慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	アンスロン試薬によるトリプトファンの呈色反応に関する研究(第2報)
Sub Title	Studies on the coloration of tryptophan by anthrone reagent. II.
Author	中村, 勇蔵(Nakamura, Yūzō)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1962
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.6(1961)/7(1962) ,p.64- 66
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000006-0064

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

did not increase proportionally unless the amount of L-tryptophan was twice that of D-fructose.

アンスロン試薬によるトリプトファンの呈色反応に関する研究 (第2報)*

中村勇蔵

Studies on the Coloration of Tryptophan by Anthrone Reagent. II.

Yūzō NAKAMURA

著者は前報で，ヘキソースとの共存で，トリプトファンがアンスロン試薬により，特異的な呈色を示す反応について，反応条件の検討，糖の種類による吸光度の差異ならびに糖とトリプトファンとの量的比率をかえた場合の吸光度の変化等について得られた知見を報告したが，本報ではトリプトファン以外の通常自然界に見出される18種類のアミノ酸について，この呈色反応におよぼす影響を調べた．

グルコースのアンスロン試薬による呈色反応について，Morris[1] は蛋白質が共存しても影響はないと述べているが，既に Shetlar[2]，Tuller 等[3] および著者等の報告で明らかなように，トリプトファンが共存するときは 630 mμ における吸光度は減少し，530 mμ に吸収極大を有する呈色を生ずる．Tuller 等[3] は糖の本試薬による反応に際しアミノ酸の影響について，トリプトファンの他に，フェニルアラニンおよびチロジンについて試験した結果，フェニルアラニンは

Table I.

Sample	Wave length (mμ)			
	530	550	580	630
glucose	0.170	0.210	0.300	0.420
gln.+glycine	0.170	0.212	0.306	0.420
glu.+DL-alanine	0.165	0.229	0.303	0.416
glu.+DL-valine	0.165	0.215	0.317	0.431
glu.+DL-leucine	0.167	0.211	0.323	0.430
glu.+DL-isoleucine	0.171	0.210	0.305	0.414
glu.+L-serine	0.168	0.209	0.316	0.415
glt.+DL-threonine	0.165	0.204	0.300	0.410
glu.+L-phenylalannine	0.170	0.210	0.305	0.413
glu.+L-tyrosine	0.165	0.204	0.310	0.414
glu.+L-glutamic acid	0.162	0.202	0.310	0.421
glu.+L-aspartic acid	0.160	0.201	0.300	0.417
glu.+L-proline	0.180	0.218	0.308	0.410
glu.+L-hydroxyproline	0.180	0.212	0.300	0.408
glu·+DL-methionine	0.182	0.225	0.326	0.446
glu.+L-cysteine·HCl	0.168	0.210	0.307	0.428
glu.+L-arginine·HCl	0.160	0.203	0.321	0.433
glu.+L-lysine·HCl	0.158	0.210	0.326	0.429
glu.+L-histidine·HCl	0.165	0.205	0.313	0.430

1) D. L. Morris: Science **107**, 254 (1947). 2) M. R. Shetlar: Anal. Chem. **24**, 1844 (1952).
3) E. F. Tuller, N. R. Keiding: *Ibid.* **26**, 875 (1954).

*薬学雑誌 81 巻 6 号に発表

Table II.

Sample	Wave length (mμ)			
	530	550	580	630
glu.+DL-ttryptophan	0.580	0.480	0.330	0.370
glu.+try+glycine	0.582	0.477	0.325	0.367
glu.+try+DL-alanine	0.584	0.484	0.332	0.364
glu.+try+DL-valine	0.573	0.486	0.329	0.378
glu.+try+DL-leucine	0.570	0.486	0.331	0.375
glu.+try+DL-isoleucine	0.585	0.498	0.335	6.367
glu.+try+L-serine	0.570	0.497	0.344	0.370
glu.+try+DL-threonine	0.575	0.490	0.335	0.368
glu.+try+L-phenylalanine	0.586	0.497	0.333	0.365
glu.+try+L-tyrosine	0.574	0·491	0.340	0.370
glu.+try+L-glutamic acid	0.587	0.468	0.343	0.368
glu.+try+L-aspartic acid	0.582	0.479	0.333	0.366
glu.+try+L-proline	0.593	0.498	0.345	0.372
glu.+try+L-hydroxyproline	0.584	0.497	0.342	0.375
glu.+try+DL-methionine	0.573	0.480	0.342	0.395
glu.+try+L-cysteine·HCl	0.560	0.467	0.322	0.372
glu.+try+L-arginine·HCl	0.569	0.496	0.345	0.372
glu.+try+L-lysine·HCl	0.581	0.476	0.345	0.374
glu.+try+L-histidine·HCl	0.577	0.475	0.332	0.365

影響なく，チロジンが非常に弱い影響をのみ与えるにすぎないと述べていたが，他のアミノ酸については触れていない．

著者の実験では以下に述べるように，今回試験した各アミノ酸については，Table I，II から明らかように，グルコースに種々なアミノ酸を加えた場合の呈色反応ならびにグルコースとトリプトファンおよびトリプトファン以外の種々のアミノ酸を加えた反応の両反応に対する影響は格別認められなかつた．システインは Dische[4] により糖の硫酸分解成績体と呈色反応することが認められ，糖の比色定量にも応用されており，本反応に対する影響も予想されたが，結果はトリプトファン共存の場合の 350 mμ における呈色はやや低下させる傾向があるが，グルコースのみのアンスロン試薬による呈色反応には影響しなかつた．メチオニンはグルコースによる呈色をやや増大させることが認められるが，トリプトファン共存の場合の呈色には影響しない．

前報に述べたようにトリプトファンの L 型と D 型については反応結果に全く差異は認められなかつたので，本実験の結果も使用したアミノ酸の L 型と DL 型にる差はないものと考える．

以上のように，ヘキソース共存の時のトリプトファンのアンスロン試薬による呈色反応は他のアミノ酸により影響されることはなく，特異的反応であるといい得る．

実　験　の　部

前報 Table I-aの 条件すなわち 95 v/v% H_2SO_4 100 cc にアンスロン試薬 0.2 g をとかした液 4 ml D-にグルコース 50 γ およびこれに対応する mol 比の量のアミノ酸（例 D-グルコース 50 γ：L-トリプトファン 56.6 γ=1 mol：1 mol）を 2 cc 中に含む水溶液を加えて，10 min. 加熱反応させ，室温に冷却後日立 EPU 分光光度計を用いて吸光度の測定をした．

アミノ酸として下記のものを用いた．

4) Z. Dische：“Methods of Biochemical Analysis,” II, 313.

glycine, DL-alanine, DL-valine

DL-leucine, DL-isoleucine, DL-threonine, L-phenylalanine (日本化学薬品製)

L-serine, L-tyrosine, L-glutamic acid, L-aspartic acid, L-proline, L-hydroxyproline, DL-methionine, L-arginine·HCl, L-lysine·HCl, L-histidine·HCl (味の素製)

L-cysteine·HCl (和光純薬製)

以上の結果を Table I, II に示す. Table I はグルコースと各アミノ酸共存の 530, 550, 580 および630 mμ における吸光度を示し, Table II はグルコースおよびトリプトファンとトリプトファン以外のアミノ酸共存の場合の同様波長における吸光度を示す. 数値はメチオニンおよびシスティン·HCl 共存の場合は 10 回, 他のアミノ酸共存の場合は 3 回測定の平均値である.

Summary

The specific coloration of hexose with anthrone reagent, in the presence of tryptophan and changes in optical rotation were described in the preceding paper. The measure of optical rotation was carried out in the presence of amino acids other than tryptophan and it was found that other amino acid had almost no effect on this reaction.

アンスロン試薬によるトリプトファンの呈色反応 (第3報)*

中村勇蔵

Studies on the Coloration of Tryptophan by Anthrone Reagent. III.

Yūzō NAKAMURA

グルコースとトリプトファン共存時のアンスロン試薬による呈色反応で形成される色素の性質とその構造について検討した結果を報告する.

反応条件は第1報[1] Table I-a によつた. 第1報において, 加熱時間10分以上では呈色に著しい増大は認められないことを報告したが, 今回は沸騰水浴中の加熱時間を40分まで延長して比較した. その結果を Table I に示す. 検体量はおのおの 0.25 μmol とした. 本呈色反応の吸収極大波長 530 mμ における吸光度は加熱時間の増加に伴つて, 徐々に増大するのに対して, 糖のみにアンスロン試薬を作用させたときの吸収極大波長である 630 mμ に対する吸光度は次第に減少することが判つた.

Table I. Optical Density at 530 mμ and 630 mμ by Increasing of Heating Period

Heating period (min.) / Wave length (mμ)	10	20	30	40
530	0.502	0.520	0.545	0.568
630	0.298	0.245	0.232	0.227

グルコースおよびトリプトファン各 1 mg を含む水溶液 2 ml を検液として, 試薬中のアンスロン量を変えて加熱し, 冷却後 20 倍希釈して吸光度を測定した結果を Table II に示す. 検液

1) 中村: 薬誌81, 846 (1961) ; 本年報 58.

* 薬学雑誌 82 巻 5 号に発表.