蛋白と色素との結合に及ぼす尿素の影響

右田 正男・大竹 茂夫

(東海区水産研究所)

Influence of Urea upon the Binding of Some Ionic Dyes to Proteins

Masao MIGITA and Shigeo OTAKE

By using equilibrium dialysis method, it was intended (i) to ascertain the findings obtained spectrophotometrically by Klotz et al. that urea not only inhibits the interaction between serum albumin and methyl orange (MO), but also splits the preformed combination between them, and (ii) to examine the influence of urea upon the binding of MO and methylene blue (MB) to fish "actomyosins".

Equilibrium dialysis

5 ml. of protein solution in inside cell was dialysed against 10 ml. of dye solution in outside cell through cellophane for 72 hr. at 4°C.* Control dialysis was set up in order to make correction for absorption of dye on membrane itself. Amount of bound dye was calculated from the difference between equilibrium concentrations of free dye in outside cells of protein-containing and control dialysis systems.

Results

1. In 6 M urea, combination between serum albumin and MO did not take place (Table 2), and also the preformed combination was abolished (Table 4). Binding of MO to cellophane which was used as semipermeable membrane was also completely inhibited in 6 M urea but the binding once formed was hardly affected.

2. In 2 M urea, the binding of MO to albumin took place to some extent though an inhibitory effect of urea was marked. The extent of combination was the same whether albumin and MO were dialysed in 2 M urea solution, or albumin in 6 M urea was dialysed against 3 vol. of phosphate buffer containing MO (Table 2, and Fig. 1, Curve C).

3. 0.6 M malonic amide and 1 M urea are equivalent in raising dielectric constant of water. The former, however, inhibited only slightly the binding of MO to albumin, but the latter noticeably. Thus the inhibitory effect of urea cannot be explained solely by increase in dielectric constant of the solution.

4. "Actomyosin" either from horse mackerel or squid combined with both MO and MB but albumins do not combine with MB. Under the conditions of the present experiments there seemed to exist the following orders with regard to the combining abilities of dye and of "actomyosin": MB > MO, and squid "actomyosin" > horse mackerel "actomyosin".

5. Carp "actomyosin" which was freed from urea by dialysis after it had been kept dissolved in 6 M urea for 24 hr., showed the same binding ability toward MO as native carp "actomyosin". Results 2 and 5 show that effect of urea upon the combination of protein and MO is reversible.

* For the apparatus, see this Bull. 22, 260 (1956).

結 言

われわれは前報¹⁾において、魚介肉「アクトミオシン」(0.5 M KCl により抽出され、10 倍稀釈により沈澱される筋肉蛋白の区分)と有機色素の結合量の測定を行うことによつて、魚介肉蛋白質の変性現象を追求し

うることを明かにした。その際魚介肉“アクトミオシン”とメチルオレンジ（以下 MO と略す）との結合は、尿素の 1 M 又は 3 M 溶液中では、磷酸塩緩衝液中における場合に比し著しく減少し、6 M-尿素中では殆んど結合しないことを観察した。なお血清アルブミンと MO との結合に及ぼす尿素の影響について KLOTZ 等²⁾は、蛋白と尿素の混合物に色素を加えた系と、蛋白と色素とを混合して 24 時間後尿素を加えた系の吸光係数を比較して、尿素は単に蛋白と MO との結合を妨げるばかりでなく、色素が既に結合している場合でも、これを追出し、尿素自身がアルブミンと結合するといっている。ところで MO はイオン性のものであり、尿素は極性化合物であるから、MO と蛋白との間の既成の結合が尿素によつて破られるという事は、色素と蛋白の結合機構及び蛋白の尿素変性機構に関連して興味のある事実と思われる。

そこでわれわれは魚介肉の構造蛋白についても同じようなことがいえるかどうかを知ろうとした。但しこの場合測定方法として KLOTZ 等²⁾の用いた吸光曲線による方法の適当でない恐れがある。魚介肉の構造蛋白の場合は、魚種或いは蛋白濃度その他の条件によつて、蛋白-色素混合系における吸収が純色素溶液が示す吸収よりも高くなることがあるからである*。よつて平衡透析法により、アルブミンについての KLOTZ 等の実験結果を追試すると共に、魚介肉の構造蛋白と色素との結合に対する尿素の影響をしらべた。この際色素としては MO の外メチレン青（以下 MB と略す）をも試みた。魚介肉蛋白は前に報告したように¹⁾アルブミンと異なり、負荷電をもつた MO ばかりでなく、正荷電をもつた MB とも結合するからである。なお尿素がアルブミンと MO との結合に及ぼす作用と、尿素が水の透電恒数を増す作用との間には関連があるかどうかについても実験を行つた。

実 験 法

試 料

(i) 血清アルブミン シュエーリング製（結晶）をそのまま用いて種々の溶液を作つた。この分子量を 67,500 とみなした。

(ii) 魚介肉“アクトミオシン” マアジ、スルメイカ、コイより前報と同様に抽出した。即ち筋肉を細碎し、肉重量の 10 倍容量の氷冷塩溶液 (0.5 M, KCl+0.03 M, KHCO₃ pH 7.4) を加え、ブレンダーにかけ、遠心分離後上澄液を氷冷蒸留水で 10 倍に稀釈し、再び分離、沈澱を磷酸塩緩衝液 (0.36 M Na₂HPO₄·12H₂O+0.06 M KH₂PO₄ pH 7.4) に溶解し、遠心分離して不溶解部分を除去して“アクトミオシン”試料とした。試料魚のマアジ及びスルメイカは東京中央魚市場で手に入れたもので実験の前夜漁獲された近海物を用い、コイは活魚を用いた。

(iii) その他 MO は国産の特級品を再結晶し、MB はメルク製（化学用）をそのまま用いた。

マロン酸アミド $\left(\text{CH}_2 < \begin{smallmatrix} \text{CONH}_2 \\ \text{CONH}_2 \end{smallmatrix}\right)$ はマロン酸エチルエステルとアンモニア水を封管内で加熱³⁾して作つた (m. p. 168~170°C)。

結合量の測定法

前報に報告した透析内器（漏斗形ガラス器にセロファン膜をパラフィンと糸を用いてはりつけたもの）に 5 ml の試料をいれ、これを 10 ml の色素溶液をいれた透析外器（円筒硝子管）中に浸し、外器に密栓して 4°C に 2 昼夜静置して平衡に達せしめ、外液の色素濃度をベックマン DU 型分光々電光度計で測り（測定波長 MO 465 mμ, MB 665 mμ）。これを A M (モル) とする。一方透析内器中に蛋白を含まず、他は全く同一条件のものを対照としてとり、平衡達成後の外器中の色素濃度を A₀ M とすると、蛋白の結合した色素は (A₀-A) × 15 × 10⁻³ gram M となる。蛋白溶液の濃度を p M とすると、蛋白 1 gram M 当りの結合量は (A₀-A) × 15 × 10⁻³ / p × 5 × 10⁻³ = (A₀-A) × 3 / p gram M である。但し“アクトミオシン”の場合は蛋白窒素 1 mg 当りの結合量を示した。

* 昭和 31 年度水産学会春期大会講演

結果及び考察

実験 I 血清アルブミンと MO の結合に及ぼす尿素の影響

a. 磷酸塩緩衝液中における血清アルブミンと MO の結合

蛋白濃度 3.94×10^{-6} M, 色素濃度 20.0×10^{-6} M, pH 7.4 におけるアルブミンの色素結合量 r ($=\text{Bound dye (M)}/\text{Protein (M)}$) を求め, Table 1 に示す結果を得た。この値は KLOTZ 等の得た遊離色素量-結合量 (r) の曲線 (Fig. 1* の A 曲線) 上に大体のついている。

Table 1. Binding of methyl orange to serum albumin in phosphate buffer (pH 7.4)

		Exp. 1	Exp. 2
Concn. of albumin (M)		3.94×10^{-6}	3.94×10^{-6}
Original concn. of dye (M)		20.0×10^{-6}	20.0×10^{-6}
Equilibrium concn. of free dye (M)	Control (A_0)	8.99×10^{-6}	9.13×10^{-6}
	Sample (A)	6.42×10^{-6}	6.71×10^{-6}
Bound dye (gram M) ($A_0 - A$) $\times 15 \times 10^{-3}$		38.6×10^{-8}	36.3×10^{-8}
Bound dye (M)/Protein (M)		1.96	1.84
Dye fixed by membrane (gram M)		65×10^{-8}	63×10^{-8}

Table 2. Binding of methyl orange to serum albumin in 6 M urea solution (pH 7.4)

		Ex. 1	Exp. 2
Concn. of albumin (M)		3.55×10^{-6}	3.55×10^{-6}
Original concn. of dye (M)		5.00×10^{-6}	25.0×10^{-6}
Equilibrium concn. of free dye (M)	Control (A_0)	3.29×10^{-6}	16.97×10^{-6}
	Sample (A)	3.35×10^{-6}	16.85×10^{-6}
Bound dye (gram M) ($A_0 - A$) $\times 15 \times 10^{-3}$		-0.90×10^{-8}	1.8×10^{-8}
Bound dye (M)/Protein (M)		-0.05	0.10
Dye fixed by membrane (gram M)		0.6×10^{-8}	-4.5×10^{-8}

セロファン膜に吸着された色素

対照実験において, 最初 10 ml の緩衝液中にとけていた色素が平衡達成後は 15 ml にうすめられるとして, 平衡達成後の色素濃度を計算すると 13.3×10^{-6} M となるが, 実測値は約 9×10^{-6} M である。このひらきは膜に色素が吸着されたためと考えられ, その量は 64×10^{-8} M (平均) となる。

b. 6 M 尿素溶液中におけるアルブミンと MO の結合

アルブミン及び MO を夫々 6 M の尿素に溶解し, 前者を透析内器に, 後者を外器中に入れ, 透析法によってその結合量を求めた。結果は Table 2 に示すように, 色素は蛋白に結合されないものと考えられる。

* Fig. 1. は横軸に平衡達成後の遊離色素の濃度を取り, 縦軸にアルブミンモル当りの結合色素量 (r) を示したものである。

Fig. 1. Binding of methyl orange with serum albumin under various conditions.

Curve A. Combination in phosphate buffer solution.

● Values obtained by Klotz et al.
○ Values in Table 1.

Curve B. ⊖ In glycine solution.
△ In 0.6 M malonic amide solution.

Curve C. In the presence of 2 M urea.

○ In 2 M urea solution.
⊙ In 2 M urea solution preceded by 6 M urea treatment.
× In 1 M urea solution.

Table 3. Binding of methyl orange to serum albumin in 2 M urea solution (pH 7.4)

	Control	Sample
Concn. of albumin (M)		4.10×10^{-5}
Original concn. of MO (M)	20.0×10^{-5}	20.0×10^{-5}
Equilibrium concn. of free dye (M)	13.4×10^{-5}	12.2×10^{-5}
Bound dye (gram M) $(A_0 - A) \times 15 \times 10^{-3}$	18.0×10^{-8}	
Bound dye (M)/Protein (M)	0.90	
Dye fixed by membrane (gram M)	-0.1×10^{-8}	

この場合はセロファン膜に対する色素の結合もまた認められない。

c. 2 M 尿素溶液中におけるアルブミンと MO との結合

内液にアルブミンの 2 M 尿素溶液, 外液に MO の 2 M 尿素溶液をいれて透析平衡させた。その結果の一例を Table 3 に示し, またこのほかにくりかえし行つた実験結果を図示すると Fig. 1 の C 曲線のようになる。

即ち 2 M の尿素溶液中では, MO とアルブミンの結合はおこる。但し結合量は磷酸塩溶液中における 1/2 たらずである。セロファンに対する色素の結合はなお認められない。

なおアルブミンと MO とを 6 M 尿素中で透析平衡させた後, その透析内器 (液量 5 ml) を MO の磷酸塩溶液 (10 ml) 中にうつし, 再び透析平衡させて尿素の濃度を 2 M とした場合の MO の結合量 (Fig. 1 の◎印) を求めたが, よく Fig. 1 の C 曲線上についでいる。即ち尿素の影響は可逆的であることがうかがえる。

d. アルブミン—MO 結合系に対する尿素 (6 M) の影響

6 M 尿素溶液中ではアルブミンと MO は結合しえないことは実験 I. b に明かであるが, 既に出来あがつたアルブミンと MO との結合はどうなるかをみるために次のような実験を行つた。

I a と同様にして磷酸塩緩衝液中でアルブミンと MO を結合させると, 透析内器で 36.9×10^{-8} M の色素が蛋白と結合する (Table 4)。この透析内器をとり出し, 外面に附着している色素溶液を濾紙でよくふぎと

Table 4. Influence of urea (6 M) on the preformed combination between albumin and methyl orange

After serum albumin and MO were subjected to equilibrium dialysis against phosphate buffer, the inside cell with albumin solution was taken out from the outside cell and put into another containing MO dissolved in 9 M urea. The new system was again brought to equilibrium by dialysis. Concentration of urea would become 6 M at equilibrium. Values in this table inform that 32.4×10^{-8} M out 36.9×10^{-8} M of MO which had been bound to albumin in phosphate buffer was set free in 6 M urea.

	In phosphate buffer (System I)		In 6 M urea soln. (System II)	
	Control (A_0)	Sample (A)	Control (A_0)	Sample (A)
Original concn. of MO in outside cell (M)	19.91×10^{-5}	19.91×10^{-5}	19.78×10^{-5}	19.78×10^{-5}
Concn. of albumin (M)		3.68×10^{-5}		3.68×10^{-5}
Equilibrium concn. of free dye (M)	9.16×10^{-5}	6.70×10^{-5}	16.56×10^{-5}	18.72×10^{-5}
Bound dye $(A_0 - A) \times 15 \times 10^{-3}$ (gram M)	36.9×10^{-8}		-32.4×10^{-8}	
Bound dye (M)/protein (M)	1.84			
Dye fixed by membrane (gram M)	61.8×10^{-8}		57.0×10^{-8}	

* Total dye in System II = Dye brought from System I to II + Dye added into the outside cell of System II = $(61.8 + 9.16 \times 5) \times 10^{-8} + 197.8 \times 10^{-8}$ (M) = 305.4×10^{-8} (M). If the dye is existing entirely in free state, equil. concn. of it will be 20.36×10^{-5} (M). Dye fixed by membrane = $(20.36 - 16.56) \times 15 \times 10^{-3} = 57.0 \times 10^{-8}$ (M).

り、別に用意した MO の 9 M 尿素溶液 (色素濃度 = 19.78×10^{-6} M) 10 ml を入れた外器中に浸す。しかる後に平衡に達せしめると 10 ml の 9 M 尿素溶液は 15 ml にうすまるため、尿素の濃度は全体として 6 M となる。

外液を単なる 9 M の尿素溶液とせず、特に MO を加えたのは、外液に MO がなければ尿素の作用をまたず、磷酸塩緩衝液中でも蛋白や膜から色素が落ちるからである。

なお対照として蛋白を含まぬ系について全く同様な操作を行う。

ここに注意すべきは、磷酸塩緩衝液中で蛋白と色素とを透析平衡させた系を系 I、その透析内器を色素の尿素溶液を含む外器中に浸した系を系 II とすると、系 II の対照とした系と、蛋白を含む系とで全色素量及び透析はじめの遊離色素量が同じでない*。即ち蛋白系の方が 2.46×10^{-7} gram M だけ全色素量は多く、透析はじめの遊離色素の量は逆に 1.23×10^{-7} gram M** だけ少いことである。従つて対照とした系は厳密な意味では対照といえないかも知れないが、系 II の全色素量は 30×10^{-7} gram M の桁であるから、全色素量にみられる約 10 % の差は平衡後の系 II の色素の配分に著しい影響はないとみてさしつかえない。従つて事実上対照とみて計算を行つた。

以上の実験から Table 4 に示すように、透析後の尿素濃度が 6 M になつた時の遊離色素の濃度は蛋白を含む系の方が対照におけるよりも 2.16×10^{-6} M だけ大きくなつてゐる。しかるに透析前には対照系の方が遊離色素の濃度は大きかつた。従つてこの実験結果は蛋白系中の蛋白又はセロファン膜と結合した色素が脱落して溶液中に入つたことを示す。しかるにこの実験ではセロファン膜と結合している色素が尿素の存在によつてうける影響は、蛋白系においても対照系においても同じとみているから、 2.16×10^{-6} M なる遊離色素の濃度の差は蛋白についていた色素の脱落によつて生じたものである。その量は 3.24×10^{-7} gram M である。しかるに系 I で蛋白についていた色素は 3.69×10^{-7} M であるから、6 M の尿素中では予めアルブミンと結合していた色素が事実上全く離れてしまうといえる。

なおセロファン膜に結合した色素を計算すると、磷酸塩溶液中 6.18×10^{-7} gram M、6 M 尿素中 5.70×10^{-7} gram M となり (Table 4)、セロファン膜に一度結合した色素は 6 M 尿素中に入れても殆んど脱落しないことがわかる。この事実は色素を初めから 6 M 尿素溶液中で透析すると色素は全くセロファンと結合しないことを示した実験 I b の結果と比べると興味深い。即ち一度出来てしまうと、セロファンと MO との結合は 6 M 尿素に対して安全であるが、結合の形成は 6 M 尿素によつて妨げられる。

実験 II グリシン及びマロン酸アミド溶液中におけるアルブミンと MO との結合

尿素水溶液は水に比較してその透電恒数が大きく、尿素 1 モルにつき水の透電恒数を 2.7 増大せしめる。ある系の透電恒数が増大すると、その系の中における静電的引力は弱められる。一方アルブミンと MO との結合はイオン性のものが主体と考えられているので⁴⁾、尿素が透電恒数を高めることも尿素がアルブミンと MO との結合を妨げることに関係ありそうに思える。但し 6 M 尿素中で静電的引力は水溶液中の約 8 割余に落ちるにすぎない。従つてこれが決定的な効果を及ぼすとは考えられないが、効果の程度を知るために、グリシン (透電恒数増加 22.6/M) 及びマロン酸アミド (透電増加 4.3/M) 溶液中におけるアルブミンと MO の結合をしらべた。

a. グリシンの影響

グリシンは水の透電恒数を著しく増大するものとして知られているが、Klotz⁵⁾によると血清アルブミンの MO 結合量はグリシン溶液中で最も大きく、かつ磷酸塩緩衝液中におけるアルブミンの MO 結合量はグリシンを加えると増す。われわれは追試の意味で 0.7 M のグリシン溶液中における MO とアルブミンとの結合量を MO のいろいろの濃度で測定し、Klotz 等と全く同様な結果を得た。即ち Fig. 1 の曲線 B に示

* 系 I を系 II に移した際、系 I の外器中に残る色素量から計算。

蛋白系 $6.70 \times 10 \times 10^{-8}$ M, 対照系 $9.16 \times 10 \times 10^{-8}$ M

** 系 I の透析内器中の色素濃度から計算。

蛋白系 $6.70 \times 5 \times 10^{-8} = 3.35 \times 10^{-7}$ M, 対照系 $9.16 \times 5 \times 10^{-8} = 4.58 \times 10^{-7}$ M

すように、0.7 M のグリシン水溶液は尿素の 6 M 溶液に相当する透電恒数を有するにもかかわらず、MO はアルブミンに対し磷酸塩溶液中におけるよりもはるかに大きい結合力を示している。即ちグリシンの場合透電恒数が増加しても結合を弱める効果は現われなかつた。

b. マロン酸アミド (CH_2CONH_2) の影響

マロン酸アミドは 0.6 M 溶液を用いた。この透電恒数の増加は 2.6 で尿素 1 M 溶液と同じである。MO の結合量は $\kappa = 1.09$ (平衡色素濃度 $\approx 54 \times 10^{-7} \text{ M}$) で、Fig. 1 の曲線 A (磷酸塩溶液中における結合量) の下方 Δ で示す位置にあり、磷酸塩溶液中における結合量 $\kappa \approx 1.7$ に比べ有意の減少を示している。一方これと同じ透電恒数増加を示す 1 M 尿素溶液中の結合量は甚だ少なく、Fig. 1 の $\times$ で示す位置にあり大体曲線 C (2 M 尿素溶液中における結合量) 上にある。マロン酸アミドは溶解度が小さいので、これ以上の濃度で実験を行うことはできなかつた。

これらのことを総合するとマロン酸アミド溶液中におけるアルブミンの MO 結合量の減少には透電恒数増加の影響が与つていると思えないこともないが、尿素の場合には透電恒数増加の影響などは無視しうるような大きな原因が他にある。それは多分尿素の蛋白変性効果として知られている蛋白分子の形を著しくかえる作用であろう。またグリシンの場合には透電恒数の増加による結合量の減少を補つて余りあり、結合量を増加させるような因子の存在が予想される。この因子はグリシンが両性イオンであることではないかと思われるが、これについてはあらためて実験する予定である。

実験 III 魚介肉“アクトミオシン”と MO 及び MB との結合に及ぼす尿素の影響

a. 6 M 尿素溶液中における“アクトミオシン”と色素との結合

“アクトミオシン”についてはさきにイカ肉“アクトミオシン”と MO との結合が、1 M 及び 3 M 尿素溶液中では減少し、6 M 尿素溶液中では全く阻止されることをみた¹⁾。今回はマアジ及びスルメイカ肉より抽出した“アクトミオシン”を用い実験 I b と同様な方法で 6 M 尿素溶液中における MO 及び MB との結合をしらべた。

Fig. 2. Influence of 6 M urea upon binding of MO and of MB with horse mackerel "actomyosin".

- MO in phosphate buffer,
- MO in 6 M urea,
- △ MB in phosphate buffer,
- ▲ MB in 6 M urea.

Fig. 3. Influence of 6 M urea upon binding of MO and MB with squid "actomyosin".

- MO in phosphate buffer,
- MO in 6 M urea,
- △ MB in phosphate buffer,
- ▲ MB in 6 M urea.

Fig. 2 はアジ“アクトミオシン”の 6M 尿素溶液及び磷酸塩溶液中における MO 及び MB との結合を、色素の濃度をいろいろにかえて測定した結果を示したものである。Fig. 3 はイカ“アクトミオシン”についての結果である。

図に明かなようにいずれの場合も 6M の尿素溶液中では色素との結合は著しくおさえられ、殊に MO についてはアジでもイカでも全く結合が認められない。

MB の場合も尿素の存在で結合は抑えられるが、なお幾分結合することが明かに認められる。またその結合量は実験の範囲では、アジよりもイカの場合の方が大きいようである。

b. 尿素変性の可逆性

アクトミオシン* は尿素変性によつて分子の変形⁸⁾及び分裂⁷⁾がおこること、また尿素変性後尿素を透析して除くと、塩溶液に対する溶解性を失う⁸⁾といわれる。

しかし血清アルブミンと MO との結合に関しては尿素の作用は可逆的のように思える。即ち実験 I c にみるように、6M 尿素溶液にとかしたアルブミンを MO を含む磷酸塩溶液と透析平衡させ、尿素の濃度が 2M となるようにすると、最初から 2M の尿素溶液中で行つたものと同じ結合量を示す。

同様に“アクトミオシン”の MO との結合のさいにも、尿素の作用は可逆的であるか否かを次のようにしてしらべた。即ちコイの“アクトミオシン”を 6M 尿素溶液に溶解し、24 時間放置した後、多量の磷酸塩緩衝液に対して透析し、尿素を除去した後 MO との結合量を測定した。結果は Fig. 4 に示すように尿素との接触がこの程度の時間であるなら、尿素を透析除去した後の“アクトミオシン”は native のものと同程度の結合量を示している。即ち MO との結合に関する限り尿素の影響は可逆的であると考えられる。

Fig. 4. Binding of MO with carp "actomyosin" either native or recovered from urea solution.

○ Native × Recovered

摘 要

尿素は血清アルブミンと MO との結合の生成を妨げるばかりでなく、既に出来あがつている結合をも切るという KLOTZ 等が血清アルブミンと MO を混合した際の吸収スペクトルの変化からえた事実を平衡透析法によつて追試確認すると共に、魚介肉“アクトミオシン”と MO 及び MB の結合に対する尿素の影響をしらべて次のような結果をえた。

1. 6M—尿素中では血清アルブミンと MO との結合はおこらない。また既成の結合も破られる。透析膜として用いたセロファンと MO の結合も 6M 尿素中ではおこらない。しかし既に出来あがつている結合は 6M 尿素中に持ち来しても殆んど破れない。

2. 2M—尿素中ではアルブミンと MO との結合は著しく減るが、結合は明かに行われている。アルブミンの 6M 尿素溶液を磷酸塩緩衝液で透析し、尿素の濃度を 2M とした場合も、初めから 2M 尿素溶液を用いた場合も MO の結合量はちがわない。

3. 0.6M マロン酸アミドと 1M 尿素とは水の透電恒数の増加からみると同等の効果があるにかかわらず、マロン酸アミドはアルブミンと MO との結合を多少妨げるだけであるが、尿素は著しく妨げる。従つて尿素の妨害作用は透電恒数の増加だけで説明はできない。

4. アジ及びイカ“アクトミオシン”は 6M 尿素中では MO とも MB とも結合しない。

* 引用した文献にはミオシンと記載されているが、現在の命名法ではアクトミオシンとすべきものである。

2M 尿素中では結合量はへるが、結合は行われる。

この場合今回の実験条件のもとでは、MO よりも MB, またアジよりもイカ “アクトミオシン” の方が結合し易いようである。このようにして MB と結合するばかりでなく、この結合は MO の場合よりも尿素の影響を受けることの少いことは、魚介肉 “アクトミオシン” が血清アルブミンと異なる特性の一つである。

5. コイ “アクトミオシン” の 6M 尿素溶液を 24 時間透析し、尿素を除いた後 MO との結合量をしらべると、尿素処理をしないものと同じである。2 及び 5 の結果から蛋白と MO との結合に対する尿素の作用は可逆的である。

文 献

- 1) 右田正男・大竹茂夫: 本誌, **22**, 266 (1956).
- 2) KLOTZ, I. M., TRIWUCH, H. and WALKER, F. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 2935 (1948).
- 3) BEILSTEIN: *Handbuch d. Org. Chem.* II. p. 582 (1920).
- 4) KLOTZ, I. M., WALKER, F. M., and PIVAN, R. B.: *J. Am. Chem. Soc.* **68**, 1486 (1946).
TERESI, J. D.: *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 3972 (1950).
- 5) KLOTZ, I. M. and URQUHART, J. M.: *J. Phys. & Colloid Chem.* **53**, 100 (1949).
- 6) MURALT, A. L. von and EDSALL, J. T.: *J. Biol. Chem.*, **89**, 375, 351 (1930).
- 7) WEBER, H. H.: *Ergeb. physiol.*, **36**, 109 (1934).
- 8) GREENSTEIN, J. P. and EDSALL, J. T.: *J. Biol. Chem.* **133**, 397 (1940).