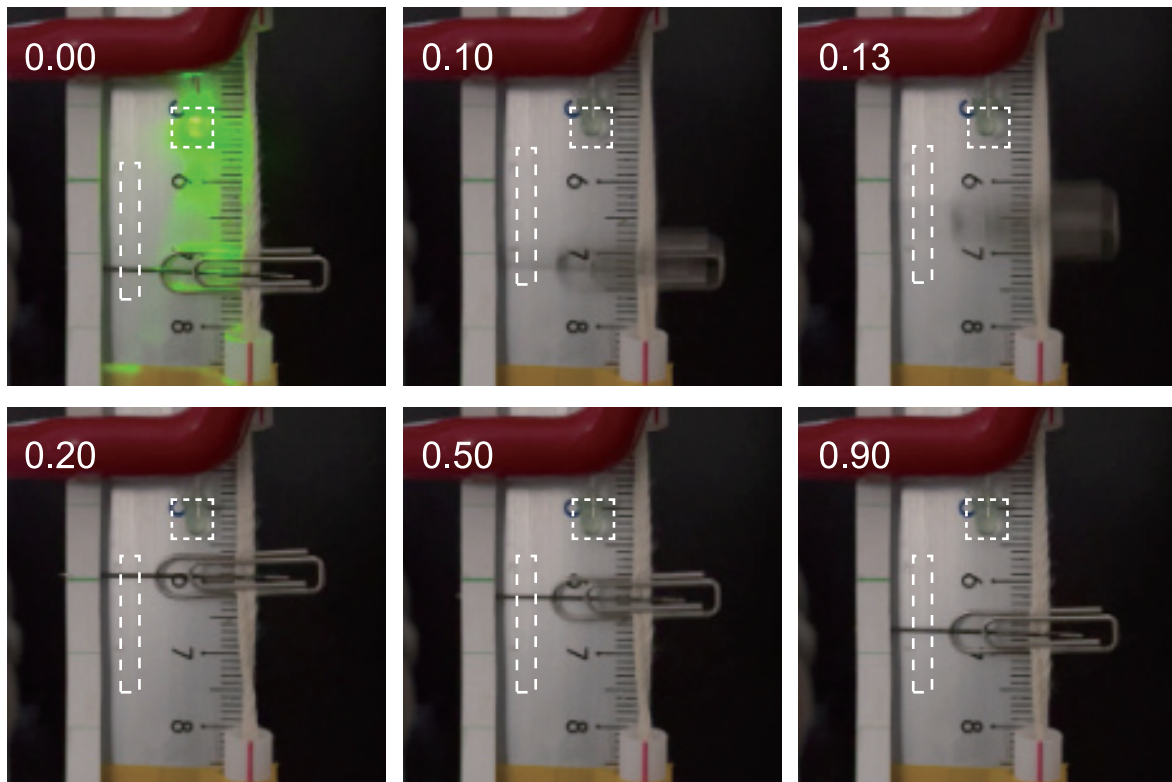


図5, 筋収縮に伴う収縮幅測定部の動画の例(連続画像)。各画像の左上に、刺激を与えて(LEDが点灯して)からの時間(秒)を示した。点線で囲んだ領域は、それぞれ後の画像解析(収縮幅測定とLED点滅解析)に用いた領域。

エネルギー貯蔵物質(ホタテガイではアルギニンリン酸¹⁰⁾が枯渇して筋細胞が疲労したか、もしくは電極から発生する熱により神経が損傷したためかもしれない。以降は、筋肉や神経の損傷を避けるため、刺激電極を当てるのは1回の実験につき5-10秒程度とした。なお、内臓神経節から出ている運動神経のみを識別して刺激することは、本研究では難しかった。そのため、本当に横紋筋のみを選択的に刺激できているかどうかは不明である。

2-3 動画撮影と画像解析によるキモグラフ作成

閉殻筋の収縮幅を定量化するために、筋肉から吊り下げたたこ糸の途中に針を取り付けた(図3B矢印)。針は見やすいように油性ペンで黒色に塗り、上下2本のストローの中間部にクリップで固定した。ストローでたこ糸の振り子運動を防いだことに加え、定規に取り付けたボール紙のストッパーによって針の水平方向の回転も防いだ。電気刺激による筋収縮に伴って針も数cmの幅で上下動するのが確認されたため、その動きをiPhone(Apple)で動画撮影した。収縮幅はmm単位であったため、手ブレを防ぐためにiPhoneは三脚で固定した。針の動きと同時に電気刺激も可視化するために、刺激電極に並列接続しているLEDを、定

規に取り付けた別のストローに通し(図3B矢印)、LEDの点滅を針と一緒に撮影した。実際に撮影した動画の例を図5に示す。

撮影した動画の解析は、ImageJ(<https://imagej.nih.gov/ij/>)を用いて行った。ImageJはオープンソース・パブリックドメインの画像処理ソフトウェアで、各OS対応版を無料で入手することができる¹¹⁾。ただし、iPhoneで撮影した動画がMOV形式なのに対してImageJはAVI形式のみ対応していたため、最初にPremier Elements(Adobe)によって動画をAVI形式に変換した。図6に解析全体の流れを示す。全体として、まず動画から必要な領域のみ切り取り、それを静止画像の集合として取得してから、全ての画像に対して一括して各種の解析処理¹²⁾を行う、という流れになっている。まず収縮幅については、動画の針が上下動している領域のみ切り取ってから、全画像について針(の白黒反転像)の画素値における“質量中心”のY座標(画素数)を求めた。同じ動画の定規の像を用いて定規1cm分の画素数を求めてから、Excel(Microsoft)で座標(画素数)を収縮幅(cm)に変換した。電気刺激については、LEDが点滅している領域のみ切り取ってから、全画像についてLEDの発光強度として領域内の平均画素値を求めた。得られた平

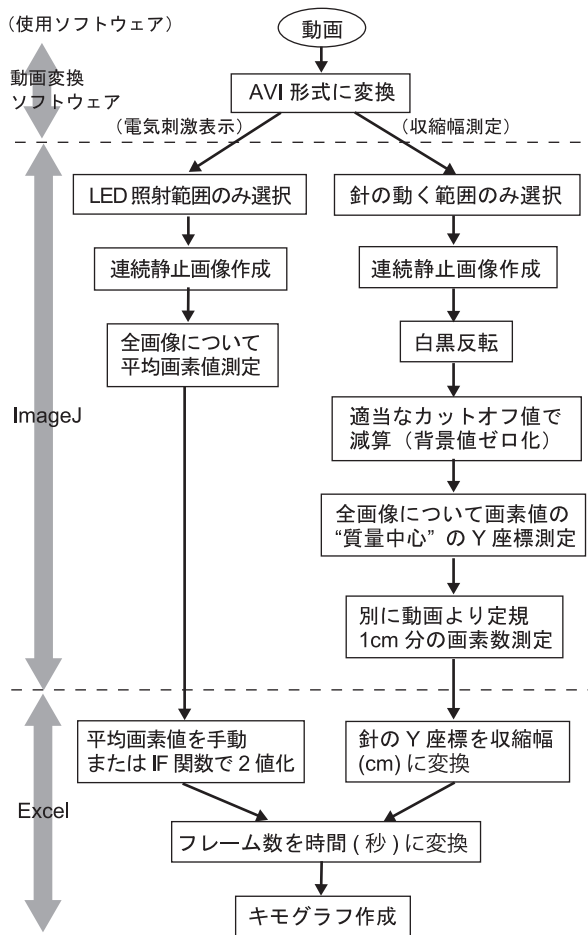


図6, キモグラフ作成のための動画解析の流れ。

均画素値に対して、Excelで適当な値を閾値として2値化することによって刺激の表示とした。時間については、各画像のフレーム番号を1秒に含まれるフレーム数である30で割ることによって時間(秒)とした。得られた時間(秒)・収縮幅(cm)・刺激表示を用いて、Excelでキモグラフを作成した。

以上の方法で作成したキモグラフの例を図7に示す。試料は、青森県陸奥湾で収穫された成貝をその日のうちに実験に用いたものである(以降“当日収穫試料”と呼ぶ)。1 Hzのパルス刺激を与えた場合、1回の刺激ごとに素早く収縮しただけでなく、収縮後は弛緩によってほぼ元の長さまで戻った(図7A)。なお各収縮時に必ず見られる収縮幅約0.8 cmの点は、この時点で針が速く動いて像がブレたため(図5, 0.13秒など)、画像解析が困難になったことによるものである。1回の刺激による収縮を判別することができたことから、当日収穫試料では単収縮を検出することができると言える。連続刺激を停止した後、筋肉が弛緩してほぼ元の長さに戻るまで約2秒かかった。ただし、連続刺激の停止後も完全には元の長さに戻らな

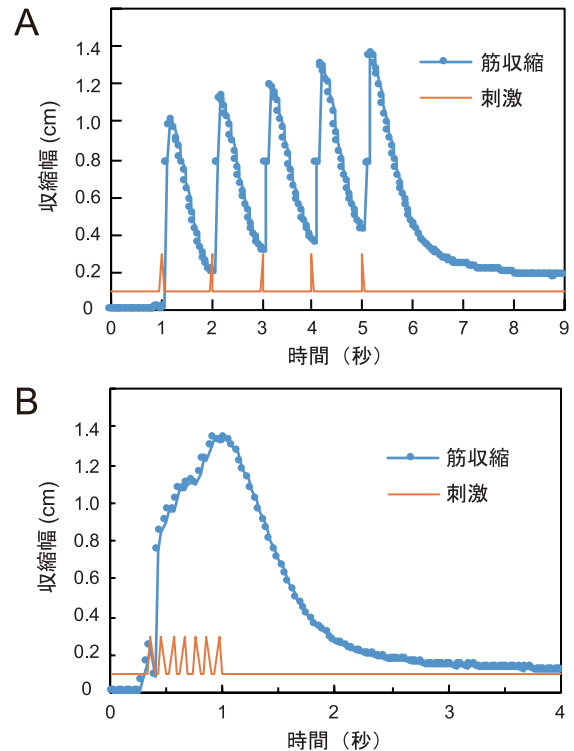


図7, 当日収穫試料の電気刺激による閉殻筋収縮のキモグラフの例。A, 1 Hzのパルス刺激を与えた場合。B, 10 Hzのパルス刺激を与えた場合。AとBで横軸の時間幅が異なることに注意。

かったが、その原因については分からなかった。10 Hzの電気刺激を与えると、強縮性の収縮が見られた(図7B)。

2-4 試料の入手方法による収縮特性の違い

ホタテガイ試料の入手方法の違いによって閉殻筋の収縮の特性にも違いがあるか調べた。市内の鮮魚店で購入した試料(以降“鮮魚店試料”と呼ぶ)に、同様に電気刺激を与えた場合のキモグラフを図8に示す。1 Hzのパルス刺激を与えた場合、鮮魚店試料でも当日収穫試料と同様に1回の刺激による収縮を判別することが可能であったことから、単収縮に近い収縮を行ったと言える(図8A)。ただし当日収穫試料と比べると、収縮幅は小さく、計測・解析が難しくなる傾向があった。また収縮後の弛緩も遅いため、次の刺激までに筋肉が元の長さに戻らなかった。連続刺激を停止した後、弛緩してほぼ元の長さに戻るまでは約10秒かかった。鮮魚店試料に10 Hzの電気刺激を与えた場合も、強縮性の収縮が見られた(図8B)。なお、店舗の水槽で飼育されていたものを購入して速やかに実験に用いた試料は、当日収穫試料とほとんど変わらない収縮特性を示した。以上より、ホタテガイの輸送・

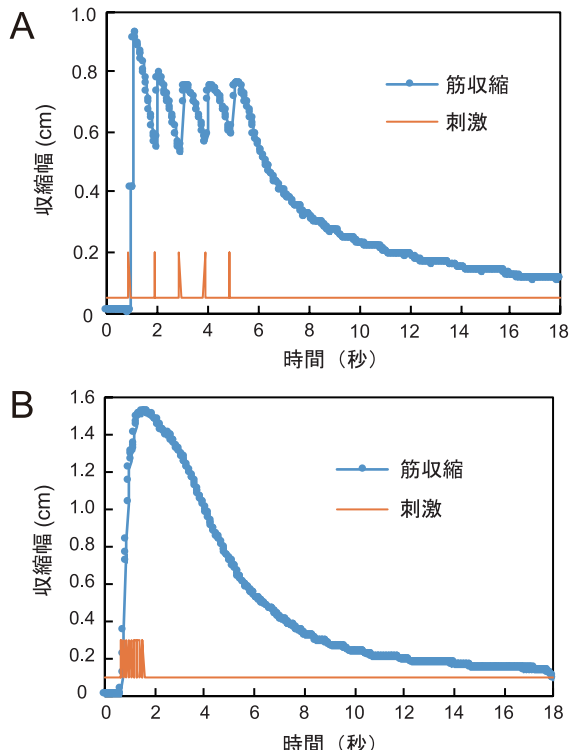


図8, 鮮魚店試料の電気刺激による閉殻筋収縮のキモグラフの例。A, 1 Hz のパルス刺激を与えた場合。B, 10 Hz のパルス刺激を与えた場合。図7とは横軸の時間幅が異なることに注意。

保存は収縮の特性に影響を及ぼし、特に収縮後の弛緩を遅くすることが示唆された。

当日収穫試料と鮮魚店試料の違いについてさらに調べるために、両試料の閉殻筋よりグリセリン筋を作製した。グリセリン筋は筋収縮のモデル試料であり、グリセロール溶液中で筋細胞内の分子を抽出したものである¹³⁾。ミオシンフィラメントやアクチンフィラメントなどの収縮タンパク質は生きた筋と同じ状態で保持されているため、外部より ATP を加えると収縮が起こる。ATP を加えて収縮率を調べたところ、両者の収縮率には大きな違いは見られなかったことから（当日収穫試料： $42 \pm 20\%$ ($n=6$)、鮮魚店試料： $44 \pm 20\%$ ($n=6$)）、ミオシン-アクチン系の収縮活性に関しては、2つの試料の間に大きな違いはないことが確かめられた。

3. 考察

本研究では、電気刺激による筋収縮の実験を学校で簡単に行うことをめざして、その簡便な実験方法を検討した。その結果、以下の3つの手段を用いることによって、実験をある程度簡便かつ安価に行うことがで

きた。

- 1) 実験材料としてホタテガイの閉殻筋
- 2) マイコンボード Arduino を用いたパルス刺激発生装置
- 3) スマートフォンによる動画撮影と ImageJ による画像解析を用いたキモグラフ作成

特にホタテガイの内臓神経節付近を刺激することによって、従来の筋収縮実験と同様に、単収縮や強縮を明確に観察することができた。ただし、カエルの神経筋標本のように運動神経に直接刺激を与えることは、本研究では難しかった。キモグラフについては、時間や電気刺激時期も一緒に表示されているものを PC 上で作成することができた。ただし従来の収縮幅を直接記録する装置と比べると、画像解析作業などに一定の時間を要した。

上記1)～3)を実行するために必要な経費は、PC やスマートフォンなどを除けば、Arduino Uno と各種の電子部品（計5,000円程度）が主要なものと予想される。試料の設置には、本研究ではスタンド・クランプ・回転式ムッフなどを用いた。これらも一定の経費を要するが、試料の設置については例えば両端にクリップが付いたフレキシブルアームなどの文房具で代用できるかもしれない。画像解析に用いた ImageJ は、各 OS 対応版を無料で入手することができる。ただし本研究では、動画の形式を変換するために市販のソフトウェアを用いた。そのため動画の変換に関しては、今後はオンラインのソフトウェアを用いるなど安価な手段を検討したい。

上記1)～3)の手段は、単独あるいは2つの組み合わせだけでも、各種の実験・実習への利用が可能である。本研究で考案した2)の Arduino を用いた刺激装置や3)の画像解析によるキモグラフ作成は、ホタテガイに限らず、従来のカエルの神経筋標本やその他の筋肉試料を用いた実習・実験にもそれぞれ有用と考えられる。一方では本研究によって、筋収縮実験の材料としてのホタテガイの有用性も示された。例えば、3)によってキモグラフを作成しなくても、目視によって閉殻筋の単収縮や強縮を定性的に確認することは十分に可能である（図4参照）。さらに、2)によるパルス刺激の発生がなくても、定電源や電池で電気刺激を与えることはできる。その場合、単収縮を確認することはできないが、強縮性の収縮を観察することは可能である。ただし本研究によって、ホタテガイを用いて単収縮を明確に観察するためには輸送・保存時間の短い新鮮な試料を用いることが望ましいことが示

唆された。新鮮なホタテガイを利用できる地域は限られるため、ホタテガイ以外の二枚貝類について筋収縮実験の材料としての有用性を調べるのが今後の課題である。

ホタテガイ試料の入手方法の違いによって収縮特性が変わるか調べたところ、試料を輸送・保存すると収縮後の弛緩が遅くなることが示唆された。長時間の輸送や保存は、ホタテガイにとってストレスとなることが推測される。しかし収縮自体の速度はほとんど変わらなかったことから、貝のへい死を引き起こすような環境ストレス下で見られる、細胞内のATPやアルギニンリン酸の枯渇¹⁰⁾は起こっていないと考えられる。また、グリセリン筋の収縮活性が変わらなかったことから、ミオシン-アクチンの滑り運動系が破壊されたわけでもない。一般に筋肉の弛緩速度は、筋小胞体が細胞内のCa²⁺を取り込む能力に依存すると考えられる。輸送などのストレスにより筋細胞内に活性酸素種が生じ、それによって筋小胞体のCa²⁺取り込み能力が低下した可能性が示唆される¹⁴⁾。あるいは、ホタテガイ類はATPを消費せずに収縮し続けること(キャッチ収縮)によって強固に殻を閉じた状態を維持することが知られている²⁾。貝へのストレスによって閉殻筋が部分的にキャッチ状態となり、弛緩が遅くなったのかもしれない。本研究では内臓神経節付近を刺激していたことから、主として横紋筋を刺激していたと考えられる。最近の研究によると、ホタテガイ類の横紋筋にもキャッチ収縮を担うトウイッチタンパク質が存在することから^{2),15)}、ストレスにより横紋筋も部分的にキャッチ状態に入っていたのかもしれない。

参考文献

- 1) 杉晴夫 (2003) 『筋肉はふしぎ』(講談社) など
- 2) 山田章 (2009) 「9 キャッチ筋-疲れしらずの貝の筋肉」日本比較生理生化学会編『動物の「動き」の秘密に迫る 運動系の比較生物学』(共立出版) 177-193.
- 3) 石松秀 (2013) 「8-1 骨格筋の収縮」日本生理学会教育委員会監修『新訂・生理学実習書』(南江堂) 151-156.; 藍卓也 (2015) 「30 実験器具を製作して筋収縮の記録をしよう!」尾崎まみこ他編著『研究者が教える動物実験 第2巻 神経・筋』(共立出版) 136-140. など
- 4) 杉晴夫 (2006) 『生体電気信号とはなにか』(講談社)
- 5) 小坂善信 (2019) 「3.2 ホタテガイ (イタヤガイ類)」尾定誠編著『カキ・ホタテガイの科学』(朝倉書店) 37-75.
- 6) Banzi, M. and Shiloh, M. 船田巧訳 (2015) 『Arduino をはじめよう 第3版』(オライリー・ジャパン) など
- 7) Speiser, D. I., and Wilkens, L. A. (2016) Neurobiology and Behaviour of the Scallop. In *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (Vol. 40, pp. 219-251). Elsevier. ホタテガイ類の神経系の図については、著者の1人の研究室 Web サイト (下記) にも掲載されている。
<https://www.speiserlab.com/comparative-neurobiology.html> (2022.8.1確認)
- 8) 長澤一衛、尾定誠 (2018) 「ホタテガイ」『比較内分泌学』44(164): 54-57.
- 9) 平野忠、對馬廉介、榊昌文 (1988) 「ホタテガイの生理的活力に関する研究」『青水増事業報告』17: 128-149.
- 10) 武田忠明、榊井泉、前川公彦、埜津尚範 (2014) 「環境ストレス負荷によるホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* の活力低下と閉殻筋 ATP およびアルギニンリン酸含量の関係」『日本水産学会誌』80: 753-760.
- 11) 三浦耕太、塚田祐基編著 (2016) 『ImageJ で始める生物画像解析』(学研メディカル秀潤社) など
- 12) 田村秀行編著 (2002) 『コンピュータ画像処理』(オーム社) など
- 13) 北沢俊雄 (1975) 「17章 グリセリン筋」『生化学実験講座15筋肉』(東京化学同人) 281-294.; 中村信雄 (1999) 「ホタテ貝柱からのグリセリン筋の作製」『遺伝』53(7): 76-79.
- 14) 和田正信、坂本誠、杉山美奈子、松永智 (2006) 「高強度運動における筋疲労の要因: 無機リン酸, グリコーゲンおよび活性酸素種の影響」『体育学研究』51: 399-408.
- 15) Tsutsui, Y., Yoshio, M., Oiwa, K., and Yamada, A. (2007) Striated muscle twitchin of bivalves has "catchability", the ability to bind thick filaments tightly to thin filaments, representing the catch state. *Journal of Molecular Biology*, 365 (2): 325-332.

【付記】

本研究を実施するにあたり、大澤克明氏(青森県青森市)に新鮮なホタテガイを提供いただきました。感謝申し上げます。

(2022. 8. 24 受理)