いては Blaser によって研究され¹⁶⁾、組成は $(P_2O_3)_x$ であるが溶媒に不溶、三酸化二リンの融点 $23.8^\circ C$ でも融けず、その変態の一種ではないかと考えられているが、明らかでない。 P_2O_3 組成の高重合物とも考えられている。 $2 \cdot 3 \cdot 1$ で得られた生成物は酸化数 5 のリン化合物を含むが、 $2 \cdot 3 \cdot 2$ の加水分解物の滴定曲線で A_1 と A_2 の比は $57.2 : 42.8$ で、 A_2 は A_1 に対し 25.2% 少ないことを示している。これは亜リン酸あるいはリン酸などの最高約 25% が二量体、三量体などになっていることを示す。このように加水分解反応においても、そのような縮合体が生成していることから、加アルコール分解にもその存在を推定することができる。加アルコール分解において高エステル化縮合体がそれ以上分解されずに系に残るとするならば、その影響を最も大きく受けて、減少するのはジエステル($=P(O)H$)の量であると考えられる。四塩化炭素中で得られた生成物は酸化数 5 のリン化合物が多く、三酸化二リンの加アルコール分解や、黄リンのエタノール中の酸化反応の場合と同じに比較することはむずかしいが、滴定曲線による組成の分析では、酸化数 5 のリン化合物は $-P(O)(OH)_2$ および $=P(O)(OH)$ の量に加算されて現われるが $=P(O)H$ の量には影響を与えない。したがって $2 \cdot 3 \cdot 2$ の結果より酸化数 3 のリン化合物の mol% は 73 であったので、それに対する $=P(O)H$ の量は $23/73=31$ となる。

それぞれの反応に本質的な差異がないとするならば亜リン酸ジエステルの量から考えて、縮合物の生成量はつぎの順で減少しているものと考えられる。四塩化炭素中の酸化生成物の加エタノール分解生成物>エタノール中での黄リンの酸化生成物>三酸化二リンの加エタノール分解生成物。

また $2 \cdot 1 \cdot 1$ では蒸留により 43.3% の亜リン酸ジエチルを得たが、これは $2 \cdot 1 \cdot 2$ の反応生成物を滴定曲線により分析して得た $=P(O)H$ の量 36.4% よりも多かったが、この原因は縮合体の熱分解 (9) によって生成するためであると考えられる。

文 献

- 1) 小田, 化学, **23**, 349 (1968)
- 2) 化学工業時報, 1290 号, p. 4 (1968)
- 3) A.A. Baker, J.H. Brown, *U.S.* **2,670,368** (1950)
- 4) I. Hechenbleikner, H.W. Sloan, *U.S.* **2,853,508** (1957)
- 5) J.E. Malowan, *Inorg. Synth.*, **4**, 61 (1953)
- 6) M.L. Ernsberger, J.W. Hull, *U.S.* **2,661,364** (1953)
- 7) 岡本, 桜井, 工化, **68**, 2084 (1965); **69**, 1557 (1966)
- 8) 大橋編 “無機化学全書” IV-6, p. 140 (1965) 丸善
- 9) 大橋編 “無機化学全書” IV-6, p. 13 (1965) 丸善
- 10) S. Ohashi “Topics in Phosphorus Chemistry” Vol. 1, M. Grayson, E.J. Griffith 編, p. 113 (1964) Interscience Publishers
- 11) 千谷 “新版無機化学” 中巻 p. 704 産業図書株式会社
- 12) 大橋編 “無機化学全書” IV-6, p. 95 (1965) 丸善
- 13) 大橋編 “無機化学全書” IV-6, p. 129 (1965) 丸善
- 14) R.F. Hudson, “Structure and Mechanism in Organophosphorus Chemistry”, p. 84 (1965) Academic Press., London
- 15) G.D. Doak, L.D. Freedman, *Chem. Revs.*, **61**, 31 (1961)
- 16) B. Blaser, *Chem. Ber.*, **64 B**, 614 (1931)

ヒト血清およびニワトリ卵白に対する 界面活性剤の影響

青 木 幸 一 郎*・金 品 昌 志**

* 岐阜大学工学部 (各務原市那加門前町)

** 徳島大学工学部 (徳島市南常三島町)

Effect of Detergents on Human Serum and on Hen's Egg White

Kōichirō AOKI* and Shōji KANESHINA**

* School of Engineering, Gifu University (Naka, Gifu Pref., 504)

** School of Engineering, Tokushima University (Tokushima, 770)

Ionic detergents were added to the human serum and to the egg white, and these protein systems were analyzed by the acrylamide gel electrophoresis. Detergents used were sodium dodecyl sulfate

(SDS) and dodecyl trimethylammoniumbromide (DTAB). The zone of the complex $AD_{2n}(n=38)$, which is formed between the serum albumin and SDS, did not exist in the pattern of gel electrophoresis at pH 9.2. This is probably because of loosely bound SDS anions freed from AD_{2n} during the gel electrophoresis to give $AD_m(m=11)$. The pre-albumin reacted with SDS and with DTAB to give several zones. In contrast to the serum albumin, the ovalbumin gave the zone of the complex $AD_n(n \geq 40)$, which is formed between ovalbumin and SDS. The effect of DTAB on ovalbumin is simply to precipitate it. The mobility of pre-albumin in egg white was not affected by either SDS or DTAB even at concentration as high as 150~200 mM. Reactions occurred quantitatively between some minor components and ionic detergents. Only lipoproteins in human serum were affected by nonionic detergent.

1 緒 言

今まで血清アルブミンとイオン性界面活性剤との相互作用は、主として界面電気泳動法と透析平衡法によって研究されてきた^{1)~5)}。血清中のアルブミン以外の他のタンパク質とイオン性界面活性剤との相互作用については、ごくわずかの研究がされたにすぎないが、血清中のこれら以外のタンパク質もイオン性界面活性剤と反応する可能性はあると思われる。それでわれわれは界面活性剤をヒト血清および卵白に直接加え、それらの中の個々のタンパク質成分に対する界面活性剤の効果を調べようとした。反応したかどうかの解析はアクリルアミドゲル電気泳動法によった。

著者の一人は以前、ヒト血清に対するいろいろの金属イオンの効果をデンブングル電気泳動法によって検討し、個々の金属イオンの特異性を見いだした^{6), 7)}。今回は、タンパク質に対して金属イオンよりも親和性の大きい界面活性剤とタンパク質成分との間の相互作用の検出に同様な方法を適用した。陰イオン界面活性剤としてはドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、陽イオン界面活性剤としては、ドデシルトリメチルアンモニウム ブロミド (DTAB) を用いた。なおヒト血清に対する非イオン性界面活性剤の影響も調べた。

2 実験方法

アクリルアミドゲル電気泳動法は水平法で行なった。ゲル片の大きさは $26 \times 14 \times 0.3$ cm で、ゲル濃度は 5% であった。電流密度は 5 mA cm^{-2} で、泳動は室温においてヒト血清の系に対しては 14 hr、卵白の系に対しては 6~8 hr 行なった。スロットに入れた試料の量は 0.03 ml であった。泳動後ゲル片はアミドブラック 10B で染色した。

ヒト血清の系は Raymond の連続緩衝液系⁸⁾、すなわち 0.083 M トリス- 0.0035 M EDTA- 0.0127 M ホウ酸緩衝液 (pH 9.2) によって解析した。卵白の系の解析は Poulik の不連続緩衝液系⁹⁾をいくらか変形して行なった。すなわちアクリルアミドゲルの調製には 0.038

M トリス- 0.003 M クエン酸緩衝液 (pH 8.82) を、電極ソウの充てんには 0.3 M ホウ酸- 0.1 M NaOH 緩衝液 (pH 8.78) を用いた。

ヒト血清は健康人血液より得た。この血液には 200 ml につき $30 \sim 50 \text{ ml}$ の抗凝固剤が加えてあった。卵白は市販のニワトリの卵から分離した。SDS と DTAB はわれわれの研究室で合成されたものである。 0.1 M SDS, 0.4 M SDS, 0.04 M DTAB, 0.4 M DTAB の界面活性剤溶液を蒸留水を用いて調製した。

タンパク質系と界面活性剤溶液を混合するにはつぎの方法によった。 1.00 ml の血清または卵白に $x \text{ ml}$ の界面活性剤溶液を加え、ついで $(1.00-x) \text{ ml}$ の蒸留水を加え全体積を 2.00 ml とした。 x の値を 0 から 1.00 まで変えることによって、種々の界面活性剤濃度の試料溶液を調製した。すなわちタンパク質濃度は一列の実験においては一定に保たれた。タンパク質系に界面活性剤を加えてから試料は $2 \sim 5^\circ\text{C}$ の冷蔵庫内に少なくとも 10 hr 放置し、その後ゲル泳動を行なった。

非イオン界面活性剤としては、ポリオキシエチレングリコール-ノニルフェニルエーテル型のもの、すなわち Nikkol NP-7.5 および Pionin D-410、を用いた^{注 1)}。これらの界面活性剤は直接ヒト血清に加え、界面活性剤の最終濃度を 0.25, 0.5 および 1.0% とした¹⁰⁾。試料溶液は冷蔵庫内に 9 hr 放置してから、pH 8.8 のデンブングル泳動⁹⁾にかけた。

補足的な実験に用いられた結晶ウシ血清アルブミンは Armour 社製 Lot No. A 21505 のもの、結晶卵白アルブミンは Sigma 社製 Lot No. 87 B-8080、結晶コンアルブミンは Sigma 社製 Lot No. 47 B-8590 のものであった。

3 結果と考察

種々の濃度の SDS あるいは DTAB が存在するときのヒト血清および卵白のゲル泳動図を、Fig.-1 から

注 1) Nikkol NP-7.5 は日光ケミカルズ株式会社より、Pionin D-410 は竹本油脂株式会社よりいただいたものである。ここに両社に対し厚くお礼申し上げます。

Fig.-5 に示す。界面活性剤が存在するときの一つの成分の染色度がもとの血清や卵白中におけるそれと同じであるときには、ゾーンは塗りつぶしてある。染まり方が薄くなったことは、斜線あるいは破線の濃淡で示してある。逆に染まり方が濃くなったことは、ゾーンのところの丸印で示してある。丸印が大きいほど染まり方は大きい。染色度の強弱の比較は肉眼による観察によった。△△△の印はスロットが濃く染まったことを示す。おのおの図の左端にある泳動図Aは2倍に希釈された血清あるいは卵白のパターンである。

実験は各系につき3回繰り返して行なったが、再現性は充分であった。血清中のタンパク質濃度は個人差があり、また特定成分の濃度は病的血清においては異なることがありうるので、本報における mM の値はすべての血清に対する定数であるという意味ではない。同様なことは卵白についてもいえる。以下における議論はすべて定性的なものである。

3.1 ヒト血清

Fig.-1, 2, 3 の図 A の左側の記号は以下の成分から成るゾーンを示す^{11), 12)}。

- b_1 プレアルブミン-1
- b_2 プレアルブミン-2 (酸性 α_1 糖タンパク質)
- a アルブミン
- d α -リボタンパク質
- e }
- f } (同定されていない)
- g }
- h ハプトグロビン
- i セルロプラスミン
- j }
- h }
- l } ハプトグロビン (一連のポリマー)
- m }
- n }
- o マクログロブリン
- p (同定されていない)
- s トランスフェリン
- t β -リボタンパク質
- u γ -グロブリン

上記のもの以外にも数個のゾーンが見られた。 a と d のゾーンの間にえられる 1 個のゾーン、 s と p のゾーンの間にえられる 2 個のゾーン、 p -ゾーンの直後の 1 個のゾーン、 k -ゾーンの直後の 1 個のゾーンなどである。 γ -グロブリンは p -ゾーンからスロットを越えて陰極側まで広範囲にわたって薄く染まった。その存在範囲を点で埋めた。今回の実験では成分 b_2 はアルブミンのゾーンからは充分分離しなかった。

3.2 ヒト血清と SDS の系

試料溶液中の SDS の濃度は 0.5~200 mM の間にあった。SDS 濃度の変化に伴う泳動図の変化を Fig.-1 に示す。生じた沈殿量の変化の有様は Fig.-1 の説明文に示してある。沈殿量はそれ程多くはなかったが、その最

Fig.-1 Diagrammatic patterns of serum after removal of precipitate at various concentrations of SDS. Haptoglobin type 1-1.

大は 8 mM SDS のところであった。充分な量の SDS (28 mM) を加えたとき、生の血清と同じような黄色の透明な溶液となった。これは恐らく、臨界ミセル濃度 (cmc) よりも高濃度の SDS によって沈殿が再溶解したためと思われる。純水中の SDS の cmc は 8 mM¹³⁾ であり、cmc の値が共存する電解質の濃度とともに低下することはよく知られた事実である。事実本実験でも、沈殿量は 8 mM あたりから減少し始めた。

SDS 濃度が増すとプレアルブミンはゾーンの数がふえる。4 mM SDS より濃い濃度のところで b_1 -ゾーンの前方にかなり濃く染まった 1 個のゾーンが現われ、14 mM よりも高濃度でその前方にさらに 1 個のゾーンが現われ、52~80 mM SDS の範囲で b_1 -ゾーンの背後に 1 個のゾーンが生じた。

血清アルブミンは SDS と定量的に反応して pH 4.5~8.5 の間では AD_m , AD_n , AD_{2n} (A: アルブミン, D: 界面活性剤) を生じ、pH 8.5 以上では AD_m と AD_{2n} を生ずること^{4), 5)} はよく知られている。ここに $m=11$, $n=38$ である⁹⁾。これらの複合体は Tiselius の電気泳動においては個々の峯として泳動する。しかし意外なことに、これらの複合体に相当するゾーンは Fig.-1 には存在しない。血清タンパク質濃度が 7%, そのタンパク質のうちの 50% がアルブミンであり、用いられた SDS の 50% がアルブミンと反応すると大ざっぱに仮

定すると、アルブミン/SDS の重量混合比は Fig.-1 の図 P において 70/30 である。この混合比では当然 AD_{2n} に対応するゾーンが見られるべきである。

この複合体が現われないことに対する原因を見いだすために、結晶ウシ血清アルブミン (BSA) と SDS の系をアクリルアミドゲル電気泳動で解析した。BSA/SDS の混合比を 100/0~40/60 の範囲内で変えてみたけれども、ただ一つの幅広いゾーンが得られただけで、しかもこのゾーンの移動速度は BSA それ自身とほとんど同じであった。これは AD_m のゾーンである。またゲル濃度を高めると分離能がよくなるということが知られているので、ゲル濃度を 10% まで上昇させてみたが、一つのゾーンが得られただけであった。この実験結果については二つの可能性が考えられる。すなわち、(i) pH 9.2 のゲル泳動では AD_m と AD_{2n} は同じ移動度をもつかもしいないということと、(ii) ゲル泳動中に AD_{2n} は AD_m と SDS に解離するかもしれないということである。これらの中の最初の推定は妥当ではない。その理由の一つは、後述するように、卵白アルブミン-SDS の系では複合体のゾーンが見られたことである。さらに AD_m 中では SDS は強く結合しており、 AD_{2n} 中では $(2n-m)$ 個の SDS は比較的ゆるく結合しており、この $(2n-m)$ 個の SDS は透析によってははずれることが知られている¹⁴⁾。われわれ自身も AD_{2n} を透析すると AD_m

となることを Tiselius の電気泳動法で確認した。したがってつぎのような解釈が生ずる。複合体が強固な網目構造をもつ濃厚なゲル中を泳動する間に、ゆるく結合した SDS は電場の影響をうけてアルブミンからはずれる。これに対して界面電気泳動においてはこのような束ばかりがないから AD_{2n} は解離せずに泳動できる。 $(2n-m)$ 個の界面活性剤はタンパク質と疎水結合をしていることを示唆する事実であろう。

3.3 ヒト血清と DTAB の系

試料溶液中の DTAB の濃度は 0.4~200 mM の間にあった。沈殿量の変化の有様は Fig.-2 の説明文中にある。16 mM DTAB 以下のところでは溶液は濁っていたが、80 mM DTAB のところで沈殿は溶解し透明な溶液となった。Fig.-2 に見られるように、10~12 mM DTAB の濃度のところで多くのゾーンが消滅したりその染色度が減退した。 γ -グロブリンはほとんど変化を受けずに残っていた。

プレアルブミンは DTAB の影響を受けた。10 mM 以上の DTAB のところで b_1 -ゾーンの直後に強く染まった 1 個のゾーンが現われ、12 mM 以上のところで b_1 -ゾーンの前方に 1 個のゾーンが現われ、20~140 mM DTAB の濃度範囲でアルブミンの前に 1 個のゾーンが現われた。

アルブミンのゾーンは、10~38 mM DTAB の濃度

Fig.-2 Diagrammatic patterns of serum after removal of precipitate at various concentrations of DTAB. Hp type 2-2.

(a) Diagrammatic patterns of serum after removal of precipitate at 20 mM DTAB as a function of storage time.

- (b) A : Pattern of BSA (Armour, Lot No. A 21505)
 B : Pattern of the system BSA-DTAB : BSA/DTAB=10/5 and total concentration 1.5%
- (c) A : Pattern of OA (Sigma, Lot No. 87B-8080)
 B : Pattern of the system OA-SDS : OA/SDS=40/60 and total concentration 5.0%

Fig.-3

範囲で界面活性剤濃度の増加とともに小さくなった。そしてその染色度は 44 mM 以上の濃度のところではほぼ一定であった。DTAB の高濃度のところでは、アルブミンの量は減少し、そのかわり強く染色された二つの幅広いゾーン a_1 , a_2 がアルブミンとトランスフェリンのゾーンの間に現われた。52 mM より高い濃度のところでは a_3 , a_4 , a_5 という三つのゾーンが a_2 -ゾーンの後方に現われた。 a_1 から a_5 までのゾーンは、つぎに述べる理由によってアルブミンから生じたものと思われる。

血清と DTAB の系においては、両者を混合してから後の経過時間によってゲル泳動図が変化することが見いだされた。**Fig.-3(a)** は血清-DTAB 混合液の貯蔵時間が変わると泳動図がどのように変わるかを示す。ここで DTAB の濃度は 20 mM である。この図から、貯蔵時間が長くなるとアルブミンのゾーンは小さくなり、その代わり新しいゾーンが現われてくることははっきりとわかる。このような現象は他の系、すなわち血清-SDS、卵白-SDS、卵白-DTAB などの系では起こらなかった。

上述の現象を解明するため、BSA-DTAB の系を別個に検討してみた。血清アルブミンと陽イオン界面活性剤をその等電点のアルカリ側で混合すると、ある条件下においてのみ沈殿を生ずる⁴⁾。現在の実験条件下、すなわち蒸留水中の 1% BSA と蒸留水中の 1% DTAB 溶液を混合したときには沈殿は生じなかった。BSA/DTAB=10/2 (重量比) よりも高濃度の DTAB を用いると、**Fig.-3(b)** に見られるように a_1 から a_5 までのゾーンが見られた。この図から、**Fig.-2** の T から B' までの図に現われた新しいゾーンは主としてアルブミンに基づくものであることがわかる。

3.4 ヒト血清と非イオン界面活性剤の系

ヒト血清に Nikkol あるいは Pionin を加えたものをデンブングル電気泳動で分析した²⁾。泳動図中の変化は α -および β -リボタンパク質のゾーンにおいてのみ認められた。これらのゾーンは鋭さを失い幅が広がったが、 α -リボタンパク質の変化の方が顕著であった。したがってゲル泳動に関する限り、非イオン性界面活性剤の効果は、リボタンパク質の可溶化である。この結果は Graham¹⁵⁾ や Grundy¹⁰⁾ のロ紙電気泳動からの結果と一致している。なお Graham¹⁵⁾ は Tergitol や Igepal 系の非イオン界面活性剤が存在すると γ -グロブリンは数個のゾーンに分離することを報告しているが、このような興味ある結果は今回のデンブングル泳動では得られ

注 2) この実験は木村国雄によって行なわれた。

Fig.-4 Diagrammatic patterns of hen's egg white after removal of precipitate at various concentrations of SDS.

なかった。

3.5 卵 白

卵白はデンブングル電気泳動によって 19 個のゾーンに分離される¹⁶⁾。卵白はアクリルアミドゲル電気泳動では連続緩衝液系によるよりも不連続緩衝液系による方が分離能がよく、不連続緩衝液系によるアクリルアミドゲル電気泳動の泳動図はデンブングル電気泳動によるそれとほとんど同じである。このため不連続緩衝液系を用いた。

卵白アルブミンが陽極側へ 15 cm 動く間に、リゾチームはゲル片を陰極の方へ通り抜けてしまい、ゲル片と電極ソウをつなぐロ紙上で検出された。したがってリゾチームが実際に泳動した距離は **Fig.-4** に示されているよりはずっと大きい。**Fig.-4** と **Fig.-5** の図 A に存在するおのおののゾーンは、Lush¹⁶⁾ および Feeney ら¹⁷⁾ の結果を参照してつぎのように同定された。これらの図の左側の数字は Lush によるものと同じである。

- 1 プレアルブミン-1
- 2 プレアルブミン-2
- 3 卵白アルブミン A_1
- 4 卵白アルブミン A_2
- 6 卵白アルブミン A_3
- O オボムコイド

Fig. 5 Diagrammatic patterns of hen's egg white after removal of precipitate at various concentrations of DTAB.

- 12 グロブリン A₂
- 14 グロブリン A₁
- 16 コンアルブミン-1
- 17 コンアルブミン-2
- 18 アビディン
- 19 リゾチーム

生の卵白は 7 と 9 のゾーンの間に二つのゾーンを与える (Fig. 4, 図 A) が、これらはゲルを 10% 酢酸で洗浄している間にその染色度が徐々に減退した。これらはオボムコイドと同定された¹⁷⁾。X と名づけた新しいゾーンがスロットとリゾチームのゾーンの間に見いだされた。

3-6 卵白と SDS の系

試料溶液中の SDS の濃度は 0.5~160 mM の間にあった。4 mM 以上の SDS のところでは泳動図にテーリングが見られた。沈殿量は血清-SDS の系と同じように少量であったが、4 mM SDS のところで最大であった。沈殿は 20 mM 以上のところで再溶解したが、これも血清-SDS 系におけると同様に SDS のミセルによって沈殿が可溶化されたためである。30 mM 以上の SDS のところでは、試料溶液は 2 倍希釈の卵白と肉眼的には同じであった。

Fig. 4 においてはつぎの諸事実が認められる。プレアルブミン-1 の移動度は SDS によってまったく影響されなかった。12 mM 以下の SDS のところではアビ

ディンは SDS と定量的に反応しているように見える。成分 X も SDS の影響を受け、その移動度は SDS の濃度とともに連続的に変化した。リゾチームのゾーンは 10 mM SDS のところで消滅した。このことはリゾチームは SDS の低濃度のところで沈殿するという報告^{18), 19)}と一致する。6~56 mM SDS の範囲でゾーン 7 の下に一つのゾーンが現われ、また 32~80 mM SDS の範囲でスロットの前方にもう一つのゾーンが現われた。これらに対する原因は明らかではない。36~96 mM SDS の範囲でスロットが染まった。これはもちろん、ゲル孔を通過できない大きな粒子が形成されたことによる。104 mM SDS 以上のところではスロットは再び染色されなくなった。

卵白アルブミン (OA) のゾーン (ゾーン 3, 4, 6) は、24 mM SDS 以上ではその濃度の増加とともに小さくなった。OA のゾーンが小さくなるにつれて、40~50 mM 以上の濃度のところでは y_1 , y_2 , y_3 のゾーンが現われた。SDS 濃度がさらに増加すると y_4 から y_7 までのゾーンが追加された。OA は陰イオン界面活性剤と定量的に反応することが知られているので^{2), 20), 21)}、これらの y ゾーン、少なくともそれらのうちのあるものは、OA と SDS との間の複合体のゾーンであると考えられる。

この可能性を確かめるため、結晶卵白アルブミンと SDS との相互作用を別個にゲル泳動で調べた。OA/SDS=40/60 の重量混合比の試料については、Fig. 3(c) に示すように OA のゾーン以外に 3 個のゾーンが得られた。この混合比のところでは Tiselius の電気泳動では複合体の峯が得られる²¹⁾。かなり反応性に富むと思われる結晶コンアルブミンと SDS との相互作用を同時に調べたが、複合体に対応するゾーンは得られなかった。こうしてコンアルブミンが y ゾーンに寄与する可能性はなくなった。したがって y_1 - y_3 のゾーンが OA と SDS との間の複合体であるという可能性はより大きくなる。 y_4 - y_7 のゾーンの起因は不明である。しかし、これらのゾーンは SDS の濃度がより高いときに、またスロットが染色されないときに現われることが注目される。

BSA-SDS 系とは対照的に OA-SDS 系においては複合体のゾーンが見られた。OA/SDS=40/60 の溶液を作り、5 日間透析してからゲル泳動にかけたが、得られた泳動図は Fig. 3(c) とまったく同一であった。透析後の試料については y_1 - y_3 のゾーンの染色度が少し弱いという差がみられただけであった。SDS の複合体についても SDS の結合の仕方に 2 種類あると仮定するならば、ゆるく結合した SDS はゲル泳動の過程ではずれるべきであり、したがって y ゾーンの数はず減少すべきである。実験結果はそうでなかったため結果の解釈はつぎのうちの一つであろう。(i) 結合した SDS はゲル泳動や透析では OA から離れるのが困難である。あるいは

は、(ii) たとえ SDS の一部が透析によって OA から離れたにしても、変形した OA の立体構造が生に回復することが非常に遅いかまたは不可能である。

もちろん OA と BSA は異なった立体構造をもち、界面活性剤と結合するとき異なった立体構造の変化をうける。さらに、OA と BSA 分子の表面の疎水的な性質が異なっていることがケイ光の測定によって最近知られた²²⁾。したがって、これら二つのタンパク質について、ゲル泳動あるいは透析中に結合した SDS がはずれる容易さが異なること、また変形した立体構造が生に回復する容易さが異なることは容易に想像できる。

3.7 卵白-DTAB の系

試料溶液中の DTAB の濃度は 0.4~200 mM であった。この系では多量の沈殿が生じたが、これは全然再溶解しなかった。ゲル泳動図にはテーリングは見られなかった。

Fig. 5 についてつぎの事実が知られる。多くのタンパク質成分が DTAB で定量的に沈殿する。実験の pH は OA の等電点のアルカリ側であるので、OA が陽イオン界面活性剤によって沈殿するのは当然である^{23)~25)}。プレアルブミン-1 は 200 mM もの高濃度の DTAB によっても沈殿しなかった。リゾチームは高濃度の DTAB に対しても安定であった。成分 X は 16 mM DTAB 以上において DTAB と反応したようである。スロットは 74 mM 以上の DTAB のところで染色されたが、同時に濃く染まったゾーンがスロットの近くに現われた。

(昭和 45 年 5 月 18 日受理)

文 献

- 1) F.W. Putnam, H. Neurath, *J. Biol. Chem.*, **159**, 195 (1945)
- 2) J.T. Yang, J.F. Foster, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 5560 (1953)
- 3) M.J. Pallansch, D.R. Briggs, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1396 (1954)
- 4) K. Aoki, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 4904 (1958)
- 5) R.V. Decker, J.F. Foster, *Biochemistry*, **5**, 1242 (1966)
- 6) K. Aoki, J. Hori, *Arch. Biochem. Biophys.*, **106**, 317 (1964)
- 7) K. Aoki, J. Hori, K. Kawashima, *Arch. Biochem. Biophys.*, **120**, 255 (1967)
- 8) S. Raymond, M. Nakamichi, *Anal. Biochem.*, **3**, 23 (1962)
- 9) M.D. Paulik, *Nature*, **180**, 1477 (1957)
- 10) S. Grundy, H.L. Dobson, A.C. Griggin, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **98**, 315 (1958)
- 11) O. Smithies, *Biochem. J.*, **61**, 629 (1955)
- 12) P.E. Hermans, W.F. McGuckin, B.F. McKenzie, E.D. Bayrd, *Proc. Staff Meeting Mayo Clinic*, **35**, 792 (1960)
- 13) M.L. Corrin, W.D. Harkins, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 683 (1947)
- 14) F.W. Putnam, H. Neurath, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 692 (1944)
- 15) W.D. Graham, *Clin. Chem.*, **6**, 413 (1960)
- 16) I.E. Lush, *Nature*, **189**, 981 (1961)
- 17) R.E. Feeney, H. Abplanalp, J.J. Clary, D.L. Edwards, J.R. Clark, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1732 (1963)
- 18) H.N. Glassman, D.M. Molner, *Arch. Biochem. Biophys.*, **32**, 170 (1951)
- 19) I.M. Klotz, F.M. Walker, *Arch. Biochem.*, **18**, 319 (1948)
- 20) H.P. Lundgren, D.W. Elam, R.A. O'Connell, *J. Biol. Chem.*, **149**, 183 (1943)
- 21) K. Aoki, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **29**, 369 (1956)
- 22) W.O. McClure, G.M. Edelman, *Biochemistry*, **5**, 1908 (1966)
- 23) S.N. Timasheff, F.F. Nord, *Arch. Biochem. Biophys.*, **31**, 309 (1951)
- 24) J.F. Foster, J.T. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1015 (1954)
- 25) K. Aoki, J. Hori, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 1885 (1959)