

L-グルタミン酸のガンマ線分解—I.

結晶グルタミン酸より他種アミノ酸への変化*

鮫 島 宗 雄**

Gamma-Radiolysis of L-Glutamic Acid—I.

Radiochemical Changes from Crystalline L-Glutamic
Acid to Other Amino Acids

Muneo SAMESHIMA

Abstract

Crystalline L-glutamic acid has been radiolyzed by γ -rays in vacuo, and radiochemical changes from L-glutamic acid to other amino acids caused by decarboxylation have been studied.

Within the dose range from 10^7 to 10^8 rads, L-glutamic acid has been partially changed to α -amino-n-butyric acid. The yield of α -amino-n-butyric acid is almost linearly with the dose, and the G-value calculated is from 0.6 to 1.0.

G-value of carbon dioxide, result of decarboxylation of L-glutamic acid is almost equally to G-value of α -amino-n-butyric acid formation.

At a high dose, over than 10^8 rads, γ -amino-butyric acid has been formed as secondary product from α -amino-n-butyric acid.

放射線を利用する食品保蔵法は水産食品にも試みられ、次第に实用価値を高めつつある。しかし放射線の影響による栄養上有効な物質の分解、また異臭の発生が付随し、なお改良検討の余地が残されている。

アミノ酸の放射線による分解経過と分解機構は、含硫アミノ酸またはグリシン¹⁾、アラニン²⁾等については比較的良好に研究されているが、他のアミノ酸については未だ充分とはいえない。アミノ酸の放射線分解に関する研究法には、脱気条件下での結晶に対する直接効果と、試料を溶液として照射を行なう場合等の間接効果を含めた研究に分けることができる。

L-グルタミン酸は蛋白質構成アミノ酸のうちでも比較的存在量が多く、構造から見ても二塩基酸の特徴があり、その放射線分解経過には興味を持たれる。本実験はL-グルタミン酸に対するガンマ線の直接効果のうち、L-グルタミン酸が他のアミノ酸に変化する過程に関するものである。

実験方法

1. アミノ酸 ガンマ線照射試料用のL-グルタミン酸(以下Gluと略す)は和光純薬製特級品である。分解生成物確認のために使用したDL- α アミノ-n-酪酸, DL- γ アミノ酪酸

* 本報は昭和40年度日本水産学会九州支部大会(40年12月, 指宿)で報告した。

** 鹿児島大学水産学部生物化学研究室(Laboratory of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Kagoshima University)。

およびL-アスパラギン酸（それぞれ α ABA, γ ABA および Asp と略す）はいずれも関東化学製特級品である。

2. 照射用試料の調製 結晶アミノ酸はメノー乳鉢で磨砕し、100メッシュ以下の粒度にしたものを、硫酸真空デシケーターで一夜乾燥後使用した。試料アミノ酸を内径6.5~7.0mmの硬質ガラス管（ハリオガラス）に入れ、水銀拡散ポンプにて 10^{-5} mm Hg以下の減圧下で2時間以上脱気後密封した。なおこの間30分は試料入りガラス管を 80°C 前後に湯浴し、脱気を促進させた。密封されたアミノ酸量は約500mgで脱気前に精秤した。

3. ガンマ線照射 照射は北海道大学理工系放射性同位元素研究室の、Co-60, 3,000キュリーを線源とする照射装置で行なった。照射線量はRadocon (Victoreen製)で測定し、吸収線量は $G_{F_3^{3+}}=15.6$ とするFRICKE法³⁾により測定し算出した。

4. アミノ酸測定法 アミノ酸の分析は主として日立製KLA-3型アミノ酸分析計によった。

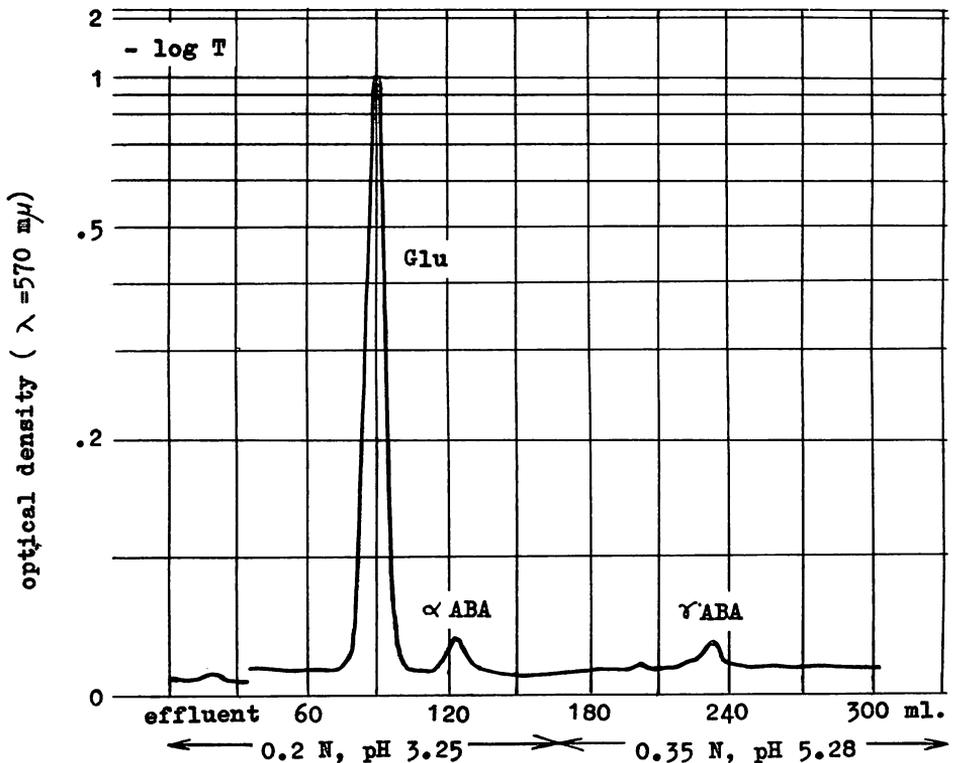


Fig. 1. Results of amino acids separation by column chromatography
 sample : γ -irradiated L-glutamic acid crystal (total dosage : 1.34×10^8 rads)
 sample concentration for analysis : $200 \mu\text{g./ml.}$ or 1.36μ mole
 column length : 15cm.
 resin : Amberlite CG-120 Type III
 buffer solution : citrate buffer solution
 column temperature : 50°C.

ガンマ線を照射した試料は開管後直ちに蒸留水に溶解し、100ml 定容とした後さらに pH 2.2 のクエン酸緩衝液にて 20 倍に稀釈し、その 1 ml を分析試料とした。本実験においては成分アミノ酸の種類が極めて少ないため、15cm カラムを使用する簡易法により満足する結果を得た。緩衝液の種類、アミノ酸の分離状況等は Fig. 1 に示した実験例の通りである。この外、定性のためにペーパークロマトグラフィ、薄層クロマトグラフィを併用した。

5. アンモニア測定法 アンモニア測定用の試料は、break off seal 付きガラス管に密封したものを照射した。照射終了後の試料アミノ酸は脱気管内で水に溶解した後 100ml 定容とした。測定法は CONWAY の微量拡散法に従った。一部の試料については NESSLER 試薬による比色法⁴⁾を併用したが、揮発性塩基の殆んど全てがアンモニアであることを確認したため、微量拡散法の測定結果をアンモニア量として表示した。

6. 二酸化炭素測定法 アンモニア測定用試料と同一の試料水溶液について、微量拡散法⁵⁾により二酸化炭素を測定した。

結果と考察

1. Glu 結晶のガンマ線分解 アミノ酸を脱炭酸した場合、単純アミノ酸ではそれに相当するアミンを生ずる。放射線による反応でも同様であるが、直接作用により結晶アミノ酸から別種のアミノ酸が生成した例は少ない⁶⁾。Glu は二個のカルボキシル基をもつため、そのうちの一個が分解する時に生成を予想される物質として、二種類のアミノ酸が挙げられる。一つは α 位の脱炭酸による γ ABA、もう一つは γ 位の脱炭酸による α ABA である。10⁷~10⁸ rad のガンマ線を受けた Glu から生ずる他種アミノ酸の生成状況は、Table 1 の如くである。表中の数値は、照射前の Glu 100 μ mole について生成する各アミノ酸量を μ mole で

Table 1. Changes from crystalline L-glutamic acid to other amino acids by γ -radiolysis in vacuo

dosage (rads)	amino acids and ammonia (μ mole)				
	defore irradiation	after irradiation			
	Glu	Glu	α ABA	γ ABA	ammonia
4.48 \times 10 ⁷	100.00	90.98	0.40	0.00	2.56
8.98 \times 10 ⁷	100.00	84.80	0.77	0.00	5.48
1.34 \times 10 ⁸	100.00	77.90	2.11	0.17	9.83

Glu : glutamic acid, α ABA : α -amino-n-butyric acid, γ ABA : γ -amino-butyric acid

表示したものであり、参考値として同時に生成するアンモニアの μ mole 数を併記した。アミノ酸として残存する物質は脱炭酸反応の結果によるものである。この物質の生成量と、脱アミノ反応によって生じたアンモニア量を比較すれば、アミノ基を基準として Glu のガンマ線分解経過を考察することができる。脱炭酸反応は、脱アミノ反応に較べてかなり弱いが、線量が 5 \times 10⁷ rad 以上になると明らかに α ABA の存在を認めることができた。Glu より α -ABA が生成する際の G 値は 0.6~1.0 と計算される。また 10⁸ rad 以上になると γ ABA の少量が測定された。

Glu から α -ABA の生成は γ 位の脱炭酸によらなければならない。これは水の存在下で行なわれる α 位脱炭酸とは全く機構を異にした反応である。一方 γ ABA の生成については、先ず α 位の脱炭酸反応が考えられるが、実験的には次に述べる異性化による説明の方が容易である。

2. α ABA および γ ABA のガンマ線分解 α ABA および γ ABA を Glu と同様にガラス管に脱気密封し、 1.34×10^8 rad の照射を行なったところ Table 2 の結果を得た。 α ABA からは3.40%相当の γ ABA を生じているが、逆に γ ABA からは α ABA を全く検出すること

Table 2. Changes from crystalline α -or γ -amino-butyric acid to other amino acids by γ -radiolysis in vacuo

original samples	dosage (rads)	amino acids and ammonia (μ mole)				
		before irradiation	after irradiation			
			Glu	α ABA	γ ABA	ammonia
α ABA	1.34×10^8	100.00	0.00	81.81	3.40	13.82
γ ABA	1.34×10^8	100.00	2.19	0.00	87.26	9.53

ができなかった。もちろん Glu から直接 γ ABA ができることも考えられるが、Glu から生成した α ABA の数%が二次的に γ ABA に異性化することは明らかであろう。しかしこの異性化には、カルボキシル基またはアミノ基の離脱と、それに続く結合が必要であり、単純な反応経過ではない。

3. 二酸化炭素の測定結果 前述の実験とは全く別途に行なったものであるが、脱炭酸反応の結果生成する二酸化炭素を、照射線量別に示すと Table 3 のようである。

Table 3. The yields of carbon dioxide from crystalline L-glutamic acid by γ -radiolysis in vacuo

dosage (rads)	glutamic acid and CO ₂ (μ mole)		
	before irradiation	after irradiation	
		Glu	Glu
7.86×10^7	100.0	83.9	0.87
1.18×10^8	100.0	78.1	1.61
1.57×10^8	100.0	71.9	2.90

Table 1 の α ABA および γ ABA 生成量と、Table 3 の二酸化炭素生成状況を一つの図にまとめたものが Fig. 2 である。これによって G_{ABA} が大略 G_{CO_2} に等しいことがわかる。

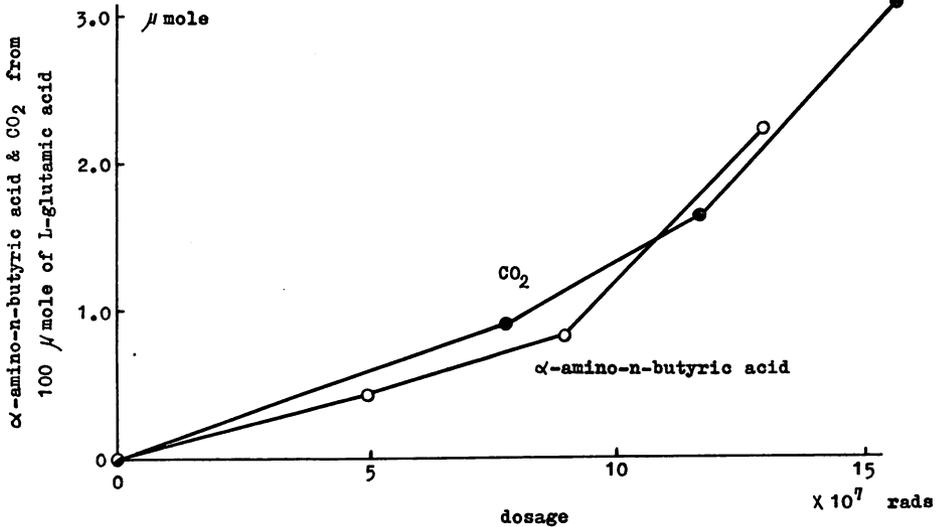


Fig. 2. The yields of α -amino-n-butyric acid and carbon dioxide from crystalline L-glutamic acid irradiated with γ -rays in vacuo

放射線のアミノ酸に対する直接効果に関する研究としては、SHIELDS⁷⁾, GORDY⁸⁾らが多くの照射アミノ酸の ESR パターンを検討し、遊離基の同定を試みている。この外にも遊離基に関する報告⁹⁾は多い。

MESHITSUKA ら¹⁰⁾は、GHOSH ら¹¹⁾, WEINER ら¹²⁾が照射グリシン結晶について ESR で得た基の変化を参考として、ガンマ線照射後のグリシン結晶を水溶液として分析し、反応収支、機構を検討している。これによると $\text{H}_2\text{N}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$ から脱アミノ反応によって $\text{CHO}\cdot\text{COOH}$, $\text{CH}_3\cdot\text{COOH}$, 脱炭酸反応によって $\text{CH}_3\cdot\text{NH}_2$ と微量の $\text{H}\cdot\text{CHO}$ の生成を説明している。グリシンの場合と同様の反応機構が Glu にも適用されると仮定すれば、脱炭酸反応によって α ABA, γ ABA のいずれかを生ずるはずであるが、本実験の結果から α ABA の出現を知ることができた。

Glu を水溶液試料として照射した場合には γ ABA は生成するが α ABA は出現しない¹³⁾。水の存否による反応の相異には、さらに機構のうえから説明を加えなければならない。

要 約

1. 結晶 Glu を脱気条件下でガンマ線照射し、脱炭酸反応の結果 Glu 以外のアミノ酸に変化する過程を研究した。
2. $10^7\sim 10^8$ rad の照射を加えると、Glu の一部は脱炭酸反応によって α ABA に変化した。その生成状況は線量に比例的であり、G 値は $0.6\sim 1.0$ と計算された。
3. 脱炭酸反応によって生ずる二酸化炭素量は、 α ABA の生成モル数にほぼ等しい。
4. 10^8 rad 以上に照射を継続すると、 γ ABA の微量を検出することができるが、これは α ABA からの二次的生産物であることを確認した。

終りに、本研究の御指導を賜わった北海道大学水産学部川原鳳策教授に深甚の謝意を表す。また研究費の一部は鹿児島大学援助会の援助金によるものである。付記し併せて謝意を表す。

文 献

- 1) MAXWELL, C. R., D. C. PETERSON, and N. E. SHARPLESS (1954) : *Radiation Research*, **1**, 530-545.
- 2) SHARPLESS, N. E., A. E. BLAIR, and C. R. MAXWELL (1955) : *Radiation Research*, **2**, 135-144 ; **3**, 417-422.
- 3) 日本放射性同位元素協会編 (1962) : “アイソトープ便覧” 567-568 (丸善, 東京).
- 4) 斉藤正行 (1952) : “光電比色計による臨床化学検査” 94-96 (南山堂, 東京).
- 5) 三宅泰雄・北野 康 (1960) : “水質化学分析法” 59-61 (地人書館, 東京).
- 6) RAJEWSKY, B., and K. DOSE (1957) : *Z. Naturforsch.*, **12**, **b**, 384-393.
- 7) SHIELDS, H., and W. GORDY (1958) : *J. Phys. Chem.*, **62**, 789-798.
- 8) GORDY, W., and H. SHIELDS (1956) : *Bull. Am. Phys. Soc.*, (**2**) **1**, 267.
- 9) 例えば YOSHII, G. (1963) : *Radioisotopes*, **12**, 286-292.
- 10) MESHITSUKA, G., K. SHINDO, A. MINEGISHI, H. SUGURO, and Y. SHINOZAKI (1964) : *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **37**, 928-930.
- 11) GHOSH, D. K., and D. H. WHIFFEN (1959) : *Mol. Phys.*, **2**, 285 ; (1960) *J. Chem. Soc.*, 1869.
- 12) WEINER, R. F., and W. S. KOSHI (1963) : *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 873.
- 13) 鮫島宗雄 : 昭和49年度日本水産学会九州支部大会にて口頭発表。