



Title	結晶鯨Pepsin : 第4報 各種蛋白消化液中の生成遊離アミノ酸検索
Author(s)	斎藤, 恒行; 石原, 義雄; 伊藤, 裕三
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 8(3), 224-232
Issue Date	1957-11
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23007
Type	bulletin (article)
File Information	8(3)_P224-232.pdf



[Instructions for use](#)

結 晶 鯨 Pepsin

第 4 報 各種蛋白消化液中の生成遊離アミノ酸検索

斎藤 恒行・石原 義雄・伊藤 裕三

(北海道大学水産化学部水産化学教室)

Studies on Crystalline Whale Pepsin

IV. Free amino acids in peptic digests of various proteins

Tsuneyuki SAITÔ, Yoshio ISHIHARA and Yasuzô ITÔ

Abstract

Casein, edestin, egg-white, zein, insulin (whale), and γ -globulin were hydrolyzed with whale pepsin or swine pepsin. The kinds of free amino acids liberated during the process and the degree of liberation were examined by paper chromatography. The results, as shown in Tab. 1-3, confirmed that the amino acids liberated by both pepsins were of large variety, and that in the case of whale pepsin the liberation of amino acids at pH3.0 was higher than that at pH1.8 qualitatively or quantitatively. Proteolysis type of whale pepsin is fairly different from that of swine pepsin.

緒 言

Protease の種属差判定には Bergmann 一派の如く各種合成 peptides を用いる方法とは別に、天然蛋白質を基質とするときは Green & Neurath (1954) の言の如く 'enzymatic denaturation' 等の如き一般 peptide 結合の解裂とは異なる作用の特異性も観察される利点がある。

一方、蛋白質の pepsin 消化における遊離アミノ酸の生成は頭初は否定せられていたのであるが¹⁾⁻⁴⁾、その後多数の研究者により相当種類の遊離アミノ酸が検出されている。即、Felix⁵⁾ (1925) は histone より Lys, Northrop⁶⁾ (1930) は pepsin の自己消化により Tyr, Damodaran^{7,8)} (1932) は edestin より Tyr, Asp (NH₂), gliadin より Glu (NH₂), Jones & Gersdorff⁹⁾ (1933) は casein より Cys, Lieben & Lieber¹⁰⁾ (1934) は casein 及 gelatin より Arg, Calvery *et al.*^{11,12)} (1936) は結晶 egg albumin より Tyr, Try, Cys, Hanks *et al.*¹³⁾ (1948) は casein より Arg, 福田¹⁴⁾ (1953) は egg albumin, casein, gelatin 等より多種類のアミノ酸, Denton & Elvehjem¹⁵⁾ (1953) は牛肉・casein・zein より相当量の Arg, 少量の Thr, Val, Leu 等, 以上何れも遊離アミノ酸として検出している。

ここに各種天然蛋白質を基質として時間と分解能の推移, 及生成遊離アミノ酸の検索により豚・鯨両 pepsin の類属差を観察した。分離生成物の検索には peptides をも対象とすべきであるが、先ず遊離アミノ酸に限定してこれを一定条件下 paper chromatography で検索し両 pepsin の作用を比較した。

最近、構造の判明している insulin の A-chain, B-chain を基質として protease の特異性を観察する事が行われており、鯨 insulin の両 peptides に対する鯨 pepsin の分解態度は Sanger の行つた豚 pepsin とは明かに異なるのであるが次の機会に報告する予定である。

試料及方法

試料: 前報¹⁶⁾ と同一の結晶鯨 pepsin と豚 pepsin の 1% 'stock solution' (60% glycerin の N/1000 HCl 溶液)

蛋白質：casein (Hammarsten) — Merck 製

結晶 edestin — 前回の結晶標品

凝固卵白 — 局法試験法に準じ調製

zein — corn meal より Mason & Palmer¹⁷⁾ の alcohol 法により調製

鯨 insulin — 当教室で調製した鯨鯨の精製標品

結晶 γ -globulin — 馬血清より Na_2SO_4 法により分離結晶化する結晶標品、武田薬工研究所大村栄之助氏より恵与。

消化試験：蛋白消化には各基質を2~3%濃度に $\text{N}/100$ HCl 30ml. に溶解或いは suspend し pH を調節後(稀酸又は稀アルカリ) 基質300部に対し酵素量1部の割合で添加, 少量の toluol を加えて後35°Cにて消化, 一定時間毎に Van Slyke の amino N を測定して全Nに対する分解度を pH 1.8 と 3.0 に就て観察(卵白は生成 amino N量で表示)した。分解進行につれて pH が変化する場合があるのでその都度 pH を調節した。

Paper chromatography：消化液 10ml. を取り alcohol を加えて80%濃度とし未消化蛋白及 peptides を除去後 desiccator 中真空濃縮, 以下前回に準じてこれを再蒸留水で温浸出して不溶物を去り湯浴上蒸発乾固, 再び蒸留水で溶出して中和後更に蒸発乾固, 最後に 0.2~0.5ml. 蒸留水で溶解供試。東洋濾紙 No. 50 (40 cm×40cm) を用い展開温度 20~23°C に於て上昇法(約30cm)で展開。溶媒は一次に phenol : 水(容量比 4 : 1), 二次に *n*-butanol : 醋酸 : 水(容量比 9 : 1 : 7 上層)を使用。発色には 0.25% ninhydrin acetone 溶液を噴霧。分離不良及確認困難なる時は前報¹⁸⁾に準ずる方法によつた。

実験結果並に考察

A. Casein 消化

Casein に就て豚, 鯨両 pepsin の pH 1.8 並に 3.0 における分解度の時間的推移と生成遊離アミノ酸は第1図及第1表に示す如くである。外観上の変化は豚 pepsin は速やかに懸濁状の casein 粒子を液化透明 (pH 1.8

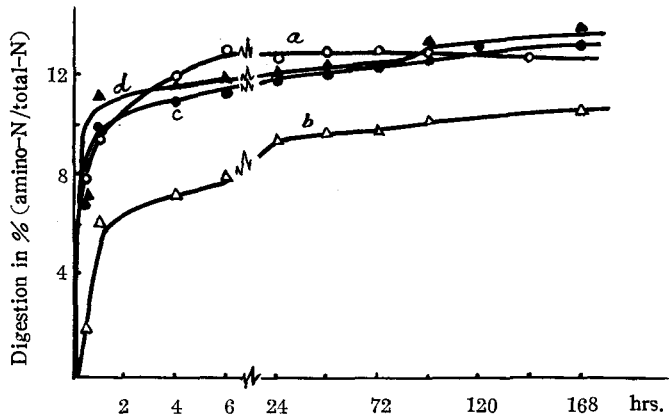


Fig. 1 Hydrolysis of casein

Curve a: Digestion of swine pepsin on casein at pH 1.8, 35°C

Curve b: Digestion of swine pepsin on casein at pH 3.0, 35°C

Curve c: Digestion of whale pepsin on casein at pH 1.8, 35°C

Curve d: Digestion of whale pepsin on casein at pH 3.0, 35°C

過と共に次第に減少する。

鯨 pepsin：約1時間で殆ど平衡に達し以後極めて徐々に分解進行す。pH 3.0 及 1.8 共に類似の分解度を示すが前述の如く外観上の液化力は pH 1.8 の方が大なるに拘らず分解度は小差で pH 3.0 の方が大。

では約30分, pH 3.0 では約60分) とするも鯨 pepsin では液化進度小, 且全体を半透明にする程度に終る。この際のこの溶解能は凝固卵白の場合同様 pH 1.8 の方が 3.0 よりも若干強い。即ち, 外観上の変化(消化速度)は豚 pepsin の方が明かに消化力大, 且つ両 pepsin 共に pH 1.8 の方が 3.0 よりも作用大。

分解度

豚 pepsin：分解の初速度極めて大で pH 1.8 では約6時間で平衡状態に達するが pH 3.0 では漸増の傾向を示す。分解度は常に明かに pH 1.8 の方が大でその差は反応初期には大差を示すもその後時間経過

Table 1. Kinds of free amino acids in peptic digests of casein

Amino acid	pH 1.8				pH 3.0			
	Swine pepsin		Whale pepsin		Swine pepsin		Whale pepsin	
	<i>Beg.</i>	<i>End</i>	<i>Beg.</i>	<i>End</i>	<i>Beg.</i>	<i>End</i>	<i>Beg.</i>	<i>End</i>
Leu (Ileu)	+	++	-	++	+	+	+	++
Val	-	+	-	-	-	-	-	-
Met	+	+	-	-	-	-	-	-
Try	+	+	-	±	-	-	-	±
Tyr	±	+	-	+	+	+	+	+
Ala	-	+	-	+	+	+	-	-
Thr	+	+	-	-	-	+	+	+
Ser	-	+	-	±	-	-	+	+
Gly	+	+	+	+	-	-	-	+
Glu	+	+	-	+	-	+	-	+
Asp	+	+	-	-	-	-	-	-
Arg	+	++	-	+	-	-	-	+
His	-	+	-	-	-	-	-	-
Lys	±	+	-	-	-	+	+	+

生成アミノ酸

豚 pepsin : 第1表に示す如く pH 1.8 と 3.0 における分解に於て、初期では Leu (Ileu), Tyr が共通でその他 pH 1.8 では Met, Try, Thr, Gly, Glu, Asp, Arg, Lys, pH 3.0 では Ala が認められる。明かに pH 1.8 に於ける peptidase 作用大。分解末期になると両者の差接近し Leu (Ileu), Tyr, Ala, Thr, Glu, Lys が共通でその他 pH 1.8 に於て Val, Met, Try, Ser, Gly, Asp, Arg, His が認められる。即ち、pH 3.0 に於ては分解度が小なるに於て生成遊離アミノ酸は定性的にも定量的にも明かに劣る。

鯨 pepsin : pH 1.8 と 3.0 では分解同程度なるに拘らずアミノ酸生成は大差を示し(特に反応初期に於て)、pH 3.0 では Leu (Ileu), Tyr, Thr, Ser, Lys の生成が認められるに拘らず pH 1.8 では単に Gly のみで大部分の分解生成物は peptides なる事を示す。分解末期には両 pH に於ける差接近するも Ala, Thr, Lys の生成に於て相互に差異を認む。

両 pepsin を比較する時は pH 1.8 では分解度類似するも豚 pepsin の方が、pH 3.0 に於ては分解度に於て鯨 pepsin の方が、それぞれアミノ酸生成量大、全般を通じて豚 pepsin のみが生成するものとして Val, Met, Asp, His が挙げられるに於て鯨 pepsin のみが生成するアミノ酸は無く、豚 pepsin の方が広範囲の分解を行う事を示す。

B. Edestin 消化

Edestin 消化の結果は第2図及第2表に示す。完全に溶液状態に在る為この場合は外観上の変化は認められない。

分解度

豚 pepsin : pH 1.8 では約3時間で一旦平衡に達するも120時間を経過して再び上昇す。pH 3.0 でも同様3時間で急速な初期分解を終るが以後引き続き漸増す。両 pH に於ける分解度は1時間消化では差極めて小なるも以後はかなりの差を示して pH 1.8 の方が大、分解末期には再び両者の分解度接近するに至る。

鯨 pepsin : 分解の初期・末期を通じて明かに pH 3.0 の方が分解度大(3時間以後は約2倍以上の大差)且つ共に1週間を経過しても平衡に達せずに向分解進行す。両 pepsin の分解度を比較する時は、初期では鯨 pepsin の方稍々大、次で豚 pepsin の方がかなり大となり末期には再び鯨 pepsin の方(pH3.0)大となる。

生成アミノ酸

豚 pepsin : 第2表に示す如く分解初期に於ては両 pH に於ける遊離アミノ酸は Met, Ala, Asp (NH₂) が

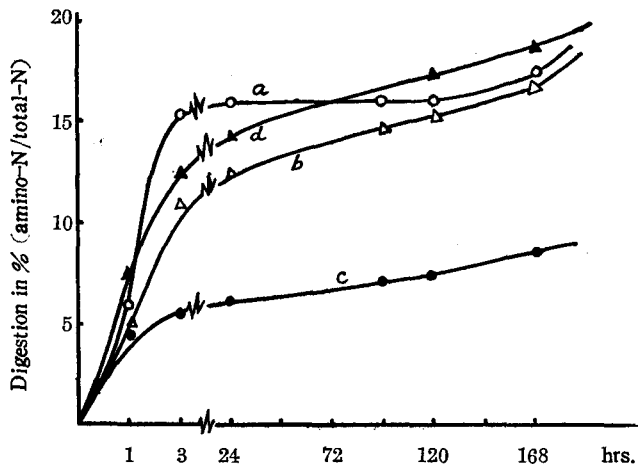


Fig. 2 Hydrolysis of edestin

Curve a: Digestion of swine pepsin on edestin at pH 1.8, 35°C
 Curve b: Digestion of swine pepsin on edestin at pH 3.0, 35°C
 Curve c: Digestion of swine pepsin on edestin at pH 1.8, 35°C
 Curve d: Digestion of whale pepsin on edestin at pH 3.0, 35°C

共通でその他 pH1.8ではLeu (Ileu), Thr, Lysが, pH3.0では Hisの生成が見られる。末期になると共通アミノ酸成分としてはLeu (Ileu), Met, Ala, Ser, Asp (NH₂), Arg, Hisとなりこの他 pH1.8では Phe, Tyr, Thr, Lysが挙げられ、初期末期共に pH 1.8の方が生成量大、前例の鯨pepsinの casein 消化の場合の如くに両 pH に於ける分解度類似するも、豚pepsinでは pH 1.8の方がアミノ酸生成量 (peptidase 作用) 大である。

鯨 pepsin : pH 1.8 並に 3.0に於ける分解度の差大なるも遊離アミノ酸生成には余り差が認められない。即ち、分解初期では Leu (Ileu), Met, Tyr, Ala が共通成分として、この他 pH 1.8では Serが見られる。末期に

Table 2. Kinds of free amino acids in peptic digests of edestin

Amino acid	pH 1.8				pH 3.0			
	Swine pepsin		Whale pepsin		Swine pepsin		Whale pepsin	
	Beg.	End	Beg.	End	Beg.	End	Beg.	End
Leu (Ileu)	+	++	±	++	-	+	±	++
Phe	-	++	-	-	-	-	-	+
Met	±	+	±	±	±	±	±	+
Tyr	-	+	±	+	-	-	+	+
Ala	++	++	+	+	±	+	±	+
Thr	+	+	-	-	-	-	-	+
Ser	-	+	±	±	-	+	-	±
Asp (NH ₂)	+	+	-	-	+	+	-	-
Arg	-	+	-	-	-	+	-	+
His	-	+	-	-	+	+	-	-
Lys	+	+	-	-	-	-	-	-

なると pH 3.0 に於ける生成量増大し Phe, Thr, Arg が出現する。

両 pepsin を比較するに、pH 1.8 では分解度の差に応じて豚 pepsin の方が遙かに遊離アミノ酸の生成多く、pH 3.0 に於ては両 pepsin の分解度の差小で生成アミノ酸量も差少いが Phe, Tyr, Thr, Asp (NH₂), His 生成が相互に異なる。全般を通じて豚 pepsin のみが生成する遊離アミノ酸として Asp (NH₂), His, Lys が挙げられ鯨pepsin にはかかるアミノ酸無し。casein の場合同様に鯨 pepsin の方が作用範囲狭し。

C. 卵白消化

i) 熱凝固卵白

実験結果は第3表及第3図に示す如くである。外観的变化は20—30分で豚 pepsin は卵白粒子を消化し透

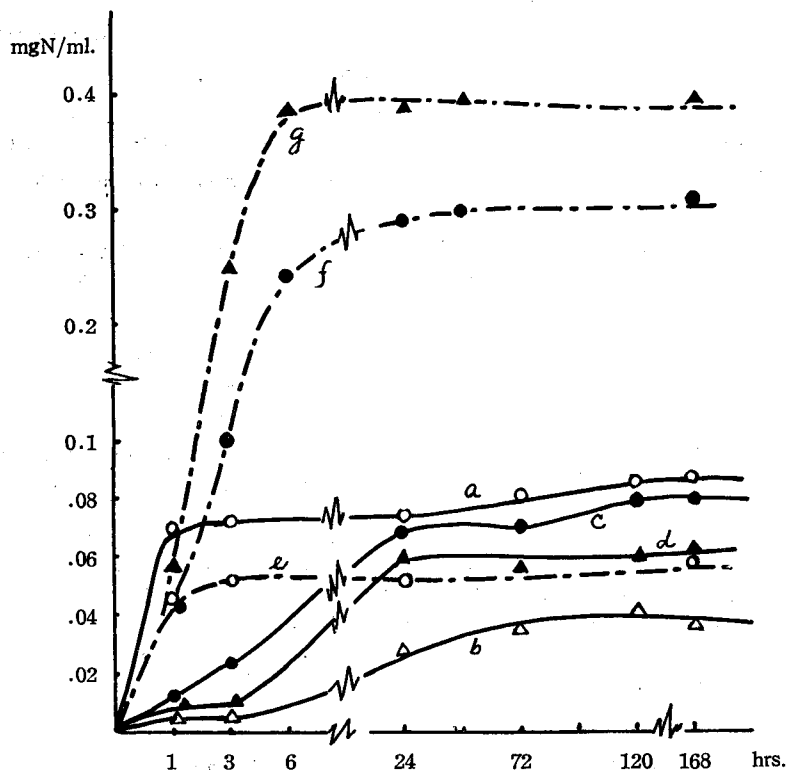


Fig. 3 Hydrolysis of egg-white.
 Curve a: Digestion of swine pepsin on heat coagtd. egg-white at pH 1.8, 35°C
 Curve b: Digestion of swine pepsin on heat coagtd. egg-white at pH 3.0, 35°C
 Curve c: Digestion of whale pepsin on heat coagtd. egg-white at pH 1.8, 35°C
 Curve d: Digestion of whale pepsin on heat coagtd. egg-white at pH 3.0, 35°C
 Curve e: Digestion of swine pepsin on raw egg-white at pH 1.8, 35°C
 Curve f: Digestion of whale pepsin on raw egg-white at pH 1.8, 35°C
 Curve g: Digestion of whale pepsin on raw egg-white at pH 3.0, 35°C

Table 3. Kinds of free amino acids in peptic digests of egg-white

Amino acid	Heat coagulated egg-white								Raw egg-white			
	pH 1.8				pH 3.0				pH 1.8		pH 3.0	
	Swine pepsin		Whale pepsin		Swine pepsin		Whale pepsin		Swine pepsin	Whale pepsin	Swine pepsin	Whale pepsin
	Beg.	End	Beg.	End	Beg.	End	Beg.	End	Beg.	End	Beg.	End
Leu (Ileu)	±	+	-	-	-	+	-	+	±	+	+	+
Val	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Tyr	+	+	±	+	±	±	-	-	-	±	-	+
Ala	-	±	-	+	-	±	+	+	±	±	-	-
Thr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Ser	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Glu	+	+	-	-	±	±	-	+	-	-	-	-
Arg	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
His	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

明な溶液とするが鯨 pepsin は 1 時間後も尙相当量の卵白粒子が残存する。これをそのまま長時間消化するも半透明のまま透明な液となる事なし。共に pH 1.8 の方作用大。

分解度

豚 pepsin : pH 1.8 に於ては 1 時間までに急速に、以後は極めて緩慢な分解経過を示す。pH 3.0 に於ては約 3 時間位までの初期分解は pH 1.8 より遙かに劣るもその後次第に増加し 72 時間以降平衡に達しその差約 1/2 程度となる。

鯨 pepsin : 小差を以て常に pH 1.8 に於ける分解度大で液化力と相応す。又分解初速度極めて緩慢なるも 24 時間以後はかなりの分解度となる。分解初期に於ける proteinase 作用小なるも二次的分解能が大い為であろう。

両 pepsin を比較する時、共に pH 1.8 に於ける分解度の方が大。反応初期では豚 pepsin の pH 1.8 に於ける分解度が圧倒的に大きいが時間経過と共に両 pepsin の差減少するに至る。

生成アミノ酸

豚 pepsin : 反応初期では pH 1.8 並に 3.0 に於ける生成遊離アミノ酸は Tyr, Glu を共通とする他 pH 1.8 に於て Leu (Ileu) が少量見られるのみで、分解度の差は極めて大きいがこれには余り差異を認めない。pH 1.8 に於けるこの期の分解反応が主として proteinase 作用である事を示す。分解末期では Leu (Ileu), Tyr, Ala, Glu が共通で更に pH 1.8 では Val, Ser, Arg, His が見られるが、分解の初期、末期共に定性的にも定量的にも前述の edestin や casein に劣る事が認められる。

鯨 pepsin : 分解度小なる事から予想される如く遊離アミノ酸は極めて少く反応初期に於て pH 1.8 では Tyr pH 3.0 では Ala の各々 1 種類を生成するのみ。末期には pH 3.0 に於ては peptidase 作用若干進行する事が認められる。この場合でも proteinase 作用は pH 1.8 の方が大なるに拘らずアミノ酸生成量は pH 3.0 の方が大なる事を示している。

両 pepsin を比較する時は、分解度に相応して豚 pepsin の方が初期・末期共にアミノ酸生成量大、而して共に pH 1.8 に於ける分解度の方が大なるに拘らず豚 pepsin は pH 1.8, 鯨 pepsin は pH 3.0 に於けるアミノ酸生成量が大きい。全般を通じて豚 pepsin のみが生成するアミノ酸として Ser, Arg, His が挙げられ前同様に鯨 pepsin よりも広範囲の分解を示している。

ii) 生卵白消化

実験結果は凝固卵白消化と共に第 3 図及第 3 表に示す。外観的变化は初めから僅かに白色の沈澱を生成するのみで以後の変化は認められない。

分解度

豚 pepsin : 約 3 時間で平衡に達す。凝固卵白より若干分解能劣り、且つ変性蛋白の方は 24 時間以後も漸増の傾向にある。

鯨 pepsin : 約 1 時間までの初期反応では豚 pepsin と同程度なるも以後急速に分解進行し豚 pepsin の約 8 倍の分解能を示すに至る。約 6 時間で平衡に達する。この場合は凝固卵白と異り常に pH 3.0 に於ける分解度の方が大である。

両 pepsin を比較し、豚 pepsin は変性卵白の方が消化能大なるに対し鯨 pepsin が生卵白の方が遙かに消化能大なる事は注目し値する。専ら生食を行つている鯨の食餌性から見て当然の事と思われるが、蛋白質分解の第 1 段階に於ける 'enzymatic denaturation' 作用が特に強いのであるか、又は蛋白質の 'native form' に対し特別に親近性を有する二次構造を持つている為か——興味を惹く問題である。

生成アミノ酸

豚 pepsin : pH 1.8 に於ける遊離アミノ酸生成は熱変性蛋白よりもその分解度小なるに相応して相当劣る。即ち、変性蛋白からは Leu (Ileu), Val, Tyr, Ala, Ser, Glu, Arg, His を生成するのにに対し Leu (Ileu),

Tyr, Ala, Arg を認めるに過ぎぬ。

鯨 pepsin : pH 3.0 に於ける遊離アミノ酸生成量は熱変性蛋白に比し分解度大差を示すに拘らず、それ程の差異が認められない。主として peptides 生成の分解反応である事を示している。但し熱変性卵白と生卵白の分解では Tyr, Ala, Thr, Ser, Glu 等の生成に於て相互に異り分解型式が大きく相異なる事を示している。

両 pepsin を比較する時 pH 1.8 に於ける豚 pepsin と pH 3.0 に於ける鯨 pepsin のアミノ酸生成能では鯨 pepsin の方が定性的にも定量的にも優るが分解度の差程ではない。全般を通じて豚 pepsin のみが生成するものとして Ala, Arg, 鯨 pepsin のみが生成するものとして Val, Thr, Ser が見られ相互にかなり分解の様相を異にしている。又これ迄の例と異り鯨 pepsin の方が作用範囲大である。

D. Zein 消化

Zein 消化に関する結果は第4図及第4表に示す如くである。外観上の変化は豚 pepsin の pH1.8 に於ける

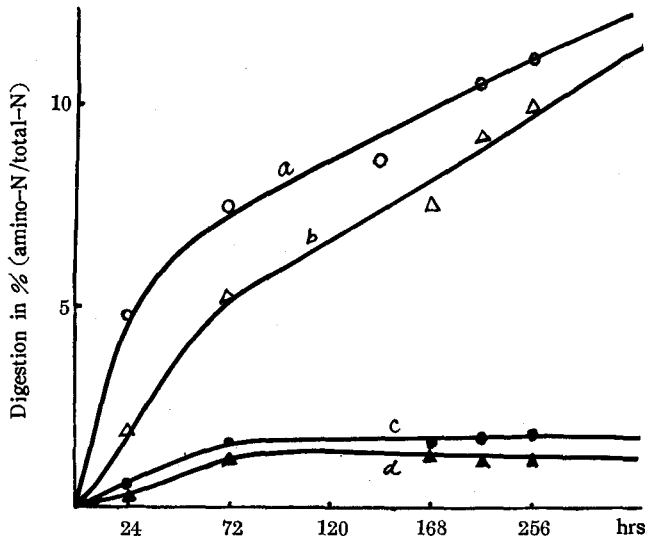


Fig. 4 Hydrolysis of zein

Curve a: Digestion of swine pepsin on zein at pH 1.8, 35°C
 Curve b: Digestion of swine pepsin on zein at pH 3.0, 35°C
 Curve c: Digestion of whale pepsin on zein at pH 1.8, 35°C
 Curve d: Digestion of whale pepsin on zein at pH 3.0, 35°C

分解末期にはかなりの液化が認められ、その他は何れも蛋白粒子は不溶解のままなるも鯨 pepsin はこの場合 pH 1.8 に於ける方が稍々優る。

分解度

豚 pepsin : 外観上の変化に相応して pH1.8 に於ける分解度大。これ迄の例と異り 200 時間を越えても分解上昇を続け平衡状態に入らぬ。

鯨 pepsin : 殆んど分解せざるも外観上の変化に相応して小差で pH1.8 の方が分解度大である。豚 pepsin と異り約 70 時間で平衡に達す。

両 pepsin を比較して、豚 pepsin が分解の初速度は遅いが casein, edestin 同様に相当分解するのに対して鯨 pepsin は分解能極めて小である。これは鮪 pepsin¹⁹⁾ が zein を分解し難いとの報告が見られるが、鯨 pepsin が同一環境に棲む魚類の pepsin とその substrate

Table 4. Kinds of free amino acids in peptic digests of zein

Amino acid	pH 1.8		pH 3.0	
	Swine pepsin	Whale pepsin	Swine pepsin	Whale pepsin
Leu (Ileu)	+	±	+	+
Val	+	-	+	+
Tyr	+	±	±	+
Ala	+	-	-	-
Ser	+	-	+	-
Gly	±	-	±	+
Glu	+	-	±	+
Arg	±	-	-	-

specificityを同じくしている事を示す。

生成アミノ酸

豚 pepsin：両 pH に於けるアミノ酸生成を見ると Leu (Ileu), Val, Tyr, Ser, Gly, Glu を共通成分としてこの他 Ala, Arg が pH 1.8 に於て見られる。何れも良く生成するが定量的には遙かに pH 1.8 の方が大先分解度に相応した結果を示す。

鯨 pepsin：両 pH に於ける遊離アミノ酸を比較して Leu (Ileu), Tyr が共通でこの他 pH 3.0 では Val, Gly, Glu が認められ、分解度は小差で pH 1.8 の方が大なるもアミノ酸生成量は遙かに pH 3.0 の方が多い。

両 pepsin を比較して Leu (Ileu), Val, Tyr, Gly, Glu の共通成分の他に豚 pepsin のみが生成するものとして Ala, Ser, Arg が挙げられ分解範囲豚 pepsin の方が大きい事を示す。但し分解度に於ける程の大差を示さないのは鯨 pepsin が 'one by one' の分解型式を取る為と思われる。

不溶性蛋白である zein, 麥固卵白、或いは casein 粒子に対する液化作用が豚 pepsin 大いに優り、鯨 pepsin は分解第 1 期に於けるこの proteinase 作用は極めて弱い二次的分解は比較的大きい。即ち、豚 pepsin は α -amylase, 鯨 pepsin は β -amylase に類似した分解型式を示す事になる。

E. 鯨 Insulin 消化

分解度

試料の関係で168時間の分解物に就てのみ観察。

豚 pepsin：pH 1.8に於ける分解度13.4%を示し pH 3.0に於ける8.2%に比しかなり大きな差が認められる。

鯨 pepsin：pH 3.0に於ける分解度 13.1% で pH 1.8 に於ての 7.4% に比べて約2倍の分解能を示す。この様に溶性蛋白に対する消化能は鯨 pepsin では常に大差で pH 3.0 の方が大きい。

生成アミノ酸

第5表に示す如く両 pepsin 共に分解度に相応して豚 pepsin では pH 1.8, 鯨 pepsin では pH 3.0 に於て生

Table 5. Kinds of free amino acids in peptic digests of purified whale insulin

Amino acid	pH 1.8		pH 3.0	
	Swine pepsin	Whale pepsin	Swine pepsin	Whale pepsin
Leu (Ileu)	+	-	±	±
Val	±	-	-	+
Tyr	+	±	+	±
Ala	+	-	-	+
Ser	±	-	-	±
Gly	-	-	-	+
Glu	+	±	±	+
Asp	+	-	-	-

成量大。これを定性的に見ると Leu (Ileu), Val, Tyr, Ala, Ser, Glu を共通成分とし、この他豚 pepsin では Asp, 鯨 pepsin では Gly を生成し、定量的には Leu (Ileu), Val, Tyr, Ala 等に於て差を示し、相互に若干分解態度を異にする事が認められる。

F. γ -Globulin 消化

試料の関係で時間と分解度の推移は観察しなかつたが168時間の分解では pH 1.8に於ける豚 pepsin は9.2% pH 3.0 に於ける鯨 pepsin は 10.1%と略同程度の分解度を示す。

生成アミノ酸

pH1.8に於ける豚 pepsin, pH3.0に於ける鯨 pepsin 消化の結果は第6表に示す如く、分解度に相応して共に良く遊離アミノ酸を生成す。共通成分の他に豚 pepsin のみが生成するものとして Ala, Ser が、鯨 pepsin のみが生成するものとして Tyr, Thr が見られ、又定量的には Leu (Ileu), Met, Glu, Asp に於て差を示し相互にかなり分解態度を異にする事が認められる。

Table 6. Kinds of free amino acids in peptic digests of γ -globulin

	pH 1.8	pH 3.0
	Swine pepsin	Whale pepsin
	<i>End</i>	<i>End</i>
Leu (Ileu)	+	++
Val	+	+
Met	+	±
Tyr	-	±
Ala	+	-
Thr	-	±
Ser	+	-
Glu	+	±
Asp	++	±

G. 対照実験

同一実験条件で pH1.8 又は3.0に於ける基質蛋白よりの ninhydrin 陽性物質は認められない。又 pepsin 試料よりは ninhydrin 陽性 spot (Tyr その他) 2~3 認められるも実験と同一条件の二次元展開では全く検出せられぬ程度の微量である。

要 約

Casein, edesin, 卵白, zein, 鯨insulin, γ -globulin 等各種蛋白の pH1.8 並に3.0に於ける分解度と時間の推移, 及生成遊離アミノ酸を paper chromatography で検索し, 豚 pepsin と鯨 pepsin の分解型式を比較し, 相互にかなり異なる事を認めた。

終りに貴重な結晶 γ -globulin を御慮与された武

田薬工研究所大村栄之助氏に厚く謝意を表す。

文 献

1. Abderhalden, E. (1920). *Lehrbuch der physiol. Chemie*, Berlin, 5th edition. 468 & 471.
2. Waldschmidt-Leitz, E. & Küstner, G. (1927). *Z. physiol. Chem.* 171, 290.
3. Oppenheimer, C. (1936). *Die Fermente u. ihre Wirkungen, supp.*, 677 & 845.
4. Grassmann, W. & Schneider, F. (1936). *Ergebn. der Enzymforsch.* 5, 79.
5. Felix, K. (1925). *Z. physiol. Chem.* 146, 109.
6. Northrop, J. H. (1930). *J. Gen. Physiol.* 13, 739.
7. Damodaran, M. (1932). *Biochem. J.* 26, 235.
8. Damodaran, M., Jaaback, G. & Chibnall, A. C. (1932). *Biochem. J.* 26, 1704.
9. Jones, D. B. & Gersdorff, C. E. F. (1933). *J. Biol. Chem.* 101, 659.
10. Lieben, F. & Lieber, H. (1934). *Biochem. Z.* 275, 38.
11. Calvery, H. O. & Schock, E. D. (1936). *J. Biol. Chem.* 113, 15.
12. Calvery, H. O., Block, W. D. & Schock, E. D. (1936). *J. Biol. Chem.* 113, 21.
13. Hankes, L. V., Riesen, W. H., Henderson, L. M. & Elvehjem, C. A. (1948). *J. Biol. Chem.* 176, 467.
14. 福田 (1953). 薬学 73, 245.
15. Denton, A. E. & Elvehjem, C. A. (1953). *J. Nut.* 41, 221.
16. 第2報 斎藤 石原 (1956). 北大水産彙報 7, 147.
17. Mason, I. D. & Palmer, L. S. (1934). *J. Biol. Chem.* 107, 131.
18. 第3報 斎藤・石原・伊藤 (1957). 北大水産彙報 8, 220.
19. Norris, E. R. & Mathies, J. C. (1953). *J. Biol. Chem.* 204, 673.