魚肉アクトミオシンの粘度に関する研究—II.

試料の保存による粘度変化

右田正男・鈴木たね子

(1959年6月30日受理)

STUDIES ON THE VISCOSITY OF FISH ACTOMYOSINS—II.

VISCOSITY CHANGE OF CARP ACTOMYOSIN
SOLUTION ON STORAGE

Masao MIGHTA and Tane-ko SUZUKI*

Intrinsic viscosity of a fibrous molecule is equal to reduced viscosity, η_{sp}/c , as both concentration, c and velocity gradient, $\bar{\beta}$, approach zero; thus $[\eta] = (\eta_{sp}/c)_{c \rightarrow 0, \bar{\beta} \rightarrow 0}$.

A tilting viscometer, as reported in the previous paper¹⁾, affords a convenient method for measuring viscosities at varying velocity gradients, but the method requires some 90 minutes for working out a whole measurement. Thus in the present experiment, stability of carp actomyosin solutions are examined, intending to know whether a stock solution could be used in the viscosity measurement as in the case of rabbit actomyosin.

Stock solutions (0.3~0.5% solution of carp actomyosin in 0.6M KCl) were stored at 2~4°C and 20°C respectively, for 0, 1, 3, 4, 24 hrs., and the solutions were diluted to a definite concentration (0.118%), relative viscosity being measured under varying velocity gradients. When stored at 2~4°C, the viscosity was found to have decreased after 1 hr. and went on to decrease up to 3 hrs., approaching a limiting value (Table 1). When stored at 20°C, relative viscosity of carp actomyosin solution remained unchanged at least within 4 hrs., but after 24 hrs. a considerable decrease in viscosity was observed (Table 1).

The same results were obtained in the similar experiments with the solutions diluted prior to storage to desired concentrations.

Rabbit actomyosin solution stored at 2°C for 24 hrs. showed no change in viscosity (Fig. 4).

Actomyosin prepared from carp muscle stored at 0°C for 24 hrs. gave the same viscosity as that extracted from the muscle immediately after death (Fig. 8).

Carp actomyosin prepared by 24 hr. extraction gave a lower viscosity than that by 3 min. extraction (Fig. 5).

Carp actomyosin solution showed a decrease in intrinsic viscosity from 4 to 2 after 24 hr. storage (Fig. 1) which corresponds to reduction in the axial ratio from 70 to 50 in the case of a prolate. This considerable decrease in asymmetry of the solute molecule may possibly cause decrease in both structural viscosity and inter-molecular interaction. Actually there was observed decrease in slopes of the curves XZ and XY in Fig. 1, which represent the relations of $(\eta_{sp}/c)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$ and $(\eta_{sp}/c)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$ respectively. The decrease in viscosity of the solution on storage, however, could not be attributable to dissociation of actomyosin into actin and myosin, since in salting-out curves the peak corresponding to actin failed to be observed with the both samples, the freshly prepared and stored solutions (Fig. 7).

The value of η_{sp}/c usually decreases with concentration, c , but abnormal cases were occasionally experienced with stored actomyosin solution. Thus η_{sp}/c took a minimum value

* 東海区水産研究所 (Tokai Reg. Fish. Res. Lab. Chūō-ku, Tokyo, Japan).

東海区水産研究所業績 B 第 320 号

at a certain concentration (Figs. 2 and 3). A series of experiments carried out monthly revealed that this abnormal behavior in viscosity was found always with carps in July and August, and sometimes with carps in June (Table 2).

An obvious difference in viscosity behavior was observed also among freshly prepared actomyosin solutions from rabbit and from carps of the two types (Fig. 10). Thus in rabbit, $\ln \eta_r/c$ is independent on concentration c , in normal carps increase in $\ln \eta_r/c$ is proportional to c , and in summer carps, the increase is greater than proportional to concentration.

前報¹⁾において、われわれはアクトミオシンのような糸状の分子ではその溶液の粘度は濃度によつて変るのみならず、流速によつても変化するので、特に試料を特徴づける量の一つとして粘度をはかるときは $[\eta]_{\frac{c \rightarrow 0}{\bar{\beta} \rightarrow 0}}$ を求めるべきであること、及び傾斜型粘度計を用いることによつて、この目的を簡単にはたすことができることを述べ、かつ $[\eta]_{\frac{c \rightarrow 0}{\bar{\beta} \rightarrow 0}}$ を求めるに必要な手段として途中にえられる $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$ の関係は定性的に分子の形および分子間の相互作用の強弱を推定するのに役立つことを論じた。但しこの方法にしたがつて粘度を求めようとすると一連の測定が終るまでに約 60~120 分を必要とするので、この間魚肉アクトミオシンが粘度的に安定であることが必要である。前報においてはアクトミオシンの 0.6 M KCl 溶液を 10°C に放置した場合に溶液は数時間安定であることを報告した。ウサギーアクトミオシンについては、しばしば従来の研究者はまず Stock solution を調製し、これを数日間冷蔵し、その間必要に応じて、あたえられた濃度にうすめて粘度の測定を行なっている。このようなことが魚肉アクトミオシンについても適用されるかどうか。この問題の検討は、粘度の測定にあたつて実験操作にいか程の余裕を持たせることができるかを知るために必要であり、また保存中における蛋白の変性についても智識がえられるので、特にこれらの点について実験を行なつた。

実験方法

実験材料……コイ、シロウサギ

アクトミオシンの抽出……コイの場合は前報¹⁾にならい、0.6 M KCl で 3 分間ブレンダーで抽出を行ない、水にてイオン強度 0.2 になるよううすめて沈澱させた。

ウサギの場合は、肉の 10 倍量の 0.6 M KCl, 0.01 M Na_2CO_3 , 0.04 M NaHCO_3 溶液を加え、24 時間低温で攪拌抽出を行ない、水を加えイオン強度 0.2 にしてアクトミオシンをおとした。

粘度の測定……傾斜型粘度計を用いて相対粘度、乃至固有粘度 $[\eta]_{\frac{c \rightarrow 0}{\bar{\beta} \rightarrow 0}}$ を求めた。

実験結果

(I) コイ・アクトミオシンの溶液の保存による粘度変化

(i) Stock solution を測定に際して所要濃度にうすめて用いた場合

コイ・アクトミオシンの 0.3~0.5% の 0.6 M KCl 溶液を調製し、直ちに一定温度に 24 時間保存し、その間適当の濃度にうすめて相対粘度をはかり、また $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$ の関係を求めた。

実験 1……Stock solution を調製直後および 2°C に 24 時間保存したものについて $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$ および $[\eta]_{\frac{c \rightarrow 0}{\bar{\beta} \rightarrow 0}}$ をもとめた。

その結果は Fig. 1 にみられるとおり 24 時間後の $[\eta]$ は調製直後よりも減少し、 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$ および $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$ の関係を示す曲線 XY および XZ は明らかにねてくる。

実験 2……保存温度 2°C および 20°C, 保存時間 0, 1, 3, 4, 24 時間の粘度変化を測定した。ただし、この場合は、いろいろの c における $\frac{\eta_{sp}}{c} \sim \bar{\beta}$ の関係、およびいろいろの $\bar{\beta}$ における $\frac{\eta_{sp}}{c} \sim c$ の関係を求めることは時間的に余裕がないので、濃度を一定にし、流速をかえた場合の相対粘度の時間的変化を追求する

のみにとどめた。その結果は Table 1 にみられるごとく 2~4°C の低温度に保存すると調製後 1 時間にしてすでに粘度の低下がみられ、調製後 3 時間まで急速に減少し、その後はほとんど変らない。しかるに 20°C に保存すると、調製後 4 時間までは全く粘度に変化がみられないが、24 時間後にはかなり減少している。

(ただしこの実験では調製後 4 時間から 24 時間の間は測定していない。)

実験 3……実験 1, 2 の結果を多数の試料について追試を行なっている間に、アクトミオシン溶液の粘度の時間的变化は常に、実験 1 にみられるように $\frac{\eta_{sp}}{c}$ が c の減少とともに、ただ単純に減少するもののみでなくて、あるコイから抽出したアクトミオシンでは溶液を保存しておくとき異常な粘度変化を示す場合があることが明らかとなった。この点を精査するために、この種の試料の Stock solution をそれぞれ 2~4°C および 20°C に保存し、調製直後、1 時間、2 時間 30 分~3 時間、24 時間後の $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$ の関係を求めると Fig. 2 および Fig. 3 に示す結果がえられた。

Fig. 2 は 2~4°C に保存した場合の結果であつて、調製後 2 時間半を経過した溶液では、濃度の低いところ (例えば 0.05% 以下) では濃度が小さくなると還元粘度 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ は逆に増し、 $\frac{\eta_{sp}}{c} \sim c$ (または $\frac{\ln \eta_r}{c} \sim c$) 曲線に極小点が現われる。このような現象は調製後 24 時間、48 時間、2~4°C に保存された溶液についてもみられる。

20°C に 4 時間保存した試料についても同様な結果がえられた (Fig. 3)。20°C に 24 時間以上保存したものは沈澱を生じ、すでに変性していると思われるので、48 時間放置の試料については、粘度の測定を行なわなかつた。

Fig. 1. Viscosity of carp-actomyosin solution (0.6 M KCl) before and after 24 hour storage at 2~4°C.

A. Before storage, $[\eta] = 4.0$

B. After storage, $[\eta] = 1.8$

Table 1. Change of relative viscosity of carp-actomyosin on storage.

$\bar{\beta}$	A				
	Time of storage (Hour)				
	0	1	3	4	24
0	1.75	1.68	1.58	1.58	1.57
50	1.75	1.68	1.58	1.58	1.57
70	1.72	1.68	1.58	1.58	1.56
100	1.72	1.68	1.58	1.58	1.56
150	1.71	1.67	1.55	1.55	1.54
200	1.70	1.65	1.53	1.53	1.52

$\bar{\beta}$	B				
	Time of storage (Hour)				
	0	1	3	4	24
0	1.75	1.75	1.75	1.75	1.34
50	1.75	1.75	1.76	1.75	1.35
70	1.75	1.75	1.76	1.75	1.35
100	1.72	1.72	1.72	1.73	1.35
150	1.71	1.70	1.71	1.71	1.33
200	1.70	1.70	1.70	1.70	1.33

Protein concentration 0.118%

A....Storage at 2~4°C

B....Storage at 20°C

Fig. 2. Change of viscosity of actomyosin solution prepared from summer carp on storage.

A. Before storage. $[\eta] = 2.8$

B. After storage for 1 hour at $2\sim 4^{\circ}\text{C}$

$[\eta] = 3.0$

C. After storage for $2\frac{1}{2}$ hours at $2\sim 4^{\circ}\text{C}$

D. After storage for 24 hours at $2\sim 4^{\circ}\text{C}$

にただ単純に減少する場合と、ある濃度のときに最小となる場合とがあり、そのいずれが現われるかは全く試料の条件（後述）によるものであつて、同一条件の試料は (i) の場合も、(ii) の場合も同様な粘度変化を示した。

保存中還元粘度が単純に減少する場合は $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ に保存されたものは、 20°C に保存されたものよりも調製後 4 時間までは粘度の低下が大きいことも (i) の場合と同様である。

(II) 試料によるコイ・アクトミオシン溶液の粘度変化の相異

コイ・アクトミオシン溶液は上述のように試料によつて保存中に還元粘度が濃度とともに下る場合と、ある濃度の時最小となる場合がある。今仮りに前者を正常型、後者を異常型とよぶと、はじめて異常型の現われたのは夏季に実験したものであつて、冬季の実験例の中にはみられなかつた。すなわちどの型が現われるかは魚の個体差でなく季節差によるらしく思われる。この点をたしかめるために年間を通じ、毎月 1~4 回コイのアクトミオシンを抽出し、 0.6M KCl 溶液とし、これを放置した場合の粘度変化を追つたところ、 $\frac{\eta_{sp}}{c}$ の関係に極小点が出るものは 7~8 月のコイを試料としたものであり、6 月のコイは極小点が現われるものと現われないものとがあつた。試料としたコイは、購入後直ちに殺したもので、約 1 週間畜養（ただし餌は与えない）し、安静状態にしてから用いたものもあるが、これらの影響は認められない。購入先で調べたところ養魚場における飼育方法は 1957 年から現在まで変つていない。したがつて粘度に上記の異常がおこ

Fig. 3. Change of viscosity of actomyosin solution prepared from summer carp.

—●—, Before storage

—○—, After 4 hour storage at 20°C

(ii) 所要濃度に稀釈した溶液を保存した場合

(i) においては、Stock solution として一定濃度のものを保存し、必要に応じてうすめたが、最初から粘度測定に必要な濃度（約 $0.03\sim 0.15\%$ のもの 4 点）の溶液を調製し、そのまま保存して一定時間後にとり出し、(i) と同様に粘度を測定した。

その結果は (i) の場合と全く同様であつた。

すなわち、溶液の保存中還元粘度が濃度とともに

るのは全く季節的影響によるコイの生理的变化とみて差支えない (Table 2)。

(III) ウサギアクトミオシン溶液の保存中における粘度変化

ウサギアクトミオシン溶液ではイオン強度が低い場合 ($\mu = 0.4 \sim 0.8$) には PORTZEHL²⁾ 等によると数日間の保存によつて、粘度の低下はほとんどみられない。PORTZEHL 等は $\bar{\beta}$ のごく高いところ ($\bar{\beta} = 2000$) で粘度を測定しているが、 $\bar{\beta}$ を 0 に外挿した時の粘度を測定するわれわれの方法においても、はたして同様なことがいえるか否かを検討するため、0.1~0.04% の間で 4 点の濃度を調製し 2°C に保存、調製直後と 24 時間後の $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$ の関係をもとめた。結果は Fig. 4 に明らかなように調製直後も 24 時間後も固有粘度 $[\eta]_{\bar{\beta} \rightarrow 0}$ および $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{\beta} \rightarrow 0} \sim c$ の関係に全く変化がみられなかった。

(IV) 24 時間抽出によるコイアクトミオシン溶液の保存による粘度変化

従来文献によるウサギアクトミオシンは、24 時間抽出によつて調製されている。しかし、われわれが上記の実験に用いたコイアクトミオシンは 3 分間抽出によつて調製されたものである。コイ肉の場合は抽出される蛋白の組成が抽出時間の長短によつてウサギの場合ほど著しい影響をうけることはないにしろ、何か影響がありはしないかと考え、24 時間抽出によつて調製したコイアクトミオシンについて前記と同様な実験を行なつた。同一コイを用いて、片身はブレンダーによる 3 分間抽出を行ない、他はブレンダーにより細かくした肉に 0.6M KCl を加え、24 時間 2~4°C でゆるやかに攪拌し抽出した。ただし 24 時間抽出をしたものは抽出残渣の外に不溶性のものが上澄中にできたので遠心分離によりこれを除去してからアクトミオシンを沈澱させた。結果は Fig. 5 に示されるが、3 分抽出アクトミオシンの固有粘度 $[\eta]$ は 24 時間経過すると 4.2 から 3.6 に減少し、24 時間アクトミオシンでは 2.2 より 1.0 に減少した。すなわち少なくとも用いた試料については 24 時間アクトミオシンは 3 分アクトミオシンより調製直後の粘度も低く保存中における粘度の減少が顕著のようである。この結果は 24 時間抽出の場合は 3 分間抽出の場合に比し、溶出したアクトミオシンが長時間溶液状態におかれていることを考えれば容易にうなずける。なお 24 時間抽出のアクトミオシン溶液の $[\eta]$ は調製直後でも、3 分間抽出のアクトミオシン溶液を 24 時間保存した時の $[\eta]$ よりも低いことは、24 時間抽出をつづけることにより、

Table 2. Seasonal change of viscosity behavior of carp-actomyosin solution

Exp. date	History of sample	$\frac{\eta_{sp}}{c} \sim c$	$[\eta]$
Oct. 14, 1957	M → L	Normal	4.5
" 28, "	"	"	3.7
Nov. 12, "	"	"	4.8
May 24, 1958	M → A → L	"	4.0
" 28, "	"	"	3.0
June 3, 1959	M → L	Abnormal	4.0
" 6, 1959	"	Normal	4.2
" 30, "	"	Abnormal	3.4
July 22, "	"	"	4.0
" 25, "	"	"	/
Aug. 4, "	"	"	/
" 6, "	"	"	/
" 12, "	"	"	/
" 15, "	"	"	4.8
Sept. 24, "	"	Normal	2.0
Oct. 2, "	"	"	4.8
" 6, "	"	"	4.2

M...Market, A...Aquarium, L...Laboratory

Fig. 4. Viscosity of rabbit actomyosin solution (0.6M KCl) before and after 24 hour storage at 2~4°C.

$$- \times - \frac{\ln \eta_r}{c}, \quad - \circ - \frac{\eta_{sp}}{c}$$

A....Before storage B....After storage

Fig. 5. Change of viscosity of actomyosin solution prepared from carp with different extracting time.

3 min-actomyosin { A_0 Before storage
 A_{24} After storage for 24 hours at 2~4°C
 24 hour-actomyosin { B_0 Before storage
 B_{24} After storage for 24 hours at 2~4°C

3 分間抽出のものとは、蛋白の組成が違っているのであろう。

(V) アクトミオシン溶液の塩析曲線

コイーアクトミオシン溶液の保存中にみられる粘度変化が蛋白組成の変化に因るものか否かをみるために、塩析曲線の変化をしらべた。一定量の蛋白溶液に濃度の異なる一列の硫酸溶液を加え 24 時間放置後、濾過し、濾液の波長 278 $m\mu$ における吸光度 (S) を測定し、 $S \sim C$ (硫酸濃度) 図を作り、図上 $-4S/AC$

を求め硫酸濃度に対し図示した³⁾ (Fig. 6, 7)。

(i) ウサギアクトミオシン

ウサギアクトミオシンの 0.6M KCl 溶液調製直後の塩析曲線は Fig. 6A のごとくなり, 硫酸濃度 32~38% にみられる山はアクトミオシン, 40~45% にみられる山はミオシンと推定される。溶液を 2°C に 24 時間放置した後は Fig. 6B のごとく, アクトミオシンおよびミオシンと推定される 2 つの山の分離は前ほどはつきりしなくなる。ただし η_r の値は Table 3 にみられるように溶解直後と 24 時間後とで全く変っていない。しかし 2°C に 48 時間放置するとわずかに沈澱を生じ, この沈澱を除去し塩析曲線をもとめると, アクトミオシンの山は平坦になり, 硫酸濃度 50~60% に新しい山が現われた (Fig. 6C)。

Fig. 6. Salting-out curves of rabbit-actomyosin solution.

S....Extinction at 278 mμ; C....Percent (v/v) of saturated ammonium sulfate solution.

A....Before storage; B....After storage for 24 hours at 2~4°C; C....After storage for 48 hours at 2~4°C

* この値は SNELLMAN 等³⁾の 28~32% に比べるとやや高いが, YASUI 等 (*J. Biochem.*, 45, 717 (1957)) の 28~38% の枠には入る。われわれの試料は“稀釈-沈澱法”による再精製を施されていないが, 抽出条件からいつてアクトミオシンを主成分としていることは疑ない。

Fig. 7. Salting-out curves of carp-actomyosin solution.
A.....Before storage. B.....After storage (2°, 24hrs.).
S and C are same as in Fig. 6.

(ii) コイアクトミオシン

溶解直後のコイアクトミオシンの塩析曲線をもとめると Fig. 7A に示されるように、硫酸濃度 33 ~ 38% にアクトミオシンの山がみられ、さらに 50 ~ 60% の間に低い山がみられる。2°C に 24 時間放置すると粘度はいちじるしく減少する (Table 3) が、塩析曲線 (Fig. 7B) は山が多少高濃度域にずれた程度で本質的な変りはみられない。

(VI) 肉を 0°C に保存した場合の粘度変化

コイアクトミオシン溶液の粘度は前述のように保存中に変化する。したがって一連の実験を行なう場合、Stock solution を用いることができない不便がある。そこで Stock solution の代りに肉のまま冷蔵した場合を検討した。

即殺したコイの片身を用いて直ちにアクトミオシンの抽出を行ない、残りの片身をポリエチレンの袋に入れ氷で 0°C に保存し、24 時間および 48 時間

後にとり出し、対照 (保存前) と全く同一の条件で抽出を行ない、それぞれのアクトミオシン調製直後の粘度を測定した。結果は Fig. 8 に示すように、0°C に 24 時間保存した肉を原料とした場合は、対照と粘度的には同一なアクトミオシン溶液を作ることができる。したがって一連の実験に長時間を要するときは、試料を溶液として保存せず、肉のまま 0°C に保存し抽出条件を一定にして作った試料を用うべきである。

Table 3. Specific viscosity of sample solution used in salting-out analysis

Sample	Protein concentration	Time of storage	$\bar{\beta}$	η_{sp}
Carp	0.3%	0	50	2.00
			60	1.95
			80	1.85
		24	60	1.27
			80	1.27
			100	1.26
Rabbit	0.2%	0	65	1.20
			90	1.06
			120	1.04
		24	65	1.20
			90	1.06
			120	1.04
	0.04%	48	65	0.40
			90	0.40
			120	0.48

Fig. 8. Viscosity of actomyosin solution prepared from carp muscle stored at 0°C.

A....Before storage. B....After storage for 1 day.
C....After storage for 2 days.

考 察

コイアクトミオシン溶液を24時間放置すると、Fig. 1 にみるように固有粘度は4から2以下に下り、同時に曲線 XZ および XY の傾きは水平に近づいてくる。固有粘度4は分比容 (partial specific volume) 0.75, 水和 33% の細長い回転ダ円体においては軸比 70, 固有粘度2は50に相当する。したがってコイアクトミオシン溶液を24時間放置すると、アクトミオシン分子の非対称度はかなり減少することがわかる。分子の非対称度が減少すれば、よく知られているように構造粘性は減少し、また分子間の相互作用も減少すると考えられる。このことは曲線 XZ および XY の傾きがゆるくなっていることに示されている。何故ならば前報に論じたように、曲線 XZ の傾きは、 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{v}$ の関係、すなわち濃度の影響の全くない条件の下で還元粘度が流速によって、どの程度変るか(構造粘性の程度)を示し、曲線 XY の傾きは $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\bar{v} \rightarrow 0} \sim c$ の関係、すなわち流速が全くないような条件の下で還元粘度が濃度によってどの程度変るか(分子間の相互作用の程度)を示し、両曲線が水平に近づくことは、それぞれ構造粘性および分子間相互作用の減少を意味するからである。

分子の非対称度の減少の原因としては、分子の side to side の集合、あるいは糸状分子がより丸まった形になることが考えられるが、そのいずれかを知るには粘度測定の結果だけではできない、別に分子量、分子のひろがりを知る必要がある。

なお、アクトミオシンの場合にはアクトミオシン $\rightleftharpoons$ アクチン + ミオシンなる解離も、放置による粘度低下の原因ではないかと一応考えられぬこともない。しかしコイアクトミオシン溶液の塩析曲線をみると、調製直後と24時間放置後の溶液では山の形に多少のちがいはあるが、いずれもアクトミオシンおよびミオシンと推定される山からなり、もし放置後の溶液中に上記のような解離がおきていたとすれば、硫酸濃度 10~20% のところに当然予期されるアクチンの山は全く認められない。すなわち粘度の低下をアクトミオシンの解離によるものとするのはできない。

分子の非対称度の減少は、その機作がいずれにあれ、分子間の相互作用の減少の原因となりうる。非対称度が減少すると分子が互いに機械的にからみあう機会が少なくなるし、またしばしば分子の表面における活

性基の数の減少を伴うことがあるためである。しかし、コイーアクトミオシン溶液の Methyl-orange との結合量を測定すると溶解直後と 24 時間後とでほとんど差がない⁴⁾。イオン性色素の結合量は分子の表面にあるイオン性基の分布を大ざっぱに示す尺度と考えられる。したがってコイーアクトミオシン溶液の放置による分子間相互作用の減少は分子表面のイオン性基の活性の減少によるものではないらしい。

粘度と濃度との関係

実験 (1) および (2) に明らかなようにアクトミオシンの溶液を放置後還元粘度 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ と濃度との関係を見ると、ウサギ、夏季以外のコイ、夏季のコイの 3 つの型がある。夏季のコイにみられるように粘度と濃度との関係に極小点が現われることは一見異常のようにみられるが、これは粘度を表わすのに還元粘度をとつたため、もし還元粘度の代りに相対粘度 (η_r) をとれば、Fig. 9 に示すように夏季のコイでもウサギでもいづれも濃度がへれば粘度は下る。ただそのへり方がちがうのにすぎない。放置した溶液について $\eta_r \sim c$ の関係を見ると、今回用いた濃度の範囲ではウサギでは直線、夏季以外のコイでは凹型 (concave) 曲線、夏季のコイでは濃度 0.1% 附近に彎曲点をもち、それ以上は凹型、それ以下では凸型 (convex) の曲線となっている。すなわちウサギでは相対粘度が濃度に比例してへり*、夏季以外のコイでは濃度に比例する以上に粘度がおち、夏季のコイでは 0.1% 以下の濃度では粘度のへり方が濃度に比例するよりも小さいにすぎない。

濃度のごく小さいところでは、分子間の相互作用の影響は小さいから、うすめられることによつて粘度に影響を与えるものは、溶質の占める容積の減少と分子の形の変化であろう。溶質の占める容積は大体濃度に比例するから、ウサギの場合濃度のごく小さいところで、 η_r が c に比例しているのは、濃度の減少が粘度におよぼす影響は主として溶質の容積の減少に基くものであつて、溶存しているアクトミオシンの形は溶液の濃度が小さくなつても変つていないのではないかと想像される。これに反してごく低い濃度で粘度が濃度

に比例する以上下る夏以外のコイの場合は濃度が小さくなるとアクトミオシン粒子がまるまつた状態になり、粘度が濃度に比例するよりも高くでる夏の

Fig. 9. Dependence of relative viscosity on concentration for carp and rabbit actomyosins.

Carp (abnormal).....Summer carp
Carp (normal).....Carp in other seasons.

Fig. 10. Dependence of $\frac{\ln \eta_r}{c}$ on concentration for carp and rabbit actomyosins.

* もつと高濃度のところではウサギの場合も凹型曲線となる。

コイでは粒子がひろがつた状態になつてゐるのではないだろうか。ただし、このアクトミオシンの分散状態の変化は、溶液がただうすめられたために起つたものではなく、放置されることによつて生じたものである。何故ならば調製直後の溶液をうすめても上述の粘度変化はみられず、また Stock solution を放置後うすめても、はじめから所要濃度にうすめた液を放置しても同様な粘度変化を示すからである。

粘度に η_r をとり $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0} \sim c$ の関係をみると常に Fig. 10 に示すように夏のコイアクトミオシン溶液は放置後ばかりでなく調製直後においてもウサギや夏以外のコイアクトミオシンと明らかに異なるところがある。すなわちウサギアクトミオシンでは $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0}$ の値は c に関係なく一定、夏以外のコイでは c とともに直線的に変化するが*、夏のコイでは c が増すと $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0}$ の値は c に比例する以上に増す。このことは繰返し行なつた多数の実験によつて確認された。したがつてこのことは実際問題として固有粘度 $[\eta]_{c \rightarrow 0}$ を求めるとき、測定にどの程度時間の余裕をみることができるとを予知するに役立つ。すなわち抽出したアクトミオシンを溶解し、直ちに $\left(\frac{\ln \eta_r}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0} \sim c$ の関係をみてこれが直線関係にあるときは $10 \sim 20^\circ\text{C}$ に保存すれば数時間は粘度が安定であるが、曲線になれば調製直後の溶液について粘度をはかる以外いずれの温度に保存しても、時間の経過とともに、 $\frac{\eta_{sp}}{c} \sim c$ (または $\frac{\ln \eta_r}{c} \sim c$) の関係に極小点が現われ $[\eta]$ を求めることはできない。

摘 要

- 1) コイアクトミオシンの 0.6M KCl 溶液を $2 \sim 4^\circ\text{C}$ に 24 時間保存すると、保存前にくらべて、その $[\eta]$ は減少し、また $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0} \sim c$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$ の関係から、分子の非対称度、分子間の相互作用が減少することが明らかになつた (Fig. 1)。
- 2) 上記の関係は Stock solution として保存し、測定時に所要濃度にうすめても、また最初から所要濃度にして保存しても結果は全く同じであつた。
- 3) ウサギアクトミオシンの 0.6M KCl 溶液を $2 \sim 4^\circ\text{C}$ に 24 時間保存しても保存前と保存後の $[\eta]$ および $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{c \rightarrow 0} \sim \bar{\beta}$, $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0} \sim c$ の関係に全く変化がみられない (Fig. 4)。
- 4) コイアクトミオシン溶液を低温に保存し、保存前と後の溶液の塩析曲線をもとめたが、蛋白組成に本質的な差はみとめられなかつた (Fig. 7)。
- 5) アクトミオシン溶液を放置後還元粘度 $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)$ と濃度との関係をみると、夏季のコイから抽出したアクトミオシンは還元粘度と濃度の関係に極小点が現われ放置したものについては固有粘度を測定することができない (Fig. 2, Table 2)。
- 6) 即殺したコイの肉を 0°C に保存し、抽出条件を一定にして、アクトミオシンを抽出すると、24 時間、肉を保存したものでは保存前と粘度的に全く変化が現われない。故に溶液として低温に保存するよりも肉のまま 0°C に保存した方が粘度的に安定である (Fig. 8)。

実験結果の吟味にさいし有益な御意見をよせられた松本重一郎氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 右田正男・鈴木たね子：本誌，25，127 (1959)。
- 2) PORTZEHL, H., SCHRAMM, G., and WEBER, H. H.: *Z. Naturforsch.*, 5b, 61~78 (1950)。
- 3) SNELLMAN, O., and TENOW, M.: *Biochim, et Biophys Acta*, 13, 199~208 (1954)。
- 4) 右田正男・大竹茂夫：(未発表)。

* $\left(\frac{\eta_{sp}}{c}\right)_{\beta \rightarrow 0} \sim c$ の関係を求めると夏以外のコイでも凹型の曲線となる。