



Title	結晶鯨インシュリンに関する研究：第4報 抹香鯨及イワシ鯨インシュリンの構造
Author(s)	伊藤, 裕三; ITÔ, Yasuzo
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 9(2), 127-137
Issue Date	1958-08
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/23037">https://hdl.handle.net/2115/23037</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	9(2)_P127-137.pdf



## 結晶鯨インシュリンに関する研究

### 第4報 抹香鯨及イワシ鯨インシュリンの構造

伊 藤 裕 三

(北海道大学水産学部水産化学教室)

#### Studies on Crystalline Whale Insulin

#### IV. Structure of Sperm- and Sei-whale Insulins

Yasuzo ITÔ

#### Abstract

As reported in previous papers<sup>1)</sup>, the authors have observed that the amino-acid composition of whale (sei-) insulin differs from that reported by Sanger *et al.*<sup>4)</sup>. Furthermore, I have recently re-examined the amino-acid analyses of sperm- and sei-whale insulins (whole insulin and both glycyl (A) and phenylalanyl (B) chains of oxidized insulin, respectively). From these experiments it has been confirmed that in sperm insulin each amino-acid content agrees well with the values obtained by Sanger *et al.*; but in sei-whale insulin the content differs from their reports, namely, it contains an alanine instead of an isoleucine residue in the A chain.

Then, I have compared the amino-acid sequences in both insulins with that reported by Sanger *et al.* The B chains were found to have the same sequence as Sanger's, but species differences found in A chain were on the residues occupying positions 8-10; namely, the sequence in sperm insulin Thr. Ser. Ileu (identical with Sanger) and in sei-whale insulin Ala. Ser. Thr.

#### 緒 言

前報<sup>1)</sup>にては結晶イワシ鯨インシュリンの構成アミノ酸の完全分析を行い、牛・豚・羊・馬等<sup>2,3,4)</sup>陸上動物のインシュリンとは若干アミノ酸組成を異にする事を報告したが、鯨インシュリンに就てのSanger<sup>4)</sup>の報告とは相異なるので、之を検討する為に新たに抹香鯨インシュリンと更にイワシ鯨インシュリンに就てはA-鎖とB-鎖に分別して夫々のアミノ酸の完全分析を試みた。所が抹香鯨インシュリンではSangerの結果と一致したがイワシ鯨インシュリンでは矢張りSangerとは異り、Ileu 1分子少くその代りにAla 1分子多く含有する事が確認せられた。更にアミノ酸の結合順序も抹香鯨ではA8-10が、Thr. Ser. Ileuであるのに対し、イワシ鯨ではAla. Ser. Thrを示し両種間に明かに相異を示す結果が得られたのでここに報告する。

#### 実 験

##### 試料

イワシ鯨 (*Balaenoptera borealis* LESSON) インシュリンは前報<sup>5)</sup>の当教室製結晶標品、抹香鯨 (*Physeter catodon* LINNAEUS) インシュリンはイワシ鯨と同様処理して得られた当教室製結晶標品及び大洋漁業横須賀工場製のを再結して供試。イワシ鯨ペプシン<sup>6)</sup>は当教室製結晶標品。豚ペプシンは Worthington Chemical Laboratory (U.S.A.) 製結晶標品。以上何れも4-7回再結して充分精製を行つて供試した。

##### 方法

アミノ酸分析は前報と同様 Moore & Stein 法<sup>7)</sup>に従つて行い、別に CyS の定量は Schram, Moore, & Bigwood 法<sup>8)</sup> Tyr の定量を Goodwin & Morton<sup>9)</sup> の紫外部吸収測定による方法を併用した。

インシュリンの過硝酸酸化及びA・B両 fraction の分別は Sanger の方法<sup>9)</sup>に従い、A-鎖のアミノ酸結合順序の決定は Sanger<sup>10)</sup>の方法に準じ、先づ A-fraction を酸及びペプシンで部分水解を行い生成 peptides を濾紙電気泳動、一次元及び二次元 paper chromatography を併用して分別、個々の peptide は DNP 法でアミノ末端、酸分解により構成アミノ酸を夫々 paper chromatography で同定し Sanger の結果と比較対照して行つた。

実験結果並に考察

I アミノ酸定量分析

抹香鯨インシュリン及びイワシ鯨インシュリン A, B 両 fraction の夫々に10倍量の6N HClを加え封管の下110°Cで24時間、48時間、72時間水解後過剰の HCl を除去、pH を調節定容後一定量を供試した。

A. 抹香鯨インシュリン

抹香鯨インシュリンのアミノ酸定量分析の結果は Fig. 1 a, Fig. 1 b 及び Table 1 に示す如くである。アミノ酸の酸による分解に対する補正は Thr, Ser, Tyr に対しては水解の零時間えの外挿法、Glu 及び Phe は72時間水解値他は各時間の平均値を採つた。Table 1 に示す如く全く Sanger の結果と一致するアミノ酸組成である。

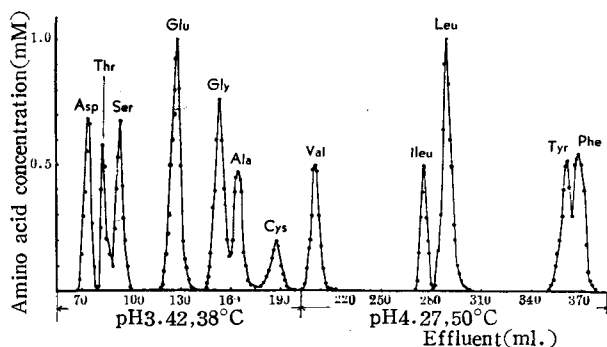


Fig. 1a. Typical effluent curves for 24-hour hydrolysate of sperm-whale (100cm. column of Dowex 50-X8)

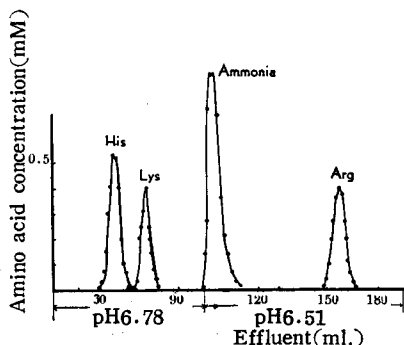


Fig. 1b. Typical effluent curves for 24-hour hydrolysate of sperm-whale (15cm. column of Dowex 50-X8)

Table 1. The amino-acid composition of sperm-whale insulin

Amino acid	Amino acid per 100g. protein	Amino acid residues per 100g. protein	N as % of total N	No. of residues per mole of insulin
Aspartic acid	6.76±0.01 <sup>g</sup>	5.85±0.01 <sup>g</sup>	4.57±0.01	3.04±0.01
Threonine*	4.12	3.49	3.12	2.08
Serine*	4.92±0.28	4.07±0.23	4.21±0.24	2.81±0.11
Glutamic acid	16.29±0.11	12.59±0.10	9.97±0.07	6.65±0.05
Proline	1.46	1.23	1.14	0.76
Glycine	5.06±0.01	3.84±0.01	6.07±0.01	4.04±0.01
Alanine	3.34±0.02	2.66±0.02	3.38±0.02	2.24±0.01
Cystine**	11.09	9.43	8.30	2.77
Valine	8.45±0.07	7.15±0.06	6.49±0.05	4.33±0.04
Isoleucine	4.08±0.01	3.52±0.01	2.80±0.01	1.87±0.01
Leucine	13.67±0.19	11.80±0.16	9.39±0.13	6.26±0.09
Tyrosine*	11.86±0.09	10.67±0.08	5.89±0.04	3.93±0.03
Phenylalanine	8.19	7.29	4.46	3.02
Histidine	4.88±0.07	4.31±0.06	8.50±0.12	1.88±0.03
Lysine	2.64±0.09	2.32±0.08	3.26±0.11	1.08±0.04
Arginine	3.21±0.15	2.87±0.13	6.63±0.31	1.10±0.05
Ammonia	.....	.....	9.82	6.28
Total	110.02	93.09	98.00	

\* Extrapolated to zero time of hydrolysis

\*\* Measured as cysteic acid but calculated as cystine

## B. イワシ鯨インシュリン

前報<sup>1)</sup>のイワシ鯨のインシュリンのアミノ酸分析を再検討する為、より正確を期してA・B両fractionに分別して夫々の分析を試みた。A-fraction に対する結果は Fig. 2 及び Table 2, B-fraction に対する結果は Fig. 3a, Fig. 3b 及び Table 2 に示す如くである。アミノ酸の酸による分解の補正は前に述べた様に Thr, Ser, Tyr に対しては水解零時間えの外挿法, Glu 及び Phe は72時間の水解値他は各時間の平均値を採った。

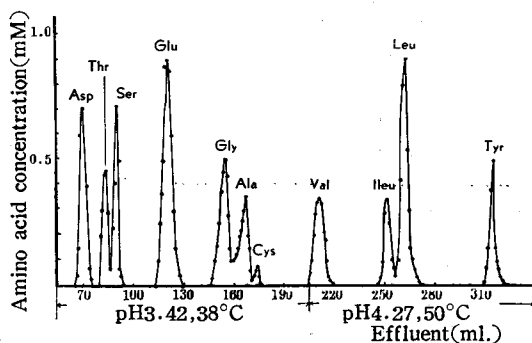


Fig. 2. Typical effluent curves for 24-hour hydrolysate of A-fraction of sei-whale insulin (100cm. column of Dowex 50-X8)

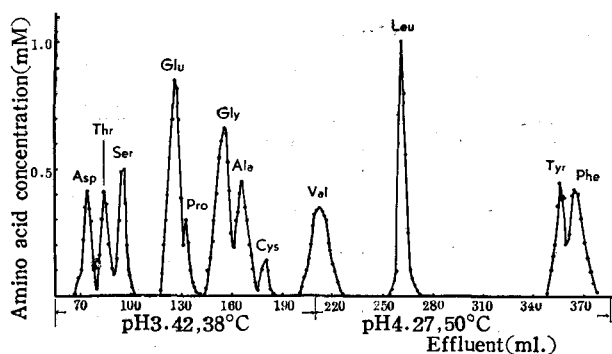


Fig. 3a. Typical effluent curves for 24-hour hydrolysate of B-fraction of sei-whale insulin (100cm. column of Dowex 50-X8)

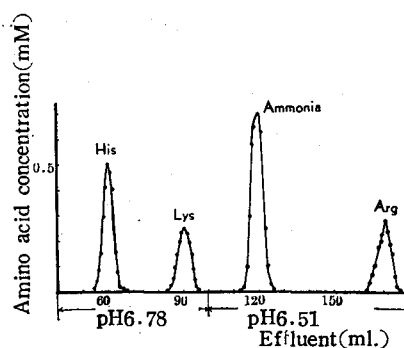


Fig. 3b. Typical effluent curves for 24-hour hydrolysate of B-fraction of sei-whale insulin (15cm. column of Dowex 50-X8)

Table 2. The amino-acid composition of A- and B-fraction of sei-whale insulin

Amino acid	Amino acid per 100 g. protein		Amino acid residues per 100 g. protein		N as % of total N		No. of residues per mole	
	A-fraction	B-fraction	A-fraction	B-fraction	A-fraction	B-fraction	A-fraction	B-fraction
Aspartic acid	12.63	4.11	10.92	3.56	8.52	2.79	2.37	1.18
Threonine*	6.36	3.62	5.40	3.08	4.77	2.73	1.34	1.06
Serine*	9.71	3.80	8.04	3.17	8.30	3.27	2.31	1.27
Glutamic acid	21.40	13.38	18.77	11.73	13.06	8.22	3.64	3.18
Proline		2.81		2.37		2.21		0.86
Glycine	3.54	6.88	2.69	5.23	4.24	8.29	1.18	3.21
Alanine	3.84	4.96	3.06	3.95	3.87	5.02	1.07	1.95
Cystine/2**	19.00	6.05	16.15	5.14	14.19	4.55	3.96	1.76
Valine	5.67	9.28	4.80	7.86	4.34	7.16	1.21	2.78
Isoleucine	6.21		5.36		4.26		1.18	
Leucine	10.92	15.81	9.42	13.90	7.87	10.90	2.08	4.22
Tyrosine*	15.75	10.22	14.18	9.20	7.82	5.10	2.18	1.98
Pheylalanine		12.97		11.54		7.10		2.75
Histidine		7.19		6.32		12.56		1.62
Lysine		3.29		2.88		4.07		0.79
Arginine		4.03		3.61		8.37		0.81
Ammonia	.....	.....	.....	.....	14.02	4.24	3.96	1.69
Total	115.03	108.40	98.80	93.53	95.70	96.58		

\* Extrapolated to zero time of hydrolysis

\*\* Measured as cysteic acid but calculated as half-cystine

今回の両ペプチドに分別しての分析値を前報と<sup>1)</sup>比較すると, "whole molecule" に対する残基数に於て Ileu と Leu, Tyr と Phe に於て夫々1分子宛の入れ替りが見られる。之で Sanger の結果に一層接近した事になるが, 明らかに Ileu 1分子少く代りに Ala, 1分子多い事が確認されるに至つた。以上の結果を之迄のインシュリンと対照して纏めると Table 3 の如くなる。即ち抹香鯨インシュリンは Sanger 等の報告した豚・鯨と全く一致するが, イワシ鯨インシュリンでは Ala, Ileu に相異が見られ, この相異はA-鎖に由来

することも又明らかに認められる。A-鎖につきイワシ鯨インシュリンと他の5種を比較するならば、Asp, Glu, Cys, Leu, Tyr は共通, Thr は豚, 馬と同一, Ser は豚, 牛と同一, Gly は豚, 牛と同一, Ala は牛, 羊と同一, Val は豚, 馬と同一, Ileu は牛, 羊と同一である。

この様な抹香鯨とイワシ鯨両インシュリンのアミノ酸組成の相異を更に確認する為に次のA-鎖のアミノ酸結合順序を検討した。

Table 3. Amino-acid composition of each insulin from different sources

Amino acid	Sei-whale			Sperm whale	<sup>3)</sup> Pork and whale <sup>4)</sup>			<sup>3)</sup> Cattle			<sup>3)</sup> Sheep			<sup>4)</sup> Horse		
	A	B	Total		A	B	Total	A	B	Total	A	B	Total	A	B	Total
Aspartic acid	2	1	3	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3
Threonine	1	1	2	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2
Serine	2	1	3	3	2	1	3	2	1	3	1	1	2	1	1	2
Glutamic acid	4	3	7	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7	4	3	7
Proline		1	1	1		1	1		1	1		1	1		1	1
Glycine	1	3	4	4	1	3	4	1	3	4	2	3	5	2	3	5
Alanine	1	2	3	2		2	2	1	2	3	1	2	3		2	2
Cystine	2	1	3	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3
Valine	1	3	4	4	1	3	4	2	3	5	2	3	5	1	3	4
Isoleucine	1		1	2	2		2	1		1	1		1	2		2
Leucine	2	4	6	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
Tyrosine	2	2	4	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4	2	2	4
Phenylalanine		3	3	3		3	3		3	3		3	3		3	3
Histidine		2	2	2		2	2		2	2		2	2		2	2
Lysine		1	1	1		1	1		1	1		1	1		1	1
Arginine		1	1	1		1	1		1	1		1	1		1	1
Ammonia	4	2	6	6	4	2	6	4	2	6	4	2	6	4	2	6

## II アミノ酸結合順序

### A. 鯨及び豚ペプシンによる水解生成ペプチドの検索

試料A-fraction 20 mg を  $N/100$  HCl 2.5 ml に溶解ペプシン 1 mg を加え, 37°Cで48時間作用せしめた後100°C 10分間加熱, 酵素作用を停止せしめ, 凝固物を遠心除去し, 得られた上清を乾固後少量の蒸留水に溶解, 之を phenol:水(4:1)及び butanol:酢酸:水(4:1:5)両 solvent system で2次元 paper chromatography により各ペプチドに分別した。分離されたペプチドは切り取り蒸留水で抽出し, 濃縮乾固後, 6N HCl で 105°C 12時間加水分解し構成アミノ酸を paper chromatography により同定した。又上記と同様操作で分別したペプチドを1% trimethylamine にて抽出し DNFB にて DNP 化し, ペプチドのアミノ末端基を paper chromatography で同定した。

抹香鯨インシュリンの A-fraction の豚ペプシンと鯨ペプシンによる水解生成ペプチドの分別及びその構成アミノ酸の検索は夫々 Fig. 4 a, Fig. 4 b 並びに Table 4 a, Table 4 b に示す如くである。

又イワシ鯨インシュリンの A-fraction の豚ペプシンと鯨ペプシンによる水解生成ペプチドの分別及びその構成アミノ酸検索は夫々 Fig. 5 a, Fig. 5 b 並びに Table 5 a, Table 5 b に示す如くである。

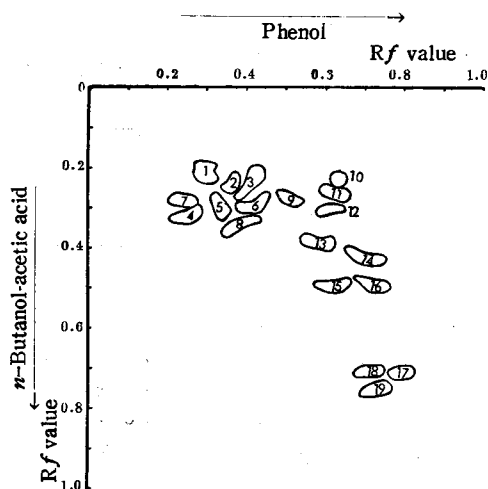


Fig. 4 a. Chromatograms of peptic (pig pepsin) hydrolysate of A-fraction of sperm-whale insulin. Run first in phenol-water (4 : 1, by vol.) and then in *n*-butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 5, by vol.)

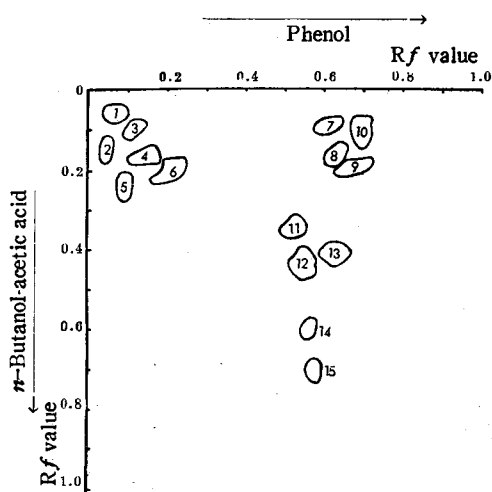


Fig. 4 b. Chromatograms of peptic (whale pepsin) hydrolysate of A-fraction of sperm-whale. Run first in phenol-water (4 : 1, by vol.) and then in *n*-butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 5, by vol.)

Table 4 a. Peptides from peptic (pig pepsin) hydrolysate of A-fraction of sperm-whale insulin (See Fig. 4 a)

Spot	Peptides identified
1	[Val, ? Glu ?]
2	Uncertain
3	Glu. Asp. Tyr. CySO <sub>3</sub> H. Asp
4	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Thr. Ser
5	Ser. Leu. Tyr. Glu
6	Uncertain
7	Glu (free)
8	Ileu. CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
9	Gly. Ileu. Val. Glu
10	Tyr. Glu
11	Leu. Glu. Asp. Tyr. CySO <sub>3</sub> H. Asp
12	CySO <sub>3</sub> H. Asp
13	[Glu, ? CySO <sub>3</sub> H ?]
14	Tyr. Glu. Leu
15	Ser. Leu. Tyr. Glu
16	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Thr. Ser
17	Glu. Asp
18	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Thr. Ser
19	Leu. Glu. Asp

Table 4 b. Peptides from peptic (whale pepsin) hydrolysate of A-fraction of sperm-whale insulin (See Fig. 4 b)

Spot	Peptides identified
1	CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
2	Glu. Asp. Tyr
3	CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
4	Glu. Asp. Tyr
5	Ser. Leu. Tyr. Glu
6	CySO <sub>3</sub> H. Ser
7	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Thr. Ser
8	Ileu. CySO <sub>3</sub> H. Ser
9	Gly. Ileu. Val. Glu
10	Leu. Glu. Asp
11	Ser. Ileu. CySO <sub>3</sub> H
12	Ser. Leu. Tyr. Glu. Leu. Glu. Asp. Tyr
13	Leu. Glu. Asp
14	CySO <sub>3</sub> H. Asp
15	Glu. Asp

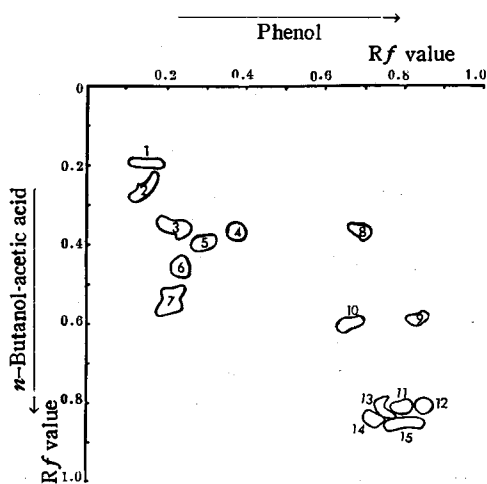


Fig. 5 a. Chromatograms of peptic (pig pepsin) hydrolysate of A-fraction of sei-whale insulin. Run first in phenol-water (4 : 1, by vol.) and then in *n*-butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 5, by vol.)

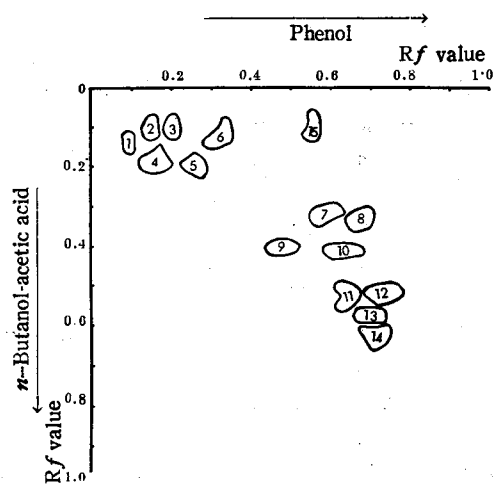


Fig. 5 b. Chromatograms of peptic (whale pepsin) hydrolysate of A-fraction of sei-whale insulin. Run first in phenol-water (4 : 1, by vol.) and then in *n*-butanol-acetic acid-water (4 : 1 : 5, by vol.)

Table 5 a. Peptides from peptic (pig pepsin) hydrolysate of A-fraction of sei-whale insulin (See Fig. 5a)

Spot	Peptides identified
1	Glu. Asp. Tyr. CySO <sub>3</sub> H. Asp
2	Ser. Leu. Tyr. Glu. Leu
3	Glu. Asp. Tyr
4	CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
5	Tyr. Glu. Leu
6	Gly. Ileu. Val. Glu
7	CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu. Leu
8	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H
9	Glu. Asp
10	Thr. CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
11	Asp. Tyr. CySO <sub>3</sub> H. Asp
12	Asp. Tyr
13	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Ala. Ser
14	Tyr. Glu
15	Uncertain

Table 5 b. Peptides from peptic (whale pepsin) hydrolysate of A-fraction sei-whale insulin (See Fig. 5b)

Spot	Peptides identified
1	Ser. Leu. Tyr. Glu
2	CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr
3	Glu. Asp
4	Glu. Asp. Tyr
5	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Ala. Ser
6	CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
7	Ser. Thr. CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr
8	CySO <sub>3</sub> H. Asp
9	Gly. Ileu. Val. Glu
10	Glu. Asp. Tyr. CySO <sub>3</sub> H. Asp
11	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Ala
12	Ser. Leu. Tyr. Glu. Leu. Glu. Asp
13	Asp. Tyr
14	Thr. CySO <sub>3</sub> H. Ser. Leu. Tyr. Glu
15	Leu. Glu. Asp. Tyr

B. 酸による水解生成ペプチドの検索

試料 A-fraction 10mg に 12N HCl 2 ml. を加え 36°C 72 時間分解後、常法通り HCl を除去し、生成ペプチドの分別を濾紙電気泳動 (pH 3.4, pyridine-acetate buffer) 及び一次元 paper chromatography (solvent system: *n*-butanol-酢酸-水, 4:1:5) で行つた。分別せるペプチドは前述の酵素分解の場合と同様処理した。抹香鯨、イワシ鯨両インシュリンの A-fraction に対する之等の結果は Fig. 6, Table 6 a 及び Table 6 b に示す如くである。酸水解物の濾紙泳動は両インシュリン (A-fraction) 共殆んど同様の分離状態を示したが、band e, g, h, i, j 並に k に於て ninhydrin 呈色度と band の巾に若干の相異が認められた。

酵素及び酸による部分水解より得られた以上の結果から両鯨インシュリン A-鎖のアミノ酸配列順序を帰納すると Table 7 a 及び Table 7 b の様になり、之よりすると A1~A7 と A11 以降の配列は両鯨インシュリン共に全く同一の配列を示す。相異なる箇所は S-S 環内の A8, 9, 10 のアミノ酸のみである。B-鎖に於ては両インシュリン共に既往のインシュリンと全く同一であつた<sup>11)</sup> がペプチドの species specificity と共に次回に報告する。ここにイワシ鯨と抹香鯨のインシュリンとはそのアミノ酸配列に於て Ala と Thr, Thr と Ileu の入れ替りが認められるに至つた。従来 Sanger 等の報告した 5 種のインシュリンのアミノ酸組成の相異も A8, 9, 10 のアミノ酸であつて、之等の相異がインシュリンの生物学的活性には差を与えぬ事から、之等アミノ酸が活性に余り関係が無い事は明かである。今回の両鯨インシュリンと之迄のインシュリンの種属差を現わす A8-10 のアミノ酸配列を示すと次の如くで、鯨は豚インシュリンと同じ配列なりとする Sanger の鯨の試料は抹香鯨インシュリンと思われる。

イワシ鯨	Ala. Ser. Thr	牛	Ala. Ser. Val
抹香鯨	Thr. Ser. Ileu	羊	Ala. Gly. Val
豚	Thr. Ser. Ileu	馬	Thr. Gly. Ileu
鯨 (Sanger)	Thr. Ser. Ileu		

この様な種属差の例は他の蛋白質にも認められるが、之等の種々のアミノ酸の置換の間には余り関連性が認められない。例えば血清アルブミン<sup>12)</sup> は人と牛とで Ala と Thr の置換があり、チトクローム C<sup>13)</sup> では豚、馬、牛、鮭、鶏とで Ala と Ser の置換、ハイパーテンシン<sup>14)</sup> では牛と馬とで Val と Ileu の置換 (インシュリンの場合に類似)、メラニン生成刺激ホルモン<sup>15)</sup> では豚と牛とで Glu と Ser の置換、又ペプチドホルモンのコルチコトロピン<sup>16)</sup> でも Leu と Ala, Ala と Ser の置換が、更にバソプレッシン<sup>17)</sup> では牛と豚とで Arg と Lys の置換が明かにされている。之等の種属差は何れも、インシュリンの場合同様に、その酵素活性やホルモン活性の上に余り影響を与えていない。

同じ鯨でも齒鯨である抹香鯨と鬚鯨であるイワシ鯨とでは其の食性、習性を可なり異にする種類であるのでこの様な構造上の差は当然の結果とも考えられる。

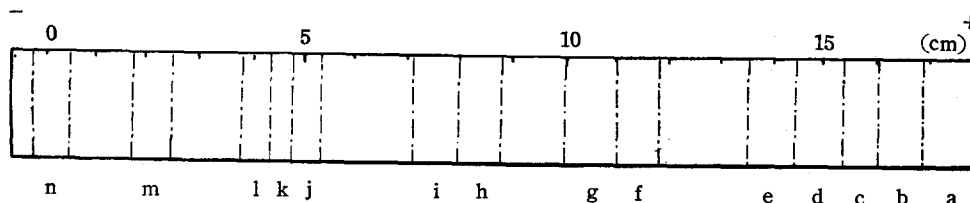


Fig. 6. Ionophoretic separations of acid hydrolsate of A-fraction of sei-whale insulin at pH 3.4 (pyridine-acetate buffer) and 400 volt (3hr.)

Table 6 a. Peptides identified in partial acid hydrolysate of A-fraction of sei-whale insulin (see Fig. 6). Each fraction in Fig. 6 was fractionated by paper chromatography (solvent system: *n*-butanol-acetic acid-water 4:1:5 by vol.) furthermore

Spot	Peptides identified
a	CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H
b	CySO <sub>3</sub> H
c-1	Glu. CySO <sub>3</sub> H
c-2	Glu. CySO <sub>3</sub> H
d-1	CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Ala
d-2	Thr. CySO <sub>3</sub> H
e-1	CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Ala
e-2	Thr. CySO <sub>3</sub> H
e-3	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Ala
f	CySO <sub>3</sub> H. Asp
g-1	Glu. Asp
g-2	CySO <sub>3</sub> H. Ala
h-1	Ser. Thr
h-2	Glu. Asp. Tyr
h-3	Ser. Thr
i-1	Glu. Leu
i-2	Ser. Leu. Tyr. Glu
i-3	Leu. Glu. Asp
j-1	Leu. Glu. Asp
j-2	Asp. Tyr. CySO <sub>3</sub> H
j-3	Gly. Ileu. Val. Glu
j-4	Ileu. Val. Glu
k	Uncertain
l-1	Ileu. Val. Glu
l-2	Ileu. Val. Glu. Glu. CySO <sub>3</sub> H
m	Gly. Ileu. Val. Glu. Glu. CySO <sub>3</sub> H
n-1	Ser. Leu
n-2	Val. Glu
n-3	Ileu. Val
n-4	Uncertain

Table 6 b. Peptides identified in partial acid hydrolysate of A-fraction of sperm-whale insulin (see Fig. 6). Each fraction in Fig. 6 was fractionated by paper chromatography (solvent system: *n*-butanol-acetic acid-water 4:1:5 by vol.) furthermore

Spot	Peptides identified
a	CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H
b	CySO <sub>3</sub> H
c	Glu. CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H
d	Uncertain
e-1	Uncertain
e-2	Glu. CySO <sub>3</sub> H
e-3	Glu
f-1	CySO <sub>3</sub> H. Thr
f-2	Tyr. CySO <sub>3</sub> H
f-3	CySO <sub>3</sub> H. Asp
g-1	CySO <sub>3</sub> H. CySO <sub>3</sub> H. Thr
g-2	Glu. Leu
h-1	CySO <sub>3</sub> H. Thr. Ser
h-2	Ser. Leu. Tyr. Glu
i-1	Glu. Asp
i-2	Asp. Tyr
i-3	Leu. Glu. Asp
i-4	Glu. Asp
j-1	Ser. Leu. Tyr
j-2	Thr. Ser. Ileu
j-3	Thr. Ser
j-4	Thr. Ser. Ileu
k	Uncertain
l	Ileu. Val. Glu. Glu. CySO <sub>3</sub> H
m-1	Gly. Ileu. Val. Glu
m-2	Val. Glu. Glu. CySO <sub>3</sub> H
n-1	Ser. Leu
n-2	Val. Glu
n-3	Ileu. Val
n-4	Uncertain



## 要 約

1. 新たに抹香鯨インシュリンのアミノ酸分析, イワシ鯨インシュリンに就ては A・B 両 fraction に分別してアミノ酸の再分析を行い, 両者のアミノ酸含量が Ileu と Ala で相異なる事を確認した。
2. 次に両鯨インシュリンのアミノ酸結合順序を比較し, その種属差は A8-10 の位置に在り, 抹香鯨インシュリンでは Thr. Ser. Ileu であるに対し, イワシ鯨インシュリンでは Ala. Ser. Thr である事を認めた。

## 謝 辞

本実験遂行に当り斎藤恒行教授・石原助教授の御指導に対して深く感謝する。又試料の一部は大洋漁業横須賀工場製インシュリンを使用した。恵与された柴田哲夫博士に厚く謝意を表す。

## 文 献

- 1) 斎藤・石原・伊藤・藤野 (1957). 北大水産彙報 8, 54.
- 2) Sanger, F. (1949). *Nature* 164, 529.
- 3) Brown, H., Sanger, F. & Kitai, R. (1955). *Biochem. J.* 60, 556.
- 4) Harris, J. I., Sanger, F. & Naughton, M. A. (1956). *Arch. Biochem. Biophys.* 65, 427.
- 5) 斎藤・石原・伊藤・藤野 (1956). 北大水産彙報 7, 159.
- 6) 斎藤・石原 (1956). 日農化 30, 426.
- 7) Moore, S. & Stein, W. H. (1951). *J. Biol. Chem.* 192, 663.
- 8) Schram, E., Moore, S. & Bigwood, E. J. (1954). *Biochem. J.* 57, 33.
- 9) Goodwin, T. W. & Morton, R. A. (1946). *Ibid.* 40, 628.
- 10) Sanger, F. (1949). *Ibid.* 44, 126.
- 11) 斎藤・石原・藤野 (1957). 日本水産学会秋季大会講演発表 (於函館 昭和32年10月9日)
- 12) Thompson, E. O. P. (1954). *J. Biol. Chem.* 208, 565.
- 13) Tuppy, H. & Paléus, S. (1955). *Acta Chem. Scand.* 9, 353.
- 14) Skeggs, L. T., Marsh, W. H., Kahn, J. R. & Shumway, N. P. (1954). *J. Exp. Med.* 100, 363.  
 \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ & \_\_\_\_\_ (1955). *Ibid.* 102, 435.
- 15) Geshwind, I. I., Li, C. H. & Barnafi, L. (1957). *J. Am. Chem. Soc.* 79, 1003.
- 16) Li, C. H. & Geschwind, I. I. (1955). *Nature* 176, 687.
- 17) du Vigneaud, V. (1953). *J. Biol. Chem.* 205, 249.