HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	結晶鯨Pepsin：第2報 溶解度曲線・元素組成・至適pH竝に安定度に就て
Author(s)	斎藤, 恒行; 石原, 義雄
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 7(2), 147-158
Issue Date	1956-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/22960
Type	bulletin (article)
File Information	7(2)_P147-158.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

結　晶　鯨　Pepsin

第2報　溶解度曲線・元素組成・至適 pH 並に安定度に就て

斎　藤　恒　行・石　原　義　雄
（北海道大学水産学部水産化学教室）

Crystalline Whale Pepsin

II. Solubility curve, elementary composition, opt. pH and stability

Tsuneyuki SAITÔ and Yoshiô ISHIHARA

Abstract.

Some properties were observed of crystalline whale pepsin the preparaton of which was fully described in the previous paper[1]. The results obtained are summarized as follows:

1). By determination of its solubility curve, it was proved that crystalline whale pepsin was homogeneous.

2). The elementary composition of crystalline whale pepsin is lower in phosphorus and higher in sulfur content than swine pepsin.

3). Opt. pH in digestion of edestin, casein, hemoglobin and heat-coagulated egg white was estimated. Opt. pH in proteinase action (disappearance of substrate) is near 1.8 for swine pepsin and 3.0 for whale pepsin. Opt. pH in yield of peptides is near 1.8 for swine pepsin and 1.4-3.0 for whale pepsin.

Thus, similarly to fish pepsin, whale pepsin is active over a wide pH range in yield of peptide and very inferior to swine pepsin in proteinase action for heat-coagulated egg white.

4). Pepsin dissolved in solution at 37° C. is most stable at pH 2.2-5.0 for whale and at pH 4.0-5.0 for swine.

Decreasing the hydrogen ion concentration below pH 5.0 causes in the cases of both whale and swine pepsin a very rapid increase in the rate of destruction of the enzymes.

Increasing the hydrogen ion concentration above the stable pH range results in a slow increase for swine and a very rapid increase for whale pepsin in the rate of decomposition of the proteins.

緒　　言

前報[1]に於て鯨胃組織から結晶 pepsin の独自の調製法とその specific activity, 結晶形の polymorphism 等に就て報告したが，ここに標品の溶解度曲線を測定して前回の電気泳動的な判定と共にその単一性を証明，更に元素組成及び二，三基質に対する至適 pH 並に pH と安定度との関係等に就て結晶豚 pepsin との比較を行つた。

鯨 pepsin の至適 pH に就ては先に鯨胃粘膜塩酸浸出液[2]の観察を行つたが，既往の pepsin の至適 pH に関する報告は極めて多く，陸上哺乳動物[4)-19)]に於ては pH 1.4～2.0（主として1.8 附近），魚類[20)-28)]に於ては 3.0 附近（唯 Vonk[11)12] のみがサメ類に対し至適 pH 2.2 を与えているが）とされている。元来 protease の至適 pH は基質及び緩衝液の種類，作用時間並に温度，酵素量等の反応条件により多少異るので，之等を同一にして豚・鯨両 pepsin の至適 pH を観察したが，哺乳動物である鯨の pepsin が種々の点に於て，魚類 pepsin に類似する結果を得た。

又安定度が強酸性域に於て極めて劣る事，元素組成に於てP含量少くS含量大なる事が認められ之等の点

に於ても魚類 pepsin に類似する傾向を示す。

実 験 の 部

試料及び方法

鯨 pepsin ：前報[1] の鰮鯨（*Balaenoptera borearis* LESS.）の結晶 pepsin を3回再結し電気泳動的に均一なもの，

豚 pepsin ： Worthington Chemical Sales Co., New Jersey, U. S. A. 製のもの3回再結，両者共に〔PU〕$^{Hb}_{mg.P.N.}$ = 0.22～0.23.

Edestin ： 麻実より Bailey法[3] により調製した結晶 edestin を1回再結。

Casein ： Merck 製 casein (acc. to Hammarsten)。

Hemoglobin ： Anson 法[29]に従つて牛・鯨・鰊の生鮮血液より調製した。

溶解度曲線測定： Northrop[30][31] に準じて行つた。溶媒は pH4.8 0.08M acetate buffer-0.2sat. $MgSO_4$ 溶液を使用。上記鯨 pepsin の新に三回再結したもの，500mg を溶媒 4ml. に懸濁し内径15mmの遠心沈澱管内で之の½の直径の硝子棒で22°C20分間攪拌後遠心，上清の窒素を micro-Kjeldahl 法で定量，之を4回繰返して溶解度一定となつた沈澱を遠心分取して供試。溶解平衡は 22°C 20分間攪拌と，30°C 20分間攪拌後22°C24時間放置の両法を併用した。

至適 pH 測定： activity 測定には種々の見地より基質の消失速度（proteinase 作用）と反応生成物量（proteinase 作用により生成した "primary products" に更に二次的分解が加わる）の測定の2方法を併用した。

a) proteinase 作用測定—消化液に蛋白沈澱剤を加え，対照と比濁を行う方法であるが，沈澱剤には NaCl,[32], $MgSO_4$[33], sulfosalicylic acid[34], trichloracetic acid[15]（以下TCAと略記）等種々提案されているが，ここではTCAを用い主として Buchs[15]（1953）と Kleinmann[34]（1930）に従つて次の様にして測定した。0.2%各種蛋白質透明溶液2.5ml に HCl-citrate buffer 5ml を加えて pH を調節し pepsin を添加（1% stock solution を適宜稀釈して使用），35°C 1時間消化後反応液 2.0ml に就て0.5% *Gummi arabicum* 液 2.0ml, 及等量の TCA 溶液（最終濃度10%の場合は20%，最終濃度3%の場合は6%TCA）を加えて生ずる沈澱を対照と比濁し各pH に於る未消化液の混濁度を 100%とした基質消失量を分解度とする。凝固卵白に対しては局方試験[41]に準じ卵白粒消失の時間と基質重量の減少度を測定。

b) 反応生成物量測定—前報の如く Anson[29] 法に従つて消化液のTCA溶存部の Folin 値を測定。

pH 測定：Beckmann pH-meter（H-II型）及島津製（GU-2型）pH-meter を併用。

安定度測定：HCl 及び Mc Ilvaine の citrate-phosphate buffer を調節液とした各種 pH に於ける pepsin 溶液を37°C24時間放置後の残存 activity を Anson の Hb-method[29] で測定。

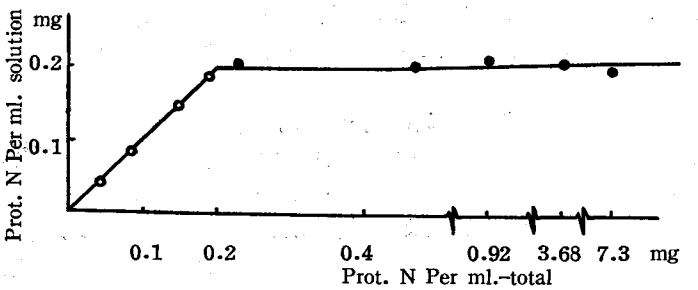

Fig. 1. Solubility curve of whale pepsin in 0.2-saturated $MgSO_4$ 0.08 M pH 4.8 acetate buffer at 22° C

実験結果及び考察

I. 溶解度曲線

蛋白質の純度判定には種々の方法があるが少くもその2種以上の方法で均一なる事が証明せられなければ信頼性は薄い。鯨 pepsin の電気泳動的な均一性は前報[1] で示したが，ここに得られた溶解度曲線も（第1図）そ

の均一性を示している。溶媒には豚 pepsin に比し溶解度可なり小なる為 0.2 sat.-$MgSO_4$ を用いた。

II. 元 素 組 成

3回再結した溶解度一定且つ電気泳動的に均質な試料に就き，更に電気透析を行い（150volt 0.1mA まで）凍結乾燥に付したものを供試した。既往の豚・鮭両結晶 pepsin の 元素組成と対比すると第1表の如くであ

Table 1. Elementary composition of various crystalline pepsin

Pepsin	N	C	H	S	P	Ash
Swine[30]	15.15	52.3	6.66	0.88 (0.94[31])	0.058 (0.09[31])	0.40
Salmon[27]	15.2	51.9	6.48	1.58	0.031	0.08
Whale	15.89	51.8	6.24	2.53	0.011	0.23

る。之によると鯨 pepsin は鮭 pepsin に類似しS含量多くP含量少く然もその傾向を一層大にしている。methionine・cystine 等含Sアミノ酸の含量が多いものと考える。P含量少いのは電気泳動的挙動（豚pepsin は pH1.0以下に於ても尙「－」荷電を示すのに対し ——構成アミノ酸の他に燐酸イオンの存在の為と推測されている——鯨 pepsin では pH3.2附近に於て明かに「＋」荷電に転ずる）が鯨・豚両 pepsin の間に相異が認められる事に関係あるものと考える。

III. 至 適 pH

至適 pH は酵素の重要な性質の一つであるが古くして新しい問題と考える。pepsin に就ても Sφrensen[4]（1909），Northrop[7]（1921）を始め多数の研究者により測定されているが最近再び結晶又は市販 pepsin に就て至適 pH が種々の角度から観察され，Merten *et al.*[16]（1952）及び Buchs[15]（1951）一派は2 optima の存在からして cathepsin 共存を主張するのに対し Heinrich[17]（1953），Tolckmitt[19]（1954）並に Taylor *et al.*[18]（1955）等は之を否定し実験条件により出現する現象で pepsin 本来の性質なりとし種々論議が闘わされている。

この問題に就ては著者等は proteinase 作用の至適 pH3.0 を示す鯨 pepsin は魚 pepsin と共に pepsinの "category" に属し然も豚等の陸上哺乳動物の pepsin とは異る型のものと考える。即ち H_2S・HCN 等の影響を受けず，強酸性溶液に於ても大きな蛋白分解能を示し且分解生成アミノ酸は豚 pepsin と類似するが電気泳動的挙動・基質特異性・等電点等を明かに異にしている。

ここに於て稍々詳細に至適 pH を観察して見た。酵素の至適 pH は基質及び buffer の種類・作用時間並に酵素量等により多少相異を示す事は良く知られている所であるが，中でも activity 測定法による差異は大きい。Rona *et al.*[43]（1930）はこの点に関し比濁法と適定法とでは分解産物の影響を異にして基質の減少度と分解産物の増量とは必ずしも比例しない事を示している。peptide 鎖開裂を伴わない単なる "disaggregation" と，その "primary products" を二次的に分解して peptide 鎖開裂を与える作用とを区別すべきものと考える。この点小野等[42]（1954）も amylase に就て大分子の分解生成物の定量と小分子の分解生成物の定量とでは Ca の阻害度を異にする事を示唆している。

之等を考慮して既往の pepsin の至適 pH に関する文献を通覧すると，豚等一般哺乳動物の至適 pH は Sφrensen 以来[4-19] 主として1.8～2.0であるに対し，銀マス[20]，鮪・鰤[21]，鰹[22]，姫マス[23]，鰻[24]，サメ[25]，バイク[26]，鮭等[27][28]の魚類 pepsin は pH3.0 とされている。（唯Vonk[11]（1927）のみがツノザメ（*Acanthias vulgaris*）に対して pH2.2～2.3 と豚に近似した値を与えている）。哺乳動物である鯨の pepsin が環境を同じくする魚類 pepsin とこの点に於て如何なる関係を示すかは興味を惹く所であるが，edestin・casein・hemoglobin・熱凝固卵白等に対する proteinase 作用（基質消失度）と Anson 法による分解生成物量の測定（TCA—溶性 peptide 生成能）による至適 pH を夫々豚・鯨両 pepsin に就て同一条件の下で観察した。

A. Proteinase 作用の至適 pH

一般には 20% TCA を等量反応液に加えて最終濃度 10% の TCA 沈澱性蛋白粒子の消失度を測定するが，ここでは Anson の Hb-method と対比する為に最終濃度 3% の TCA 沈澱性の比較的大分子の蛋白粒子に対する proteinase 作用をも併せ観察した。

i.) Edestin：第 2 図-a, b

鯨 pepsin は 3%及び10%TCA沈澱性蛋白粒子の両者に対して至適 pH3.0 を示すに対し，豚 pepsin は比較的大分子の蛋白質に対する proteinase 作用は 1.8 で，稍々低分子の蛋白粒子までを対象とする時は，1.8～3.0 と 'broad curve' を与える。但し，遊離アミノ酸生成量を見ると pH1.8 に於て遙かに多い事を示す。activity は両 pepsin 類似す。

ii.) Casein：第 3 図-a, b

edestin の場合と反対に，豚 pepsin は 3%TCA 沈澱性・10% TCA 沈澱性両蛋白粒子に対して同一の至適 1.8 を示すのに対して鯨 pepsin は後者に対し 'broad curve' を与える。この場合も遊離アミノ酸の生成量は pH3.0 に於て遙かに多い。即ち proteinase 作用が 'broad curve' を与える時でも豚 pepsin は 1.8 鯨 pepsin は 3.0 に於て二次的分解の peptidase 作用大である。之に関する詳細は次回に譲る。activity は鯨 pepsin の方約 30% 劣る。

iii.) Hemoglobin：第 4 図-a, b

3%TCA沈澱性・10%TCA沈澱性両蛋白粒子に対して豚 pepsin は至適 pH1.8～2.0，鯨 pepsin は 3.0 を与えるが，両 pepsin 共に edestin, casein の場合よりも作用域拡大しているのを見る。activity は 3%TCA 沈澱性 hemoglobin に対しては両者近似するも 10%TCA 沈澱性 hemoglobin では鯨の方約30%劣る。

iv.) 熱凝固卵白：第 5 図

凝固卵白に対する鯨 pepsin の proteinase 作用は極めて悪く魚 pepsin に類似す。[25 26] 即ち $[PU]^{Hb}_{mg.P.N.}$ 同一のものを用いて豚 pepsin では 50°C 1 時間で卵白粒の液化完了する場合鯨 pepsin では10時間放置しても一部液化のまゝ進行せず大量の卵白粒残存す。豚の5～7倍の大量を使用して始めて液化完了するに至る。然し乍ら，二次的分解は比較的 activity 大で次の Folin 青色価の測定では豚の ½ 程度を示す。即，豚の 'stepwise' 型に対し 'one by one' (all or none) 型に近似の分解型式を取る。この場合鯨 pepsin が小差を以て 1.8 に至適 pH を示す事が注目される。之は Zein に於ても認められる事で，之等不溶性蛋白に対しては鯨 pepsin は作用力遙かに豚に劣り且つ至適 pH が小差で 1.8 え移行する。

B. 反応生成物量 (Folin 青色価) 測定による至適 pH

之は主として proteinase 作用による 'primary products' の二次的分解の至適 pH である。この測定法による時は鯨 pepsin は何れの蛋白質に対しても約1.0～3.0 の 'broad curve' を与え proteinase 作用の時の様な peak を示さない。同一TCA 3%濃度で proteinase 作用の至適 pH3.0 に於ける peak が Folin 青色価測定で現われないのは，鯨 pepsin の proteinase 作用が単なる 'disaggregation' が主で一部 tyrosine 等が 'mask' されたまゝに放置されているのに対し豚 pepsin の方は 'disaggregation' と 'masked tyrosine' を解放する二次的分解作用が平行して行われる為に両測定法 (基質減少度と反応生成物量測定) による至適 pH が一致するものと考える。前述の Rona 等[13] も之等両測定法による結果の必ずしも平行せざる事を観察してる。

i.) Edestin：第 6 図

豚 pepsin は至適 pH1.8 を示すのに対し鯨 pepsin は 1.5～3.0 の 'broad curve' を与える。activity は鯨の方約 20%大。

ii.) Casein：第 7 図

豚 pepsin は至適 pH1.8 であるのに対し鯨 pepsin は 1.5～3.0 を示す。activity 豚の方約10%大。

iii.) Hemoglobin：第 8 図-a, b

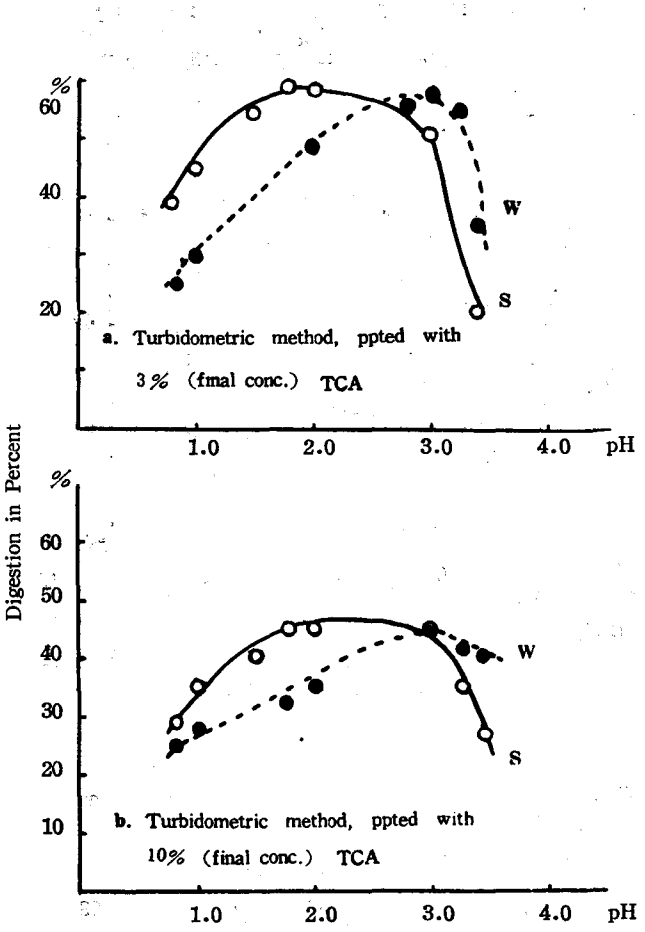

Fig. 2. Digestion of edestin with whale or swine pepsin at various pH, 35°C, 60 min.
Curve W : whale pepsin　　Curve S : swine pepsin

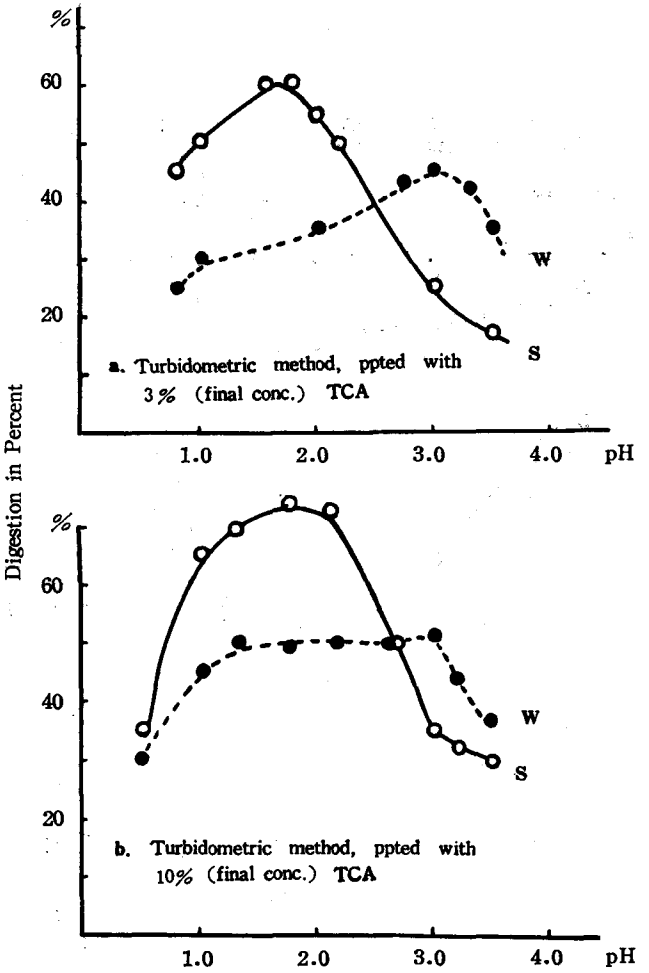

Fig. 3. Digestion of casein with whale or swine pepsin at various pH, 35°C, 60 min.
Curve W : whale pepsin　　Curve S : swine pepsin

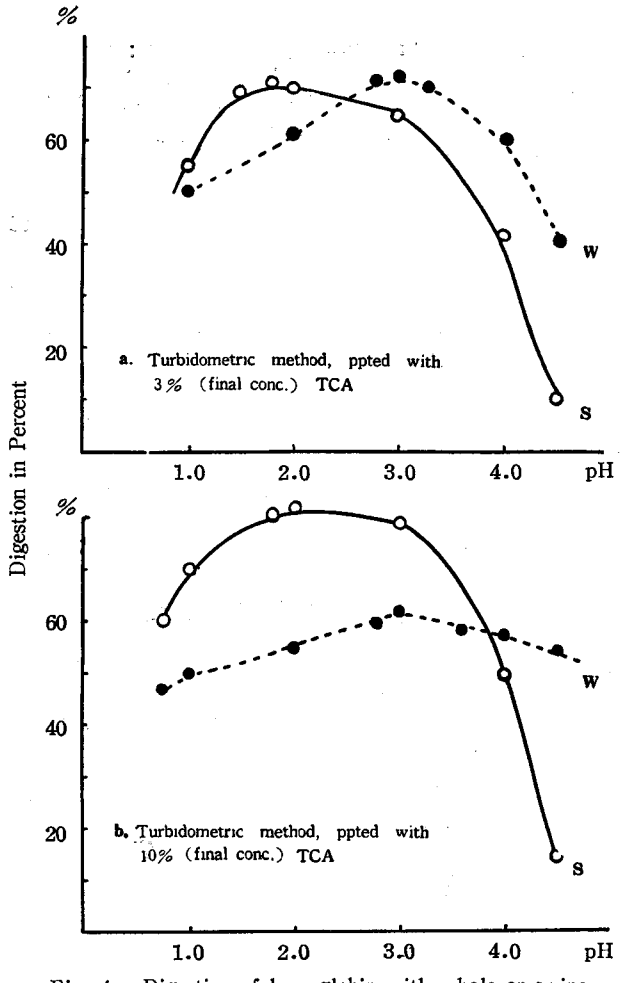

Fig. 4. Digestion of hemoglobin with whale or swine pepsin at various pH, 35°C, 60 min.
Curve W ; whale pepsin Curve S : swine pepsin

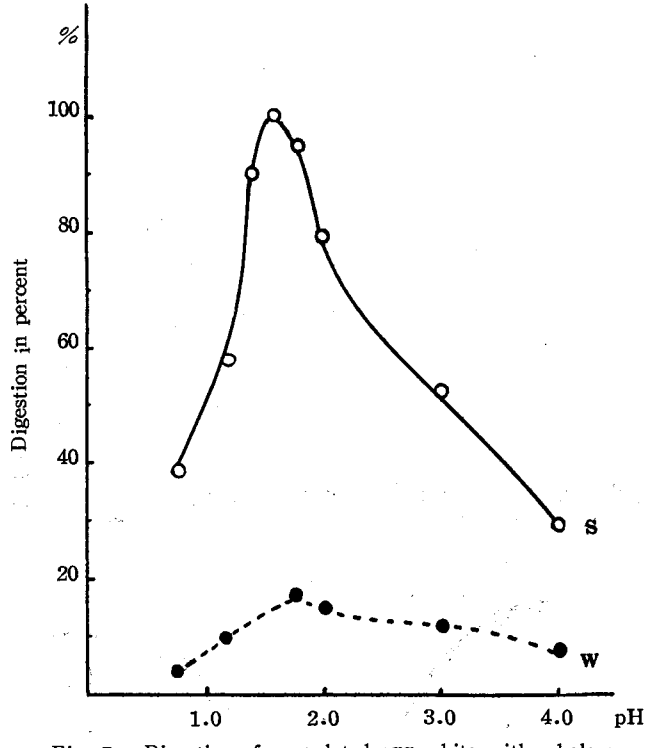

Fig. 5. Digestion of coagulated egg-white with whale or swine pepsin at various pH, 50°C
Activity according to the Japanese pharmacopoeial assay
Curve W : whale pepsin Curve S : swine pepsin

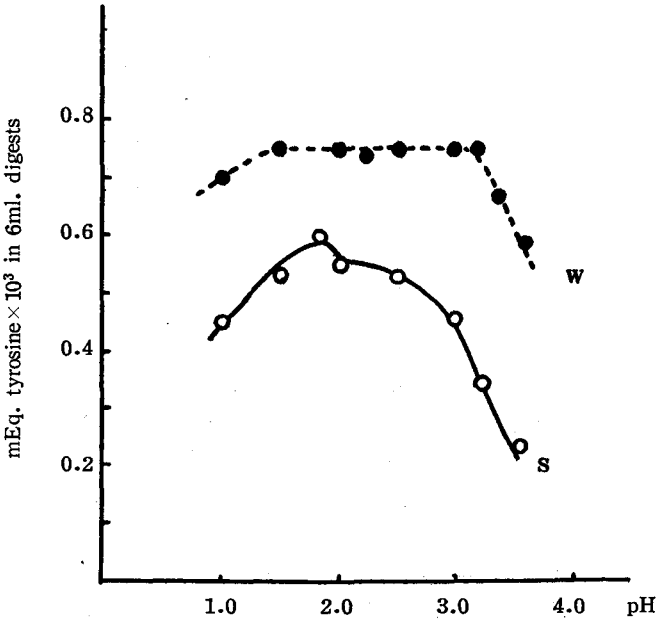

Fig. 6. Dependence of initial rate of digestion of edestin on pH
Estimation of peptide formation (Anson's Folin-color method[29]) at 35°C, 10 min.
Curve W : whale pepsin Curve S : swine pepsin

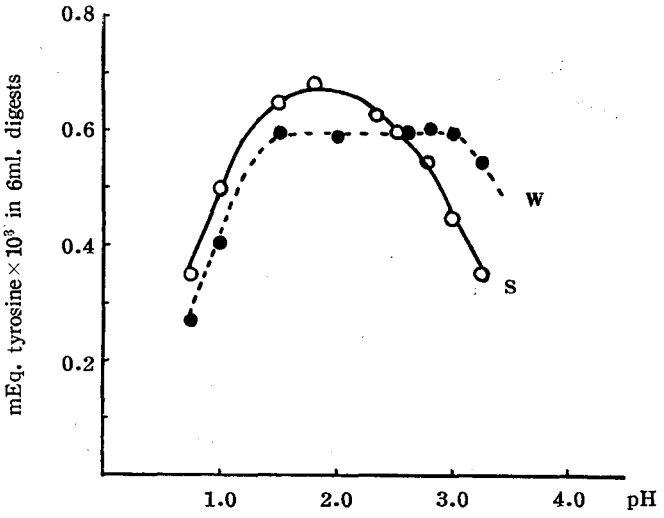

Fig. 7. Dependence of initial rate of digestion of casein on pH
Estimation of peptide formation (Anson's Folin-color method[29]) at 35°C, 10 min.
Curve W : whale pepsin Curve S : swine pepsin

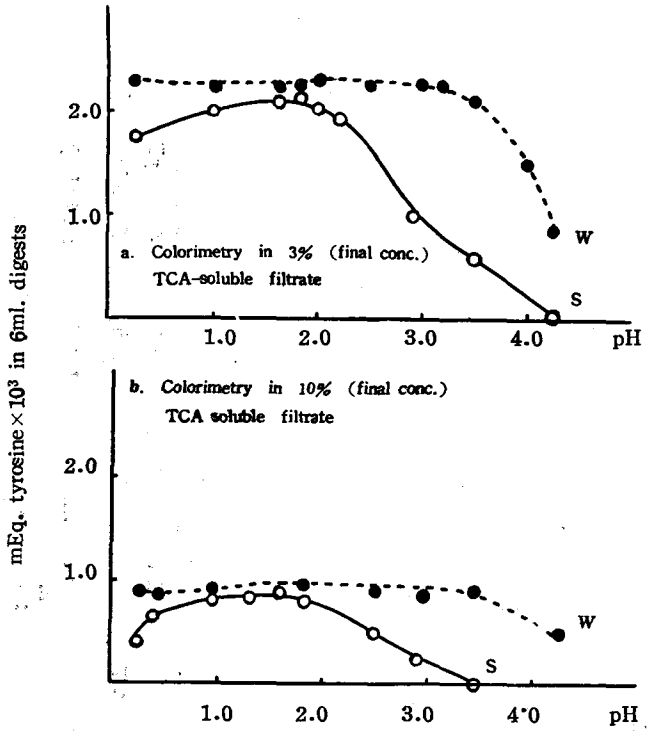

Fig. 8. Dependence of initial rate of digestion of bovine Hb on pH
Estimation of peptide formation (Anson's Folin-color method) at 35°C, 10 min.

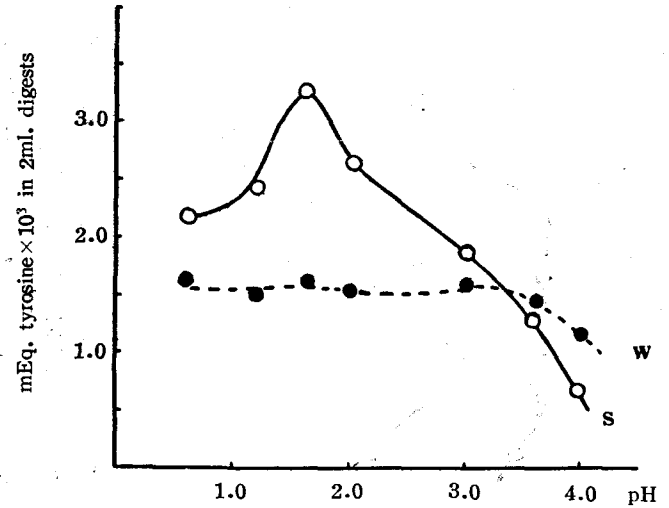

Fig. 9. Digestion (acc. to the Japanese Pharmacopeial assay) of coagulated egg-white with whale or swine pepsin at various pH, 50°C, 60 min.
Colorimetry in 3% TCA-soluble filtrate (Anson's Folin-color method)
Curve W : whale pepsin Curve S : swine pepsin

Proteinase 作用の至適 pH 測定の場合と同様にして 3% と 10% の TCA 濃度の差の影響を検討したが，図に示す様に Folin 青色価測定による時は両者の間に傾向の差は認められない。(edestin・casein の場合も同じく認められなかつた)。即ち除蛋白の TCA 濃度が 3% 及び 10% の何れの場合であつても鯨 pepsin は 0.6〜3.4，豚 pepsin は前者に於て 1.8 後者に於て 1.6 の至適 pH を示す。両 pepsin 共に他蛋白よりも作用域が（特に酸性側に於て）拡大するのを見る。activity 両者相似る。

尙鯨 pepsin の魚 hemoglobin に対する特別の消化能があるものと考えて比較したが反つて 豚 pepsin に劣る結果を示した。鯨 hemoglobin に対しては豚に優る activity を示す。牛・鯨・鰊の各種 hemoglobin に対する消化能は第 2 表の如くである。又至適 pH 曲線も測定したが牛・鯨・鰊の hemoglobin の間に傾向の差は認められなかつた。

Table 2. Digestive power of whale and swine pepsin for various hemoglobin
Activities were estimated by Anson's Hb method[29].

Pepsin	Beef Hb		Herring Hb		Whale Hb	
	mEq. tyrosine in 6ml. digests	Ratio	mEq. tyrosine in 6ml. digests	Ratio	mEq. tyrosine in 6ml. digests	Ratio
Swine	2.20×10^{-3}	100%	1.87×10^{-3}	85%	2.21×10^{-3}	100%
Whale	2.19×10^{-3}	100	1.52×10^{-3}	70	2.61×10^{-3}	120

iv.）凝固卵白：第 9 図

豚 pepsin は明瞭に pH1.6 に peak を示すのに対し鯨 pepsin は 0.6〜3.6 の間で差なし。activity 鯨は豚の約50%。

以上 proteinase 作用（基質減少度）はedestin・casein・hemoglobin 共に豚 pepsin に在りては至適 pH 1.6〜1.8に対し（10%TCA 沈澱性 edestin に於ては 1.8〜3.0），鯨 pepsin に於ては 3.0（10%TCA 沈澱性 casein に対しては 1.8〜3.0）で且つ pH3.0〜4.0 に於る分解能が常に豚より大である。凝固卵白に対する鯨 pepsin の proteinase 作用極めて劣ると共に至適 pH1.6 へ移行する事は注目される。但し，この場合の分解能の pH による差は僅小である。

之に対し 'primary products' の二次的分解能を測定する時は，豚 pepsin は上と同様至適 pH1.8 であり，鯨 pepsin は 1.4〜3.0 と顕著な 'broad curve' を与え peak を示さない。之は鮭 pepsin[27]も同様にして Norris & Elam が種々検討している所であるが，魚・鯨両 pepsin 自体の性質と目される。之は両 pepsin の凝固卵白液化力の極めて劣る事と併せ考えて興味深い。pH1.8 及び 3.0 に於ける豚・鯨両 pepsin の各種蛋白質の分解生成遊離アミノ酸に就ては次の機会に譲る。

IV. 鯨 胃 内 部 の pH

魚胃内の酸性が哺乳動物同様塩酸による事は van Herwerden,[39] Ringer[14] により，又鯨胃に就いても同様に高田[40]により証明されている所であるが，胃内部の pH は必ずしも pepsin の至適 pH とは一致しない。之に就ては Vonk[11]（1927）が各種動物に就て詳細に測定しているが，ツノザメが pH 2.3〜3.5 を示してその pepsin の至適 pH に接近しているのみで他は一般に pepsin の至適 pH より遙かに高い。鮭胃に就て遡河前（石狩川沖）摂食時は pH 5.0，11月遡河（千歳川採卵場）して来たものは pH 6.8 を経験したが，この様に食物摂取の状態にも関係し，一般に消化中は酸度上昇し，食物存在せぬ時は中性に近づくものとされている。今迄に 6 例の鯨胃内容の酸度測定を行つたがイカを消化中の鰮鯨に就ての結果を第 3 表に示す。前報で示した如く鯨では第 2 胃が pepsin 主要分泌腺胃であるが，塩酸分泌腺は第 3 胃の方が第 2 胃よりも多い[40]のであるが，第 2 胃が一番酸度高く少差で第 3・4 胃が之に次ぎ腺胃で無い第 1 胃は中性に近い。胃内空虚の事も間々あるがこの時は 6.2 附近（第 2 胃）に酸度低下す。又表示の如く鮮度低下によりても pH の上昇

Table 3. pH of contents of whale stomach (Fin-whales, caught at the coast of Akkeshi, Hokkaido, in 1952, Oct.)

A. Relation between grade of freshness and pH in 2nd chamber of whale stomach

	*Grade of freshness	pH in 2nd stomach
Fin-whale (44 feet, ♂)	90%	5.0
〃 (48 feet, ♀)	80	5.2–5.4
〃 (42 feet, ♀)	60	5.8–6.2

* cf. Previous report[1]

B. pH of gastric contents in various chambers of the same fin-whale

Stomach	pH	Contents in stomach
1st Chamber	6.4	undigested squids
2nd 〃	5.0	half-digested squids
3rd 〃	5.2–5.4	black-reddish mushy digests
4th 〃	5.2–5.4	〃 〃

Table 4. Stabilities of crystlline whale and swine pepsin at different pH values, 37°C 24 hours. Activities were estimated by Anson's Hb method[9].

Pepsin	Folin color of TCA filtrate \ pH	0.6	1.0	1.4	2.2	2.6	3.0	4.0	5.0	5.2	5.4	5.6	6.0
Swine P. (control 0.345)	Measured [OD]	0.255	0.278	0.322	0.330	0.333	0.347	0.410	0.413	0.389	0.219	0.109	0.070
	Corrected [OD]	0.185	0.208	0.252	0.260	0.263	0.277	0.340	0.343	0.319	0.149	0.039	0
	Remaining activity %	53.3	60.3	73.0	75.3	76.2	80.3	98.8	99.4	92.5	43.1	11.3	0
Whale P. (control 0.340)	Measured [OD]	0.070	0.070	0.250	0.409	0.407	0.409	0.406	0.405	0.368	0.190	0.091	0.070
	Corrected [OD]	0	0	0.180	0.339	0.337	0.339	0.336	0.335	0.298	0.120	0.021	0
	Remaining activity %	0	0	52.9	99.7	99.1	99.7	98.8	98.5	87.6	35.3	6.1	0

を見るので生存時は pH 5.0 よりも可なり酸度大なるものとも推定せられるが鯨胃 pepsin の至適 pH 3.0乃至は 1.6～3.0 と比較して可なりの差を示す。前述の Vonk は諸種動物の胃内 pH とその pepsin の至適 pH との関係から種々の group に分類しているが，鯨はその第 2 group に属し丸呑みした魚類・プランクトンの胃壁密着部は見掛けよりは可なり低い pH に置かれるものであろうとも考えられる。又 pepsin 分解物が低

級なるに從つてその至適 pH 域が拡大される事が知られているので，第1次の分解が済んだ後はこの程度の高い pH でも相当消化作用が進行するものであろう。

V． pH と安定度

Pepsin の pH と安定度との関係は豚に就て Northrop[35)36)]竝に田沢[37)]，魚に就て Norris *et al.*[38)]が観察している。豚 pepsin は蛋白消化至適 pH 1.8 附近に対し pH 5.0 附近が一番安定で，之のアルカリ側は急速に activity を喪失するが，その酸性側は極めて緩慢な低下を示す。且 anion の種類の影響が無い事も認められているが，ここに同一条件で豚・鯨両 pepsin の pH と安定性の関係を比較して見た。測定結果は第4表の如くである。即ち 37°C24 時間放置で豚では pH 4～5，鯨に於ては pH 2～5 と鯨の方が安定域が広い。但し安定域のアルカリ側は両 pepsin 共に急速に失活するが，酸性側では豚の緩慢な activity 低下であるのに対し鯨 pepsin はそのアルカリ側同様極めて速かに既に pH 1.0 に於て完全に失活して了う。

室温放置の場合，鯨胃粗浸液では150時間位までは pH 1.0 に於て activity がそのまゝ保持されるが，結晶標品では24時間で10%，48時間で30%，200時間では90%が失活する。この様に pH 1.0 附近以下で急速に activity を喪失して了う事は魚 pepsin[39)]に類似した性質である。豚 pepsin とは構成アミノ酸組成及びその配置を異にしている為と考える。

要　　約

1． 結晶鯨 pepsin の溶解度曲線を測定しその均質なる事を証明した。

2． 元素組成は豚 pepsin よりP含量少くS含量大で魚 pepsin に類似する傾向を示す。

3． edestin, casein, hemoglobin, 凝固卵白に就て基質減少度（nephelometry），peptide 生成量（Anson の Folin 青色価測定）の両方面より至適 pH を測定し，前者の場合豚 pepsin は至適 pH 1.8 附近であるのに対し鯨 pepsin は 3.0，後者の場合豚 pepsin は同様 1.8 附近であるのに対し鯨では 1.4～3.0 と魚 pepsin と同様 'broad curve' を与えて peak を示さない。即鯨 pepsin では proteinase 作用と peptide 生成の二次的分解とが平行しない。又鯨 pepsin は凝固卵白に対する proteinase 作用が魚 pepsin 同様極めて劣る。

4． 鯨 pepsin の安定 pH 域は豚の pH 4～5 に対し 2～5 と広く且つこの安定域の酸性側に於て魚 pepsin 同様急速に activity を喪失する。対照の豚 pepsin では安定域のアルカリ側では急速に失活するが酸性側に於ては極めて緩慢な activity の低下を示すに過ぎぬ。

本実験遂行に当り御指導・御鞭撻を賜つた北海道大学農学部故高岡道夫教授中村幸彦教授，又元素分析を行われた東京工業試験所大泉健二郎氏，武田薬品株式会社研究所に深甚なる感謝の意を表す。

本研究費の一部は文部省科学研究費に依つた。併せて謝意を表す。

文　　献

1． 第1報，斎藤・石原(1956)．日農化 30(7)，426．
2． 高岡・石原・三輪・豊田(1948)．科学 18，411．
3． Bailey, K. (1942). *Biochem. J.* 36, 140.
4． Sφrense,n S. P. L. (1909). *Biochem. Z.* 21, 131.
5． Michaelis, L. (1910). *ibid.* 28, 1.
6． Okada. (1916). *Biochem. J.* 10, 126.
7． Northrop. J. H. (1921). *J. Gen. Physiol.* 3, 211.
8． ――――――― (1923). *ibid.* 5, 263.
9． Rona, P. (1924). *Biochem. Z.* 150, 444.

10. Ege, R. (1925). *Z. physiol. Chem.* 143, 159.
11. Vonk, H. J. (1927). *Z. vergl. Physiol.* 5, 445.
12. ———— (1929). *ibid.* 9, 685.
13. ———— (1939). *Ergzb. Enzymforsch.* 8, 55.
14. Ringer, W. E. (1915). *Z. physiol. Chem.* 95, 195.
15. Buchs, S. (1953). *Biochem.Z.* 325, 44.
16. Merten, R., Schramm, G., Grassmann, W., & Hannig, K. (1952). *Z. physiol. Chem.* 289, 173.
17. Heinrich, W. D. (1953). *Biochem. Z.* 323, 469.
18. Taylor, W. H. & O' Brien, J. R. P. (1955). *Biochem. J.* 61, ii.
19. Tolkmitt, W. (1954). *Biochem. Z.* 325, 389.
20. 大島 (1925). 水産学雑 28, 17. 札農林報 16, 307.
21. ———— (1926). 同 誌 29, 17. 同 誌 18, 59.
22. 島田 (1935). 日 水 誌 4, 9.
23. 大谷・中井 (1937), 日水誌 6, 45.
24. 高橋・広沢 (1936), 同 誌 5, 109.
25. Bodansky, M. & Rose, W. C. (1922). *Am. J. Physiol.* 62, 482.
26. Rakoczy, A. (1913).*Z. physiol. Chem.* 85, 349.
27. Norris, E. R. & Elam, D. W. (1940). *J. Biol. Chem.* 134, 443.
28. 高岡・石原 (1950). 日化 71, 324.
29. Anson, M. L. (1938). *J. Gen. physiol.* 22, 79.
30. Northrop, J. H. (1930). *ibid.* 13, 774.
31. ————, Kunitz, M. & Herriott, R. M. (1948). *'Crystalline Enzymes'* 2nd ed., 295p. Columbia Univ. Press, New York.
32. Fuld, E. & Levison, L. A. (1907). *Biochem. Z.* 6, 473.
33. 大島 (1923). 札農林報 14, 373.
34. Kleinmann, H. & Stern, K. G. (1930). *Biochem. Z.* 222, 31, 84.
35. Northrop, J. H. (1930). *J. Gen. Physiol.* 13, 465.
36. ———— (1932). *ibid.* 16, 33.
37. 田沢 (1944). *Acta phytochimica* 14, 75.
38. Norris, E. R. & Mathiews, J. C. (1953). *J. Biol. Chem.* 204, 673.
39. Van Herwerden (1903). *Z. physiol. Chem.* 56, 463.
40. 高田 (1925). 日本医学輯 (II) 1, 11.
41. 注解日本薬局方 (第六改正) (1951). 246p. 南山堂.
42. 小野・広海 (1954). *Proc. Jap. Acad.* 30, 467.
43. Rona, P., Kleinmman, H. & Dressler. (1930). *Biochem. Z.* 228, 6.