



Title	加温による家兔血清蛋白の変化：濾紙電気泳動的研究
Author(s)	萩原, 昭男; HAGIWARA, A.; 小林, 豊司 他
Description	
Citation	結核の研究, 8, 139-142
Issue Date	1958-03
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/26649">https://hdl.handle.net/2115/26649</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	8_P139-142.pdf



# 加温による家兎血清蛋白の変化

## 濾紙電気泳動的研究

萩原 昭 男

小林 豊 司

小杉 秀之進

(北海道大学結核研究所病理部)

(森川 和 雄 助 教授)

(昭和 33 年 1 月 16 日 受付)

### 緒 言

血清補体は 4 つの成分からなっており、そしてこの成分は分画した血清蛋白の中に分散して存在することは衆知の事実である。又われわれの研究室の奥山<sup>1)</sup>らは、蛋白感作動物に同一抗原の再注射が著明な血清補体価の低下を来たさしめると共に、血清蛋白分層の各々の量的関係に於いても著しい変動—主として減少—を来たす事実を報告している。元来補体は 4 つの成分が完全にそろうた場合に始めてその本来の役割を演ずることが出来るものであり、補体価の低下は専らその最も少い成分の低下に深く関係していることも云われている。それでは蛋白分層の変動が補体価の低下と関係を有しはしないかと云う疑問が生ずる。このような問題に近づく一助としては先づ、血清の非働化による蛋白分層の変動を調べる必要があると考えられる。

一方血清の電気泳動を行う場合、少くも蛋白分層については正確な量的測定には新鮮な血清が材料として必要なものであり、非働化した場合には一般に各分層の分離が悪く、又易動度にも若干の変化があるように思われた。そこで、普通行われている血清非働化の条件、即ち 56°C、30 分に至る種々の時間の血清について、濾紙電気泳動によつて各分層の量と易動度を測定したわけである。

### 実験材料及び実験方法

正常健康な家兎を用い、心採血により血清を分離した。この血清を 5 本の試験管に分注し、1 本を対照とし他の 4 本を 56°C の温湯で 5 分、10 分、20 分、30 分、加温した。夫々の血清は加温後直ちに冷却して保存した。

之ら血清について、濾紙電気泳動法により、各蛋白

分層の変動、易動度を追求した。

濾紙電気泳動法は、小林式濾紙電気泳動装置を利用した。東洋濾紙 No. 50 で pH 8.5 の Veronal Na-醋酸ソーダ緩衝液を用い、濾紙幅 1 cm 当り 1 mA、泳動時間 4 時間半、1 枚の濾紙で 5 つの試料を同時に泳動した。泳動後濾紙上の蛋白質を B.P.B. で染色し、染色後 1% 醋酸溶液に浸して濾紙を洗滌した。かくして得られた 5 本の試料の電気泳動像から、光度計により定量曲線を得た。これから planimeter を用いて各分層の面積を測定し、各蛋白分層の含有%を求め、日立製蛋白計で測定した総蛋白量にかけて各分層絶対量を計算した。次に易動度は泳動図の各分層の頂点又は基線に対する重心から垂線を下し、基線の交点と、スタートラインとの距離を測定し、albumin との距離の比を算定した。

### 実験成績

血清蛋白分層の絶対量の変動は第 1 表に示した。又第 1 図は非加温対照血清の各分層の絶対量を 100 として夫々の加温時間における変動を%として表わしたものである。

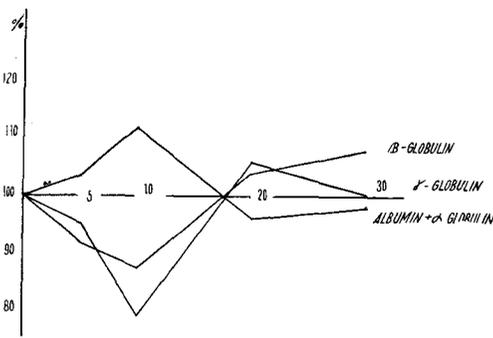
先づ総蛋白量においては 30 分加温に至る迄全く変動を示さなかつた。次に 56°C、5 分間加温すると、albumin に 0.186 g/dl の増加が認められ、その分だけ globulin が減少しているが、易動度の遅い方の減少が強い。次に 10 分間加温した場合も同様に albumin のみ増加が見られるが、この増加は著明なもので 0.579 g/dl にも及ぶ。

従つて globulin の減少は 5 分より更に強くなつていくが、5 分同様  $\gamma$ -globulin の減少が最も著明で 0.344 g/dl の減少を示している。所が 20 分以降になると、この関係は逆となり、albumin に強い減少が起り、globulin

第1表 加温による血清蛋白分層絶対量の変動

g/dl serum	Albumin	$\alpha$ -Globulin	$\beta$ -Globulin	$\gamma$ -Globulin
正常血清	2.94	0.648	0.732	1.68
加温血清 56°C 5'	3.126	0.606	0.672	1.596
加温血清 56°C 10'	3.519	0.502	0.643	1.336
加温血清 56°C 20'	2.682	0.765	0.764	1.789
加温血清 56°C 30'	2.649	0.868	0.793	1.69

第1図 加温による血清蛋白分層絶対量の変動  
(各実験前値を100として)



には増加が起つている。

即ち albumin には 0.358 g/dl の減少があり、globulin では  $\alpha$  と  $\gamma$  の増加が特に著明である。但し第2図に見る如く定量曲線は一般に平坦になつている。最後に 30 分加温すると、定量曲線は 20 分より更に平坦となつているが、量的には 20 分同様 albumin の強い減少が認められ、従つて globulin に著明の増加が起つている。そして globulin の中では易動度の早いものの方に増加は著明である。

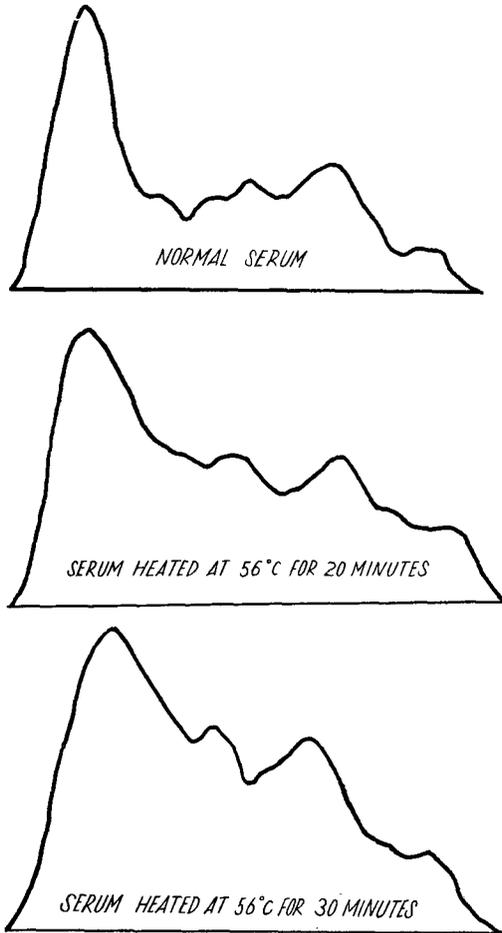
第2表 56°C 加温による易動度の相対的変動

	Kontrol	加温 5分後	加温 10分後	加温 20分後	加温 30分後
Albumin	100	94.5	98.0	95.5	85.6
$\alpha$ -Globulin	100	97.0	96.5	95.4	89.2
$\beta$ -Globulin	100	100.0	98.0	95.0	89.0
$\gamma$ -Globulin	100	90.3	90.5	88.9	90.3

次に易動度を見ると、第2表は非加温血清蛋白各分層の易動度を100とし各加温時間における夫々の易動度を%で表わしたものである。

之を見ると全て加温によつて易動度が減少している

第2図 正常血清、56°C 20分及び30分加温血清の泳動図



ことがわかる。しかもわずか5分の加温で  $\gamma$ -globulin には約 10% の遅延が見られ、albumin にも約 5% の減少が見られる。 $\gamma$ -globulin には5分以降では時間による影響が余り見られないが、加温時間を長びかせることによつて易動度の早いもの程著明に減少が起つて来る。

つまり各分層の峰は次第に集合して来ることになる。30分の albumin には 15% にも及ぶ減少が見られた。

### 総括及び考按

血清の非働化による血清蛋白量の変動を調べるために、通常の方法である 56°C 30分に至る各時間毎の動きを追求したわけである。

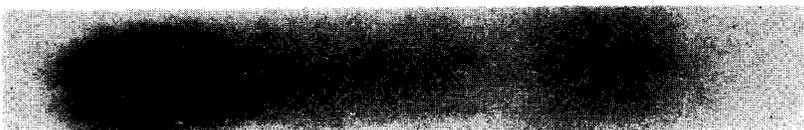
先ず定量値を見ると 10分と 20分の間が境界となつて、10分迄では albumin の増量が起り、globulin

## 第3図 第2図の泳動濾紙

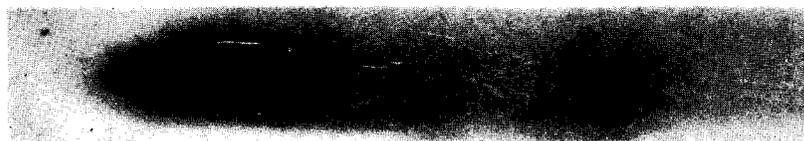
正 常 血 清



20分加温後血清



30分加温後血清



原点

の減少が見られる。次に20分以降ではこの関係は全く逆となり、albuminの減少とglobulinの増量が起こる。しかし第1図を見てもわかる通り、10分の $\alpha$ -globulinの減量(加温前量の約20%、総蛋白量に対する比では5%)が見られる他は大体夫々の加温前量の10%以内の変動となり、著明な差とは考え難い。尚20分になると定量曲線では各分層の峰が接近し、且谷が浅くなり、各分層の区別がつけ難くなつた。殊にalbuminと $\alpha$ -globulinとの区別は殆んど困難になり、更に30分になるとより難しくなり、 $\alpha$ -globulinと $\beta$ -globulinとの区別さえ困難になつて来る。30分例でalbuminに0.291g/dlの減少があるに対し、 $\alpha$ -globulinには実に0.220g/dlの増加として表現されているのもこの為で、第1図はこの点を考えてalbuminと $\alpha$ -globulinを合併して記載したわけである。

次に易動度を見ると、全てに減少が認められる。加温による易動度の変化は著明なもので、加温時間の長さによつてこの減少傾向は益々増強せられる。しかも易動速度の高いもの程作用を受け易い。之には蛋白質分子量の大きさの問題も関係しているのである。

著者の実験に類似した報告は余り多くは見られないが、Van der Scheer<sup>3)</sup>らは馬血清を50°Cから70°C迄15分乃至30分加熱した場合の蛋白量及び易動度の変動を測定している。この報告では65~70°C加熱によつて、新しいCと呼ぶ峰が $\alpha$ -及び $\beta$ -globulinの位置に表われて来ることを述べている。勿論蛋白質の変性によるものであるが、興味ある事はC峰の出現があると

albuminにも又 $\gamma$ -globulinにも減少が見られることで、C峰には之ら兩分層の変性蛋白が入つて来ると報告している。著者の20分以降のalbuminの強い減少と $\alpha$ -及び $\beta$ -globulinの強い増加は、或いはこの様なC峰形成への移行過程であるかも知れない。尚彼らは56°C15分60°C30分の泳動を行つた成績を記載しているが、やはり全分層の易動度の低下を認めているし、又albuminの著明な減量及び $\alpha$ - $\beta$ -globulinの増量を見ている。只著者と若干異なる成績はalbumin易動度の減少が余り著明でない点で、著者ののは濾紙による泳動であると云う因子が関係していると思われる。

さて緒言に述べた如く補体との関係を見ると、先づ補体成分の内易熱性成分はC'1とC'2であつてC'1はeuglobulin、電気泳動的には $\beta$ -globulinに相当した易動度の分画に含まれ、C'2はmucoeuglobulin、電気泳動的には $\alpha$ -globulinに相当した易動度の分画に含まれている<sup>3)</sup>。又Hegedüs & greiner<sup>4)</sup>によれば、兎の補体ではC'2が一番少く、original serumの補体価を支配している。

著者の成績で20分以降albumin+ $\alpha$ -globulin分画に減少が見られ、又之らの易動度も時間と共に変化して行つた事実を考える時、非働化と云うことが補体成分の活性化を阻止するだけの現象には違いないが、蛋白成分の変性、即ち易動度の変化として表われても良いように思われるのである。勿論之だけの実験では想像するのみである。とにかく血清の加温が著明な蛋白質の変動を来すことは確実であり、電気泳動には必ず新鮮血清を

使用する必要があることを知つた。

### 結 論

正常家兎血清を 56°C に加温し、30 分に至る迄各種の段階の標本について濾紙電気泳動的研究を行い次の事実を知つた。

1. 30 分を通じて総蛋白量には変化を認めなかつた。
2. 加温後 10 分までは、albumin の増量, globulin の減少を認めるが、20 分以降はこの関係が逆になつた。
3. 易動度の減少が加温した全標本に認められた。尚加温時間の延長により、albumin には著しい易動度の

減少が認められた。

### 引 用 文 献

- 1) 奥山春枝, 森川和雄: 結核の研究, (北大結核研究所 第 3 集, 99, 1955.
- 2) Van Scheer, Ralph W. G. Wyckoff, & F. L. Clarke.: J. Immunol., **40**, 39 (1941)
- 3) Pillemer, L., Echer, E.E., Oncley, J.L. Cohn, E.J.: J. Exper. Med., **74**, 297 (1941)
- 4) Hegedüs, A. & Greiner, H.: Zschr. Immunforsch. **92**, 1 (1938)