

ペーパークロマトグラフ (6)

アミノ酸及び糖類の定量

1. 粗雑な測定法 (特に工業的に利用される)。同じアミノ酸の既知量と試験物との、ニンヒドリンの色の強さを比較する (Consden et al '43, Polson et al '47)。

2. 抽出法 (1) ニンヒドリンの色を濾紙から抽出して測定する。(2) ニンヒドリンの斑點部分を切り取り、その次に 5% ニンヒドリンを含んだ n-butanol の中 (水で飽和) に入れアセトン等で處理して完全に呈色物質を抽出し、absorption meter で黄色 filter (606) を使用して定量する (Naftalin '48)。(3) Pope-Stevens method ('39) の變法でアミノ酸と Cu との複合體を作り Cu を測定する (一次元法でアミノ酸のみの混液が得られる時に利用される)。濾紙に試験滴を 2 個所に離して展開後、一方を呈色し、之を道しるべとして他方より小片を切りとる。これを copper sulphate suspension (CuCl_2 , Na_2PO_4 , Boraxbuffer) に入れ氷室で overnight した後、遠心して sodium sulphate を加え、上澄液中の Cu をポーログラフで測定する。この方法で gramicidin S (抗菌性物質) 中に含まれる l-valine, l-proline, l-ornithine, l-leucine, l-phenylalanine の定量が行われた (Martin and Mistelbaum 印刷中, Martin '48 より) 上と同様の方法であるが、可溶性のアミノ酸の銅鹽を sodium-dinitro-carbamate で分解し、生じた黄金色のものを amyl alcohol で抽出し、銅を比色法で定量する (Woiwood et al '48)。この方法によつて aerosporidium (抗菌性物質) 中の leucine と threonine の比が 1:3 なることが見出された (Jones '48)。

3. isotope を利用する方法 (isotope dilution method) アミノ酸を radioactive な I 又は S を含む p-iodobenzene-sulphonyl 誘導體に變えて、ペーパークロマトグラムの上で、ガイガ計數管に依つて測定する (Keston et al, '47)。

以上はアミノ酸に就いてであるが、同じ様な原理は糖類及び他の化合物にも利用される。

糖に就いては後述するが、此の場合には展開された濾紙にアンモニヤを入れた硝酸銀を粉霧すると糖のある部分が褐色斑となる (Partridge '46)。定量的には、やはり糖溶液を對照と共に走らせ、真空中で溶劑 butanol-acetic acid-water) をとばす。對照となる一方に硝酸銀を粉霧し、之を手引きにして濾紙片を切取る。糖を含む片を無水エーテルで抽出して完全に溶劑のない様にして後、紙片の突出した一端をマイクロピペットの口にあてがい、紙片の他端から蒸留水を流し、紙片内の糖をピペットの内部に流し込む (此の方法は Martin によつてアミノ酸の場合に使用された)。これをピペットからパラフィンのコップ (parffine cup) 中に移す。各紙片より 0.3-0.4 ml(cc) の溶液が得られる。之を P_2O_5 で蒸發乾涸せしめる。これに bicarbonate-buffer (pH=10.6) の 17 μ l を加える。之を Willstätter and Schüdel の方法で (hypoiodite で酸化し、thiosulphate で過剰の I を測定) で測定する。結果の一部をあげる。

實驗	糖 混 液	RF	正確なる値(μgm)	實驗値(μgm)	誤差(%)
I	glucose	0.18	44	46	+4.5
	lactose	0.09	76	76	0
II	galactose	0.16	81	73	-10
	maltose	0.11	94	91	-3
III	mannose	0.20	42	40	-5
	xyllose	0.28	42	40	-5

尙、改善を要するという (Hawthorne, J. R. '49, Nature 160: 714-715 より)。(慶應大生物 波磨 忠雄)

日本動物學彙報第 23 卷 3 號 豫告

第 23 卷第 2 號に引き續き、近く第 3 號が出版されます。登載論文は下記の 9 篇です。

竹 脇 潔	Simultaneous intrasplenic and subcutaneous ovarian transplants in the mouse.
花岡謹一郎	Differentiation of ova in the testes of tadpoles developed from dehydrated eggs.
藤 井 隆	Ultraviolet absorption spectra of amphibian organizer and of frog skin.
荒木 忠雄	The effect of light on the luminous solution of <i>Cypridina hilgendorffii</i> .
内田清一郎	The polarographic micro-determination of the sulphhydryl groups of proteins.
平本 幸男	Propagation of contraction wave in single muscle fibres. I. Electrical stimulation.
玉重 三男	Membrane and sarcoplasm resistance in the isolated frog muscle fibre.
山田 眞弓	Description of two <i>Acyonium</i> from northern Japan.
山田 眞弓	An epizoeic athecate hydroid attached to the oyster body.