

Fig. 1. Relation between pH and incubation time (*Ascaris* body fluid)

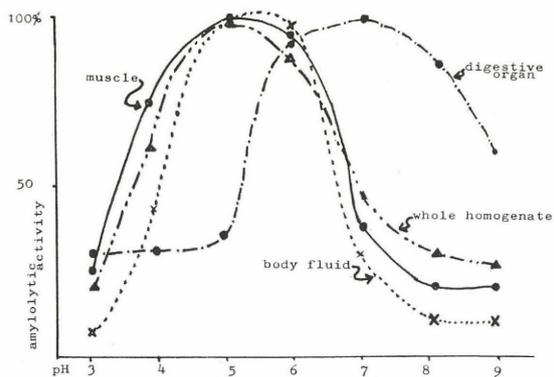


Fig. 2. pH relationship of amylolytic activity (*Ascaris*)

xymethyl cellulose 1.0 g, veronal buffer (pH 8.6) 250 ml, 蒸留水 250 ml の割合の組成で agar plate 上に厚さ 1.5 mm の薄層を作る。そして原点に crude enzyme をおいて、100 V, 40 mA, 60 分間電気泳動を行なう。その後 1.2% の溶性澱粉を含む buffer solution 中に室温下 10 分おく。更に 37°C, 30 分 incubate し、ヨード液と B. P.B. で酵素活性及び蛋白の泳動を別々の plate 上でしらべる。

実験成績

1. enzyme の性状

Table 2 で基質と crude enzyme と buffer とを 37°C で incubate する時間を 10 又は 30 分としたが、その活性度を示したものが Fig. 1 である。各 pH の buffer 中で体腔液の amylolytic activity を計ると 30 分 incubate す

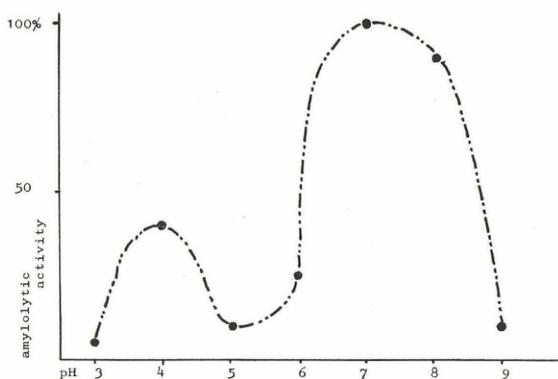


Fig. 3. pH relationship of amylolytic activity (*Anisakis* larva)

Table 4. Localization and relative activity of amylolytic enzyme

Enzyme source	Activity	Optimum pH.	Active pH range
<i>Ascaris</i> body fluid	100	5.0	4.0~9.0
Digestive organ	50	7.0~8.0	6.0~9.0
Muscle	26	5.0	4.0~9.0
Reproductive organ	≒0		
Whole worm	42	5.0	4.0~9.0
<i>Anisakis</i> larva whole worm	10	4.0 & 6.0~8.0	4.0~9.0

Table 5. Zymogram of *Ascaris* body fluid

No.	Fraction					
	1	2	3	4	5	6
1 ♀	++	++			±	
2 "	++	++	+	+	###	++
3 "	++	++	+	+	++	+
4 ♂	++	++	+	+	+	+
5 "	###	###	+	+	±	+
6 ♀	###	###	±	++	###	+
7 "	###	###	+	+	###	++
8 "	###	###			###	+
9 "	+	++			###	##
10 "	+	++	+	+	++	+

れば殆んど充分に計測出来ることを示した。以後活性は 37°C, 30 分 incubate する方法で測定した。蛔虫各組織の抽出液中の crude enzyme について pH と amylolytic activity とを比較したのが Fig. 2 である。筋層と全虫体の抽出液は pH 5 の所に至適 pH があり、体腔液もやや 6 の方にずれるが大体 5 の所にある。しかし消化管の抽出液の amylolytic activity のみは pH 7 の所に至適 pH がある。

一方 *Anisakis* 幼虫の抽出液では pH 4 と 7 の所に 2 つの activity の山が認められる。このことが Fig. 3 に

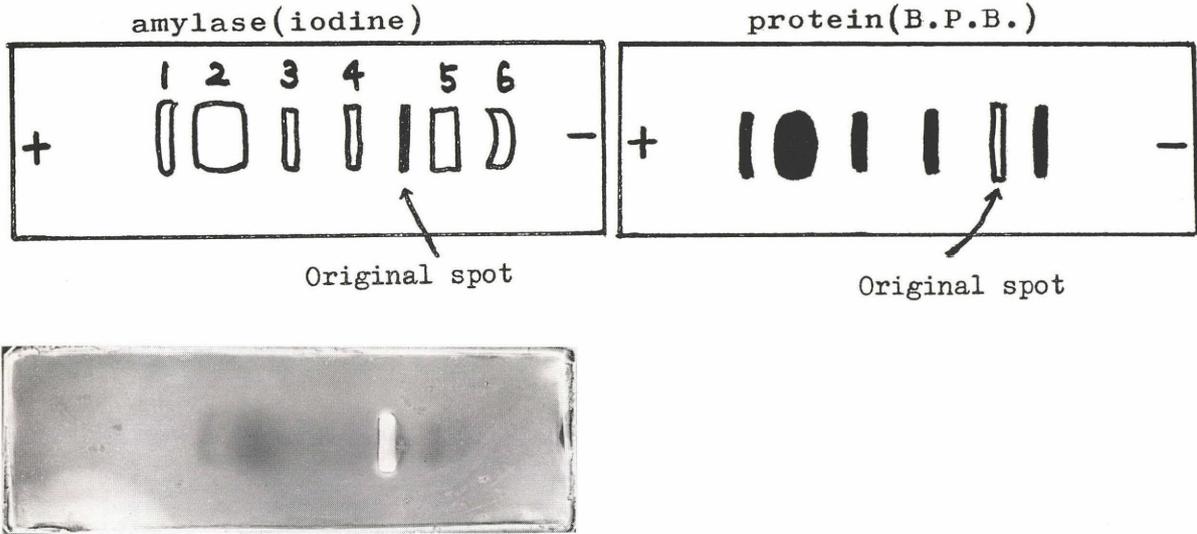


Fig. 4. Zymogram of *Ascaris* body fluid

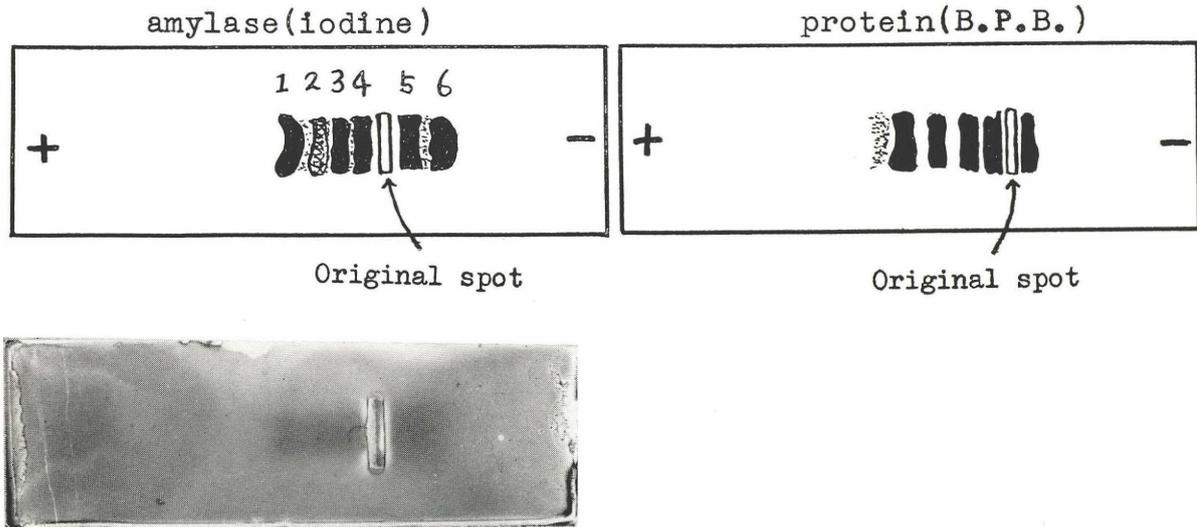


Fig. 5. Zymogram of *Anisakis* (larva)

Table 6. Zymogram of *Ascaris* and *Anisakis* larva

Enzyme source	Incubate pH	Fraction					
		1	2	3	4	5	6
<i>Ascaris</i> body fluid	5	+	++	-	-	###	##
	7	+	++	±	±	###	##
	9	±	+	-	-	###	+
whole worm	5	+	+	++	++	±	±
	7	+	±	-	-	++	-
	9	+	-	-	-	++	-
muscle	5	++	++	++	±	-	-
	7	-	++	+	+	-	-
	9	-	-	-	-	-	-
digestive organ	5	-	+	++	++	++	-
	7	-	+	++	++	++	-
	9	-	+	++	++	++	-
<i>Anisakis</i> whole worm (larva)	5	+	+	-	-	++	+
	7	-	±	-	-	++	+
	9	+	-	+	+	++	-

示されている。

蛔虫の各組織及び *Anisakis* 幼虫の抽出液について、amylolytic activity の強さと optimum pH 及び作用 pH 域を示したのが Table 4 である。活性度では体腔液を 100 とすると消化管 50、筋層 26 で生殖器には殆んど認められない。一方 *Anisakis* 幼虫の抽出液の活性度は 10 である。至適 pH は前述の様であるが作用 pH 域は体腔液が 4~9、消化管が 6~9、全虫体抽出液で 4~9、筋層が 4~9 であった。*Anisakis* 幼虫抽出液は作用 pH 域が 4~9 である。

2. zymogram

寒天 plate 上に電気泳動した場合の zymogram における amylase 活性の分画について蛔虫体腔液のものは Table 5 の様である。原点の陽極側 4 個と陰極側 2 個の活性を示す帯が見られる。Table 5 の様に蛔虫の個体によつて帯の大きさも異なるし、或いは欠いている部位もある。Fig. 4 の様に、1, 2, 3, 4, 5, 6 の部位に区分すると、大体 B. P. B 染色による蛋白の部位に一致していることがわかる。Table 5 で 3, 4 の部位の欠けているものや、6 の部位の欠けているものもある。1, 2 の部位は強い amylase 活性を示すことが多く、5 も強い活性が見られる。Fig. 5 では *Anisakis* 幼虫の抽出液について zymogram を同様に作製した。brom phenol blue 染色による蛋白の展開に相当した amylase 活性の部位が、蛔虫同様に 6 つ確認された。

Table 6 では蛔虫の各組織と *Anisakis* 幼虫抽出液について、pH 5, 7 及び 9 の場合の zymogram を作つて見た。体腔液では 1, 2 及び 5, 6 の部位に活性が強い。

しかし筋層では pH 9 では amylase 活性は計測出来ない。これに反して消化管では常に活性を示すのは 2, 3, 4, 5 の部位のみであった。

考 案

蛔虫や *Anisakis* に関する isozyme の研究業績は非常に少ない。しかも amylase の isozyme の仕事は皆無と思われる。荻田はイエバエの amylase-isozyme について次の様にのべている。すなわち陽極側に泳動される amylase A 群に A^a, A^b, A^c, A^d を区別し、陰極側に泳動される B 群, C 群, D 群が区別され、計約 10 の amylase-isozyme を有しているという。そして A^a, A^b, A^c, A^d は allelic isozyme であり、A 群と B, C, D 群とは hetero-isozyme の関係にあるという。しかも A 群内の isozyme 相互では夫々の抗血清に対して交叉反応を示すが、A 群と B 群では hetero の関係にあつて夫々の抗血清に対して交叉反応を示さないという。著者の蛔虫及び *Anisakis* の amylolase-isozyme の成績では 6 つの isozyme を何れの例でも見ることが出来、しかも陽極側に 4, 陰極側に 2 の isozyme が認められた。

結 語

著者は豚蛔虫の体腔液と各組織抽出液及び *Anisakis* 幼虫体抽出液について amylase-isozyme をしらべた。

1. pH と amylolytic activity との関係をしらべると、蛔虫筋層と全虫体の抽出液では pH 5 の所に至適 pH があり、作用 pH 域は 4~9 であった。蛔虫消化管の至適 pH は 7 で作用 pH 域は 6~9 であった。一方 *Anisakis* 幼虫抽出液の至適 pH は 4 と 7 の 2 カ所に peak が認められ、作用 pH 域は 4~9 であった。

2. 寒天 plate 上で電気泳動法で zymogram を作製すると、陽極側に 4, 陰極側 2 の isozyme が認められる。そして大体 brom phenol blue 染色による蛋白の染色帯に一致して isozyme が存在している。蛔虫体の個体差が認められ、ある個所の isozyme の欠除している虫体例がある。

3. *Anisakis* 幼虫体の amylase-isozyme も蛔虫体のものと似ている。

本研究は岐阜大学医学部寄生虫学教室小林瑞穂助教授の御指導によるもので、ここに感謝の意を表する。

引用文献

- 1) 平岡義雄(1966): 蛔虫体腔液の酵素作用について

- て(2). 寄生虫誌, 15(3), 201-207.
- 2) 荻田善一(1965): ヒトにおける isozyme の遺伝生化学的研究に関する方法論的考察. 代謝, 2(8), 624-636.
- 3) 谷口正明(1966): *Anisakis* の研究 (1), 抗原性. 寄生虫誌, 15(6), 502-506.

Abstract

STUDIES ON *ANISAKIS* II. ON AMYLASE-ISOZYME

MASAAKI TANIGUCHI

(Department of Parasitology, School of Medicine, Gifu University, Gifu)

In the previous work (Taniguchi, 1966) the author reported that larval *Anisakis* (Type I) from a horse mackarel and *Ascaris* from man and pig share a cross-reacting antigen. The present work deals with the occurrence of amylase-isozyme in *Anisakis* extract, resembling that in *Ascaris* extracts in the pH range where it is active and in the pattern on their zymogram. Results obtained are summarized as follows:

1) Amylase activity in the extracts of *Ascaris* muscle and its whole body was observed in the pH range of 4.0-9.0 with the maximum activity at pH 5.0 while that of its alimentary tract was in the range of 6.0-9.0 with the maximum activity at pH 7.0. In the extract of *Anisakis* larvae it is demonstrated at the pH range of 4.0-9.0 with the maximum at pH 4.0 and 7.0.

2) The fractionation of the extracts showing an amylolytic activity was carried out on agar plate by electrophoresis technique, in veronal buffer at pH 8.6 for 60 minutes at 100 volts. Six distinct protein systems (bands) stainable for brom phenol blue in *Ascaris* body fluid and 6 in *Anisakis* larva extract were shown on the plate. Six bands simultaneously detected on the zymogram were found corresponding to each of above-mentioned protein systems. Some of the bands on zymogram as well as those in protein electrophoresis of *Ascaris* body fluid occasionally failed to appear on the plates, which may presumably due to the variety of worms used.

寄生虫学雑誌 (Japanese Journal of Parasitology) Vol. 16 No. 2, 1967
 昭和 42 年 3 月 25 日印刷・昭和 42 年 4 月 1 日発行
 編集兼発行 日本寄生虫学会
 印刷所 一ツ橋印刷株式会社
 学会事務所 東京都品川区上大崎 2-10-35 国立予防衛生研究所内
 電話 白金 (441) 2181 内線 404 (編集), 405 (会計)
 振替口座 東京 1451