

報ぜられたので著者は100 V 直流を以て試みたが分離が行はれなかつた。尙アスパラギン酸グルタミン酸に関しては pH 7.0 より 7.8 の間で線狀に滴下すれば明らかに2本の線となつて定性確認出来る。

總 括

- (1) 100 V の直流を用い各アミノ酸の等電点の差を利用して種々の pH でアミノ酸の分離を試みた。
- (2) アミノ酸の原点よりの移動距離は3～4時間内に於て通電時間に正比例して増加する。
- (3) 純粹アミノ酸混合物につきジアミノモノカルボン酸、シスチン及びモノアミノモノカルボン酸、モノアミノデカルボン酸を互いに分離出来た。
- (4) 蛋白質加水分解物は之を pH 7.8 に於て通電する時モノアミノデカルボン酸を含むアミノ酸群、シスチン及びモノアミノモノカルボン酸を含むアミノ酸群、ジアミノモノカルボン酸を含むアミノ酸群の3群に、pH 5.9に於て通電する時モノアミノデカルボン酸を含むアミノ酸群、シスチン及びモノアミノモノカルボン酸を含むアミノ酸群、ヘキソンベースを含むアミノ酸群の3群に分離出来た。
- (5) 蛋白質加水分解物(5 mg % ヒスチデン塩酸塩添加)を pH 6.6 で通電する時ヒスチデンを分離出来た。
- (6) 蛋白質加水分解物を pH 7.7 で通電し、ジアミノ酸群を更にフェノール上昇法で展開することによりアルギニン、リジンを分離することが出来た。

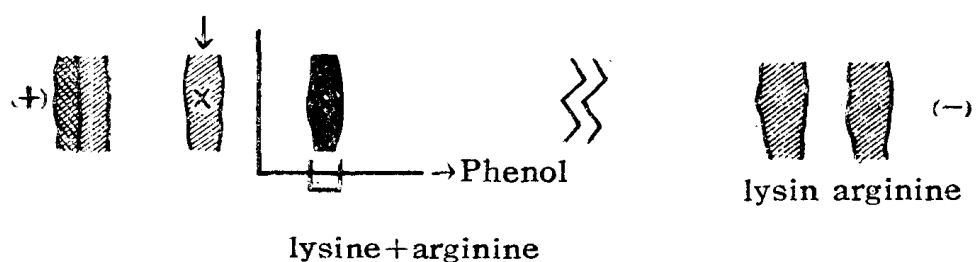
この研究は著者が国立栄養研究所に於て行つたものである。所長有本邦太郎氏並びに田村盈之輔氏、河田正治氏に篤く感謝の意を表する次第である。

参 考 文 献

- 1) 原報 Wieland & E. Fischer: Naturwissenschaft 35 (1949) 29

い所に原点を位置し蛋白質加水分解物（前述ヒスチジン添加物を2倍稀釈したもの）を $\frac{3}{1000}$ cc 線状に滴下する。pH 7.7 の磷酸緩衝液を調製しこの溶液中で 100 V 直流を 2.5 時間通じ、90°C にて 5 分間乾燥後、30 分間空气中に放置し、内 2 枚に 0.5 % ニンヒドリン、ブタノール溶液を噴霧呈色させ分離したアミノ酸群の位置を確かめ他の 1 枚をモノアミノモノカルボン酸を含むアミノ酸群とジアミノモノカルボン酸を含むアミノ酸群との中間の位置で切り取り、25 % 水添加フェノールを以て元の陰極側に上昇法で展開を行う。展開を終え充分風乾して 0.25 % ニンヒドリン、ブタノール溶液を噴霧呈色させた結果 Fig. 8 の如くアルギニン、リジンが約 1 cm の距離を置いて分離されたことを確認した。

Fig. 8



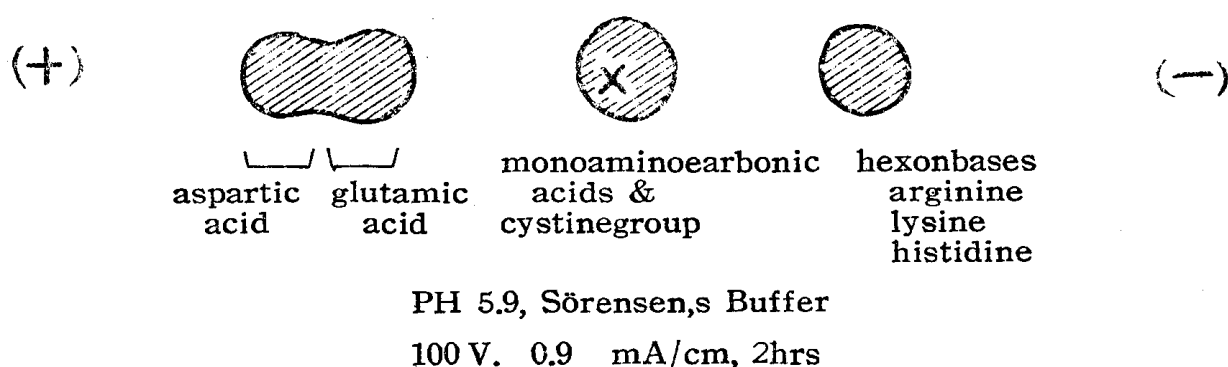
考 察

各アミノ酸の定性検出法として各純粋アミノ酸溶液を滴下した濾紙を同時に並列して泳動を行い、アミノ酸混合物を泳動せしめた濾紙と比較し同時にアミノ酸混合物に各純粋アミノ酸を添加しニンヒドリンによる呈色斑点の拡大するのを見て決定した。アルギニン、リジンの分離は pH 5.0 より 12.5 に至る種々の緩衝液を用いたが分離しないので止むを得ずフェノール展開法を行つた。この際更に両者の Rf 値の差の大きい溶媒例えばメタクレゾール等の使用が考えられる。モノアミノモノカルボン酸を含むアミノ酸群は一般に等電点が接近し pH 6.2 以下の種々の緩衝液で分離を試みたが不成功に終つた。最近アメリカで 300 V 以上の高電圧を用い等電点 0.2 程度の差を持つ純粋モノアミノモノカルボン酸の混合物を 5 N 醋酸中で通電分離したと

(2) pH 5.9 に於ける分離

蛋白質加水分解物 $\frac{1}{1000}$ cc を原点に滴下し pH 5.9 の燐酸緩衝溶液中で 2 時間通電した結果 Fig. 6 の如く中央部にヒスチヂンを除く前述のモノアミノモノカルボン酸並びシスチンを含むアミノ酸群、陰極側に所謂ヘキソンベースであるアルギニン、リジン、ヒスチヂンを含むアミノ酸群、陽極側にグルタミン酸及びアスパラギン酸を含むアミノ酸群の 3 群に分離した。

Fig. 6

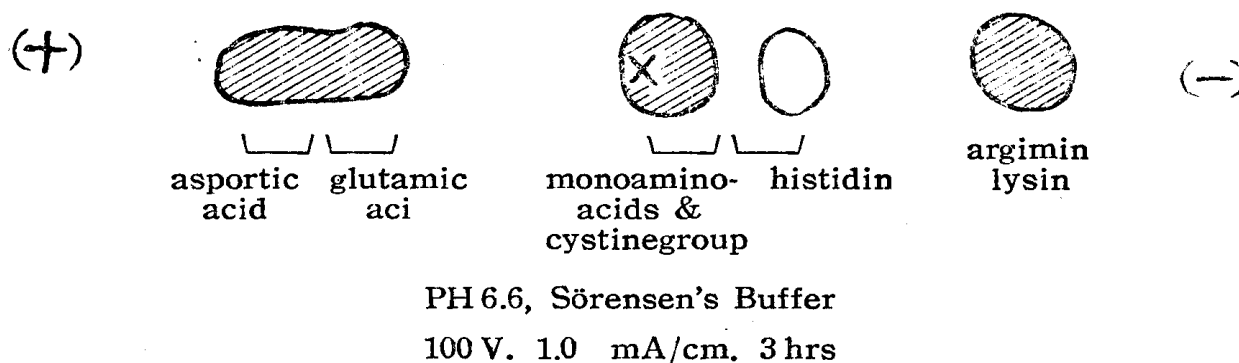


IV. 蛋白質加水分解産物よりヘキソンベースの分離

(1) ヒスチヂンの分離

濾紙中央部の原点に前述の蛋白質加水分解物 $\frac{1}{1000}$ cc をマイクロピペットで滴下し、pH 6.6 の燐酸緩衝溶液 (Sørensen 氏液) 中で 100 V の直流を 3 時間通じた結果 Fig. 7 の如くヒスチヂンを陰極側モノアミノ酸を含むアミノ酸群とジアミノ酸を含むアミノ酸群との中間に分離することが出来た。

Fig. 7

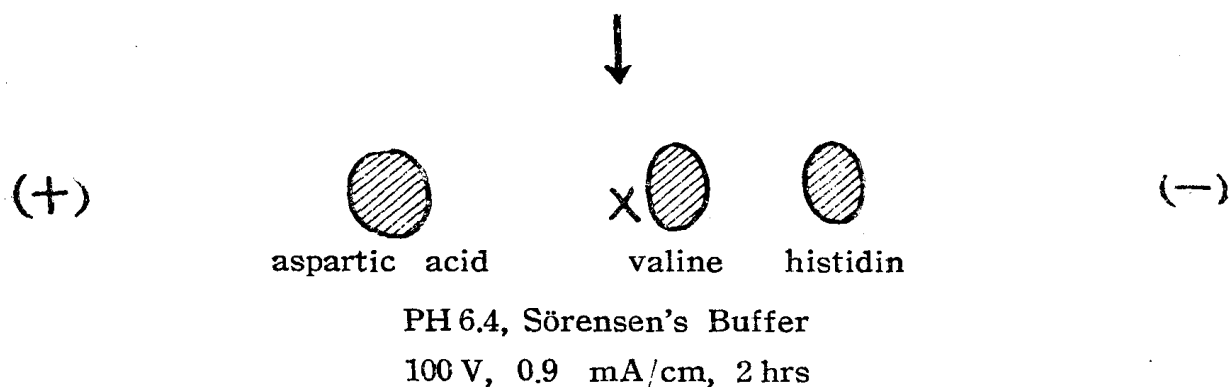


(2) アルギニン、リジンの分離

濾紙 (東洋濾紙 No.50, 1.5×50 cm) 3 枚を使用し陽極側に出来るだけ近

述のモノアミノモノカルボン酸及びシスチンを夫々使用しても同様に分離することを確認した。

Fig. 4



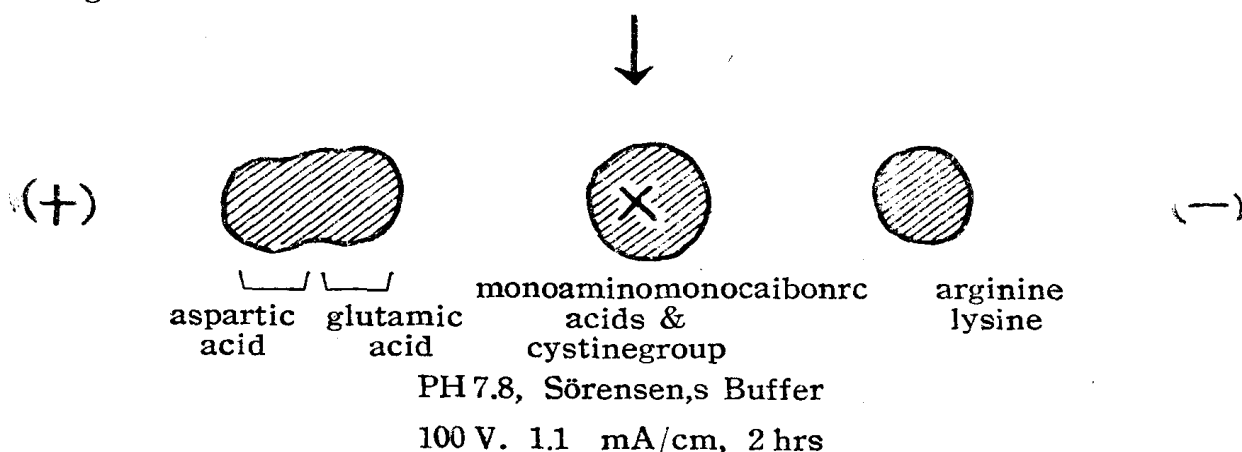
III. 蛋白質加水分解物の分離

蛋白質加水分解物として肉 3 g を 20% 塩酸で 120°C. 25 時間分解し 25 cc に濃縮した液を用いた。この場合供試液はヒスチジン含量少なきため、分解液 1 cc に対し 5 mg のヒスチジン塩酸塩を加えて使用した。

(1) pH 7.8 に於ける分離

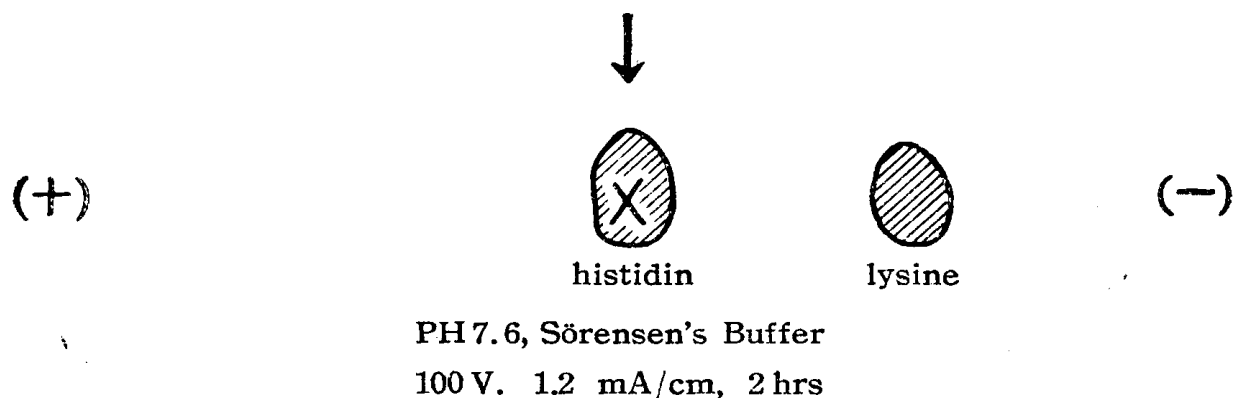
蛋白質加水分解物 $\frac{1}{1000}$ cc を原点に滴下し pH 7.8 の磷酸緩衝溶液中で 2 時間通電した結果、Fig. 5 の如く中央部に等電点 5.1 より 7.6 に至る前述のモノアミノモノカルボン酸及びシスチンを含むアミノ酸群、陰極側に等電点 9.7 及び 10.8 であるリジン及びアルギニンを含むアミノ酸群、陽極側に等電点 3.2 及び 3.0 であるグルタミン酸及びアスパラギン酸を含むアミノ酸群の 3 群に分離した。

Fig. 5



ン、陰極側にリジンを分離した。なほこの場合リジンの代りにアルギニンを使用しても同様に分離することを確認した。

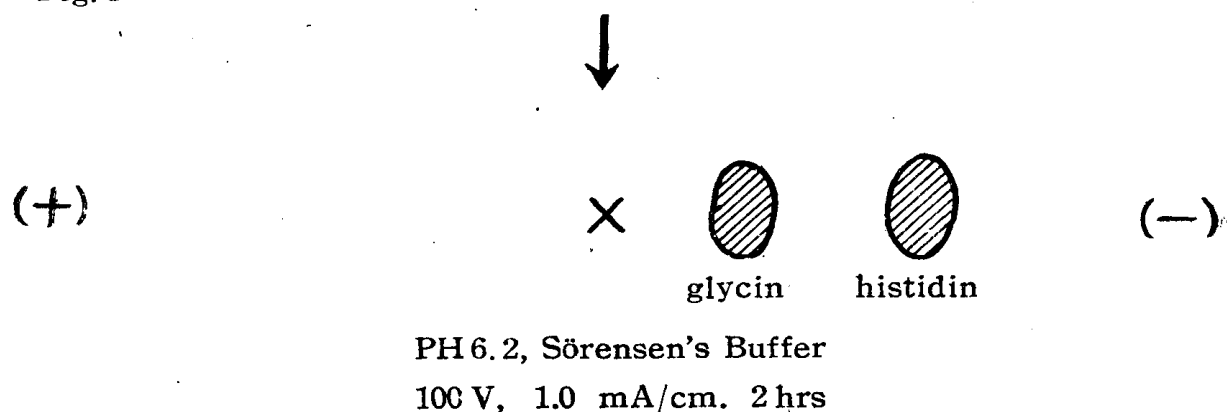
Fig. 2



(2) グリシン、ヒスチデンの分離

原点にグリシン、ヒスチデンの各溶液を滴下し pH 6.2 の燐酸緩衝溶液中にて2時間通電した結果 Fig. 3 の如く原点より陰極側に順にグリシン、ヒスチデンを分離した。なほこの場合グリシン代りにヴァリン、メチオニン、トリプトファン、アラニン、セリン、ロイシン、イソロイシン、システイン、 α -アミノ酪酸の如きモノアミノモノカルボン酸及びシスチンを夫々使用しても同様に分離することを確認した。

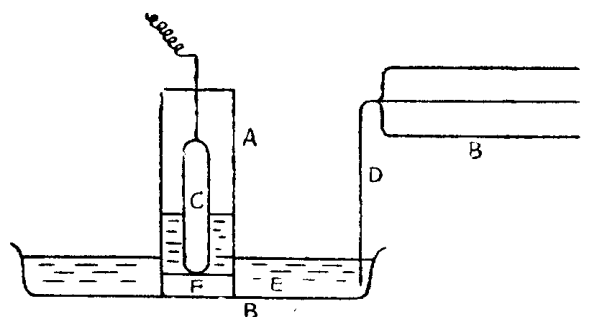
Fig. 3



(3) ヒスチデン、ヴァリン、アスパラギン酸の分離

原点にヒスチデン、ヴァリン、アスパラギン酸各溶液を滴下し、pH 6.6 の燐酸緩衝溶液中で2時間30分通電した結果、Fig. 4 の如く陽極側にアスパラギン酸、原点より僅か陰極寄りにヴァリン、陰極側にヒスチデンを分離した。なほこの場合アスパラギン液の代りにグルタミン酸を、ヴァリンの代りに前

Fig.1. Apparatus



A: Glass-tube B: Plates
C: Electrode D: Filter-paper
E: Buffer Solution F: Gypsum

Table.1

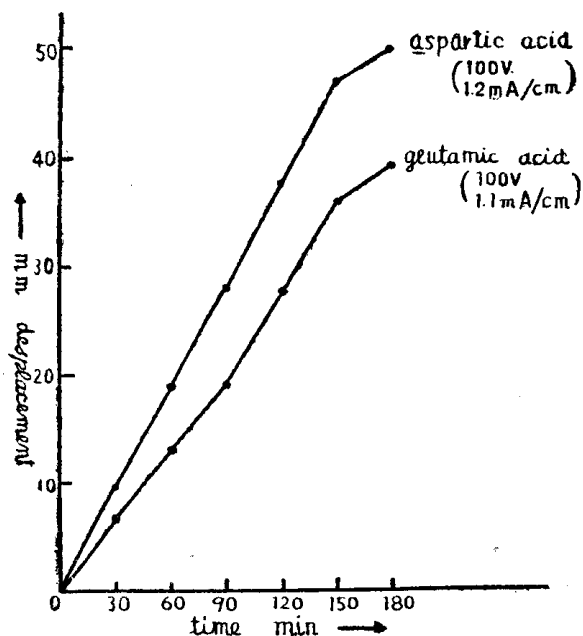
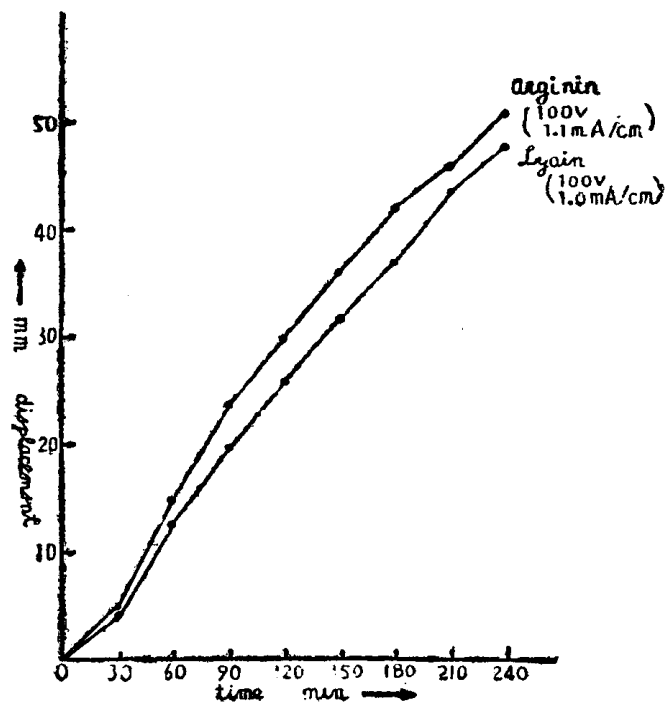


Table.2



し、pH.7.6 の磷酸緩衝液 (Sørensen 氏液) 中で通電する。濾紙は 30 分毎に取り出し 90°C にて乾燥後 0.25 % ニンヒドリン、ブタノール溶液を噴霧呈色させて滴下原点よりのアミノ酸の移動距離を測定した。その結果 Tabe. 1, Tabe.2 に示した通り各アミノ酸は通電時間 3 ~ 4 時間内に於て、通電時間に正比例して移動するのを認めた。この際に限り濾紙は 1 × 30 cm のものを使用した。

II. 純粹アミノ酸混合物の分離

供試液としてリジン、アルギニン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸各塩酸塩、ヴァリン、グリシン、アラニン、メチオニン、プロリン、トリプトファン、セリン、ロイシン、イソロイシン、シスチン、システイン、 α -アミノ酪酸の各々 50 mg を 5 cc の水 (不溶解性のものは塩酸酸性水溶液) に溶かし使用に際してはその $\frac{1}{1000}$ cc を滴下した。

(1) リジン、ヒスチジンの分離

原点にリジン、ヒスチジンの各溶液を滴下し pH.7.6 の磷酸緩衝溶液中にて 2 時間通電した結果、Fig. 2 の如く原点にヒスチジ

電氣泳動による濾紙上アミノ酸の 分離について (第1報)

The Separation of Amino-acids on the Filterpaper
by Eletrophoresis (1st Report)

坂 本 清

Kiyoshi Sakamoto

溶媒によつて展開を行う通常のペーパークロマトグラフィーについては最近盛に改良法が発表せられてゐるが、通電クロマトグラフィーについては Wieland 及び Fisher¹⁾ が数種類の純粋アミノ酸混合物の分離に用いてゐる他、現在入手し得る文献では J. Am. Chem. Soc. に一二の報告が見える程度である。著者は濾紙に緩衝溶液を滲透させて電流を通じ、濾紙中央部に滴下した溶液中のアミノ酸を種々の等電点の差を利用して分離を試みた結果、数種の純粋アミノ酸混合物を互いに分離し更に蛋白質加水分解物より所謂ヘキソンベースであるアルギニン、リジン、ヒスチヂンを分離することが出来たので報告する。

実 験 部

(装 置)

通電装置として Fig. 1 の如く亜鉛又は炭素棒を夫々石膏を以て封じた径 3 cm の硝子管中に挿入し之を ペトリー 皿中に立てる。使用に際しては之等の容器に適当な 緩衝溶液を入れ、中央部に 供試液を滴下した 濾紙 (東洋濾紙 No. 50, 2 × 30 cm) を置き 100 V の直流を通ずる。この際濾紙は径 13 cm のペトリー皿間に挟まれる。

I. 純粋アミノ酸の泳動速度

供試液としてアルギニン、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸の各塩酸塩 50 mg を夫々 10 cc の水に溶かしたものを濾紙中央部に $\frac{1}{1000}$ cc 宛滴下