

長谷川嘉成： α -ヨードカゼインについて（予報）Yoshinari Hasegawa : Studies on α -Iodocasein.

Concerning iodinated casein, Ishikawa had suggested that the protein should be partially iodinated from paper electrophoretical data. On this paper, the author separated α -iodocasein from iodinated caseins, and iodinated α -casein with Hipp's method using urea. Then the two substances were compared by electrophoresis.

前報において石川¹⁾は滄紙電気泳動法によるヨードカゼインの研究を行なった。その際に、ヨード化蛋白を分画するためには、部分ヨード化にとどめたものを試料としなければならないことを報告している。著者は、 α -ヨードカゼインを単離する目的でカゼイン蛋白を部分ヨード化し、これより α -ヨードカゼインの分画を行なった。一方カゼインのヨード化も実施し、両者の電気泳動図を比較検討したのでここに報告する。

カゼインの分画については多くの方法が報告されているが、²⁾⁻⁶⁾ 著者は Warner 法、³⁾ Hipp 等の50% alcohol 法³⁾ および尿素法⁴⁾ を用いて行なった。その結果 Warner 法は Hipp 等も論じているように、大量蛋白を処理するには不便であることを知った。また50% alcohol 法による分画も良好でなかった。したがって本報では、Hipp 等による尿素法を参考にして分画を行なった。

A) ヨードカゼインより α 体の分画結果

Casein (Hammarsten) をヨード化して得た各種ヨードカゼインを実験の部記載のように探索して α -および β -ヨードカゼインを得た (Table I)。この表に見られるようにヨード化は α 体が β 体に優先して行なわれることが分る。取得量も α 体が良好である。

Table I. Yield of Iodocasein

Sample No.	Casein (g)	Iodine added (g)	α -Iodo casein		β -Iodo casein	
			Yield (g)	Iodine (mg/g)	Yield	Iodine
No. 1	20	0.2	8	3.64	—	—
No. 2	20	0.3	6.5	5.513	—	—
No. 3	30	0.3	15	2.97	2	2.24

B) α -カゼインのヨード化

α -カゼイン^{*})の0.5gに各種量のヨードを添加する。得られた α -ヨードカゼインのヨード含量と添加ヨードとの関係は Table II に示される。この表に見られるようにヨード添加量20%において α 体のヨード化はピークであることが分る。

- 1) 石川：薬誌 78 (10). 1150 (1958).
- 2) R. C. Warner, E. Pulis: J. Am. Chem. Soc., 67 528 (1945).
- 3) N. J. Hipp, M. L. Groves, H. Custer and T. Z. McMeekin: J. Am. Chem. Soc., 72. 4928 (1950).
- 4) N. J. Hipp: J. Dairy Science, 35. 272 (1952).
- 5) K. Linderstrøm-Lang: Compt. rend, trav. lab. Carlsberg, Sér. chim., 16. No. 1 (1925), 17. No. 9 (1929).
- 6) Robert C. Warner: J. Am. Chem. Soc., 66. 1725 (1944).

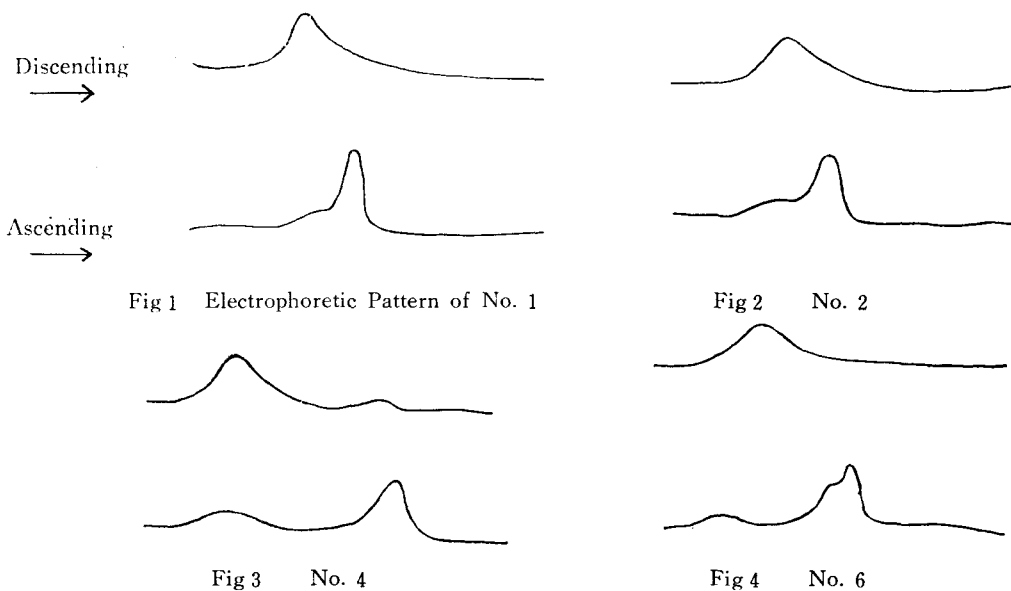
* 前報参照 1)

Table II. Iodination of α -casein

Sample No.	α -Casein (g)	I ₂ added (g)	I ₂ added (%)	I ₂ (g) in the α -Iodocasein (mg/g)
No. 4	0.5	0.025	5	25.42
No. 5	0.5	0.05	10	45.33
No. 6	0.5	0.075	15	61.09
No. 7	0.5	0.10	20	68.11
No. 8	0.5	0.15	30	67.84

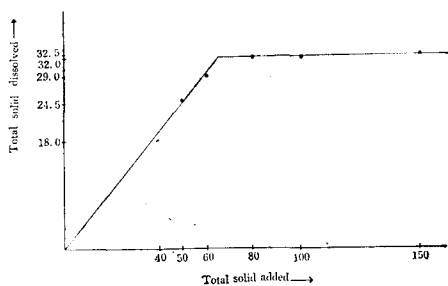
C) α -ヨードカゼインの電気泳動像

前記 A) および B) にて得た α -ヨードカゼインをチゼリウス電気泳動装置 (日立製) にてペロナール緩衝液 pH8.6. $\mu=0.1$, 4mA, 107Volt. にて50分泳動させた. このパターン (Fig. 1~4) より見るとNo. 1 および No. 4 がもっとも純化された製品であることがわかる.

D) α -ヨードカゼインの溶解度曲線

No. 4 の製品を用いて溶解度曲線を作成した. すなわち Serum protein refractometer を使用して溶存蛋白量を測定し, 溶媒は変性を起さないようにリン酸緩衝液 pH8.1を選んだ.

Fig 5 のように, No. 4 の製品は比較的純化されたものであることを示す.

Fig 5 Solubility Curve of α -Iodocasein No. 4

実 験 の 部

I] α -ヨードカゼインの分画

Casein (Hammersten) 30g を115g の尿素および水270ml に溶かす(尿素濃度6.6M). 一方水1.2ml にKI 1.2g を溶かした液に I_2 0.3g を溶かし, 10ml の水を加えて希釈する. 尿素カゼイン溶液を攪拌しながらこれにヨードヨードカリ溶液を添加する. そうして約5時間室温に放置する.

ヨード化した溶液は室温にて 122.3ml の水を徐々に攪拌しながら加える(尿素濃度 4.63M) と, α -ヨードカゼインの沈澱ができる. これを遠心沈澱または傾斜法にて採取する. この粗 α -ヨードカゼインはさらに 1.2g の NaCl を含む水115ml 中に尿素46g を溶かした6.6M 尿素溶液に溶解して精製する. つぎに水 115ml を加えて沈澱させる, さらに不純物は4.7M 尿素溶液で洗い除去する. これをアセトンにて 数回洗滌乾燥し白色の粉末を得る. 収得量15g.

II] β -ヨードカゼインの分画

尿素濃度4.6Mとなす, ここで得られるごく少量の沈澱析出物は α -および β -ヨードカゼインの混合物である. 傾斜法にて上澄液を得る. 3.3M 尿素溶液は1.7M 尿素溶液に希釈し, 希塩酸を 1 滴加えて pH4.7 となす. 粗 β -ヨードカゼインは水154ml 中に尿素43g を溶かした4.6M 尿素溶液に溶解し, 水を用いて分割して精製する. さらに3.3M 尿素溶液には溶解するが, 1.7M 尿素溶液には溶解しない. β -ヨードカゼインの純品を得る. α -ヨードカゼインと同様の方法でアセトンにて洗滌乾燥する. 収得量2.5g.

III] α -カゼインのヨード化

Casein (Hammersten) 30g を使用して前記実験 I] の α -ヨードカゼインの分画と同様の方法により α -カゼインを分離する. 収得量15.5g.

つぎに α -ヨードカゼインのヨード化を行なう. ヨード化の方法は前記実験 I] の Casein のヨード化と同様ヨードヨードカリ溶液を用いて行なった.

IV] 溶解度曲線作成法

pH8.1 の磷酸緩衝液を各 10ml ずつとり, α -ヨードカゼイン 200mg, 300mg, 400mg, 500mg, 600mg, 800mg, 1,000mg, 1,500mg を精秤し, それぞれ各試験管に入れる. 変性を防止するため 10°C 前後に冷却し泡立たぬよう約5時間攪拌し一夜冷蔵し平衡に到達させる. 上澄液を静かに3滴とり Serum protein refractometer にて定量する.

終りにのぞみ, 本研究の御指導を賜った本学教授石川信雄博士に厚く感謝申し上げます.

正 誤 表

紀要11集

頁	行	誤	正
5	8↓	……を溶かした 6.6M 1 尿素	……を溶かした 6.6M 尿素
5	13↓	3.3 M 尿素溶液は 1.7 尿素溶液	3.3 M 尿素溶液は 1.7M 尿素溶液
5	7↑	ドヨードカリ	ードヨードカリ