Mammamine (乳腺に特異な新ペプチッド) に関する研究

II. Mammamine の抽出性および精製

鶴上 三郎・榎谷 和男・大橋 望彦・佐藤 匡美

(科学 研究所)

前報¹⁾に記したとおり、ラットの泌乳期乳腺の酸可溶性分画をペーパークロマトグラフィーで調べてみたところ、既知のアミノ酸以外に未知のニンヒドリン陽性のスポットを検出することが出来た。

このスポットは家兎やモルモットの泌乳期乳腺でも証明できたから、このスポットを呈する物質は泌乳期乳腺に共通して存在するらしい。更に、牛乳や山羊乳についても調べてみたが証明できなかつたから、おそらくカゼインのような分泌される成分ではなくて、乳腺細胞内にのみ存在する特殊な成分と想像される。

乳腺以外の各種臓器 (18種) についてラットを用いて調べたところ、このスポットを呈する物質を認め得なかつたから、この物質は乳腺特異なものようである。

このスポットはペーパークロマトグラムの位置からみて恐らくペプチッドと思われるが、糖反応、³²P の incorporation、紫外線の吸収 (2600Å)、螢光反応は陰性

であつた。またセロファンで透析してみると、外液に証明されることから、何万と云う程大きな分子量ではないことが想像される。

かかる性質をもつた物質、すなわち Mammamine に興味を感じてその本態を追究することとした。

本報では Mammamine が抽出する溶媒によつて遊離アミノ酸と異なつた態度をとると云うことと、隣タングステン酸で精製出来ることを報告する。

1. Mammamine の組織よりの抽出性

我々は組織より Mammamine を抽出するのにトリクロール酢酸抽出法を用いることにより、容易にその目的を達したのであるが、一般に遊離アミノ酸分画を得るのにエタノール²⁾を用いているので、この方法と上述の我々の用いた方法を比較してみた。

すなわち乳腺組織を homogenize として、生組織 1 gm 当り 10 cc の 80% エタノールを加えて除蛋白する。遠心沈殿後、得られた上清に等量のクロロホルムを加えてよく振盪し、遠心沈殿する。上層に出来た水の部分を集めペーパークロマトグラフィーを行う。

この結果、遊離アミノ酸に関しては、前報のトリクロール酢酸抽出と相異は見出せなかつた。ただ Mammamine に当るスポットが見出せなかつた。この結果から見ると、Mammamine が 80% エタノールで沈殿してしまうのではないかと云う懸念が生じてくる。そこでこれをたしかめるために次のような実験を試みた (表 1)。すなわち、トリクロール酢酸抽出法で得られた遊離アミノ酸分画の濃縮物に 80% エタノールを加える。容量は生組織 1 g 当り 10 cc の割合である。この結果不溶解物と溶解部分に分かれるが、夫々のペーパークロマトグラムをつくつてみると、不溶解物には Mammamine および遊離アミノ酸を見出すことが出来なかつた。溶解部分のものはこの処置前のペーパークロマトグラムと何等変りがなかつた。これらのことから Mammamine は 80% エタノールに溶解することがわかる。すなわち、Mammamine は前報の如く、乳汁に現われる成分ではないから、

Table 1. Extractability of Mammamine
Mammary Tissue
deproteinized with trichloroacetic acid

super. (mammamine +)	ppt. (protein fraction) (mammamine -)
condensed to syrup, added 80% ethanol	
super. (mammamine +)	ppt. (mammamine -)

Mammary tissue
deproteinized with 80% ethanol

super. (mammamine -)	ppt. (mammamine +)
-------------------------	-----------------------

Studies on Mammamine (a new peptide characteristic of mammary gland) II. Extractability of Mammamine and its purification. UGAMI, S., K. KURETANI, M. OHASHI & M. SATO (Sci. Res. Inst. Tokyo) *Jap. J. Animal Reprod.* 1, (2).

乳腺細胞内にあることはほぼ想像がつくが、遊離状態で存在しているものではなく、なにかほかの物質（トリクロール酢酸で沈澱する細胞内成分）と結合して存在しているものとおもわれる。

2. Mammamine の精製

我々は隣タングステン酸を用いることにより、Mammamine を精製することに成功した。すなわち、乳腺抽出物を 3% 硫酸水（生組織 1 g 当り 15 cc）に溶解し、飽和隣タングステン酸液を滴下する。出来た沈澱の粒子は最初大きい、滴下を続けると微細な粒子になる。この微細な粒子の部分には Mammamine が含まれていなかったため、最初の大きな沈澱物が出てしまったところで集めることとした。沈澱は集めてパタリタにより隣タ

Table 2. Purification of Mammamine
Mammary Tissue
deproteinized with trichloroacetic acid

ングステン酸を除き、得られた上清から過剰のバリタを硫酸で除き濃縮する。このもののペーパークロマトグラムをつくってみると、Mammamine のほかに極少量のリジンが混在していた。また隣タングステン酸により出来た沈澱を除いた上清（表 2 の A 分画）には、Mammamine を証明することが出来なかつた。すなわちこの操作により Mammamine を精製することが出来た。更に繰返して同一操作を行うと、不純物として混在したリジンを除くことが出来た（表 2）。

かくして得られた Mammamine について溶媒をいろいろ変えて Rf を決定した（表 3）。これによるとフェノール系では Rf 0.8 以上の大きな値を示すのにひきかえて、ブタノール系、コリジン系では原点からほとんど流れていなく、Rf は 0.1 以下のものが多かつた。しかも

Table 3. Rfs of Mammamine

solvent	Rf
phenol(0.1% ammonia) saturated with water	0.88
m-cresol(0.1% ammonia) saturated with water	0.82
butanol. ethanol. water 4 : 2 : 3	0.03
butanol. acetic. water 4 : 1 : 5	0.12
collidine. lutidine 1 : 1 saturated with water	0.05

Mammamine のスポットは、これらどの溶媒の場合でも常に 1 個のスポットを示すのみで、2 個にわかれることはなかつた。すなわち、Mammamine を単一の物質として扱つてよいものと推定された。

要 約

Mammamine は 80% エタノールでは組織より抽出出来ないが、一旦トリクロール酢酸水で抽出されると、もはや 80% エタノールでは沈澱しない。この事実と、前報に示したように、カゼインのような乳汁内に分泌される成分ではないと云うことから考えてみると、Mammamine が乳腺細胞内に存在している形は遊離した状態ではなく、何かほかの物質（トリクロール酢酸水で沈澱する物質）と結合しているものと思われる。

Mammamine は隣タングステン酸で沈澱させることが出来、この操作により遊離アミノ酸と分別精製することが出来る。精製された Mammamine の Rf はフェノール系では 0.8 以上であるが、ブタノール系、コリジン系では大体 0.1 以下である。またこれら溶媒により得られた Mammamine のスポットは常に 1 個で 2 個にわかれることはなかつた。このことから Mammamine を単一の物質として取り扱えるものと思われる。

（1955. 4. 26. 受付）

文 献

- 1) 鶴上(三)・樽谷(和)・大橋(望)・佐藤(匡): 本誌. 1, 27, 1955.
- 2) AWAPARA, J.: Arch. Biochem. 19, 172, 1948.