

醫化學技術研究誌

# 生物物理化學

*The Physico-Chemical Biology*

1952

Vol. 1

No. 2

電氣泳動研究會發行

## 生物物理化學投稿規定

- 1) 生物物理化學は、通例電氣泳動研究會會員の寄稿を掲載する。
- 2) 原稿は B5 版 400 字又は 200 字詰原稿用紙を用い、楷書で横書きし、原稿の長さは凡そ次の通りとする。  
原著；400字×30 枚以内（含圖表） 報告、資料、紹介；400字×6 枚以内（含圖表）  
規定以上長い論文でも、編集會議で認めた場合に限つて掲載する事がある。但し投稿原稿を原著として取扱うか否かは編集會議で決定する。
- 3) 原稿の第一枚はその上半分を空け、下半分に標題(英文を併記)、指導者名、著者名及び著者の所屬、著者名のローマ字、表及び圖の枚數を次の形式に従つて書き、上半分の空白には編集者への希望事項、別刷等に関して記入せられたい。  
例、(原著) 血清蛋白質の電氣泳動法的研究  
Electrophoretic Studies on Serum Proteins  
(指導 教授 何 某)  
何々大學何學部何々教室  
山 川 太 郎 Taro Yamakawa
- 4) 原著には 500 語程度の英文抄録をタイプで打つたものを添える事。尙この抄録には、英文標題、著者名、所屬を併せ記入の事。
- 5) 原稿は新かなづかい、平かな交りの口語體とし、句讀點、括弧は一字に相當する空間に書く事。外國語は明瞭なローマ字(なるべくタイプライター)で書く事。數字はアラビア數字を用いる。  
單位符號は cm, mm, cm<sup>2</sup>, cc, mg%, g/dl, 37°C,…… と書き、單位記號の後に點をつけない。
- 6) 圖、表は別紙に認め、第何圖、第何表と云う番號を附ける。圖は白紙に墨書し圖中の文字は縮小に應じう様に明瞭に書く事。
- 7) 引用文献は末尾文献表の番號を片括弧を附して、右上肩に附する事。  
例、……A. Tiselius<sup>3)</sup> によれば、……
- 8) 引用文献は次の形式で、論文の最後に一括する事。  
雜 誌；著者名：表題名\*、誌名、卷、號\*、初頁—終頁\*、(發行年)  
單行本；著者名：書名、發行所、發行地、(發行年)
- 9) 別刷は 30 部を著者に無料送附する。それ以上の希望には實費の支弁を受ける。
- 10) 原稿の採否は編集會議で決定する。原稿の掲載は原則として到着順とする。掲載ずみの原稿は返却しない。
- 11) 編集の都合により、原文の論旨を變えない範圍で、修文削除を加える事があり、校正は編集委員が行うのを原則とする。投稿規定に反した、又は編集會議が訂正を必要と認めた場合の原稿はその理由を附して寄稿者に返却することがある。
- 12) 原稿の送附先は  
東京都文京區東京大學醫學部生化學教室内 電氣泳動研究會  
で、封筒の表に“生物物理化學原稿”と朱書し、なるべく書留郵送にして頂きたい。

### 注 意

今後投稿の原稿からは上記の投稿規定を採用する。

第三號に投稿の原稿の締切は 月 日とする。但し原稿數の多い時は、後から來たものを第四號以下に繰り下げる

## 目次

〔綜 説〕	血漿蛋白質分割法	東京大學醫學部生化學教室 平井秀松	(3)
〔解 説〕	Lamm's Scale Method による擴散恒數の測定	京都大學工學部纖維化學教室 稻垣博・西島安則・東省三・永井孝司	(10)
〔原 著〕			
1.	リンパ腺磷發酵素の精製	山口縣立醫科大學醫化學教室 高橋基之・林靖	(17)
2.	電氣泳動法、單分子法、定量的沈降法に依る家兔抗體の研究。鹽析法 Convective Electrophoresis に依る Globulin 分割の研究 (免疫化學研究第1報)	岡山大學醫學部衛生學教室 緒方正名	(21)
3.	正常人血清に於ける $\gamma_2$ -Globulin に就て	東京慈惠會醫科大學生理學教室 杉本研究室 近新五郎・浦田卓・木村武	(28)
4.	赤血球沈降速度と血漿蛋白質電氣泳動分層との關係 (滲出性肋膜炎患者に於ける觀察)	信州大學醫學部戸塚內科教室 松岡正俊	(30)
5.	赤血球容血液の電氣泳動的的研究 (豫報)	京都大學醫學部前川內科 前川孫二郎・熊谷直家・荒木仁・中澤輝郎	(33)
6.	鶏卵卵黃の電氣泳動成分について (第一報)	新潟大學理學部化學教室 菅野浩	(37)
7.	血清アルブミンの易動度及荷電の溫度變化	東京大學醫學部生化學教室 四方淳一	(40)
8.	健康小兒血漿蛋白質の電氣泳動法的的研究	熊本逓信病院 橋元祐二・永好千鶴子 熊大醫小兒科 緒方昌一	(43)
9.	電氣泳動對流 (Electrophoresis-Convection) による $\gamma$ -グロブリンの分離 (豫報)	山口縣立醫科大學醫化學教室 田中一成・財前奉晴・林靖	(47)
	第一回電氣泳動研究會東部地方會研究發表會講演抄録		(48)
	第二回電氣泳動研究會總會及研究發表會講演抄録		(52)
	電氣泳動研究會白則、役員		(58)
	あとがき		(61)
	投稿規定		表紙 2
	電氣泳動法標準操作法		表紙 3

---

---

Contents

Review:

..... H. Hirai...(1)

Diffusion Studies by Lamm's Scale Method ..... H. Inagaki, Y. Nishijima,  
..... S. Azuma, T. Nagai...(10)

Originals:

Purification of the Alkaline Phosphatase of the Bovine Lymph-node  
..... M. Takahashi, Y. Hayashi...(17)

Studies on Rabbit Antibodies by Electrophoresis, Quantitative Precipitin Reaction, and  
Monolayer Method.—Studies on Fractionation of  $\gamma$ -Globulin by Salting-out  
and Convective Electrophoresis Method ..... M. Ogata...(21)  
..... S. Kon, T. Urata, T. Kimura...(28)

Study on the Relation between Erythrocyte Sedimentation Rate and Plasma Proteins  
in Plurisy ..... M. Matsuoka...(30)

Electrophoretic Studies on Red Blood Cell Hemolysates  
..... M. Maekawa, N. Kumagai, S. Araki, T. Nakazawa...(33)

On the Electrophoretic Components of the Hen's Egg Yolk I. .... H. Sugano...(37)

Temperature Dependence of Electrophoretic Mobility and Electric Charge of Crystalline  
Horse Serum Albumin ..... J. Shikata (40)

Electrophoretic Study on Bloodplasma of Healthy Children  
..... Y. Hashimoto, C. Nagayoshi, M. Ogata...(43)

..... K. Tanaka, T. Zaizen, Y. Hayashi...(47)

---

---

( 綜 説 )

## 血漿蛋白質分割法

東京大學醫學部生化学教室

平 井 秀 松

## 1. 緒 言

血漿は生體、あるいは生體組織の生活状態を詳細に反映する。我々は血漿の性格理解を通じ間接に組織の機能を窺うことができるのである。血漿の主要成分はいうまでもなく蛋白質であるがこの蛋白質もまた色々な状態を仮し我々の捕捉をまつている。

生體が極めて複雑な殆ど無数と思われる物質の集合體であることを化学が教えるのであるが、血漿蛋白質もまたこの例にもれない。

自然科学的方法の妥當性が認められる以上、生體の部分としての血漿蛋白質、更にその分析が重要な研究方法となる。分析は「全體」の把握に先行すべきである。

本論文は題名の如く血漿蛋白質がどの様な蛋白質より構成されているかを研究する方法—Blood Plasma Protein

Fractionation Method—を取扱つたものであるが著者ならびに大部分の讀者が醫學者であることから血漿蛋白質分割と臨床醫學との相關々係について多少觸れる處がある筈である。

血漿蛋白質分割法は Tiselius (1937) の出現により現在までの歴史中その頂點を形成した觀があり、特にその美麗な電気泳動曲線の示す分析値の精度と再現性を買われ、分割法の中心ないしは標準法の地位にのし上つてきていて諒解される。本法による分割と本論文が主として対象とする電気泳動法以外の方法とがどの様に關連するかは重要かつ興味深いことであろう。この様な觀點から以下主要な分割法に就いて記載しておく。

一方分割法は血漿の分析のみならず血漿蛋白質中の有効成分を大量に分離精製して臨床的方面に應用されるようになってきた。例へば albumin,  $\gamma$  globulin, fibrinogen などがそれぞれ有効に疾病の治療あるいは預防に使用されている。この内  $\gamma$ -glob. および他の抗體成分については東大兒科教授を主任とする試験研究  $\gamma$ -glob. 研究班が過去三年間取り上げて成果を納めている。之については改めて公表する機会がある。

## 2. 蛋白質の溶解度

一般に可溶性蛋白質は一定の溶解度を有しているが、この溶解度は蛋白質の種類によつて溶媒の性質によつてそれぞれ異なるものである。この差異による分割法を溶解度法 (Solubility method) と名づけておく。

溶媒の性質として溶解度に影響を與える因子は溶媒の pH, イオン強度, 透電恒數, 温度などが考えられる。一般に蛋白質はその等電點に於て最も溶解度が低いので、ある種の蛋白質はその pH に於て沈澱せしめることができる。例えば血清に  $\text{CO}_2$  ガスを通じた際 Euglob. の沈澱を見るがこれは  $\text{CO}_2$  溶解による pH の低下によると考えられる。一方イオン強度は蛋白質の溶解度に極めて密接に關連するが各蛋白質が最も高い溶解度を示すイオン強度がある筈である。たとえば血清を水で稀釋すれば濁りを生ずるが、これはイオン強度の低下のため Euglob. の溶解度が減少して沈澱してきたものである。逆にイオン強度を高めてゆくと再び溶解度が減少してゆくが、この様に高い鹽濃度で蛋白質が沈澱する現象が鹽析 (Salting out) と名づけられ、蛋白質の種類による鹽析のされ方の違いを利用した分割法が本節に取扱う主題となる。

水は透電恒數の高い溶媒の一つであるがアルコール、アセトン、エーテルなどの有機溶媒は水より一層低い透電恒數を示す。よつて水と有機溶媒のその混合比によつてそれぞれの透電率を示す譯であるが、この溶媒中の蛋白質の溶解度がその種類によつて異なるので分離が可能になる。この理に基いたものが次第にのべる有機溶媒法である。

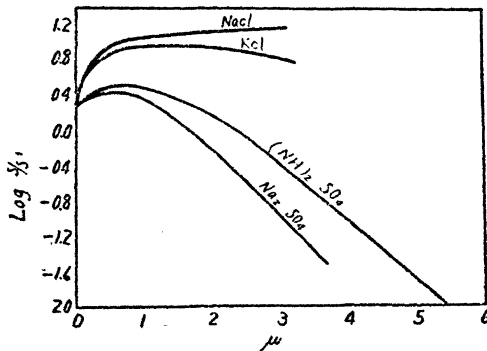
溶解度が温度によつて異なることは最も基礎的な現象であり分割法を行うときは常に嚴重なる注意が要求される。血清中にも冷却すると沈澱してくる glob. があり、Cold insoluble glob. と呼ばれているが温度による溶解度の變化の一例である。

上記の諸因子はどの様な溶解度法による分割の場合も多かれ少かれ同時に相關連して蛋白質の溶解度に影響するものであるから分割時條件の精密な調節が特に必要である。分割時の蛋白質濃度は溶解度法の原理から本質的な因子である。この點からの批判も忘却されてはならない。

## 2. 鹽析法 (Salting out Method)

### 1. 序説

鹽類溶液に對するアミノ酸又は蛋白質の溶解度はCohn等により古くから研究されてきた。稀薄な鹽類液に對する溶解度の研究の1例としてCarboxyhemoglobinの各種鹽類溶液中の溶解度と鹽濃度(イオン強度)との關係を第1圖に示した。第1圖に於けるSは與えられたイオン強度に於ける溶解度、S'はイオン強度0の時の溶



第1圖 Carboxyhemoglobin の溶解度とイオン強度との關係

解度であり、 $\mu$ はイオン強度即ち $\mu = \frac{1}{2} \sum m_i Z_i^2$ によつて定義される量である。ここには $m_i$ 溶液中の各イオンのmol濃度、 $Z_i$ はそのイオンの原子價である。これによると鹽の溶解作用は $\text{NaCl} > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > \text{Na}_2\text{SO}_4$ であり、Carboxyhemoglobinを沈澱せしめる作用は $\text{Na}_2\text{SO}_4$ が最も強いことになる。この圖で $\mu=5$ は $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で大約25%の濃度である。圖に於て $\mu=0.8$ 附近で溶解度は一度上昇、(Salting in) 爾後下降の傾向にある。(Salting out) この様な傾向は血清glob. で一層著しい。このことは血清glob. はある程度鹽が存在する時に最もとけやすくなつた鹽析されやすいことを示すものであり、血清を蒸溜水で稀釋した際に沈澱を生ずる事實もうなづかれるのである。

鹽析法は第1圖にも示した様に鹽濃度が高まるにつれ蛋白質の溶解度が減少するという原理に基いたものであるが、この時溶解度Sの對數とイオン強度 $\mu$ の間には

$$\log S = \beta - K_s \mu \quad \text{の實驗式が成立し}$$

この二者が直線關係にあることが示される。ここにSは溶液1l中の蛋白質のg數、 $\beta$ 、 $K_s$ は恒數で、 $\beta$ はイオン強度を0に外挿した時の溶解度の對數を現し、pHおよび温度で著しく影響をうけるが、 $K_s$ はそれにかかわらぬ恒數で鹽析恒數といわれる。 $\beta$ 一定の場合この値の大なる蛋白質程鹽によつて沈澱され易いことは式より明か

なことである。鹽析試薬としては $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ などの多價陰イオンが有効である。硫酸、硫酸ソーダが好んで使用される所以も諒解されよう。

敎室の島尾は血漿蛋白質の $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 溶化中の溶解度を研究し frac.1 (fibrinogen), frac.2 ( $\gamma$ -glob) frac.3 ( $\gamma$ -glob) frac.4 ( $\beta$ -glob?) に對しそれぞれ 1.32, 2.83, 5.77 の $K_s$ の値を得ている。この場合 $\beta$ の値が各々異なることはいうまでもない。(島尾: 未公表データ)

### 2. 硫酸アンモン $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

最も古くから用いられた鹽であり alb. glob. の定義も本来この鹽による鹽析から由來している。歴史についての記載は省略する。この鹽の有利な點は鹽析恒數が大きいこととその溶解度—飽和溶液は約57g/dl—が極めて高いので鹽析に要求される高いイオン強度を得られる點である。しかし一方鹽自体がNを含むため Kjeldahl法によるN定量が妨げられる點が缺點である。この場合 $\text{NH}_4^+$ が $\text{Cu}^{2+}$ と呈色物質を作るため Biuret 反應も使用できないのであるが著者は Phenol 試薬により發現する青色は殆ど $\text{NH}_4^+$ による妨げをうけないのでこの方法を用いている。

硫酸の場合その濃度が遷々その飽和度で表現されてきているが一般に飽和状態はその時の温度により異なるので硫酸の場合もその温度係数が小なりといふ注意が肝要である。20~25°Cの間で半飽和硫酸のmol濃度は2.05である。この様な理由から飽和表現法は鹽析の場合避けた方が賢明であろうと考ふる。

硫酸による血漿蛋白質の分割と電気泳動分析との比較は諸家<sup>7,8)</sup>によつて行われているが組織的にはCohn, McMeekin<sup>9)</sup>による研究が参考になる。第1表はその結果を示しておくがこれによれば1.39Mで生ずる沈澱のみがほぼ純粹な $\gamma$ -glob. より成つてゐるが、他の分割は色々な電気泳動分割の混合物である。一層精細な検討が平井、島尾によつて行われた。結果を第2表に示す。表によればpH5.6~6.4に於て

1) Fib. は9%で沈澱開始、14%附近で終結する。

第1表<sup>8)</sup> 血清蛋白質の硫酸分割

硫酸濃度 Mol.	飽和度 %	沈澱蛋白質の性状	分割量		
			總蛋白に對する%	水溶性	水不溶
1.39	0.34	主として $\gamma$ -glob.	29	71	29
1.40	0.40	$\gamma$ -, $\beta$ -, $\alpha$ -glob.	15	67	33
2.05	0.50	$\beta$ -, $\alpha$ -glob. mucoglob.	14	94	6
2.57	0.62	主として結晶性 alb.	32	98	2
2.89	0.68	結晶 alb. choline esterase, glycoprotein phosphatase	14	99	1

第 2 表 馬血漿の硫酸分劃\*

硫酸の濃度 範 圍 %	電氣泳動分析									
	上 昇					下 昇				
	A	α	β	φ	γ	A	α	β	φ	γ
0~10%	3	2	4	70	21	4	7	6	65	18
10~14%	4	4	4	55	33	4	2	7	56	31
14~21%	0	4	8	0	83	0	8	14	0	78
21~26%	0	7	66	0	27	0	6	68	0	26
26~30%	0	12	88	0	0	0	23	89	0	0
30~35%	42	58	0	0	0	44	56	0	0	0
35~38%	82	18	0	0	0	79	21	0	0	0
38% pH4.8	77	23	0	0	0	79	21	0	0	0

註 \* 沈澱に就いて分割したものである。硫酸濃度10~14%はこの濃度の間で沈澱せしめられた分割の意である。

\*\* 35~38%の分割を除去後の濃液を鹽液にてpH4.8 (alb. の等電點) とした時生じた沈澱の意。

2, γ-glob. 12%~22%

3, β-glob. 20%~28%

4) α-glob. および alb. は28% 以上で沈澱を開始する。

という結果を得ている。鹽析曲線に3ヶの critical zone が夫々10%, 19%, 26%, 附近に見られ, φ, γ, β にほぼ對應すると考えられる。鹽析曲線に就いてはHowe<sup>15)</sup>の論文を参照され度い, 尙 critical zone の證明は鹽析法における鹽濃度決定の基礎をなすものである。

硫酸による血清蛋白質分割の精製はかねてから諸家<sup>10, 11, 12, 13)</sup>により行われている所であるがその電氣泳動的純度は上記の如くであり, 血清 alb. の結晶化に成功している以外は見べきものがない。超遠心法による純度判定の研究はPedersen<sup>3)</sup>により検討されたが最初に沈澱する Euglob-電氣泳動的に主として γ-glob. が比較的純粹であつたのみにて他の分割については成功していない。

硫酸分劃による臨床的な研究については Rowe<sup>14)</sup>の綜説がある。Rowe による正常値は總蛋白 6.5~8.2% (平均7.5), alb. 4.6~6.7 (5.6) glob. 1.2~2.3 (1.9) と報告されている。

3. 硫酸ソーダ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

前記の (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> と共に最も廣く使用されてきた中性鹽であるが前述の如くその鹽析効果は極めて大きく一硫酸より大である一旦つ Kjeldahl 法によるN定量を妨げないことが愛用される主要な因と思われる。しかし硫酸に比しその溶解度が低い點に不便を感じることもあるが 30°C に於ける飽和溶液は約37%であるから glob. を沈澱せしめるのに何等の困難もないし, 中性鹽であるためその溶液の pH は殆ど中性である點が好ましい。このいずれの點に於ても後記の亞硫酸ソーダ Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> より一

層有利な筈である。市販品使用の場合は pH を一應調べる要があろう。前述の如く pH は鹽析上大きな因子をなすからである。

硫酸ソーダ鹽析は Howe<sup>15)</sup>の研究以來鹽析法の中心をなすに至つた。Howe は鹽析曲線の解析より正常血清に於て14, 18, 22%に夫々 critical zone を認め, この濃度に於て沈澱する血清蛋白質を Euglob., Pseudoglob. I, 同 II と名づけ22%の上清を alb. と定義した。今迄の記載で明かな様に Englb., alb. 等の名はその研究者により異つた概念を有することに留意する必要がある。

第 3 表 Howe の方法による人血漿分劃

	總蛋白	alb.	P II	P I	E	Fib.	Glob	A/G
歐米人 <sup>16)</sup>	100%	67%	7	19	4	3	30	2.2
歐米人 <sup>17)</sup>	6.5~7.9 g/l	4.7~5.7	0.2~0.8	0.8~1.7	<0.1	0.4	1.3~2.0	2.5 2.6
日本人 <sup>18)</sup>	7.2	5.2	0.5	1.3	0.2	0.4	2.0	2.2

\* 増田, 春木 (東大物療内科) 未公表データ

第 4 表 人血漿の硫酸ソーダ分劃

Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 中のN 濃度 %	上 清 量	鹽析時 pH	電氣泳動分析									
			上 昇					下 昇				
			A	α	β	φ	γ	A	α	β	φ	γ
0.0	9.5 <sup>19)</sup>	6.8	54	12	8	8	18	55	10	7	7	21
8.0	8.7	6.4	57	6	14	7	15	57	6	10	6	21
10.0	8.2	〃						57	13	18	0	18
12.0	8.0	〃	63	11	18	0	11	61	13	14	0	12
14.0	7.1	6.2	73	6	16	0	5					
16.0	6.7	〃	71	10	14	0	6	74	6	9	0	10
18.0	6.5	〃	67	12	18	0	3	73	8	13	0	6
20.0	6.1	〃	77	12	12	0	0	78	13	9	0	0
22.0	5.5	〃	73	8	19	0	0	75	11	15	0	0
24.0	5.1	6.1	77	13	10	0	0	75	18	7	0	0
26.0	4.6	〃	77	23	0	0	0	73	27	0	0	0
28.0	3.8	〃	83	17	0	0	0	82	18	0	0	0

Howe の方法による正常人血清分析値を第3表に掲げる。日本人に就いては當教室に於て増田, 春木が2例の正常男女青年血清に就いて測定したものである。

Howe の方法による鹽析と電氣泳動分析との比較<sup>18, 19, 20, 21, 22, 23)</sup> 討は多く報告されているが, 特に Howe の alb. は電氣泳動法に於ける alb. と α-glob. であり, 従つて異つた A/G 比—鹽析の方が20~35% 高い—を示すことが強調される。低蛋白血症でも例外なく鹽析の方が大きな A/G 比を示すが, 兩法の分析値は大體比例關係にあると報告<sup>18)</sup> されている。一方臨床的な研究中特に胃癌<sup>20)</sup>の場合兩法の分析値に一定の相關々係が見られぬという否定的見解も報告されている。

硫酸ソーダ鹽析の電気泳動法による検討が平井、島尾<sup>9,20)</sup>によつてなされた。第4表に結果を示す。この分析はすべて濾液に就いて行われているがこのことの利點は電気泳動分析の對象が常に易動度の標準になる alb を含んでいること、および沈澱の分析は母液を尙含むか、またはそれを洗滌するため沈澱をもとかし去るという缺陥をさけたことにある。鹽析曲線は 10%, 15%, 23% 附近に 3ヶの critical zone を観察した。Howe のいう 13.8% には critical zone が見られなかつた。尙一層注意深い検討が必要かも知れぬ。

表から

- 1) Eib. は 5% 附近で沈澱を開始し 10% で完結する。
- 2)  $\gamma$ -glob. は 10%~12% で開始 16~18% で完結。
- 3)  $\beta$ -glob. は 14%~16% で開始 24~25% で完了。
- 4) 24% 以上で  $\alpha$ -glob. および alb. が沈澱を開始するが 28% の上清で尙  $\alpha$ -glob. を含む。

ことが理解される。そして同時に 2ヶ以上の分割を重ねて沈澱することもわかるであろう。このことは尙し溶解度を有する蛋白質も異なる易動度をもつ場合もあることを示すものである。この観点から鹽析法によつて電気泳動分析に近づける様鹽濃度を加減することは困難なことである。Majoor は 18.5%  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  の沈澱を Euglob. 26.8% の分割を Pseudoglob., 上清を alb. と名づけて、夫々  $\gamma$ -glob.,  $\beta + \alpha$ -glob., alb. の値と一致すると報告している。一方 Milne は 19.6%, 26.8% の鹽を使用中前者 Euglob. は  $\alpha + \beta$ -glob と、後者 Pseudo-glob. は  $\alpha_1 + \beta_2$ -glob. の値と一致するとしている。成程數値に於て兩法による値の一致を見るかも知れぬ。しかしながら例えば 18.5% の沈澱量が  $\gamma$ -glob. の値と一致してもそれは明かに  $\beta$ -glob. を含んでいるし、19.6% の沈澱を  $\alpha + \beta$  glob. とみなしてもその上清が尙  $\beta$ -glob. を含んでいることは確である。本質を伴ふ數値のみの一致にどれ程の價値を置き得るのであるか、又もし彼等の Euglob. が  $\gamma$ -glob. に比例する量を現わすとしても鹽析法が蛋白質濃度によつて左右されるものである以上  $\gamma$ -glob. の含量が異なる場合たとへば病的な状態に最早比例しなくなることが考えられかつ経験されているのである。私はしかしこの様な試みをすべて否定しようというのではない。というのは鹽析により電気泳動的に純粋な分割を分離することは恐らくは不可能ではないと思うからである。又一方蛋白質の有する鹽析恒數は蛋白質によつて明かに重要な恒數の一つである。現在電気泳動の易動度と鹽析恒數との關係が明かにされていないからといつて將來までを否定する必要は毛頭ない。ただ鹽の濃度のみを選ぶことにより一義的に電気泳動分析値と一致させようとする單純な考えに賛成しかねるのである。Euglob.

Pseudoglob. の名稱が研究者により異つた定義のもとに解釋されて混亂を生じた。 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -glob. というのは血清の電気泳動像の峰に附せられる名稱であつて、異つた方法による分割にこの名稱を與えることは再び新たな混亂を生ずる怖れがある。注意すべき事柄であらう。

尙 N 量に一定の係數を掛けて蛋白質量を算出する方法—Howe は 6.25 を用いてゐる—に於ける係數の疑義は見逃し得ない。Armstrong は pool 入血漿蛋白に就いて平均 6.73 を提唱し、各分割により 6.1~8.4 まで變動すると報告している。このことは含まれる分割の量的比によりその係數に差異を生ずることを意味し、我々に困難な問題を提示する。ただ分割法が窒素量をもつて表現される場合たとへば Howe の表現法—は問題ない譯である。

#### 4. 磷酸鹽

磷酸カリを組織的に鹽析に利用したのは Butler<sup>31)</sup>であるが、この鹽の特長は第 1 鹽  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  と第 2 鹽  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  との混合により鹽析試薬自體による pH の調節が可能なこと、原子價の高、陰イオンによる強い鹽析効果であると考えられる。溶解度はしかし硫酸程高くない。しかし一定比の混合液の pH は稀釋により意外に大きくずれることに注意が肝要である。

Butler は正常馬血清を pH に於て 1.25N, 1.5, 2.4, 2.58, 3.00 の鹽濃度に於て夫々 Frac. I, II, III, IV, V に分離しているが critical zone は必ずしも鋭くないと述べている。本法は 2,3 の研究者により正常人、患者の血清分析に用いられた。Wuhrmann は Fib. glob. alb. の間に critical zone を證明するが glob. の subfraction に就いては見られぬといつており、nephrosis の血清に於て小さな alb. 値を示し、Howe の方法より一層電気泳動値に近いことを報告している。本法は尙普遍化していないが道試が要望される。

#### 5. その他の鹽

食鹽の半飽和で Fib. が析出されるという Hammarsten<sup>34)</sup>の古典的な方法が有名である。

枸橼酸ソーダが利用された。しかし尙一般的でない。亜硫酸ソーダによる分割法が吉川、齋藤<sup>15)</sup>により検討された。しかし前述の様に溶解度の點および該鹽液の示す pH の點に於て硫酸ソーダより勝れているとは思われぬし、 $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  と命名する點で電気泳動法との混同をおこしやすいことが指摘される。

### 3. 水溶性有機溶媒による分割

#### 1. 序 説

本法は『筋』に述べたように一般に蛋白質は水の様に高い透電率を示す溶液に於ては、透電率が下るとその溶



溶解度を減じる性質を利用した方法に外ならない。有機溶媒たとえばエタノール、メタノール、アセトン、エーテルなどは低い透電率を示す物質で水との混合比により所要の透電率を有する溶媒が得られ、蛋白質の溶解度の差が分割に利用される譯である。本法は鹽析時の變數即ちイオン強度、pH、温度、蛋白質濃度の4變數を一嚴密な意味ではない一透電恒數を加へた5變數より成るので分割が一層精細な條件下になされるわけである。しかし同時に中性鹽に比し蛋白質を變性せしめる作用が強いのでこの點への顧慮が必要である。次に記す方法が低温を利用しているのは蛋白質の溶解度に対する温度の効果と同時に變性をさける目的が加つてゐる。

アルコール、アセトンなどは極めて古くから蛋白質を沈澱、精製に使用されてきた。之等の高濃度に於て蛋白質は殆んど完全に不溶なので除蛋白に、乾燥蛋白質の作製に使用されたのである。

この方法の血清蛋白分割の組織的研究は Cohn 一派によつて行われたといえる。しかしその操作の復雑を避けて分析用に殆ど用ひがたいといつても過言ではない。Cohn は主として血漿蛋白質の各分割の大量分離に本法を用いたのて分析が目的ではなかつた。しかしメタノールにより精製された各分割に關しての知識は血漿蛋白質研究家が當然有していなければならぬと考える故にその概略をここに紹介する。エタノール法は現在我々の指導下に日本製薬株式会社が入  $\gamma$ -glob. の精製を行つて居り、その製造には主として當教室の東學士が當つてゐる。エタノール法に關するこの記載も同學士の提出による資料が多い。記して謝意を表するものである。

2. メタノールによる A/G 比の決定

メタノール 42.5%, pH 6.7~6.9 イオン強度 0.03 食鹽とすれば 0.03M (即ち 0.18% に相當する) 0°C の條件で glob. の殆んど全部が沈澱するのでその上清中の蛋白質 (alb.) から A/G 比が求められる。この A/G 比は電気泳動法によつて求めた A/G 比と比較的良好一致すると記載している。この操作は簡單なので臨床検査場で實施が可能と思われ<sup>37)</sup>が 0°C という低温に尙困難を感ずるのである。Nitsche によると 23 例の正常人の法による A/G 比は 2.2 となつてゐるので尙電気泳動より高いと思われ<sup>38)</sup>る。

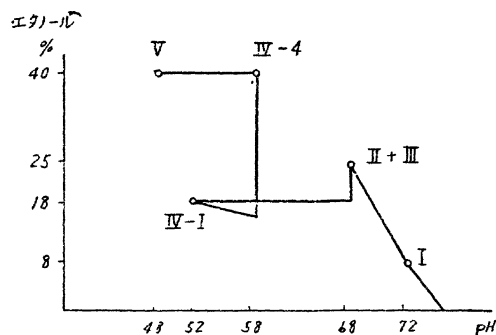
3. エタノールによる血漿蛋白質の分離精製

ここでは cohn 一派の研究結果—この方面の研究の大部分であるが—の概略を示すことにする。彼等の J. Am. Chem. Soc. 上の報告はすでに 30 に達せんとする盛観である。Cohn の分割の名稱は基本的には FI から VI まであり大體次の様に對應すると考へてよい。

FI : fib, FII :  $\gamma$ -glob. FIII : lipid bearing  $\beta$ -glob.

FIV :  $\alpha$ -glob.

FV : alb., FVI : 残りの全部。



第 2 圖 人血蛋白質分割の pH とエタノール濃度の關係 Cohn : Method 6

第 5 表 method 6 の分割條件

分割名	pH	イオン強度	温度 °C	エタノール濃度 %	蛋白濃度
血漿	7.4	0.16			6.03
FI	7.2	.14	-3	8	5.11
II+III	6.8	.09	-5	25	3.00
IV-I	5.2	.09	〃	18	1.58
IV-4	5.8	.09	〃	40	1.01
V	4.8	.11	〃	40	0.75
VI	4.8	.11	〃	40	0.2

基本的な方法—各變數の選ぶ方—に method 1 から 6 までであるが method の進むにつれ改良が加へられてゐる。第 2 圖および第 5 表に method 6 を示したが他の方法は多少は少なからぬ、この様な變數を變化せしめたものである。かくの如く 5 ケの變數を巧みに選ぶことにより、6 ケの分割にわけているが、この各分割の電気泳動分析は第 6 表に示す様に FV の alb. を除いては電気泳動的には決して純粋でない。

一方 cohn は II+III の分割より出發してこのうちから化學的あるいは生物學的活性に於て特長づけられる分割を極力精製しようと努力している。このうち代表的なものとして method 9 の schema を第 3 圖に又その電気泳動分析値を第 6 表に掲げた。この様な分割を前記の基本的分割に對照して subfraction (副分割—著者—) と名づけている。電気泳動的には method 9 により  $\gamma$ -glob. が高度に精製されていることが特筆されよう。又 schema に示される様に電気泳動的には不純でも生物學的活性物質、Plasminogen, Prothrombin, Isoagglutinin,  $\gamma$ -glob. など高濃度に濃縮された。これら

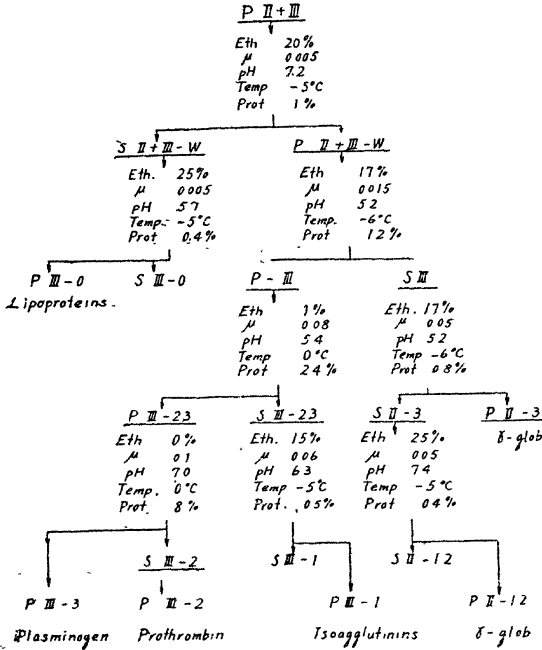
4. 免疫化學的方法

本法は血清反應を利用して血清蛋白質中の分割を定量せんとする試みである。たとえば純粋な人の  $\gamma$ -glob., alb. 等をもつて家兎を免疫しその抗血清と資料を試験管内に混合すれば資料中の抗原量に應じて抗原-抗體複合物が沈降する(沈降反應)この沈降量と加えた抗原量との關係を豫め求めておけば一檢量曲線一沈降量の測定から資料中の抗原量を求め得る理である。本法はHeidelberg<sup>42)</sup>等によつて發展された定量的沈降反應の應用である。

本法の最も特長とする所は血清反應の特異性に負う所であらう。人血清alb.に對する抗血清はそれとのみ反應して他の物質とは反應しない、この反應は高度に特異的であり、かつ他の混在物質には恐らく殆ど影響されないと考えられるのである意味に於て理想的な方法である。

發生した沈降物は母液から良く洗ひ去つた後に ultra-Kjedahl method,<sup>43)</sup>又は phenol 試薬 Ninhydrin Buret<sup>44)</sup>試薬、Nessler-試薬<sup>47)</sup>による呈色反應あるいは紫外吸收<sup>48)</sup>など感度の高い定量法を用いて測定すれば普通の抗血清で高々 1 $\gamma$  (10<sup>-6</sup>g) 程度の抗原量で充分である。この様に化學的測定の限界を超える極めて微量を測定し得る點が本法の特筆すべき第2の特長となる。

一方法の原理上抗血清を作るための抗原の純度が本質的に重大な問題であることは當然である。この目的にかなつた抗原を得ることは決して容易ではないが、この點で前節 Cohn 一派の作製になる  $\gamma$ -glob., alb. は一應應用に耐えるというよりは現段階では之以上を望み得ない。我々も前記の如く東の手により殆ど 100% 近い純度を示す人 alb. および  $\gamma$ -glob. をえている。定量操作は



第 3 圖 Method 9 の Shema

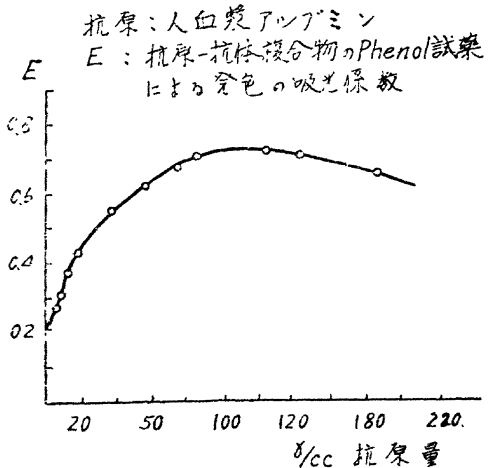
第 6 表 Method 9 によるSubfraction の分析値

分割名	電氣泳動分析					収量 $\mu$ l	N 値 %	コレステロール %
	A	$\alpha$	$\beta_1$	$\beta_2 + \phi$	$\gamma$			
II + III	4	6	35	18	37	19.0	12.8	6.0
III - 0	6	5	68	16	5	8.4	9.9	12.0
II + III - W	2	8	15	19	56	10.6	14.9	1.8
II - 1.2	0	0	0	2	98	5.5	16.0	<0.06
II - 3	0	0	0	4	96		16.0	<0.06
III	3	15	33	34	15	5.1	14.3	3.5
III - 1	2	18	15	45	14	2.6	13.8	3.7
III - 2	1	20	65	12	2	1.7	13.0	3.0
III - 3	3	20	39	37	2	0.8	15.2	1.2

の subfraction は前記 FI の fib. に Prothrombin を作用せしめて作つた膜状あるいは泡状の Fibrin が外科方面に、FV (alb.) の分割が shock などの場合に靜注されて著効を擧げるなど臨床面に廣く利用されるに至つてゐる。

この様に生物學的活性、化學反應の特性などを目標にした分割法により血漿蛋白質を 33 の分割に分類している。そして電氣泳動法はその補助手段にすぎなかつた。かかる態度、又膨大な研究を成し遂げた研究組織に我々は教えられる所があるのである。

有機溶媒が蛋白質分割に利用された著明な例である。



第 4 圖 定量的沈降反應の檢量曲線

必ずしも簡単でない。特に低温に於ての特異的沈降物の沈降には尙疑問が残るし、沈降物の化学的定量にも細かい注意が要求されるなど臨床検査室で手軽に行うには尙改良の餘地があらう。

本法に関しては Kabat et al.<sup>49)</sup> の単行本が優秀な参考資料である。本教室に於ても紺野、山下の手によつて検討が進められつつある。第4圖<sup>50)</sup>は血清 alb. について横軸に加えた抗原量を、縦軸に沈降物に比例した量を目盛つた塗量曲線であるが、沈降反応は最も多い沈降物と生ずる抗原と抗体の量的比—最適比—があることは血清學の教える所である。定量的沈降反応では圖の上昇する部分、即ち抗体過剰の所で行われている。抗血清については抗原とする蛋白質以外の血清蛋白質で豫め吸収して置くことが望ましい。

本法による分割法と電気泳動法の比較が2,3行われているが、良く一致する結果<sup>51)</sup>とそうでない結果<sup>52, 53, 54)</sup>が見られる。この一致、不一致は用いた抗原の純度によつてある程度了解される事項と考える。紺野が人血清<sup>50)</sup>について行つた僅かの實驗では電気泳動法より低い A/F 比を得ているが、恐らくは  $\gamma$ -抗原の不純に起因するものと考えている。

前にも記した様に本法は抗原物質の存在するところは殆んどどこでも測定される理である。たとえば電気泳動分析の對象にするには餘りに蛋白濃度の低い脳脊液、正常尿などの内の血清蛋白が濃縮することなしに測定されるし、又組織の浸出液中の特定な抗原性物質も測定可能なのである。一方分離精製された分割の純度判定にも血清反応は有効に應用される。

かくの如く特異性と微量法によつて特長づけられる本法の廣範な利用が期待される所である。

## 5. 結 言

以上血漿蛋白質分割法の主要な點二つについて記述したのであるが、この外超遠心法による分割は分子量による分割法として注目すべきである。しかし特殊な目的を除いては一般的な方法とはいひ難い。粘度、擴散、滲透壓、流動復屈折の測定が極めて特殊な意味で血清蛋白質の分割法に屬するがこれらの方法は主として分離された分割に関する定性に使用されるものである。

さて本法の性質上讀者は電気泳動法をその主要方法とする方が多いと思われる。事實電気泳動法はその精度に於ても實驗條件の單純さに於ても血漿蛋白質分割法の代表的な方法と考えられるのであるが、それはあくまで蛋白質の易動性に基いたものである。蛋白質の溶解性を規定する因子にこの電気的性質が參加していることは當然豫期される所であるが、現段階に於て尙何等この兩者の因

果は明かにされていない。して見れば溶解度法、免疫學的方法は一應電気泳動からかけ離れた面で蛋白質を眺めていることになる。たとえば酵素によつて消化をうけた血清<sup>54)</sup>はしばしば巨大な  $r$ -峯を證明するが鹽析法では明かに Pseudoglob. の溶解度を示すのである。  $\gamma$ -glob. の増加を直接には Euglb. の増加は結びつけられぬということの顯著な一例といえるであろう。かくの如く電気泳動法と他の分割法との關連は複雑である。一法をもつて他法を直ちに論じてはならない。

血清蛋白分割法が色々な面から行われて居り、しかも各方法によつて得られた分割の間の定量的關連が今日に於ては尙不明瞭であることがこの一論文によつて諒解されたとすれば著者の執筆の目的は一應達したものと思うのである。

尙本著に引用された原著にすべて目を通している譯ではない。御許容を願う次第である。又この種の綜覧は多いが就中文獻 55 を参考にした。筆者の協同研究者達の協力を深謝する。 昭和27年3月 (終)

## 引 用 文 献

- 1) Cohn, E. J., Chem. Rev. 19 260 ('36)
- 2) Green, A. A., et al. J. Biol. Chem. 109 631 ('35)
- 3) Pederson, K. O., : Ultracentrifugal Studies on Serum and Serum Fraction, Uppsala, pp.178 ('45)
- 4) Howe, P. E., Physiol. Rev. 5 539
- 5) Cohn, E. J., Chem. Rev. 23 395 ('37)
- 6) Tiselius, A., Biochem. J. 31 1434 ('37)
- 7) Svenson, H., J. Biol. Chem. 139 805 ('40)
- 8) Cohn, E. J., et al. J. Am. Chem. Soc. 62 3386 ('40)
- 9)  $\gamma$ -グロブリン研究班  $\gamma$ -グロブリンの製造と應用の研究 ('50)  
兒玉圭三 東京醫學會 ('50)
- 10) Sjöerensen, S. P. L., Compt. rend. trav. lab. Carlsberg,
- 11) Hewitt, L. F., Biochem. J. 13 No. 5 ('30)  
〃 〃 21 1109 ('27)  
〃 〃 23 1147 ('29)  
〃 〃 31 2229 ('36)  
〃 〃 31 360 ('37)  
〃 〃 32 26 ('38)  
〃 〃 32 1540 ('38)  
〃 〃 Sanceret, 1 66 ('29)
- 12) Green, A. A., J. Am. Chem. Soc. 63 1108 ('38)
- 13) Neurath, H., et al. J. Biol. Chem. 133 411 ('41)
- 14) Rowe, A. H., Arch. Internal. Med. 13 455 ('16)
- 15) Howe, P. E., J. Biol. Chem. 43 93, 109, ('21)
- 16) Metcalf, J., et. al. New England J. Med., 236, 26, 68, ('47)
- 17) Gutman A. B., et al. J. Clin. Invest. 23 765, ('41)
- 18) Allison, J. B., et al. Ann. N. Y. Acad. Sci. 47 245, ('46)
- 19) Dole, V. P., J. Clin. Invest., 23 708, ('49)
- 20) Kabat, E. A., et al. J. Biol. Chem. 182 251 ('50)
- 21) Petermann, M. L., et al. J. Biol. Chem. 199 337 ('47)
- 22) Treffers, H. P., et al. J. Exp. Med. 75 135 ('42)
- 23) Jager, V., et al. J. Sm. Chem. Soc. 69 416 ('60 頁へ續く)

## Lamm's Scale Method による擴散恒數の測定

京都大學工學部纖維化學教室

稻垣博・西島安則  
東省三・永井孝司

## Diffusion Studies by Lamm's Scale Method.

Hiroschi INAGAKI, Yasunori NISHIZIMA,

Shozo AZUMA, Takashi NAGAI.

(Department of Textile-Chemistry, Faculty of Engineering, Kyoto University.)

Lamm's scale method for the diffusion measurement is based on the gradient of refractive index along the diffusion column, which affords displacement of the scale line attached to the front of the diffusion cell. The authors described its theoretical foundation and methods to calculate the diffusion constant in the case where the Lamm's scale method was adopted. The calculations mentioned above give the conclusion that the diffusion curve (concentration gradient  $dc/dx$  vs.  $x$ ) takes theoretically the Gaussian error function, in the case where the diffusion obeys the Fick's law. However, most of the diffusion curves measured on high polymer solutions do not show such Gaussian curve. Therefore, the authors discussed the reason why such an anomaly would happen.

(i) Diffusion constant of high polymer depends on the concentration in which the constant is measured. Such dependency shows the skewness in the diffusion curve, having a long tail extending towards increasing of the concentration. Therefore, when the skew curve is obtained, the diffusion constant  $D_m$ , which is calculated by the "moment" method, cannot be used to determine the molecular weight, combining with the sedimentation constant. Accordingly, it is important to derive a formula to estimate the diffusion constant in the infinite dilution. The authors introduced the formula derived by N. Gralen (1944) and also showed another obtained by one of the authors.

(ii) The polydispersity of a high polymer affords an anomalous kurtosis to the normal curve. The mathematical treatment in such a case may give the information on the distribution of a molecular weight in the sample.

As a conclusion, the authors emphasized that the Lamm's method would be more advantageous than other methods, especially the "Schlieren" method, which have been used by many workers recently.

高分子化學の發展と共に高分子の分子量及び分子形態の知見はこの分野の大きな一つの目的となつた。吾々は數年來この様な目的から擴散恒數の判定を行つて來たが、此の報文では主としてこの測定の理論、方法、それに結果の簡単な例を擧げたいと思う。

擴散恒數を測定する方法は舊く、<sup>1)</sup> Öholm の裝置以來、色々のものがあるが、<sup>2)</sup> 擴散の過程を明確に解析する目的からみて Lamm の方法が最も簡便且正確であると思われたのでこれを採用した。Lamm の方法は擴散のために生ずる擴散セル中の濃度變化が屈折率變化をもたらす、このために擴散セルを通過する光線が彎曲する事を利用してセルの前に置かれたスケールを撮影した時のスケール線のずれから擴散恒數を測定するものである。

## 1. 擴散セル中の光線の彎曲

光線彎曲の計算は既に Lamm が完全に行つているの

で概略を述べるに足るのである。第1圖に示すごとく擴散の方向に沿つて  $x$  軸、光軸の方向に  $y$  軸をとると、 $x$  軸方向で濃度勾配即ち屈折率勾配 ( $dn/dx$ ) が存在し光線は  $y$  軸と共に彎曲する。こゝで次式で示される假定

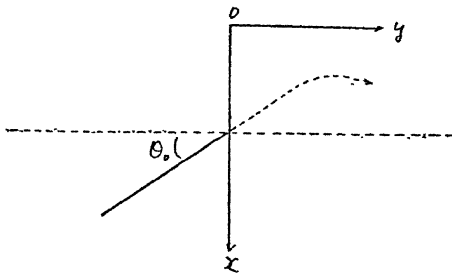
$$(dn/dx) = (dn/dx)_0 + (d^2n/dx^2)_0(x-x_0)$$

を考慮して光線の経路を表わす微分方程式を Snellius の法則をつかつて立てるか或いは Fermat の原理から變分法を使つて立て、この解をもとめると

$$x-x_0 = \frac{n_0'}{n_0} \left[ \cosh(qy) - 1 \right] + \sin \theta_0 \sqrt{\frac{n_0}{n_0'}} \sinh(qy)$$

をうる。こゝに  $q = \sqrt{n_0 n_0''/c}$  で、 $n_0, n_0', n_0''$  は  $x_0$  に於ける屈折率及びその  $x$  に関する一次或いは二次微分高を示す。計算を簡單にするために  $\cosh, \sinh$  を  $qy$  に関する展開すれば、

$$x-x_0 = \frac{y^2}{2} \frac{n_0'}{n_0} + \theta_0 \left( y + \frac{y^3}{6} \frac{n_0''}{n_0'} \right) \quad (1)$$



第 1 圖 擴散せる中の光線の湾曲

を得る。光線の入射角  $\theta_0$  が小さいときは近似的に  $dx/dy \approx \theta$  としてよいから

$$\theta - \theta_0 = y \frac{n_0'}{n_0} + \left( \frac{y^3 n_0' n_0''}{6 n_0^3} + \frac{y^2 n_0''}{2 n_0} \right) \theta_0 \quad (2)$$

となり、更に  $n_0' n_0'' / n_0^2$  は  $10^{-3}$  程度で小さいから實用的には

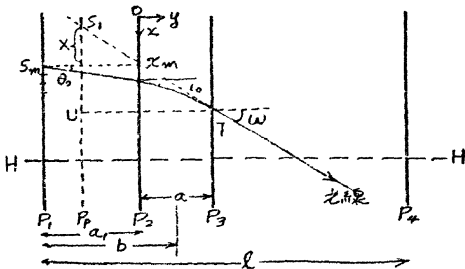
$$\theta - \theta_0 = y \frac{n_0'}{n_0} + \frac{y^2 n_0''}{2 n_0^2} \theta_0 \quad (2')$$

を用いる。(2')式は  $y=0$  で  $\theta_0$  なる入射角をもつて入射した光線が  $y$  に於いて  $y$  軸となす角  $\theta$  を決めるものである。

### 2. スケールの移動距離

擴散セル中に於ける光線の湾曲の模様から、セルの前に置かれたスケールの各線が移動する距離を計算する。

第 2 圖は幾何光學的の意味をもつ圖である。H-H 軸を光軸、 $P_1$  をスケールを立てた面、 $\overline{P_2 P_3}$  をセル、 $P_1$  をカメラレンズの主要面とすれば、 $P_1$  面上のスケール線  $S_m$  から出た光は  $x_0$  で入射角  $\theta_0$  をもつてセルに入り  $P_3$  面の  $x$  に於て  $y$  軸と  $\omega$  なる角をなして出る。それ故、 $S_m$  なる位置はセルから出た光線を延長した位置  $S_1$  から来たと考えてよい。ここに  $P_2$  面は  $\overline{P_2 P_3}$  の光學的距離を考慮して假想される面である。



第 2 圖 擴散層中の光線経路計算

圖中三角形  $\Delta S_1 U T$  に於て

$$\overline{S_1 U} \doteq \omega \overline{TU}$$

であり、

$$\overline{S_1 U} = X + (x_0 - x_m) + x - x_0$$

$$TU = a_1 + a/n$$

であり、こゝには  $X$  はスケール線の移動距離にあたり、 $x_m$  は  $x$  軸上で  $S_m$  に對應する位置、 $a_1 = \overline{P_1 P_2}$ 、 $a = \overline{P_2 P}$  である。それ故、

$$X + (x_0 - x_m) + x - x_0 = \omega (a_1 + a/n) \quad (3)$$

である。(1)、(2')式は

$$\left. \begin{aligned} y &= a \\ \theta_0 &= i_0/n \\ \omega &= \theta n \\ n_0 &= n \\ n_0' &= \bar{n}_0' + \bar{n}_0''(x - \bar{x}_0) \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

を代入すると

$$x - x_0 = \frac{a^2}{2n} \left[ \bar{n}_0' + \bar{n}_0''(x - \bar{x}_0) \right] + \frac{i_0}{n} \left( a + \frac{a^3 \bar{n}_0''}{6 n_0} \right) \quad (5)$$

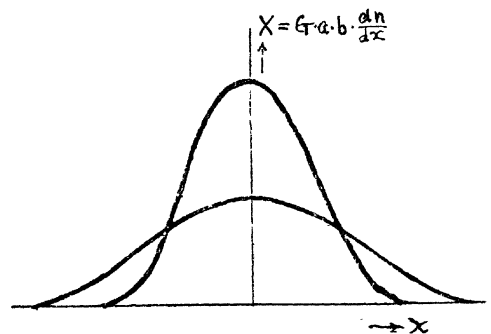
及び

$$\omega = i_0 + a \left[ \bar{n}_0' + \bar{n}_0''(x_0 - \bar{x}_0) \right] + \frac{a^2}{2n} \bar{n}_0'' i_0 \quad (6)$$

を用いる。この記號中バーを引いたものは  $P_2$  面と  $P_3$  面との値の平均値を示している。そこで(5)式及び(6)式を(3)に代入し、 $x_0 - x_m = a_1 i_0$ 、 $x_0 - \bar{x}_0 = a_1(i_0 - \bar{i}_0)$  とする

$$X = X_I + i_0 X_{II} \quad (7)$$

なる形にすることが出来る。 $X_{II}$  は入射角に依存してスケール線が移動する距離の部分と與えているから、これはスケール線のアンゲマートとなる。それ故装置の製作に當つてはレンズを出来る限り長焦距のものとし、尙ほ



第 3 圖

る程度絞りを小さくする事が必要である。然しながら絞りを小さくすることは像を廻折によつてぼかす事となるから、これにはある限度がある。装置を此の様に設計し

ておけば、 $X_{\text{I}} \cong 0$  とすることも出来るから  $X = X_{\text{I}}$  とする事は近似的に充分正しい。かくして  $X_{\text{I}}$  即ち  $X$  に関する表式として

$$X = G \cdot a \cdot b \cdot \frac{dn}{dx} \quad (8)$$

を得る。ここに  $G$  は寫眞の擴大率、 $b$  はスケール面からセルの中心までの光學的距離である。それ故、擴散セルを通じて擴散開始後種々なる時間でスケールを撮影し、もとのスケール線からの移動を測定し、 $X$  と  $x$  とを圖示すれば 第3圖 に示す如く  $dn/dx$  即ち  $dc/dx$  と  $x$  との間の關係に對應する圖を得る。

### 3. 擴散恒數の計算

Fick の法則に基く擴散の偏微分方程式は

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (9)$$

であり、非電解質溶液の屈折率と濃度との關係は一次式で與えられるから、(9)式は

$$\frac{\partial n}{\partial t} = D \frac{\partial^2 n}{\partial x^2} \quad (10)$$

となる。此の解は Wiener<sup>5)</sup> によつて導かれており Lamm の方法に於ける基礎式となつてゐる。即ち、

$$\frac{dn}{dx} = \frac{n_1 - n_0}{2\sqrt{\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}} \quad (11)$$

である。それ故擴散が Fick の法則に従つて進行して行く場合——單一種類の分子が濃度に無關係な擴散恒數をもつ場合——には  $dn/dx$  vs.  $x$  の曲線は Gauss's error function の形をとることが知れる。(8)式と(11)式とから  $dn/dx$  は直接に知らなくとも、 $x$  軸上の各點の  $X$  の値を知れば、擴散恒數は次式によつて與えられる。

$$D_A = \frac{A^2}{4\pi t H^2} \quad (12)$$

こゝで  $D_A$  は面積法に依る擴散恒數、 $A$  は  $x$  軸と曲線との間の面積、 $H$  は曲線の max. に相當する高さ、 $t$  は擴散開始後の時間である。 $D_A$  は絶対値としての單位を持つていないから、次の裝置定數  $K$  を掛ける事によつて絶対値を得る。

$$K = \left( \frac{l-b}{lG} \right)^2 \quad (13)$$

ここに  $l$  はカメラからスケール迄の光學的距離であり、他の記號は(8)式中のものと同である。屢々、擴散恒數の計算に用いられる今一つの式として次の式がある。

$$D_m = \frac{m_1}{2lA} \quad (13)$$

ここに  $m_2$  はその曲線の算術平均値を通る垂直軸のまよりの二次モーメントで次の式で與えられる。即ち、

$$m_2 = \int_{-\infty}^{+\infty} x^2 y dx \quad (15)$$

ここに  $y$  は  $dc/dx$  vs.  $x$  の曲線に於ける縦座標  $dc/dx$  の値である。一般に  $x=0$  の點の位置は判らないので實際には  $x=0$  から距離  $b$  だけ離れた任意の垂直軸のまよりのモーメントを計算する。即ち、

$$m_1' = \int (x-b) y dx \quad (16)$$

$$m_2' = \int (x-b)^2 y dx \quad (17)$$

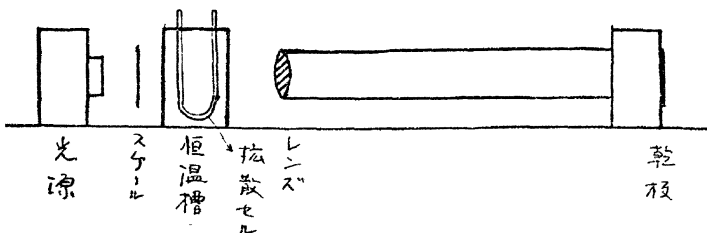
となる。此の  $m_1'$  及び  $m_2'$  を計算すれば前式(15)に示される  $m_2$  は次の様にして求められる。

$$m_2 = m_2' - \frac{(m_1')^2}{A} \quad (18)$$

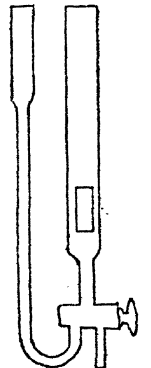
此の(18)式で求められた  $m_2$  の値を(14)式に代入すれば  $D_m$  が計算されるが此れはモーメント法による擴散恒數と呼ばれている。此の場合にも絶対値を求めるには  $D_A$  と同様(13)式の  $K$  を乗じねばならぬ。Lamm は曲線の "normal analysis" に関する計算に此の方法を用いた。

### 4 裝置及び測定法

吾々の使用した裝置は全體は(第4圖)に示す。光源としては 600W の水銀燈を用い、銅アンモニア溶液のフィルターを通して夫體波長 4500 Å 附近の光線で撮影した。スケールには 1/2mm 間隔及び 1/4mm 間隔の兩者を用い一本のスケールの太さは 1/50mm である。レンズの焦點距離は 61cm で倍率は、約2.4倍とした。擴散セルはガラス製で第5圖に示す様な構造を持ち製作に當つては特に光の通過する部分が光



第4圖 裝置全圖

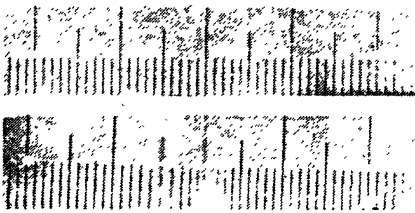


第5圖

學的平行平面になる様注意した。

測定法は §.2 にも明らかな様に、最初擴散セルに光學的に均一な媒體（溶媒）を滿し、これを通してスケールを撮影する。勿論、この場合撮影されたスケールの像は等間隔となつてゐる。次に擴散セル中で明確な境界面が出来る様に注意深く溶液と溶媒を接觸せしめ、その境界面をスケールの中央附近まで移動し、その後適當な時間毎にスケールを撮影する。普通吾々は 2~3 時間毎に撮影して、擴散の總時間は 10~30 時間とした。なお此の測定中擴散セルの入つてゐる恒温槽は  $1/100^\circ\text{C}$  の精度で恒温に保ち、震動は出来る限り防ぐ様注意した。各時間毎のスケール線をマイクロコンパレーターで  $1/1000\text{cm}$  の精度で測定し、最初に撮つておいたスケール線の位置と比較して、各線のずれを擴散セル中の距離  $x$  に對してプロットすれば  $dc/dx$  v.s.  $x$  の曲線が得られるのである。

第 6 圖 はポリヴィニールアルコールの測定に於ける寫眞の一例である。



第 6 圖 スケールの寫眞  
(ポリヴィニールアルコール溶液)  
スケール 七二 1800S E C

### 5. 擴散恒數の濃度存性

Polson<sup>10)</sup> は高分子物質の擴散恒數が溶液の熱力學的性質のために濃度により變化する事を指適した。即ち擴散恒數の原動力となる浸透壓は高分子溶液にあつては

$$P = \frac{RT}{M}c + BC^2 + \dots$$

で與へられるため、Einstein-Sutherland の擴散恒數に關する式は次式に擴張されねばならぬ。即ち、

$$D = D_0(1 + KCc^{n-1})$$

であるが、Polson の計算は濃度の變化と共に生ずる分子間の相互作用と、これに伴う水力學的抵抗の變化は見落した。Simha, Singer, 稻垣等は此の點を指摘して、

$$D = D_0(1 + k_1c) \quad (19)$$

を與えた。

一般に擴散恒數が濃度の依存性をもつ時は、(9)式は成立せず所謂 Boltzmann の氣微分方程式をとらねばならぬ。即ち、

$$\partial c/\partial t = \partial/\partial x \left( D \partial c/\partial x \right) \quad (20)$$

であり、此の式の解は

$$D = \frac{1}{2ty} \int_{-\infty}^{\infty} xy dx \quad (21)$$

でこゝに  $y$  は濃度勾配 (或は  $dn/dx$ ) である。

(21)式は濃度依存性が(19)式からはずれる場合にも成立するが、特に(19)式に従うと考えられる場合、Gralén<sup>8)</sup> は  $c \rightarrow 0$  に外挿した擴散恒數  $D_0$  及び  $k_1$  を一つの擴散曲線から同時に求める方法として次の如き方法を提出した。

多くの高分子溶液では溶度  $c$  とその屈折率  $n$  とは直線關係を與えるから、 $dn/dx = (dn/dc)(dc/dx)$  に於いて  $(dn/dc)$  はある恒數となる。故に

$$c = \int_{-\infty}^x (dc/dx) dx = \frac{1}{dn/dc} \int_{-\infty}^x y dx \quad (22)$$

である。(21)、(22)式を(19)式に代入し、これを  $x$  に關して微分すれば

$$\frac{1}{2t} \frac{dy}{y^2} \frac{dx}{dx} - \frac{x}{2t} = \frac{k_1 D_0 y}{dn/dc} \quad (23)$$

特に擴散曲線の max. をとる位置では、 $dy/dx = 0$ 、 $x = M_0$ 、 $y = H$  であるから ( $M_0$  はモード、 $H$  はモードに於ける縦軸の値)、

$$k_1 = -\frac{M_0 dn/dc}{2t D_0 H} \quad (24)$$

或は、

$$k_1 = -\frac{M_0}{1t D_0 \left( \frac{dc}{dx} \right)_{\max}}$$

である。更に § 6 の(33)式に見られる如く  $D_m$  (モーメント法で計算された擴散恒數) は、擴散恒數の重量平均を示す故に

$$D_m = D_0 \left( 1 + \frac{k_1 c_1}{2} \right) \quad (25)$$

ここに  $c_1$  は擴散溶液の初濃度である。故に此の式に  $k_1$  を代入すれば

$$D_0 = D_m + \frac{M_0 c_1}{4t \left( \frac{dc}{dx} \right)_{\max}} = D_m + \frac{A \cdot M_0}{4Ht} \quad (26)$$

となる。

此の Gralén の方法は  $k_1$  の大なる時、即ち濃度依存性の大きな物質の擴散に於ては有効であるが、 $k_1$  の小さな物質に對しては  $M_0$  の決定に大なる誤差を生ずる缺點がある。此の標に濃度依存性の小さな物質の擴散に於ては、稻垣 (未發表) の方法によつて  $D_0$  を求め得る。その詳細は省略するが結果として次の式が得られる。

$$D_0 = D_m \left[ 1 + \gamma (\mu_3/\sigma^3) \right] \quad (27)$$

ここに  $\gamma$  は常數、 $\mu_3$  は擴散曲線の三次のモーメント、 $\sigma$

は variance である。

## 6. 多分散系に於ける擴散恒数の測定

均一系に於ては、(12)式(14)式及び(26)式から計算すればその溶質の眞の擴散恒数を求める事が出来る。しかし高分子物質を取扱う場合、それ等は種々なる分子量の集合即ち多分散系となつて居るから、計算された擴散恒数は一つの平均値を示すものである。谷口、Gralén, Quensel 等は此の問題を論じ、この平均値の性質は計算した方法に依つて決定される事を示した。

若しも擴散物質が分子の大きさの異なる數種の成分より成り立つており且、その各成分は夫々理想的な擴散をするとなれば、その結果として得られる擴散曲線は共通の軸を有する數種の擴散曲線の和となる。此の様な場合その物質の  $dn/dc$  (濃度による屈折率の増加率) が使用された濃度範囲に於て、及び異つた成分に關しても一定である事が假定され得る場合、即ち、該物質の化學構造が全く同一な多分散系に於ては次の事が考えられる。

今、各成分のもつ擴散恒数を  $D_i$  と與え、(12)式の  $D_A$  を  $D_i$  とした式の微分から、次の事が成立する。即ち、

$$dA = 2\sqrt{\pi D_i t} \cdot dH \quad (28)$$

積分すれば、

$$A = \int dA = 2\sqrt{\pi t} \int \sqrt{D_i} dH$$

それ故  $D_A$  なる値のもつ平均化の意味は

$$\sqrt{D_A} = \frac{\int dA}{\int \sqrt{D_i}} \quad (29)$$

亦、 $dA$  は  $dc$  (濃度) に比例する故

$$\sqrt{D_A} = \frac{C}{\int \sqrt{D_i}} \quad (30)$$

即ち、

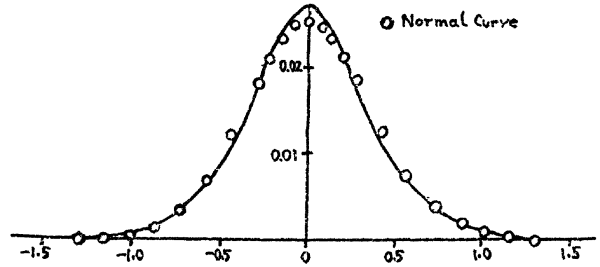
$$D_A = \left( \frac{C}{\int \sqrt{D_i}} \right)^2 \quad (31)$$

である。此の式は面積法によつて計算された擴散恒数  $D_A$  が  $D_i$  の如何なる平均となつて居るかを示すものである。

次に(14)式から計算された擴散恒数  $D_m$  について前と同様の計算をすれば

$$dm_2 = 2D_i t dA \quad (32)$$

そして、 $m_2 = \int dm_2 = 2t \int D_i dA = 2t D_m A$  従つて、



第 7 圖

$$D_m = \frac{\int D_i dA}{A} = \frac{\int D_i dC}{\int dC} \quad (33)$$

即ち、擴散恒数の重量平均を示してゐる。

上に述べた兩方法に依つて計算された擴散恒数の比  $D_m/D_A$  は理論的に常に 1 より大で、此の事は多分散系の擴散に於て得られた實驗曲線が、それに對應する正規分布曲線より常に大きい  $H$  を有してゐる事を示すものである。(第 7 圖)  $D_m/D_A$  の比は多分散性に關する一つの measure を與え、若しもその物質の分子量分布函数を假定すると、擴散恒數に關する分布曲線を畫く事が出来る。

更に Gralén に依れば、擴散恒數に關する數平均  $D_n$  即ち、

$$D_n = \frac{\int dc}{\int \frac{dc}{D}} \quad (34)$$

は次の式に依つて求める事が出来る。

$$D_n = - \frac{\int y \cdot dx}{2t \int \frac{y \cdot -dy \cdot dx}{xy}} = - \frac{1}{2t} \frac{\int y \cdot dx}{\int \frac{dy \cdot dx}{x}} \quad (35)$$

或は簡単に

$$D_n = - \frac{1}{2t} \frac{A}{\int \frac{dy}{x}} \quad (36)$$

此の積分は擴散曲線全體に涉つて行わる可きで此の  $D_n$  は前の  $D_A$ ,  $D_m$  の値と相俟つて多分散性の考察には重要なものである。なほ多分散系の場合、此等三者の間には次の關係が成り立つて居る。即ち

$$D_m > D_A > D_n$$

となる。

## 7. 擴散恒數の計算に於ける誤差

以上述べた様に擴散曲線から擴散恒数を計算するのみならず、更に多分散性、濃度依存性其他に關する知見



を得る爲には非常に高い精度が必要となつて来る。ここに擴散曲線を畫いて、恒数を計算する場合に生じて来る誤差に關して簡単に述べる事にする。

擴散の實驗を行う場合、擴散距離  $x$ 、時間  $t$ 、及び裝置の恒数  $K$  等は比較的高い精度で測定する事が出来る。従つてその誤差の大部分は  $y (=dc/dx)$  の値に關係してゐると云える。此の  $y$  の値は又、面積  $A$ 、及び種々のモーメント  $m, m_1, m_3$  等に含まれるので此等の値が誤差に影響する主なものである。實際問題として、擴散曲線を畫くには、Lamm の scale 法では、スケール線のずれを測定して此の實測値を smooth curve になる様に結ぶのであるが、此の場合  $y$  の規準となる base-line の位置——これは曲線の curvature が見られなくなつた曲線の兩端を結ぶ——は擴散時間が長い場合幾分不正確とならざるを得ない。そこで先づ考えられる事は面積  $A$  を基にして、base-line の正しい位置を見出す事である。此の面積  $A$  は擴散物質の初濃度  $C_0$  に比例するので、若しも擴散中に何等の特別な障害がなければ一つの實驗を通じて一定となる筈である。従つて各時間毎の測定曲線の面積をその平均値に等しくなる様に base-line を上下に移動して、最も確からしい位置を求めるとのである。

かかる base-line の移動が擴散恒数の計算値に如何に影響するかを考察して見よう。先づ面積法に依つて計算する場合、擴散恒数の變化を  $\Delta D_n$ 、面積の變化を  $\Delta A$  とすると、 $\Delta A = 2a \cdot p \cdot \sigma$  となる。ここに  $a$  は base-line の平行移動距離で  $\sigma$  は標準偏差、そして  $p$  は或る一つの數で  $2p\sigma$  がその曲線の base の中となる。大體  $p$  は 3~6 である。此の様な場合變化率  $\Delta D_n / D_n$  は(12)式を用いて近似的に

$$\frac{\Delta D_n}{D_n} = 2 \left( \frac{\Delta A}{A} - \frac{a}{H} \right) \quad (37)$$

となる。ガウスの正規分布曲線に於ては、

$$A = \sigma \cdot H \cdot \sqrt{2\pi} = 2.5\sigma \cdot H$$

此れは近似的には總ての擴散曲線に有効である故、此の値を(37)式に代入すれば、

$$\frac{\Delta D_n}{D_n} = \frac{\Delta A}{A} \left( 2 - \frac{2.5}{p} \right) \quad (38)$$

となる。

同様にして、モーメント法による  $D_m$  の計算に於ても(14)式を用いて、

$$\frac{\Delta D_m}{D_m} = \frac{\Delta A}{A} \left( \frac{p^3}{3} - 1 \right) \quad (39)$$

となる。

$D_n$  の計算では、面積  $A$  及び  $\int \frac{dy}{dx} dx$  の積分が含まれ

ているが、此の積分中  $\frac{dy}{dx}$  の値は base-line の上下に

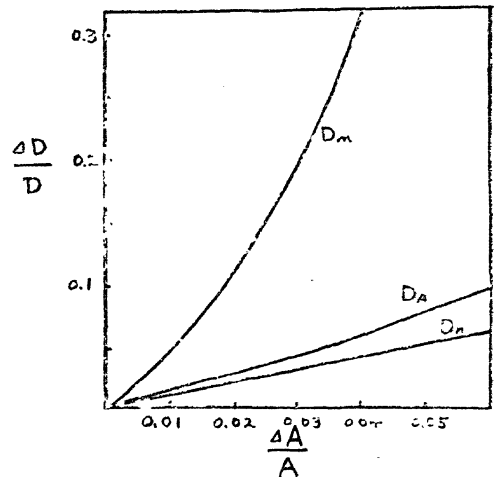
依つては變化せず、しかも曲線の兩端に於ては  $dy/dx$  は小さく、 $x$  は非常に大で此の値は無視して差支えない。従つて  $D_n$  の場合は、

$$\frac{\Delta D_n}{D_n} = \frac{\Delta A}{A} \quad (40)$$

となる。

第 1 表

$\frac{\Delta A}{A}$	$p$	$\frac{\Delta D_n}{D_n}$	$\frac{\Delta D_A}{D_A}$	$\frac{\Delta D_m}{D_m}$
0.010	4	0.010	0.014	0.043
0.020	4.4	0.020	0.029	0.099
0.030	4.8	0.030	0.044	0.20
0.040	5.2	0.040	0.061	0.32
0.050	5.6	0.050	0.078	0.47



第 8 圖

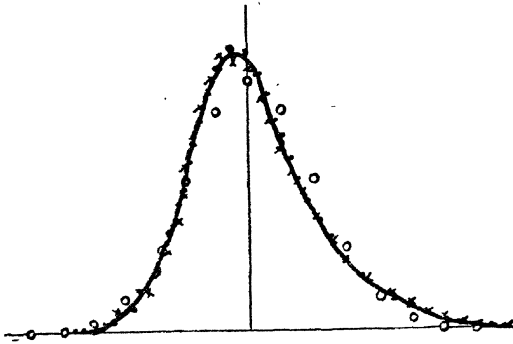
正規分布曲線に就いて此等三式の計算値を(第 3 表)に示す、面積の誤差による擴散恒数の誤差は比較大きく特に  $D_m$  に於て目立っている。(第 8 圖) 以上は Gralen<sup>13)</sup> によつて行われた誤差の計算法であるが、實際的に一連の實驗がどの程度の正確さで行われているか、又得られた曲線が正規分布曲線から如何に偏倚しているかを詳細に考察する爲には次の計算が最も有効であると思ふ。

各時間毎の擴散曲線を、擴散時間をパラメーターとしない様な規準化座標に直して、一つの座標上に重ね合す事を試みる。そのためには先づ  $x$  軸を等間隔  $\omega$  にて分割し、適當に決定した base-line の中心部から外に向つて番號  $s$  をつけそれに對應する  $y$  座標を  $S_s$  とする。此の時  $s, S$  と規準化座標  $\xi, \psi$  との關係は次の様になる。

$$\left. \begin{aligned} \xi &= (s - \mu) \frac{\omega}{\sigma} \\ \phi &= S \frac{\sigma}{\omega A} \end{aligned} \right\} \quad (41)$$

ここに  $\mu$  は次の式で示される一次のモーメントである。

$$\mu = \frac{\sum s_i \cdot S_i}{A}$$



第 4 圖

$A$  は曲線と  $s$  軸間の面積、 $\sigma$  は標準偏差である。均一系の理想的な擴散では、此の方法で得られた曲線はガウスの正規分布曲線に一致し、多分散系或は濃度依存性のある擴散の場合には、夫々正規分布曲線に対する偏倚からそれ等に関する知見を得る事が出来る。(第 9 圖) にポリヴィニールアルコールに関する吾々の實驗から一例を擧げておいた。

## 結 論

以上記述した事によつて、擴散實驗結果からそのまゝ何の補正も加えずに計算した擴散恒数が物質恒数としてほとんど意味をもち合わないことが理解された。この事實をかんがみると、本邦に於いてようやく盛になりはじめた“Schlieren”法による測定はこの點はたはだ危険と云われなければならない。即ち擴散に於ける初濃度を大きくしななければならない事、擴散曲線の正確な値が知り得ない事等によつて得られた結果は何を求めたのか解らないことが出来ないとも云えない。この様な見地から、考察されて舊く 29 年以上を経過せる Lamm の方法は今一度その利點を再検討され再認識されるべきであろうと思う。

以上は 1946 年來當教室に於て堀尾教授並びに小林助教指導のもとに行われた研究の一部である。紙上をもつて兩氏に謝意を表する。

## 文 獻

- 1) Öholm, L.W., Über die Hydrodiffusion der Elektrolyte.—Z. physikal. Chem., 50, 209 (1904).
- 2) Neurath, H. The Investigation of Proteins by Diffusion Measurements—Chem. Rev. (1942).
- 3) Lamm, O., Measurements of Concentration Gradients in Sedimentation and Diffusion by Refraction Methods—Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsal., Ser. IV., Vol. 10, N: 06 (1937).
- 4) Lamm, O.,—Z. physikal. Chem., A 132, 313 (1928).
- 5) Wiener, O., Darstellung gekrümmter Lichtstrahlen und Verwerthung derselben zur Untersuchung von Diffusion und Wärmeleitung.—Ann. der Physik und Chemie, 43, 105 (1893).
- 6) Polson, A., Über die Diffusion von Zellulosederivaten.—Kolloid-Z., 83, 172 (1938).
- 7) Boltzmann, L., Zur Integration der Diffusionsgleichung bei variablen Diffusionscoefficienten. Ak. Wiss. München, Sitzungsher. der math.-phys. Classe, 24, 211 (1894).—Ann. der Physik und Chemie, 53, 959 (1894).
- 8) Gralén, N., Sedimentation and Diffusion Measurements on Cellulose, and Cellulose Derivatives—Diss. Uppsala (1944).
- 9) 谷口, 櫻田, 高分子物質並にその關係物質の擴散に依る研究—工化 39, 699—703 (1936).
- 10) Gralén, N., Über Polydispersitätsbestimmungen aus Diffusionsmessungen nach der Lamm'schen Skalenmethode.—Kolloide-Z., 85, 183 (1941).
- 11) Quensel, O., Untersuchungen über die Gerstenglobuline, Diss., Uppsala (1942).
- 12) Gralén, N., The Number Average of Diffusion Constants—ACTA CHEMICA SCANDINAVICA 1, 388 (1947).
- 13) Gralén, N., On Probable Errors in Calculation of Diffusion Constants—Särtryck ur Svensk Papperstidning, 5C, Nr 11B, 96 (1947).

## リンパ腺燐酸酵素の精製\*)

山口縣立醫科大學醫學化學教室

高橋基之・林

靖

## Purification of the Alkaline Phosphatase of the Bovine Lymph-node.

M. Takahashi and Y. Hayashi.

(Department of Biochemistry, Yamaguchi Medical College)

Homogenate of bovine lymph-node was added with the same amount of physiological saline solution, acidified to pH 4.5 with 10 per cent acetic acid and centrifuged. The fraction F<sub>1</sub>, obtained by centrifugation and filtration contained ca.  $\frac{1}{3}$  of the total phosphatase activity of the original homogenate, and was used as the starting material for purification.

Fractionation by salting-out with ammonium sulphate was found to fail in its reproducibility.

The fractions of F<sub>1</sub> by the addition of  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$  and the same volume of alcohol were successively prepared with the yields of Al<sub>1</sub> 3.7-5.2 g., Al<sub>2</sub> 0.7-0.8 g., and Al<sub>3</sub> 2-2.5 g. respectively from 1 liter of F<sub>1</sub>. The fractions dried with ether were soluble in veronal buffer, but sparingly in water. Phosphatase content was the highest in Al<sub>3</sub>. Activities of phosphatase in the buffered solution, Al<sub>3</sub>-B, and water extract, Al<sub>3</sub>-A, of Al<sub>3</sub> were nearly the same, while the nitrogen contents were 20:3.

Al<sub>3</sub>-A was further submitted to fractionation by electrophoresis-convection with the citrate buffer of pH 6.0 and ionic strength 0.05. The phosphatase activity and the nitrogen content of the top-cut, Al<sub>3</sub>-Act, were about  $\frac{1}{6}$  and  $\frac{1}{6}$  respectively of those of the bottom-cut, Al<sub>3</sub>-Acb. Therefore phosphatase per nitrogen was concentrated in the top-cut.

In the electrophoresis pattern of the physiological saline extract of bovine lymph-node, the peaks of albumin, nucleoprotein and two to three globulins appeared, but F<sub>1</sub> must be considered to contain other components also. Al<sub>1</sub>, Al<sub>2</sub> showed patterns of nucleoprotein and small amounts of albumin and globulins, and Al<sub>3</sub> and Al<sub>3</sub>-A showed those of nucleoprotein and two globulins, and nucleoprotein and globulins, respectively. Al<sub>3</sub>-Act showed nearly the same pattern as Al<sub>3</sub>-A, and Al<sub>3</sub>-Acb was found to contain nucleoprotein and small amounts of albumin and globulins.

As the phosphatase activity per nitrogen content tends to augment in the top-cut of electrophoresis-convection, the alkaline phosphatase will be contained in the globulin of lower mobility.

リンパ腺の中には生理鹽水を以て抽出可能な蛋白質が少くも4個、電気泳動法によつて區別される。易動度の順に Albumin, Nucleoprotein, 及び少くも2個の Globulin である。

リンパ腺の磨碎液あるいは抽出液は著しい自己融解を示すが、之は一部、腺中の Kathepsin による。しかし、同時に認められる無機燐の著明な増加は Nucleoprotein の分解によるものと考えられるが、この際 Nucleotidase の形で燐酸酵素の作用が共働していることが想像される。臓器中に含まれる燐酸酵素については、尙その生理的意味は充分明かでないが、核酸代謝に關係していることも可能である。何れにしても燐酸酵素はリンパ腺中に於てかなり興味ある役割を演じているのではないかと思

われる。

この様な力的關係はなお今後の研究にまつほかないが、一般に組織中の酵素群が、組織中の如何なる蛋白成分の中に出現するかは酵素研究の一部門、あるいは組織蛋白研究の一部門となり得るであろう。我々は先ずリンパ腺の燐酸酵素が如何なる蛋白成分中に現はれるかを明らかにすることにつとめた。

## 實 験 方 法

## 酵素液及び酵素作用測定法

牛の腸間膜リンパ腺を屠殺後直ちにとり出し脂肪及び結組織をできるだけとりのぞいて生理鹽水で3回洗う。之を鉢で細切しホモジナイザーで磨碎する。この磨碎液

から更に後記の各分層を作り酵素液とする。

磷酸酵素の作用測定は、 $1/15$  mol. グリセロ磷酸ソーダ 5cc., 0.1mol. バルビタール緩衝液 5cc. 及び酵素液一定量を加えて全量 15cc. とし、39°C に20時間保つた後 Allen の方法によつて無機磷酸の増量を測定した。酵素作用の測定値は基質を加えない対照値を引差つたものとした。

電気泳動は日立中型セリウス装置を使用した。緩衝液は pH=8.7,  $\mu=0.05$  のバルビタール緩衝液を使用した。試料は緩衝液を以て少くも 24 時間透析した後、0~4°C に於て泳動せしめた。

### 實 験 成 績

#### 1. 磷酸酵素原液 F<sub>1</sub> の調製

L<sub>1</sub>: リンパ腺を磨碎して等量の生理鹽水を加えて攪拌、遠沈し、上澄を濾過すれば、帯赤褐色透明な液を得る。之を L<sub>1</sub> とする。

F<sub>1</sub>: L<sub>1</sub> 10% 醋酸で pH 4.5 とすれば Nucleoprotein が沈澱する。同時に他の蛋白分層も共沈する。遠沈及び濾過により淡黄色透明な濾液 F<sub>1</sub> を得る。F<sub>1</sub> 中に存在する蛋白は Albumin, と Globulin, ことに Albumin, を主とするが、Nucleoprotein も尙残存している。

L<sub>1</sub> 及び F<sub>1</sub> の磷酸酵素作用を比較すれば、L<sub>1</sub> は F<sub>1</sub> の約 3 倍の作用力を示す。しかし L<sub>1</sub> と F<sub>1</sub> の窒素含有量の比は L<sub>1</sub>: F<sub>1</sub>=5: 1 であるから、窒素當りの作用力はいかえつて F<sub>1</sub> に於て約 2 倍に増加していることになる。又、L<sub>1</sub> の調製は抽出液の濾過は長時間を要し、取得量もそれに従つて制限されるが、F<sub>1</sub> の調製は L<sub>1</sub> から出發せず磨碎液を直ちに pH 4.5 とすることによつて極めて容易に行われる。従つて F<sub>1</sub> から磷酸酵素の精製を始めるとが有利となる。

第 1 表 磷酸酵素の硫酸による阻害

1/15mol. グリセロ磷酸ソーダ 5cc.+0.1mol. バルビタール緩衝液, pH9.0, 5cc. +2.5cc. 酵素液, F<sub>1</sub>+飽和硫酸液+水, 全量を15cc. となし, 39°C 24時間後の無機磷酸増加量。

No.	添加硫酸量	P mgr./cc.
1	2.5cc. 飽和硫酸	0.024
2	2.0	0.039
3	1.0	0.069
4	0.5	0.10
5	0.1	0.232
6	2.5 <sup>25/1</sup> 飽和硫酸	0.229
7	2.0	0.230
8	1.0	0.266
9	0.5	0.269
10	0	0.269

#### 2. 硫酸による鹽析

F<sub>1</sub> について先ず硫酸による酵素の鹽析を試みた。

##### a. 硫酸による磷酸酵素の阻害

硫酸による磷酸酵素の阻害が僅少であれば、精製、測定操作は簡単となり得る。そこで先ず硫酸の阻害作用を検討した。第1表に示した様に、飽和硫酸を 5.7mol. とすれば 0.04mol. 程度で阻害作用は殆どみとめられなくなる。ことに 0.015mol. 以下では全く阻害作用はないと心得る。一方我々の採用している Allen の方法による磷酸測定は 0.5mol. 程度の硫酸によつて妨礙せられない。従つて硫酸鹽析による分層に際しては、少くも硫酸濃度が 0.05mol. 以下となるまで透析する必要がある。

##### b. 透 析

鹽析には硫酸の 0.5 飽和を行つた。即ち F<sub>1</sub> に等量の飽和硫酸を加えて濾液と沈澱を作り、その各々を透析して酵素液として使用した。この際上記の様に硫酸濃度を 0.05mol. 以下とする必要があるが、之は酵素液 10cc. に對し水 1l を用いて透析し、12時間後に水を交換して 24

第 1 表 酵素液の透析及び鹽析による作用力の變化  
實驗條件: 第 1 表に同じ、但し飽和硫酸液を加えない。

實驗列	酵 素 液	透 析	容積増 <sup>*</sup>	増加量 mg/cc.
1.	F <sub>1</sub>	-	-	0.32mg
	F <sub>1</sub>	+	2×	0.113
	硫酸半飽和濾液	+	4.6× (5)	0.001
	〃 沈澱	+	2× (5)	0.03
2.	F <sub>1</sub>	+	2.2× (7)	0.022
	硫酸半飽和濾液	+	6.7× (7)	0.037
	〃 沈澱	+	2.4× (7)	0
2.	F <sub>1</sub>	+	2.5× (7)	0.047
	硫酸半飽和濾液	+	6.0× (7)	0.019
	〃 沈澱	+	2.2× (7)	0.128

\* 容積増の ( ) 内に示した數値は、水を加えてこの倍數を補正したことを示す。

第 3 表 ヒステジン添加の影響

實驗條件: 第 1 表に同じ、但し飽和硫酸を加えず、ヒステジン 1mg を添加。

實驗列	酵 素 液	ヒステジン 添 加	増加量 mg/cc.
1.	F <sub>1</sub>	-	0.16)
	Globulin 分層	-	0.013
	〃	+	0.55
2.	F <sub>1</sub>	-	0.251
	〃	+	0.211
	Globulin 分層	-	0.013
〃	+	0.229	

時間繼續すれば充分であつた。なお之と同時に酵素原液 F<sub>1</sub> を透析し、各透析液を一定量となした後5cc.づつとつて作用力を見た。結果は第2表に見る様に極めて再現性に乏しいものであつた。これは透析によつて coenzyme の失われるためであらうと考えられるから、Histidine を添加して見ると明に作用の増加を示す。しかしこの場合にもなお再現性に乏しい。

この様に硫酸による鹽析はその再現性に乏しく且つ酵素材料の大量取得と保存に困難があるから、一應硫酸による鹽析は今後の課題として保留し、アルコール分層を試みることにした。

3. アルコールによる分層

アルコール分層液を 0~5°C に冷却して行つた。生じた沈澱は何れも2~3倍のアルコールで3回洗い、更にエーテルで3回洗つて直ちに乾燥粉末とし、冷蔵庫に貯えた。分層は次の通りである。

Al<sub>1</sub>: F<sub>1</sub> に 1/3 容量の95%アルコールを加えて得た沈澱。

Al<sub>2</sub>: Al<sub>1</sub> の遠心母液に、アルコールの含量が原濾液 F<sub>1</sub> に對し 1/2 容積比となる様に、アルコールを添加して得た沈澱。

Al<sub>3</sub>: Al<sub>2</sub> の遠心母液に、アルコールが原 F<sub>1</sub> に對し 1:1 比となる様にした沈澱。

F<sub>1</sub> 11 から、Al<sub>1</sub> 3.7~5.2gr.; Al<sub>2</sub> 6.7~0.8gr.; Al<sub>3</sub> 2~2.5gr. 程度を取得することができた。何れも白色の粉末である。

各分層は水には溶けにくい。10% NaOH 溶液一滴を加へると又は pH 9 のバルピタル緩衝液にかかせば殆ど完全に溶解する。各分層を 0.5% にかき磷酸酵素作用をみると第4表の通りである。酵素含有量は調製の異なるごとに多少の變動を示したが、Al<sub>2</sub> の含量は最も少く、Al<sub>1</sub>, Al<sub>3</sub> は殆ど等しいが、Al<sub>3</sub> が稍大きいであつた。又、Al<sub>3</sub> について Histidine の作用をみると、Histidine の添加によつても著しい作用力の増加を示す。

第 4 表 アルコール分層の作用

實驗條件: 第1表に同じ。但し飽和硫酸を加えない。  
酵素液: 各分層を 0.5% の割合にバルピタル緩衝液にかきした液。

實驗列	酵素液	増加量 mg/cc.
1.	Al <sub>1</sub>	0.170
	Al <sub>2</sub>	0.070
	Al <sub>3</sub>	0.210
2.	Al <sub>1</sub>	0.170
	Al <sub>3</sub>	0.123 (ヒスチヂンを加う。)

アルコール分層 Al<sub>1</sub>, Al<sub>2</sub>, Al<sub>3</sub> の中、Al<sub>3</sub> から更に電

氣泳動對流法によつて精製をすすめた。

4. アルコール分層, Al<sub>3</sub> の電氣泳動對流法による分層

Al<sub>3</sub> を pH 9 のバルピタル緩衝液にかかせば、殆ど完全にとける。生理鹽水にもかなりよく溶ける。之に對し水には溶けにくい。しかしこの三者の不溶部分をのぞき、溶液について磷酸酵素作用を比較すれば、第5表に

第 5 表 アルコール分層, Al<sub>3</sub> より得た各分層の酵素作用

實驗條件: 第4表に同じ。

酵素液は溶媒に對し Al<sub>3</sub> を 0.5% に加えて抽出作製。

實驗列	酵素液	酵素液の窒素素比	増加量 mg/cc.
A.	水抽出液 (Al <sub>3</sub> -A)	0.15	0.098
	水抽出殘渣	—	0.004
	緩衝溶液	1.0	0.119
	生理鹽水抽出液	—	0.101
B.	泳動對流法による Al <sub>3</sub> の水抽出液の分層		
	上部 (Al <sub>3</sub> -Act)	0.35mg/cc.	0.03mg/cc.
	導管	0.31	0.01
	下部 (Al <sub>3</sub> -Acb)	2.2	0.09

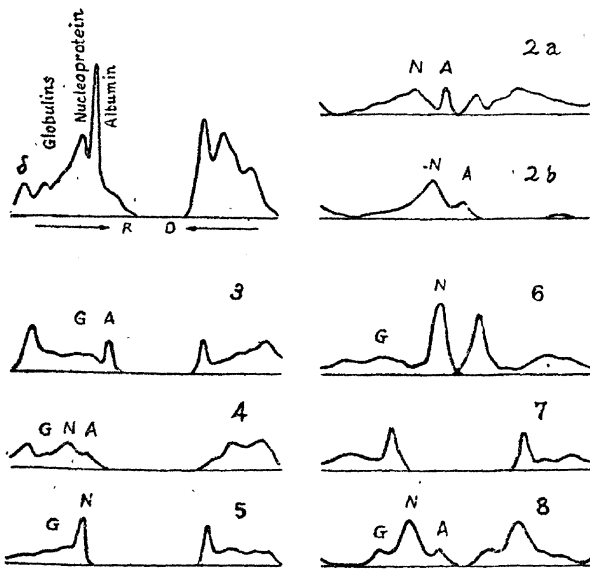
見る様に、殆ど差異がない。又水で抽出した場合、不溶部分には作用力がない。バルピタル緩衝液に溶かしたものと、水抽出液との窒素含有量の比は、20:3 程度であるから、窒素量に對し水抽出液では酵素は7倍前後に濃縮せられていることになる。

そこで水抽出液を更に電氣泳動對流法によつて處理した。我々の使用した装置は上部容器50cc. 下部容器25cc. である。緩衝液は pH=6.0, μ=0.05 のクエン酸緩衝液を使用した。20時間處理すると下部では蛋白濃度が次第に大となる。上部、下部容器及び導管の部分の液について磷酸酵素作用をみると、下部は上部の約3倍であつた。しかし含有窒素量は下部が上部の約6倍となつていたので、酵素はかえつて上部に於て約2倍に濃縮されていることになる。

5. 各分層の Tiselius 法による檢討

リンパ腺の生理鹽水抽出液, L<sub>1</sub> の中には Albumin, Nucleoprotein 及び 2~3 個の Globulin が含まれている。(第1圖 1) Nucleoprotein が泳動像で Albumin の次の峯にあたることは精製した Nucleoprotein を添加した場合の泳動像 (1-2b) に於て、この峯の増大していることから明である。

F<sub>1</sub>: L<sub>1</sub> を pH 4.5 となして Nucleoprotein を沈澱せしめると、Nucleoprotein のほかに Albumin, Globulin の一部も共沈し、液の蛋白濃度は著しく減少する。この濾液 F<sub>1</sub> の中には Albumin のほかに少量の Nucleo-



第 1 圖 リンパ腺蛋白分層の泳動圖

A: Albumin, N: Nucleoprotein, G: Globulin  
 (1) は磷酸鹽, その他はバルビタール緩衝液 pH9.0,  $\mu=0.00$   
 (1).....L<sub>1</sub>, (2a).....L<sub>1</sub>, (2b).....L<sub>1</sub>+N,  
 (3).....F<sub>1</sub>, (4).....Al<sub>1,2</sub>, (5).....Al<sub>3</sub>  
 (6).....Al<sub>3</sub>-A, (7).....Al<sub>3</sub>-Act, (8).....Al<sub>3</sub>-Acb.

protein 及び2~3個の Globulin が含まれていると考えられるが, Albumin と Globulin 一個のほかに泳動像が明でない。(1-3)

Al<sub>1,2</sub>: F<sub>1</sub> に 1/2 容のアルコールを加え生じた沈澱をエーテルで乾燥し, pH 9 のバルビタール緩衝液にかした Al<sub>1,2</sub> では, 少量の Albumin 及び Globulin と大量の Nucleoprotein をみとめ得る。(1-4)

Al<sub>3</sub>: Al<sub>2</sub> の濾液に更にアルコールを加え, F<sub>1</sub>: アルコール=1:1として得た分層, Al<sub>3</sub> を pH 9 の緩衝液にかしたもては, Nucleoprotein のほかに2個の Globulin を認め得る。(1-5)

Al<sub>3</sub>-A: Al<sub>3</sub> の水抽出分層 Al<sub>3</sub>-A では, Nucleoprotein のほかに1個の Globulin をみとめ得る。(1-6)

Al<sub>3</sub>-Act: Al<sub>3</sub> の水抽出液 Al<sub>3</sub>-A を泳動対流装置によつて分割した上部では, Al<sub>3</sub>-A と殆ど全く等しい泳動像を示し, Nucleoprotein と Globulin をみとめ得る。(1-7)

Al<sub>3</sub>-Acb: Al<sub>3</sub>-A を泳動対流によつて分割した下部, Al<sub>3</sub>-Acb, では蛋白の等しい濃縮がおこつていた。このため泳動像では, Al<sub>3</sub> に認められたかつた。Albumin の峯が現れている。Albumin のほか Nucleoprotein と Globulin の存在していることは Al<sub>3</sub>-A と同様である。(1-8) 最も高濃度を示している最大の峯が Nucleoprotein に相當するであろうことに, 液を pH 4.5 とすれば

著明な沈澱を生じ, その濾液の中にはもはや泳動像によつて明にし得る程度の蛋白をみとめ得なかつたことから考えられる。

### 検 討

蛋白質ならびに酵素の抽出に關しては一定の方式はない。酵素の抽出に際しては, できる限り酵素以外の蛋白を含むことの少い分層を得ることが第一の要件である。従つて我々がここに試みた様に分離のすべての段階について逐次的に泳動像を求めることは, 精製だけの見地からすれば迂路である。しかし泳動像の判定に於て, とり出された蛋白がどの峯に相當するかは, 單に易動度のみから決定することができない。酵素蛋白の, 泳動圖における位置を決定するには, やはり分層に平行した逐次的泳動像の検討が必要であると考えられる。

リンパ腺の生理鹽水抽出液中に存在した Albumin, Nucleoprotein 及び2~3個の Globulin の中, pH を4.5とすれば主として Nucleoprotein が沈澱し, 濾液, F<sub>1</sub>, の中には Albumin 及び Globulin が含まれることになる。磷酸酵素はこの中に含まれる。次にこの濾液をアルコールによつて分層すれば, 分層の中には主として Albumin と Globulin が含まれる筈であるが, 易動度大なる濃厚成分は pH 4.5 に於て沈澱する。この點 Nucleoprotein に相當する。さきはこの成分を簡単に Nucleoprotein としたが, 之が果して當初に存在した Nucleoprotein であるか否かは尙今後の研究を必要とするであろう。

所でこの成分は泳動対流法によつて著しく濃縮せられるが, 磷酸酵素の濃縮は之に平行しない。かゝつて窒素當りの酵素の濃縮は易動度の小なる部分に於ておこつている。この點から見ると, 磷酸酵素は Globulin のうち易動度の小なる成分に含まれていると考えられる。ただ我々の測定はなお磷酸酵素の賦活剤としての Mg を考慮しておらず, 又グリセロ磷酸分解量の測定によつて酵素量を推定しているに過ぎぬために厳密な意味での酵素量の算定が不可能であり, 定性的であることをまぬかれない。この意味でこの研究は磷酸酵素精製ならびに組織蛋白と酵素蛋白の關係究明の前提にすぎないが, これに基づいて定量的研究をすすめることが容易となるであろう。

### 要 約

リンパ腺のアルカリ性磷酸酵素は, 腺の生理鹽水抽出 (39頁へ続)

# 電気泳動法, 単分子法, 定量的沈降法に依る家兎抗體の研究。鹽析法, Convective Electrophoresis に依る $\gamma$ -globulin 分割の研究

(免疫化學研究第1報)

(指導 緒方教授) 岡山大學醫學部衛生學教室

緒 方 正 名

Studies on Rabbit Antibodies by Electrophoresis, Quantitative Precipitin Reaction, and monolayer Method.

Studies on Fractionation of  $\gamma$ -Globulin by Salting-out and Convective Electrophoresis Method.

M. Ogata

(Department of Hygiene, Medical School of Okayama University.)

1. It was observed that the hyper immune rabbit serum showed an increase in the total protein concentration and  $\gamma$ -globulin concentration relative to the normal rabbit serum.

2. The results of my investigation of the supernatant of antigen-antibody reactions by means of electrophoresis, showed that the  $\gamma$ -globulin of immune rabbit serum precipitated only partially by antigen-antibody reactions.

By examination of the supernatant by means of antigen-antibody reactions, a remarkable decrease in the titer of antibodies was ascertained. The partial (17 to 33%) precipitation of the  $\gamma$ -globulin of immune rabbit serum could be demonstrated by the fact that globulin concentration estimated by means of electrophoresis was greater than protein concentration precipitated by quantitative precipitin reaction. It was to be inferred therefrom that  $\gamma$ -globulin of immune rabbit serum contained antibodies feeble in reactive power in addition to the antibodies of high potency.

3. I studied quantitative precipitin reactions and quantitative complement fixation reaction in crystalline egg albumin systems.

4. Antigen-antibody reaction by monomolecular layer method was found to be a sensitive test for cross reaction (bovine serum albumin and globulin system).

Monomolecular layer of antigen absorbed complement.

Monomolecular films can be available for the measurement of area of bodily surface.

5. Study on the fractionation of  $\gamma$ -globulin.

a) Fractionation by ammonium sulfate. Electrophoretically homogeneous globulin was obtained by means of the rotating membrane method in which  $\gamma$ -globulin was salted out at the concentration of 1.39 M, 1.86 M and 1.22 M (three times) of ammonium sulfate.

b)  $\gamma$ -Globulin of 90 to 95% purity was isolated in the process of twofold direct purification of original serum by convective electrophoresis. When isolated by the above method, albumin and globulin showed different immunological specificity as antigen.

By convective electrophoresis, I could further purify the samples that was isolated by the ethanol fractionation. (Cohn II, III)

此の研究は昭和24年3月より現在に至る3年間の間に爲された。 $\gamma$ -globulin 分割は困難を極め不充分ではあつたが、諸士の研究の御便宜の爲試みとして附した。

## 1. 電気泳動法に依る家兎抗體の研究

(緒論)

A. Tiselius, J. Van der Scheer<sup>17)</sup> 等に依り研究され<sup>18)19)</sup>

た。但し抗原抗体反應に於ける  $\gamma$ -globulin の減少に對する研究は少い。此の研究は主として抗體價と  $\gamma$ -globulin 量の關係を調べたものである。分離抗體は抗原混在の恐れはあるが、特異的精製法である故、活性基を持つた抗體と云うことが出来るので、興味深い對象となつた。電気泳動分離法は純度に疑問があるけれども低温で行いさえすれば、變性に對する恐れが少ないので抗體局在の研究に併用した。

#### 〔實驗方法〕

(免疫法) 抗原で家兎を1週2回4週免疫し、最後の注射より1週間後採血する。

(抗原抗体反應) 緒方氏抗原抗體稀釋法に依る結合帶の抗體價を以て抗體の強さの標準とする(重層法及混合法)

(分離抗體の製作) 最適比で反應せる沈降物より、生理的食鹽水で  $50^{\circ}\text{C}$  30 分分離。

#### 〔電気泳動〕

泳動温度  $0.4 \pm 0.05^{\circ}\text{C}$  PH 7.7  $\mu = 0.2$  磷酸緩衝液を用いた。絶対易動度は電気泳動會規定に従つた。

(電気泳動分離法) 長セルを用い長期泳動後上昇界より Albumin, Albumin +  $\alpha + \beta$ -globulin を、下降界より  $\gamma$  globulin を取出したものである。(0.4 $^{\circ}\text{C}$ )

#### (實驗結果及考察) 表 I 参照

##### a) 家兎抗體の電気泳動像

家兎抗體の總蛋白質量は抗雞血球凝集素3例中1例増加し(7.4 g/dl) 抗牛沈降素, 抗人沈降素何れも 7.4 g/dl であり, 正常家兎血清平均値(5.2~5.9 g/dl) に比較して増加した。右成績は A. A. Schmidt と一致する。 $\gamma$ -globulin 量は正常家兎平均値(0.42 g/dl~0.89 g/dl) に比し高度免疫で増加するが, 私達の期待程多く無かつた。抗雞血球凝集素(抗體價 25000,  $\gamma$ -glob 28.6% 2.12 g/dl) 抗牛沈降素(抗體價 2500,  $\gamma$ -glob 20.7% 1.53 g/dl) 抗人沈降素(抗體價 1000,  $\gamma$ -glob 31% 2.17 g/dl) が主な例であつた。表 I で分る如く7例中5例は明白に増加が認められ他の2例も平均値以上であつた。(g/dl 値 = 總蛋白質量  $\times \gamma$ %)  $\gamma$ -globulin の増加の認められた抗體の例に於ては多く總蛋白質量の増加を認めた事實より, 高度免疫の場合の家兎抗體の總蛋白質量増加に  $\gamma$ -globulin 増加が關係して居ることが推定される。抗山羊溶血素の場合に例外的な物として,  $\gamma$  globulin 群に2峯が認められ(圖 1d) 前者は Albumin に對する比較易動度 34.0% 後者は 20.7% であつた。前者に  $\gamma_1$  に近い物と思われる。

##### b) 免疫經過の比較

正常家兎血清と家兎抗體との間に於て免疫經過を比較せねば明白な結論は得られぬ故, 抗雞血球凝集素を用い

て研究した。血清の影響は無視した。(表 I 2行より5行迄)  $\alpha$ -globulin は末期に分離した。免疫前の  $\gamma$ -globulin 8.2% 1 週間目抗體價 500,  $\gamma$ -glob. 13.4%, 2 週目抗體價 1000,  $\gamma$ -glob 17.3% 3 週目抗體價 5000,  $\gamma$ -glob. 18.9% であり, 抗體價の上昇比の方が  $\gamma$ -globulin の増加比より急激であつた。

##### c) 抗原抗体反應と $\gamma$ -globulin との關係(表 I)

抗原は結合帶より最適抗原抗體比を求め, 之より2倍稀薄抗體に最適比となる様に計算して反應に際しての濃度を定めた。實驗の結果は抗雞血球凝集素(抗體價 25000→1000 に対し  $\gamma$ -glob 28.6%→22.6%) 抗牛沈降素一團 I a) b) c) (抗體價 2500→1000→100;  $\gamma$ -glob 20.7%→18.1%→14.8%) 抗大腸菌凝集素(抗體價 2000→1000;  $\gamma$ -glob 15%→10.9%) 山羊溶血素(抗體價 10000→5000→250;  $\gamma$ -glob 31%→29.5%→29.1%) であり, 抗原抗体反應上清は抗體價の減少に伴い  $\gamma$ -globulin の減少を認める。上例の抗體價比と  $\gamma$ -globulin % の比を比較すれば, 抗雞凝集素(0.04 對 0.79) 抗牛沈降素(I 0.4 對 0.88 II 0.04 對 0.72) 抗大腸菌凝集素(0.5 對 0.73) 山羊溶血素(I 0.5 對 0.95 II 0.025 對 0.94) であつた。抗體價比は2倍の誤差を含み同一血清中抗體價比の近似値であり, A) 抗體價比と  $\gamma$ -globulin 比は第 I 回反應には差が小さいが第 II 回反應では差が大きい(抗牛沈降素の例) B) 抗體價を非常に減少させても  $\gamma$ -globulin は残留する。A) B) より反應條件の適當性を極端に考えたければ, 私達の作つた抗血清の  $\gamma$ -globulin 中には反應力の弱い抗體が存在したと推定することが出来る。

##### d) 分離抗體の電気泳動像

抗雞血球凝集素, 抗牛沈降素, 抗大腸菌凝集素, 抗山羊溶血素について研究した。絶対易動度の價(原血清の  $\gamma$  峯の中心より計算した易動度より多少高いけれども, 分離抗體が  $\gamma$  峯に屬する事は明瞭に證明出來た。(表 I 圖 1c')

##### e) True mobility True Protein % の研究(表 II)

島尾氏の理論及實驗結果(1)を家兎血清及び家兎抗體に適用した。非對稱系には重心を以て易動度の測定に用いたが家兎の泳動にも應用出来ることを知つた。

##### f) 電気泳動分離法に依る家兎抗體の研究(表 III)

電気泳動法に依り分離した蛋白の抗體價を同時に依る除した價に比較した。例えば, 抗雞血球凝集素では Alb (0) Alb +  $\alpha + \beta$  (6.2)  $\gamma$  (1066) であり, 家兎抗體に於ては殆ど  $\gamma$ -globulin に局在されると思われる。Albumin, Albumin +  $\alpha + \beta$  globulin に抗體が多少存在するのは實驗技術上  $\gamma$ -globulin の混入に依る物とも思われる。…註)  $\gamma$ -globulin は電気泳動分離の時は蛋白濃



度は他より低い。人血清を緒方教授が Albumin 及び  $\gamma$ -globulin に上法で分離し、家兎を免疫して交叉反應の成立に成功された。

〔結論〕

a, b, c, d, f, よりして家兎抗體は  $\gamma$  globulin に局在

し、又私達の場合  $\gamma$  globulin 中には反應力の弱い抗體が含まれることを證明した。

以上は昭和 24 年 4 月→25 年 4 月中に研究され且發表されたものである。

表 I

抗家兎血清	抗體價(倍)	溫度(°C)	成分濃度比(%)				移動度 $\times 10^5 \text{cm}^2 \text{volt}^{-1} \text{sec}^{-1}$				總蛋白質量 g/dl
			Alb	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	Alb	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	
正常家兎血清(5例)		0.4±0.05	72~76	3~5	10~14	3~15	5.5	4.1~4.7	3.5~3.8	1.1~1.4	5.2~5.9
正常家兎血清(雞血球免疫前)		11.5	79.1		12.6	8.2					
抗雞血球凝集素 I	500	11.5	76.5		10.0	13.4					
抗雞血球凝集素 II	10000	15.0	73.9		8.6	17.3					
抗雞血球凝集素 III	50000	15.0	68.2	2.1	10.5	18.9					
抗雞血球凝集素	5000	15.0	68.2	2.1	10.5	18.9	9.5	7.7	6.4	2.8	5.6
同分離抗體	250	15.0								4.2	
抗雞血球凝集素	50000	4.0±0.1	64.3	5.7	13.6	16.0	6.3	5.2	3.9	1.8	5.4
同分離抗體	800	4.0±0.1								3.2	
抗雞血球凝集素	25000	0.4±0.05	57.9		13.3	23.6	5.5		3.6	1.5	7.4
同反應上清	1000	0.4±0.05	57.6	6.0	12.9	22.6	5.6	4.2	3.7	1.6	
抗牛沈降素	2500	0.4±0.05	59.5	6.0	13.6	20.7	5.5	4.8	3.7	1.4	7.4
同反應上清 I	1000	0.4±0.05	58.2	7.4	16.1	18.1	5.5	4.5	3.6	1.4	
同反應上清 II	100	0.4±0.05	58.7	11.5	14.8	14.8	5.9	4.7	3.8	1.3	
同分離抗體	100	0.4±0.05								2.1	
抗大腸菌凝集素	2000	0.4±0.05	63.6	1.4	16.6	15.0	5.8	4.8	3.7	1.6	
同反應上清	1000	0.4±0.05	67.7	4.5	16.7	10.9	5.7	4.3	3.9	1.6	
同分離抗體	200	0.4±0.05								3.2	
抗人沈降素	1000	0.4±0.05	46.1	6.0	15.9	22.7	5.5	4.4	3.8	1.4	7.4
同反應上清	500	0.4±0.05	60.6	2.4	12.3	24.3					
抗山羊家兎溶血素	10000	0.4±0.05	56.7	2.2	10.5	13.1 17.9	5.3	4.4	3.6	1.8 1.1	7.0
反應上清 I	5000	0.4±0.05	58.6	2.1	9.6	12.9 16.6	5.3	4.4	3.3	1.7 1.1	
反應上清 II	250	0.4±0.05	54.4	4.1	12.4	29.1	5.8	4.7	3.5	1.6	
同分離抗體	100	0.4±0.05								1.8	
人血清		0.4±0.05					5.1	4.1	2.9	1.1	

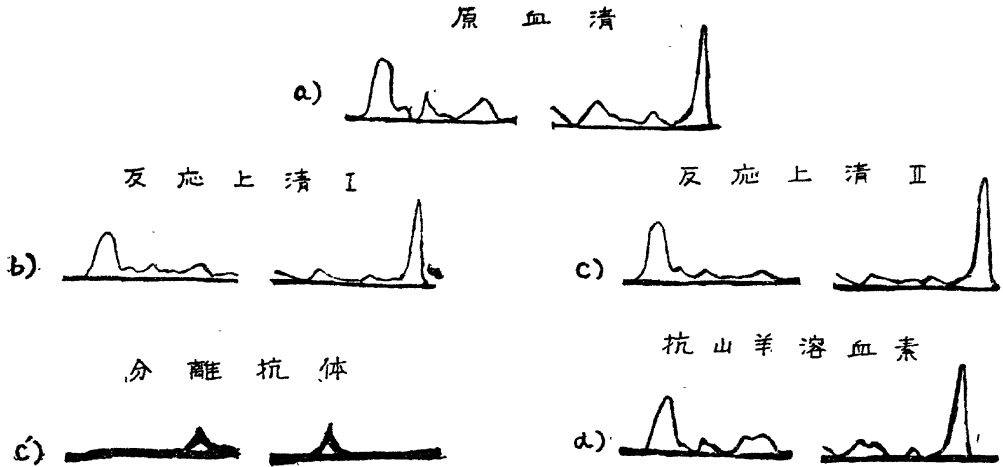
表 II

		成分濃度比(%)				移動度 $\times 10^5 \text{cm}^2 \text{volt}^{-1} \text{sec}^{-1}$			
		Alb	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	Alb	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
正常家兎血清	上昇境界	68.1	2.9	7.9	21.1	5.8	5.2	3.9	1.6
	下降境界	62.7	4.7	10.1	22.5	5.5	4.6	3.4	1.3
	上昇 true %	52.8	13.9	9.9		True mobility			
	下降 true %	58.3	6.1	11.6	23.4	5.5	4.9	3.6	1.4
抗山羊血球溶血素	上昇境界	57.0	3.2	7.0	15.7 16.8	5.7	4.8	3.7	2.1 1.4
	下降境界	56.0	2.2	10.5	13.1 17.9	5.3	4.2	3.2	1.7 1.1
	上昇 true %	50.0	5.7	6.5	17.9 19.7	True mobility			
	下降 true %	53.1	2.7	11.7	12.5 19.7	5.3	4.5	3.5	1.9 1.3
抗山羊血球溶血素反應上清	上昇境界	50.4	4.2	13.6	16.9 14.6	5.7	5.1	3.9	2.1 1.2
	下降境界	58.6	2.1	9.6	12.9 16.6	5.3	4.1	3.2	1.6 1.0
	上昇 true %	46.7	4.8	14.4	16.6 17.4	True mobility			
	下降 true %	52.8	3.9	13.7	13.7 17.1	5.3	4.7	3.7	1.9 1.1

表 III 電気泳動分離法 = 依ル抗体ノ局在

家 兎 抗 體	抗 體 價 (倍)			濃 度		
	Alb	Alb+α+β	γ	Alb	Alb+α+β	γ
抗 雞 血 球 凝 集 素	× 20	× 20	× 610	0.88 g/dl	1.61 g/dl	0.23 g/dl
抗 雞 血 球 凝 集 素	0	× 10	× 320	0.65 g/dl	1.61 g/dl	0.30 g/dl
抗 牛 沈 降 素	× 10	× 10	× 80	Sulfo × 80	Sulfo × 320	Sulfo × 160
抗 大 腸 菌 凝 集 素	0	× 10	× 80	Sulfo × 80	Sulfo × 640	Sulfo × 160
抗 山 羊 溶 血 素	0		× 320			

感度比, 絶対移動度へ descending boundary = 依ル  
 絶対移動度 =  $-cm^2volt^{-1}sec^{-1} \times 10^3$   
 phosphate buffer pH 7.7 Ionic strength 0.2



第1圖 抗牛家兎沈降素

2. 定量的抗原抗体反應と  $\gamma$ -globulin との関係

[緒論]

Taylor<sup>22)</sup> Culbertson<sup>23)</sup> Heiderberger<sup>24)</sup> に依て研究された方法である。γ-Globulin と抗体の關係を調べるに當つて 1) 沈降抗体量の直接測定であり 2) 原血清反應である故沈降物の溶解度が最小であり特殊の場合を除き最も好く抗体を沈降させ得ると云ふ點が特に有意義と思われる。

[實驗方法]

抗原は Kekwick の方法に依り雞卵白アルブミン<sup>25)</sup> 圖12 を脱氷芒硝で3回再結晶したものを使用した。電気泳動では Albumin (A<sub>1</sub>+A<sub>2</sub>) 98.4%であつた。(PH 7.7 μ=0.2) 免疫法及反應法は Heiderberger<sup>24)</sup> に従つた。蛋白定量は microkjeldahl 及 Folin の Phenol 試薬及 biurett 試薬に依る比色法を用いた。後2者は沈降量間の相互關係を求める爲使用した。右比色は 6 Volt 100A H<sup>1</sup> の蓄電池を光源用電源とし二次電子増倍管 931 A を受光器 (6C6, 2A3 に依る定電壓回路) とする Spectrometric electrophotometer に依つた。結果の再現性は

優秀であつた。(最大誤差 1/100 目盛) 沈降物中の抗原量は抗体量に比して 1/10 以下程變であつたりで、抗原抗体の差に依る tyrosin 含有量の差は誤差と見做した。卵白アルブミン抗體 I II III 中 III は測定法は粗雑であつたが、反應方程式の係数が一應正しいと認められたので第IV表及第II圖に示した。Heiderberger<sup>24)</sup> に従い 250 單位の補體を加えた時の吸着量も研究した。(上清は 124 單位程に減少) 當量帯は上清反應に依る。(IV表3) 反應は最大沈降帯で行つた。沈降壁素量の方が電気泳動よりの γ-globulin の減少より幾分多目であつた。但し最大沈降帯に於ても γ-globulin の相當に残留する事實は認めて好いと思われる。前節の反應の場合と合して第VI表に示した。反應 γ-globulin % は 100 (1-上清 γ % / 原血清 γ %) で示した。各計算法は上清の蛋白量減少は考慮して無いが、普通には使用可能と思われる。γ-globulin 中電気泳動での計算値は特殊例を除き反應 γ globulin % 17.5%~28.5% 残留 γ globulin % 82.5% ~65.2%であつた。(表VI参照)

A, Tiselius<sup>17)</sup> は卵白抗體に於て γ-globulin 中 76%及 48%の例を示して居るので、強度の抗體を作れば、抗血

表 IV. 1) microkjeldahl 法

抗原窒素量 mg/cc	沈降窒素量
0.03	0.44 <sub>s</sub>
0.05	0.61 <sub>o</sub>
0.07	0.63 <sub>e</sub>

2) Folin phenol 試薬

抗原窒素量 mg/cc	最大沈降率=対スル吸光度比	沈降窒素量	抗體/抗原	吸着補窒素量
0.01	39.3	0.25	24.4	
0.02	58.2	0.37	17.3	
0.03	65.4	0.44	18.8	
0.01	80.1	0.51	11.7	0.28
0.05	93.5	0.60	10.9	
0.06	98.2	0.63	9.4	0.34
0.07	100	0.64	8.1	
0.08	97.3	0.62	6.2	0.39
0.09	78.9	0.59	5.6	
0.10	72.3	0.46	3.6	0.28

3) 上清反應

抗原窒素濃	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.07	0.08	0.09	0.10
原 抗	-	-	-	-	-	-	-	-	-
抗 體	22	24	25	24	24	24	-	-	-

表 V

最大沈降率	濃度比%	易 可 度				糖 蛋 白 度 g/de				
		Alb	α	β	γ					
I 0.80 <sub>a</sub>	原 抗 體	37.8	2.8	12.5	26.9	5.5	4.9	3.7	1.5	6.2
	反 應 上 清	61.5	2.6	13.7	22.2	5.5	4.4	3.7	1.6	
II 1.57 <sub>o</sub>	原 抗 體	60.2	3.4	11.6	24.6	6.2		4.1	1.6	6.0
	反 應 上 清	65.6	5.6	12.5	16.3	5.5		3.9	1.7	
III 0.63 <sub>e</sub>	原 抗 體	63.7	5.8	9.9	18.1	5.6	4.9	3.6	1.4	6.6
	反 應 上 清	63.5	6.7	10.7	14.3	5.5	4.8	3.5	1.3	

表 VI 反應 γ globulin 量

抗 血 清	抗 體 價	最大沈降率及抗體價比%	残留 γ%	反應 γ%
抗卵白アルブミン I	500	0.80 <sub>a</sub>	82.5	17.5
抗卵白アルブミン II	5000	1.57	65.2	33.7
抗卵白アルブミン III	500	0.63 <sub>e</sub>	79.6	21.0
抗牛沈降素	2500 > 1000	40% ×	87.4	12.6
抗人沈降素	1000 > 500	20% ×	74.5	25.5
雞血球凝集素	25000 > 1000	4% ×	79.0	21.0
抗大腸菌凝集素	2000 > 1000	70% ×	72.5	27.5
抗山羊毒凝集素	10000 > 5000	50% ×	92.7	7.3

但シ 残留 γ-globulin % =  $\frac{\text{上清 } \gamma\text{-globulin}}{\text{原血清 } \gamma\text{-globulin}} \times 100$   
 反應 γ-globulin % = 100 - 残留 γ-globulin %

清 γ-globulin 中反應し得る部分は相當あると思われ、理想的免疫 及反應条件では 100% 近く沈降し得ると思われるが、一方正常 γ-globulin (沈降 γ 量 0%) より、完全な抗體 γ-globulin (抗降 γ 量 100%) に到る迄には抗血清 γ-globulin 中には反應力の弱い従つて沈降の不完全な場合もあり得ると思われ、將來良く研究して見るつもりである。

3. 單分子層抗原抗體反應の研究

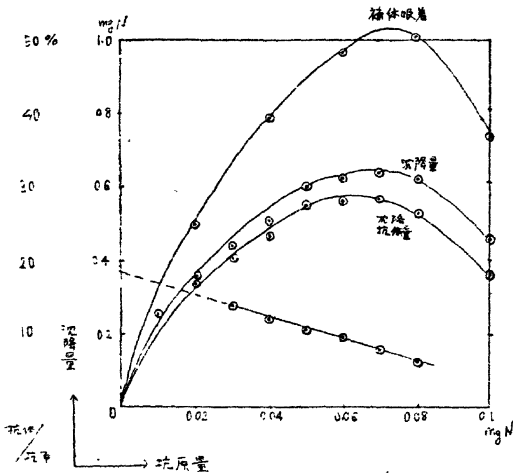
〔實驗方法〕

表面積面積曲線は Wilhelmy Balance を用ひ、5% 硫酸安門液上で行つた。Ellipsometer の製作及抗原抗體反應は Rothen<sup>3,33)</sup> に従つた。

〔實驗結果及考案〕

1) 表面積面積曲線より Ellipsometer に依る單分子累積膜の厚きの關係を推定し得る。即ち同一表面積で比較する時、面積の小なる蛋白は面積の大なる蛋白に比し、Ellipsometer 測定値に於て大なる値を示す。例えば、牛血清アルブミンと雞卵白アルブミンに於ては表面積面積曲線の表面積を零に外挿した値は前者 0.93 sqm/mg 後者 1.3 sqm/mg Ellipsometer 測定値は前者 16~18 Å 後者 9~12 Å (但シヒマシ油にて累積) である。

2) 牛血清アルブミンと γ グロブリンに依る交叉反應吸着量を累積膜より測定し、アルブミン抗原に對しアルブミン抗體 (98; 102 Å) γ グロブリン抗體 (20; 22 Å) γ グロブリン抗原に對し γ グロブリン抗體 (76 Å) アルブミン抗體 (32; 28 Å) の測定値を得た。各より交叉反應には鋭敏と思われる。

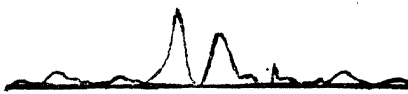


抗血清抗体反應式

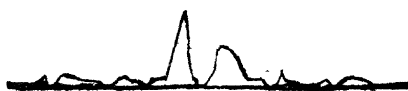
$$N = 18 E_a N - 135 E_a N^2$$

第 2 圖 定量的沈降反應 III

抗卵白アルブミン家兔抗體



反 應 上 清



第 3 圖 抗卵白アルブミン家兔血清 III

3) 抗原累積膜又は抗原吸着膜に於て現在物理的吸着であるか、免疫的吸着であるか疑問で又對照研究が困難であるけれども、補體+抗體系は非動化補體+抗體系よりも又單に抗體系よりも蛋白質吸着量が多い。1例を示せば $\gamma$ グロブリン吸着膜に於て補體+抗體系(173; 172 Å) 非動化補體+抗體系(150; 119 Å) 抗體系(120; 137 Å) なる値を得た。

4) 水面上のステアリン酸バリウム單分子膜は累積に際し附着面積と水面上の單分子減少面積とが殆んど等しい。故に、後者を測定して前者を知ることが出来る。例えば、計算値  $21.2 \text{ cm}^2$  クローム金屬面で(21, 21, 21cm), 紙張法に依り  $373 \text{ cm}^2$  なる人の片手で(349; 358;  $345 \text{ cm}^2$ ) 紙張法により  $44.4 \text{ cm}^2$  なるマウスで(40; 40;  $39 \text{ cm}^2$ ) なる測定値を得た。體表面積簡易測定法として利用出来ると思われる。

#### 4. $\gamma$ globulin 分割の研究

##### 1) 硫酸安門分割の研究

$\gamma$ -globulin 相似蛋白を得ることが出来た。水溶性部即 Pseudoglobulin 部を主に使用した。分割は Rotating membran method を用い温度は  $5^\circ\text{C}$  以下を使用した。

牛血清 5000 ml より 3% 1.39 Mol PH 6, 次で 1% 1.86 Mol 次で 2% 1.22 Mol 3回, 計 5回で精製した第 1回終回には透析に依り, Euglobulin は別に分離した。3g の蛋白を取出し得たが、電気泳動的には殆ど  $\beta$  globulin を認めなかつた(表 7) 第 1回分割の値は 1回 85.2% 2回 90% 程度であつた。

##### 2) Convective Electrophoretic method の研究

###### 〔緒論〕

電気泳動分離法であるので  $\gamma$ -globulin であることには問題が少い。又低温で分離すれば PH の變化が少いので變性の恐れも少い。但し使用蛋白質に制限のあるのが缺點である。

純度と收量の問題は装置の完成に依り將來決定されるべき物であると思う。

原理及分割蛋白の抗原特異性に關しては、生物物理化學第 1 號 68 頁を参照下さい。

###### (實驗裝置)

分離セルは初期エポナイト後アクリライトを用いて製作した。電気絶縁度高く膨化度小のものが用いられる。島尾氏はブロック型の組合セルを御考案になつた。マイクロ型として最適であつた。構造は(IVa) upper reservoir, lower, reservoir, 及び central slot より成る。upper reservoir には外氣と交通する穴(1)があり、又上部分割蛋白の取出口(2)がある。lower reservoir には下部分割蛋白取出口(3)があり分割材料は又(3)

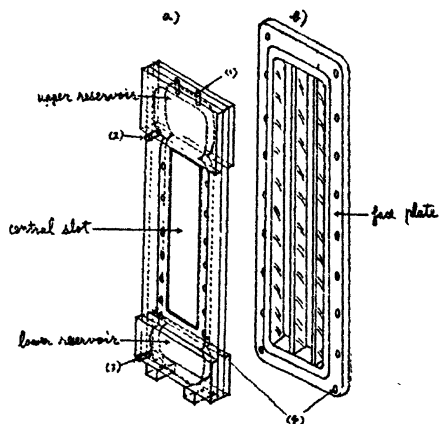
を通じて入れられる。セル組立の時は、IV圖bの如き構造を有する側板にセロファン紙を内側に張付け、之を central slot に適合させた。後エポナイトのねむを穴(4)を通して締付ける。電極固定後之をセル箱に入れる。私達の製作したものは島尾氏の御奨めに従い變化型にしたので、upper reservoir は標準型(50.4~84.0ml) マクロ型(39.2~184.8 ml) ミクロ型(11.2~52.8 ml) lower reservoir は標準型(23.6~42.0 ml) ミクロ型(5.6~26.4 ml) マクロ型(19.6~92.4 ml) であつた。電極は白金箔又は白金網を用いた。石墨は陽極破壊で液が汚染し困難であつた。緩衝液循環系は島尾氏の御奨めに従い、氷冷使用出来る様設計した。圖 V。20 l の上瓶 A より重力に従つてセル箱に緩衝液を流す。流速はピンチコックで調節した。下瓶に集つた液はギヤーポンプで 30 分毎に上瓶に返す。以上に依り PH の變化は最大限 0.1 内に保ち得る。上瓶セル箱下瓶は全部氷冷する。此の方法に依り、外温  $25^\circ\text{C}$  でも  $5^\circ\text{C}$  附近で使用可能であつた。電源は多くの蓄電池を使用しなければ、所要電圧に達しないのでタンガー整流器を用いた。電流強度の關係で平滑回路が使用出来なかつたので、直流としては不充分であつた。

###### 〔實驗方法〕

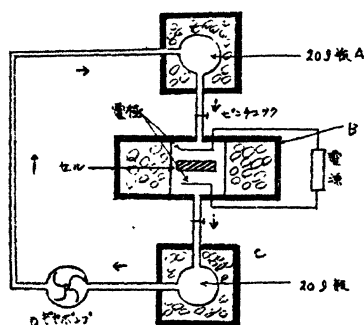
分割蛋白精製の例を述べる。Cohn 分割の處理は全部冷凍装置中で分割液の氷點で行つた。乾燥は迴轉ポンプ油濃散ポンプ併用の凍結乾燥装置に依り。method 6 に依り牛血清(240 ml)を 53.3% alkohl 及醋酸緩衝液で alkohl 8% PH 7.2 I.S. 0.14,  $-3^\circ\text{C}$  の條件とし Fibrinogen を除いた後、(Fractionation I) 註) 血清であつても一部残留する。更に 53.3% alcohol 醋酸緩衝液(95% alkohl を含む)に依り alkohl 25% PH 6.8 I.S. 0.09,  $-5^\circ\text{C}$  の條件とし II + III 分割を取出した。乾燥装置で alkohl 除去後、PH 6.5 I.S. 0.1 の磷酸緩衝液で 1日透析し Convective cell で分割した。Top Reservoir より時々液を取出し屈折計で蛋白濃度を調べる。約 5 時間で一定になる。條件は電壓勾配 3.1 volt/cm 17 時間  $5^\circ\text{C}$ 。

###### (實驗結果)

表 VI 圖 VI 参照。原血清  $-7.4\%$  240 ml ( $\beta$  7.1%;  $\gamma$  22.0%) より分割せる Fractionation II + III  $-2.8\%$  86 ml ( $\beta$  20.9%;  $\gamma$  55.2%) を Convective electrophoretic method に依り 1.4% 43 cc ( $\beta$  5.5%;  $\gamma$  93.2%) にすることが出来た。各に於て Top separation Factor は  $f_t = (x_r/x_r^0) \times (1-x_r^0/1-x_r)^{n_0} =$  Upper reservoir の  $\gamma$ -glob の初期濃度  $x_r =$  Upper reservoir の  $\gamma$ -glob の終期濃度で計算し  $f_t = 11$  であつた。收量は(分割蛋白の  $\gamma$  glob 絶対濃度  $\times$  分割 ml) / (材料蛋白の  $\gamma$ -glob 絶



第4圖 Electrophoresis Convection Apparatus



第5圖 緩衝液循環系

牛血清 Top-Top cut



Cohn 分割 II + III Top Cut



第6圖

表 VII.

	濃度比%							
	Alb	α	β	γ	Alb	α	β	γ
牛血清(硫酸分割法)	53.6	12.0	9.5	24.9	5.3	4.0	3.2	2.3
硫酸分割 I	5.1		9.8	85.2	5.3		3.5	2.2
硫酸分割 II			10.0	50.0			3.2	2.0
精製 γ (5回)					(β γ 含有)			1.7
牛血清(Cohn 分割法)	49.6	21.2	7.1	22.0	5.4	4.8	3.3	1.9
II + III 分割	17.7	6.3	20.9	55.2	5.3	4.7	4.0	2.6
II + III Top cut	1.4		5.5	53.2	5.4		3.8	2.1

對濃度×材料 ml) ≒ 42.2% 程度であつた。現在 β, γ, γ<sub>2</sub> globulin の分割を研究中である。

【結論】 1)

高度に免疫した家兎抗體は總蛋白質量の増加と共に r-globulin 量の増加を認める。免疫経過でも同様の事が確められた。但し抗體價の上昇比率は、r-globulin の増加比より大であつた。抗原抗體反應では抗體價の上清及原血清比は r-globulin の比より大なる傾向あり、又 r-globulin 中 70% 位上清に残留した。抗卵白アルブミン系定量的抗原抗體反應では最大沈降帯で約 63% 位残留した。此の事實より反應力の弱い抗體が r-globulin 中に含まれる事が想像される。但し將來の理想的免疫及反應系では r-globulin の残留は現在より減少すると考えられる。家兎卵白抗體の定量的抗原抗體反應及定量的補體結合反應の研究を行つた。

3) 分離抗體は r-globulin 群に屬する。電気泳動分離法では家兎抗體は殆ど r-globulin に局在する。島尾氏の True Mobility, True Protein conc. に関する理論は家兎及其抗體に適用出来る。

4) 蛋白質の單分子層の厚さは表面積面積曲線と密接な關係を有する。單分子抗原抗體反應は交叉反應に鋭敏である。反應系に補體を加えると加えざる時より吸着量が増加する。特異性を研究中である。單分子層は體表面積の簡易測定法として利用出来る。

5) r-globulin 分割として硫酸安門に依り、5 回精製の結果 r-globulin 相似の單-蛋白を取出し得た。(Rotating Membran method) 且 convective electrophoresis に依り直接法 2 回連続操作で 92.4% Cohn 分割 (II + III) より 1 回處理で 93.2% 程度の r-globulin を分ち得た。後者の方法は使用量及び努力の問題で有利と思われる。

項を終るに當り終始精神的理論的御指導を戴いた東大生化學教室島尾和男氏に厚く感謝の意を表す。單分子層抗原抗體反應の研究には木山氏の御指導を受けた。併せて厚く御禮申上げる。當教室に於ては、緒方教授の御指導及び望月義夫君、奥田久徳君の多大な御援助を謝し此の文を終らせて戴く。

文 献

- 1) 緒方正名・望月義夫：岡醫 33, 152 (昭24.6)
- 2) 緒方益雄・妻井哲郎・小川健次：岡醫 33, 153 (昭24.6)
- 3) 緒方益雄・緒方正名：日本衛生學雜誌 5 卷 1 號 40 (昭25. 7)
- 4) 緒方正名：岡醫 670・173 (昭25.7)
- 5) 緒方正名：生物物理化學 1 卷 1 號 62 (昭26)
- 6) 緒方正名・望月義夫：生物物理化學 1 卷 1 號 68-69 (昭26)
- 7) 緒方正名・奥田久徳：生物物化 1.1. 69 (昭26)

(60頁へ續く)

# 正常人血清に於ける $\gamma_1$ -Globulin に就て

東京慈恵會醫科大學生理學教室杉本研究室 (主任教授 杉本良一)

近 新五郎・浦 田 卓・木 村 武

## I. 緒 言

最近正常人血清に於て Deutech et al<sup>1)</sup> の所謂  $\gamma_1$ -glob が蛋白分層として注目されるに至つた。特に血漿の  $\phi$  峰には fibrinogen の他に  $\gamma_1$ -glob が數パーセント含まれて居り、肝硬變などに見られる  $\phi$  峰の異常な増大は  $\gamma_1$ -glob の増加によるものであることなどが明かにされて來た。また我國でも沖本はデフテリア抗體は  $\gamma_1$ -glob に存在するが、百日咳抗體は  $\gamma$ -glob に存在することを報告している。然し Veronalbuffer を使用しても  $\gamma_1$ -glob は常に明確な峰として現われるとは限らず、正確に  $\gamma_1$ -glob の知見を得るためには相當な技術を必要とするようである。我々は先に發表した報告で  $\gamma_1$ -glob について簡単に言及しておいたが、抗體とその存在分層としての  $\gamma_1$ -glob との関係、或は fibrinogen と  $\gamma_1$ -glob との関係が fibrinogen の生成場所と關聯して特に炎症性疾患に於て重要視される傾向に鑑み、正常人血清に於ける  $\gamma_1$ -glob の動態に關する基礎的な研究の必要を痛感し、2, 3 の知見を得たので、茲に報告する次第である。

$\gamma_1$ -glob に關するこれらのデータは、先に發表した Pattern に就て再検討を行つたものとの 2, 3 の點については新たに實驗を追加して得たものである。

## II. 實驗方法

資料血清及び血漿はすべて空腹時に正常健康人の肘靜脈から採取した靜脈血より分離した。資料の稀釋及び透析には電氣泳動研究會規定に従つて調製した  $\frac{1}{10}$ M 及び  $\frac{1}{20}$ M phosphate buffer PH 7.8 を夫々使用した。透析膜外液は 1000cc、透析時間 21~72 時間、泳動温度 2~16°C、泳動時間 2 時間、電流 15mA 前後である。資料の蛋白濃度は透析後マイクロキエルダール法で測定した。

## III. 實驗成績

1) 泳動時間と  $\gamma_1$  の相對的易動度及び % との關係については第 1 表に示す通りである。8 例中 7 例に  $\gamma_1$ -glob と認められる明確な峰が出現した。 $\gamma_1$ -glob は上昇側の方が分離しやすく、上記の 7 例中 2 例は上昇側のみに現われた。 $\gamma_1$ -glob の最も早い分離は上昇側に於て泳動 60 分後に認められたものもある。 $\gamma_1$ -glob の相對的易動度

は 35~48 で血漿の場合の  $\phi$  峰のそれと極めて似た値を示す。その % は 1.0~3.9 で、上昇側と下降側とは必ずしも一致しない。

2) 蛋白濃度と  $\gamma$ -glob との關係は第 2 表に示す通りである。蛋白濃度によつては  $\gamma_1$ -glob の相對的易動度は大した差は見られない。蛋白濃度が高すぎても低すぎても  $\gamma_1$ -glob は出現しがたいようで、 $\gamma_1$ -glob の最も現われやすい蛋白濃度は 1.5~2.0 g/dl のようである。なお蛋白濃度が高いと  $\gamma_1$ -glob の % は小さくなる傾向を示す。

3) 泳動後 90 分の Pattern に於ける  $\gamma_1$ -glob の相對的易動度及び % と  $\gamma$ -glob との關係は第 3 表に示す通りである。全例に於て  $\gamma_1$ -glob は上昇側で分離しているが、下降側では分離していない。 $\gamma_1$ -glob の相對的易動度は 41~44, % は 2.3~2.8 で、第 1 表の成績に較べるとかなり安定している。上昇側の  $\gamma_1$ -glob を除いた  $\gamma_{glob}$  の % と下降側の  $\gamma$ -glob の % とはほぼ等しい。

4) 同一人より得た血漿と血清に於ける  $\gamma_1$ -glob と  $\phi$  及び  $\gamma$ -glob との關係は第 4 表に示す通りである。 $\gamma_{rel}$  の相對的易動度と  $\phi_{rel}$  の相對的易動度は極めて近似の値を示している。 $\gamma_{rel}$  の % は  $\phi_{rel}$  の % よりも常に小さくその差 3.6% 及び 2.2% は fibrinogen の % であると思われる。この實驗では血清の  $\gamma_{rel}$  及び  $\phi_{rel}$  の % は夫々血漿の  $\gamma_{rel}$  及び  $\phi_{rel}$  の % よりも數パーセント高い。

## IV. 實驗成績に對する考察

以上の實驗を通じて言えることは  $\gamma_1$ -glob の分離は上昇側に於て容易であるということと、 $\gamma_1$ -glob は上昇側では泳動 90 分で殆んど常に分離されるが、下降側では 120 分かかるということである。 $\gamma_1$ -glob の % の範圍は 1.0~4.1, その平均値は 2.5 で、Routh 及び Paul の發表している値にはほぼ等しい。

$\gamma_1$ -glob の分離を泳動經過に従つて觀察していると、大部分は  $\beta$ -峰から一部分は  $\gamma$  峰から分離してくるように見える。若しこれが事實であるならば、第 3 表の  $\gamma_1$ -glob が未だ分離しない  $\gamma_{rel}$  と、 $\gamma_1$ -glob の分離した  $\gamma_{rel}$  との値が殆んど等しいという事實は説明することが出来る。というのは、 $\gamma_{rel}$  の中には殆んど  $\gamma_{rel}$  が含まれていないことになるからである。しかし第 2 表の 120 分経つても  $\gamma_1$  を分離しない下降側の  $\gamma_{rel}$  を上昇側の  $\gamma_{rel}$  と比較す

ると、 $r_{\alpha}$  は  $r_{\alpha}$  よりも  $r_{\alpha 1}$  だけ小さい。これは上記の事實と矛盾している。我々の考えではこの矛盾は次のように解決しうるように思われる。即ち泳動 120 分では事實

第 1 表 泳動時間と  $r_1$  の相対的易動度及び %  
(蛋白濃度 1.0~2.0 g/dl)

パターン 番 號	泳動時 間(分)	r.m.		%		パターン 番 號	泳動時 間(分)	r.m.		%	
		$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$	$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$			$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$	$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$
No. 1	30					No. 5	30				
	60						60	40		3.3	
	90						90	42		3.3	
	120	40		2.5			120	41	44	1.0	2.3
No. 2	30					No. 6	30				
	60						60				
	90						90				
	120	35	36	3.7	2.6		120	38	40	3.7	1.8
No. 3	30					No. 7	30				
	60						60				
	90	43		1.7			90	44		3.2	
	120*	—	—	—	—		120	42	46	3.2	3.9
No. 4	30					No. 8	30				
	60						60	43		3.7	
	90						90	48	39	2.2	3.8
	120						120*	—	—	—	—

\* No. 3 No. 8 は泳動 120 分の Pattern を描形していない。

第 2 表 同一プール血清の蛋白濃度の変化と  $r_1$ -glob (120 分泳動)

実験 番 號	蛋白 濃度 g/dl	r. mob.										%									
		$A_{\alpha}$	$\alpha_{\alpha}$	$\beta_{\alpha}$	$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$	$A_{\alpha}$	$\alpha_{\alpha}$	$\beta_{\alpha}$	$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$	$A_{\alpha}$	$\alpha_{\alpha}$	$\beta_{\alpha}$	$r_{\alpha 1}$	$r_{\alpha}$					
No. 1	3.9	100	80	60	45	29	100	68	51	—	25	66.4	3.6	10.7	2.4	16.9	61.4	6.4	11.7	—	20.5
	1.9	100	78	52	40	24	100	73	54	43	21	59.0	6.5	11.0	4.1	19.4	60.0	6.8	11.9	2.8	18.5
	1.4	100	75	57	43	21	100	74	54	43	20	61.4	5.3	9.6	3.2	21.5	60.3	7.2	10.6	3.2	18.7
No. 2	3.9	100	81	61	44	28	100	75	50	—	20	64.0	4.3	11.5	2.6	17.6	63.8	4.6	11.8	—	19.8
	1.7	100	75	53	42	23	100	71	53	41	23	59.0	6.6	11.8	3.6	19.0	58.7	6.6	12.9	3.4	18.4
	1.0	100	75	56	—	22	100	73	52	—	21	61.2	5.2	10.8	—	22.8	60.4	7.0	12.5	—	20.1

第 3 表 血清に於ける  $r_1$ -glob と  $r$ -glob との関係 (蛋白濃度 1.5~2.0 g/dl, 90 分泳動)

パタン 番 號	r. mob.										%									
	A	$\alpha$	$\beta$	$r_1$	$r$	A	$\alpha$	$\beta$	$r_1$	$r$	A	$\alpha$	$\beta$	$r_1$	$r$	A	$\alpha$	$\beta$	$r_1$	$r$
No. 9	100	80	58	42	22	100	72	52	—	22	59.1	9.0	11.4	2.8	17.3	64.7	6.3	11.1	—	17.4
No. 10	100	79	58	41	20	100	75	53	—	24	53.4	8.6	9.5	2.5	20.0	57.5	10.5	11.1	—	20.9
No. 11	100	76	59	44	23	100	71	53	—	21	62.9	7.7	9.4	2.3	18.7	61.8	8.2	11.9	—	18.1
No. 12	100	79	59	41	21	100	72	53	—	22	54.5	8.0	11.4	2.6	23.5	54.8	8.7	13.5	—	23.0
No. 13	100	79	58	42	21	100	72	52	—	23	60.4	7.0	12.3	2.7	17.6	61.8	7.1	12.3	—	18.8

第 4 表 血漿と血清に於ける  $\phi$  と  $r_1$ -glob 及び  $r$ -glob との関係  
(蛋白濃度 1.5~2.0 g/dl, 90 分泳動)

パタン 番 號	r. mob.										%									
	A	$\alpha$	$\beta$	$\phi$	$r$	A	$\alpha$	$\beta$	$\phi$	$r$	A	$\alpha$	$\beta$	$\phi$	$r$	A	$\alpha$	$\beta$	$\phi$	$r$
No. 13	100	79	58	(42)	21	100	72	52	—	23	60.4	7.0	12.3	(2.7)	17.6	61.8	7.1	12.3	—	18.8
No. 14	100	79	58	44	22	100	72	52	36	19	61.1	7.9	8.8	6.3	15.9	59.9	7.3	11.3	5.8	15.7
No. 15	100	79	57	(43)	20	100	70	52	—	19	58.2	8.6	10.9	(3.2)	19.1	58.0	8.4	13.1	—	20.5
No. 16	100	78	55	41	21	100	75	53	38	20	58.4	9.2	9.9	5.4	17.1	57.6	7.6	13.1	5.3	16.4

注: 1) パタン No. 13 と No. 14; No. 15 と No. 16 は同一人より採血して得たもの。  
2) 第 3 表のパタン No. 13 と第 4 表の No. 13 とは同一のもの。  
3) ( ) 内の値は  $r_{\alpha 1}$  の値を表す。

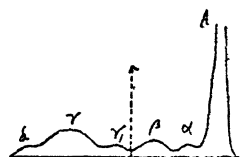
上  $r_{\alpha 1}$  は充分  $\beta$ -glob から分離しているが、 $r_{\alpha}$  は  $r$  峰の連続として現われ、Pattern についての分離の技術からいつて  $r_1$  峰として  $r$  峰から分離し得ないで  $r$  分層の中に含まれて計算されたのであろう。事實、Pattern をみると、第 1, 2 圖のように分離は操作が行われているのである。第 4 表の血清の  $r_{\alpha}$  及び  $r_{\alpha}$  は同一人より得た血漿の  $r_{\alpha}$  及び  $r_{\alpha}$  より夫、数パーセント高い値を示しているが、この理由についてはまだ解決していない。

なお  $r_1$ -glob は第 3 図に示すように  $r$  峰と  $\beta$  峰との間に平坦な幅広い谷間を形成することがある。特に下降側に於て屢認められる。この場合  $r$  峰と  $\beta$  峰とを分離するには一般に谷間の中央から分離垂線 (a) を下している。この場合には  $r_1$  は一部は  $r$ -glob に一部は  $\beta$ -glob に算入される。それ故若し  $r_1$  を  $r$  に算入することが必要な場合には、上記の Pattern では  $\beta$  峰寄りに分離垂線 (b) を下せばよいことになる。なお我々の経験では  $r_1$  が  $r$  より分離しがたい時には diagonal slit を  $60^\circ$  近くにすれば Pattern の高さ及び面積が大となり、 $r_1$  の分離が容易なることを屢々みている。

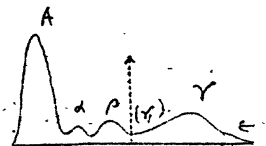
V. 摘 要

正常人血清の  $r_1$ -glob に関する 2, 3 の基礎的實驗を行い、次の結果を得た。

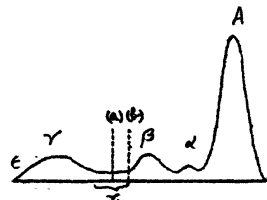
1)  $r_1$ -glob は上昇側で分離しやすく、最も早い分離は泳動 60 分後に見られる。(59 頁へ)



第 1 圖



第 2 圖



第 3 圖

# 赤血球沈降速度と血漿蛋白質電気泳動分層との関係

(滲出性肋膜炎患者に於ける観察)

信州大學醫學部戸塚内科教室 (主任教授 戸塚忠政)

松 岡 正 俊

## Study on the Relation between Erythrocyte Sedimentation Rate and Plasma Proteins in Pleurisy.

M. Matsuoka,

(Department of Internal Medicine, Medical School of Shinshu University)

In order to make clear the relationship between erythrocyte sedimentation rate and plasma protein, electrophoretic fractions of plasma of 5 cases of pleurisy were measured by Tiselius apparatus 31 times. The results are as follows:

1. Erythrocyte sedimentation rate in pleurisy is significantly correlative with total protein,  $\alpha$ -globulin  $\beta$ -globulin and  $\gamma$ -globulin concentrations and is not significantly correlative with albumin and fibrinogen concentrations.
2. The linear regression function of erythrocyte sedimentation rate to plasma protein fractions is calculated to be,

$$y = -10.47x_A + 72.60x_\alpha + 45.04x_\beta - 24.81x_\gamma + 44.87x_\delta - 62.5$$

where

y: erythrocyte sedimentation rate (mm/hour)

x<sub>i</sub>: concentration of component "i" (g./dl.)

a) Partial regression coefficients of  $\alpha$ -,  $\gamma$ - globulins are significant.

b) The difference between partial regression coefficient of albumin and that of  $\alpha$ -globulin is significant.

It is the same with the difference between partial regression coefficient of albumin and that of  $\gamma$ -globulin.

3. Existence of certain influential elements to erythrocyte sedimentation rate of pleuritic patients is presumed.

結核性疾患の診断治療上廣く行われている赤血球沈降速度(以下赤沈と略す)は血液自體及び測定條件に關係ある多くの因子に左右せられ就中血漿蛋白質成分は重要な因子であることが明にせられている。近時血漿蛋白質の電気泳動分析が行われ、同分層は結核性疾患に於てはその輕重、病像、免疫狀態に關係深いものであることが次第に明にせられつゝある。結核性疾患中滲出性肋膜炎は赤沈の高度促進を來す疾患に屬し、又經過につれて血漿蛋白質電気泳動分層の著明な變動を示す疾患であることが明にせられて居り、赤沈と蛋白質分層との關係を検討するに適當な疾患である様に思われるので滲出性肋膜炎患者6例につき31回の測定を行つて以下の成績を得たので報告しようと思ふ。

### 實驗方法

赤沈は WESTGREN 氏法により室温(15°~25°C)1時

間値を測定し、蛋白質分層を測定する血液は15% 藤酸加里溶液を採血量10ccに0.1cc宛混じて凝固を防ぎ、血漿蛋白質量は日立蛋白計により、蛋白質分層は日立 TISELIUS 装置(A-1型)で電気泳動研究會規定の方法で長脚セルを用いて下降管で測定した。赤沈及び分層測定の採血は同一時に行つた。

### 實驗成績

實驗成績は第1表に示す通りである。

赤沈と分層との關係は第1表の成績から赤沈と各分層との相關係數を算出し、次いで赤沈の各分層への回歸式を算出して分層各個の赤沈に及ぼす影響に關して考察を加えよう。

#### I 赤沈と蛋白質分層との相關

赤沈と血漿蛋白質量及び分層との相關係數は第2表の通りである。



第1表 實驗成績

氏名	月日	赤沈 mm/1st	血漿蛋白 濃度 (g/dl)	血漿電氣泳動分層量(g/dl)					臨床事項	氏名	月日	赤沈 mm/1st	血漿蛋白 濃度 (g/dl)	血漿電氣泳動分層量(g/dl)					臨床事項				
				A	α	β	γ	τ						A	α	β	γ	τ					
牧野 δ 25歳	6/VI	25	6.2	3.06	0.76	0.74	0.65	0.99	輕症 發病 28/V 下熱 12/VI 液量中等 10/VI消失	宮川 δ 30歳	11/X	93	7.8	3.85	0.51	0.90	0.45	2.08	輕症 發病 9/IX 下熱 21/X 液量中等 19/X消失				
	13/VI	20	6.2	3.04	0.78	0.73	0.63	1.02		1/XI	60	7.8	3.64	0.40	1.11	0.47	2.18						
	14/VII	6	6.0	3.02	0.48	0.83	0.46	1.22		8/XI	48	6.4	2.93	0.43	0.70	0.47	1.80						
	24/VII	6	7.5	3.52	0.95	0.88	0.87	1.30		15/XI	11	7.4	3.80	0.39	0.84	0.59	1.77						
平林 δ 18歳	13/VI	50	5.4	2.18	0.63	0.75	0.63	1.20	重症遷延 發病 10/III 下熱 7/VII 液量大量 10/VI消失	森茂 ♀ 19歳	10/VIII	81	7.2	3.25	0.93	0.87	0.80	1.29	輕症 發病 9 VIII 下熱 21/VIII 液量少				
	21/VI	34	6.8	2.91	0.83	0.73	0.73	1.60		19/VIII	100	7.4	3.30	0.97	0.93	0.75	1.14						
	6/VII	23	7.3	3.35	0.73	0.73	0.89	1.62		12/IX	69	8.5	4.27	0.54	1.07	0.57	2.04						
	11/VII	10	6.3	2.76	0.68	0.72	0.73	1.38		24/X	30	7.4	4.13	0.45	0.66	0.56	1.62						
10/VIII	4	7.7	3.97	0.59	0.98	0.59	1.55	8/XI	7	7.0	3.80	0.54	0.63	0.49	1.52	7/XI	20	7.8	4.53	0.43	0.92	0.43	1.49
赤澤 δ 42歳	10/VIII	63	6.2	2.91	0.73	0.79	0.61	1.14	輕症 發病 8/VII 下熱 18/VII 液量中等 24/VII	宮澤 ♂ 25歳	27/X	75	8.8	3.88	1.36	0.96	0.99	1.64	重症 發病 20/X 下熱 20.XII 液量中等 13/XII消失				
	29/VIII	26	6.6	3.49	0.69	0.83	0.41	1.18		8/XI	57	8.0	3.41	1.02	1.04	0.91	1.57						
	24/X	5	6.3	3.59	0.59	0.64	0.53	0.93		14/XI	31	7.0	3.50	0.81	0.96	0.41	1.33						
	7/XI	4	6.4	3.45	0.41	0.77	0.80	0.95		21/XI	40	7.4	3.26	0.84	0.99	0.80	1.51						
21/XI	8	6.3	3.52	0.49	0.69	0.51	1.07	30/XI	84	7.9	3.43	0.80	1.16	0.81	1.71								
11/XII	6	6.8	3.68	0.67	0.75	0.58	1.13	12/XII	73	8.8	4.32	0.66	0.85	1.92	1.97								

(4) 加藤の結核患者に就いての報告では赤沈と總蛋白質量との相関係数 0.1454, 赤沈と Alb. -0.7101 (有意), 赤沈と αGlob. 0.0895, 赤沈と βGlob. 0.0236, 赤沈と γGlob. 0.7471 (有意) なる成績を示しているが私の成績とは少し異なる。

赤沈の蛋白質分層に對する回歸式  
次に分層量の増減が赤沈に如何様に影響するかを検討するが相関係数は直接兩者の因果關係を示さないの

で、赤沈の蛋白質分層量に對する回歸式を算出して考察しようと思う。但し回歸式を算出するにも取りあげる因子の範圍に問題はあるが茲では蛋白質分層だけに限つて置く。回歸式は回歸は線型であるという假定を以て統計數値表記載の方法によつて算出する。實測値を用いて母偏回歸係數の推定値を算出すると

$$b_A = -10.47, \quad b_\alpha = 72.60, \quad b_\beta = 45.04$$

$$b_\gamma = -24.81, \quad b_\tau = 44.87.$$

回歸式は

$$y = -10.47 x_A + 72.60 x_\alpha + 45.04 x_\beta - 24.81 x_\gamma + 44.87 x_\tau - 62.57$$

偏回歸式回歸係數を算出する正規方程式の未知數の係數の逆行列式は

第2表 赤沈と血漿蛋白質量及び分層量との相関係數

	相関係數
(赤沈) 蛋白質質量	0.513**
(赤沈) Alb	0.022
(赤沈) α-Glob	0.453**
(赤沈) β-Glob	0.543**
(赤沈) Fibrinogen	0.313
(赤沈) γ-Glob	0.442*

\*\* 有意水準 0.01 で有意  
\* 有意水準 0.05 で有意

0.17420	0.07407	-0.11250	0.00072	-0.08243
0.07407	1.57960	-0.88655	-1.22240	0.36124
-0.11250	-0.88655	2.76630	0.40285	-0.59503
0.00072	-1.22240	0.40285	2.95720	-0.31752
-0.08243	0.36124	-0.59505	-0.31752	0.50470

となる。

統計的檢定の結果は第3表に示す通りである。

第3表

(A) 回歸の分散分析

變動	平方和	自由度	不偏分散	分散比
回歸	14450.3	5	2890.0	5.9**
残り(V)	12077.5	25	483.1	
總變動	26527.8			

(B) 偏回歸係數及び偏回歸係數差の檢定

(n=31-5-1=25)

偏回歸係數	$t = \frac{b}{\sqrt{V} \sqrt{C_{ii}}}$	偏回歸係數差	$t = \frac{b_i - b_j}{\sqrt{V} \sqrt{C_{ii} - 2C_{ij} + C_{jj}}}$
$b_A$	1.14	$b_A - b_\alpha$	2.76*
$b_\alpha$	2.63*	$b_A - b_\beta$	1.42
$b_\beta$	1.24	$b_A - b_\gamma$	0.44
$b_\gamma$	0.79	$b_A - b_\tau$	2.75*
$b_\tau$	2.88**	$b_\alpha - b_\beta$	0.47
		.....	$t(0.05) = 2.06$ 以下

\*\* 有意水準 0.01 で有意

\* 有意水準 0.05 で有意

$C_{ij}$ : 逆行列式 i 行 j 列の數値

統計的檢定の結果の蛋白質分層の回歸が有意であり、これから赤沈は蛋白質分層の影響を受けているものと考へることが出来る。回歸式の αGlob. 及び γGlob. の項の母偏回歸係數の推定値が有意であるが、これから赤沈

は  $\alpha$  Glob. 及び  $\gamma$  Glob. 量の變動に伴つて變動し、兩者の増量は赤沈を促進する様に働くと思はれる。Alb. の項の偏回帰係数の推定値と  $\alpha$  及び  $\gamma$  Glob. の項のそれとの差が有意であることから Alb. は赤沈に對して  $\alpha$  Glob. 及び  $\gamma$  Glob. と異なる態度を取る因子(遲延的又は促進度のより弱い)と思はれる。従來の鹽析法による蛋白質分層と電気泳動分層とは同一なものではないが、この結果は鹽析法による Alb. は遲延的、Glob. は促進的、Fibrinogen は促進的に作用すると云う多くの報告の結果と類似したものである。

尙赤沈に強い影響を及ぼす因子の内蛋白質分層以外のものに関しては本實驗に於て赤沈高度促進を示した場合(60 mm 以上)殆ど全て實測値が回歸式による推定値より大きい値を示していること、赤沈値の分散中回歸の占める割合を分散分析表から推定すると 45.7% で比較的小さいこと又滲出性肋膜炎では一般に病初赤沈の高度促進を來し比較的速に正常値に近づくが、血漿蛋白質分層は之より遅れて正常値に近づく傾向を見せること等を考え合せると蛋白質分層以外にも有力な因子があつて赤沈に影響を及ぼしていると思われる。

#### 總 括

滲出性肋膜炎患者 6 名について 31 回に亘つて赤沈 1 時間値と血漿蛋白質電気泳動分層とを測定して次の結果を得た。

1) 赤沈 1 時間値と血漿蛋白質分層との相關係数は次の通りである。

赤沈と蛋白質量 0.513, 赤沈と Alb. 0.022

赤沈と  $\alpha$ -Glob. 0.453, 赤沈と  $\beta$ -Glob. 0.543

赤沈と Fibrinogen 0.313, 赤沈と  $\gamma$ -Glob. 0.442

2) 赤沈の蛋白質分層に對する回歸式を算出し、統計的檢定を加えると、回歸は有意、 $\alpha$  及び  $\gamma$ -Glob. 項の偏回歸係数が有意、Alb. と  $\alpha$ -Glob. 項の偏回歸係數差、Alb. と  $\gamma$ -Glob. の偏回歸係數差が有意である。

之より赤沈は蛋白質分層の影響を受け、 $\alpha$  及び  $\gamma$  Glob. の増量は赤沈促進的に働き、Alb は  $\alpha$ - 及び  $\gamma$ -Glob. とは赤沈に及ぼす影響に差異がある(遲延的又はより促進度の弱い)に見てよいと思はれる。

3) 滲出性肋膜炎の場合蛋白質分層にも赤沈に影響を及ぼす有力な因子が存在するらしい。

終りに懇篤なる御指導御校閲を賜つた戸塚教授に深謝す。

#### 主 要 文 献

- 1) 福島他：日本臨床結核 9 卷 507
- 2) 細田他：第 26 回日本結核病學會演說
- 3)a. 戸塚他：第 43 回日本内科學會演說

- b. 土屋他：電気泳動研究會 第 1 回研究發表會演說
- 4) 加藤：日本臨床結核 9 卷 547
- 5) 三友義雄，村島泰一：赤血球沈降反應 吐鳳堂刊
- 6) 統計數値表 河出書房刊
- 7) 森口繁一：初等數理統計學 廣文館刊

(46頁より續く)

- 2) Albumin は成人値よりも稍低値を示す。
- 3) Globulin は大差を認め難い。
- 4)  $\alpha$ -Globulin は A 群と B 群との間に有意な差があつて、之は恐らく泳動時間の差に基因するものと想像される。従つて成人値との差は比較し得なかつた。
- 5)  $\beta$ -Globulin は大差を認め難い。
- 6)  $\gamma$ -Globulin は成人に比して稍高値を示す。
- 7) Fibrinogen は大差を認め難い。

本論文の要旨は第 51 回九州醫學會小兒科分科會の席上に於て橋元が發表した。尙本研究は電気通信省醫學研究費に負う所が多かつた。記して謝意を表す。摺筆に當り長尾、熊本通信病院長、岩師長野教授の御鞭撻、御校閲に深謝し、當院研究室主任竹尾博士に謝意を表す。

#### 文 献

- 1) 生物物理化學，1 卷，1 號，1951
- 2) 小川新吉外 5 氏；生物物理化學，1 卷，1 號，15 頁 1951.
- 3) 齊藤正行；日本醫事新報，1413 號，1450 頁，昭和 26 年
- 4) 宅間清外 5 氏；生物物理化學，1 卷，1 號，30 頁 1951.
- 5) 向井善徳外 4 氏；生物物理化學，1 卷，1 號，30 頁 1951.
- 6) 吉澤久雄；生物物理化學，1 卷，1 號，42 頁，1951.
- 7) 福井靖典；生物物理化學，1 卷，1 號，71 頁，1951.
- 8) 三好，土屋；醫學，10 卷，4 號，195 頁，昭和 26 年
- 9) 平井秀松；日新醫學，35 卷，3 號，95 頁，4 號，146 頁，昭和 25 年
- 10) 柳澤文正；臨床内外科外兒科，6 卷，11 號，497 頁，昭和 26 年
- 11) 藤原弘；兒科雜誌，54 卷，1 號，29 頁，昭和 25 年

# 赤血球溶血液の電気泳動的研究 (豫報)

京都大學醫學部内科學第三講座 (擔當前川孫二郎教授)

醫學博士 前川孫二郎・醫學博士 熊谷直家  
醫學博士 荒木仁・醫學士 中澤輝郎

## Electrophoretic Studies on Red Blood Cell Hemolysates. (A Preliminary Report)

M. Maekawa, N. Kumagai, S. Araki, and T. Nakazawa.  
(The Third Medical Clinics of Medical Faculty of Kyoto University,  
Director, Prof. M. Maekawa)

Electrophoretic experiments of red blood cell hemolysates obtained by hemolysing with distilled water were carried out, in order to prove the allergic antibody, which has been expected to adhere in the erythrocyte. Results obtained are as follows.

- 1). The electrophoretic patterns were obtained on 9 rabbit, 28 human, and 2 goat red blood cell hemolysates from which stroma were removed. In these diagrams there were recorded a, c, Hb and b components mobilities of which were about  $-4.3$ ,  $-1.9$ , and  $-1.1 \times 10^{-5}$  cm. 2 per volt per second at pH 8.0, respectively.
- 2). b protein in rabbit and c protein in human red blood cell hemolysates were hardly demonstrable, but c protein in goat was remarkable.
- 3). In rabbit red blood cell hemolysates, which were sensitized with the mixture of phosphatides of rabbit erythrocytes and cx sera or with cx sera only, the peak which was thought to be allergic antibody (X protein) was recorded as a component having mobility faster than Hb protein. The mobility of this protein is about  $-2.9 \times 10^{-5}$  cm. 2 per volt per second. This peak disappeared at the 2nd day after reinjection of the antigen mentioned above.
- 4). Some of human erythrocytes, in septicemia, subacute bacterial endocarditis and rheumatic diseases had X peak. In the bone marrows of these patients the erythropoiesis was almost attacked. Not all the anemic diseases had X peak in their erythrocytes.
- 5). c protein seems to be rich in lipid on account of its decrease of the area of electrophoretic pattern after extraction. It is interesting to find that in two cases of nephritic human erythrocytes, c component was remarkable.
- 6). It is doubtful whether the peak appearing before or behind Hb peak is due to the denaturing product either in vivo or in vitro, but it is more enhanced in rheumatic diseases.

In summer Hb peak were divided clearly into two peaks by denaturation when red blood cell hemolysates were kept at room temperature.

### 1. 緒 言

血清又は血漿の電気泳動的研究は、Tiselius の装置が出現して以來、隆盛をきわめ長足の進歩をなした。それと並行してその他の蛋白溶液の電気泳動も盛んに行われているが、血清血漿程簡單でなく、その意味づけに至つては全く不明という現状である。それ故ある蛋白について原著の發表があると、それを金料玉條となし追試批判もしないで引用するだけにとどめている。これは蛋白體が餘りにも複雑であるというよりは、思索の貧困を示しているのである。

組織蛋白として最も簡単な赤血球の電気泳動について

の文献も甚だ少い。Abramson, Dozois & Hachtel 等は單に赤血球の易動度を測定しているし、Furchgott & Ponder は赤血球就中外膜成分の易動度を測定しているに過ぎない。1945年 Stern 等は赤血球溶血液の電気泳動圖を示して注意をひいたが、僅かに人2例、犬1例、鶏1例についてであり、それ以後は更に之を追求していない (Stern と中澤との個人的文通による)。

著者等は數年來各種組織細胞磷脂質を以てする組織アレルギーの實驗をしている。就中赤血球磷脂質によるアレルギー性貧血 (Erythron-Allergy と呼ぶ) は、アレルギー現象を定量的に觀察する事が出来るので種々抗原分析をする一方、抗體分析も行い、Erythron-Allergy の

抗體は赤血球に附着しているであろうという結果を得た。著者等は更に之を實證するため、赤血球溶血液の電気泳動法による研究を始めた。これは一般に著者等の行つて一連の組織アレルギーの抗體を究明する先驅をなすものである。

## 2. 實驗材料並びに實驗方法

實驗に使用した赤血球は家兎9例(健康家兎2例, 赤血球磷脂質加牛血清感作家兎6例), 牛血清感作家兎1例), 人28例(健康人1例, 亜急性細菌性心内膜炎2例, リウマチ性心瓣疾患6例, 關節リウマチ2例, アレルギー性素因2例, 敗血症3例, 腎炎2例, 結核5例, パンチ氏病2例, 貧血症3例), 山羊2例である。

家兎の感作方法として赤血球磷脂質は、磷脂質には種屬特異性がない點より牛赤血球より抽出し、家兎1匹に對し1回10mgを使用し、牛血清は當kg2cc用い、3日目毎に6乃至8回感作した。感作終了後20日目の採血赤血球を檢査した。

採血は主として3.8%クエン酸を附加して行い、直ちに遠心して沈渣赤血球を生理的食鹽水にて洗滌し再び遠心する。この操作を3回繰返し、最後の遠心は毎分2500回轉10分間行い、沈渣赤血球1.5ccを豫め7.5ccの蒸留水を入れた試験管にとり振盪し完全に溶血させ、更に7.5ccの泳動用磷酸緩衝液を加え振盪する(この際赤血球外膜、ストローマのため濁濁する)。これを350番のセロファン紙に包み同じ緩衝液で透析する。透析後濾過すれば濁濁沈澱物は可成り除去されることが、それでも濁濁が強度の場合には更に強力に(毎分3000回轉20分間)遠心すれば透明となる。この様にして得た溶血液は多少の相違はあるが、蛋白量は全體1.0~1.5g/dlである。

緩衝液はPH 8.0イオン強度0.1の磷酸緩衝液を、裝置は日立製作HT-A型テセリウス装置を用い、ダイアゴナルスリットは傾斜を30°~40°とし、幅を6mmとした。電壓約200ボルト、電流約0.014アンペア、溫度0.8~4.0°C、泳動時間7200~12600秒であり、易動度の測定は下降脚によつた。

## 3. 實驗成績

被檢例数は39例であるが、上昇下降共に満足する様な泳動圖を得たのは少い。又綺麗な泳動圖は得られたが、易動度が測定出来なかつたりしたので、全體の傾向と少数例から得た成績を記述する。

赤血球溶血液の電気泳動圖の基本型は、Sternの命名に従えば、最も大きな峰はヘモグロビンである。最も早い速変を有し乳白色の分層がa蛋白、ヘモグロビンより

遅い峰がb蛋白、ヘモグロビンとa蛋白との丁度中間の峰がc蛋白(但しこのc蛋白は鶏の有抗赤血球に於て)である。著者等もヘモグロビン峰を指標としてSternの言ひ像を明確に認めるものもあるし、又認めないものもある。更にc蛋白とヘモグロビンとの間にも一つの新しい峰を認めるものもある。著者等は之をX峰と命名した。これ等の峰が全部出現したとして、その復型圖を書くと第1圖の様である。

### a. 家兎赤血球

(i) 健康家兎2例, a蛋白何れも著明, b蛋白何れも著明でない。c蛋白認められる様である。ヘモグロビンに峰の亂れ(結節と呼ぶ)がない。

(ii) 赤血球磷脂質加牛血清感作家兎6例, 全例にa蛋白あり, b蛋白出現著明1例, c蛋白出現3例, ヘモグロビン峰の前脚に結節のあるもの1例, 後脚に結節のあるもの1例, X峰出現4例である。この群で易動度を測定する事が出来た1例について、同じ赤血球溶血液にアセトンのエーテルを加え、エーテル層を除去したものについて泳動し、更に亦その家兎に赤血球磷脂質加牛血清を効果注射し2日目(この際貧血を起している)の採血赤血球について泳動したものを比較した。赤血球磷脂質加牛血清感作家兎赤血球泳動圖で明かにc蛋白とX峰を認めていたが、同一赤血球でもエーテル可溶成分を除去したものではc蛋白が消失し、更にその家兎に効果注射した後の赤血球ではX峰が消失した(第1表)。

(iii) 牛血清感作家兎1例, a蛋白著明でない, b蛋白著明, c蛋白著明, ヘモグロビン峰に結節を認めない。X峰出現した。

### b. 人赤血球

(i) 健康人1例, a蛋白著明, b蛋白著明, c蛋白著明でない。ヘモグロビン峰の後脚に結節を認める。これ等各幾分の易動度を示せば第2表の様である。

(ii) 亜急性細菌性心内膜炎2例, a蛋白著明, b蛋白著明, c蛋白認められない。ヘモグロビン峰の前脚に結節を認めるもの1例, X峰が1例に著明に出現した。

(iii) リウマチ性心瓣疾患6例, a蛋白何れも著明, b蛋白著明なもの2例, c蛋白認められない。ヘモグロビン峰の後脚に結節を認めるもの4例, X峰出現2例である。

(iv) 關節リウマチ2例, a蛋白不鮮明, b蛋白著明1例, c蛋白著明でない。ヘモグロビンの前脚に結節を認めるもの1例, 後脚に結節を認めるもの2例, X峰1例に出現した。

(v) アレルギー性素因2例, a蛋白著明, b蛋白著明, c蛋白認めない。ヘモグロビン峰に結節なく, X峰1例に不鮮明であるが出現した。

(vi) 敗血症 3 例、但しこれは同一人で経過を追つたものである。a 蛋白著明、b 蛋白著明なもの 2 例、不鮮明 1 例、c 蛋白認めない。X 峰は最初の 2 回目まで出現し、回復後は認めない。

(vii) 腎炎 2 例、a 蛋白著明でない。b 蛋白著明 1 例、不鮮明 1 例、c 蛋白著明 2 例、ヘモグロビン峰の後脚に結節を認めるもの 1 例、X 峰は認められなかつた。

(viii) 結核 5 例、a 蛋白著明でない。b 蛋白著明 4 例、著明でないもの 1 例、c 蛋白認められない。ヘモグロビン峰の前脚に結節を認めるもの 2 例、X 峰は 1 例に不鮮明ではあるが出現した。

(ix) パンチ氏病 2 例、但し同一人で検査年月日の異なるものである。a 蛋白著明、b 蛋白著明、ヘモグロビン峰に結節なく、c 蛋白認められない。X 峰も出現しない。

(x) 貧血 3 例、a 蛋白著明、b 蛋白著明、c 蛋白 1 例に於て著明、ヘモグロビン峰に結節を認めるもの 1 例、X 峰は 1 例に出現した。その X 峰を認めた 1 例は鐵不足貧血であり、他の貧血は再生不良性貧血と鐵不足貧血である。

#### C. 山羊赤血球

2 例、a 蛋白著明、b 蛋白著明なもの 1 例、不鮮明 1 例、c 蛋白どれも著明、ヘモグロビン峰に結節を認めない。殊に Middlebrook-Dubos<sup>10)</sup> の舊ツベルクリン感作赤血球を作り泳動すれば、c 蛋白はより一層著明となる。

上述した家兎並びに人の赤血球で易動度を測定したものは、第 1 表、第 2 表に示した通りであるが、その平均値をとり赤血球溶血液の各成分の易動度の大体を示すと、a 蛋白 -6.7、c 蛋白 -4.3、ヘモグロビン -1.9、b 蛋白 -1.1、X 峰  $-2.9 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  である。

#### 4. 考 按

著者等は種々な臓器細胞磷脂質を異種蛋白に附加したものを抗原として、家兎を感作する事により、使用した磷脂質と同名の臓器に選擇的にアレルギー炎症を惹起せしめた。このことは赤血球磷脂質を用いても立派に赤血球系にアレルギー性貧血を起し、之を前川は Erythron-Allergy と命名した。このアレルギーの本態を知ろうとして、赤血球磷脂質加牛血清を抗原として、感作した家兎赤血球を溶血させ電氣泳動した處、ヘモグロビン峰より若干易動度の早い位置に特異な峰を認めた。これは Stern が命名した a 蛋白、c 蛋白より易動度遅く、而も健康家兎赤血球では認められないので、これこそアレルギー抗體だと考え X 峰と命名した。それで赤血球磷脂質加牛血清感作家兎 6 例について行つて見ると、4 例に峰を認めた。X 峰を認めない例もあり而もその峰が餘り大きくないのは、現在行つている方法が悪いのであろう。

即ち蒸留水を加え溶血させた赤血球液に、磷酸緩衝液を加えると濁濁する。それは赤血球外膜もしくはストローマが析出するためであろう。それを濾過乃至遠心して可及的に除去したものを泳動しているために、峰が小さく、又出現しないものもあるであろう。中澤はストローマ<sup>11)</sup> を集めて、PH 9.0 のアルカリ溶液で透明溶液となし、泳動したが現在まで満足する様な結果を得ていない。

X 峰は牛血清感作家兎赤血球にも認められた。この事は Erythron-Allergy で前處置に牛血清感作すだけでも、効果注射に赤血球磷脂質加牛血清を使用すれば、貧血が起るといふ實驗成績を説明するに便利である。

人間に於て特に著明に X 峰を認めたのは、敗血症 1 例、亞急性細菌性心内膜炎 1 例、心臟瓣膜症 1 例に於てである。殊に敗血症の 1 例はその原因が腸間膜りんば腺炎によるもので、入院當初は赤血球數 213 萬、血色素 40%、色素係數 0.93、白血球數 7550、血小板 88000、ヘマトクリット値 23.1、血液像では好中球 74.0%、りんば球 23.5%、網狀赤血球 0.4%、赤沈 97.0、出血時間凝固時間正常、骨髓像では赤血球形成 6.8%で著しく低下し、骨髓性細胞形成はやや増加していた。この様な状態の時或は若干經快した時の赤血球溶血液の電氣泳動圖では X 峰を著明に認めた。ストレプトマイシン等の化學療法劑を用いたり、腸間膜りんば腺を別出して、赤血球數も正常となり、骨髓の赤血球形式も 21.4% になつたときの赤血球の泳動圖では、X 峰は認められなかつた。又 X 峰の著明に出現した亞急性細菌性心内膜炎の患者の血液像は、赤血球數 240 萬、血色素 52%、白血球數 14000、網狀赤血球 3%、好中球 74%、りんば球 17%、赤沈 109、骨髓像は赤血球形成 7.2%、骨髓性細胞形成は増加しない。心臟膜症の 1 例では貧血なく、好酸球 14.0%、骨髓の赤血球形成も異常なく、ただ好酸球の増加を認めた。

Stern は a 蛋白が赤血球そのものの易動度と同じ故に、a 蛋白はその外膜に由来するであろうと想像した。そして鶏の赤血球に見られた c 蛋白は、核によるかも知れない様な印象を受けるが、著者等はそれに相當する峰を山羊赤血球には明確に認め、感作家兎赤血球にも屢々認め、人間では餘り認められなかつたが、腎炎の 2 例に於ては著明に認められる。而も溶血赤血球にエーテルを加え、エーテル層を除去する事により、此の c 蛋白が減ずる故、c 蛋白がより類脂體を含むものと想像される。

ヘモグロビン峰の前脚又は後脚に結節を認めるものが可成り多くあるが、これはヘモグロビンそのものの試験管内變性が又は體內病的變性が明かでない。疾患としてはリウマチ疾患によく出現し、試験管内變性の著明な例としては、夏季に室温に長時間放置し變化したヘモグロ

ピンは、明かにその中間に於て峰が二つに分離する(第2圖)。

5. 總 括

赤血球に附着していると思われるアレルギーに體を證明しようとして、赤血球を蒸留水で溶血させた溶血液を電気泳動した。且つそれに附隨して發見した事項は次の通りである。

(1) 家兎赤血球 9 例, 人赤血球 29 例, 山羊赤血球 2 例の溶血液(外膜, ストローマは大部分除かれている)を電気泳動した。原則として a 蛋白, c 蛋白, ヘモグロビン, b 蛋白を認める。その各々の易動度は夫々大體  $-6.7, -4.3, -1.9, -1.1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  である(PH 8.0 イオン強度 0.1 の磷酸緩衝液に於て)。

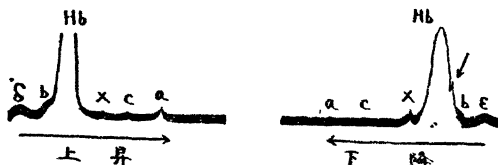
(2) 家兎赤血球では b 蛋白を認め難く, 人間では c 蛋白を認め難い。山羊赤血球では c 蛋白著明である。

(3) 赤血球磷脂質加牛血清感作家兎赤血球及び牛血清感作家兎赤血球に於ては, アレルギー抗體と思われる峰(X 峰と命名する)を, ヘモグロビンの直ぐ前に多く認める。X 峰の易動度は大體  $-2.9 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  である。又該峰は赤血球磷脂質加牛血清の効果注射後 2 日目の赤血球に於ては消失していた。

(4) 人間に於ても殊に敗血症, 亞急性細菌性心内膜炎, リウマチ性疾患に於て X 峰を認めるものがある。この様な例ではその骨髓は多く赤血球形成悪く, 多く貧血がある。併し貧血患者すべての赤血球に X 峰が出現するというわけではない。

(5) c 蛋白はエーテル附加により大部分除去される故に, 多分類脂體を多く含むであろう。人間では殊に腎炎の 2 例に於て c 蛋白著明であるのは興味深い。

(6) ヘモグロビン峰の前脚又は後脚に生ずる結節は, ヘモグロビンの生體外變性が, 又は生體内病的變性であるか不明であるが, 疾患としてはリウマチ疾患によく出現する。夏期長時間設置して變化した赤血球では, ヘモグロビン峰は著明に二つの峰に分離する。



第 1 圖 赤血球溶血液電気泳動模型圖



第 2 圖 變性人赤血球溶血液電気泳動圖

第 1 表 赤血球磷脂質加牛血清 (EP+S) 感作家兎赤血球溶血液成分の易動度

實驗番号	被檢物	泳動時間	易動度 $\times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec}^{-1}$				
			a 蛋白	c 蛋白	X	ヘモグロビン	b 蛋白
No. 984	EP+S 感作家兎赤血球	7200秒	-6.88	-3.98	-2.72	-1.83	-0.82
No. 985	同液のエーテル可溶性成分除去	7200	-6.96	認めず	-3.30	-1.88	-1.06
No. 1007	効果注射直後赤血球	9000	-5.74?	-3.82	認めず	-1.71	-0.96

第 2 表 人赤血球溶血液成分の易動度

實驗番号	被檢物	泳動時間	易動度 $\times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ volt}^{-1} \text{ sec}^{-1}$				
			a 蛋白	c 蛋白	X	ヘモグロビン	b 蛋白
No. 1176	健康人	10800秒	-6.81	-4.77*		-2.05	-1.43
No. 1111	循環器病等症	10320	-6.07			-1.73	-0.96
No. 1132	代謝障害性大動脈硬化等症	10860	-4.78?		-2.57	-1.88	-1.25?
No. 1181	心筋梗塞	10560	-7.51			-2.42	-1.71
No. 1175	糖尿病性貧血	10800	-6.90			-1.88	-1.09
No. 1182	同	10800	-7.17	-5.03	-3.15	-1.75	-1.05

\* この c 蛋白は著明でない  
No. 1182 は上脚脚を測定した

文 献

- 1) Tiselius, A.: Trans. Farad. Sec.,; 33, 524 (1937); Kolloid Z., 85, 129 (1938)
- 2) Abramson, H.A.: J. Gen. physiol., 12, 711 (1929)
- 3) Dozois, K.P. & Hachtel, F.W.: J. Lab. & Clin. Med., 22, 1252 (1937)
- 4) Furchgott, R. F. & Ponder, E.: J. Gen. Physiol., 24, 447 (1940)
- 5) Stern, K.G., Reiner, M. & Silber, R. H.: J. Biol. Chem., 161, 731 (1945)
- 6) 前川孫二郎: 臨床内科小児科 2. 1 (昭29); 血液討論會報告第 1 輯, p. 203 最新醫學社, 大阪(1948); 診断と治療; 36, 91 (昭29); 日本内科学會雜誌, 38, 177 (昭24); 同誌, 39, 133 (昭25); 同誌, 40, 242 (昭26); 日本臨床, 8 (1), 5 (昭25); 同誌, 9 (4), 69 (昭26)
- 7) 鷺津正, 他: 日本循環器學誌, 11, 77 (昭23); 12, 79 (昭24)
- 8) 前川孫二郎, 他: 日本内科学會雜誌, 40, 242 (昭26); 日本臨床, 9 (4), 69 (昭26)
- 9) 荒木仁, 森澤曜; 日本循環器學誌, 14, 206 (昭25); 14, 240 (昭26)
- 10) Middlebrook, G. & Dubos, K. J.: J. Exp. Med., 88, 521 (1948)
- 11) 中澤輝郎: 未發表

# 鶏卵卵黄の電気泳動成分について(第一報)

新潟大學理學部化學教室

菅野 浩

## On the Electrophoretic Components of the Hen's Egg Yolk. I.

Hiroshi Sugano

(Department of Chemistry, Faculty of Science, Niigata University)

After an egg yolk suspension containing 10% NaCl was extracted with diethyl ether, resulting clear aqueous solution was dialyzed against the buffer of 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>-0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (pH 10.0 and ionic strength 0.2) without forming any precipitate during dialysis, and then the electrophoretic pattern of the whole egg yolk was obtained. Both the extraction with ether at low salt concentration and the standing of the egg yolk solution after removing the ether layer used for extraction are found to form a small amount of precipitate. In this way, eight electrophoretic components in the whole egg yolk have been shown. But the possibility of the existence of more components was assumed from other results which will be discussed in later report.

The water-soluble fraction (livetin fraction) obtained by water-dialysis of the whole egg yolk consists at least of three main components. The influence of the ether extraction of the whole egg yolk on the relative concentrations of these components was investigated and the results agreed with the work of C. C. Shepard, et al. (1949).

The patterns of the whole egg yolk after extracting with ether four times and of the water-insoluble fraction (vitelline fraction) prepared therefrom were obtained. From these patterns and other results, the positions of the components of the water-soluble fraction in the electrophoretic pattern of whole egg yolk were decided.

### I. ま え が き

或意味で Casein と同じ役割をしている卵黄の蛋白質成分に関する研究は、Casein のそれより遅れているように思える。卵黄蛋白質に関する綜説にも見られるように、卵黄に10%食鹽水を加えた後エーテルで lecithin 等の lipids を抽出除去後、水で稀釋或いは透析して得られる vitelline とその濾液を熱凝固して得られる livetin の二つは古くより知られている。vitelline は全體の80%を占め0.8~1.2%の磷を含む lipoprotein であり、livetin は残り20%を占める lipid も磷を含まれていないとゆう報告もあるが、磷蛋白質であるとも述べられている。其後 lipovitelline は含磷量の違つた二つの部分に分けられ、その一つエーテルを飽和した10%食鹽水にのみ溶解性を示す二つ lipovitelline に對して lipovitellenine の名が與えられている。<sup>10,11)</sup> 一方最近では、水溶性の livetin 部分が電気泳動的に三成分からなることが知られた。<sup>12)</sup> 又10%の磷を含む phosphin 成分が分離され、この磷は卵黄の蛋白質の少くも60%に相當する事が報告された。<sup>13)</sup>

このように次第に新たな成分が見出されてくるにつれて、従しいのは全卵黄成分の電気泳動圖形である。然し

ながら從來これが得られなかつたのは、卵黄蛋白質が鹽濃度の稀釋に對して沈澱し易い性質を持つてゐるためと思われる。この研究ではまず全卵黄を電気泳動にかけ得る條件を見出し、その結果得られた圖形を示した。ついで水溶性、非水溶性部分に分けて、夫々の泳動圖形を求めた。又エーテル抽出の操作につれて、これらの成分の相對濃度に起る變化の模様を述べた。

### II. 實 験

#### 1. 試 料

新鮮な白色レグホーンの卵黄を出来るだけ良く卵白から分け、ついで tap water で充分洗う。之を濾紙上にうけとり、ころがして卵黄膜上の附着物を取り除いた後、ピンセットで一端をつまみ上げ他端を剃刃で破く。内容物が充分得られたら、水溶性部分を得る時には2容の10%食鹽水を、又そうでない時には2容或いは約100 cc の10%食鹽水を加えて出發試料とした。エーテル抽出は等量の diethyl ether を加えて良く振り、以後も時々振つてやつて室温(約10°C)で2晝夜経過を以て1回とした。層の分離には屢々遠心分離をも用いた。このようにして得た溶液は電気泳動にかけ得る程度に充分透明

である。これから水溶性 livetin 部分を得るには水道流水で2日、蒸溜水でとりかえながら1日透析を行い、沈澱 vitelline 部分を遠心分離した。沈澱 vi.elline 部分は蒸溜水で数回洗って遠心分離し、10%食鹽水を適量な蛋白濃度が得られるように加えてやると、ゆつくりと溶解して前と同様な透明溶液が得られる。エーテル抽出操作は各回全卵黄について行い、それから水溶性、非水溶性部分を分離した。

## 2. 測定

同筒レンズ使用のチセリウス型装置を用い全部長脚セルで實施した。電流 18~22mA, 電壓 130~180V, 1~2°C に於て 120分と 180分 で撮影した。次に buffer であるが acetate PH 3.9  $\mu$ 0.1, phosphate PH 6.8  $\mu$ 0.13, 及び PH 7.8  $\mu$ 0.16 の三種を NaCl で夫々  $\mu$ 0.3 にした buffer で試料を透析したところ、何れの場合も沈澱を生ずるので不適當である事が分つた。そこで Menzel に従つて 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>—0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PH 10.0  $\mu$ 0.2 の buffer を調製し、之に對して透析を行つてみたところ全く沈澱を見出さなかつたので、この條件を用いて行つた。この buffer 800 cc に對して 2 晝夜氷冷蔵庫中で透析平衡を行つた後泳動にかけた。

## III. 結 果

Fig. 1 に示した圖形は、卵黄1個に對し約100cc の10%食鹽水を加えて等量よりやや少ないエーテルで1回抽出操作を行つた試料について、蛋白濃度 1.8%, 160V, 21 mA で 180分後に得た全卵黄の泳動圖形である。前述したようにこの間沈澱は全く生じていない。上昇下降兩圖形から8成分の存在が認められる。又兩圖形から比較するに中央の大きな主峰の非對稱性にはかなり特徴があるように見うけられる。

Fig. 2 に示した圖形は、卵黄に2容の10%食鹽水を加えエーテル抽出を行わないうちに流水透析ついで蒸溜水透析にかけ、蛋白濃度 0.4%, 185V, 20 mA で 120分後に得た水溶性部分の泳動圖形である。上昇下降兩圖形からは何れも3成分の存在が認められるが、180分後には第1の峰が少なくとも2成分に分れ、又第2と第3の峰の間に小さな1つの峰の存在するのが見うけられた。

Fig. 3 は4回エーテル抽出操作を行つた後の水溶性部分の、蛋白濃度 0.6%, 150 V, 16 mA で 120分後に得た泳動圖形である。やはり3成分の存在には變りがないが、第2の成分の相對濃度が増加しているのが明瞭に認められる。

Fig. 4 は4回エーテル抽出操作を行つて、蛋白濃度 1.3%, 140 V, 18 mA で 180分後に得た全卵黄の泳動圖形である。Fig. 1 の1回エーテル抽出全卵黄の圖形と比較

て見ると、白丸矢印の成分(假りにL成分と味ぶ)の相對濃度に減少が見られる。

Fig. 5 は Fig. 4 に得られた4回エーテル抽出全卵黄から得た非水溶性部分の泳動圖形で、蛋白濃度 0.8%, 130 V, 18 mA で 120分後に得られたものである。兩圖形の比較並びに其他の圖形から検討して、水溶性部分の3成分は全卵黄圖形中の黒丸矢印のところに位置すると思われる。

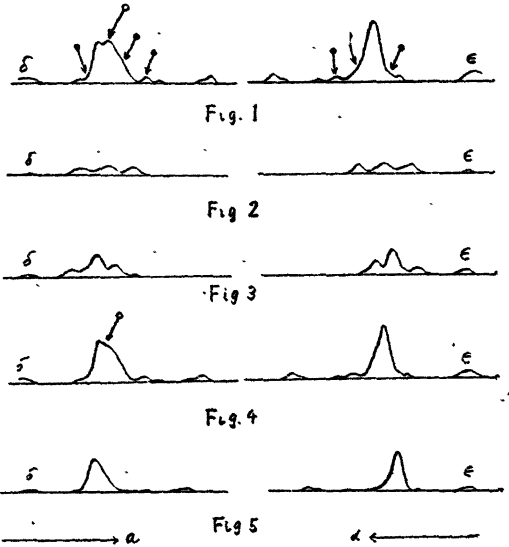


Fig. 1 Whole egg yolk after extraction with ether one time.

Fig. 2 Water-soluble fraction (livetin fraction) without ether extraction.

Fig. 3 Water-soluble fraction (livetin fraction) prepared after extraction of whole egg yolk with ether four times.

Fig. 4 Whole egg yolk after extraction with ether four times.

Fig. 5 Water-insoluble fraction (vitelline fraction) prepared after extraction of whole egg yolk with ether four times.

## IV. 考 察

先に Shepard 等が livetin 部分について得た圖形と、著者が以上の如くにして得た水溶性部分の圖形とを比較してみると、何れも卵黄の水溶性部分に3個の主な成分が存在している點で一致している。又彼が彼の Method-B に従つてエーテル抽出なしに得た livetin 部分と、著者が得たエーテル抽出なしの水溶性部分とは、略同一試料であることが推定されるのであるが、この事は彼の Fig. 4 と著者の Fig. 2 とを比較してみて一層明らかになる。更に彼はこのエーテル抽出なしの livetin



部分に對して、エーテル抽出操作を行つた後の圖形を Fig. 3 に掲げているが、これは著者が全卵黃に對して4回エーテル抽出操作を行つた後に透析分離して得た水溶性部分の圖形 Fig. 3 に見られると同様、3成分の中の中央の第2成分の相對濃度に増加が認められる。

全卵黃の泳動圖形に於て、L成分からその前方の裾にかけてあたりには、少なくとも數個の峰が重なつてゐる事が他の事實から推定されるのであるが、この事については後報に述べる豫定である。

## V. 要 約

1. 10%食鹽水溶解、エーテル抽出後の全卵黃に對し 0.05 M NaHCO<sub>3</sub>—0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, PH 10.0 μ 0.2 の buffer を使用する事により全く沈澱を生ずる事なしに電気泳動を實施し得た。

2. その結果上昇下降兩圖形から少なくとも8個の峰の存在を認め得たが成分の數は更に多い事が推定された。

3. 水溶性部分として少なくとも3個の主な成分の存在する事、及び全卵黃に對するエーテル抽出操作がこれらの成分の相對濃度<sup>12)</sup>に與える影響が見られ、C. C. Shepard 等 (1949) と一致する結果が得られた。

4. エーテル抽出4回全卵黃及び非水溶性部分の泳動圖形が示され、全卵黃中水溶性成分の位置が推定された。

## 文 献

- 1) Needham, "Chem. Embryology" Cambridge Press., Vol. I, 287—294 (1931).
- 2) Jukes, and Kay, J. Nutrition, Vol. 5, 81 (1932)
- 3) H. O. Calvery, and A. White, J. Biol. Chem., Vol. 94, 635 (1931)
- 4) H. P. Kay, and P. G. Marshall, Biochem. J., Vol. 22, 1264 (1930)
- 5) McFarlane, Biochem. J., Vol. 26, 1061 (1932)
- 6) Blackwood, and Wishart, Biochem. J., Vol. 28, 550 (1934)
- 7) Chargaff, J. Biol. Chem., Vol. 142, 491 (1942)
- 8) Kay, and Marshall, Biochem. J., Vol. 22, 1264 (1928)
- 9) F. Haurowitz, "Chemistry and Biology of Proteins." Chap. XI, 194 (1950)
- 10) G. Alderton, and H. L. Fevold, Arch. Biochem. Vol. 8, 415 (1945)
- 11) H. L. Fevold, and A. Lausten, Arch. Biochem. Vol. 11, 1 (1946)
- 12) C. C. Shepard, and G. A. Hottle, J. Biol. Chem. Vol. 179, 349 (1949)

- 13) D. K. Mecham, and H. S. Olcott, J. Am. Chem. Soc., Vol. 71, 3670 (1949)

(20頁より續く)

液の中に含まれる。抽出液を pH 4.5 とした濾液をアルキュールによつて分割し、更に之を水によつて抽出すれば、この中へ抽出される。各分層を電気泳動及び泳動對流によつて處理することにより、磷酸酵素が易動度小なる Globulin 中に含まれることを推定し得た。

本研究は文部省科學研究費の補助を得てなされたものである。ここに厚く謝意を申しのべる。

## 文 献

- 1) 中村正二郎, 前田隆朗; 生化學, 22, 268, (1950)-
- 2) Allen, R.J.L., Bioch. J., 34, II, 888 (1940)-
- 3) 高橋基之, 未發表.
- 4) 赤松茂, 日本醫學會雜誌 (第12回) 69 (1946).
- 5) Cann, J.R. et al., J. Am. Chem. Soc., 71, 1602 (1949).

\* 第23回日本生化學會總會に於て要旨を發表。但し Nucleoprotein 沈澱の中には L<sub>1</sub> の中に存在した磷酸酵素の 2/3 が共沈しているから、之を選擇的に溶出することも極めて望ましい。

※) 硫酸鹽析が再現性に乏しいのは透析によつて助酵素の失はれるためと考えられるが、我々は尙 Mg<sup>++</sup> に對する考慮を怠つていたので之に對する検討も必要である。

(51頁より續く)

(結核性 N=24, 氣胸性 N=10, 濾出液 N=18) 尙 48 回日內學會に於て發表した滲出性肋膜炎の Alb の標本回歸線式は誤である。

2. 腹腔滲濾液の場合も同様の傾向を認めた。

總蛋白濃度

結核性:  $y = -1.15 + 0.74x$ ,  $r = 0.840$

Alb 濃度

結核性:  $y = 0.15 + 0.68x$ ,  $r = 0.786$

濾出液:  $y = -0.87 + 0.56x$ ,  $r = 0.818$

總 Glob. 濃度

結核性:  $y = -0.22 + 0.67x$ ,  $r = 0.804$

r-Glob. 濃度

結核性:  $y = 0.14 + 0.59x$ ,  $r = 0.754$

フィブリノーゲン濃度

結核性:  $y = 0.17 + 0.21x$ ,  $r = 0.484$

癌性:  $y = 0.09 + 0.20x$

(結核性 N=22, 癌性 N=10, 濾出液 N=11)

3. 心筋障礙の程度は(日內學會 46 回)既に發表の如く A/G 尙の低下 (Alb 濃度の低下) と電気泳動法によつても一定の相關のある事を認めた。(A/G:  $r = -0.673$ , Alb 濃度  $r = -0.656$ , Glob 濃度  $r = 0.382$ )

以上要するに滲濾液機轉はその毛細管の侵襲度に應じて透過性の充進を來し Proteinuria より mehr albuminurie に至る迄の種々な程度の血漿蛋白質の透過を來すものと考えられる。

# 血清アルブミンの易動度及荷電の温度變化

東京大學醫學部生化学教室

四方 淳 一

## Temperature Dependence of Electrophoretic Mobility and Electric Charge of Crystalline Horse Serum Albumin

J. Shikata

Electrophoretic mobility of crystalline horse serum albumin was determined with Tiselius apparatus at various temperatures between 0°C and 30°C. Electric charge per molecule of the protein was calculated by the application of moving boundaries. The results shows that electrophoretic mobility of the protein is approximately inversely proportional to the viscosity of the solvent, while small deviations from this behavior can be interpreted as the displacement of electrolytic dissociation of the protein caused by the difference in temperature. This can also be proved by electric charge of the protein as calculated from electrophoretic mobility using the theory of moving boundaries.

### 緒 言

電気易動度は現在常温又は 0°C に近い低温に於て測定せられているが、血清アルブミンの電気易動度の温度による變化については、Tiselius, 理工研渡邊助教等の研究があるが、今回實驗によつて之を測定し、それより血清アルブミンの荷電の温度による變化を moving boundary の理論を應用して計算し、之と滴定曲線より求めた値との比較を行つた。

### 實 験

材料としては、Kewick の方法によつて分離並びに精製を行つた馬血清アルブミン結晶を用いた。即ち芒硝を用い、その 20 g/dl の濃度に於て馬血清を鹽析し、一晝夜放置の後濾過し、濾液に稀硫酸を加えて pH 調整を行い、等イオン點に於てアルブミンの結晶より成る沈澱を得た。之を更に二回再結晶を行つて得られた結晶アルブミンを pH=8.1  $\mu=0.1$  の M/30 磷酸緩衝液に蛋白濃度が 1.5% になるように溶かし、之をセロフアンの袋に入れて内容の 30 倍の容積の同じ磷酸緩衝液に對して 72 時間透析したものを材料として用いた。透析外液はそのまま緩衝液として電気泳動に使用した。斯くして得られた材料は、電気泳動によつて全く均一な一つの峰である事が證明された。

電気易動度の測定には、Tiselius の電気泳動測定装置を使用した。實驗温度が室温よりも低いので、温度調節には恒温槽の外部の冷却槽に氷一食の寒劑を入れて冷却し、内部の恒温槽にはトルエン-水銀より成る温度調節

装置を繼電器に接続し、それによつて 200 W のラムプ及ニクロム線による、更に強力な電熱器を點滅させること、即ち外部の冷却槽でどんどん冷却して、内部の恒温槽で熱源を點滅させて温度を調節する方法をとり、之と攪拌器によつて恒温槽の水を攪拌することにより一定温度を保つことが出来た。

材料を入れる Cell の温度が恒温槽の温度と平衡に達するには、Cell を恒温槽に入れてから約 20 分を要するので、Cell-電極槽系を恒温槽に入れてから 25 分後に電流を通じて實驗を開始した。

電気易動度は descending pattern より算出せられた。(第 1 表参照)

比傳導度もこの恒温槽の中に於て、電気泳動を行つたと同温度で測定した。

各温度に於ける溶媒の粘性係数は濃度がうすいため蒸溜水のそれとは 1% 以内の變動しかないことを確めたので、蒸溜水の粘性係数を以て之に代えたのが第 1 表に示す如くである。

實驗を行つたときの外氣の温度は 30°C 内外であつた。

### 蛋白粒子の荷電

電気泳動の古典的理論では電気易動度と  $\zeta$ -potential の關係が研究されていたが、(Smoluchowski, Hückel, Henry) 蛋白質の如き hydrophilic sol の場合には、 $\zeta$ -potential から荷電を求めるときは、粒子の形、大きさが直接比例項として入つて来るので、之等に適當な數値を用いることが必要である。

又移動速度から求めた  $\zeta$ -potential は粒子自身のみ

なく、粒子と共に動いて居る液體層をも含めての電位なので、之から求めた荷電は、(粒子)プラス(その周囲の液層の荷電)となる。

従つて  $\zeta$ -potential を求める事に比して荷電を求めることは遙かに多くの困難を伴う。

即ち  $\zeta$ -potential から荷電を求める際に、形、大きさが判明しないと正確を缺くことになるので、今回の荷電の計算には次の如く moving boundary の理論を應用して、蛋白の大きさ及び形に關係なく荷電を求める方法によつた。

以下に於て次の如き記號を用いることとする。

- $c$  :—化學當量濃度
- $u$  :—電氣易動度
- $r$  :—相對的電氣易動度(易動度  $u$  を或標準の値  $u_0$  で除したもの)
- $\kappa$  :—比傳導度
- $\sigma$  :—相對比傳導度
- $T$  :—輸率
- $E$  :—電位勾配

今下降側境界面に於て、(第2圖)之を理想的な界面とすると、單位時間内に境界面がその外に出て了わないやうな適當に廣い體積を切りとる座標を考え、この面を通じて單位時間内にこの體積中に流れ入り、又は出るイオンの量を計算すると、境界 $-\alpha\beta$  を含む上記體積中に於て、蛋白イオンに就ては、

流入イオンの量…… $c_p^\alpha \times v_p^\alpha$

流出イオンの量…… $c_p^\beta \times v_p^\beta$

であらわされ、この兩者の差し引きが境界面の移動によるこの體積中のイオンの増加

$v_p^\beta \times (c_p^\alpha - c_p^\beta)$  に他ならない。

そこで兩者を等しいと置けば次の式を得る。

$$c_p^\alpha v_p^\alpha - c_p^\beta v_p^\beta = v_p^\beta (c_p^\alpha - c_p^\beta) \quad (1)$$

今  $E^\alpha = i/\kappa = i/F \sum_j c_j^\alpha u_j$   $F$ : Faraday 常數 (2)

輸率の定義式

$$T_p^\alpha = c_p^\alpha u_p / \sum_j c_j^\alpha u_j \quad (3)$$

により  $\alpha$  相に於ける蛋白イオンの移動速度は

$$v_p^\alpha = u_p \times E^\alpha = \frac{i u_p}{F \sum_j c_j^\alpha} = \frac{i}{F} \frac{T_p^\alpha}{c_p^\alpha} \quad (4)$$

となる。

之は同様に  $\beta$  相に於ても云える故(1)(4)より次式がえられる。

$$\frac{i}{F} (T_p^\alpha - T_p^\beta) = (c_p^\alpha - c_p^\beta) v_p^\beta \quad (5)$$

單位電流の流れる際の移動速度を  $V^{\alpha\beta}$  で表わすと

$$V^{\alpha\beta} = v_p^\beta / i$$

$$\therefore T_p^\alpha - T_p^\beta = V^{\alpha\beta} (c_p^\alpha - c_p^\beta) F \quad (5)'$$

$$\text{又 } \alpha^\alpha = F \sum_j c_j^\alpha r_j^\alpha \quad (6)$$

(3)(6)より  $\alpha$  相については

$$T_p^\alpha = c_p^\alpha u_p / \sum_j c_j^\alpha u_j = c_p^\alpha r_p / \sum_j c_j^\alpha r_j = \frac{F c_p^\alpha r_p}{\alpha^\alpha} \quad (3)'$$

$$\text{同様に } \beta \text{ 相については } T_p^\beta = \frac{F c_p^\beta r_p}{\alpha^\beta} \quad (6)''$$

(3)'(3)''(5)'より

$$\frac{F c_p^\alpha r_p}{\alpha^\alpha} - \frac{F c_p^\beta r_p}{\alpha^\beta} = V^{\alpha\beta} (c_p^\alpha - c_p^\beta) F \quad (7)$$

$$\therefore T_p^\alpha (r_p - \sigma^\beta V^{\alpha\beta}) = T_p^\beta (r_p - \sigma^\alpha V^{\alpha\beta}) \quad (8)$$

同様に境界面  $-\beta\tau$  に於ても

$$T_p^\beta (r_p - \sigma^\beta V^{\beta\tau}) = T_p^\tau (r_p - \sigma^\tau V^{\beta\tau}) \quad (8)'$$

(8)(8)'から  $T_p^\beta$  を消去すれば、蛋白イオンについて次式が成立する。

$$T_p^\alpha (r_p - \sigma^\alpha V^{\alpha\beta}) (r_p - \sigma^\beta V^{\beta\tau}) \\ = T_p^\tau (r_p - \sigma^\beta V^{\alpha\beta}) (r_p - \sigma^\tau V^{\beta\tau}) \quad (9)$$

同様に  $\oplus$ イオン及  $\ominus$ イオンに就ても

$$T_+^\alpha (r_+ - \sigma^\alpha V^{\alpha\beta}) (r_+ - \sigma^\beta V^{\beta\tau}) \\ = T_+^\tau (r_+ - \sigma^\beta V^{\alpha\beta}) (r_+ - \sigma^\tau V^{\beta\tau}) \quad (9)'$$

$$T_-^\alpha (r_- - \sigma^\alpha V^{\alpha\beta}) (r_- - \sigma^\beta V^{\beta\tau}) \\ = T_-^\tau (r_- - \sigma^\beta V^{\alpha\beta}) (r_- - \sigma^\tau V^{\beta\tau}) \quad (9)''$$

茲に於て次の二式を考える。

$$\frac{T_p^\alpha}{r_p - y} + \frac{T_+^\alpha}{r_+ - y} + \frac{T_-^\alpha}{r_- - y} = 0 \quad (\text{根: } y, 0) \quad (10)$$

$$\frac{T_p^\tau}{r_p - z} + \frac{T_+^\tau}{r_+ - z} + \frac{T_-^\tau}{r_- - z} = 0 \quad (\text{根: } r_p, 0) \quad (10)'$$

但  $T_p^\tau = 0$

$y=0$ ,  $z(10)$ の根であるので

$$\frac{T_p^\alpha}{r_p} + \frac{T_+^\alpha}{r_+} + \frac{T_-^\alpha}{r_-} = 0 \quad (11)$$

が成立し、一般に輸率の和は1に等しい故、次式が成立する。

$$T_p^\alpha + T_+^\alpha + T_-^\alpha = 1 \quad (12)$$

(10)(11)(12)より  $T_p^\alpha$  を求めれば

$$T_p^\alpha = \frac{r_p (r_p - y)}{(r_p - r_+) (r_p - r_-)} \quad (13)$$

同様にして  $T_i^\tau (i=p, +, -, \tau=\alpha, \tau)$  を求めたものと(9)~(9)''を比較することによつて、(9)~(9)''にあられる  $\sigma V$  が次式であらわされることが判る。

$$\begin{cases} \sigma^\alpha V^{\alpha\beta} = r_p \\ \sigma^\beta V^{\beta\tau} = 0 \end{cases} \quad \begin{cases} \sigma^\beta V^{\alpha\beta} = y \\ \sigma^\tau V^{\beta\tau} = 0 \end{cases} \quad (14)$$

同様に上昇側境界面に就ては(第3圖)

$$\begin{cases} \sigma^\alpha V^{\alpha\beta} = y \\ \sigma^\beta V^{\beta\tau} = 0 \end{cases} \quad \begin{cases} \sigma^\beta V^{\alpha\beta} = r_p \\ \sigma^\beta V^{\beta\tau} = 0 \end{cases} \quad (14)'$$

(14)(14)'より

$$\frac{y}{r_p} = \frac{\sigma(\beta)^\alpha (V^{\alpha\beta})_{asc}}{\sigma(\beta)^\alpha (V^{\alpha\beta})_{desc}} \quad (15)$$

但この分子の  $\sigma^a$  は緩衝液の、分母の  $\sigma^a$  は蛋白液の比傳導度であり、分子の  $V^{ab}$  は上昇側の、分母の  $V^{ab}$  は下降側の境界面の  $\alpha\beta$  移動速度を表わすものであり、 $r_p$ 、 $\sigma_{(b)}^a$ 、 $(V^{ab})_{asc}$ 、 $\sigma_{(p)}^a$ 、 $(V^{ab})_{desc}$  は実験により求め得られる故(15)式より  $y$  を求め得る故之を(13)に代入すれば各イオンの易動度は既知故蛋白の輸率  $T_p^a$  を求め得。茲に於て

- $M_p$  : 蛋白の分子量
- $g_p$  : 蛋白濃度 g/dl
- $l_p$  : 分子當りの荷電 (電子荷電單位)

とすると

$$c_p = (10 \cdot g_p / M_p) \times e_p \quad (16)$$

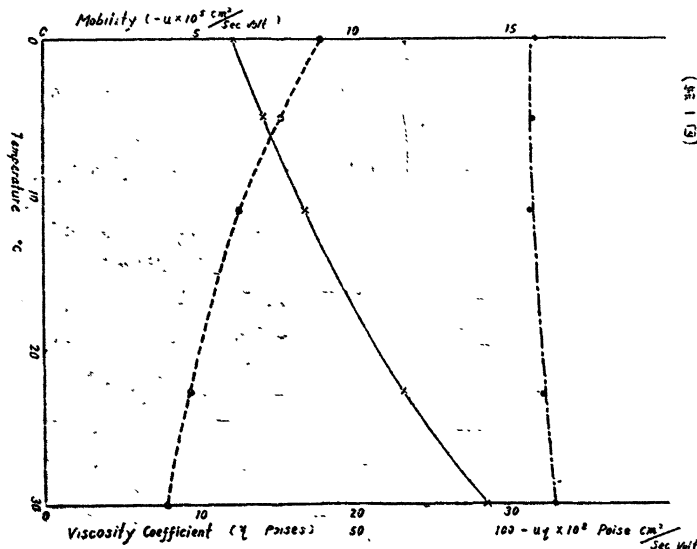
(16), (3)' より

$$T_p^a = \frac{g_p e_p r_p / M_p}{\sigma_{(Total)} \times 1000} F \quad (17)$$

(17)式に於て  $g_p$  として Kjeldahl 氏法により測定した窒素量に係數 6.25 を乗じたものを用い、 $M_p = 69,000$ 、 $\sigma_{Total}$  及び  $V_p$  夫、試料蛋白液の比傳導度と蛋白イオンの易動度測定値、 $T_p^a$  は前述の(13)(15)より求めたものを用いることが出来るので  $e_p$  以外の値は實測し得る故  $e_p$  を計算し得る。

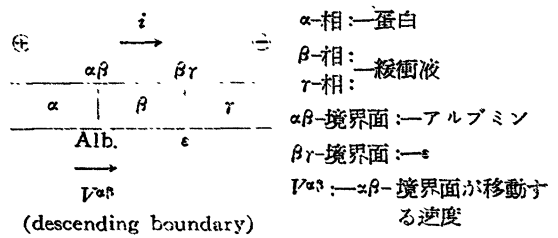
第 1 表

溫度 $t$ °C	電氣易動度 $-u \times 10^5$ cm <sup>2</sup> /sec·volt	粘性係數 $\eta \times 10^3$ poises	$-u\eta \times 10^4$ poises·cm <sup>2</sup> volt·sec	荷電
0.0	6.1 <sub>6</sub>	17.9	110	30.4
5.0	7.0 <sub>9</sub>	15.3	108	29.9
11.0	8.0 <sub>7</sub>	12.6	106	29.4
22.7	11.6 <sub>1</sub>	9.5	110	30.4
30.0	14.3 <sub>2</sub>	5.0	114	31.5

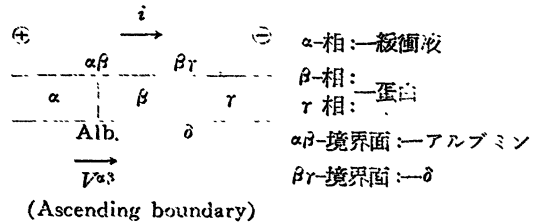


第 1 圖

要約すれば(15)より  $y$  を求め、之を(13)に代入して  $T_p^a$  を求め、最後の(17)によつて荷電を計算し得る。その値を第1表・第1圖に示す。



第 2 圖



第 3 圖

結 論

- (1) 電氣易動度の温度による変化は温度と共に上昇し、それは大體に於て溶媒の粘性係數に逆比例する。
- (2) Henry によれば、荷電は易動度と粘性係數の積に比例すると云う理論式が導かれるが、實驗結果に於ては  $-u \times \eta$  を温度に對してつた曲線は温度軸に對して併行でなく、温度の上界と共に多少上るが、之は蛋白イオンの解離平衡の移動によるものと考えられる。
- (3) Henry の式を用いて算出した蛋白一分子當りの荷電數が、測定曲線より求めたものと比し10~20%低値を示すのに對して、この報告に對した方法で算出した荷電數は測定値よりも10%程度大なる値を與える。この不一致の原因は種々考えられるが、決定的な結論は今の所得られていない。

終りに實驗を指導して下さつた生化學教室兒玉教授、平井博士、島尾氏、並びに校閱を賜つた清水外科清水教授に厚く御禮申上げます。

文 獻

- (1) Tiselius, A: Biochem. J. 31 1464 (1937)
- (2) I. Watanabe: J. phys. & colloid chem. 54, 9. (1950)
- (3) Overbeek: Advances in colloid Science Vol. III 97 (1950)
- (4) 島尾和男: 生物物理化學 1, 4, (1951)

# 健康小兒血漿蛋白質の電気泳動法的研究

## Electrophoretical Study on Bloodplasma of healthy Children

Yuji Hashimoto, Chizuko Nagayoshi, Masakazu Ogata

熊本通信病院小兒科

橋元祐二・永好千鶴子

熊本大學醫學部小兒科教室 (指導教授長野純彦)

緒方昌一

## Electrophoretical Study on Bloodplasma of Healthy Children

Yuji Hashimoto, Chizuko Nagayoshi

(Dept. of Pediatrics, Kumamoto Communication Hospital)

Masakazu Ogata

(Dept. of Pediatrics, Kumamoto Univ., Chief; Prof. S. Nagano)

Electrophoretic analyses on blood plasma of children are so rare in our country that we studied the plasma protein analysis on 22 healthy children, 14 cases in 6 years (group A) and 8 cases in 2-4 years old (group B), with Tiselius' apparatus using Schlieren-diagonal method (Type HT-B Hitachi made).

Pooled plasma were dialyzed for 16-20 hours, before electrophoresis, against 1/20 M phosphate buffer.

Experimental conditions were as follows; electric voltage 90-140 V., electric current 9-10 mA., time of electrophoresis 40-80 minutes, temperature at 16°C., Diagonal-Slit angle 25°.

The results are shown in the next Table.

	Total protein g/dl	Albumin g/dl	Globulin g/dl	Globulin			Fibrinogen g/dl	A/G	α-G/A	β-G/A	γ-G/A	γ-G/T.P.
				α g/dl	β g/dl	γ g/dl						
mean value ( $\bar{x}$ )	7.6	4.01	2.93	(A)0.67 (B)0.83	0.77	1.45	0.57	1.40	(A) 0.17 (B) 0.21	0.19	0.36	0.19
unbiased estimate (u)	0.43	0.53	0.31	(A)0.07 (B)0.12	0.09	0.27	0.08	0.16		0.03	0.06	0.03
confidence interval	7.46 ~7.74	3.79 ~4.23	2.78 ~3.08		0.73 ~0.81	1.32 ~1.58	0.53 ~0.61	1.32 ~1.48		0.18 ~0.20	0.33 ~0.39	0.18 ~0.20

In comparison with those values of the adult which were reported by many authors,

- 1) total protein showed no remarkable difference,
- 2) albumin some decrease, and
- 3) globulin no remarkable difference.
- 3) globulin no remarkable difference.
- 4) α-Globulin was not able to be compared with that of the adult, because there was significant difference between group A and B. This may well be due to difference of time of electrophoresis.
- 5) β-Globulin showed no remarkable difference,
- 6) γ-globulin some increase, and
- 7) fibrinogen no remarkable difference.

### 1. 緒 言

近時電気泳動法による血漿蛋白の研究は極めて活潑に

なつたが、小兒科方面に於ては未だ少い。我々は小兒各種疾患に於ける此の方面の研究を行つてゐるが、今回は基準となるべき健康小兒血漿蛋白質に就いて検査した成

績を報告する。

### 2. 実験方法

- 1) 実験対象は熊本市内の幼稚園の2箇所の園児で、健康と認むべき者夫々14名、8名計22名。採血は午前11時前後に行い、二重蓆液を以て血漿を分離した。
- 2) 電気泳動學會規定に準じて、血漿を M/10 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 9 容, M/10 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 容混合磷酸緩衝液で稀釋し、同緩衝液 2 倍稀釋液 400cc. を外液として、氷室内に於て16時間乃至20時間透析した。
- 3) 泳動は日立製 HT-B 型セリウス電気泳動装置を用いた。
- 4) 操作条件として、水槽温度 16°C 以下、電圧 90 乃至 140V, 電流 9 乃至 10mA, 泳動時間 40 分乃至 80 分, Diagonal-Slit 傾斜角 25°。
- 5) 上行脚 Pattern を 1mm 方眼紙に 6 倍に擴大し方眼数を算えて、各分層の面積を測定し、各分層比率を算出した。
- 6) 蛋白濃度は日立蛋白計<sup>2),3)</sup>によつた。
- 7) 以上の方法によつて、總蛋白量, Albumin, Globulin, α-Glob., β-Glob., Fibrinogen, A/G, α-G/A, β-G/A, γ-G/A, γ-G/T.P. を算出した。

### 3. 実験成績

- 1) A 幼稚園児 14 名に就いての成績は第 1 表の如くで

ある。

- 2) B 幼稚園児 8 名に就いての成績は第 2 表の如くである。

3) 而して第 1 表中の症例 No. 7, 第 2 表中の No. 5, No. 6 は γ-Glob. 値が他に比べて高すぎるので Smirnoff の棄却検定を行つた所棄却すべきものと判断されたので、之等の例では、γ-Glob., A/G, γ-G/A, γ-G/T.P. 値は爾後の算定から除外した。又第 2 表中 No. 7 及び 8 は血漿分離に際して、軽度の溶血、凝固を起し、且その Fibrinogen 値は棄却検定により棄却すべきものと認められたので、之等も除外した。之等除外すべき値は何れもその欄中に・印を附してある。(以下危険率は總て 5%)

4) 斯くして第 1 表, 第 2 表の實測値から各項目毎にその平均 ( $\bar{x}$ ) 並分散不偏推定値 ( $u$ ) を計算すると第 3 表の様になる。但し Glob., γ-Glob., Fib., A/G, γ-G/A, γ-G/T.P. の各欄に於ては上記の理由から除外すべきものがあるので、例数はその欄の中に ( ) を附して記入してある。第 3 表中 A 幼稚園児群と B 幼稚園児群との間に若干の相違が見られるので、果して有意な差であるか否かを、t 検定で検定した所 (各項目共に分散は均一であつた), α-Glob. を除いて他は何れも有意な差は認めない。依つて全例を一括して 22 例に就いて (但 Glob., γ-Glob., A/G, γ-G/A, γ-G/A, γ-G/T.P. は 19 例, Fib. は 20 例) であ及び  $u$  を算出して第 3 表下欄の如き結果を得た。

第 1 表

番 號	性	年 齡	血漿蛋白濃度			電 壓 V	電 流 mA	泳 動 時 間 分	水 槽 温 度 °C	地 蛋 白 g/dl	ア ミ ノ 酸 g/dl	グ リ コ ン g/dl	グ ロ ブ リ ン			フ ノ イ ン ゲ リ ン g/dl	A/G	α-G/A	β-G/A	γ-G/A	γ-G/T.P.	備 考
			原 血 漿 g/dl	稀 釋 血 漿 g/dl	透 析 後 血 漿 g/dl								α	β	γ							
1	♀	6.0	7.0	1.9	1.4	105	9	40	16	7.0 (53.6%)	3.77 (36.2%)	2.55 (11.4%)	0.80 (9.8%)	0.69 (15.0%)	1.06 (10.2%)	0.72 (5.1)	1.48	0.21	0.18	0.28	0.15	
2	♀	5.9	7.8	2.9	1.3	105	9	60	14	7.8 (57.6)	4.47 (37.3)	2.89 (38.7)	0.78 (10.1)	0.92 (11.9)	1.19 (15.3)	0.40 (5.1)	1.55	0.17	0.21	0.27	0.15	
3	♀	6.5	6.9	3.0	2.4	110	9	75	14	6.9 (53.8)	3.69 (38.7)	2.66 (39.3)	0.74 (9.9)	0.68 (9.9)	1.24 (18.0)	0.52 (7.5)	1.39	0.20	0.18	0.34	0.18	
4	♂	6.2	7.4	2.7	1.9	100	9	40	16	7.4 (60.3)	4.47 (34.0)	2.53 (34.0)	0.52 (7.0)	0.61 (8.2)	1.40 (18.8)	0.42 (5.7)	1.77	0.12	0.14	0.31	0.19	
5	♂	6.5	7.1	2.7	2.1	120	9	40	15	7.1 (50.9)	3.60 (42.7)	3.02 (42.7)	0.47 (6.7)	0.68 (9.7)	1.87 (25.4)	0.45 (6.4)	1.19	0.13	0.19	0.52	0.26	
6	♂	5.10	6.9	2.9	1.7	100	9	45	15	6.9 (53.6)	3.69 (39.3)	2.07 (39.3)	0.58 (8.5)	0.63 (9.2)	1.49 (21.6)	0.49 (7.1)	1.37	0.16	0.18	0.40	0.22	
7	♂	6.6	8.3	2.8	1.9	120	9	40	12	8.3 (47.4)	3.91 (41.1)	3.66 (41.1)	0.72 (8.7)	0.70 (8.4)	2.24 (27.0)	0.71 (8.5)	1.08	0.18	0.18	0.57	0.27	
8	♀	5.8	7.9	2.8	1.2	110	9	40	12	7.9 (55.6)	4.38 (36.7)	2.89 (36.7)	0.75 (9.5)	0.65 (8.2)	1.49 (19.0)	0.61 (7.7)	1.52	0.17	0.15	0.31	0.19	
9	♀	6.10	8.3	2.8	1.9	110	9	50	14	8.3 (52.6)	4.35 (39.7)	3.28 (39.7)	0.79 (9.6)	0.74 (8.9)	1.75 (21.2)	0.64 (7.7)	1.33	0.18	0.17	0.40	0.21	
10	♀	6.6	7.7	2.9	1.5	105	9	40	15	7.7 (53.8)	4.15 (39.9)	3.08 (39.9)	0.62 (8.0)	0.74 (10.3)	1.67 (21.6)	0.49 (6.3)	1.35	0.15	0.19	0.40	0.22	
11	♀	6.1	7.5	2.9	1.6	110	9	40	13	7.5 (54.3)	4.08 (37.7)	2.83 (37.7)	0.77 (10.3)	0.73 (9.7)	1.33 (17.7)	0.60 (8.0)	1.44	0.19	0.18	0.33	0.18	
12	♀	6.3	7.3	3.0	1.5	110	9	40	15	7.3 (55.8)	4.07 (37.7)	2.75 (37.7)	0.54 (7.4)	0.91 (12.5)	1.37 (17.8)	0.47 (6.5)	1.48	0.13	0.23	0.32	0.18	
13	♀	5.11	7.2	2.8	1.9	115	9	50	13	7.2 (55.1)	3.98 (37.2)	2.68 (37.2)	0.53 (7.4)	0.70 (9.7)	1.45 (20.1)	0.56 (7.7)	1.49	0.13	0.18	0.36	0.20	
14	♂	5.11	8.0	2.4	1.6	110	9	40	14	8.0 (48.6)	3.89 (44.0)	3.52 (44.0)	0.77 (9.6)	0.93 (11.6)	1.82 (22.8)	0.59 (7.4)	1.11	0.20	2.24	0.47	0.23	

第 2 表

番 號	性	年 齡 月	血液蛋白濃度 g/dl			電 壓 V	電 流 mA	採 動 時 間 分	水 槽 溫 度 c	總 蛋 白 g/dl	ア ミ ノ ア ン g/dl	グ リ コ プ ジ g/dl	グ ロ ブ リ ン			フ ィ ブ リ ン g/dl	A/G	α-G/A	β-G/A	γ-G/A	γ-G/T.P.	備 考
			原 血 漿	稀 釋 血 漿	透 析 後 血 漿								α	β	γ							
1	♀	2.10	7.5	2.6	1.4	140	10	60	100	7.5 (48.6%)	3.65 (42.0%)	3.15 (10.4%)	0.78 (11.1%)	0.83 (20.5%)	.54 (9.4%)	0.70	1.16	0.21	0.23	0.42	0.21	
2	♀	4.1	7.2	3.0	1.0	140	10	60	12	7.2 (50.6)	3.64 (39.9)	2.87 (8.8)	0.63 (11.5)	0.83 (19.6)	1.41 (9.5)	0.69	1.27	0.17	0.23	0.39	0.20	
3	♀	2.10	7.8	2.8	1.9	140	9	60	6	7.8 (55.5)	4.32 (37.2)	2.91 (10.2)	0.80 (12.5)	0.80 (10.7)	1.31 (7.5)	0.57	1.48	0.19	0.19	0.30	0.17	
4	♀	3.0	7.9	3.0	2.3	140	9	60	6	7.9 (57.0)	4.50 (35.5)	2.81 (10.7)	0.99 (12.5)	0.85 (10.7)	0.97 (7.5)	0.59	1.60	0.22	0.19	0.22	0.13	
5	♀	2.5	8.0	2.6	1.6	150	10	60	15	8.0 (44.9)	3.59 (47.6)	3.81 (47.6)	0.97 (12.1)	0.81 (10.1)	2.03 (25.4)	0.60	0.91	0.27	0.23	0.57	0.25	
6	♂	3.4	7.9	2.9	1.8	120	9	60	12	7.9 (45.2)	3.58 (47.1)	3.72 (47.1)	0.81 (10.3)	0.78 (9.9)	2.13 (26.9)	0.60	0.96	0.23	0.22	0.59	0.27	
7	♀	2.4	7.8	2.8	1.8	120	9	60	12	7.8 (53.0)	4.13 (40.9)	3.19 (40.9)	0.82 (10.7)	0.85 (10.9)	1.52 (19.3)	0.48	1.29	0.20	0.21	0.37	0.19	溶血 尿血
8	♀	2.8	8.0	2.2	1.0	120	9	60	9	8.0 (53.3)	4.27 (42.4)	3.39 (42.4)	0.81 (10.1)	0.80 (10.0)	1.78 (22.3)	0.34	1.26	0.19	0.19	0.42	0.22	溶血 尿血

第 3 表

約 種 類	例 数	x 及 u	T.P. g/dl	Alb. g/dl	Glob. g/dl	Glob. g/dl			Fib. g/dl	A/G	α-G/A	β-G/A	γ-G/A	γ-G/T.P.
						α	β	γ						
A	14	x	7.5	4.04	(13) 2.87	0.67	0.74	(13) 1.47	0.55	(13) 1.42	0.17	0.19	(13) 0.37	(13) 0.20
		u	0.44	0.55	(13) 0.34	0.07	0.11	(13) 0.27	0.10	(13) 0.17	0.03	0.03	(13) 0.03	(13) 0.03
B	8	x	7.8	3.96	(6) 3.05	0.83	0.82	(6) 1.42	(6) 0.63	(6) 1.34	0.21	0.21	(6) 0.35	(6) 0.19
		u	0.28	0.38	(6) 0.23	0.12	0.04	(6) 0.27	(6) 0.02	(6) 0.15	0.03	0.02	(6) 0.08	(6) 0.03
A +	22	x	7.6	4.01	(19) 2.93		0.77	(19) 1.45	(20) 0.57	(19) 1.40		0.19	(19) 0.36	(19) 0.19
B		u	0.43	0.50	(19) 0.31		0.09	(19) 0.27	(20) 0.08	(19) 0.16		0.03	(19) 0.05	(19) 0.03

第 4 表

報 告 者	例 数	T.P. g/dl	Alb g/dl	Glob. g/dl	Glob. g/dl			Fib. g/dl	A/G	α-G/A	β-G/A	γ-G/A	γ-G/T.P.	
					α	β	γ							
向井外4名	成人	12	8.44	4.61	3.23	0.69	1.05	1.49	0.61	1.44	0.149	0.227	0.323	0.180
吉澤	同	20	8.0	4.8	3.2	0.6	0.8	1.3	0.5					
福井	同	15	7.65	4.28	2.83	0.61	0.92	1.30	0.54					
三好、土屋	同	19	7.3	4.16	2.48	0.58	0.73	1.17	0.66					
平井	同		6.03 ~6.72	3.32 ~4.64	2.71 ~2.72	0.61 ~0.84	0.78 ~0.81	0.65 ~0.74	0.34 ~0.43					
柳澤	小兒	20	6.66	4.28	2.28									
藤原	同	6	7.53	4.13	3.40	0.85	0.91	1.63						
橋元、永好	同	22	7.6	4.01	2.93	0.67 ~0.83	0.77	1.45	0.57	1.42	0.17	0.19	0.37	0.25

### 4. 總括竝考按

小兒科領域に於ける血漿蛋白の研究は未だ少い。成人に於ては諸氏によつて報告されているが、多少の相違が見受けられる。今諸氏の報告を表示すれば第4表の様になる。

1) 總蛋白量は最も正確なのはキールダール法であろうが、現今日立蛋白計を使用する人が多<sup>3), 3), 4), 5), 6)</sup>い。安價で操作が簡單であり、資料が豊富で済むからであろう。我々もこの理由から日立蛋白計を使用した<sup>7)</sup>が、豫備實驗として、成人血漿14例に就いて、ブルフリッヒ濃浸屈折蛋白計と日立蛋白計を用い、同時に硫酸銅法をも行つて比較したが、前二者の間に有意な差を認めず、硫酸銅法はその値稍低く有意な差を認めた。柳澤は健康小兒30例に就いて Gomall, Bordanill & Daird 法により測定し、平均 6.66 g/dl を得、更に Malloy の 6.5~8.0 g/dl, Harison の 5.6~8.5 g/dl (平均 7.0 g/dl), 藤井の 6.5~8.2 g/dl と比較して日本人は外國人に比し約 1 g/lb. の低値を認め、又 Alb. は稍低く、Glob. は稍高いと述べている。氏の成績と比較して我々は稍高い値 (有意な差) を得た。藤原は日本腦炎治療後の 6 例に就いて測定し 7.53 g/dl (硫酸銅法) を得ているが我々の成績は殆ど一致している。

成人に於ける血漿蛋白量として向井等<sup>5)</sup>は 8.44 g/dl, 吉澤<sup>6)</sup>は 8.0 g/dl, 福井<sup>8)</sup>は 7.65 g/dl, 三好, 土屋<sup>9)</sup>は 7.3 g/dl, 平井<sup>9)</sup>は 6.03~6.72 g/dl を擧げているが、何れも分散不偏推定値が示されていないので比較困難であるが、小兒に比して特に大小は論じられないように思われる。我々が検査した成人14例の成績では  $\bar{x}$  7.97 g/dl,  $n$  0.54<sup>10)</sup> で、成人と小兒との間に有意な差は見出し得なかつた。柳澤の成績との相違は測定方法の差に基づくものと考える。

2) Albumin に就ては柳澤は平均 4.28 g/dl と述べ、我々の成績と有意な差を認めた。藤原は平均 4.13 g/dl と云い、我々の成績と大差ない。成人についての成績は向井等、吉澤、福井、三好等何れも小兒に比して多いように思われる。平井の成績とは一致している。

3) Globulin は柳澤の値 (2.38 g/dl) に比して稍高く有意な差を認めた。藤原の成績は可成り高い値を示しているが、 $\alpha$ -C が多い筈と思われる。著者も述べているように腦炎恢復期である為であろう。成人と比較すると向井等、吉澤の成績は我々の成績より高く、三好等、平井は低く、福井の夫は殆ど一致しているようである。

4)  $\alpha$ -Glob. は A 幼稚菌 (0.67) と B 幼稚菌 (0.83) との間に有意な差を認める。これが何に由來するか判断し難いが、考えられる原因は被験者の年齢的差異、血漿泳動時間の長短及び水槽温度の高低である。この中  $\alpha$ -Glob. のみが年齢的に差異を生ずるものとは考え難く、水槽温度は泳動學會の規定に従えば、20C° 以下ならば熱對流による攪亂は生じないとされているので大した意味はないように考えられる。泳動時間に就ては、小川等<sup>2)</sup>の詳細な基礎的實驗に據れば、各分層中  $\alpha$ -Glob. の分離が最も遅く、Pattern の撮影は泳動時間90分位が最良で、 $\gamma$ -Glob. の分離を必要とする時は120分以上泳動する必要があると云う。我々はA幼稚菌群では40分、B幼稚菌群では60分泳動したが、小川の説に従えば40分程度では恐らく不充分なのであろう。この時間的相違が原因と考えられるが、今後更に研究したいと考えている。若し泳動時間の長短に基因するものとするれば、B幼稚菌群の値が正しいと考えられ、藤原の成績にも一致するが成人に就いての諸家の値は何れも 0.6~0.7 g/dl で、却つて A 幼稚菌の成績が之に近い。とまれ  $\alpha$ -Glob. は今後更に研究を要する。

5)  $\beta$ -Glob. は藤原の小兒の成績、成人に就ての諸家の成績と大差ないようである。

6)  $\alpha$ -Glob. は藤原の腦炎恢復後の値に比べて低い、成人の値より高い値を示しているように思われる。

7) Fibrinogen は成人の夫と殆ど大差を認めない。

第 5 表

	總蛋白量 g/dl	アルブミン g/dl	グロブリン g/dl	グロブリン			A/G	$\alpha$ -G/ A	$\beta$ -G/ A	$\gamma$ -G/ A	F-G/ T.P.	
				$\alpha$	$\beta$	$\gamma$						
平均値 ( $\bar{x}$ )	7.6	4.01	2.92	0.67(A) 0.83(B)	0.77	1.45	0.57	1.40	0.17(A) 0.21(B)	0.19	0.26	0.19
信頼限界	7.46 ~7.74	3.79 ~4.23	2.73 ~3.08	0.73 ~0.81	1.32 ~1.53	0.53 ~0.61	1.32 ~1.48		0.18 ~0.20	0.33 ~0.39	0.18 ~0.20	
分散不偏推定値	0.43	0.50	0.31	0.07(A) 0.12(B)	0.09	0.27	0.08	0.16	0.03	0.06	0.03	

### 5. 結 論

2年乃至4年の健康兒8名 (B群) 並6年前後の健康14名 (A群) 計22名に就いて、血漿蛋白量竝各分層値を測定して次表の如き成績を得た。

此等の値を既に報告せられた諸家の成人に就ての成績と比較するに、

1) 總蛋白量は大差を認め難い。

(32頁へ続く)



# 電気泳動対流 (Electrophoresis-Convection) による $\gamma$ -グロブリンの分離 (豫報)

山口縣立医科大学 醫化学教授

田中一成 Kazushige Tanaka  
財前奉時 Tomoharu Zaizen  
林靖 Yasushi Hayashi

## 1. 装置の試作

電気泳動対流装置 (Electrophoresis-Convection Apparatus) は, Cann, Kirkwood 等が 1949 年 Kirkwood の提案にもとずいて, 始めて製作用化したものである。緒方等の論文にも見られる様に, 原理は次の通りである。即ち垂直な扁平導管でつながれた上下二個の容器 (Top, Bottom) に蛋白溶液をみだし, 導管部に水平電場を作用させて, この方向に蛋白の泳動による濃度差を起させる濃度の異なる部分, 即ち易動度の異なる部分は比重が大となつて次第に下部容器に集る。

我々は Cann, Kirkwood 等の装置に倣して上部容器 50 cc, 下部 25 cc. のものを製作した。材料は新光レイ

ヨン社製の厚さ 4 mm のアクリル樹脂板 (商品名アクリライト) を用い, くり抜いて合板とした。面板 (Face Plate) をとりつけるネジは積層ペークライト板から作った。緩衝液を環流させるためのポンプはアクリル樹脂板及びび管を用いて Luther 型ポンプを作った。このポンプは構造簡單堅固であり, 金属の使用をさげ得る點, 極めて好都合である。(製作の詳細は Cann, Kirkwood 等の原報を参照せられたい。我々の試作の設計圖も貸與いたします。

## 2. $\gamma$ -グロブリンの分離

この装置を用いて  $\gamma$ -グロブリンを分離することは, すでに Cann, Kirkwood 等が試みており, 我が國でも緒方等によつて試みられている。我々はおこの装置による  $\gamma$ -グロブリン分離のくわしい検討をとげていないので, この點に關する本装置の評価を行ひ得ないが, 現在までに我々の得た成績の一例は次の通りであつた。

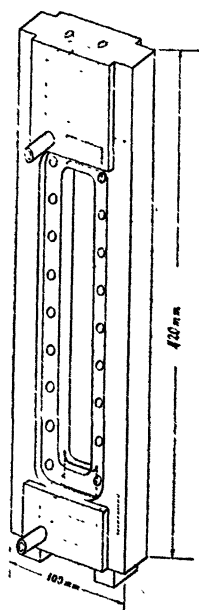
	分層%			
	Al.	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
血清(牛)	61.5	14.6	3.5	16.3
上部	29.0	11.4	9.5	50.1
下部	79.8	16.7	3.1	6.5

この例は電壓勾配 3 volt/cm, pH 6.5, 20 時間處理であつたが, 緒方等の成績より遙かに分離の能率が低い。この例は導管部に張つたセロファン膜の緊張度がやや弱くふくらみを生じていたために, この部分の層流が亂れたものかも知れない。

本研究は文部省科學試驗研究費の補助をあついでなされたものである。記して厚く謝意を表する。

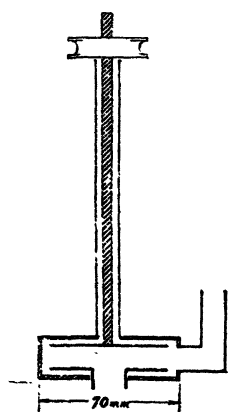
### 文 献

- 1) J.R. Cann, J.G. Kirkwood, R.A. Brown and O.T. Pleiscia, J. Am. Chem. Soc., 71, 1603 (1949)
- 2) J.G. Kirkwood, J. Chem. Phys., 9, 873 (1941)
- 3) 緒方正名, 望月義夫, 生物物理化学, 1, 68 (1951)



第1圖 A

泳動対流装置 (Cell-Block)  
(奥行きは寸法の異にとつた)



第1圖 B

Luther 型ポンプ

# 第一回電氣泳動研究會東部地方會研究發表會

昭和26年6月9日(土)午後1時30分より

東京慈惠會醫科大學 西講堂

## 演題及び講演抄録

演	題	著者	附 属
1)	ナイトローヂェン・マスタードの臨床應用と血漿蛋白の消長	新潟醫大外科	深井博志・赤井貞彦
2)	胃全(亜)摘出後の血漿並に血液所見(第1報)血漿蛋白の消長	新潟醫大外科	赤井貞彦
3)	レ線照射の血漿蛋白に及ぼす影響(第1報)深部治療と血漿蛋白	新潟醫大外科	深井博志
4)	ポリタミン添加による血漿蛋白泳動像の變化に就いて	慶應大學内科	五味二郎・吉澤久雄・本田正節・川名高久(小兒科)
5)	B.C.G. 免疫並びに結核菌免疫家兎の血清蛋白の變動	抗酸菌病研究所	金上晴夫・楠喜代治
6)	結核症に於ける血漿ガンマグロブリンの變動に関する知見補遺	東大沖中内科	土尾豊・原澤道美・幾島明・今村幸夫
7)	泌尿科領域に於ける電氣泳動法の應用(第2報)前立腺手術前後並びに老人の手術侵襲時の血清蛋白の消長	新潟醫大泌尿科	楊世珍・深井博志(外科)
8)	アゴグラムに對する一考案	新潟醫大外科	有賀英之・深井博志・赤井貞彦
9)	デフテリア及び百日咳抗馬血清	東大生化學	沖本京子
10)	保存温度の相違による血清蛋白分層の變化について	慈惠醫大生理	木村武
11)	破傷風免疫の進行に伴う馬血清蛋白の推移について	農林省家畜衛生試験場	田中亨一・佐藤靜夫
12)	鉤虫症の血漿電氣泳動像に於けるフィブリノーゲン降の増大に就いて	東大沖中内科	衣笠惠士・前川正和・桃井宏直・三好和夫
13)	體液蛋白體の研究	千葉醫大石川内科	岩田惠夫・村越康一・藤江寛忠・三須正夫

### (1) ナイトロヂェン・マスタードの臨床應用と血漿蛋白の消長

新潟醫大外科  
赤井貞彦

細網肉腫3例と緑色腫1例に就いて、ナイトロヂェン・マスタード (tris (β-chloro-ethyl) amine hydrochloride) 療法を行い、その前後に血漿蛋白を Tiselius の電氣泳動法により観察した。

細網肉腫の中2例は一ヶ月前に N.M.注射及びレントゲン照射を受けており、再發を起したもので、その中一例は一ヶ月前の注射時に多少症状の改善を見、他の一例は無効であつたが、今回の注射時は前者計 20 mg、後者計 10 mg 投與したが何れも効果はなかつた。泳動像では、前者は Alb, β, 正常値, α, φ, 増加, γ は正常値以下であり、後者は Alb. 低値, β 正常値, α 及び γ は増加しておつた。N.M. 投與後もこの分層比には著明の變動はなかつた。

第3例の細網肉腫は初めて N.M.投與を受けたのであるが、20 mg 投與後には右側頸部腫脹と脾腫は軽小軟化した。白血球は 12000 より 7500 に減少し自覺症状好轉した。Alb. は終始 40% より 45% の間にあり、α は漸増し、γ は 20% より 15% に漸減、φ は變動なく、β は 22% の高値を維持した。

緑色腫の2歳小兒では X 線照射 6000 r と、N.M. 32 mg 注射した所症状は非常に輕快、白血球は 20000 より

3900 に下落、この間 Alb の増加傾向、α の増加、φ の増加、β 變化なし、γ の 32% の異常高値より 25% に減少。白血球數再び 20000 に増加した後も γ は更に 19% に減少した。

即ち東大三好等の言ひ如く、細網肉腫には Alb. の低下と γ の増加が認められ、その一例においては β の高位があつた。N.M.の効果について Gjessing 及び Chamisin 等の言ひ Alb. 低下と α 増加は、この症例について、α の増加傾向は認められたが、Alb. 低下は判然せず、むしろ γ の低下が認められている。しかし、N.M. 無効の時はこの變動は認められない。

### (3) レ線照射の血漿蛋白に及ぼす影響

第一報 深部治療と血漿蛋白

新潟大學醫學部外科教室(主任 中田藤雄教授)

深井博志

(研究目標)

生體に<sup>32</sup>P-レントゲン線を作用せしめた場合の血漿蛋白質の變化を究明せんとす。

(實驗材料並に實驗方法)

手術不能子宮頸部癌患者及び手術せる乳癌患者でレ線深部治療を施行せる者。泳動法は本會の規定に従ひ推計學的考察を加ふる。

(實驗成績)

1. 手術不能子宮頸部癌では Alb 分層は健康人に比

し意義のある減少を示し、Glob. 分層では、 $\alpha$ -Glob. は軽度の減少、 $\beta$ 、 $\gamma$ -Glob. は増加するが、著明なのは Fibrinogen の増加である。

2. 手術せる乳癌患者の血漿蛋白各分層が略々正常値を保っているのは、癌の activity が子宮癌の場合より遙かに弱い爲であろうと考えられる。

3. レ線深部治療を施行せる時、子宮癌も乳癌患者に略々似た蛋白分層の変動を示す。

Alb. 分層：僅かではあるが増加の傾向が見られる。

$\alpha$ -Glob.：影響を受けることは少いが強いて変動を求るなら減少の傾向あり。

$\beta$ -Glob.：著明な変動はないが増減の動搖が見られたのは採血時間に關係するが。

Fibrinogen：変動は著明ではないが、僅かに増加の傾向がある。

$\gamma$ -Glob.：減少の傾向が見られ、照射量が多ければ多い程減少の傾向が強い。

### (4) ポリタミン添加による血漿蛋白泳動圖の變化に就て

慶應大學醫學部内科

五 味 二 郎  
吉 澤 久 雄  
本 田 正 節

慶應大學醫學部小兒科

一 川 名 嵩 久

諸種アミノ酸製劑が投與された際における蛋白源としての利用過程副作用の發現過程を解明する手懸りを得るために、人血漿にアミノ酸製劑溶液を添加した場合の泳動圖及び血漿蛋白質各粒子の易動度の變化を調べた。實驗方法は同一人血漿に種々なる割合でポリタミン、メチオニン溶液を添加して泳動し同じ混合液を透析後泳動した。又別に食鹽水のみ添加及び pH の異なる緩衝液を添加して泳動した。以上の實驗より (1) ポリタミン、メチオニンなどアミノ酸溶液を人血漿に添加すると  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\phi$  に相當する峰が大きくなって  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\phi$  に相當する峰が小さくなる。(2) 以上の變化は透析することにより常失する可逆的變化である。(3) 1 の變化はアミノ酸溶液の異なる pH 及び鹽類によつて影響される所があるからその程度が 1 の場合程でないからそれのみによるものではない。或はアミノ酸そのもの影響(相互作用)もあると推察するが、今後の研究により解明し度い。

### (5) BCG 免疫並びに結核菌感染に依る家兎血清蛋白の變動

抗酸内研 金山 晴 夫

家兎を用いて次の目的即ち (1) BCG を以て家兎を免疫した場合その血清蛋白分層は如何なる變動を示すか。(2) 結核菌を以て感染した場合如何なる變動を示し、BCG 免疫の場合と差があるか。(3)  $\gamma$ -Glob. の變動とツベルクリンアレルギーとの間に如何なる關係があるか、に就いて實驗を行い興味ある成績を得た。BCG 接種は 20 mg 宛隔日 3 回合計 60 mg 皮下接種し人型菌は 1/100 mg を耳靜脈内に注射した。家兎は BCG 接種群、BCG 接種後人型菌注射群、無前處置人型菌注射群、對照の

4 群に分け之等の間に次の結論を得た。

(1) BCG 接種群に於ては、BCG 接種後 1 週目に Alb +  $\alpha$ -Glob. の著明な減少と  $\gamma$ -Glob. の著明な増加が認められ、之等の變化は 4 週目に元に復し後著明な變動を示さずして 12 週まで経過する。(2) 無前處置人型菌注射群に於ては人型菌注射後病變の進行と共に Alb +  $\alpha$ -Glob. の減少及び  $\gamma$ -Glob. の増加が次第に著明となりその経過に於て BCG 接種群と著明な差異が認められた。(3) BCG 接種後人型菌注射群においては接種後の経過は BCG 接種後と同じで人型菌注射後 1 週目に Alb +  $\alpha$ -Glob. の軽度の減少と  $\gamma$ -Glob. の軽度の増加が見られるがすぐ元に復しその後著明な變動を示さず無前處置人型菌注射群とは明らかに相異なる経過を示した。(4)  $\beta$ -Glob. は BCG 接種群において軽度の増加を示したが他の群では著明な變動を示さなかつた。(5) 血清總蛋白量は BCG 接種後一週目に軽度の増加が見られ、無前處置人型菌注射群では注射後次第に増加する傾向が見られた。(6) 「ツ」アレルギーと  $\gamma$ -Glob. との關係に就いては結論を下し得なかつた。

### (6) 結核症に於ける血漿ガンマグロブリンの變動に関する知見補遺

大阪中内科

土 屋 豊・原 澤 道 美  
幾 島 明・今 村 幸 夫

(1) 吾々は 31 例の肺結核症を初感染、輕症、中等症、重症肺結核症 4 群に分けてその血漿蛋白質の電気泳動法に依る觀察を行つた。(以下吾々は總て電気泳動研究會規定に従つて實驗を行つた) 初感染では  $\gamma$ -G の増加が見られるのに、輕症では  $\gamma$ -G の増加はない。中等症重症と病機の進展と共に  $\gamma$ -G は増加し AI は減少する。

(2) 肋膜炎では  $\gamma$ -G が増加し、AI が減少している。

(3) 頸部淋巴腺結核 5 例に就ては、之等は胸部レ線像では殆ど變化を認めないが、全例において  $\gamma$ -G が増加している。淋巴腺結核が比較的肺に合併症を來す事の少ない事と、 $\gamma$ -G の増大している事の間に関係があるかも知れぬと考えている。

(4) BCG を 0.04 mg 接種した 4 例中、2 例がツ反應陽轉と共に  $\gamma$ -G の増加を見た。1 例はツ反應は陽轉したが血漿に變化は見られなかつた。

以上  $\gamma$ -G の増加が肺結核症の進展と略平行する事を認めたが特に、初感染時、及び之に續發する肋膜炎アレルギーと考えられる特發性肋膜炎、或は又免疫力が高いとされている淋巴腺結核、BCG 接種に依り免疫力が發生したと考えられる時期に  $\gamma$ -G の増加を見る事は、結核アレルギー及び免疫即結核抗原抗体反應が  $\gamma$ -G の變動と密接な關係にあるものと考えられる。

(5) 上述の考えに依りツ反應陽性者 4 例に 100 倍稀釋舊ツベルクリン液を 0.5~1.0 cc 皮下注射し、ツベルクリン病巢反應を起さした。對照としてツ反應陰性者 4 例に同様處置を施したが反應は無かつた。病巢反應を呈した陽性者群では對照に比し有意の  $\gamma$ -G の増大を見た。之は  $\gamma$ -G がツベルクリン病巢反應時に増大した事で引いては結核の抗原抗体反應と何等かの關係にある事を推測せしめるものである。

## (7) 泌尿科領域に於ける電気泳動法の應用

第二報 前立腺手術前後の血漿蛋白の消長並に老人の手術侵襲時の血漿蛋白の消長

新潟大學醫學部外科教室 (主任 中田瑞穂教授)  
深井博志  
新潟大學醫學部泌尿科教室 (主任 楠敦教授)  
楊世珍

### (研究目標)

老人性疾患である前立腺肥大症の剔除術前後の血漿蛋白の消長を觀察し、合せて老人の手術侵襲時の血漿蛋白分層の反應態度の青壯年者と如何に異なるかを究明せんとす。

### (實驗材料並に實驗方法)

平均年齢 66 歳の前立腺肥大症の患者で恥骨後前立腺剔除術を施行せるもの。泳動法は本會の規定に従い、推計學的考案を加う。

### (實驗成績)

1) 術前値は Alb 分層は健康人平均値より幾分か低値を示すが Glob. 分層では α-Glob. は正常値にあり β-Glob. は多少増加し、Fibrinogen は有意の増加を、γ-Glob. は低値を示した。前立腺肥大症を單なる老人の退行現象と見做すことが許されれば、以上の値は老年者の正常血漿蛋白分層値と考えられる。

### 2) 術後の蛋白分層の消長

Alb: 4 日目に術後の最低値を示し、7 日、14 日とは増加の傾向あるも、術前値より遙かに低く恢復は最も遅い。

α-Glob.: 4 日目に有意の最大値を示すが 2 週目には早くも恢復して術前値となる。

β-Glob.: 4 日目に減少、7 日目に増加して 2 週目は術前値に戻るが著變はない。

Fibrinogen: 4 日目に増加して最高値となり、漸減して 2 週目に術前値に戻る。

γ-Glob.: 4 日目に僅かの増加、7 日目は 4 日目と大差なく、2 週目には急に増加する。

### 3) 手術侵襲の老年者血漿蛋白に及ぼす影響

手術侵襲に應じて血漿蛋白が増減する態度は老年者でも青壯年者でも略同様であるが、γ-Glob. の一過性の減少が認められない點で、青壯年者のそれと趣を異にしているのは注目すべきことであろう。

## (8) AGOGRAM に對する一考案

新潟大學醫學部外科教室 (主任 中田瑞穂教授)  
有賀英之・深井博志・赤井貞彦

電気泳動法により得た數値を表はす一つの方法として東北大本田氏等は血液のエルモフグラムからヒントを得て、血清蛋白について一表現法を發表されたが、我々はこの本田氏等の所謂アゴグラムなるものについて検討し、次の様な理由により訂正を試み、且つ個々の症例並に手術例を経過を追つて觀察し良い結果を得たので、例を示して我々の方法を述べた。

### (訂正の理由)

1. Fibrinogen の變亂は各疾患に於て著明に見られるものなる故、血清でなしに血漿について觀察すべきである。

2. 數値の表現は泳動法それ自身の持つ特異性から血漿蛋白の絶対値でなしに百分率で表現されるべきである。

3. 各蛋白分層値の増減程度を比較するのが Agogr-

am の本質なる故、且又増減程度は各分層により異なる故に増減百分率を健康値乃至對照値より求めるのが妥當である。

### (表現方法)

圖の如く横に 5 本の細い線を引き、上より Alb, α-Glob, β-Glob, Fibrinogen, γ-Glob とし中央よりやや左寄りにこれと直交する大い縦の線を畫き、その交點を正常値(基準)と定め、各分層の百分率の増減率が減少(負)である場合には太い縦の線の左に、増加(正)を見た時には右に數値を一定間隔で點を取り、これ等の點を結べば増減率の Agogram を得る。

増減率は次の式で表はされる。

$$\frac{a-b}{a} \times 100 = \text{増減率}$$

a = 正常値又は對照値

b = 標本値

## (9) チフテリア及百日咳抗馬血清の分割

東大生化学

沖本京子

チフテリア及百日咳抗馬血清を硫酸ソーダによる鹽析法で分割し、各分割を電気泳動により分析すると、チフテリアに於ては、抗體成分は T 峰に含まれている事が證明され、且 16% の上清で抗體價が極めて低いので、T 成分中でも、γ-Glob. に含まれている事が推定される。百日咳抗血清では、γ-Glob. に抗體成分が證明される。故にチフテリア抗血清では 12% から 16% の間の沈澱を、百日咳抗血清では 14% 迄の沈澱を得れば、抗體成分の精製之目的を達する。事實この分割を用ひ、臨床上有効である。

抗菌素と考へられるチフテリア抗體は γ<sub>1</sub> の位置に出現し、百日咳の場合の細菌抗原に對する凝集素は、γ<sub>2</sub> の位置に現れ、此所に抗原性性質によつて、抗體の溶解度及易動度等の物理化學的性質が異なる事が觀察されるのは興味深い事である。

## (10) 保存温度の相違による血清蛋白分層の變化に就て

慈恵醫大生理 (杉本研究室)

大村武

健康人血清を共検試験管に入れ 4°C, 30°C, 50°C に 2 日、4 日、7 日間保存したもの、温湯中にて 58°C 30 分間、65°C 10 分間加温したもの及び、氷結 5 日間ものを資料とした。尚、50°C 以上高温のときは 5% に葡萄糖を加へ比較した。以上の操作は無菌的に行ひ、1/10M 磷酸緩衝液で 3~4 倍に稀釋し、1 立の 1/20M 磷酸緩衝液を外液として、氷室中に 24 時間透析した。泳動中低温槽の温度は 8~12°C、電流は 15 mA、電壓は 120 V 前後で、泳動 1.5 時間の泳動圖を計劃に用いた。

4°C 保存の時は各分層の差が 1~2% の實驗誤差範圍内でも、變化しないものと考えられる。又上昇下降何れにも得られた値は略等しいが、δ 境界は境界より降り難い故に下降側による値の方が確實で、以下下降側値による。

30°C 保存の時は、Alb. 及び γ-glob. は殆んど變化なく、α-Glob. 及び β-Glob. は夫々漸次増加減少するが 2 日後では變化が著明でない。

50°C 保存の時は、Alb. 及び γ-Glob. は單に減少するが、α-Glob. 及び β-Glob. は夫々増加減少し、2 日後

には明瞭に増減している。  
58°C 30分間加温の時は Alb. 及び α-Glob. は 40~45% に夫々減少増加し、β-Glob. 及び γ-Glob. は僅に減少している。

65°C 10分間加温の時は、Alb. に相當する峰は 12~15% で、α-Glob. に相當する峰は 70% 内外に達し、β-Glob. に相當する峰は 3% γ-Glob. に相當する峰は 10% 内外に減少している。

糖を加へた時と然らざる時とを比較するに、變化の程度は殆んど同程度で、糖による影響は考えられない。

氷結 5 日間後では各分層に變化が認められない。相對的移動度は、何れの場合に於ても正常血清と等しく、下降側 β-Glob. は 52~45 で上昇側のそれより遅く、

細菌的に處理された血清は、保存温度 4°C では 1 週間、30°C では 24 時間後に於ても各分層の百分率には變化がないものと思われる。50°C 以下の保存温度では主として α-Glob. 及び β-Glob. に變化が認められ、それ以上高温では Alb. 及び γ-Glob. にも變化が現われる。

### (11) 破傷風免疫の進行に伴う馬血清蛋白の推移に就いて

農林省家畜衛生試験場

田中 享一・佐藤 静夫

健素馬 2 頭 (43 號, 44 號) に強度な破傷風免疫を行い、その免疫進行中に於ける血清蛋白の推移を Tiselius の電気泳動装置を用いて検査し、抗毒素價と血清蛋白成分との關係について検討した。尙、電気泳動法は本研究會規定の方法に基づき、各蛋白成分の%は上昇値と下降値との平均値を示した。又抗毒素價の決定は國際單位測定法に依つた。

(1) 免疫経過の初期並中期の血清においては抗毒素價の増加は著明でなく (43 號—100 I.A.E., 44 號—300 I.A.E.), この時期における血清蛋白の變化も認むべきものはなかつた。

(2) 免疫経過の末期並免疫完成後に於ては抗毒素價は著しく増加し (免疫完成後: 43 號—800 I.A.E., 44 號—2000 I.A.E.), この時期においては Al. が著しく減少し β-Glob. が著しく増加した (43 號—免疫開始前: Al. 42%, β-Glob. 20% であつたものが免疫完成後には Al. 30%, β-Glob. 31%, 44 號—免疫開始前: Al. 46%, β-Glob. 17%, 免疫完成後 Al. 28%, β-Glob. 35%)。

(3) 免疫の経過中並その完成後においても α-Glob. 並 γ-Glob. には殆んど變化が認められなかつた。

以上の如く抗毒素價が著しく増加した血清でない β-Glob. の増加は認められないことを知つた。又 β-Glob. と共に抗毒素價と密接な關係にあると云われている γ-Glob. の増加が殆んど認められなかつたことについては今後の實驗を待つて考察したいと考えている。

### (12) 鉤虫症の血漿電気泳動像に於けるフィブリノーゲン峰の増大に就いて

東大沖中内科

衣笠 惠士・前川 正  
桃井 宏直・三好 和夫

演者達は合併症の無い鉤虫症 12 例に就き血漿蛋白像を泳動像に分析し、次の如き結果を得た。Alb 1 例の例外の他は相當度の減少を見、平均値は對照群の 57.0 %

に對して 45.7% である。α-β-Glob. 輕度の増加の傾向を示すが有意の差を認めない。φ は最著明な變化を示し、最高 28.0% 最低 10.1% 平均値 16.3% で全例々外無しに増加している。γ-Gl. 總蛋白量は何れも正常値の範囲内にある。Alb. の減少は一般の貧血時に屢々見られる現象であるが、φ の著明な増加は餘り類例を見ないので、我々の經驗では急性出血性貧血の場合に増加の傾向を認めたと過ぎない。

次に驅虫及び治療により全快した後の蛋白像を示すと Alb. φ 共に正常化し、最著明に φ の増加した第一例では 28% より 7% に、第二例では 15% より 8% に減少している。φ の増加の程度と、貧血、好酸球増加の程度、寄生虫體の數、血沈値等との間には併行關係は認められない。

次に泳動法による分析と共に血漿に CaCl<sub>2</sub> を加へて析出するフィブリノーゲン量を Kjeldahl 法で化學的に測定すると次の如くなる。(單位 gm%)

	化學的測定値	泳動法的測定値
正常群	0.2~0.49 (0.26)	0.52~0.96 (0.69)
鉤虫症	0.34~0.40 (0.30)	0.83~1.63 (1.16)

即ち泳動法的に認められる φ の増加は眞のフィブリノーゲン量の増加によるものではなく、フィブリノーゲン以外の蛋白質の増加によるものである。又 φ の絶対量の増加の著しかった 3 例においては血清の泳動圖に於て β と γ の間に獨立した峰を認める事が出来た。

以上の事實より我々は鉤虫症の血漿蛋白像に於て例外無しに φ の増加している事を認め、且その本態が眞のフィブリノーゲンの増加によるもので無く、Deutsch 等の云う γ-gl. 又はそれに近似の蛋白質の増加によるものである事を推測している。

### (13) 體液蛋白體の研究

千葉大學醫學部石川内科 (主任: 石川教授)

岩田 憲夫・村越 康一  
藤江 寛忠・三須 正夫

滲濾出液を認めた種々な内科的疾患 60 例 (結核性 25, 氣胸性 10, 癌性 8, 心 6, 肝 7, 腎 4) に於て滲濾出液と血漿とを同時採取観察し、又心電圖所見と血漿蛋白像との關係を見た。

1. 總蛋白濃度, Alb 濃度, 總 Glob. 濃度, γ-glob. 濃度, フィブリノーゲン濃度は同一血漿濃度に對して胸腔滲濾出液濃度は肺病性の夫が最大で氣胸性, 癌性之に次ぎ、心肝腎疾患時の所産滲濾出液の夫が減少である。滲濾出液の場合には總蛋白濃度, 總 Glob. 濃度, γ-Glob. 濃度, フィブリノーゲン濃度に於て、濾出液の場合には Alb 濃度, γ-Glob 濃度に於て血漿の夫等と密接に相關している。血漿濃度を x, 滲濾出液濃度を y で表わせば夫々次の標本回線を得た。(r: 相關係數 N: 標本の大きさ)

總蛋白濃度	
結核性: $y = 2.2 + 0.35x$	$r = 0.596$
氣胸性: $y = -0.49 + 0.59x$	$r = 0.656$
Alb 濃度	
一濾出液: $y = -0.74 + 0.5x$	$r = 0.845$
總 Glob. 濃度	
結核性: $y = 0.96 + 0.37x$	$r = 0.628$
氣胸性: $y = -0.21 + 0.51x$	$r = 0.655$
γ-Glob. 濃度	
結核性: $y = -0.09 + 0.71x$	$r = 0.826$
氣胸性: $y = -0.01 + 0.51x$	$r = 0.818$
濾出液: $y = 0.21 + 0.14x$	$r = 0.484$

(39頁へ續く)

## 第二回電氣泳動研究會總會及研究發表會

昭和26年11月11日(日)午前10時

於 大阪大學微生物病研究所講堂(大阪市北區堂島西町7)

### 演題及び講演抄録

演 題	所 屬	著 者
1 アレルギー免疫抗體に關する實驗的研究	京大 醫	荒木 仁 他4名
2 $\gamma$ -グロブリン分割及び家兎抗體の研究	岡大 醫	緒方 益 他3名
3 血清高田反應と血清蛋白分層の關係について	徳大 醫	吉田 長之 他1名
4 癌患者血清蛋白について	阪大 微 研	山口 壽 他5名
5 子宮癌患者に於ける血漿蛋白について	九大 醫	鍋倉 正夫 他1名
6 妊、産褥の血漿蛋白の電氣泳動法による研究	名大 醫	金子 光
7 チゼリウス装置による電極界面の觀察	東工大	水野 滋 他2名
8 血清アルブミン易動度荷電の溫度變化	東大 醫	四方 淳一
9 正常人血清蛋白分層の日差について	慈大	武藤 晃 他2名
10 運動負荷による血漿及び血清蛋白分層の變化について	慈大	齋藤 盛夫 他1名
11 プラズマフェレシス及び瀉血による血漿蛋白分層像の變化	名大 醫	向井 壽徳 他6名
12 實驗的家兎肋膜炎の研究	阪大 微 研	山口 壽 他3名
13 内科的疾患に於ける體液蛋白體の電氣泳動法的研究	千醫大	石川 憲夫 他5名
14 鉛作業員の血液學的研究	名大 醫	山田 弘三 他3名
15 蛋白尿の電氣泳動分析について	名大 環 研	村 瀬 守男
16 リンパ腺蛋白の抽出について	山口 醫大	中村 正二郎 他1名
17 牛抽出セファリンコレステロール絮状反應と電氣泳動像	阪大 醫	木谷 威男 他3名
18 亞急性細菌性心内膜炎患者の血漿蛋白像	慶大 醫	吉澤 久雄 他1名
19 催眠劑中毒時に於ける血清蛋白分割の變動と之が抑制に關する實驗的研究	慶大 醫	上野 佐 他1名
20 Vole Bacillus と BCG の免疫力に關する電氣泳動法による比較研究	名大 豫防 醫	岡田 博 他2名
21 喉頭癌患者の血清蛋白について	阪大 醫	吉田 謙一郎 他4名

### 第2回電氣泳動研究會總會議事の報告

1 特別會員の件、京大農學部近藤金助教授、阪大理學部赤堀二郎教授の二氏は、第一回總會で推せんされたにも不拘、事務上の手落ちの爲生物物理化學誌の名簿に洩れていたが兩氏の特別會員なる事を確認した。

新しく千葉醫大内科、石川憲夫教授を特別會員に推せんした。

2 西日本支部承認の件、九州及び中國地區西部の會員で組織した西日本支部を承認した。これに伴い九大第一外科山崎慶一郎氏が委員に選任された。

3 總會の時期の件、西日本支部から、總會を春期に、地方會を秋期にされたいとの提議に對し、原則と

して現行のまま、秋期を總會とするが、日本醫學會總會開催の年度のみ、之と同時に春期に總會を開くと云う案が提出され、この案が可決された。

4 委員名簿に京大農學部千葉眞雄氏が洩れているがこれは事務上の誤りで、同氏の委員なる事を確認した。

生物物理化學誌表紙の醫化學技術研究誌は誤りにつき、第二號から削除す。

5 會計年度について、會計期の上、下兩半期を廢じて適年一期とし、總會の際會費一年分を徴收することとした。

# (1) アレルギー免疫抗體に關する實驗的研究 (第3報)

京都大學醫學部 前川内科  
荒木 仁・中澤 輝郎  
岡田 安弘・加藤 治秀  
和智 浩明

前川内科教室に於ける細胞磷脂質を以てする一連の組  
アレルギーの實驗家兔血清 145 例を電氣泳動した。對  
健康家兔血清は 53 例、その中  $\alpha$  の出現しないもの 40 例  
その平均は總蛋白質量 6.20g/dl, A +  $\alpha$  68.2% (4.23g/dl),  
16.6% (1.03g/dl),  $\gamma$  15.1% (0.94g/dl),  $\alpha$  の出現した  
もの 13 例その平均は總蛋白質量 6.30g/dl, A 60.0% (3.79  
dl),  $\alpha$  10.3% (0.64g/dl),  $\beta$  15.1% (0.94g/dl),  $\gamma$  14.5  
% (0.93g/dl), A/G 1.51。

心筋、腹膜、赤血球、淋巴腺、脾臓、腰等の細胞磷脂  
質に異種蛋白として牛血清又は卵アルブミンを附加して  
免疫を感作すれば、夫々の臓器には強度のアレルギー性  
炎症を惹起するが、血清中の  $\gamma$  の増加度は異種蛋白單獨  
感作の場合より遙かに少い。即ち細胞磷脂質を用いる事  
によりアレルギー現象は著明に惹起されるが免疫現象は  
著る抑制される。そしてアレルギー抗體は組織結合性で  
あると言ふ概念を益々深くする事が出来、組織結合性抗  
體を證明しようとして現在までに赤血球系を泳動してそ  
のらしきものを證明した。

# (2) $\gamma$ -Globulin 分割と家兔抗體の研究

岡山大學衛生學教室  
緒方 益雄・緒方 正名  
早月 義夫・奥田 久徳

I  $\gamma$ -Globulin の分割に付て  
a) 硫酸安門分割  
蛋白質溶液 3.5% pH 6 で Cohn の Rotating membrane  
method に依り 80% 程度の  $\gamma$ -Globulin は容易に分つ  
事が出来る。

b) Cohn 分割  
micro 型を用いた Convective electrophoresis に依  
り 93% 程度の  $\gamma$  を取出し得る。

c) Convective electrophoresis 連續に依り 90% 程度  
の  $\gamma$  を取り出し得る。高濃度長期泳動では  $\gamma$ -Glob. は單  
一峰と思われた例があつた。

II Heidelberger Kabat の方法により卵白アルブミン  
結晶 (三回  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) を用いて家兔抗體量の定量的沈降  
特性を研究した。沈降抗體は抗原に對し拋物線となり  
二次方程式となり最大沈降量の多い抗體は  $\gamma$  の高  
傾向にある。最大沈降量は免疫で異り 0.56~1.7mg の  
差を左右し殘存  $\gamma$  と原  $\gamma$  との比は 7.5~2.10% の間  
にあつた。沈降物の溶解度の最少の點に於て  $\gamma$ -Glob.  
の殘存する事實は家兔抗體中には反應力の弱い (0 を含  
む)  $\gamma$ -Globulin が存在すると思われる。

III 單分子層抗原抗體反應に付いて  
a) 補體吸着を認め得る。  
Heidelberger の定量的沈降反應の結果と本質的に殆  
ど等しい。  
b) Hefe Coli 多種類の特異性を認めた。又サンドイ  
ッチ効果も認めた。

c) Forshmann の protein lipid 膜の特異性を研究  
中である。Protein 膜には特異性を明に認め得る。

# (3) 血清高田反應と血清蛋白分層の關係に就いて

徳島大學醫學部細菌學教室  
吉田 長之・佐友 健治

電氣泳動法により Abl.; Alb. +  $\alpha$ -G.; Alb. +  $\alpha$ -G +  $\beta$ -  
G.;  $\alpha$  +  $\beta$  +  $\gamma$ -G.;  $\beta$  +  $\gamma$ -G.;  $\gamma$ -G. の各分割をピペットに  
て取り出し高田反應を檢した所、Alb. の存在分割では沈  
澱を生じないが  $\gamma$ -G. の存在分割では著明な沈澱を生ず  
る。各分割は濃度の濃い方から薄い方に向つて紅より藤  
色に移行する。

$\gamma$ -G. 存在分割では液は無色透明であり、沈澱に著色  
する。又  $\gamma$ -G. 存在分割に Alb. 存在分割を加えると後  
者の濃度が高い程沈澱は出来にくい。即ち Alb. は保護  
膠質的に働く。

12% 芒硝鹽析上清を 20% 芒硝濃度で鹽析した沈澱部の  
生理的食鹽水溶液は Alb. 少く  $\alpha$ -G.  $\beta$ -G. 多く  $\gamma$ -G.  
の少い分割は高田反應陰性であり、12% 芒硝沈澱は大部  
 $\gamma$ -G. からなるが、之に上の分割を加えると多く加える程  
沈澱を生じ難くなる。又  $\alpha$ -G.  $\beta$ -G. 組成が大で Alb.  
及び  $\gamma$ -G. 少いネフローゼ血清も高田反應が陽性に出難  
い。この事實より  $\alpha$ -G. +  $\beta$ -G. は保護膠質的に働くもの  
と思われる。但し  $\gamma$ -G. 及び  $\beta$ -G. のいづれが保護膠質  
的に働くかは實驗繼續の豫定。

[追加]

兵庫赤十字醫院大學第一内科  
藤山 一男・仁木 康夫

余等も血清高田反應と  $\gamma$ -Globulin との間に密接なる  
關係のある事を報告して來たが、實に此關係を確認せん  
が爲に次の如き實驗を行つた。即ち、血清を生理的食鹽  
水にて 4 倍に稀釋し、其 4.0c.c. に 0.2% 炭酸ソーダ溶液  
1.0c.c. を加えたものと、更に之に 0.25% 昇朮水溶液を加  
え生じた沈澱を遠心除去したものとに就て電氣泳動分析  
を行つて比較検討した。其結果昇朮によつて沈澱除去さ  
れたものは先づ  $\gamma$ -Globulin で昇朮量を増加せしめると  
 $\beta$ -Globulin 更に  $\alpha$ -Globulin の一部も除去される事が  
明かとなつた。尚次に昇朮量を一定にして炭酸ソーダ濃  
度を換へ同様の實驗を行つた所、ソーダ濃度を低下せし  
める程  $\gamma$ -Globulin の外に  $\beta$ -Globulin 或は  $\alpha$ -Globulin  
も昇朮によつて沈澱除去される事も明かとなつた。

以上の實驗成績より血清高田反應は先づ血清  $\gamma$ -Glob  
ulin と、次で  $\beta$ -Globulin 或は時に  $\alpha$ -Globulin と密  
接な關係にある事が容易に推測し得られる所である。

# (4) 癌患者血清蛋白に就て

大阪大學衛生病研究所附屬病院内科

山口 壽・西木 實  
梶田 吉房・市原 玄  
田中 勇一・寺下 裕治

癌患者血清の構成蛋白の分析、又私共が併用しつゝ  
ある Radium 療法に依る此等要素の變化を觀察する事  
に依つて其の経過乃至は豫後を決定する上に何等かの手  
がかりが得られはしないかとの希望を持つて調査を行ひ  
次の成績を得た。

- 1) 癌患者血清總蛋白量(平均7.4g%)は健康人と著しい差異を認めず、發癌臟器別差異亦著明ならず。
- 2) 癌患者に於ては齊しく Albumin の減少(平均0.8倍)と Globulin の増加が認められるが、有意の差があるのは Albumin と  $\alpha$ -G,  $\gamma$ -Globulin であり、Globulin の増加は主として  $\gamma$ -Globulin (1.5倍)の増加に依る。
- 3) 子宮癌患者に於て電気泳動的に得られた A/G 商は豫後の良、不良の間に約5%の危険率で有意の差あり。
- 4) Radium 照射に依る變化著明ならず。
- 5) 癌患者血沈速度と血清 Albumin 量とは負の相關を、 $\gamma$ -Globulin とは正の相關を有すると思われ。

### (5) 子宮癌患者に於ける血漿蛋白について

九大醫産婦人科  
鍋倉 正夫・山中 正宜

子宮癌患者85名を全身状態より4群に分け、その血漿蛋白の推移を見るにアルブミンは著明に減少し、 $\gamma$ グロブリンは増加し、 $\alpha$ グロブリンも増加する事は何れも1%の危険率に於て有意な相關が認められ、 $\phi$ グロブリンも同様増加を示すが、( $\phi-r$ )グロブリン即ち眞のフィブリノーゲン値はキールダール測定値と略一致し、しかも矢張り増加を示している。 $\beta$ グロブリンのみが何ら増減を示さず。

以上を血清高田氏反應陽性度の順に並べるとアルブミンの減少、 $\gamma$ グロブリンの増加は何れも高田氏反應陽性度と有意な相關を示し、 $\alpha$ ,  $\beta$ グロブリンは有意な相關を示さず、A/G 特に A/rG と有意の相關を示す。以上は電気泳動的に分離された A.  $A+\alpha+\beta$ ,  $r$ ,  $r+\beta$ ,  $r+\beta+\alpha$  の反應既知血清への添加實驗に於ても A は反應陰性化に、 $r$  は反應陽性化に働く事を確認した。以上子宮癌患者血漿蛋白の各分層の増減の原因を推論し、特に  $\gamma$ グロブリンの増加に對しては抗體の生成機轉と同様な機序で推論を試みた。

### (6) 妊・産・褥婦の血漿蛋白の電気泳動法による研究

名大醫學部婦人科教室(主任古川教授)  
金子 光

妊娠中毒症研究の基礎實驗として私は本研究を実施した。實驗條件は電気泳動研究會の規定に従つた。

實驗結果: 1) 非妊健康婦人に就て、月經周期に依り多少の變化が認められる。即ち、月經時に血漿蛋白量の増加、Alb. の減少、 $\alpha$ ,  $\beta$  Gl. の増加、 $\gamma$  Gl. の減少、Fib. の軽度増加を認めた。2) 正常妊・産・褥婦に於て、81名による變化は、妊娠月經の進むに従い、血漿蛋白量、Alb. は次第に減少し妊娠8、9ヶ月に最低値を示し、爾後、再び増加、分娩終末後に至り、再び低下し、産褥第一日に甚だ低値を取り、以後正常値と返る。 $\alpha$ ,  $\beta$  Gl. は大體 Alb. の逆の様相を呈する、 $\gamma$  Gl. には特に大きな變化は認められない。Fib. は妊娠月經の進むに従い軽度増加し、産褥に再び正常に戻る。此等の變化は  $\gamma$  Gl. を除き、推計學的にも意味がある。亦、血漿蛋白量 Alb. の妊娠時の低下に水血症によるものと思ふ。 $\alpha$  Gl. の増加は Alb. 低下による相對的増加、 $\beta$  Gl. は Lipoid の増加がその一つの原因になつてゐると思ふ。3) 妊娠中毒症・25名による逐日的檢索結果は、症例によりかなり

の相違があるが、妊娠浮腫・妊娠腎・子癇前症・胎盤早期剝離に於ては正常妊・産・褥婦と同一の變化傾向を示し、その程度は妊娠腎・子癇前症に於て稍強く、妊娠浮腫に於ては正常妊・産・褥婦と殆んど變りない。只、子癇に於ては痙攣發作時を除いては上記變化と同様傾向なるも強い。目録彙時には特に血漿蛋白量 Alb.  $\gamma$  Gl. に於て著明な變化を示した。これ等妊娠中毒症の變化は正常妊・産・褥婦の變化と比較して一應量的のもの様でありますが、子癇痙攣發作時の變化と共に今後の研究に待ちたいと思ふ。

亦、例数少數なるも循環血漿量測定値より量的の變化を見るに、正常妊・産・褥婦に於ては Gl. の増加を示し、Alb. は殆んど變化ない。亦、子癇を併く妊娠中毒症に於ては程度の差はあるも大體正常妊・産・褥婦と同一の傾向を示す。子癇の場合は Alb. Gl. 共に減少の傾向があると思ふ。

### (7) Tiselius 装置に依る電極近傍の觀察

東京工業大學 應用電気化學教室  
水野 滋・外島 忍  
木内 健

陽極及び陰極に分極した場合及び分極しない場合の電解質溶液の電極近傍に於ける濃度勾配の有様を Tiselius の裝置を用いて光學的に觀察した。

平滑電極として用いた Hg と Hg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 溶液との界面には分極しない場合に於ても極めて薄い、併し極めて濃度變化の著しい層の存在が認められる。これは恐らく二價水銀イオンの還元層であると思はれる。水銀を陰極に分極した場合は豫想に反しイオン供給の擴散層は認められ、そのかわり濃度差に依る溶液の對流が明確に認められた。即ち、この場合には靜的な濃度勾配が存在するとは考えられず電極表面に極く接近した所から形成されている對流層は水銀の移動に伴はれる溶液の流動のみに依るものでなく、むしろ濃度差に依つて生じているものと解される。陽極に分極した場合は陰極の時の様な對流は認められず、むしろ分極しない場合に似た層の存在が認められた。

### (8) 血清アルブミンの易動度荷電の溫度變化

東大醫學部  
四方 淳

Kewick の方法により、preparation purification を行つた馬血清アルブミン結晶を pH 8.1; イオン強度 0.1 M/30 の磷酸緩衝液に透析したものを材料とした。

Tiselius の裝置を用い、恒溫槽を冷布し、之を一定度に保つて易動度・比傳導度を測定した。moving boundary の理論を應用して、蛋白の大きさ・表面積等に關係なく荷電を計算した。

結果としては、①易動度は溫度と共に上昇し、大體於て溶液の粘性係數に逆比例する。②Henry によれば荷電は易動度と粘性係數の積に比例すると云う理論式導かれるが、實驗結果に於ては、易動度と粘性係數の積は一定でなく、溫度の上昇と共に多少上昇し、之は即ち蛋白イオンの解離平衡の移動によるものと考えられる。③ Henry の式を用いて算出した蛋白一分子當りの荷電が測定曲線より求めたものに比し10~20%低値を示す



比し、この報告に用いた方法で算出した荷電数は滴定値よりも10程度大なる値を與える。この不一致の原因は種々考へられるが、決定的な結論は今の所ない。

### (9) 正常人血清蛋白分層の日差について

慈恵醫大生理 (杉本研究室)

武藤 晃・芳我 孝一  
阿部 俊明

電気泳動法基礎的研究の一環として正常人血清總蛋白濃度、血清蛋白分層の%と濃度の日差を研究した。

試料は健康男子5名の血清を使用し總蛋白濃度は日立蛋白計で測定し蛋白分層の%及び濃度は電気泳動研究會規定に依り測定し Pattern は泳動後90分で撮影した下降脚で計算した。

4時間間隔で1日6回採血し、食事の影響を避け運動は日常作業として睡眠は午後11時より午前6時迄の7時間一定した。

實驗の結果は血清總蛋白濃度は午後7時に最高を示し午前3時に最低を示した。血清蛋白分層の%は採血時間の差に依る相違は認められなかつた。血清蛋白分層の絶対値は Alb,  $\gamma$ +Glob. 共に總蛋白濃度と似た傾向を示した。以上の日差は血液中の水分の増減が特に影響を及ぼしているものと思われる。

### (10) 運動負荷による血漿及び血清蛋白分層の變化に就いて

慈恵醫大生理 (杉本研究室)

齋藤 盛夫・田崎 晋二郎

運動負荷による血漿及び血清蛋白各分層の變化を電気泳動的に追及し併せて總蛋白濃度の變化をも追及した。運動は非訓練者4名について概とび運動5分間と、教育大學選選手6名による20k.m.のマラソンについて検討した。

總蛋白濃度は兩運動とも程度の差はあるが運動中止直後増加し、三時間迄には略平常値に戻ることを知つた。特に非訓練者について行つた概とび運動の場合はその増加が著るしかつた。血清蛋白各分層の%では、概とびの場合は個人差はあるが大した變化なく、マラソンの場合は全例、運動直後に増加を見た。 $\gamma$ -Glob.の變化も $\gamma$ と $\alpha$ に分ち観察したが特に意義的變化を認めなかつた。尚總蛋白濃度の變化の原因、及至運動に於ける相違の原因を若干考察した。

### (11) プラスマフェレシス及び瀉血による血漿蛋白像の變化

名大醫学部 中佐美内科

岡井 壽徳・生野 忠徳  
北原 周文・山田 榮士郎  
吉田 司・白井 正敏  
佐々木 康之

私共はプラスマフェレシスを行つた家兎について血漿蛋白像、血液内脂質の變動、血液殘餘窒素及びその他2, 3の血液學的檢索を行い、併せて一部のものに於て病理

組織學的檢索をなした。血漿除去量の比較的大量であるのに關らず、總蛋白量の減少は著明でなく、アルブミンは軽度減少し、グロブリン就中 $\gamma$ - $\alpha$ 、 $\beta$ -グロブリンは著しく減りましたが、 $\gamma$ -グロブリン、フィブリノゲンは著明な變化をみなかつた。血漿、血球内コレステリンの減少、血漿、血球内レシチンの増加がほぼ一定した移動傾向であつた。心臓ではアシヨフ氏結節、肺臓では血栓性血管炎のアレルギー性組織反應をみた。

次に急性瀉血貧血家兎に綜合アミノ酸製劑である強力スメニンを投與した所、對照の無瘻假群に比して貧血及び低蛋白血状態の回復に明かな効果を認めた。

### (12) 實驗的家兎肋膜炎の研究

大阪大學醫研 山口内科

山口 壽・市原 玄  
田中 勇一・西本 實  
鶴田 吉房・寺下 檢治

1) 私達は0.5% Methylene blau (以下 M. B. とす)を肋膜腔内に注入して、確實に胸水の滯留を起させた。胸水の出現は注入後略々18時間前後であつた。その後注入された側の肺臓は多量の胸水に依り壓迫され、萎縮し、殆ど無氣状態に陥り、此に依り治療方面へ可能性が考えられる程である。

2) 胸水の出現に際し、それに先立ち血清總蛋白量並比重の減少を來した。

3) 血清の Al+ $\alpha$ -Gl %濃度は M. B. の注入に依り24時間以内では健康平均値の $\pm 0.9$ %の増減を示した。最も増量せるは $\beta$ -Gl で、 $\gamma$ -Gl も増量した。

4) M. B. の注入に依り起る血清總蛋白量並蛋白分層像の變動は V. C, T. Z. の注入の際に増減と多大な差異を認めず、即ち M. B. の注入は少くとも血清總蛋白量並蛋白分層像には特異的影響を與へ得ないものと様である。

5) 血清と胸水中の蛋白分層關係を經時的に追求めたが胸水の Al+ $\alpha$ -Gl %濃度は同時に採取した血清の其れを反映した。然し、常に高い値を示した。

### (13) 内科的疾患の體液蛋白體の研究

千葉大學醫學部 石川内科

石川 憲夫・岩田 恵夫  
村越 康一・藤江 寛忠  
中島 巖・吉原 百合枝  
片山 一郎

吾々は昭和22年以來滲出性肋膜炎を中心として滲濾液を作り種々なる疾患に於ける滲濾出機轉に就いて研究しつゝあるが今回次の結論を得た。(1) 滲濾液は濾出液より蛋白組成特に Alb, Glob が血漿の夫に有意の相關を示し濾出液は Alb, Glob のみが血漿の夫に有意の相關を示す。(2) 胸腔並びに腹腔に於ては局所の変異により滲濾出液蛋白像が支配される。(3) 局所變異の大小が滲濾出機轉の様相を支配する。(4) 尿蛋白像に關しても同様な機轉が關與するものと考えられる。(5) 以上より字義通りの Albuminurie ins Gewebe (Eppinger) と言うよりは寧ろ Proteinurie ins Gewebe と言うべきであろう。

### (14) 鉛作業員の血液学的研究

名大分院内科

山田 弘三・山田 香苗  
川口 幸平・川口 博

鉛作業員に於ける蛋白代謝検査の一方法として、某新聞社植字工20名の血清を電気泳動法により分析し次の如き結果を得た。血清総蛋白量は 7.17 g/dl にて著變なく、Albumin 量は 3.95 g/dl にて稍減少し、 $\alpha$  及び  $\beta$ -Globulin 量は 0.66 g/dl 及び 0.9 g/dl にて軽度増加、 $\gamma$ -Globulin 量は 1.61 g/dl にて明らかに増加を認めた。

次に  $\gamma$ -Globulin 増加の原因追求の爲に、第1に肝機能検査を施行したるも肝障害をほとんど認めなかつた。

第2に血液像と  $\gamma$ -Globulin との關係を追求し、鉛作業員血液像に好酸球及びリンパ球の増加を認むると共に、好酸球増加例と  $\gamma$ -Globulin 増加例とが大略一致する事を認めた。第3に Thorne's Test を施行 120 名中 19 名陽性の結果を得た。

以上の諸検査の結果、鉛作業員の蛋白代謝の變化、特に  $\gamma$ -Globulin の増加は、間脳下垂體副腎系障礙に密接な關係が有るとと思われる。

### (15) 蛋白尿の電気泳動分析について

名古屋大學環境醫學研究所

小川研究室 村瀬 守男

尿蛋白の電気泳動分析は、その手技殊に前操作として適当な蛋白濃度を有する試料の調製に困難を伴う故、殆ど未開拓の分野に屬する。私为之等の困難性を克服して行つた處を要約すれば、1) 電気泳動を行う前操作としての蛋白尿の透析方法、濃縮方法等試料の調製方法について私の考案した處を述べた。2) 尿蛋白の電気泳動圖形と正常人血清のそれとの異同を比較し、殊に A 峰に“結節”をより屢々見ること、A、 $\alpha$  の分離の不良なことに觸れた。3) 尿蛋白像の特徴の一つとして、A% が大きく従而 A/G が高値を占めること。4)  $\alpha$ 、 $\beta$  には特別の意義を見出し難いが、慢性腎炎のネフローゼ型では一般に低値が得られた。5)  $\gamma$  は G 中最高% を占める場合が多いが、それでも血清の正常値或はそれ以下であつて、慢腎ネフローゼ型、萎縮腎では比較的高く、ネフローゼ、腎炎後蛋白尿では低い。6) ネフローゼと慢腎ネフローゼ型との鑑別診断に當つて、 $\gamma$  % 或は  $\gamma/A$  が比較的高いときは後者を否定し去るべきではない。(以上の臨床成績は例数が少ないので目下研究續行中である)。

### (16) リンパ腺蛋白の抽出について

山口 醫大

中村正二郎・林 靖

繼續抽出法 (Successive Extraction) をリンパ腺に適用すれば、無液癩の抽出はほぼ理論の要請をみたすが蛋白の抽出はみたさない。第3の抽出に於て新たな細胞構成要素の崩壊、抽出のおこなふことが推測される。これが何を意味するかは尙不明であるが、この回の近旁に於て沈渣の著しい容積増加がみとめられる。

第一回抽出液と第三回抽出液とは、その中に含まれる

蛋白成分に於ても著しい相違を示す。

### (17) 牛腦抽出セファリン・コレステロール絮状反應と電気泳動像

大阪大學醫學部第二内科學教室

(主任教授 福島寛四)

木谷 威男・中島 敏夫  
酒井 幸男・中村 二郎

余等は諸種肝疾患 (肝硬變症10例、流行性肝炎11例、閉塞性黄疸5例及び肝癌13例) につき血清セファリン・コレステロール絮状反應 (以下 C. C. F. と略記) 並びに電気泳動法による血清蛋白分層の分割値 (%) を検索し次の成績を得た。

1) 肝硬變症に於ては C. C. F. の陽性度異常に高く、アルブミンの減少、グロブリン殊に  $\gamma$ -グロブリンの増加が著明である。

2) 流行性肝炎では C. C. F. 高度に陽性を示し、アルブミンの減少、グロブリンの増加殊に  $\beta$ -及び  $\gamma$ -グロブリンの増加を認めるが肝硬變症の時程著明なものでない。

3) 閉塞性黄疸では C. C. F. は全例に陰性を示し、アルブミンの減少、グロブリン殊に  $\beta$ -グロブリン及び  $\gamma$ -グロブリンの増加を認める。

4) 肝臓癌では C. C. F. 及び血清蛋白分層共に一定の傾向を認めない。

5) C. C. F. の陽性度と蛋白各分層分割値 (%) 及び A/G  $\gamma/A$  との相關關係を求めると  $\gamma$ -グロブリン及び  $\beta$ -グロブリンと 1% 以下の危険率を以て負の相關關係を認める。他の分層とは有意の相關を力めない。

6) C. C. F. の陽性群 (49時間値Ⅲ及びⅣ) の陽性度との相關關係は  $\alpha$ -グロブリンとは 5% 以下の危険率を以て負の、 $\gamma$ -グロブリンとは 1% 以下の危険率を以て正の相關關係を認める。他の分層とは有意の相關を認めない。

7) C. C. F. の陰性群 (48時間 -、+、Ⅱ) の陰性度との相關關係は  $\gamma$ -グロブリンと 5% 以下の危険率を以て負の相關を認めるの他は有意の相關を認めなかつた。

### (18) 亞急性細菌性心内膜炎患者の血漿蛋白像

慶應大學醫學部内科

吉澤 久雄・本田 正節

感染症を血漿蛋白像の面より研究するため、亞急性細菌性心内膜炎患者 12 例を治療前、中、後の 3 回採血して電気泳動を施行致しました。治療は Pc の大量投與 (5 千萬 ~ 1 億單位) を主として大體 2 ヶ月間で、採血間隔は、1 ヶ月前後である。治療前値は總蛋白濃度は減少、この減少は A1 の著しい減少による。G1 は増加、A/G 比は著しい低値を示す。G1 の増加は  $\gamma$ -G1 の増加による。治療による變動は A1 は著しく増加し G1 は減少、A/G 比は増加、總蛋白濃度は増加して正常値に近づく。 $\gamma$ -G1 は治療後に減少して正常値に近づくが尙正常値よりは高値を示す。病型別に輕症、中等症、重症と分けると中等症重症において A1 の減少、G1 の増加、A/G 比の著明な低下が認められ、 $\gamma$ -G1 の増加は重症例に著しい。以上の傾向は吾々の今迄になした結核症の場合にても略々同様で、一般に慢性の感染性においては病氣が治つて行く

こと、 $\gamma$ -G<sub>1</sub>が減少して行くことは平行関係が存すると考えられる。

## (19) 催眠剤中毒時に於ける血清蛋白の變動と之が抑制に關する實驗的研究

廣應義塾大學醫學部法醫學教室

上野 佐・荒川潤次郎

廣應義塾大學醫學部内科學教室

吉澤久雄・本田正節

廣應義塾大學醫學部小兒科學教室

川名 嵩久

催眠剤による中毒は自殺を主として戦後流行の観があり、その病態生理並びに治療に關しては法醫學及び臨床醫學に興味ある問題を投げかけている。

催眠剤中毒による死因として従来重要視されていたものは、脳幹と呼吸中枢に對する麻痺作用であるが、この際服薬後短時間であるにも拘らず、肝に鬱血、脂肪變性、Disse 氏腔の擴大、浮腫、混濁腫脹が認められており、血清蛋白に對しても何等かの影響を及ぼすのではないかと云うことが想像されていた。この點を解明するために、私共は催眠剤中毒の際の血清蛋白の變動を追究すると共に諸種薬劑による中毒抑制効果を調べ、興味ある所見を得たので報告する。

實驗には體重 2 kg 内外の健康家兎 17羽を使用した。これを 2群に分け、第 1群 3羽には體重 100 g について 1%アドルム 1.0 cc を腹腔内に注入して睡眠せしめた。第 2群 14羽を 2羽宛 7 亞群に分け、各群に第 1群と同様な處置を施して睡眠せしめた直後、催眠剤中毒時の含水炭素代謝障碍阻止に對して有効に作用したベナドロール、鹽酸ヒスタチン、コハク酸、ピクロトキシン、ビタミン C、 $\beta$ -メチオニン、鹽酸チステインを各亞群に對し一劑宛腹腔内注入した。

採血は各群について催眠剤注射前、注射 5 時間後、1 日後の 3 回に行い、電氣泳動は電氣泳動研究會規定に従つて行つた。

實驗成績。第 1群では時間の経過につれて總蛋白濃度及び Al は減少し、總 gl,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -gl は増加する。

第 2群に於ては總蛋白濃度の減少は阻止し得なかつたが、Al は不變か増加し、總 gl は不變か減少する。

催眠剤中毒の如き急性な障碍に對しても血清蛋白は割合に鋭敏に反應すること、かゝる障碍の際に他の種々な代謝に對して有効に作用する薬劑が、血清蛋白の悪化への變動を抑制することは注目に値することであると考えられる。

## (20) Vole Bacillus と BCG の免疫力に關する電氣泳動法による比較研究

名大豫防醫學

岡田 博・西谷 強

大西積 守

結核豫防ワクチンとしては現在 BCG のみ使用されているが我々はさらに一層免疫力が強く毒性の弱い免疫への探求を怠つてはならない。1937 年英國の Wells によつて野鼠から分離された Vole Bacillus の免疫元として

の效果に就いて歐米で研究され出したのは比較的近年のことである。そして現在のところ動物實驗に於て Vole Bacillus の方が BCG より免疫力稍強いが毒性も又強いことが組織解剖學的所見より報告されている。

我々は今回 Vole Bacillus 及び BCG を以つて動物を免疫しさらにそれに結核菌を challenge して兩者の免疫學的効果に就いて電氣泳動法を主としそれに解剖學的所見を加へ比較研究した。その結果

(1) Vole Bacillus は動物體(海猿)に對し BCG よりより一層著るしい血清蛋白の變動をもたらす。即ち前者の方後者より刺激が強いと言ひ得る。しかし結核菌を challenge して後の血清蛋白の變動は兩者の間に著るしい差はない。

(2)  $\gamma$ -Globulin 分層の増加は Vole Bacillus の方が BCG より著るしく多い。このことは動物を結核菌で免疫した場合の抗體は主として  $\gamma$ -Globulin 層に存在すると言ふ F. Seibert の業績を是認すれば前者の方より免疫力大と言へると考へる。

(3) 組織解剖學的所見は Vole Bacillus の方が結核菌を challenge して後の變化がより小なかつた。

即ち以上のことより Vole Bacillus の方が BCG より動物體に對しより刺激が大きいが免疫力も大であると言ひ得ると考へる。

## (21) 喉頭癌患者の血清蛋白について

阪大醫學部耳鼻咽喉科

吉田 祺一郎・井上 次男

帶野 隆・橋 富雄

守田 晃

喉頭癌は腫瘍存在部位に依つて種々の臨牀経過を取る。例は假聲帯或は喉頭入口部附近に發生した場合は短時に廣範圍に進展し、一般所見も伴つて悪化する。聲帯附近に發生したものは長期間限局性で比較的良性的経過をとる。吉田は腫瘍の存在部位により臨牀的に癌型を次の様に分類した。喉頭外面に原發乃至喉頭内腔に原發したものが喉頭外面に泛あふれ出た標本ものを外癌。腫瘍が喉頭内腔に存在する間は全て内癌とする。内癌を更にモルガニー氏嚢と聲帯の境界で上下に區別し、假聲帯より喉頭入口側を上癌型、聲帯以下を下癌型、兩部位にまたがつて存在するのを混合型とする。臨牀的悪性度は外癌、混合型、上癌型、下癌型の順序である。これを血清蛋白の標相から追究すると、喉頭癌は何れの症例に於ても、アルブミンは減少、グロブリンは増加の標相を呈す。但し  $\alpha$ グロブリンは輕度の減少、 $\beta$ グロブリンは殆んど變動はないが  $\gamma$ グロブリンは顯著に増加する。然もこの事は前記の外癌混合型上癌型では特に敍上の傾向が強いものが多い。下癌型では  $\gamma$ グロブリンの増加は極めて輕度で他のものに比して正常に近い値を示す。故に血清蛋白からも下癌型は豫後が良いことが想像される。以上僅少の檢索例についてではあるが喉頭癌の豫後判定に對して臨牀的癌存在部位及び電氣泳動分析による血清蛋白の成績は良き判定根據を興へると思ふ。

# 電氣泳動研究會々則

## 第1章 總 則

1. 本會は電氣泳動研究會と云う
2. 本會は電氣泳動法とその應用に關して
  - (1) 會員の研究を發表すること
  - (2) 會員の研究の便宜を圖ることを目的とする
3. 本會は前條の目的を達するために次の事業を行う
  - (1) 研究發表會、講演會等の學術的會合を開くこと
  - (2) 會誌を發表すること
  - (3) 電氣泳動法とその應用に關する内外の文獻を蒐集整理して發行すること
  - (4) その他委員會議の決議で適當と認められた事
4. 本會は事務所を東京大學醫學部生化學教室内に置く
5. 本會は關東支部を東京大學醫學部生化學教室に、關西支部を大阪大學醫學部微生物病研究所内に置く
6. 本會の事業年度は毎年1月1日に始り12月末日に終る
7. この會則の實行に必要な細目は委員會議の決議によつて定められる
8. この會則の變更には總會に出席及び書面で決議に参加した會員の半数以上の同意を得なければならぬ

## 第2章 會員及び贊助會員

9. 本會は通常會員、特別會員及び贊助會員より成る  
通常會員は電氣泳動法及びその應用に關して學術的興味を有する個人とする  
特別會員は本邦に於ける電氣泳動法又はその應用に關して功績顯著な者、又は本會の目的遂行に關して多大の貢獻をした者で總會の決議を経て推薦された個人とする。贊助員は本會の目的に賛同してその事業を援助する個人又は團體とする
10. 會員として入會を希望するものは本會に申込んで委員長承認を得なければならない
11. 會員は別に定めた會費を納入しなければならない。但し特別會員は會費を納入する必要がない。會計年度は1月から12月までとする
12. 會員は會誌に寄稿する事が出来る。但し已むを得ざる場合は委員會はその掲載を拒否し、又は改訂を要求することが出来る

13. 會員は會誌の配布を受ける。但し會費を納入しない會員に對してはその發送を停止する
14. 會員は本會に對する意見を申述べてその審議を求むる事が出来る
15. 會員は委員長に届出で退會する事が出来る
16. 會費を1年以上滞納し又は委員會議で理由を明示して本會員として適當でないといふ決議された會員は委員長によつて退會させられる

## 第3章 會長、委員及び會議

17. 本會は總會の推薦によつて會長を決定する
18. 本會の事業を行うために會員中から選ばれた若干名の委員によつて作られた委員會を置く
19. 委員會には委員の互選した委員長1名、常任委員若干名、委員長の指名した會計1名を置く。常任委員長がこれを兼ねる
20. 會長は本會を代表し會務を總理し、總會、委員會議、常任會議を招集する。これ等の會議の議長は委員長がこれをつとめる。會長に故障のある時は委員長が會長の職務を代行する
21. 委員會は次の事項を審議する
  - (1) 總會に提出する議案
  - (2) 學術的會合の計畫
  - (3) 一般會員から提出された議案
  - (4) 刊行物の編纂方針
  - (5) その他必要と認められた事項
22. 委員會議の議事は出席した委員及び出席して決議に参加した委員の總數の過半数を以て決し會長がこれを決裁する
23. 常任委員會議は委員會議に提出する事項を審議する緊急已むを得ざる時は常任委員會議の決を以て委員會議の決に代へ、委員會議には事後承諾を求むる事が出来る
24. 會長、委員及び常任委員の任期は2年とし、重任を妨げない
25. 委員長は毎2年の適當な時期に會員から委員候補者の推薦を求め、これを全會員に通知しその十分の一以上から豫め指定した期間内に異議の申出をうけなかつた者を次期の委員に任命する
26. 總會は毎年1回秋期に研究發表會を兼ねて開く。總會はこれに出席した會員及び書面によつて決議に参加した會員により成立する

第4章 研究発表會，講演會刊行物  
その他の學術的事業

- 27. 研究発表會は秋春2回開く。春期は東西兩地方會の形式で行い秋期は總會と共に進行
- 28. 研究発表會では會員の研究報告文獻紹介並びにそれ等に関する討論を行う
- 29. 東西兩支部講演會では本會で依頼した講演を行う。研究発表會，講演會その他の學術的事業は各支部が適宜これを開催する
- 30. 會誌は會員の研究報告，文獻紹介，綜説，會合の記

録等を掲載する

- 31. 會誌以外の特輯圖書は會員の希望により有料で頒布する
  - 32. 會員以外の希望者には本會刊行物を有料で頒布する
- 第5章 會 計
- 33. 本會の會費は年額300圓とする
  - 34. 會計委員は毎年總會に於て會計報告をなし，總會の承認を得るを要する
  - 35. 本會が金員，圖書等の寄贈を受けた時は會計委員は會員にこれを報告することを要する

### 電氣泳動研究會役員

會 長 兒 王 桂 三

特別會員

水島三一郎	沖中重雄
小穴純	有山登
岡田辰三	小川巖
杉本良一	赤堀四郎
近藤金助	石川憲夫

常任委員

阿部正和 (慈惠大生單)  
 彦坂芳郎 (日立製作所)  
 平井秀松 (東大醫生化)  
 細見泰三 (京大醫生理)  
 深井孝之助 (阪大微研)  
 鎌崎俊彦 (日立製作所)

金上嗜夫 (東北大抗酸菌病研)  
 水野滋 (東工大, 應電化)  
 村越康一 (千葉大醫, 内科)  
 中村正二郎 (山口大醫生化)  
 能勢勇一 (榊島病院)  
 岡田博 (名大醫豫醫)  
 島尾和男 (東大醫生化)  
 山崎慶一郎 (九大医, 外)  
 千葉眞雄 (京大, 農)  
 吉田長之 (徳島大醫細菌)  
 吉澤久雄 (慶大醫, 内科)  
 吉澤四郎 (東大工, 工化)  
 渡邊格 (東大理工研)

(29頁より續く)

2) *n*-glob の相対的易動度は 35~48 で, その%の平均値は 2.5 である。

3) *n*-glob の最も分離しやすい泳動條件は蛋白濃度 1.5~2.0 g/dl, 泳動時間 120 分である。なお diagonal slit を 60° 近くにすることが望ましい。

4) *n*-glob が明確な峰を形成しない時は,  $\beta$  峰と  $\gamma$  峰との分離垂線の下し方如何によつて,  $\beta$ -及び  $\gamma$ -glob の%は數パーセントの變動をみる惧れがある。

### 文 献

- 1) Deutsch et al: J. Biol. Chem. 165, 21 (1946)
- 2) Edsall et al: J. Clin. Invest. 23, 557 (1944)
- 3) Franklin et al: J. Clin. Invest. 37, 718 (1951)
- 4) 沖本: 電氣泳動研究會第1回關東地方會發表
- 5) 小川其他: 生物物理化學 1, 15 (1951)
- 6) Routh and Paul: Arch. Phys. Med. 32(6), (1951)

筆を擱くに當り御指導並びに御校閲を賜つた杉本教授及び阿部講師に深甚の謝意を表す。

## (9 頁より續く)

- 24) 平井, 島尾, 電気泳動研究會第2回東日本地方會  
 25) Majoor, C. L. H., Yale J. Biol. Med. 18:363 ('46)  
 26) / J. Biol. Chem. 169 583 ('47)  
 27) Milne, J.: J. Biol. Chem. 169 595 ('47)  
 28) Cohn, E. J., J. Am. Chem. Soc. 49 173 ('27)  
 29) Green, A. A., J. Am. Chem. Soc. 55 2:31 ('30)  
 30) Florin, M., J. Biol. Chem. 87 629 ('30)  
 31) Butler, A. M., et al: J. Biol. Chem. 99 173 ('32)  
 32) Wuhmann, F., et al: Helv. Med. Acta 10 Suppl. X ('42) (Chem. Abstract による)  
 33) Rapaport, M., et al., J. Clin. Invest. 22 487 ('43)  
 34) Hammarsten, O., Arch. Ges. Physiol. (Pflügers) 19 563, (1879) 20 431 (1880)  
 35) Jameson, E., et al. J. Am. Chem. Soc. 65 459 ('43)  
 36) Püller, L., et al. J. Biol. Chem. 153 299 ('45)  
 37) Nitsche, G. A., Blood, 2 363 ('47)  
 38) Cohn, E. J., et al. Ibid. 68 459 ('46)  
 39) Edsall, J. T., et al. Adv. in Prot. Chem. 3 383 ('47) (Academic press)  
 40) Strong, L. E., Encyclopedia of chemical Technology, The Intersci. Encyclopedia INC N. Y. Vol. 2  
 41) 吉川, 齋藤 醫事新報. 1277, 1279號 (昭23)  
 42) Heidelberger, M., et al. J. Exp. Med. 55 555 ('32)  
 / Ibid. 61 563 ('35)  
 43) Johnson, M. J., J. Biol. Chem. 137 575 ('40)  
 44) Markham, R., Biochem. J., 36 790 ('43)  
 Heidelbergen, M. et al. Sci. 97 405 ('43)  
 98 63 ('43)  
 45) Kunkel, H. G., et al. J. Biol. Chem. 182 597 ('40)  
 46) Solotorovsky, M., et al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74 313 ('50)  
 47) Lanni, F., et al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74 4 ('50)  
 48) Eisen, H. N. J. Imm. 62 437 ('49)  
 49) Kabat, E. A., Experimental Immunochemistry, Charles, C. Thomas Publisher, Springfield Illinois U. S. A. ('48)  
 50) 紺野, 山下, 生體の科學 3 179 ('52)  
 51) Marrack, J. R., et al. Brit. J. Exp. Path. 31 36 ('50)  
 Cohn, M., et al. J. Imm. 64 381 ('50)  
 52) Jager, B. V. et al. J. Biol. Chem. 176 1177 ('48)  
 53) Armstrong, S. H., et al. J. Am. Chem. Soc. 69 416, ('47)  
 54) 平井, 島尾 生化學 21 6, 109, ('49)  
 平井 生化學 23 122, ('51)  
 55) Gutman, A. B., Advances in Protein Chemistry Vol. IV 156 ('48)  
 Academic Press INC. Publishers N. Y.

## (27頁より續く)

- 8) 緒方正名・望月義夫: 岡醫 674, 58 (昭26.3)  
 9) 緒方正名・奥田久徳: 岡醫 674, 86 (昭26.3)  
 10) 緒方正名・奥田久徳: 日本衛生學雜誌 6 卷 1 號:39 (1951, 7)  
 11) 緒方正名・望月義夫: 日本衛生學雜誌 6 卷 1 號:39 (1951, 7)  
 12) 緒方正名・望月義夫: 岡醫印刷中 (昭26)  
 13) 緒方正名: 岡醫印刷中 (昭26)  
 14) 緒方益雄・緒方正名・望月義夫・奥田久徳: 生物物理化學 印刷中 (昭26, 11)  
 15) 緒方益雄・緒方正名・望月義夫・奥田久徳: 岡醫印刷中 (昭26, 11)  
 16) 緒方益雄: 抗原抗體學會印刷中 (昭26, 11)  
 17) A. Tiselius and Kabat: J. exp. med. LXIX 119 (1939)  
 18) J. van der Scheer J. B. Lagsdin and Ralph W. G. Wyckoff: J. immunol. 41 209-223 (1941)  
 19) J. vander Scheer, Ralph W. G. Wyckoff and Frank H. Clark: J. immunol. 40 173-177 (1940)  
 20) A. A. Schmidt und Klara Tuljtschinskaja; Leitschr. f. Immunitätsf. 70 Band 8 (1931)  
 21) 島尾和男 生物物理化學 vol. 1 No. 14 (1951)  
 22) G. Tayler G. S. Adair and Muriel E. Adair: J. Hygiene 32 240 (1932)  
 23) J. T. Culbertson: J. immunol. 22 439 (1932)  
 24) M. Heidelberger, F. E. Kendall: J. exp. med. 55 555 (1932)  
 25) Kekwick, R. A. and Cannan, R. K: Biochem. J. 33 232 (1936)  
 26) Folin O. and Ciriacateau V: J. Biol. Chem. 73 627-650 (1927)  
 27) Allau G. Gornall. Clarks J. Bardawill and Maxima M. Darid: J. Biol. Chem. 177 Nov. 1 761-766 (1949)  
 28) W. S. Phymale J. r. and D. F. Hausen Electronicus February 102 (1950)  
 29) Hederberger: J. exp. med. 73 681 (1941)  
 30) Alexandre Rothen: The Review of scientific instrument 26  
 31) Alexandre Rothen: J. Biol. Chem. 168 75 (1947)  
 32) Lawrence E. Nielsen and J. G. Kirkwood: J. Am. Chem. Soc. 68 181 (1946)  
 33) J. R. Cann J. G. Kirkwood Raymond A. Brown and Otto J. Plescia: J. Am. Chem. Soc. 71 1603 (1949)  
 34) J. R. Cann Raymond. A. Brown and J. G. Kirkwood: J. Am. Chem. Soc. 71. 1607 (1949)  
 35) E. J. Cohn, L. E. Strong, W. L. Hughes, D. J. Mulford, J. N. Ashworth, M. Melton and H. L. Taylor: J. Am. Chem. Soc. 68. 459 (1946)

# チセリウス電気泳動装置設置箇所

東大 生 化	多摩川 院 運 見 研	兵 庫 縣 立 醫 大	八 幡 製 鐵 病 院	弘 前 大 醫
東大 傳 研 第 一	東 京 臟 器 化 學	神 戶 衛 生 研 大	小 倉 遞 信 病 院	國 立 衛 生 研
東大 傳 研 第 五	信 州 大 醫 院	廣 島 縣 衛 生 研 大	熊 本 遞 信 病 院	旭 硝 子 研
東大 農 學 部	松 本 遞 信 病 院	廣 島 縣 衛 生 研 大	長 崎 遞 信 病 院	
東大 理 工 研	東 京 醫 科 齒 大	奈 良 醫 大	大 久 留 米 醫 大	
豫 防 醫 學 研	新 潟 大 醫 大	米 子 醫 大	三 井 產 醫 大	
處 六 大 醫 內 科	阪 大 醫 大	北 大 農 學 部	九 大 醫 產 婦	
千 葉 大 醫 產 婦	阪 大 醫 大	北 大 醫 神 經	九 大 醫 產 婦	
千 葉 大 醫 皮 膚	阪 大 醫 大	北 大 醫 外 科	九 大 醫 細 菌	
千 葉 大 醫 化 學	阪 大 醫 大	北 海 道 女 子 大 病 院	國 立 療 養 所 福 壽 園	
千 惠 絲 醫 生 理 大	大 阪 市 立 醫 大	札 幌 女 醫 專	北 里 研 究 所	
日 本 醫 大 研	大 阪 醫 大	北 海 道 第 一 療 養 所	綠 丘 保 養 所	
豫 防 醫 學 研	大 阪 醫 大	東 北 大 醫 武 藏 外	大 阪 府 立 衛 生 研	
横 濱 醫 大	大 阪 醫 大	東 北 大 醫 化 學	神 戶 醫 大	
工 家 畜 衛 生 試	大 阪 醫 大	東 北 大 抗 酸 菌 研	京 都 府 立 醫 大	
駒 込 病 院	京 大 工 化	名 大 醫 字 佐 美	三 重 屋 工 研	
樺 島 病 院	京 大 大 化 研	名 大 醫 產 婦	岐 阜 大 醫 學 部	
東 京 遞 信 病 院	京 大 醫 內 科	名 大 醫 環 境 醫	國 立 仙 臺 病 院	
胃 腸 病 院	京 大 醫 病 理	名 大 醫 豫 防	東 北 大 醫 細 菌	
日 本 化 成 所	京 都 府 立 醫 大	名 大 醫 日 比 野 內 科	富 士 フ ァ イ ル	
小 菅 拘 置 所	岡 山 大 醫 櫛 神	名 古 屋 市 立 醫 大	化 學 血 清 研	
專 賣 病 院	岡 山 大 醫 櫛 神	岐 阜 醫 大 病 院	北 大 水 産 學 部	
日 本 二 病 院	岡 山 大 醫 櫛 神	名 古 屋 遞 信 病 院	工 大 資 源 研	
國 立 第 二 病 院	岡 山 大 醫 櫛 神	城 山 病 院	日 立 多 賀 病 院	
國 立 伊 賀 原 病 院	金 澤 大 結 核 研	山 田 赤 十 字 病 院	日 立 中 研	
日 本 皮 革	金 澤 大 日 置 內 科	三 重 醫 大 弱 院	福 島 六 醫	
		武 田 藥 品 光		

26-5-末現在 (日立製作所調べ)

## あとがき

新緑日増しに濃さを加へております會員各位懇々研究に御精勵の事と存じます。電気泳動研究会發足以來2ヶ年を経過し、會員も現在300名に達し、増々發展致しておりますことは同慶の到りです。

○“生物物理化学”第2號大變遅れましたが、委員其他の御努力で發刊の運びとなりました。編集、其他會員諸氏の御意見今後共どしどし御聞せ下さい。

○特別會員、常任委員等若干變更ありました氏名は別記御覽下さい。

○會員名簿近く印刷、配布致す豫定です、住所他御變更ありましたら御連絡下さい。

## 第1巻 生物物理化学 第1號

無断 昭和27年6月10日印刷  
 禁 轉載 昭和26年6月15日發行

### 非 賣 品

編集兼發行人 電気泳動研究会  
 印刷人 佐藤保太郎  
 印刷所 株式会社文祥堂

## 發行所 電気泳動研究会

東京都文京区本富士町東京大学医学部生化学教室内  
 電話 小石川(85)4136 内線 760