

- 23, 96 (1959)
- 12) L. Jeanicke : *Naturwiss.*, 39, 86 (1952)
- 13) S. M. pariidge : *Nature*, 164, 443 (1949)
- 14) R. U. Lemieux, H, F, Bauer : *Anal. Chem.*, 26, 920 (1954)
- 15) 坂本清 : 蛋白質核酸酵素, No7 (1959)

Fig. 5には比較的移動速度が速く，グラフとして見易い陰極側滴下試料についていくつかの結果を図示した。この図からも各炭水化物の泳動速度が，対数減衰に近い減速を示していることがよくわかる。

総 括

- (1) 蒸発を許す水平型濾紙電気泳動装置内で炭水化物の泳動距離を検討した。
- (2) 毛管吸着分析における炭水化物類のR値はすべて 1.00 であり，又これ等物質の滴下位置—泳動距離グラフがすべて平行していることを知った。
- (3) 炭水化物類の泳動方向を検討しいずれも陽極側へ泳動していることを知った。
- (4) 各炭水化物の泳動距離の時間的变化を見た結果，同一装置内では条件を同じくすればその泳動速度減衰率 a'/a が滴下位置に影響されことなく共通な値を示すことを知った。
- (5) 炭水化物類が時間的に対数減衰に非常に近い減速を示すことを知った。

稿を終るにのぞみ，御懇篤な御指導を賜った本学坂本清助教授に対して厚く感謝の意を表します。又，グルクロン酸粉末を御供与戴いた中外製薬学部化学課に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 坂本清，斉藤絹子：農化，32，181（1958）
- 2) K. Sakamoto, K. Tateoka : *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 20, 98(1956)
- 3) 坂本清，斉藤絹子：農化，32，186（1958）
- 4) 坂本清，斉藤絹子：農化，32，275（1958）
- 5) 坂本清，斉藤絹子：農化，32，390（1958）
- 6) K. Sakamoto, K. Saito, A. Nagata : *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 23, 95（1959）
- 7) 坂本清，植田和子：農化，30，463（1956）
- 8) K. Sakamoto, K. Saito : *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*, 22, 55（1958）
- 9) 坂本清，斉藤絹子：農化，32，279（1958）
- 10) 坂本清，斉藤絹子，永田絢子：生物物理化学，5，151（1958）
- 11) K. Sakamoto, K. Saito, A. Nagata : *Bull. Agr. Chem. Soc. Jap.*,

$$MD' = MD'_1 \frac{(a'/a)^n - 1}{a'/a - 1} \dots\dots\dots(1)$$

$$MD'_s = \frac{-MD'}{a'/a - 1} \dots\dots\dots(2)$$

(1), (2) 式で MD' は泳動物質の滴下原点からの t 時間後における泳動距離, MD'_1 は単位時間 t_1 後における滴下原点からの泳動距離, a'/a は t_1 時間区分における泳動物質の泳動速度減衰率, MD'_s は滴下原点から泳動物質の濾紙上における静止点までの距離, $n=t/t_1$ をあらわしている。この場合 $t_1=1$ 時間として各糖類の MD'_1 を実測し, 同時に滴下位置—泳動距離グラフを作成して静止点 MD'_s を求め, (2)式から a'/a を求め, これから各糖類の0.5, 1.5, 2.0, 2.5時間における MD' を算出した。

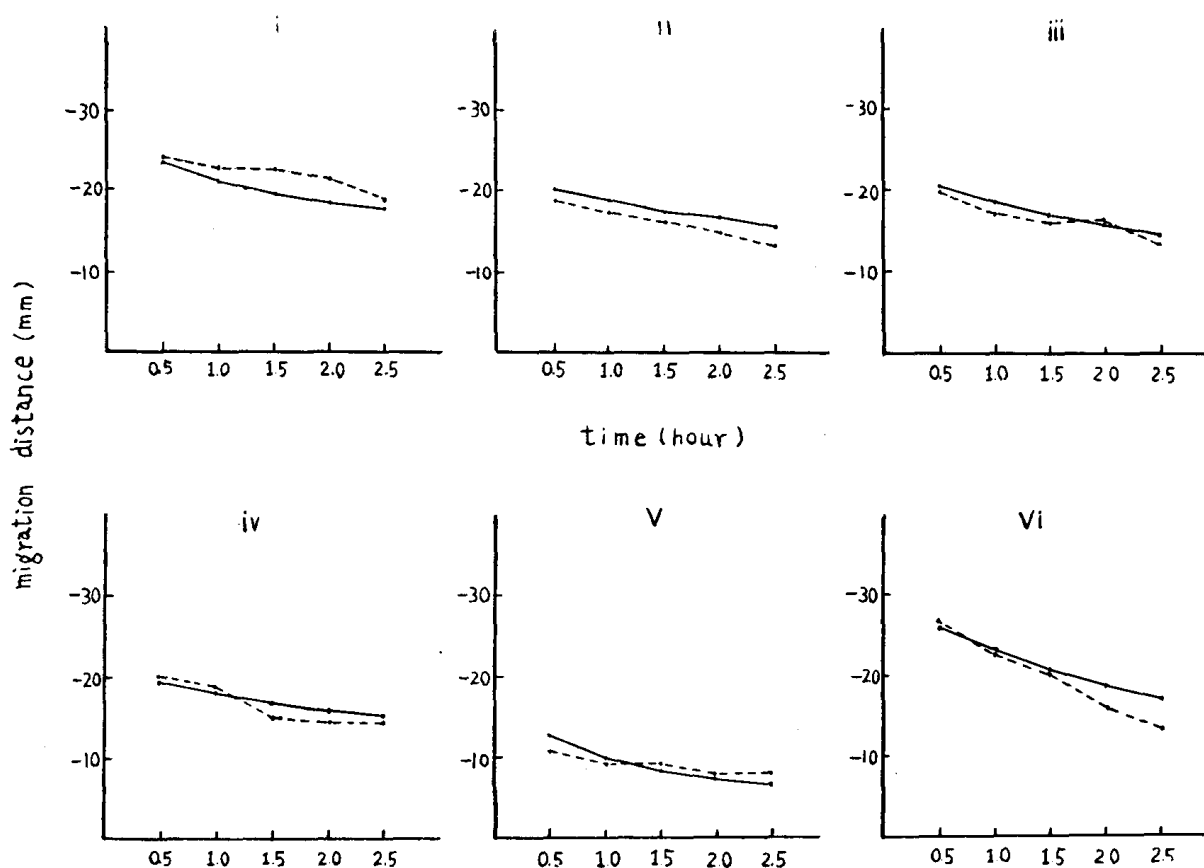


Fig. 5 Decrease of migration velocities of carbohydrates

.....line : found value, — line : calcd. value

- | | |
|-------------------------------|------------------------------|
| i) d-fructose, $a'/a=0.84$ | ii) d-glucose, $a'/a=0.88$ |
| iii) d-galactose, $a'/a=0.84$ | iv) l-arabinose, $a'/a=0.87$ |
| v) l-rhamnose, $a'/a=0.86$ | vi) d-ribose, $a'/a=0.80$ |

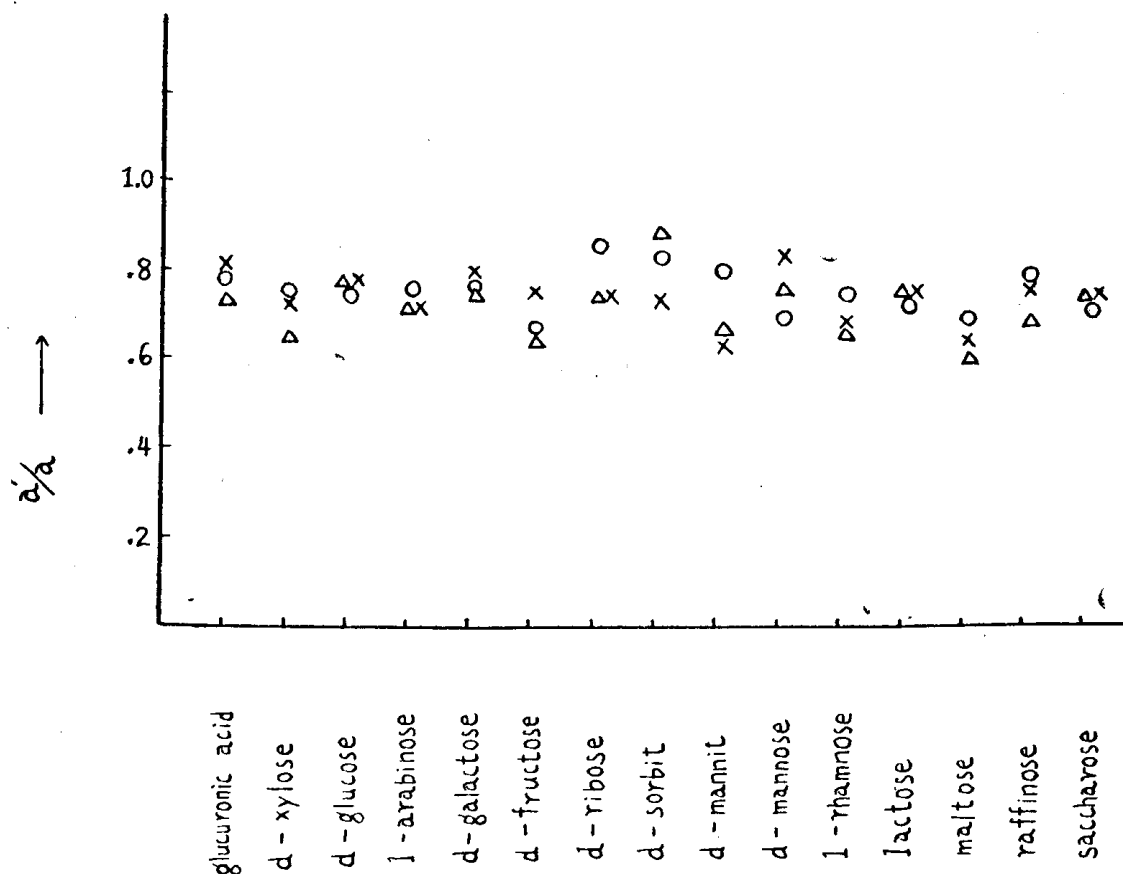


Fig. 4 Decrement of migration velocities of Carbohydrates

○...8cm anodic side from the center, △...center

×...8cm cathodic side from the center, 0.53~0.79mA/cm,

10.5V/cm, in 1% borate solution, in the horizontal-type apparatus permitting evaporation

この場合、当然ある程度の電流値の変化はさけられないので 厳密な意味で a'/a は比較しにくい。何となれば a'/a は蒸発、ひいては電流値の大小に支配されるからである。しかし同一濾紙は一応等しい電流値をとると考えられるので、図中の各物質それぞれの a'/a は近似した値となるべきである。このためには統計的に多数例を処理する必要があるが、この図からも相当満足な結果をうかがうことが出来る。

次に上記の30分毎に実測した糖類の泳動距離を、次の対数減衰式^{1,4,5,15)}で算出した泳動距離と比較してみた。

(3) 次の物質は中央滴下の際滴下原点に止まっているか、条件によつてはごくわずかに陰陽両極に移動する。この様に種々の条件のもとに泳動を行い、そのうち一度でも中央に止まるか陽極側に移動するとすれば、その物質は陽極に泳動するものと見て差しつかえない。¹⁵⁾

二糖類：マルトース，ラクトース

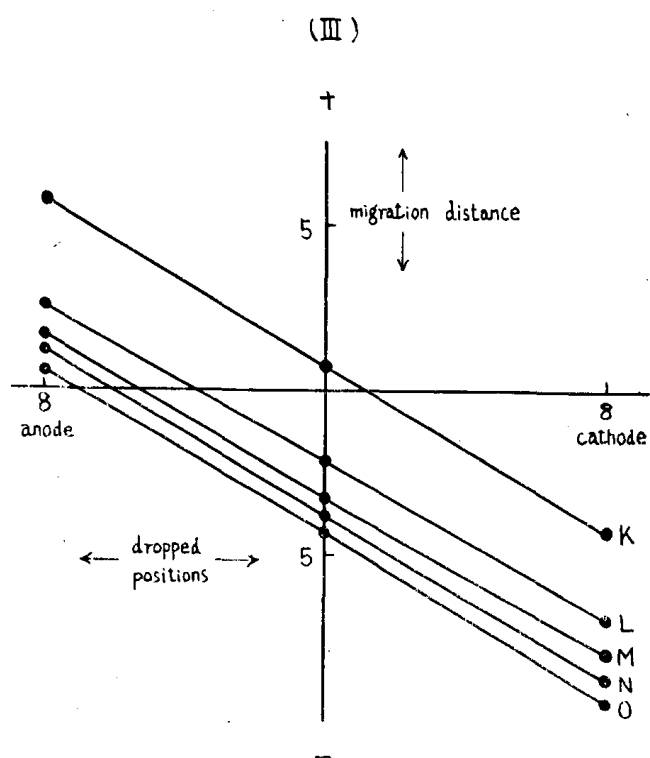
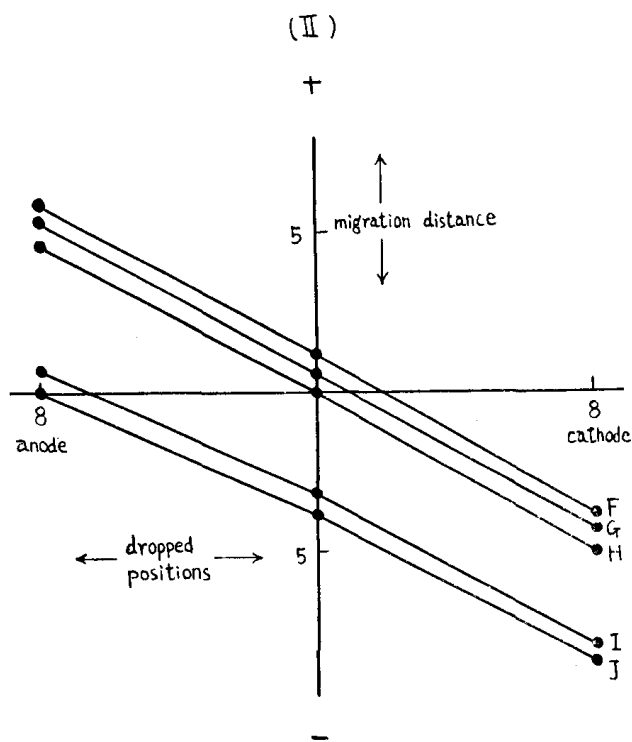
三糖類：ラフィノース

(4) サツカロースは中央滴下の際、使用物質の中で最も陽極側に移動するがその距離はごくわずかである(例：0.6~0.69mA/cm，10.5V/cm，2.5時間の泳動条件で8~12mm¹⁵⁾移動)。この様な場合、原点補正法として2, 3, 4, 6 テトラメチル・グルコースを用いなければならないが、入手出来ないので行わなかつた。しかしサツカロースの移動距離はこれまでに述べて来たデキストランの移動距離例、0.6mA/cm，6.9V/cm，1時間，pH 7.38¹⁾ 1) 1.6mA/cm，7V/cm，2時間，pH 3.6クエン酸緩衝液中で25⁵⁾ mmと比較するとはるかに低い値である。したがつて、サツカロースは2, 3, 4, 6 テトラメチル・グルコースを用いて原点補正を行つた場合に移動すると思われる原点より充分に陽極側に泳動しているものと考えられる。

この様に炭水化物類はいずれも陽極側に泳動し、したがつて負電荷を持つことが明らかである。なお一方以上の実験から陰陽両極側の最端に位する物質がd-グルクロン酸とサツカロースであることが判明したので、炭水化物類のMG値を次の様に定義することが出来ると思われる。

$$MG = \frac{\text{サツカロースから他の炭水化物までの距離}}{\text{サツカロースからd-グルクロン酸までの距離}}$$

^{1,4)} 前述の通り泳動物質同志が互いに平行した滴下位置-泳動距離グラフを持つ場合、それぞれの泳動速度減衰率 a'/a は同一装置、同一条件では滴下位置に関係なく等しい値をとるはずである。しかし実際には、十数種類にのぼる糖類を同時に同一条件で泳動することはむづかしい。したがつて出来るだけ一定条件を期する意味で定電位勾配のもとに泳動を行い、各糖類の a'/a を求めた。即ち同一濾紙の中央及び両極側 8 cmの3点毎に同一糖類を滴下し、0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5の各時間泳動を行い、このうちの1時間及び2時間の泳動距離実測値を使つて速度減衰率 a'/a を求めた。これをFig. 4に図示する。



N : d-galactose

O : l-arabinose

10.5 V/cm, 0.87~1.07mA/cm
2.5hrs., in 1% borate slon in
horizontal-type apparatus
permitting evaporation

すでに私達は毛管吸着分析における
R=1.00の値を持つすべての物質が、
濾紙電泳の際に常に平行な滴下位置 -
泳動距離グラフを持つことを述べた。
1,3,5)
実際Fig. 3から明らかな様にどの炭水
化物類もグラフが平行している。この
様に泳動物質のグラフが互いに平行し
ていれば電流，電圧，滴下位置，泳動
時間の影響を受けないMG値が得られ
2,4,7,8,9,10,11)
ることが予測される。このMG値につ
いては次報にゆずりたい。

Fig. 3において電気浸透の影響を考
え合せて，これ等炭水化物類の真の泳
動方向を考えてみよう。
15)

(1) 単糖類である d-キシロース，
d-リボース，l-アラビノース，l-
ラムノース，d-グルコース，d-マ
ンノース，d-ガラクトース，d-フ
ラクトースはいずれも泳動後常に濾紙
中央の滴下原点よりも陽極側に検出さ

れる。したがって陽極側に泳動する。

(2) 六炭糖誘導体であるd-ソルビット，d-マンニット，d-グルクロン酸もそれぞれ
中央滴下原点より陽極側に移動し，したがって陽極側に泳動する。なお d-グルクロン酸
は全使用物質のうち最も泳動速度が速い。

carbohydrates and 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00
their derivatives

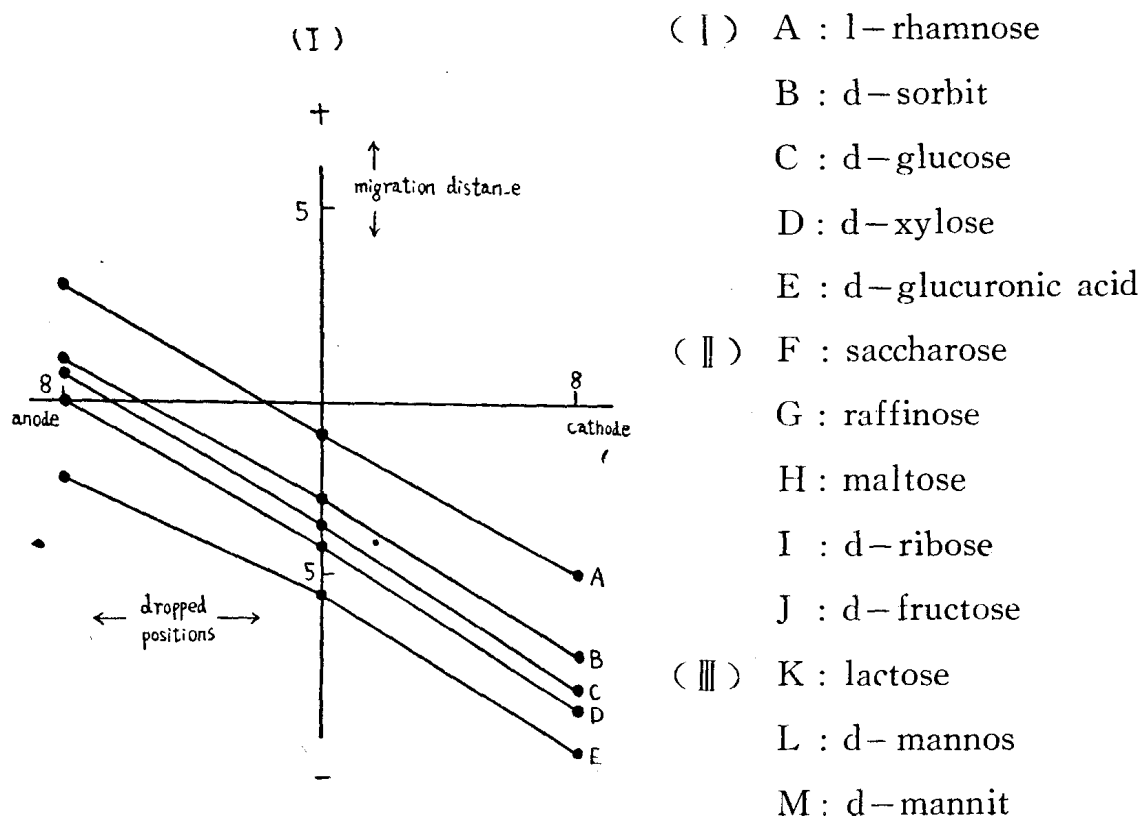
Table. 1 R values of carbohydrates and their derivatives, Filterpaper :
Tōyō No. 50. in 1% borate solution

この表からも明らかな様に，すべての炭水化物試料がその濃度差，及び滴下量の差を問わず溶液の浸透前線に現われた。こゝで行つた毛管吸着分析は乾燥した濾紙を用いているので，泳動の際のジュール熱による湿じゆん濾紙への毛管浸透の影響と同一視することは出来ないが，両者の間には密接な関係があるものと思われる。^{5,6)}

2. 炭水化物類の泳動距離

15種類の炭水化物類のうちd-ソルビット，d-マンニットは呈色されにくいため1% 1/100ccを用い，その他の物質は0.5%，1/100cc を2×40cmの濾紙の中央，陽極側8cm及び陰極側 8cmの3点に滴下し，2.5時間泳動させた結果，その滴下位置-泳動距離グラフを作りFig. 3に示した。図では物質のグラフ同志が重ならない様3組に分けて示すことにした。

Fig. 3 Migration distance-dropped positions graphs of
carbohydrates



II. 実験結果並びに考察

1. 毛管吸着分析

蒸発を許す水平型濾紙電気泳動装置内で泳動を行う場合、既報で述べた様に濾紙面からのジュール熱による蒸発がさかんとなり、このため濾紙両端から電解液が毛管浸透し、その結果泳動速度は著しい影響を受ける。この様な影響を調べる手段として下記の様な装置を用い、各物質の毛管吸着分析を行つてみた。即ち東洋濾紙 No.50, $1 \times 40\text{cm}$ を各1本

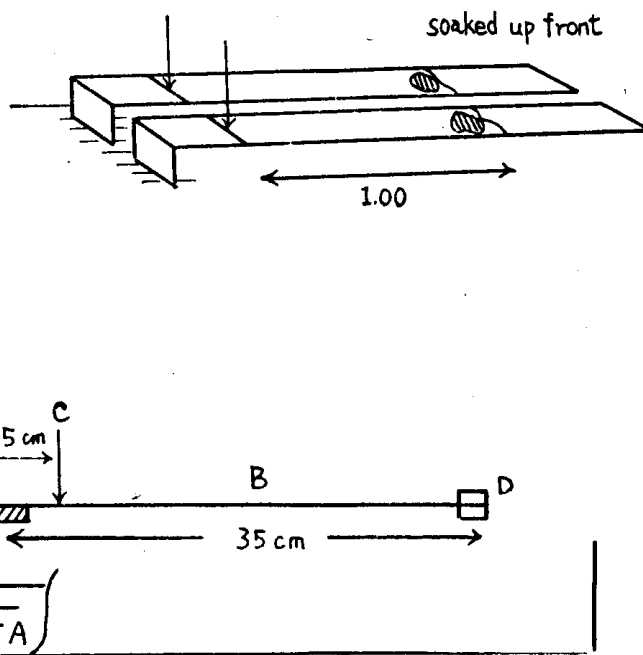


Fig. 2 Apparatus of adsorption analysis

- A) 1% borate soln B) filterpaper
C) dropped position D) holding rod

ずつ図の様に装置し、試料を滴下した後、1%硼砂溶液を浸透させて3時間後に取り出しアニリン・フタル酸及び過マンガン酸カリ溶液で呈色させた。この毛管吸着分析における炭水化物類の移動率 R を次の様に定義する。

$$R = \frac{\text{炭水化物の滴下原点からの移動距離}}{\text{液の炭水化物滴下原点からの浸透距離}}$$

この際、試料の濃度や滴下量の差による影響を見るため、濃度として1%, 0.5%, 0.1%水溶液を1/400cc, 又滴下量としては0.5%水溶液1/100cc, 1/400cc, 1/800ccを用いた。Table 1にこれ等の値を示した。

concentration (%)	0.1	0.5	0.5	1.0	0.5
dropped volume (cc)	1/400	1/800	1/400	1/400	1/100

1. 試 料

炭水化物類として次の15種類の0.5%及び1%水溶液を用いた。

(1) 単 糖 類

d-キシロース, d-リボース, l-アラビノース, l-ラムノース
d-グルコース, d-マンノース, d-ガラクトース, d-フラクトース

(2) 複 糖 類

マルトース, ラクトース, サツカロース

(3) 三 糖 類

ラフィノース

(4) 炭水化物誘導体

d-マンニット, d-ソルビット, d-グルクロン酸

上記試料のうち, d-ソルビット, d-マンニットは1%水溶液1/100cc, その他のものはすべて0.5%水溶液1/100ccを用いた。これは検出の都合によるもので理由は後に述べる。

2. 装置並びに実験法

実験装置はFig. 1に示す蒸発を許す水平型濾紙電気泳動装置を用いた。

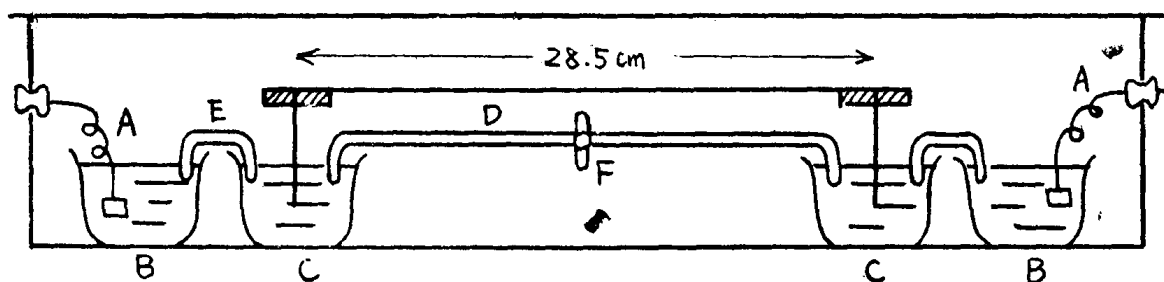


Fig. 1 Horizontal-type apparatus permitting evaporation

A) electrode B) electrode vessel C) 1% borate soln
D) filterpaper E) agar bridge F) glass-tube

濾紙は東洋濾紙 No.50, 2×40cm, 電解液槽には1%硼砂溶液¹²⁾をみたした。泳動法としてはまず2×40cmの濾紙を1% 硼砂溶液に浸し過じようの液を濾紙でのぞき, Fig. 1の装置にかけて一時間放置した後, 20分間電流を通じた後, 試料を滴下し直ちに泳動を開始した。電流値は30分毎に測定しその算術平均をとつた。泳動終了後, 呈色試薬として d-ソルビット, d-マンニットを除く物質にはアニリン・フタル酸¹³⁾を, d-ソルビット, d-マンニットには過マンガン酸カリ溶液¹⁴⁾をふん霧し, 加熱乾燥後現われたはん点の中心を標準として測定した。

濾紙電気泳動法における泳動距離 について (第10報) 炭水化物類の泳動距離の検討(その1)

永 田 絢 子

On the Migration Distance in Paper-electrophoresis. Part. X.
studies on the Migration Distance of Carbohydrates (1)

Ayako NAGATA

The migration distance of carbohydrates and their derivatives in the horizontal-type apparatus permitting evaporation was examined. After adsorption analysis the R value of all carbohydrates was found to be equal to 1.00. Examining the migration directions of carbohydrates, it was found that all of them migrates towards the anode. Their migration distance-dropped positions graphs were parallel each other. And next observing the variation of migration distance of carbohydrates in different lengths of time, the decrement of migration velocity, a'/a , was improved to be carrying the common value without influenced by their dropped positions. And the migration velocity showed a decrease very approximate to the logarithmic decrement in reference to time length.

すでに私達は水平型濾紙電気泳動装置内でアミノ酸^{1,2,3)}、血清蛋白質⁴⁾、及び数十種の色素類^{5,6)}の泳動速度が時間的に対数減衰に非常に近い減速を示すことを述べた。又一方、この様な泳動物質の相対距離比^{2,4,7,8,9,10,11)}MG値は多くの泳動条件に支配されにくい恒数となることを統計的^{8,9,11)}実測や、数学的解析から証明出来た。この度は、炭水化物類にもこの様な事実が見られるかどうかを調べるため、毛管吸着分析を併用してその泳動距離の解析を行つたので、その結果について報告したい。

実 験 の 部

I。 試料，装置並びに実験法