- (3) 貴志雪太郎 : 京工織大繊維, 1, 421(1956).
 (4) 貴志雪太郎 : 片倉栽桑試験, No. 1, 1(1932).
 (5) 貴志雪太郎 : 本誌, 11, 303 (1935).
 (6) H. H. Mosher : *Am. Dyestuff Rept.*, No. 11, 341 (1932).
 (7) 角替利策, 榎本義太郎 : 日蚕糸, 6, 251 (1935).
 (8) 渡辺綱男, 小野邦夫 : 佐久良会誌, No. 23 (1928).
 (9) 井上柳悟 : 農学, No. 259 (1924).
 (10) 金子英雄 : 本誌, 9, 1049 (1934).
 (11) 山本孝三, 尾藤省三, 奥 正己 : 郡是研彙, No. 4, 23 (1929).
 (12) 貴志雪太郎 : 京工織大繊維, 1, 433(1956).

桑葉成熟度の相異による繭層の絹蛋白 特にフィブロインの 2, 3 アミノ酸量の変化*

貴志雪太郎, 竹井民男 (京都工芸繊維大学)

昭和 32 年 1 月 7 日 受理

著者の一人は先に桑葉成熟度の相異によるその成分の相異によって繭層絹蛋白のセリシン%とフィブロイン%が変化し比較的若葉によって得たものは硬化桑葉によって得たものよりもフィブロイン%を増加しセリシン%を減少すること、且つ嫩葉の様に糖の少ないものは絹量を減少すると共に絹蛋白中のフィブロイン%を減少しセリシン%を増加するが之に糖を添加飼育すれば蚕体中のグリコール生成を促進してフィブロインの絶対量及び絹蛋白質中のフィブロイン%を増加しセリシン%を減少し⁽¹⁾、又病蚕繭においては健康蚕繭に比しフィブロイン%を減少してセリシン%を増加すること⁽²⁾等を報告した。

繭の改良上原料繭としてはその解舒の良否及びセリシンを含む生糸の品質に注意すべきは当然であるが、然も精練してセリシンを除去し原料繊維として一般に使用せらるるものはフィブロインである。従って著者等は桑葉成熟度の相異の如き環境の変化によって全絹蛋白特にフィブロイン中の主要な 2, 3 アミノ酸量が如何に変化するやについて実験した。而してフィブロインはその定量法として用いられる練減法⁽¹⁾によってセリシンを完全に除去して調製した。上記の方法によって調製せられたフィブロインは酸性フクシンで染色しセリシンを存せず美和氏のリトマス液染色法、即ち 0.5 g のリトマスに 100 ml の水を加え加温して溶解し濾過冷却した液の一定量に試料の一定量を 24 時間浸漬した後水洗する。水洗直後セリシンの含量により濃青色より青色を、時間の経過により濃赤紫色より赤紫色を明瞭に現すがフィブロインは染色せられない(貴志及び貴志襄治は 5% リトマス液とするとき 4 時間浸漬で適当であることを知った)ことにより明かにセリシンの存在を認めなかった。

トレオニンの過沃度酸々化によって生じたアセトアルデハイドを沃度滴定法により測定する方法⁽³⁾はトレオニン水溶液については適当であるが、然し乍らその前操作において蛋白質の 20% 塩酸加水分解に際してそのトレオニン量を減耗する。又低圧濃縮により塩酸を除去する操作において分解消耗せられ且つ之の際におけるその減耗量は不規則である。25% 硫酸で加水分解した後水酸化バリウム液で硫酸を硫酸バリウム沈澱として分離除去する際においても減耗しその減耗量は又不規則であった。パリタで加水分解し同様に硫酸を以って中和し硫酸バリウムとして分離する場合も亦同様であった。然るに以上の蛋白質の酸加水分解液を苛性ソーダ液で中和して後上記の過沃度酸々化法を用いる時はその減耗を生じない。之の際生ずる塩類は過沃度酸々化による沃度滴定法には支障を生じなかった。従って上記の前操作を改良した方法を用い酸加水分解に際してその分解条件を一様になる様に各試験区の外トレオニンの標準区を加えて、之を以って補正を行う方法を用うれば種々なる蛋白質の加水分解試料について適当なる比較定量をなすことが出来る。吟味実験結果を例示すれば第 1 表の様である。第 1 表の数字はトレオニン水溶液の測定値に対して比較したが、而してトレオニン結晶 5 mg を測定試料中に含有する様に調製した水溶液の測定値は回収率 96.4% であった。

即ち第 1 表によれば 20% 塩酸で放置したのみでもトレオニンは減耗し、塩酸除去のための低圧濃縮(40° 以下)によって著しく減少するが、之の塩酸除去の低圧濃縮法或は硫酸バリウムの沈澱法により硫酸の除去を行わ

* On the Quantitative Changes of Some Amino Acids in the Cocoon Silk Protein, especially Fibroin by the Difference in the Growth of the Mulberry Leaves.

By Yukitarō KISHI and Tamio TAKEI (Kyoto University of Industrial Arts and Textile Fibers),
(桑葉の主として其の成分の相異と原料繭糸との関係, 第 4 報)

第 1 表 トレオニン定量における前操作法の吟味実験

前操作の方法	トレオニン量	水溶液に対する収率	前操作の方法	トレオニン量	水溶液に対する収率
20% HCl で 1 週間放置後 NaOH で中和	4.01	83.2	トレオニン水溶液	4.82	100
" 後 1 回低圧濃縮により HCl 除去後 NaOH で中和	3.09	64.1	同上低圧濃縮 1 回	4.47	92.7
" 後 2 回低圧濃縮により HCl 除去後 NaOH で中和	2.32	48.1	25% H ₂ SO ₄ 1 日放置後 NaOH で中和	4.08	84.6
" 後同一容器 4 回低圧濃縮 HCl 除去のみ	0.84	17.6	" 後 Ba(OH) ₂ で中和 BaSO ₄ 沈澱除去, 洗滌	3.04	63.1

ず、苛性ソーダ液中で中和する簡単な方法によって加水分解に用いられた酸除去の目的を達することが出来た。而して上記の前操作に改良を加えた方法は種々なる絹蛋白加水分解液についてその数値を安定し比較定量法に適當であった。従って桑葉成熟度の相異による絹蛋白質特にフィブロイン中のトレオニン量の変化を之の方法によって比較定量した。

グリココールはニンヒドリン酸化法により、チロシンは Folin, Denis 法により夫々光電比色計を用いて定量した。その実験結果は第 2, 第 3 表の様である。

第 2 表 桑葉成熟度の相異による絹蛋白特にフィブロイン中の 2, 3 アミノ酸量の変化

区 別	繭層の全絹蛋白中			フィブロイン中		
	トレオニン	グリココール	チロシン	トレオニン	グリココール	チロシン
日 122×	6.94%	36.35%	11.64%	3.59%	43.08%	12.57%
支 122 { 比較的若葉区	8.05	33.39	10.70	3.94	40.36	11.80
" 硬葉区	6.52	36.40	11.79	3.38	42.72	12.60
小 石 丸 { 比較的若葉区	7.47	32.90	11.21	3.66	39.91	12.55
" 硬葉区	6.91	35.43	11.27	3.70	42.96	12.34
パールユー { 比較的若葉区	7.51	32.33	10.67	4.01	39.59	11.64
" 硬葉区						

第 3 表 桑葉成熟度の相異による絹蛋白特にフィブロインの総窒素量に対する 2, 3 アミノ酸の窒素量の割合の変化

区 別	繭層の全絹蛋白総窒素 100 分中			フィブロイン総窒素 100 分中		
	トレオニン N	グリココール N	チロシン N	トレオニン N	グリココール N	チロシン N
日 122×	4.20%	35.03%	4.79%	2.16%	41.24%	5.13%
支 122 { 比較的若葉区	4.83	34.45	4.71	2.48	40.55	5.06
" 硬葉区	4.13	36.82	5.09	2.17	42.87	5.47
小 石 丸 { 比較的若葉区	4.73	33.30	4.84	2.24	38.92	5.34
" 硬葉区	4.48	35.43	4.99	2.29	42.49	5.21
パールユー { 比較的若葉区	4.90	32.23	4.74	2.53	39.41	4.93
" 硬葉区						

第 2, 第 3 表の繭層試料は各蚕品種共蚕児第 5 令期に試験したもので小石丸とパールユーは同一時期に桑葉の成熟度を相異する同葉質の桑葉で日 122×支 122 は之等とは異なった時期に飼育試験を行ったもので繭層は雌雄等重宛々をとったので即ち雌雄の平均値である。第 2, 第 3 表による時は桑葉成熟度の相異により、比較的若葉を与えて得た繭は硬化桑葉を給与して得た繭に比し繭層全絹蛋白においても亦フィブロインにおいてもグリココール量及びチロシン量を増加しトレオニン量を減少し、且つ繭層全絹蛋白及びフィブロインの総窒素量に対するグリココール態窒素量及びチロシン態窒素量の割合を増加しトレオニン態窒素量の割合を減少する。全絹蛋白において上記の変化を来すことは桑葉成熟度の相異による繭層のセリシン量及びフィブロイン量の変化の結果⁽¹⁾とよく一致するものである。即ちグリココールはフィブロインに著しく多くセリシンには著しく少ない。同様にチロシンはフィブロインに多くセリシンに少なく、之と反対にトレオニンはフィブロインに少なくセリシンに基が多い。然るに繭層の絹蛋白中桑葉成熟度の相異により、比較的若い桑葉は硬化桑葉に比しフィブロイン%を増加しセリシン%を減少するが故に桑葉成熟に伴い繭層絹蛋白の上記の様なアミノ酸量の変化を来したものである。フィブロイン中の之等アミノ酸量の変化は甚だ興味あることであって、之のことは桑葉成分等の環境の相異によって蚕児が合成するフィブロインの化学的構造にある範囲において変化を与えることを意味することとなる。

而して蚕品種によってもある範囲内に相異することを現している。

要 約

- 1) 桑葉成熟度の相異により比較的若い桑葉で得られた繭は硬化桑葉で得られた繭に比して絹全蛋白のグリコロール量及びチロシン量を増加しトレオニン量を減少した。
- 2) 桑葉成熟度の相異により比較的若い桑葉で得られた繭は硬化桑葉で得られた繭に比しセリシンを完全に除去して調製したフィブロイン中のグリコロール量及びチロシン量を増加しトレオニン量を減少した。
- 3) 上に述べた 1), 2) の結果は夫々の蛋白質の総窒素量に対する夫々のアミノ酸態窒素量の割合についての变化も同様の結果であった。
- 4) 上記 2), 3) の結果は蛋白質の合成条件によりその化学的構造がある範囲において变化することを推定し得られる。

(1) 貴志雪太郎 : 本誌, 11, 303 (1935).

(3) Shinn, Nicolet : *J. Am. Chem. Soc.*, 61, 1615 (1939).

(2) 貴志雪太郎 : 京工織大繊維, 1, 433(1956).

細菌 アミラーゼに関する研究 (第 21 報)*

細菌アミラーゼ及びプロテイナーゼの産生機構 (その 4)

糖類と酵素産生との関係 (1)

福本寿一郎, 山本武彦, 鶴 大典 (大阪市立大学理工学部)

昭和 32 年 1 月 14 日 受 理

著者等は細菌のアミラーゼ及びプロテイナーゼの形成, 分泌(産生)の機構を知るため *Bac. amyloliquefaciens* Fukumoto の洗滌細胞を用いて実験を行い, まず洗滌細胞は磷酸塩の存在に於て炭素源を呼吸代謝すれば両酵素を産生することを明かにした⁽¹⁾. 次いでその後の研究に於て炭素源としては澱粉は勿論種々の糖類や有機酸塩も一応有効であるが, しかしそれ等炭素源の酵素産生に対する効果の度合は炭素源の種類によって異なり, またその効果は細胞呼吸の大小とは必ずしも一致しない等のことを明かにした⁽²⁾.

細菌アミラーゼの工業的生産に於ては一般に澱粉が最適炭素源として使用される. しかしそれは菌の増殖に対する効果をも考慮に入れた上のことであって, 澱粉がアミラーゼの形成, 分泌そのものに他の炭素源より特に勝れていると云うのではない.

著者等はこれまでと同様に洗滌細胞を用いて, 種々の糖類のアミラーゼ及びプロテイナーゼ産生に対する影響を再検討した. その結果培養試験の場合と異なり, アミラーゼ産生に対してはラクトース, ガラクトース, アラビノース, セロビオース及びグルコン酸ソーダ等が可溶性澱粉と同程度に或はそれ以上に有効であること, 一方グルコースは極めて低濃度の場合にはラクトースと略々同程度に有効であるが, ある濃度以上の場合には酸素吸収を増大さすにも拘らずアミラーゼ産生を著しく阻害すること, しかしプロテイナーゼ産生に対してはラクトース, ガラクトース等よりマルトース, グルコース等がむしろ有効である等のことが判明した.

実 験 の 部

I. 実験材料及び方法

供試菌, その培養条件, 洗滌細胞の調製法, アミラーゼ及びプロテイナーゼ並に酸素吸収の測定等は前報⁽²⁾に準じた.

II. 実験結果

(1) 各種糖類の酵素産生に及ぶ影響 : アミラーゼの産生は糖の種類によって著しく異なる. 磷酸緩衝液に懸濁した洗滌細胞に種々の糖類を夫々 0.5% 濃度に添加し, 14 時間振盪した場合のアミラーゼ及びプロテイナー

* Studies on Bacterial Amylase. Report XXI. Formation of Bacterial Amylase and Proteinase (Part 4). Effects of Sugars as the Carbon Source on the Enzyme Formation. (1). By Juichiro FUKUMOTO, Takehiko YAMAMOTO and Daisuke TSURU (Institute of Polytechnics, Osaka City University)