細胞質顆粒の内部構造に関する研究

Mitochondria 構成高分子の分析

京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

田 代 裕

(本論文の要旨は第 12 回近畿生理学談話会 (1955 年 10 月) において報告した)

Studies on the internal structure of the cytoplasmic granules.

On the analysis of the macromolecules composing mitochondria.

Yutaka Tashiro

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

The macromolecular components, constituting mitochondria, were analysed electrophoretically and turbidimetrically and following results were obtained.

1. Macromolecules, extracted by acid or alkaline media, were analysed electrophoretically. It seemed probable that there should be little basic proteins which were in salt-like combination with other macromolecular.
2. The macromolecules, which were extracted by alkaline, were complex with the isoelectric points about pH 4.5~5.0. It was supposed that the complex proteins constituting the Gel-phase of mitochondria were extracted in themselves, They are probably negatively charged within the cell, attracting a great deal of cations with them.
3. The macromolecules, obtained by acid extraction, were relatively simple one. The protein part of the complex protein constituting the Gel-phase were probably extracted. The mechanisms of combination of these proteins with nucleic acids and lipids were not so simple as the synthetic complex coacervate, and not only the ionic force but also the secondary force of binding (i.e. van der Waals force or hydrogen bond) or the specific steric configuration of macromolecules were probably contributing much to such combination. However, the analysis in detail were remained to be studied in future.

I 緒 言

細胞質顆粒は高分子物として Protein, Lipids, nucleic acid 等をまた低分子物として水、イオン等を含み、Virus, phage や細菌の L-form 等も一般形として Liponucleoprotein system である。笹川は斯る系が細胞と高分子との間に存在する普遍的な subunit と考えている¹⁾。

筆者は小倉とともに細胞顆粒の物理化学的研究を行っている、2~3 報告してきたが²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、今回 mitochondria (MT) の構成高分子の電気泳動その他による分析について報告する。

細胞質顆粒の内部構造について最近電子顕微鏡の分解能が高分子 order まで向上した結果、(i) どのような高分子が、(ii) どのように配列し、(iii) どのような力で

結合しているか、また (iv) その構造が顆粒の示す機能と具体的にどのように関連しているか? 等の問題を高分子 order で明らかにして行くことが重要な事柄となっている。

これ等の問題を解決するためには、(1) まづ構成物質を化学的に分析すること⁶⁾、(2) 顆粒に対する溶媒効果の研究により、結合力に対する大凡の見当をつけること²⁾、(3) 試験管内における高分子の結合を吟味すること⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾、等が基礎実験として必要になる。

この内細胞顆粒を構成する高分子の化学的分析は Chargaff¹⁰⁾、Hogeboom¹¹⁾、Schneider¹²⁾ 等によって行われ、それによると、nucleic acid は RNA であり、Lipid についてはその大部分が phosphatid でしかも Lecihin と cephaline がほぼ等量存在することが明らかにされている¹³⁾。問題は Protein であって、もちろん

種々の酵素蛋白を含む heterogeneous なものであることは予想されながらその性格は明らかにされていない。ことに basic protein が存在するのではないかということが繰返し推定されており⁶⁾¹⁴⁾¹⁸⁾、その存在は顆粒の構造を考える上にかなり問題となる。それは RNA, cephaline, acidic protein は中性溶媒中では酸性で負に荷電し、Lecithine は中性であるから、もしこれらの高分子が単純な ionic bond で結合しているとすれば basic protein の存在が予想されるわけである。事実 MT に basic protein である cytochrome C¹⁵⁾¹⁶⁾ や ribonuclease¹⁶⁾ が存在することは証明されているが、その量的関係から構造形成上主役を演じているとは考え難く、また一方 Schweigert¹⁷⁾ の amino 酸分析に関する研究や、Mirsky¹⁴⁾ による amino 酸の分析の結果 (ただしこれは microsome について行われたものではあるか) をみても basic amino 酸が多いとはいえない。しかしこれらの分析は蛋白を分割せずに行われているために平均値的な組成しか与えておらない点と、また acidic あるいは basic protein というのは蛋白の等電点からのみ規定さるべきであって、amino 酸組成から云々することには多少問題がある¹⁹⁾。

本研究の目的は MT の構成蛋白の分析を行い、特に basic protein の存在を吟味し、MT の高分子間の結合様式を電気泳動的に検討することにある。

II 実験方法

1. MTの分解 rat liver (8 体重 100~150g)より 0.5mol sucrose を用い、ほぼ Schneider 等の方法¹¹⁾ に準じ MT を分離後、沈渣を 0.9% NaCl で洗い、sucrose を除いてから用いた。国産冷凍遠心器および Spinco L 型超遠心器を使用した。

2. MT より高分子物の抽出

$I/2=0.1$ の種々の pH (2~13) の緩衝液で高分子物の抽出を 0°C で約 24 時間行い遠沈後上清を用いて泳動を行った。ただし pH 4~8 にわたっては MT は安定で、少量の可溶性高分子が抽出されるに過ぎない。反対に pH 9 以上の alkali 側では MT は膨潤、融解し可溶性となる²⁾。ただし alkali 側では高分子、特に RNA は depolymerization を起すので²⁰⁾、分離した MT をそのまま、あるいは凍結乾燥後 n/10 NaOH に溶し m/10 glycine-NaCl で泳動すべき pH に規定して直ちに泳動を行い、比較対照した。pH を 2 程度の酸性にした場合にも MT の構造がくずれ高分子物が溶出してくる。以上はいずれも pH を利用した方法であるがこの他に μ を上げる方法や、Lipoid 溶剤で Lipoid を溶した後の高分子を分散せしめてから泳動を行う方法も試みてい

る。またできるだけ変性をさける意味で Resine や detergent²¹⁾ による分割も計画している。

3. 電気泳動法

Buffer には通常、イオンの Specificity を除く目的で Miller-Golder Buffer series²²⁾ $I/2=0.1$ を用い、4°C で泳動を行った。日立製電気泳動装置を用い、micro cel を使用した。Conductivity は横河精密 Bridge ならびにマツダ低周波 Oscillator を使用し、Mobility を計算。

4. Turbidimetry: 種々の pH の Buffer series を作り等電点沈降を利用して等電点を推定する目的で、turbidity を測定した²³⁾。計器は Morgan-Weinhausen 型の光電比色計を手製して用いた。マツダ SJ-1 を Filter として利用透過光を測定した。

5. 吸収スペクトル測定 島津 QB-50 型分光光度計を用いた。

6. P 定量は過塩素酸で灰化後 Allen 法²⁴⁾によった。

7. pH は硝子電極により測定した。

III 実験結果

A. MT の Alkali 抽出高分子の分析

2 種類の高分子コロイドイオンを含む溶液の pH が等電点間外にある時には、この溶液は透明で、これを泳動にかける時とはそれぞれの component に対応する peak と、場合によっては両者の intermediate を見るということ Longworth²⁵⁾、Goldwasser²⁶⁾、山根²⁷⁾等の実験により明らかにせられている。

筆者は予備実験として一旦 pH を等電点間内にもってきて、complex coacervate を作ってから、pH を等電点間外にずらし coacervate を分散した場合にも、高分子がそれぞれの component に対応した peak を示すかを吟味してみた。

1. synthetic complex coacervate の電気泳動的解析

高分子物として RNA (キリン科学研究室製)、Bovine Serum Albumin (Armour & Lab. B.S.A.) を用いた。

a) まづ control として pH 10.8 (glycine-NaOH-buffer $I/2=0.1$) において各高分子の 0.5% 溶液を泳動にかけた。その際の Mobility は

	Asc	Des
RNA	19.5	18.5
BSA	11.5	$10.0 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec} \cdot \text{volt}$

であった。(Fig. 1. a および b)

b) つぎに pH 5.2 に規定した各 1% RNA および BSA を混合後 pH を等電点間内にもって行き coace-

Fig. 1-a

0.5% RNA Glycine-NaOH Buffer pH 10.8

 $\Gamma/2=0.1$ 4°C $i=15\text{mA}$ 泳動時間 30分 diagonal slit 40°

Fig. 1-b

0.5% BSA

泳動時間 40分 diagonal slit 20°

Fig. 2

1% RNA+1% BSA Glycine-NaOH buffer

pH 10.8 $\Gamma/2=0.1$ 4°C $i=15\text{mA}$ 泳動時間 30分 diagonal slit 20°

vate,を作り暫く放置後 pH 10.8 の Buffer で透析後
前と同様に泳動を行った。

	Asc	Desc
I peak	20.1	16.1
II peak	11.2	8.4

(Fig. 2)

で、第1の peak が RNA に、第2が BSA に対応する
ことは明らかで、intermediate は認められなかった。
以上と同様の結果は pH を 9.12 に規定した場合にも得
られた。

以上の結果から complex coacervate が静電力で結合

している限り等電点外にもって行って泳動にかけるとき
には各成分に対応する peak を与えることは明らかである。

2. Alkali 抽出高分子の電気泳動的解析

もし MT が complex coacervate すなわち主として
静電的結合により作られている coacervate であるとする
なら、MT の各高分子 component のいずれよりも
alkali 側で電気泳動を行うと、各成分に対応した peak
が得られる筈である。そしてもし basic protein が main
component として存在するならそれに対応する peak
が認められるであろう。

この際泳動の pH は胸腺 histone の等電点 $8.51^{28)}$
タラ白子 $10.16^{29)}$ 、Cytochrome C $10.65^{30)}$ を考慮して
 10.80 (at 5°C) とした。

泳動の結果、 δ, ϵ を除き 2 つの main peak が見られ
た。

	Asc	Desc
I	20.0	18.0
II	8.0	7.2

(Fig. 3)

で第1の peak は RNA の mobility と一致し、その
紫外外部吸収からも RNA であろうと予想された。main
peak である第2の山は BSA よりやや遅い mobility
を持ち、可なり幅のある component であるが、basic
protein の存在を思わせるような peak は認められな
かった。またこの peak は凍結乾燥で得たものでも、24
時間 alkali 抽出したものでも差はなつた。

以上の事実から MT の中には histone に対応するよ
うな basic protein は main component として存在し
ないか、あるいは存在しても単純な ionic force のみで
結合するのでなく secondary force や steric な factor
の contribution が大きいことが推定せられる。なお同
様の実験を microsomal fraction についても行ったが、
この場明は試料の濁度は軽度でかつ、RNA の山も高い
ので参考のために泳動 pattern を掲げておく。(Fig. 4)

3. Alkali 抽出高分子の turbidimetric analysis その他

以上のような alkali 抽出高分子の等電点を推定する
ために種々の pH の Buffer に抽出物を入れ turbidity
を測定してみた。

a) Turbidity 測定: pH 2.5~8.0 までの Buffer
series では Turbidity は 4.0~6.0 の間で強く、
maximum は 5.0~4.5 のあたりにあり、このあたりに
等電点を有するものと推定された。このものを氷室で24
時間放置すると、二相分離するが上清には $2600\sim 2700$
 $\text{\AA}$ にわたって吸収を示す物質の存在が認められ、さら
に 24 時間の透析でかなりの部分が失われ、低分子化し
た RNA によるものでないかと推定される。なお非透

Fig. 3-a MT · alkali extract
glycine-NaOH buffer pH 10.8 $I/2=0.1$ 4°C
 $i=15\text{mA}$
(i) (ii) : 泳動時間30分 diagonal slit 60°
(ii) においては混濁が強いため第1の peak は見えない
(iii) : 泳動時間60分 diagonal slit 60°

Fig. 3-b MT · alkali extract
Miller-Golder buffer pH 9.12 $I/2=0.1$ 4°C
 $i=11.5\text{mA}$
(i) 泳動時間40分 diagonal slit 50°
(ii)(iii) 泳動時間70分 diagonal slit 65°

Fig. 4 microsome · alkali extract
Miller-Golder buffer pH 9.12 $I/2=0.1$ 4°C
 $i=11.5\text{mA}$
泳動時間40分 diagonal slit 40°

析部分は加熱 Sulfo Salicylic Acid, Heller 等で蛋白反応も陽性に出、蛋白の存在も認められた。

b) 化学分析: Alkali 抽出物を等電点沈澱せしめて得た沈澱を Schmidt-Thannhauser 法により分割し、その結果、Lipoid-P および RNA-P が相当量証明されることを知った。

以上の結果、すなわち等電点 $4.5\sim 5.0$ にあり、MT 界面の等電点とほぼ一致すること。

抽出物が単純な高分子物でないことは、alkali 抽出に際しては高分子複合体間の結合が切れて、MT の Gel-phase の高分子が RNA を一部失う以外比較的元のままの形でとり出される可能性を示し、形態学的所見とも一致する。

B. MT の酸出高分子物の分析

従来 Protamine や Histone 等の塩基蛋白の抽出には屢々酸抽出が用いられる³¹⁾。それは pH を酸性に保つと此れら塩基性物質がもっとも溶け易いことによる。筆者はそこでこの方法で MT の塩基性物質の存在を吟味することを試みた。ただしこの際 pH は3以下にしないと、効果は少い。

1. 酸抽出物の電気泳動的解析

MT を pH 2.0 において 24 時間 0°C で抽出、これを pH 2.3 で泳動にかけた所、1ヶの main peak と、それよりも mobility の小さい main peak に伴う1~2ヶの peak より成り、main peak の mobility は

Asc 10.6 Desc 10.4 (Fig.5)

で同一条件における Protamine Sulphate (Asc 18.2) (BSA (Asc 14.3) のいずれよりも小さいことを認めた。そこでつぎにこの等電点を測定する目的で 5.0~7.5 にわたって pH をかえ、その時に生じる濁度を利用して泳動を行ったが、いずれも低温では速かに凝集が起るため

Fig. 5-a MT · acid extract
Miller-Golder buffer pH 2.3 $I/2=0.1$ 4°C
 $i=15\text{mA}$
泳動時間60分 diagonal slit 50°

Fig. 5-b a)と同一条件における BSA
の pattern 1% BSA $i=15\text{mA}$
泳動時間50分 diagonal slit 40°

に測定にかけることができなかったので Turbidity max のところから等電点を推定することにした。

2. 酸抽出高分子の turbidimetric analysis

pH 2.5~11.5 に渡る Buffer series を作り、抽出物の 1/50 程度を加え、Turbidity を測定する。それによると、pH 5.0~7.0 にわたって混濁を認め、max は 6.0~6.5 (特に 6.2~6.3) のあたりにある。

この際二相分離後の上清の紫外吸収を観察すると 2600~2700Å に max を有する吸収を認めるが大部分透析性で 24 時間で 1/3 以下となる。また上清には Heller, Sulfosalicylic acid および加熱で混濁を証明しえない。このことから大部分の高分子は沈澱することがわかる。

3. 酸抽出高分子物の化学分析

前と同様 Schmidt-Thannhauser 法により実分子の分割を試みたがこの場合には、リポイド燐をほとんど認めず RNA-P も少量であった。実験例が少いため断定的なことはいえないが、この際には比較的単純な形で蛋白部分が抽出されているらしい。

以上の実験結果ならびに形態学的研究特に、電子顕微鏡像を対比すると²⁾³⁾、この際の高分子は、高分子複合体内の結合が切れて高分子物が溶出してきた可能性が大きい。しかもその性格は今までの分析では比較的単純な蛋白性のものであるらしく、その等電点が 6.0~6.5 にあることから、弱酸性の蛋白と推定せられる。

C. MT の中性抽出高分子の分析

pH 4~8 にわたる間では MT の構造そのものには差程変化は起らない。そして特に pH 4.5 附近ではほとんど高分子物の溶出が見られぬ²⁾。

pH 7 附近の抽出物については、Dermling 等³²⁾³³⁾の研究があり β -globulin が多いと述べている。

筆者は pH 7.2 で抽出し同一 pH で泳動し上下脚共 2 本の Peak を認めた。Asc の mobility はそれぞれ 4.0 ないし 2.6 程度である。ただし Dermling のように mobility からのみこの高分子が β -globulin であると考えるのは疑問で、このような component も、もっと複雑な複合蛋白体であろうと考えられる。

なお以上の実験と併行して超遠心による分析も行う予定であったが、機械の都合で今回は割愛した。

IV 考 按

本論文で問題にする点は、1) 塩基性蛋白が MT に main component として存在するか、また、2) MT の骨格を作っているような構造蛋白の性格特に等電点を求めることにあった。

第1の問題については ionic bond で結合していると考えられる complex coacervate の溶媒の pH を alkali 側にずらす時には coacervate は分散し、個々の component に分れて泳動されることを示した*。

MT の alkali 抽出によって得た高分子物を、alkali 側で泳動し basic protein に対応するような peak が見られない事実。また basic protein が抽出され易い MT の酸性抽出物中にも basic protein に対応する component が認められなかった事実は basic protein が MT の中に main component として存在せぬか、あるいは存在しても結合が強固で pH の変動によっては切れぬのいずれかと思われる。

*但この現象が完全に reversible かどうかは慎重に吟味を要する。reversibility を否定してゐる人もある⁴²⁾。

つぎに alkali 抽出によって得られる高分子が相当量の Lipoid および RNA を含む complex protein であることを述べたが、この際の形態学的変化などを参照すると、高分子複合体が、この際比較的そのままの形で抽出されているものと考えられ、その等電点 4.5~5.0 は MT の骨格を作っている Gel phase の等電点に近いのではないかと考えられる。一方酸抽出によって得られる蛋白は、比較的 simple で Gel phase の蛋白部分が主として溶出されたものと推定され、形態学的所見に一致する。

以上のような推察が許されるなら MT の構成高分子としては、RNA, Lipoid, 等電点 6.0~6.5 の acidic protein およびそれより酸性側にある protein (これは推定であって証明されていない) よりなることとなり原形質の正常の pH においてはいずれも全体として負または中性に荷電し、それ等の間の結合は complex coacervate の場合のように単純な ionic bond のみではなく、specific な steric configuration や、それに伴う secondary force の contrif ution が大きいことを暗示する。特に細胞顆粒の高分子が免疫学的に Specificity を持つ事実³⁴⁾、同じ荷電の RNA を吸着する性質のある³⁵⁾ことは興味あることで荷電基その他の立体的配置が、このような高分子間の結合を可能ならしめているものと思われ、かかる蛋白の性格を調べ、reconstitution の実験を行い検討を加えて行きたいと思っている。

なおかような全体として同荷電の高分子同志が結合する事実は他の顆粒、たとえば Virus³⁶⁾ や Bacteriophage³⁷⁾ の場合にも見られ、これらが多量の核酸を含みながらアミノ酸組成から見ると蛋白部分は acidic で結合に covalentbond も関与しているらしい⁴⁰⁾⁴¹⁾ 事実と対比して興味深い。

なお本実験は高分子の抽出法として、酸 alkali を用いているが、高分子特に RNA が acid あるいは alkali の溶媒中で depolymerization その他の変化を起すことは以前から知られており、実験方法としてよくない²⁰⁾。したがって、次回は酵素による分割や, resine, detergent の使用により、できるだけ native の状態で高分子物をとり出し、その性格を解析して行きたい。また Schneider 等³⁷⁾³⁸⁾ は sonics を用いて MT をこわしているが高分子の性格については立入って調べられていない。この方法でも Gel phase の高分子を得ることができるので機会があれば、解析してみたい。

V 結 論

細胞顆粒の内, mitochondria について、その構成高分子を電気泳動法あるいは濁度測定法等によって分析し

てつぎの結果を得た。

1. mitochondria の高分子を酸、アルカリ法で抽出し、電気泳動的に分析した結果、mitochondria の中には ionic bond で結合し、かつ、高分子の一主成分となっているような塩基性蛋白は存在しないと推定された。

2. mitochondria から alkali 抽出法で得た高分子物は、複合蛋白体でその等電点を 4.5~5.0 に有する。これは Mitochondria の Gel phase を作る高分子複合体が比較的そのままの形で抽出されたものと考えられ、細胞内においても負に荷電し、多量の cation を吸着しているものと考えられる。

3. mitochondria から酸抽出法で得た高分子物は、比較的 simple で、その等電点は 6.0~6.5 にあり Gel phase の複合体から蛋白部分が主として溶出したものと考えられる。そしてこれらの蛋白と RNA, Lipoid 間の結合は complex coacervate のように単純なものではなく、specific steric configuration や secondary force の contribution が大きいものと推定され、その詳細な解析は今後に持ちたい。

擧筆にあたり笹川久吾教授の御指導を深謝する。

また、電気泳動について、京大内科沼氏、凍結乾燥については、京大微生物徳田博士、分光々度計については、京大衛生佐野博士、村上氏、冷凍遠心器については、京大農学部岩井助教授にお世話になった。つつしんで謝意を表す。

文 献

- 1) 笹川久吾ほか、日本生理誌 17, 119 (1955)
- 2) 田代裕、生物々理化学 3, 123 (1956)
- 3) 小倉光夫、同上 17, 120 (1955)
- 4) 田代裕、生物々理化学 2, 278 (1955)
- 5) 田代裕、小倉光夫、細胞化学 5, 17 (1957)
- 6) 笹川久吾、広田猛夫、日本生理誌 14, 141 (1952)
- 7) Bungenberg de Jong, H. G., Colloid Sci. 2, 232 (1949)
- 8) 井上康夫、日本生理誌 19, 67 (1957)
- 9) 山根彦二、日本生理誌 17, 549, 555 (1955)
- 10) Chargaff, E., J. Biol. Chem., 142, 491 (1942)
- 11) Hogeboom, G. H., Schneider, W. C. & Palade, G. E., J. Biol. Chem., 172, 619 (1948)
- 12) Schneider, W. C., Canc. Res., 11, 1 (1951)
- 13) Swanson, M. A. & Artom, C., J. Biol. Chem. 187, 281 (1950)
- 14) Allbrey, V., Daly, M. M. & Mirsky, A. E., J. Gen. Physiol. 32, 157 (1953)
- 15) Schneider, W. C., Claude, A. & Hogeboom,

- G. H., J. Biol. Chem. **172**, 451 (1948)
- 16) Schneider, W. C. & Hogeboom, G. H., J. Biol. Chem. **183**, 123 (1950)
- 17) Schweigert, B. S. Guthneck, B. T., Price, J. M., Miller, J. A., & Miller, E. C., Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **72**, 495 (1949)
- 18) Caspersson, T., Cell Growth and Cell Function; A Cytochemical study, New York (1950)
- 19) Velick, S. F., J. Physical & Colloid. Chem., **53**, 135 (1949)
- 20) Magasanik, B., in "The nucleic Acids" edited by E. Chargaff & J. N. Davidson. Acad. Press N. Y. **1**, 385 (1955)
- 21) Kay, E. R. M. & Dounce, A. L., J. Am. Chem. Soc. **75**, 4041 (1953)
- 22) Miller, G. N. & Golder, R. H., Arch. Biochem. **29**, 420 (1950)
- 23) Hess, E. L. & Yasnoff, D. S., J. Am. Chem. Soc. **76**, 931 (1954)
- 24) Allen, R. J. L., Biochem. J. **34**, 858 (1940)
- 25) Longworth, L. G. & Mac Innes, D. A., J. Gen. Physiol. **25**, 507 (1942)
- 26) Goldwasser, E. & Putnam, F. W., J. Physical & Colloid. Chem. **54**, 33 (1950)
- 27) 山根彦二, 日本生理誌 **17**, 549 (1955)
- 28) Felix, K. & Harteneck, A., Z. Physik. Chem. **157**, 76 (1926)
- 29) 中村孝彦, 札農林 **26**, 396 (1935)
- 30) Theorell, H., J. Am. Chem. Soc. **63**, 1820 (1941)
- 31) 江上不二夫編, 核酸および核蛋白質, 上 p. 378 (1951)
- 32) Bermeling, L., Kinzimier, H & Henning, N., Kl. Wochenschr. **31**, 1103 (1953)
- 33) Dermeling, L., ibid. **31**, 435 (1953)
- 34) Butenandt, A., Vorträge von A. Butenandt in Japan (1955)
- 35) Szafarz, D., Biochim. et Biophys. Acta., **6**, 562 (1951)
- 36) Knight, C. A., Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. **12**, 115 (1947)
- 37) Hogeboom, G. H. & Schneider, W. C., Nature, **166**, 302 (1950)
- 38) Hogeboom, G. H. & Schneider, W. C., J. Biol. Chem. **194**, 513 (1952)
- 39) Fraser, D. & Jerrel, E. A., J. Biol. Chem. **205**, 291 (1953)
- 40) Greenstein, J. P., Adv. in Protein Chem. **1**, 273 (1944)
- 41) Gulland, J. M. Barker, G. R. & Jordan, D. O. Annual Rev. Biochem. **14**, 175 (1945)
- 42) Markham, R. & Smith, J. D., in "The Proteins" Edited by Neurath, H. & Bailey, K. Vol. **2**, 9 (1954)

Miller, L. L., Bly, C. G. and Bale, W. F. Plasma and Tissue Proteins Produced by Non-Hepatic Rat Organs as Studied with Lysine ϵ -C¹⁴, J. Expt. Med. **99**, 133 (1954)

肝切除後生存しているラッテに Lysine- ϵ -C¹⁴ を注射した後, 血漿蛋白質を Zone-Electrophoresis で分離し, 血漿蛋白質をで分離し, 各分層の放射能を測定したところ, 放射能は主として γ -Glob. 中にあり, α -, β -Glob. には少量の放射能しかなく, Alb. に放射能はみとめられなかった。内臓を取除いた死体の下半身を灌流すると, 死後数時間は生理作用をもっていることが知られるが, このような灌流実験の際, 消化管, 膵, 脾, 腎の有無は, 血漿蛋白質分層中への放射能の導入にほとんど影響を与えないことが確かめられた。このような事実から, γ -Glob. が肝臓以外でつくられる血漿蛋白質分層の主要部分を占めていることがわかる。

Emmrich, R. and Petzold, H. Das Bluteiweißbild

nach Partieller Resektion der Rattenleber, seine Beeinflussung durch Corhormon, Z. Ges. Exp. Med. **122**, 264 (1954)

ネズミの肝の 2/3 を切除すると, 残った部分は脂肪浸潤を伴いつゝ再生する。この場合エムブリオの心臓抽出液を注射すると脂肪は減少する。血清蛋白質の分析をしてみると, 術後 2 日では総蛋白減少, Alb. α_1 -Glob. 著減, α_2 -Glob. 軽度減少, β - および γ -Glob. は軽度増加を示し, 術後10日もおゝむね同じ状態である。術前 2 日から毎日, 心臓抽出液を 1ml. ずつ皮下に注射した場合には, 術後 2 日では Alb. 及び α_1 -Glob. の減少は注射しないものより著しく, β -Glob. は正常, γ -Glob. は百万率は上昇しているが絶対値ではやや減少を示す。術後10日では, 総蛋白は正常に復するが, Alb. は著減, α_1 -Glob. は正常値, α_2 -, β -, γ -Glob. は百分率, 絶対値ともに増加している。これらの変化の生ずる機構についても論じた。