血合筋肉の化学的研究—XIII.

魚類ヘモグロビンおよびミオグロビンのアルカリ抵抗性*

松浦文雄・橋本周久

(1961年12月9日受理)

CHEMICAL STUDIES ON THE RED MUSCLE ("CHIAI") OF FISHES—XIII.
ALKALI RESISTIBILITY OF HEMOGLOBIN AND MYOGLOBIN

Fumio MATSUURA and Kanehisa HASHIMOTO**

Alkali denaturation curves of hemoglobin (Hb) and myoglobin (Mb) of fishes were determined mainly in oxy form under various conditions. The results obtained were as follows.

Denaturation curves of oxy-Hb of the fishes except flathead appeared between those of horse (fairly resistible Hb among mammalian Hb's^{2,10}) and human Hb (least resistible Hb^{2,10}) (Fig. 7). Therefore, there seems to be no clear *inter*-specific specificity of Hb between fishes and mammals in the alkali resistibility. Specificity may be pointed out, however, on the shape of the denaturation curve; the curves of mammalian Hb's were almost straight, indicating that the denaturation was of the first order reaction, whereas those of fish Hb's were not.

The alkali denaturation curves of fish Hb's were different considerably from one another, both in the slope and in the shape of them. Thus the alkali resistibility may be regarded as one of the representations of *intra* specific specificities of fish Hb.

Though Hb's of many fishes showed gently curved lines, those of some fishes such as carp, mullet, big-eye tuna, and chum salmon presented sharply bended lines, just as suggesting that they are consisting of two components different in alkali resistibility. Hb's of carp and mullet are, however, electrophoretically homogeneous⁶. Although two Hb's were seen also on electrophoresis in the case of chum⁶, the proportion of both components as estimated from its denaturation curve was not agreeable with that calculated from the electrophoretic pattern. In addition, as seen in the case of carp (Fig. 6), the shape of the denaturation curve was markedly different at various pH's. Because of these facts, the alkali denaturation method may be not so useful to analysis of multiple Hb's of fish.

Met-Mb of tuna was much more resistant to alkali denaturation than met-Hb of the same fish (Fig. 10). In order to investigate whether the difference in alkali resistance between both pigments of tuna is applicable to the simultaneous determination of them as previously described in the case of human⁷, experimental conditions (such as derived form of pigments, pH, and time of reaction) under which Mb remains native and Hb denatures completely, were looked for in vain (Figs. 9 and 11, Table 1).

ヘモグロビン (Hb) のアルカリ変性に対する抵抗性の強弱の度が動物種によつて異なることが早くから知られ、Hb の種特異性の存在を表わすもつとも簡単な指標の一つとされている。古く REICHERT ら¹⁾ は少数の魚類 Hb につき、そのアルカリ抵抗性が哺乳類の Hb に比べて著しく弱いことを指摘しているが、KRÜGER²⁾ による二、三魚類を含む諸脊椎動物 Hb 間の比較の結果からすると、一概には斯く断定し難いようである。両者間のこの矛盾は、試料魚種の選択および研究方法の相違によるかとも思われるが、いずれにもせよ比較生化学的立場からこの性質における魚類特異性ないしは魚種間の特異性を明らかにしておくべきで

* 本報告の要旨は昭和 36 年 10 月 18 日、日本水産学会大会（鹿児島）において講演した。

** 東大農学部水産化学研究室 (Lab. of Fish. Chem., Fac. of Agr., The Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan).

あると考える。

ところで、Hb のアルカリ抵抗性は同じ動物種でも胎児型と成人型とで、また同一個体の Hb が多成分から成るような場合、それら各成分間でそれぞれ異なる事例³⁾が知られ、これに基づいて同一個体の血液中の胎児、成人両型 Hb を同定あるいは分別定量する試みがなされている⁴⁾。ある種の魚についても、その幼・成体両型 Hb のアルカリ抵抗性がやや異なることが報ぜられている⁵⁾。著者らもさきに魚類 Hb が魚種によつては電気泳動的に必ずしも単一でないことを報告した⁶⁾が、これらの不均一性がアルカリ抵抗性の上にかに反映するかは魚類における多成分系 Hb の研究上にも少なからず参考となるであろう。

一方、ミオグロビン (Mb) に関しては、人について Hb よりも著しくアルカリ抵抗性の強いことが指摘され、またこの性質を利用して混合溶液中における両色素の割合を測定する試みが提出されているが⁷⁾、他には見るべき報告がない。魚類においてももし Mb, Hb 両色素のアルカリ抵抗性が著しく相違するような事実があれば、両者の同時定量への応用が可能となるかも知れない。

なお、上記のごとき魚類 Hb, Mb のアルカリ抵抗性に関する知識は魚肉色の研究上にも資するところが少なくないと考ええる。

本報告は以上のごとき諸見地から魚類両色素のアルカリ抵抗性を測定した基礎的実験の結果について述べたものである。

実験の部

色素蛋白試料: Hb は洗滌血球の溶血液を用いた。魚種はホンマグロ、メバチ、キハダ、クロカワカジキ、タイ、トビウオ、セイゴ、ヒラメ、コチ、ボラ、サケ、コイ、ウナギ、ドジョウ、ヨシキリザメおよびモウカザメの計 16 種で、このほか対照として人ならびに馬の Hb を用いた。使用魚体数は魚種によりまちまちで、マグロ類、クロカワカジキ、コイ (各 1 尾宛) のほかは数尾ないし数十尾の血液を合したものを使用した。Mb は既報⁸⁾の方法で調製した結晶標品で、魚類の代表としてホンマグロを選び、対照として馬 Mb も用いた。測定に先立つて少量の蒸留水に溶解、透析により塩類をできるだけ除去した。この段階で Mb はほとんど met 型に化していた (oxy 型は僅々 1% 前後) が、Hb はほとんど全く oxy 型のままであったので、met 型での測定にさいして前者ではそのままのものを、後者では赤血塩で酸化したものをを用いた。したがって、また oxy 型での測定の場合には Hb は溶血液のまま使用した。しかし Mb の oxy 型は極めて met 型に化しやすく、正確な測定を行ないえないので割愛した。このほかホンマグロの両色素については cyanmet 型、carbonyl (CO) 型でのアルカリ抵抗性をも調べたが、これらの誘導型の作り方はおおむね BOWEN⁹⁾の方法によつた。

実験方法: 上記の Hb または Mb 溶液一定量 (0.5 ml) に対し種々の濃度の NaOH 溶液一定量 (3.5 ml) を加えて素早く混合、特定波長 (575 mμ) での吸光度の経時的变化を BECKMAN spectrophotometer (DU 型) を用いて追跡した。

アルカリ添加直後、時間 t 経過後および完全変性後の同一波長での吸光度をそれぞれ E_n , E_t および E_d とすると、時間 t における溶液中の未変性色素の割合 x (%) は次式から求められる。

$$x(\%) = \frac{E_t - E_d}{E_n - E_d} \cdot 100$$

これによつて色素変性の時間的变化を示す曲線、すなわち、アルカリ変性曲線を求めた。

さて、 E_n 値は met 型以外の誘導形態では pH の影響をほとんど受けないので、中性付近の同一濃度の色素溶液を用いて容易に測定しうる。ところが met 型の場合は事情を異にし、アルカリ溶液中では、その pH のいかににより E_n 値が変化するため困難が生ずる。この点については以下述べるごとく工夫した。すなわち、いま種々の pH の met Mb (MMb) 溶液について E_n 値を測定すると、溶液の pH の上昇に伴つて E_n 値は増大 (同時に溶液は鮮紅色の度を増す) して行くが、ある pH (ホンマグロではおおむね pH 11.2 付近) で最高値に達する。Fig. 1 はホンマグロ MMb について上記の関係を示したものである。pH

11.2 以上では吸光値はかえつて減少（同時に溶液は黄褐色化する）の傾向を示す。pH 上昇に伴う前段の E_n 値の増大は alkali-met 型色素の生成増加のためと思われ、後段の低下はすでに色素の変性が始まっていることの現われと解される（アルカリ添加による変性の有無については HAUROWITZ¹⁰⁾ の方法に倣い、吸収スペクトル測定後溶液の pH を中性付近に戻し、硫酸 50% 飽和としたのち、ろ過し、ろ液中の残存色素（未変性色素）の量を測定することによつて確かめた）。かくして MMb の場合は pH のいかにかわらず（ただし pH 11.2 付近以上）すべて最大の吸光値を示す pH 11.2 のときの吸光値を E_n 値として用いた。

なお、MHb の場合もこの事情は変わらないが、MMb よりもはるかに変性を受けやすく、上記のような測定すら難しい。この点の困難については、これまでの研究により魚類 Hb と Mb との可視部吸収曲線が oxy 型および CO 型を除くあらゆる誘導形態において事実上一致する⁸⁾ ことから、この場合にも Hb と Mb とは同一の挙動を示すものといちおう仮定して、Hb と同濃度の MMb 溶液の pH 11.2 での吸光値を測定し、MHb の場合における E_n 値として用いた。

E_n 値は、色素蛋白の濃厚アルカリ溶液（たとえば 1N NaOH 溶液）を 37°C に一晩放置、完全に変性したものと見做し、このときの吸光値を測定して用いた。Fig. 1 に MMb の完全変性後の吸光曲線の例を併記したが、MHb, oxy Hb (HbO_2) および CO 型両色素の場合もともにまったく同様の曲線が得られる。

吸光値測定の波長はすべて 575m μ を用いているがこれは oxy 型および alkali-met 型両者での α 吸収極大の波長に当る。cyanmet, CO 両型のときも便宜上同じく 575m μ で測定を行なつた。いずれの場合も spectrophotometer の波長の再現性の困難に基く測定誤差を避けるため一連の測定中波長は固定しておく必要がある。

実験条件の検討： 以上の実験方法に基き二、三の実験条件について次のごとく吟味を試みた。

(i) 前述のように本実験では色素蛋白のアルカリ溶液を作るさいに、色素水溶液にアルカリを添加するという順序を採っているが、この混合順序を逆にした場合に相違が現われるか否かを検討したところでは、色素の変性曲線は両者溶液を混合する順序に係りなかつた。

(ii) 色素の変性曲線におよぼす温度の影響を見るため、メバチ HbO_2 を用いて 5°~35°C 間の数種の温度でその変性曲線を比較した。結果は Fig. 2 に示す

Fig. 1. Absorption spectra of MMb of tuna, *Thunnus orientalis*, in the alkaline pH region at 15°C. Spectrophotometry was performed about 30 min. after the MMb solution was adjusted to the indicated pH's with NaOH aq. solution. A typical alkaline MMb spectrum is seen at pH 11.2. General decrease in the light absorption at pH 11.6, compared with that at pH 11.2 is due to the partial alkali denaturation of the pigment.

Fig. 2. Effect of temperature upon the alkali denaturation of HbO_2 of tuna, *Parathunnus sibi*, at pH 11.9~12.1. The final concentration of the pigment was 0.04~0.05%.

ように温度上昇とともに変性は次第に速やかとなる傾向が見られるが 20°C 以下では比較的影響が小さかつ

Fig. 3. Effect of the concentration of HbO₂ upon the alkali denaturation of the pigment in the case of carp, *Cyprinus carpio*, at pH 12.1. Temp.: 15°C.

Fig. 4. Effect of the blood plasma upon the alkali denaturation of HbO₂ in the case of carp, *Cyprinus carpio*. Measurements were carried out at pH 11.9 to 12.0, on 0.05% Hb solution containing 5.0 (□), 2.5 (△), and 0% (v/v) (○) of the original plasma. Temp.: 15°C.

た。そこで実験上の便宜を考慮して測定は以後 15°C で行なつた。

(iii) コイ HbO₂ を用いてアルカリ変性への濃度の影響を調べた。その結果は Fig. 3 のごとくで濃度低下とともに変性曲線は収斂する傾向を示した。そこで試料の量的制約もあり、以下の実験はすべて Hb 最終濃度 0.04~0.05% で実施した。

(iv) 試料血液によっては溶血しやすいため生理的食塩水による血球洗滌を充分に行ない得ないものもあつたので、Hb のアルカリ変性におよぼす血漿の影響の有無を調べた。すなわち、コイの充分洗滌した血球から溶血液を作り、これに種々の量の血漿を添加した場合と無添加の場合との Hb の変性状況を比較した結果、同一 pH の変性曲線にはほとんど差違が認められなかつた (Fig. 4)。

(v) MHb のアルカリ変性曲線測定にさいし Hb をあらかじめ赤血塩で酸化すること前記の如くである。そこで MHb の変性曲線におよぼす赤血塩の影響を調べた。マグロ Hb に普通用いられる量の数倍量にいたるまで種々の量の赤血塩を加えて調べたところ、その影響は無視しうる程度であつた (Fig. 5)。さらにホンマグロの自動酸化した MMb を用い、これ

Fig. 5. Effect of potassium ferricyanide upon the alkali denaturation of Hb of carp, *Cyprinus carpio*. Measurements were carried out at pH 12.1 on 0.05% Hb solutions containing 60 (□), 40 (△), and 20 mg.% (○) of ferricyanide. Temp.: 15°C.

に赤血塩を添加した場合と無添加の場合との変性曲線の比較を行なった結果は両者間にはほとんど差が認められなかった。したがって、本実験においては過剰の赤血塩を透析除去することなく測定を行なった。

〔実験 I〕 魚類 Hb のアルカリ変性曲線

1. HbO_2 : まずコイ HbO_2 について各種 pH (10.0~12.7) においてアルカリ変性曲線を測定した結果は Fig. 6 に示す通りであった。次にいちおう pH 12 付近 (NaOH 最終濃度 0.044 N) を選び、種々の魚種の HbO_2 につき変性曲線を測定した。Hb の緩衝力の相違などのため魚種によつて測定液の pH は必ずしも同一ではないが実験の性質上やむを得ない。対照として人および馬の HbO_2 を用いたのは哺乳動物中ではそれぞれアルカリ抵抗性の小さいものおよびかなり大きいものとしての代表に挙げられているからである^{2), 10)}。結果を Fig. 7 に示す。

Fig. 7. Alkali denaturation curves of HbO_2 from several species of fish in 0.044 N NaOH at 15°C. The final concentration of the pigment was 0.05%.

Shark ("môka-zame"), *Isurus nasus*; mullet, *Mugil cephalus*; yellowfin tuna, *Neothunnus macropterus*; swordfish, *Makaira mazara*; loach, *Misgurnus anguillicaudatus*; big-eye tuna, *Parathunnus sibi*; bream, *Chrysophrys major*; great blue shark, *Glyphis glaucus*; carp, *Cyprinus carpio*; bass, *Lateolabrax japonicus*; flatfish, *Paralichthys olivaceus*; eel, *Anguilla japonica*; flying-fish, *Cypsilurus* sp.; flathead, *Platycephalus indicus*; chum, *Oncorhynchus keta*.

Fig. 6. Effect of pH upon the alkali denaturation of HbO_2 of carp, *Cyprinus carpio* at 15°C. The final concentration of the pigment was 0.05%.

Fig. 8. Alkali denaturation curves of MHb from a few species of fish in 0.009 N NaOH at 15°C. The final concentration of the pigment was 0.05%.

Carp, *Cyprinus carpio*; tuna, *Thunnus orientalis*.

Fig. 9. Alkali denaturation curves of carbonyl-, cyanmet- and met- derivatives of Hb and Mb of tuna, *Thunnus orientalis*, at 15°C. All the measurements were carried out at pH 12.2, and the final concentrations of the pigments were 0.05%.

Fig. 10. Effect of pH upon the alkali denaturation curve of MMb from tuna, *Thunnus orientalis* at 15°C. The final concentration of the pigment was 0.05%.

2. MHb: 二, 三の魚種および人, 馬の各 MHb のアルカリ変性曲線を pH 11 付近 (NaOH 最終濃度 0.009 *N*) において比較した。結果を Fig. 8 に示す。

3. その他の誘導形態: ホンマグロ Hb については, このほか cyanmet 型, CO 型の両者につきアルカリ変性曲線を測定した。そのうち pH 12.2 での結果を Mb の同誘導形態についての結果とともに Fig. 9 に示した。

[実験 II] ホンマグロ Mb のアルカリ変性曲線

1. MMb: アルカリ変性曲線におよぼす pH の影響を調べた結果を Fig. 10 に示した。同図には比較のため馬 MMb (pH 12.3) の変性曲線をも併記した。

2. その他の誘導形態: met 型のほか cyanmet 型, CO 型の両者のアルカリ変性曲線を測定, 結果は Fig. 9 に示すごとくであった。

なお, Fig. 11 は Fig. 9 の結果を基とし, 多少の実験結果を補なつて作成した反応時間を 15 分と一定した場合における pH と変性度との関係曲線である。

Fig. 11. Comparison of alkali resistibility of MMb and MHb from tuna, *Thunnus orientalis*. The resistibility is expressed as the amount of undenatured pigment (%) in the solution 15 min after the solution was adjusted to the indicated pH's with NaOH aq. solution at 15°C. The final concentrations of the pigments were 0.05%.

結果と考察

1. 誘導形態とアルカリ抵抗性 Hb でも Mb でもアルカリ抵抗は誘導形態によりかなり異なる。まずホンマダロ Hb については met 型, cyanmet 型, CO 型の三者のなかでは CO 型がもつとも抵抗性が強く、次いで cyanmet 型, met 型の順序となり (Fig. 9), この順序は Mb の場合にも共通する (Fig. 9)。また、この関係はあたかも両色素の熱に対する安定性¹¹⁾におけると同様である。なお、Hb の場合にはこのほか oxy 型の変性曲線をも測定しているが、コイ、ウマなどの例に見るように HbO₂ は MHb よりはかなり安定である (Fig. 7 および 8)。

2. 魚類特異性 供試した十数魚種の HbO₂ のアルカリ変性曲線は大部分人と馬との中間的な形として現われているが、なかには人よりもさらに不安定なものも一、二ある (Fig. 7)。この限りでは魚類としての特異性はないというべきであろう。KRÜGER²⁾ も本実験と比較的似た条件で、ウナギ (Aal), コイの類 (Schlei) およびタイの類 (Brachs) の各 Hb のアルカリ抵抗性を測定し、HbO₂ 特有の吸収帯の消失時間をもつてこの強弱の度を表わしているが、いずれも人と馬との中間的な数値を示している。コイとホンマダロのみについてはあるが、MHb の場合もこの関係はおおむね同様である (Fig. 8)。

変性曲線の形に関しては魚類と哺乳類との間にやや相違が認められるようである。すなわち Fig. 7 に見るごとく oxy 型においては哺乳類両者のうち馬 Hb の変性曲線は一直線を、また人 Hb も末端のわずかな部分を除いては一直線を呈し、いずれも変性反応が Hb 濃度に関して一次的に進行することを示している。図示は省略したが、兩種とも他の種々の pH においてもこの関係は変わらず、この点において文献¹⁰⁾の記載とよく一致している。ところが、これに反して魚類では魚種によつて程度の差こそあれ、曲線かもしくは途中で急に屈曲する直線 (たとえばモウカザメ、ボラ、サケなど) を示しており、少なくとも現象的には魚類としての特異性のように思われる。しかし met 型の場合は人、馬両者とも互いに位置こそ異なれ、明らかな屈曲点を表わし、この点魚類 Hb と異なるところがなかつた (Fig. 8)。

3. 魚種特異性 HbO₂ のアルカリ抵抗性は魚種間で著しい相違が見られる (Fig. 7)。すなわち、比較的安定なボラ、モウカザメから非常に不安定なコチ、サケにいたるまで様々な抵抗性を示している。例数は少ないが met 型についても同様のことがいえる (Fig. 8)。ただし、ここに興味ある事実は人と馬のアルカリ抵抗性の強さが met 型では oxy 型の場合と逆になることで、魚類でも同様の現象があるかも知れない。なお、コイの場合のみについてはあるが、若干の個体別試料の分析を行なつた結果は変性曲線にほとんど差異が見られなかつた。すなわち、個体差はないものと考えられる。

アルカリ抵抗性が電気泳動的性質⁶⁾、熱凝固性¹¹⁾ などとならんで魚種特異性の一つの良い指標となりうることは間違いない。

4. 魚類 Hb の不均一性 供試魚のうちボラ⁶⁾、コイ⁶⁾、クロカワカジキ¹²⁾、サケ⁶⁾、およびドジョウ¹²⁾ の各 Hb についての TISELIUS 電気泳動法 (0.1M veronal buffer, pH 8.6 を使用) による分析の結果、前三者はいずれも単一成分を、後二者は 2 成分を示した。ところで、本実験結果によるとそのなかのボラ、コイ各 Hb の変性曲線はいずれも屈曲点を有し (Fig. 7)、あたかも抵抗性の異なる 2 成分の存在を示すかのごとき観を与えるのであるが、この点は前記の電気泳動試験の結果と一致しない。逆に電気泳動的には 2 成分の存在が認められるドジョウの場合、変性曲線からはこの二相性を看取し難い (pH を種々変えて試験すれば Fig. 6 におけるコイの結果に見られるような明らかな屈曲点を有する曲線が得られる可能性もないではないが)。しかもドジョウの変性曲線は電気泳動的に単一成分であるクロカワカジキの変性曲線と極めて良く似ている。ひとりサケに関しては電気泳動法においても、またアルカリ変性法によるものともに 2 成分の存在を示し一見符合するかのごとく見える。ただし、これは飽くまで成分数についてのみいえることであつて両成分の量比は電気泳動法ではほぼ半々に近いのに対してアルカリ変性曲線からいちおうの計算をするとおおよそ 9 (不安定成分) : 1 (安定成分) となり、大きな差違を示している。アルカリ変性法とその他の方法とで成分数が一致しないような事例は人¹³⁾、馬¹⁴⁾ の場合にも見られる。すなわち、これらのは電気泳動法

その他の方法によつて不均一なことが知られているが、本実験では少なくとも oxy 型においては宛ら 1 成分のようなアルカリ変性曲線を示している。

以上のようなことから一般にアルカリ変性曲線の測定は Hb の不均一性を論ずる方法としては不適當であるのかも知れない。もとよりアルカリ変性法と電気泳動法などでは結果が一致しなければならぬといういわれもなく、たとえばコイ HbO₂ (Fig. 6), 同 MHb (Fig. 8), ホンマグロ MMb (Fig. 10) などの例に見られる変性曲線の屈曲は電気泳動的には捉え得ないような不均一性を表わしたものだということに考えられぬこともない。しかしながら、pH を種々変じた場合の変性曲線、あるいは誘導形態を異にする場合のそれぞれの変性曲線から求めた成分相互間の量比は本来一致すべきはずのものである。それにもかかわらず、それらの図 (Fig. 6, 8, 10) に見られるように成分相互間の量比は測定条件によつて一致せず、この事実はむしろアルカリ変性法の Hb 不均一性の検討への応用を不適當とする前者の見解を有利にするものと考えられる。いずれにせよ、現在のところ、この曲線の形のもつ意義については全く解釈に苦しむ。

5. ホンマグロ Mb のアルカリ抵抗性およびホンマグロの Mb, Hb 分別定量の可能性 本実験条件のもとで試験した時間の範囲内ではホンマグロ MMb の変性は pH 11.2 までは見られないが、以後は pH の上昇に伴ない変性速度は急激に増加し、ある限度を超えるとかえつて遅くなる (Fig. 10, 11) (この現象を HAUROWITZ¹⁵⁾ は哺乳動物 Hb について観察、NaOH の脱水効果によるものとしている)。変性曲線はいずれの pH の場合も明らかな屈曲点を有しているが、これをもつて直ちに 2 成分の存在と見做し難いことは前項に述べた通りである。これはさておき同種の MHb よりは著しく安定である。しかし比較のため測定した馬 MMb は pH 12.3 でもわずかに変性を示すに過ぎず、これに比すれば安定性は小さい。

さてホンマグロ MMb, MHb 両者間におけるこの抵抗性の差が、序にも述べたように果して混合溶液中の両色素の分別定量上に利用できるか否かについて検討してみたい。この種の分別定量法が成立するためには成分の一つ (Mb) が未変性のまま残り、他成分 (Hb) がまったく変性してしまうような条件が必要である。ところで、Fig. 11 に明かなように MMb は pH 11.2 付近を超えると急激に変性が進行する。すなわち、MMb を未変性のまま残し得るとき条件として pH 11.2 以下であることが必要である。ここにおいて pH 11.2 付近で MMb が未変性のまま残存しうる時間的限度を調べてみると Table 1 のごとくで、少なくとも 1 時間は未変性であることが判つた。そこでこの時間的限度で MHb の残存率を測定すると pH 11.2 のときは約 10% であつた。分別定量法上この量を誤差として取扱うにはあまりにも大き過ぎるといわざるを得ない。前記のごとく色素の変性速度は温度によつて変化するが、ついに上記のような適当な条件を見出すことができなかった。なお、このほか cyanmet 型、CO 型においても両色素間の抵抗性の差は存在する (Fig. 9) が、その差は met 型の場合よりむしろ小さく、分別定量への応用には不向きであつた。かくしてアルカリ変性法を Hb, Mb の分別定量に応用することは不可能のごとく思われる。

Table 1. Stability of MMb of Tuna, *Thunnus orientalis*, at some alkaline pH's as expressed by the optical density at 575 m μ . Temp. 15°C.

Time of standing (min.) pH				
	0*	30	60	90
11.2	0.264	0.263	0.263	..
11.3	0.261	0.261	..	0.256
11.6	0.257	0.254	0.253	0.244

* Reading within 40 sec. after MMb aq. solution was adjusted to indicated pH value.

要 約

魚類 Hb および Mb のアルカリ変性曲線を測定し、以下の結果を得た。

1. 哺乳動物と比べた場合、魚類としての特異性を Hb の抵抗性の上に見出すことはできないが、変性曲線の形の上にはややこれが認められる。

2. Hb のアルカリ抵抗性は魚種によつて極めて大巾に異なる。

3. アルカリ変性法を魚類の多成分系 Hb の判別に用いることには問題がある。
4. ホンマグロ Mb は同 Hb よりもアルカリ抵抗性が著しく強いが、この差を利用して混合溶液中の両色素を正確に分別定量することは困難である。

終りに臨み、本研究実施に当たつて一部助力を仰いだ山口勝巳氏に深謝する。

文 献

- 1) REICHERT, E. T. and BROWN, A. P.: *Carnegie Inst. Wash., Publ. No. 116* (1909).
- 2) KRÜGER, F. v.: *Z. vergleich. Physiol.* **2**, 254 (1925).
- 3) RAMIREZ, J. R. and DESSAUER, H. C.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **96**, 690 (1957).
- 4) たとえば, JONXIS, H. P. and HUISMAN, T. H. J.: *Blood* **11**, 1009 (1956).
- 5) MANWELL, C.: *Sci.* **126**, 1175 (1957).
- 6) 橋本周久・松浦文雄: 本誌 **24**, 719 (1959); **26**, 354 (1960).
- 7) ROSSI-FANEL, A.: *Bull. soc. chim. biol.* **31**, 457 (1949).
- 8) 松浦文雄・橋本周久: 本誌 **20**, 946 (1955).
- 9) BOWEN, W. J.: *J. Biol. Chem.* **179**, 235 (1949).
- 10) HAUROWITZ, F.: *Z. physiol. Chem.* **183**, 78 (1929).
- 11) 松浦文雄・橋本周久・春田直久: 本誌 **24**, 730 (1959).
- 12) 未発表.
- 13) CABANNES, R. and SERAIN, C.: *Compt. rend. soc. biol.* **149**, 1193 (1955).
- 14) ROCHE, J., DERRIEN, Y., REYNAUD, T., LAURENT, G. and ROQUES, M.: *Bull. soc. chim. biol.*, **36**, 51 (1954).
- 15) HAUROWITZ, F.: *Z. physiol. Chem.* **232**, 146 (1935).