泌乳増進因子の生物化学的研究

第11報 (1) Lactoprolactin の分子量について (2) 総括

岩 村 岳

(宮崎大学農学部畜産学科)

Studies on the biological chemistry of lactation stimulating factors

XI. (1) Molecular weight of lactoprolactin (2) Summary and conclusions

IWAO IWAMURA

(The Department of Zootechnical Science, College of Agriculture, Miyazaki University)

結 言

LI, LYONS 及び EVANS⁽¹⁾ は下垂体泌乳 hormone の分子量を化学的に測定したが、この物質に含まれる基準となるべき特定の元素及び amino 酸としては tryptophane, tyrosine, arginine, cystine, 及び硫黄を選び最小分子量を求め夫々が含まれる moles 数或は原子数を乗じてその分子量を求めている。

著者は異つた再沈澱法によつて得た lactoprolactin の精製品⁽²⁾について上記の元素又は原子団の測定を行い、且つその実験に際しては BERNHART⁽³⁾ が卵 albumin について化学的に分子量を決定した方法と比較吟味して本製品の分子量を測定することが出来たのでこの結果を報告する。

I Lactoprolactin の分子量

(1) 分子量測定の方法 下垂体 prolactin の分子量は以前から余り高くないことが予測されていたがこのことは既に一部立証された⁽¹⁾。Lactoprolactin の化学的純度については各個改変された精製法によつて得られた製品が灰分0.012%, 105°に於ける重量の減少0.8%を示して

一致し、硫黄及び amino 酸の測定に於て極めてよく一致した結果を与えていることからこの分子が同一組成と均一なる分子量を有することの証であることが認められる。尙純度については物理化学的検定を要し又結晶化についても今後研究を必要とする。LI 他⁽¹⁾は化学的方法による分子量測定に関する COHN⁽⁴⁾の証明に対する支持を基礎として下垂体 prolactin の分子量測定を行つているが本研究に於てもこの研究に準拠して lactoprolactin 分子中の tyrosine, tryptophane, arginine⁽⁵⁾, cystine 及び硫黄の定量を行い分子量を次のように算出した。即ち本製品が特定の amino 酸分子又は硫黄原子を X% 含有し夫々 m の分子量又は原子量をもち、n の分子数又は原子数を有するとすれば、最小分子量は $1.8m/X$ となり、真の分子量は $100nm/X$ となるのである。

(2) Lactoprolactin の分子量の算出 上式から lactoprolactin の数個の amino 酸及び硫黄含量を基礎として次表のように minimum 及び minimal の分子量を求めた。即ち tyrosine は FOLIN-MARENZI 氏法により分解試料 6 個について定量し平均値 3.08% を得たから上記公式により tyrosine 1 mole について 5.90 の最

Minimal Molecular Weight of Lactoprolactin from Chemical Analysis

Constituent	Method	No. of analyses	Average of determinations	Weight containing 1 molecule or 1 atom	No. of molecules or atoms assumed	Estimated molecular weight
			per cent			
Tyrosine	FOLIN-MARENZI	6	3.08	5,900	4	23,600
Tryptophane	SHAW et al.	6	2.56	7,900	3	23,700
Arginine	WEBER-THOMAS	9	3.02	5,800	4	23,200
Cystine	FOLIN-MARENZI	6	2.91	8,300	3	24,900
Sulfur	FISKE	3	1.94	1,700	14	23,800
Mean						23,800
Pituitary Hormone ⁽¹⁾						24,900

小分子量を有し他因子と共通の分子量を有するためには 23,600 の分子量を有することになる。同様にして他の amino 酸及び硫黄についても夫々の値が決定され、結局 4 個の amino 酸と 1 個の硫黄原子についての平均の 23,800 の分子量を有することが判明した。この値は下垂体 hormone の値 24,900 に略々一致し

たものとみることができる。

考 察

下垂体泌乳 hormone⁽¹⁾ の tryptophane, tyrosine, arginine, cystine 及び硫黄含量については既に前の数報告で考察したように夫々4.5, 8.31, 3.0 及び 1.79% でそれ等の1分子或は1原子を含む重さは夫々 8,200, 4,000, 2,100, 8,200 及び 1,800 (minimum m. w.) である。これ等の値から共通の分子量(minimal m. w.) を有する moles 又は原子数は夫々3, 6, 3, 及び14 で結局24,900の分子量が与えられた。以上の値を本研究の結果に比較すると tyrosine 及び arginine の値に差異がみられ tryptophane, cystine 及び硫黄の値はよく一致した。

本研究を総合考察するに鳩の腺垂体並に泌乳期山羊に lactoprolactin は感応するが非泌乳期並に処女動物に対しては泌乳開始の効果があるか否かは未確認で第6報⁽⁶⁾の実験から尙検討を要する問題である。但し下垂体 prolactin は泌乳開始の主管能基をもたないといわれるが前に考察した tyrosine 及び含硫化合物の追究は今後興味ある課題となる可能性がある。特に遊離 cystine⁽⁷⁾ methionine⁽⁸⁾ の泌乳性及び飼料の methionine の一部を cystine で置き換えることができるという ROSE⁽⁹⁾ の実験から泌乳生理はこの方面から展開するかも知れない。従つて延いては蛋白質及び amino 酸の乳汁分泌に及ぼす特異作用についての生化学的知見が将来更に拡大すれば本領域に於ける prolactin を hormone と称し得るか否かの問題は自ら解決される時期があると思うし、又これ等生理的活性体が血清蛋白質、乳腺組織蛋白質及び乳汁蛋白質の間にあつて如何なる役割を果たすか、泌乳 hormone は casein, 乳糖及び乳脂等の合成では多能的ではないか、更に相互関連が予想される vitamins 及び酵素の反応系に於てどのような複雑な multi-reaction system が存在するかが判明して来るものと思う。

II 総 括

乳牛の初乳及び豚の肝臓より下垂体前葉 prolactin 様物質を単離しその生物学的並に化学的性質について研究を行つた (1938~51) 初乳からこの物質を純粋に得るには変性しないように低温で処理し且つ再沈澱をくりかえすことが必要である。本研究では乳-及び肝-prolactin の単離、鳩の腺垂体による新生物学的検定法、泌乳期山羊による検定方法及び分子量の測定を行つた。

蛋白質の正確な分子量測定方法としてはその化学的成分を測定して算出することであるが、これに関して lactoprolactin の tyrosine, tryptophane, arginine, cystine 及び硫黄の定量を行つた。その結果上記物質の含量

は夫々3.0, 2.56, 3.02, 2.91 及び1.84%で水分を含まない lactoprolactin の分子量は 23,800 となつた。

本研究に御懇切な御教示並に奨励を与えられた東大教授佐橋佳一博士、同佐々木林治郎博士、同佐々木清綱博士、及び新潟大学教授齋藤道雄博士に深謝する。又本研究実施に際して夫々の個所で実験に協力せられた石崎勝実、中広義雄、森本博之及び村井典男の諸氏に感謝する。尙本研究の経費は文部省科学研究費によつた。

(この研究成績は昭和26年5月6日京大農学部で開かれた日本畜産学会大会で報告した) (昭26.5.14.受付)

文 献

1. LI, C. H., LYONS, W. R., and EVANS, H. M. (1941): J. Biol. Chem., 140, 43.
2. 岩村 (1941): 日畜会報, 14, 60; (1948): 18, 34.
3. BERNHART, E. W. (1920): J. Biol. Chem., 132, 189.
4. COHN, E. J. (1940): Physiol. Rev., 5, 349. J. Gen. Physiol., 8, 619; (1939); Chem. Rev., 24, 203.
5. 岩村 (1950): 日畜会報, 21, 11; 15, 59.
6. 岩村 (1949): 日畜会報, 20, 58.
7. 岩村, 黒木, 小島, 米良 (1951): 日農化, 25, 215
8. HAAG, J. R., and WRIGHT, L. D. (1939): Science, 90, 158.
9. ROSE, W. C. et al. (1941): J. Biol. Chem., 141, 375; 141, 381.

Summary and Conclusions

The preparation and some biological and chemical properties of the prolactin-like substances from cow's colostrum, and hog's liver have been described in previous publications from this laboratory (1938-51). The isolation of this substance from colostrum has been found to yield pure products at a cold condition, and by repeated reprecipitations, though the difficulty of obtaining a precipitate of the substance in an undenatured state generally retarded the study of purity of this substance. The results of the liberation of lacto- and hepato-prolactins, of a new bio-assay with pigeon crop milk or of a lactating-goat assay following the administration of the materials, and of the minimal molecular weight of the substance have been presented.

As an accurate determination of a constituent of a protein is often proved to very useful in calculating the true molecular weight, so in this paper in the calculation of molecular weight from a chemical composition the assumption of an average amino acid residue weight is avoided, and analyses were made only of tyrosine, tryptophane, arginine, cystine, and sulfur. As a result of these analyses, it has been shown that the contents of the above components are ascertained in lactoprolactin as 3.08, 2.56, 3.02, 2.91, and 1.84 per cent, respectively. Analyses of the amino acids content indicate a minimal molecular weight of 23,800 for moisture free lactoprolactin.