

生物化学最近の進歩

第 3 集

生物化学最近の進歩

第 3 集

生物化学最近の進歩編集委員会編

編 集 委 員

児 玉 桂 三 (委員長)
左 右 田 徳 郎 佐 橋 佳 一
森 高 次 郎 上 代 皓 三

編 集 幹 事

武 藤 聡 雄 三 浦 義 彰 菊 地 吾 郎
佐 伯 誠 道 吉 田 昭 山 下 恭 平

技 報 堂

生物化学最近の進歩
第3集

昭和32年2月20日印刷

昭和32年2月25日発行

編者

「生物化学最近の進歩」
編集委員会

発行兼
印刷者

大沼正吉
東京都港区赤坂溜池5

印刷所

株式会社 技報堂
東京都港区赤坂溜池5

発行所

株式会社 技報堂

東京都港区赤坂溜池5

電話赤坂(48) {3834番
8581-4番

振替口座東京10番

序

生物化学は生命現象解明に最も重要な学問であり、従つて生物を取扱う医、薬、農、理学を学ぶものにとり基礎学として欠くことの出来ぬものである。しかしながらその包含する事項は非常に広く、かつ進歩が極めて早いので研究の現状を知るとは生物化学専攻者と雖も自身の研究分野以外では中々容易なことではない。このことは米国の Annual Review of Biochemistry, Advances in Protein (etc.) Chemistry, Vitamins and Hormones や英国の Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids 等多くの綜説専門誌が発行されしかも広く読まれている事実が何よりも雄弁に物語っている。これらの綜説誌がわれわれ研究者に多大の便宜を与えていることはよく知られている通りであるが、しかし経済上その他の理由でわが国においては充分普及していないこともまた事実である。

そこで編者らは「生物化学最近の進歩」を編纂することとなりすでに2集を世に送つた。

ただ外国においては生物化学を幾部門かに分けて出版しているが、わが国の現状ではそれはまだ適当とは思われないので生物化学全域を取扱うこととしたのである。なお第1および第2集においては「生物化学ハンドブック」に欠けた項目を補う意味が強かつたが、今回は既述の分野におけるその後の進歩を加えることにも意を用いた。しかも執筆者はいずれもその方面の権威者である。「生物化学ハンドブック」を併用すれば大いに役立つことを信じて疑わない。

なおこの機会に多忙の中を執筆された執筆者各位に深甚の謝意を表するとともに種々困難なる事情あるにかかわらずあえて出版を引受けられた技報堂社長大沼正吉氏に感謝する。

1956年12月

「生物化学最近の進歩」編集委員会

森 高 次 郎

目 次

1. 蛋白質中の硫黄……………平井 秀松…… 1
2. 蛋白質, アミノ酸の中間代謝……………市原 硬…… 51
坂本 幸哉
3. プロテアーゼ最近の進歩について……………広畑 龍造……100
4. 蚕および野外昆虫のウイルス病……………石森 直人……128
鮎沢 啓夫
大沢 勝
5. 赤血球礎質の生化学的構造……………山川 民夫……155
6. α -Lipoic acid の生化学……………水原 舜爾……182
7. Orotic acid の生物学的
並びに生化学的知見……………牧野 堅……197
8. 環状磷酸ジエステル化合物……………浮田忠之進……211
9. 強心配糖体の生化学……………岡田 正志……239
10. 植物成分の生成機序……………柴田 承二……306
11. 同位元素の利用による
植物栄養の研究……………奥田 東……333
12. 組織培養の新問題……………木村 廉……353
堀田 進
13. 栄養判定の問題……………柳 金太郎……377

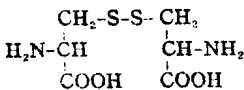
1. 蛋白質中の硫黄

§ 1. 緒言	1	3.5 蛋白質中における硫黄の結合状態	21
§ 2. 蛋白質中の含硫アミノ酸の定量法と2, 3の分析結果	3	3.6 蛋白質中のthiazoline環	24
2.1 蛋白質の加水分解と硫黄	3	§ 4. 含硫アミノ酸および蛋白質硫黄の酸化, 還元, その他の反応	29
2.2 蛋白質中のcystineおよびcysteineの定量	4	4.1 cystine, cysteineの酸化	29
2.3 methionineの定量	8	4.2 蛋白質の酸化	30
2.4 蛋白質中の硫黄, 含硫アミノ酸量	9	4.3 SH酸化剤——蛋白質の酸化	31
§ 3. 蛋白質構造と硫黄の役割	11	4.4 蛋白質の還元	35
3.1 蛋白質の変性とSH基	11	4.5 SHの置換反応	36
3.2 毛髪ケラチン	13	§ 5. 結言	42
3.3 insulin	15		
3.4 -S-S-結合の加水分解	19		

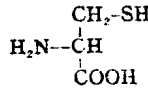
§ 1. 緒言

普通の蛋白質は1%前後の硫黄を含んでいるとされているが, この硫黄は cystine, cysteine, methionine の3アミノ酸に由来するものであると一般に信じられている。

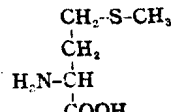
Lugg^{211), 212)}, Baernstein^{29), 30)}らが2, 3の蛋白質を分析し, 上記の3アミノ酸の硫黄量と別に測定された総硫黄量が厳密に一致することを報じているのはその一例である。しかしながらこれら3アミノ酸以外になお他の形の硫黄が存在する可能性を全面的に否定することはできない。後に記すように, thiol histidine, lanthionine, dijenkolic acid等はその存在がすでに確認されたと思われているか, 乃至はその存在の可能性が指摘されているからである。cystine, cysteine, methionineが蛋白質から単離されたアミノ酸としての構造がそのまま蛋白質のpeptide鎖中に結合されていると一般に蛋白質化学者は考えていて, 多くの疑いをさしはさもうとしないのが実情である。かく信ずるということは蛋白質中の硫黄がすべてこの3つのアミノ酸の



cystine



cysteine



methionine

形で存在するという実証が豊富にあるからではなくて、逆に実験事実が極めて乏しいからに他ならない。蛋白質の加水分解物中にこれらのアミノ酸を発見するということがただちにこれらのアミノ酸がそのままの形で蛋白分子中にあるということを意味するものではないからである。

本稿ではこの点に関する筆者の疑義を披露するが、多くの場合従来通り硫黄がこれらのアミノ酸に含まれている結合様式そのまま蛋白質中に存在するとの仮定に基づいて論が進められることを予め御諒承願いたい。

蛋白質化学者が現在までに研究発表した範囲内で蛋白質中の硫黄は次の3点で重要な意味をもっている。その1は cystine の disulfide が2このアミノ酸の橋渡しをするような形で結合している事実であり、その2は cysteine の thiol group が極めて反応性に富むグループである点であり、その3は methionine の methyl mercaptide の methyl group が labile であるという点である。

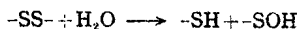
第1の点、disulfide bridge については蛋白質中の主要結合様式を α -amino と α -carboxyl 間の peptide 結合と考えている今日、この結合のみをもつて蛋白質構造を考える場合に画かれる極めて長い一本の peptide 鎖から逃れるために disulfide が考への上で使われる。具体的には球状蛋白構造を2本以上の peptide 鎖がその側鎖によつて結合し合うこと (cross linkage) によつて説明しようとするのであるが、この場合 -SS- は最も考えられやすい側鎖間の結合様式であるからである。

第2の点についてはある酵素、蛋白性ホルモンその他生物学的活性の証明されている蛋白質がある種の酸化、還元、置換などで失活ないしは賦活される事実を cysteine の thiol がこのような化学反応を呈することから類推して蛋白質中の thiol が生物学的活性と密接に関連するグループだとすることである。

第3の点は methionine の $-S-CH_3$ にある $-CH_3$ 基が labile な methyl であり、容易に遊離することから、この methyl 基がたとえば生物学的に重要な phosphatide の構成成分である choline の methyl 基に転移すると考えられているように、methionine がいわゆる trans methylation の概念の中心に位していることである。だがこの問題は methionine の methyl が必要なのであつて蛋白質中の methionine methyl である必要はなく、従つて現在では蛋白質と硫黄という本論文の主旨からはなおかけ離れている問題である。methionine についてはこの問題以外に化学者の注目を浴びていないのが現況であろう。

さてこの主題を扱ふと $-SS- \rightleftharpoons -SH$ の反応が最初にクローズアップされてくる。Hopkins が 1921 年 glutathione についてこの酸化還元反応を提唱して以来多くの

蛋白質化学者は -SS- の分解を還元反応に帰して来た傾向がある。しかし、



の加水分解があるということを忘れてはならない。また注意深く文献を調べればかなり多くの化学者によりこの水解反応が指摘されて来ている。筆者は本稿においてこの水解が蛋白質についても同様におこるといふ筆者の見解を説明する心算である。蛋白質構造研究の基礎が蛋白質の加水分解の研究にあるを思う時、peptide bond の水解と同様に -SS- bond の水解が重要であることが諒承されるであろう。

蛋白質の硫黄の問題を取り扱うためにはやはり3つの含硫アミノ酸の定量法がその基礎をなすことは論をまたない。他のアミノ酸でも同様である様に、この3アミノ酸の定量についてもなお多くの問題をはらんでいる。chromatography も bioassay もまた普通の意味での化学的定量法も、その方法の特異性を考えれば今日なお完全とはいえない難い状況である。

本稿では次項以下 § 2 に含硫アミノ酸の化学的定量法についてその概略を簡単に、§ 3 には蛋白質構造に関与する硫黄の役割ならびに disulfide の加水分解について、§ 4 には thiol または disulfide の示す色々な化学反応を、そしてそれに附随する生物学的活性との関連を述べることにしたい。

§ 2. 蛋白質中の含硫アミノ酸の定量法と 2, 3 の分析結果

2.1 蛋白質の加水分解と硫黄

蛋白質中のアミノ酸定量は蛋白質を酸またはアルカリで分解して各アミノ酸を遊離の状態とし、後求めるアミノ酸を定量する場合が多い。蛋白質中のアミノ酸が水解によつて定量的に遊離すれば問題はないが、水解中に損われることがしばしばある。humine の生成はこの代表的なものであり、また含硫アミノ酸の場合後章に記すようにアルカリ水解は禁物である。加水分解は定量法の一部をなすものであり酸水解中に含硫アミノ酸がいかなる変化をこおむるか、またどれ程失われるかなどについての知識をもつておくことが必要であろう。以下従来までに酸水解について検討された点を述べることにする。

酸水解中におこる cystine, cysteine などの破壊についての報告はまちまちである。

Bolling & Block⁽²²⁾ は 18% HCl, 90% HCOOH の 1:1 溶液で β -Lactoglobulin を 20 時間にわたり分解、添加 cystine の回収率を測定し、この条件下に cystine の損失はないと報ずる (Folin の方法, Fleming-Vassel の *p*-phenylene diamine の法)。

Lugg⁽²³⁾ は HCl 水解中に混在する多糖類について検し、多糖類の存在しない時は cystine, cysteine とともにその loss は無視できるが、これが少量に存する時は cys-

tine は 6~7% の loss を, cysteine の SH は殆ど全部失われるとし, 多糖類が大量存在する時は cystine も多く失われるという (Folin 法)。この喪失は主として硫黄の酸化に起因するのであろうが, 一方後に述べるように糖類の有する aldehyde が cysteine と縮合して thiazolidine 環を生ずる可能性も考えなくてはならない。

Pollard & Chibnall²⁵⁵⁾ も酸, 酵素水解を検討し, 8 N H₂SO₄ 20 時間で 10 数% の cystine が失われたと報ずる (Sullivan の法)。Bailey²⁵²⁾ は edestin に cystine を添加した回収実験から注目すべき考察をしている。すなわち 5 N HCl 15 時間で cystine は 30%, methionine は 20% 近く破壊をうけるが, 添加した遊離 cystine は殆ど変化をうけていない。このことより edestin の分子中に結合された cystine の方が一層不安定であることを意味すると考えている。これは蛋白質中の硫黄が cystine または cysteine の硫黄とかなり異つた性質を示す一つの Data である。

Miller & du Vigneaud²⁵³⁾ は多糖類を完全に除去した insulin を分解するに 1:1 濃 HCl+HCOOH, 48 時間水解で殆ど cystine の破壊を見なかつたが, 20% HCl のみではかなりの loss があつたとしている。

Alving & Mirsky²⁷⁾ は蛋白質を 5~11 N の硫酸で分解し, 硫酸濃度の上昇とともに cystine の測定値が上昇するといつている (Folin の方法)。McFarlane²²¹⁾ らは同じく Folin の方法を用いて蛋白質中の cystine を定量し, trypsin の分解による場合の方が硫酸水解に比し 20% 位高い値を与えたとしている。

Lugg は N₂ 気流下に 57% HI をもつて蛋白質を水解, かかる還元条件下で cystine の loss は最少に留めうるという。操作の繁雑さはいざ知らず多糖類含量の多い試料の場合には推せんできる方法であろう。

Sullivan²⁵⁴⁾ は蛋白質の加水分解が cystine におよぼす影響について系統的な研究を行つている。これによると 20% 塩酸のみよりはこれに蟻酸を混じた場合の方が loss が少ないという (Polarographic, Sullivan's Method)。

Hess, Sullivan¹⁷⁶⁾ は多糖類をかなり含む Tobacco Mosaic Virus を色々な条件下で水解し, その間の cystine の loss を見ているが, N₂ 気流下で, または還元剤として塩化チタンを加えた場合が loss が最も少なくてすむという。事実この様に還元剤を加えて酸化を防げば humin の生成量は少ないのである。

methionine もやはり多糖類の存在で酸化されやすいようである²²⁾。

蛋白質の水解時に尿素を混じて行くと humin 生成を防ぎ, cystine の定量値をよくすることを Brand^{(69), (71), (89)} が報じている。Halwer⁽⁶⁵⁾ は humin 生成が尿素によつて圧えられることは事実であるが, しかし cystine を加えて行つた回収試験は必ずしも好結果を示してはおらず, cystine の硫黄が humin 以外の何らかの形で失われる可能性を指摘している。

2.2 蛋白質中の cystine および cysteine の定量

色々な原理に従つて数多くの定量法が発表されている。ここではその原理の概略を

本法は操作の比較的簡単なことからしばしば使用される方法であるが、その特異性になお疑問があり、cysteineのみならず蛋白水解物中にも含まれうる糖類の分解物とも反応して発色するし、また還元性の金属その他とも反応する。また燐タングステン酸製品はしばしば不純物としてモリブデン酸を含み、このものは cysteine と同様 tyrosine など phenol 系の物質、tryptophan などの indole で還元されて同じく青色を発するので、燐タングステン酸試薬の不純物としての燐モリブデン酸を除くことに多くの努力を傾注する必要がある。また尿酸試薬はその名の如く条件により尿酸で還元されるし、cysteine 定量と同じ条件下に硫化水素により発色する。筆者は後記の如く本法で H_2S を測定している。

本法による cysteine 定量には多くの変法がある。たとえば Folin-Marenzi^{120), 121), 122)}, Tompsett¹⁴²⁾, Lugg^{214), 211)}, Mirsky & Anson²²⁰⁾, Shinohara^{294), 295), 296)} などが、いずれも反応の特異性の向上に努めているが、原理は Folin-Looney-Winterstein の方法を一步も出ない。

(3) Iod 法



の反応を利用した定量法であり、良い結果を与えるというが、特異性に問題があり、条件の厳重な調整が必要である。

Okuda²⁴⁰⁾ は蛋白質酸水解物を Zn 末で還元して cystine を cysteine となし、これに塩酸と KI を加えて 1/300 M KIO₃ で滴定して測定している。本法は Lucas & King²¹⁰⁾ によると沃度酸カリの消費量は、温度、酸度、cysteine 量、KI の濃度などにより異つた結果を与えるとし、これらを厳重な条件下におくことが必要とのべている。彼によれば温度 0°C、酸度 1 N HCl、KI 濃度 0.5% が適当であると述べ、終点に澱粉液を使用する。しかしこれを以つてしてもなお上式の化学量論的關係はえられないとのべている。cysteine の酸化の問題は後記 (29 頁) のように簡単ではない。

Virtue & Lewis²⁵⁴⁾ は KIO₃-KI-HCl の代りに I₂-KI-HCl 系を用い、Na₂S₂O₃ で水点で滴定する方法をとつた。

Baernstein^{277), 299), 300)} も Iod 法を用い cystine, cysteine, methionine の三者を測定しており、Kassel & Brand¹⁶⁹⁾ はその改法を考案している。これらの特長は SH を Iod で滴定する原理に変わりはないが、methionine を HI 水解で homocysteine とし、その SH を滴定して測定するところに特長がある。

(4) Sullivan 反応による比色定量法 1,2-naphthoquinone-4-sodium sulfonate



は cysteine とアルカリ性溶液中で反応し、Na₂S₂O₃ の存在下で赤色を与えることが Sullivan³²²⁾ によつて発見され、この反応は cysteine に特異的であることが認められた。この特異性はかなり高度のものであり、有力な cysteine の定量法であるという。cystine は還元して cysteine としこれについて測定すればよい。Sullivan³²²⁾ の原法では、0.5 N NaOH 中で Na₂SO₃ で cysteine の酸化を防ぎつつ更に NaCN, Na₂S₂O₃ を加

えて発色せしめている。

本法は Prunty²⁵⁷⁾, Pollard²⁵⁵⁾, Lugg²¹⁵⁾, Bushill, et al.⁷⁷⁾, Andrews⁵⁾, Kuhn¹⁹¹⁻²¹⁾らにより多少の変更が加えられているが大綱に変化はない。

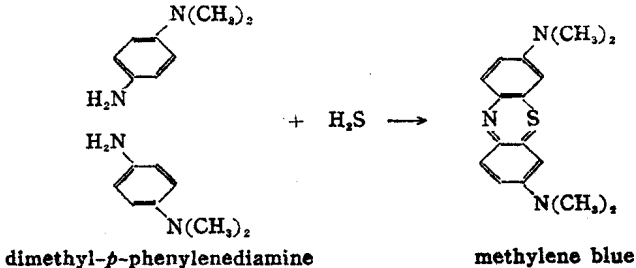
cystine と 1 価銅の複塩は酸性で水に不溶なので、この性質を利用して蛋白質の水分解より cystine を分離し、後に pyridine など銅を除去して遊離せしめた cystine を Sullivan 法で測定することができる。この原理に従っているのが Rossov²⁶⁹⁾の法である。

Sullivan & Hess の 1937 年の改法³⁵⁵⁾ は蛋白水解を塩化チタン存在下に行い、その還元性によつて水分解中の全 cystine が cysteine となつているので直ちに β -naphthoquinone sulfonate の発色反応が行われることを利用した方法である。

次いで 1942 年の改法³⁵⁹⁾ ではナトリウムアマルガムが $RSSR \rightarrow 2RSH$ の還元分解を、NaCN が $RSSR \rightarrow RSNa + RSCN$ の添加分解を行う性質を利用し、cystine と cysteine を別個に算出している。

(5) Cu_2O は上記の如く RSH 化合物と特異的に反応して沈澱することが Hopkins¹⁸²⁾によつて発見されている。この沈澱反応を利用して蛋白質水分解中の cysteine を分離し、その内の N または S を測定する方法が Vickery²⁴⁹⁻⁵¹⁾, Groff¹⁵³⁾らにより考案されている。

(6) dimethyl-*p*-phenylene diamine 本試薬は Zn 存在下に H_2S と次式のように反応して methylene blue を作ることは Caro 反応として知られており、St. Lorant²⁰⁷⁻⁹⁾によつて H_2S の定量法に応用されているところである。

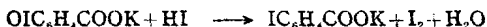
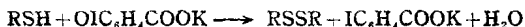
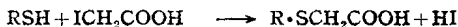


Flemming¹⁴⁹⁾ は 1930 年本試薬が $FeCl_3$ 存在下に cysteine とも反応して青色を発することを発見した。この反応を応用した 2, 3 の cysteine の定量法が考案されている。

Toyoda³⁴³⁾, Vassel³⁴⁹⁾らの方法は cystine を Zn 末で還元して、これに色素および鉄明ばんを加え加熱して発する青色を比色するのがその原理である。本反応は H_2S に対しては極めて鋭敏であるが cysteine の場合筆者の体験では必ずしも再現性がよくないまた感度も H_2S の場合のようなわけにはいかないようである。

(7) その他の方法 polarograph による定量法が Bridicka²⁴⁾, Stern et al.³⁵⁰⁾, Sullivan³⁴⁴⁾らによつて行われた。

RSH 化合物がコロイド硫黄を還元して H_2S を生ずる反応が Guthrie, Allertonらによつて定量に応用されている。その特異性のよいことから将来発展の余地がある。mono iodo 酢酸または iodosobenzoate と cysteine の下記のような反応が Rosner⁽⁶⁸⁾, Hellerman⁽⁶⁹⁾ によつて定量に応用された。

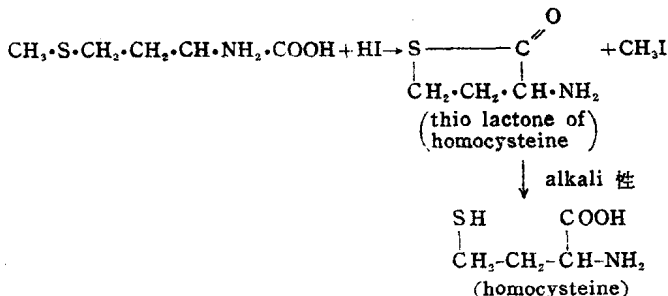


これらの方法はいずれも未水解蛋白質中の SH 基の定量に応用される点に特長がある。

ヨード法において過剰ヨードを hydrazine と反応させ、発生する N_2 ガスを⁽⁴⁸⁾また S 化合物がヨードと azide と反応して生ずる N_2 ガスを gasometric に測定する方法もある⁽⁶⁹⁾。

2.3 methionine の定量

(1) HI 水解で生ずる CH_3I または homocysteine から定量する方法

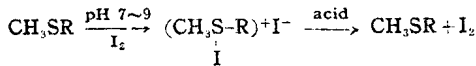


上式によつて生成する CH_3I を、蒸溜して分離定量することもできれば、生じた homocysteine をヨード法その他で定量することもできる。Baernstein⁽²⁹⁾ は蛋白質を HI で分解し、 N_2 または CO_2 ガスを通気して駆出した CH_3I を $AgNO_3$ 液に捕捉し、過剰の Ag^+ を $KSCN$ で滴定する方法をとつている。本法によると他法に比し高い値を与えるという。Bailey⁽²²⁾ は少量の H_2S が除去しきれないで $AgNO_3$ 捕集壇に到り、 Ag^+ を消費するためという。Baernstein⁽³⁰⁾ は更に水解物中の cystine, cysteine をヨード法で定量し、後 HI 水解液をアンモニアアルカリ性となして methionine に由来する homocysteine thiolactate を開環せしめて生ずる homocysteine を同じく I_2 の消費から定量、一方前述の CH_3I をも定量して methionine 量を check している。本法は Kassel⁽⁶⁹⁾, Kuhn⁽⁹³⁾, et al. によつて改良された。Beach⁽⁷⁰⁾ は HI 水解液から cystine, cysteine を銅 mercaptide として除去し、濾液中に残存する homocysteine-thiolactone を酸化して SO_2 となし、 $BaSO_4$ として

重量法で測定する方法をとつている。

(2) 比色法 McCarthy および Sullivan^{220), 220-a), 220-b)} によつて確定された方法で methionine がアルカリ性で nitroprusside と結合し、この化合物が酸性で赤色を呈する反応を利用する。この反応は cystine, cysteine, homocysteine では起らぬが tryptophan ではおこるので、蛋白質の酸水解を十分に行い、tryptophan を完全に破壊する必要がある。筆者の体験では満足すべき結果をえている。

(3) ヨード法 (Lavine^{199), 199)} methionine は弱アルカリ性では I₂ を結合し、酸性でそれを再び放す性質があるのでこれを応用したものである。



すなわち蛋白質水解物に過剰のヨードを加え、残存の遊離 I₂ を正確に Na₂S₂O₃ で除去し、後反応液を酸性にすると methionine に結合したヨードのみが遊離して来るのでこのヨードを滴定する。

(4) methyl sulfide 法 (Tutiya³⁴⁶⁾) methionine を NaOH とともに熔融し、生じた CH₃SH を isatin との発色反応で定量する。すなわち熔融物を稀塩酸で酸性となし通気、駆出されるガスの内 H₂S は Pb⁺⁺ 液に、CH₃SH は isatin-H₂SO₄ 液に捕捉、呈した緑色を比色する。

(5) Polarography (Stern³²³⁾)

2.4 蛋白質中の硫黄, 含硫アミノ酸量

今日までの文献に現われた分析値中重要なものを選んで表IIに総括した。本表は、cysteine を cystine として取扱つて示してある。本来蛋白質中に存在する cysteine 量の正確な定量にはなお色々疑問があるからである。表中 Block と記してあるのは同氏の著書中⁶⁴⁾に記されている値であり、Tristram と記してあるのは文献^{344), 345)}にある同氏の綜説から引用した分析値であり、いずれも数多くの研究者により測定せられた分析値中信用ある値の平均値である。表でわかるように毛髪セラチンが3~5%の硫黄の高含量を示す他は蛋白質はその種類を問わずほぼ 0.5~1.5% のS量を含んでいることが判る。

表 II

	蛋白質	N	S	Cystine	Methionine	備考
血液	馬ヘモグロビン	(16.7)	0.41	0.7	—	Schultz ²⁹¹⁾
	牛ヘモグロビン	—	—	1.01	1.0	Tristram
	全血清	(16.0)	1.32±0.10	3.6±0.1	2.1	Block
蛋白質	馬アルブミン	(16.0)	—	6.5	—	Hewitt ¹⁷⁸⁾
	牛アルブミン	—	—	6.03	0.81	Tristram
	馬総グロブリン	(16.0)	—	2.4	—	Schultz ²⁹¹⁾

	蛋白質	N	S	Cystine	Methionine	備考
血液蛋白質	人アルブミン	16.0	—	5.0±0.3	—	Bálint ²⁸⁵⁾
	“	15.95	1.95	6.3	1.3	Tristram
	人総グロブリン	16.0	—	2.5±0.3	—	Bálint ²⁸⁵⁾
	人γ-グロブリン	16.03	—	3.1	1.1	Tristram
	フィブリノーゲン	16.9	1.28	2.7	2.6	“
	フィブリン	(17.7)	0.88	1.5	2.2	Baernstein ²⁸⁶⁾
“	(17.7)	—	1.5	—	Zahnd ²⁷¹⁾	
筋蛋白	哺乳類筋蛋白	(16.0)	1.1	1.1±0.1	3.3±0.1	Block
	甲殻類筋蛋白	(16.0)	1.13	1.2±0.1	3.4	Block
	馬ミオグロビン	16.8	0.48	0	1.71	Tristram
	鯨ミオグロビン	17.0	0.40	0	1.86	“
	家兎ミオシン	16.7	1.10	1.4	3.4	Bailey ²⁸⁴⁾
	家兎Tropomyosin	16.7	—	0.76	2.8	“
毛角	人毛髪	16.6	4~5.5	15.9±0.9	—	Block
	羊毛	16.3	3.3	11.9	0.7	Tristram
	“	16.6	3.5	11.1±0.9	0.6	Block
	豚毛	16.6	3.85	14.4	0.5	Tristram
	牛角	16.1	2.8	8.2	—	Block ²⁸⁷⁾
	人爪	(14.9)	—	12.9	—	Hess ¹⁷⁷⁾
その他動物組織	脂蛋白	—	1	1.8±0.2	3	Block
	人肝蛋白	15.7	1.1	1.4±0.1	3.2±0.1	Greenstein ¹⁸⁸⁾
	ネズミ腎	—	1.1	1.8	—	Lee ²⁰²⁾
	牛腎	15.6	1.0	1.5	2.8	Block(unpublish)
	“	—	1.1	1.2	2.7	Beach ⁵¹⁾
	牛脾	15.7	0.9	1.3	2.6	Block(unpublish)
	牛心	—	1.1	1.2	3.2	Beach ⁵¹⁾
	牛肝	15.5	0.9	1.5	2.8	Block(unpublish)
総組織	—	0.9±0.1	1.3±0.1	3	Block	
ミルク	総カゼイン	15.4	0.78	0.36±0.4	3.5±0.3	Block
	“	15.63	0.70	0.34	2.8	Tristram
	α-カゼイン	15.53	0.72	0.43	2.5	“
	β-カゼイン	15.6	1.6	0	3.4	“
	β-ラクトグロブリン	—	1.5	3.0±0.2	2.8±0.2	Block
	人-ラクトアルブミン	13.7	1.44	3.6±0.4	2.2	Beach ⁵⁰⁾
卵	Ovalbumin	15.76	1.61	1.86	5.2	Tristram
	“	(15.4)	1.18	1.8	—	Schultz ²⁸¹⁾

	蛋白質	N	S	Cystine	Methionine	備考
卵	Ovalbumin	(15.4)	—	1.9	5.0	Kuhn ¹⁹²⁾
	Ovmucoïd	13.1	2.2	6.7	0.95	Tristram
ホルモン 酵素 その他	Insulin	15.78	3.25	12.5	0	Tristram
	pepsin	14.65	0.94	2.14	1.7	"
	chymotrypsin	16.18	2.07	4.59	1.22	"
	Ribonuclease	16.5	3.69	7.1	4.43	"
	yeast 蛋白	—	0.9	1.3±0.3	2~3	Block
	Feritin	8.4	—	2.1	2.8	Kuhn ¹⁹⁴⁾
	Gelatin	(16.0)	0.47	0.2	1.0	Baernstein ²³⁾
	牛皮 Gelatin 絹 Fibroin	18.0 18.7	— 0.0	0.0 —	0.9 —	Tristram "
植物 蛋白	Zein	—	0.5~0.6	0.8	2.4	Block
	"	16.2	—	0.83	2.41	Tristram
	Gliadin	17.66	—	2.58	1.69	"
	"	—	1.0	2.1±0.2	2.1	Block
	Edestin	18.55	0.88	1.43	2.4	Tristram
	"	—	0.83	1.1±0.3	1.9±0.2	Block
	Gluten 米 蛋白	10.9 —	1.3 —	1.5 —	4 3.4	Block "

注1 Block: Block, R.J. 著, *The Amino Acid Composition of Proteins & Foods* Charles C. Thomas Publisher, Springfield, ILLINOIS, 1948 の著書中で Blockが天山の測定値を平均したものの。

注2 Tristram: Tristram, G.R. *Amino Acid Composition of Proteins, The Proteins.* (Neurath, H., Bailey, K. 著) Vol. 1, Part A, Academic Press Inc., N.Y. 1953. Tristram: *Amino Acid Composition of Purified Proteins Advances in Protein Chemistry*, Vol. V, Academic Press INC., N.Y. 1949. 中に記載されている Data.

注3 Tristram の Data は蛋白質 100 gm に対する含有量, その他は N 16 gm に対する含有量。

注4 Block (unpublish): Block がその著書中で unpublished Data として引用しているもの, 主として Block 自身の測定値である。

注5 N量で()にあるものはその値を真として用い, 16 gm に換算したの意。他の N 量は実測値。

注6 Tristram の値は, 新しい chromatograph, Bioassay 等の方法による測定値が加載されている。

§ 3. 蛋白質構造と硫黄の役割

3.1 蛋白質の変性と SH 基

この問題については既に Heffner¹⁹¹⁾ (1907) および Arnold^{21), 22)} (1911) が卵アルブミンの nitro prusside 反応が熱変性で始めて陽性に出るということを報告していることに始まる。熱凝固した卵アルブミンの SH 基を定量したのは Mirsky &

Anson²³⁰⁾(1934)で、蛋白 1 gm 当り 0.05 mM の SH 基が測定されており、Kuhn & Desnuelle¹⁹²⁾(1938)も porphyrindin 滴定法で同様の結果をえている。これらはいずれも凝固した蛋白についての測定で精度に欠ける点があると思われるが、Greenstein¹⁵⁵⁾はこの点に着目し、塩酸グアニジンで変性された卵アルブミンが溶液状であることを利用し、porphyrindin で滴定して前記 Mirsky,²³⁰⁾ Kuhn¹⁹²⁾らの結果の約2倍が SH として証明されたと報じている。この場合同様の変性操作を尿素で行つて遊離する SH を定量すると塩酸グアニジンの場合の 80% に相当し、塩酸グアニジンで遊離すべき全 SH 基が定量されているとすると、尿素または熱変性は SH の遊離から見るかぎりなお完全な変性ではないとの推定が成立つ。しかし Anson¹⁵⁾,¹⁴⁾,¹⁶⁾,¹⁸⁾, Mirsky²³¹⁾らによると変性卵アルブミンの総 SH は塩酸グアニジンのみならず尿素、Duponol (長鎖の alkyl sulfate) の中でも測定され、特に Duponol は Ferricyanide による定量に最も都合が良いと述べている。ferricyanide はその特異性において勝れておりアミノ酸の内これと反応しうるのは cysteine のみであるという。SH 基の滴定は porphyrindin 以外に ferricyanide, tetrathionate, *p*-chloromercuri benzoate などが使用されることは §4 酸化の項に記載するとおりである。また Folin の尿酸試薬 (§2 参照)による SH 定量も勝れていると Anson¹⁶⁾はのべており、これら数多くの定量法を用い 1 gm の卵アルブミンの有する SH が 0.1 mM であると述べて先の 0.05 mM を訂正している。この値は 1.2% の cysteine に相当する。さて上記のように熱変性は不完全変性であつてこの操作では全 SH は測定されない事実は一方に蛋白分子の会合を考えなければならない¹⁴⁾。凝固現象は分子会合の結果である。会合により遊離 SH が分子間におおわれて SH 酸化剤がそこにおよばぬ一立体障害—ことが考えられる。このことは熱凝固した卵アルブミンの SH は酸化剤を計算量より増加せしめると測定される SH の増加すること¹⁵⁾、また十分なる注意を払つて会合を避けつつ熱変性せしめた場合は塩酸グアニジン、Duponol、Urea などと同様の値を定量することができること¹⁶⁾などで証明される。すなわち熱変性のみで総 SH の遊離が可能なのだとして Anson¹⁶⁾は結論する。従つて予め酸化剤 (ferricyanide) を加えておいて十分振盪しつつ加熱変性せしめると、ほぼ総 SH に相当する ferricyanide が消費されるし、尿素で遊離した SH もその液を水で稀釈して尿素濃度を下げ、蛋白質分子を会合せしめると SH 量が低下するという Mirsky²³¹⁾の実験とも符合するのである。

変性をうけない天然蛋白の SH であるが、これは蛋白の種類によつて異なること論をまたない。卵アルブミン、血清アルブミンなどは変性せしめない限り SH を現わさない。tobacco mosaic virus 蛋白¹¹⁹⁾はこの型に属する。これに反し組織の核蛋白の SH は天然状態で滴定される¹⁶¹⁾。urease はこの両者の型の SH を有するという。天然の卵アルブミンの SH は ferricyanide で滴定されないと述べたが、Anson によればヨードでは容易に酸化されるという。

このように天然蛋白の SH はその定量法にも関連し、一概にいうことはできない。