

魚類インシュリンの研究：（第1報）インシュリン の抽出について

立野, 新光
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/21333>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 14 (4), pp.571-579, 1954-09. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

魚類インシュリンの研究

(第1報) インシュリンの抽出について

立野 新光

Studies on the insulin of fishes. 1.
On the extraction of insulin from fishes.

Shinko Tachino

I. 緒 言

抽出はインシュリンの製造に於ける最も重要な工程であつて、その方法の良否、その巧拙はインシュリンの研究に於ては勿論、インシュリンの生産工業に於て基本的な重要性をもつものである。魚類のランゲルハンス氏島（以下ラ氏島と略記す）よりインシュリンの抽出については既往の文献によれば大体3つの方法に分類することができる。すなわち、(1)水溶液にて処理せるもの、(2)酸性アルコールを用いるもの、(3)ピクリン酸及びアセトンを使用せるもの等である。しかし以上の3つの方法の中で現在行われている方法は(2)及び(3)であるから、この2つの方法について検討を試み且つ著者の行つた研究について報告する。

II. 実験及び考察

1. 酸性アルコール法及びアセトン・ピクリン法

1) 酸性アルコール法 1922年 Banting and Best¹⁾ が含水アルコールを用いて家畜の膵臓よりインシュリンの抽出に成功し、更に彼等²⁾ は Collip の協力を得て酸性アルコールを用いトリプシンの作用を抑制して強力なインシュリンを抽出する方法を考察して以来、McCormick^{3, 4, 5)} はこの方法を Codfish, Pollack, Haddock 及び Halibut のラ氏島に應用してこれ等のラ氏島 1g より 11.3~28.3 KIE* のインシュリンを抽出し、魚類のラ氏島は哺乳動物の膵臓に比し極めて濃厚にインシュリンを含有することを明らかにした。現在酸性アルコール抽出法には種々あるが、Best, Jephcott, Scott 法⁶⁾ が最も優れていると言われている。その方法は次の如くである。

摺潰した新鮮な原料 25g に対してエタノール 75 cc, 水 25 cc, 濃塩酸 1.5 cc の割合から成る混液を加え 36°C の水浴中にて2時間暖めながら振盪して後濾過する。同様の操作をもう一度繰返して抽出を行い、濾液は合してアンモニヤで少しくアルカリ性となし生ず

* KIE = 臨床単位。

る沈澱を濾別し、濾液を pH 2 とし 35°C, 減圧でエタノールを駆逐した後蒸留水を加えて 250 cc とす。この溶液に全液の 15% まで食塩を加えれば有効成分が析出する。これを濾別しアルコールとエーテルで洗つて乾燥する。

2) アセトン・ピクリック法 1923年 Dudley⁷⁾がインシュリンの精製を目的としてこの方法を考案したのであるが 1924年彼⁸⁾は鱈のラ氏島にこの方法を直接応用し非常に効果的であることを認めた。同じ頃, Dodd and Dickens⁹⁾もピクリック法を研究し、一般の蛋白質のピクリン酸塩は含水アルコール或は含水アセトンには殆ど溶解しないがインシュリンのピクリン酸塩は溶解することを発見した。かくて Dudley⁸⁾は彼の考案したアセトン・ピクリック法を用いて Codfish のラ氏島 1g より 40 KIE という当時に於ては他に類例のない好結果を得たのである。その方法は次の如くである。

鱈より摘出したラ氏島(試験に用いた鱈の尾数は 108 尾, ラ氏島の全重量は 9.6 g であつた)を飽和ピクリン酸液中に投入しピクリン酸を完全に島組織に浸透せしめた後ピクリン酸液から取り出し、これを細かく切つて乳鉢中に移し、ピクリン酸及びピクリン酸飽和溶液と少量の珪砂とを加えよく摺り潰し再びピクリン酸飽和溶液に返す。1 昼夜放置してピクリン酸液を濾し去り、細砕された島組織に少量の 75% アセトンを加え乳鉢中にて磨細しながら抽出する。同様の操作を数回繰り返し完全に抽出を行う。抽出液は合して低温減圧にてアセトンを蒸発除去するとインシュリンのピクリン酸塩は脂肪と共に析出して来るから、これを集め遠心分離して溶液と分ち、この沈澱を純エタノール 75 分, 3N 塩酸 25 分の混液 5 cc に溶解せしめる。なお 5 cc の混液にてフラスコを洗滌し前の液に加え不溶解物質は遠心分離して除去し、上澄液を 200 cc の純アセトン中に注ぎ込む。インシュリンの塩酸塩は白色の沈澱として析出するから、これを濾し取りアセトンとエーテルにて洗滌して乾かす。塩酸塩として収量 0.126 g, ラ氏島 1g に対し 40 KIE であつた。

上記の 2 方法は同時代の研究であるが、研究者が異つていてのでいずれが優れた方法であるかは充分明らかでない。それで著者は鱈 (*Kaisuwonus vagans*) のラ氏島を原料とし 2 つの方法に従つてインシュリンの抽出を行い第 1 表のような結果を得た。但しこの試験に於て減圧でインシュリンを乾燥し、粉末インシュリンの力価の測定は Marks 法を用い、単位は国際単位 (IE) で表示した。

第 1 表. 抽出方法を異にせる場合のインシュリンの収量.

供試ラ氏島		抽出方法	粉末インシュリン		インシュリンの収量		
個数 (個)	重量 (g)		収量 (mg)	力価 (IE/mg)	全収量 (IE)	ラ氏島 1 個当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)
100	5.5	酸性アルコール法	56.3	4.5	253.3	2.5	46.0
100	5.7	アセトン・ピクリック法	78.2	8.0	625.6	6.2	109.8

第 1 表の如く著者の研究によれば、魚類のラ氏島よりインシュリンを抽出する場合にはアセトン・ピクリック法 (Dudley 氏法) は酸性アルコール法より遙かに優秀である。即ちインシュリンの全収量及び粉末インシュリンの力価はアセトン・ピクリック法は 625.6 IE, 8.0 IE/mg であるが、酸性アルコール法は 253.3 IE, 4.5 IE/mg であつて、ラ氏島 1g 当

の収量は前者は後者の2倍以上である。抽出操作の上から言つても Dudley 氏法は比較的簡単であるが酸性アルコール法の場合は食塩による塩析が困難で操作中に多量のインシュリンが逸脱するものと考えられる。遠山等¹⁰⁾も Dudley 氏法をそのまま応用し鰹ラ氏島 1g より 109.00~136.10 IE のインシュリンを得ているし、長沢等¹¹⁾は Dudley 氏法を少し改良して鰹ラ氏島 1g より 137 IE を得ている。このように研究者によつてその結果に多少の相違はあるが、魚類のラ氏島よりのインシュリン抽出にはアセトン・ピクリック法が最も適当な方法と思われる。

2. ピクリン酸にて固定せるラ氏島よりインシュリンの抽出

ラ氏島は魚港に於て或は加工工場に於て魚体より抽出せられ、一般にピクリン酸漬として実験室に運ばれるのである。このピクリン酸にて固定されたラ氏島よりインシュリンの抽出については Dudley 氏法^{7,8)}の含水アセトンによる抽出以外には全然抽出法に関する研究はない。著者はメタノール、エタノール、アセトンを用い次の方法によりインシュリンのピクリン酸の抽出の研究を行い第2表の如き結果を得た。

実験方法 ピクリン酸溶液中に貯えられたラ氏島 100 個を採り、濾紙上に約 10 分間放置せる後秤量して乳鉢中に移し、珪砂 1g と混じて摺り碎き、初め 80% のメタノール（或はエタノール、アセトン）を用い攪拌して抽出を行い、遠心分離により抽出液を分ち、残渣には 75% のメタノール（或はエタノール、アセトン）を注加し前回と同様抽出を行う。前後2回の抽出液は合して 40° C 減圧で、用いた抽出剤を駆逐せしめ、析出する沈澱は遠心分離して溶液と分ち、これにエタノール 75 分、1N 塩酸 25 分から成る酸性混液 20 cc を加えて沈澱を硝子棒で碎きつつ攪拌して出来るだけ溶解せしめ、不溶部分を遠心分離して除き上澄液は 93% アセトン中に徐々に注入する。生ずるインシュリンの塩酸塩の白色沈澱は沈澱管に集め、遠心分離してアセトンと分ち、更にアセトン及びエーテルにて洗滌し減圧中にて乾燥する。

第2表 抽出剤を異にせる場合のインシュリンの収量。

供試ラ氏島 個数 (個)	重量 (g)	抽出剤	酸性混液	沈澱 剤	粉末インシュリン		インシュリンの収量		
					収量 (mg)	力価 (IE/mg)	全収量	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)
100	4.3	メタノール	塩酸+ エタノール	アセ トン	15.3	4.0	61.2	0.6	14.2
100	4.3	エタノール			57.2	10.0	572.0	5.7	133.0
100	4.1	アセトン			68.5	9.0	616.5	6.1	150.4

この実験に於て抽出せる溶液はメタノールは黄色、エタノールは赤褐色、アセトンは赤褐色を帯び、溶剤駆逐に際してはエタノールは泡を発生して困難を感じた。インシュリンの抽出量はアセトンが最も優れ、エタノールはアセトンに僅か劣るが、メタノールは 1/10 に過ぎない。得られた粉末インシュリンの力価はエタノール抽出がよく、アセトン抽出はやゝ低くメタノール抽出は非常に悪かつた。

アセトンがインシュリンのピクリン酸塩に対する抽出力の大きなる理由は、元来アセトンは浸透性の強い上に油脂類をよく溶解するを以て、ラ氏島中の脂肪様物質を溶解し、これと共にインシュリンのピクリン酸塩を溶媒中に溶出せしめるものと思われる。一般に抽出後の抽出液の褐色の度の強いもの程インシュリンの抽出量が多い。それは黒褐色の物質はアセトンに溶解性の脂様物質である点から考えてこのことが言われるのである。之に反しエタノールは脂様物質を溶解する力がないのでインシュリンを圍繞する脂様物質を溶解しないがインシュリンのピクリン酸塩を溶出する力が強い。従つてエタノールの抽出液はアセトンの場合より褐色の度が遙に低く、その割合に抽出されるインシュリンの量が多く品質もよい。メタノールは脂様物質に対する溶解力がなく、インシュリンのピクリン酸を溶解する力も乏しいものと思われる。

3. インシュリンの沈澱剤

Banting, Best, Collip 等¹³⁾ は含水エタノールを用いて家畜の脾臓よりインシュリンを抽出した際、インシュリンを沈澱せしめるため一旦エタノールを駆逐して不純物を除去した後、これに 95% になるまでエタノールを加えてインシュリンを沈澱せしめている。その後インシュリンは硫酸アンモニヤ或は食塩にて塩析されることが判明して以来、一般に塩析法にてインシュリンを析出せしめるようになった。然し魚類ラ氏島より酸性アルコールにて抽出せる湿潤状態の粗インシュリンは、哺乳動物の脾臓より抽出せるものと異り、非常に吸湿性が強いいため塩析は完全に行われず、塩析せるインシュリンは器壁に附着して操作が困難となるためその収量は極めて悪い。それ故に著者はメタノール、エタノール及びアセトンに対するインシュリンの沈澱状態を研究し第3表の如き結果を得た。

第 3 表. 沈澱剤を異にせる場合のインシュリンの収量.

供試ラ氏島 個数 (個)	重量 (g)	抽出 剤	酸性混液	沈 澱 剤	粉末インシュリン		インシュリンの収量		
					収量 (mg)	力価 (IE/mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当り (IE)
100	4.6	75% アセ トン	塩酸+エタ ノール	98% メタノール	42.5	6.5	276.2	2.7	60.0
100	4.4			98% エタノール	—	—	—	—	—
100	4.3			98% アセトン	78.4	9.0	705.6	7.0	16.4

上表によれば魚類の粗インシュリンはアセトンにてよく沈澱するがエタノールにては全く沈澱を起さない。沈澱剤の pH とインシュリンの溶解度との関係については Blatherwick 等¹³⁾ Fenger and Wilson¹⁴⁾ の研究があるが、彼等が酸性ではインシュリンは 93% のエタノールに完全に溶解すると述べているところをみると、この研究に於てインシュリンが 98% のエタノールで沈澱しなかつたのは酸性混液中の塩酸のためと思われる。然しアセトンの場合は酸性でもよくインシュリンを沈澱せしめる。メタノールの場合にはアセトンの場合の約 1/2 のインシュリンを沈澱させるが力価は遙に劣る。この結果から魚類インシュリン製造の際の沈澱剤としてはエタノールは全く使用不可能であり、メタノールも困難であつて、結局アセトンのみが優良な沈澱剤である。

4. 酸性混液

アセトンにて抽出したインシュリンのピクリン酸塩を塩酸塩にするために用いる酸性混液としては Dudley⁹⁾ はエタノール 75 分と 3N 塩酸 25 分とから成る混液を用いているが、Charles and Scott¹⁰⁾ によれば 0.5 ~ 2N 塩酸酸性のエタノールではインシュリンの効果が破壊されると言うので、著者はアセトン 80 分、1N 塩酸 20 分の混液を用いることにより操作上及びインシュリンの収量の点で極めて良好な結果を得た。長沢等¹¹⁾ は著者と同じくエタノールの代りにアセトンを用いることを推奨しているが、同氏の方法はアセトンと塩酸とを混合せず別々に加えるのである。Dudley のエタノール混液を用いるときはエタノールがインシュリンのピクリン酸塩中に夾雑している脂様物質に妨げられてインシュリンの溶解が完全に行われぬし、長沢の如くアセトンと塩酸とを別々に加えるときは多量のアセトンを必要とするのみならず、生ずるインシュリン塩酸塩は不純物を含むことが多く、優良な製品を得ることは困難である。Dudley の混液と著者の混液を用いた場合の相違は第4表の如くである。

第4表. 酸性混液を異にせる場合のインシュリンの収量

供試ラ氏島 個数 (個)	重量 (g)	酸性混液の種類	粉末インシュリン		インシュリンの収量			操作温度 (°C)
			収量 (mg)	力価 (IE/ mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)	
100	4.70	(Dudley) エタノール75分+3N塩酸25分	75.5	10	755.0	7.5	160.6	10~12
100	4.60	(著者) アセトン80分+1N塩酸20分	73.0	11	803.0	8.0	174.0	10~12
100	4.52	//	90.1	11	991.1	9.9	219.2	45

即ち Dudley のエタノール混液を用いるよりも著者のアセトン混液を用いる方が粉末インシュリンの収量が多いのみならず力価も高い。Dudley は常温でこの操作を行い、長沢等は低温を主張しているが、著者は上表の如くアセトン混液を加え 45°C に数分保ち、よく攪拌した方が操作上及び収量の点で好結果を得ている。なお混液のアセトン濃度が増加するにつれ、得られる粉末インシュリンの力価が上昇するけれども、収量は減少する傾向がある。

5. アセトンの濃度とインシュリンの抽出との関係

Dodd and Dickens⁹⁾ はアセトン・ピクリン法を用い家畜の脾臓よりインシュリンの抽出を研究し、脾臓のインシュリンのピクリン酸塩は 70% の含水アセトンに最もよく溶解すると報告している。魚類のラ氏島よりアセトン・ピクリン法にて抽出する場合、Dudley は試料の 15 倍量の 75% アセトンを、長沢等は試料の 6 ~ 40 倍量の 70% アセトンを使用しているが、抽出に適当な濃度については詳しい研究がない。著者は Dodd and Dickens に倣い魚類のラ氏島のインシュリンのピクリン酸塩はどの程度の濃度のアセトンで最もよく抽出されるかを研究し第5表の如き結果を得た。

第 5 表. アセトンの濃度とインシュリンの抽出量.

供試ラ氏島		アセトン (抽出液) の濃度 (%)	粉末インシュリン			インシュリンの収量		
個数 (個)	重量 (g)		収量 (mg)	ラ氏島に 対し(%)	力 価 (IE/mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)
100	4.1	50	45.7	1.11	6.0	274.2	2.7	66.8
100	4.2	60	70.7	1.68	8.2	580.0	5.8	134.8
100	4.4	70	75.1	1.70	9.0	675.9	6.7	163.6
100	4.3	80	62.6	1.45	10.5	657.3	6.5	152.8
100	4.0	90	56.3	1.40	11.0	619.3	6.1	154.7

即ち 50% のアセトンでは粉末インシュリンの抽出量は少ないが 60~70% で最も多い。アセトンの濃度が高くなるにつれて抽出液中の浮遊物質が少くなり抽出液の分離が容易になる。従つて抽出される粉末インシュリンの収量はアセトン 70% 以上ではアセトンの濃度が高くなるにつれて次第に減少するが力価は上昇する。抽出に用いられるアセトンの濃度が 70% 以上 90% では抽出されるインシュリンそのものの量は大体に於て大差がない。

著者は以上の実験結果及びラ氏島の性質から考えて、ピクリン酸にて固定せるラ氏島に直に 75~80% のアセトンを注加するよりも、初め 90% 以上のアセトンを加えて島組織の脂様物質及び附着せるピクリン酸を溶解せしめた後、75~80% のアセトンにて処理する方が合理的であるとの考えの下に実験を行い、第 6 表の如き良好な結果を得た。

第 6 表. インシュリン抽出の一新法.

抽出法	供試ラ氏島		アセトン(抽出剤) の濃度 (%)	粉末インシュリン		インシュリンの収量			
	個数 (個)	重量 (g)		収量 (mg)	力 価 (IE/mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)	
著者の方法 (一新法)	100	48.7	第 1 回抽出	98	761.4	11	10358.1	10.8	222.9
			第 2 回抽出	75	225.7				
Dudley の 方 法 (対 照)	100	51.6	第 1 回抽出	75	732.6	10	8706.0	8.7	168.7
			第 2 回抽出	75	138.0				

即ち著者の方法はラ氏島 1g 当りの収量に於ても、粉末インシュリンの品位についても Dudley の方法より優れている。

6. 抽出温度

アセトンを用いラ氏島中のインシュリンのピクリン酸塩を抽出する際の温度については基礎的な研究が見当たらない。長沢等¹¹⁾は可及的低温を主張し、Dudley¹²⁾は温度に関しては無関心であり、遠山等¹⁰⁾も常温で抽出しているが、彼等は理論的根拠もなく、インシュリンは一般に熱に対して弱いものであるとの観念の下に取扱つている。しかしこの問題は

インシュリン製造に於て重要な意義を持つものであるから、著者は 80% のアセトンを用いピクリン酸に固定せるラ氏島より 20°C, 30°C, 40°C, 60°C の温度に於て 10 分間抽出を行い第7表の如き結果を得た。

第7表. 抽出温度とインシュリンの収量.

抽出条件 (80%アセトン)		供試ラ氏島		粉末インシュリン		インシュリンの収量		
温度 (°C)	時間 (分)	個数 (個)	重量 (g)	収量 (mg)	力価 (IE/mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)
20	10	100	4.1	64	10	640	6.4	156
30	"	100	4.0	66	10	660	6.6	165
40	"	100	3.9	78	10	780	7.8	200
50	"	100	4.2	75	10	750	7.5	178
60	"	100	4.0	51	5	255	2.5	63

即ち 80% アセトン, 10 分間の加熱ではインシュリンのピクリン酸塩は 50°C までは加熱によつて破壊を受けることはないが 60°C の沸騰温度では 2/3 破壊される。40°C までは温度の上昇に伴いインシュリンの抽出量が多くなるのは、ラ氏島中には 30°C 以下ではアセトンにても溶解困難な脂様物質が存在しインシュリンの溶解を妨害しているが、加熱と共に溶解し易くなり従つてインシュリンはアセトンに移行するものと考えられる。然し 45°C 以上では微細な物質が抽出液中に多量浮遊し、抽出液の分離に困難を感ずるのみならず、アセトン駆逐に際し発泡して操作が困難となる。それ故に 40°C 前後がインシュリンのピクリン酸塩を抽出するのに最適の温度である。

著者は更にエタノール及びアセトンを用い次の如き方法によつて温浸法を行い、温浸法が冷浸法に優ることを明らかにした。

実験(1) エタノールによる温浸法 ピクリン酸飽和溶液中に貯蔵せるラ氏島 200 個を採り、乳鉢中にて珪砂 1g と共によく摺り碎き、これを逆流冷却器を附した内容 500 cc の丸底フラスコに移し 80% エタノールを加え、湯煎中に攪拌しながら 40°C にて 20 分間抽出を行う。次に冷却前に遠心分離して抽出液は減圧、40°C にてエタノールを駆逐し、生ずるインシュリンの塩酸塩の沈澱を集めて遠心分離して溶液を棄て去り、これに純エタノール 80 分 1N 塩酸 20 分より成る混液を加えて硝子棒にて沈澱を碎きつつ攪拌して溶解せしめ、不溶部分は遠心分離して除き、上澄液を 500 cc の純アセトン中に注入する。

第8表. 抽出温度の相違によるインシュリンの収量(エタノール).

抽出法	供試ラ氏島		抽出温度 (°C)	粉末インシュリン		インシュリンの収量		
	個数 (個)	重量 (g)		収量 (mg)	力価 (IE/mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)
温浸	200	9.6	40~55	186.2	11.0	2048.2	10.2	213.3
冷浸	200	8.8	5~8	138.1	10.5	1450.0	7.2	164.7

インシュリンは白色の沈澱として析出するを以て、沈澱を集め遠心分離し、無水アセトンにて2回洗滌して後減圧乾燥を行う。別に対照試験として、8°C以下にて同様の方法により抽出を行い第8表の如き結果を得た。

実験(2) アセトンによる温浸法 前記のラ氏島 400個を採り、アセトンを用い実験(1)と同様の方法にて温浸と冷浸を行い第9表の如き結果を得た。

第9表. 抽出温度の相違によるインシュリンの収量(アセトン).

抽出法	供試ラ氏島		抽出温度 (°C)	粉末インシュリン		インシュリンの収量		
	個数 (個)	重量 (g)		収量 (mg)	力価 (IE/mg)	全収量 (IE)	1尾当 (IE)	ラ氏島 1g 当 (IE)
温 浸	200	9.5	40~55	240.0	10.0	240.0	12.0	252.6
冷 浸	200	9.1	5~8	179.0	10.0	179.0	8.9	196.7

以上の実験結果からインシュリンのピクリン酸塩の抽出に於いては、抽出剤としてエタノール或はアセトンを用いる場合は温浸法が冷浸法に優るものである。

摘 要

1) 魚類のラ氏島よりインシュリンを抽出する方法として現在行われている酸性アルコール法とアセトン・ピクリン法とについて検討した結果、アセトン・ピクリン法が優れていることを確認した。

2) ピクリン酸で固定したラ氏島よりインシュリンのピクリン酸塩を抽出するには80~90%のアセトンが効果的であり、インシュリンの塩酸塩の沈澱剤としては98%のアセトンが好適であつた。

3) インシュリンをピクリン酸塩から塩酸塩に変化せしめるために用いる酸性混液は、アルコール 75分, 3N塩酸 25分から成る Dudleyのものよりも、アセトン 80分, 1N塩酸 20分から成る著者の混液が、操作上からも、得られるインシュリンの収量及び品質からも優秀であつた。

4) インシュリンのピクリン酸塩の抽出およびインシュリンのピクリン酸塩から塩酸塩に変化せしめる際、40°Cに加熱することがインシュリンの収量の点で非常に効果的であつた。

参 考 文 献

- 1) Banting, F. G. and C. H. Best: J. Lab. Clin. Med., 7, 464 (1922).
- 2) Banting, F. G. and C. H. Best: Trans. Roy. Soc. Canada, 16 (1922).
- 3) McCormick, N. A.: Trans. Roy. Canad. Inst., 15 (1924).
- 4) McCormick, N. A.: Bull. Biol. Board Canada, 1924 Dec.
- 5) McCormick, N. A. and E. C. Noble: J. Biol. Chem., 59, Proc. XXIX (1924).

- 6) Best, C. H., Jephcott, C. M. and D. A. Scott: *Am. J. Physiol.*, **100**, 285 (1932).
- 7) Dudley, H. W.: *Biochem. J.*, **17**, 376 (1923).
- 8) Dudley, H. W.: *Biochem. J.*, **18**, 665 (1924).
- 9) Dodds, E. C. and Dickens: *Brit. J. Exp. Path.*, **5**, 115 (1924).
- 10) 遠山, 鉄本, 福屋, 山田: *日本農芸化学会誌*, **17**, 11 (1941).
- 11) 長沢佳徳, 近藤政次郎: *薬学雑誌*, **62**, 5 (1942).
- 12) Banting, F. G., Best, C. H., Collip, J. B. and J. J. R. Macleod: *Trans. Roy. Canada*, **16**, 1 (1922).
- 13) Blatherwick, N. R. *et al*: *J. Biol. Chem.*, **72**, 51 (1927).
- 14) Fenger, F. and R. S. Wilson: *J. Biol. Chem.*, **59**, 83 (1924).
- 15) Charles, A. F. and D. A. Scott: *J. Biol. Chem.*, **92**, 289 (1931).

Summary

(1) The acid-alcohol process and the acetone-picric process have been used for the extraction of insulin from the Langerhans' islets of fishes. Of these two processes, the author found that the latter was more suitable.

(2) As the extracting medium of insulin-picrate from the islet fixed with picric acid, 80~90% acetone was the most effectual, and as the precipitant of insulin-hydrochloride, 98% acetone was the most desirable.

(3) The author's acidic mixture, composed of 80 parts of acetone and 20 parts of 0.1N hydrochloric acid, gave higher potency of insulin and better yield of it than Dudley's mixture and also had the advantage of making the process easier and more rapid.

(4) The author had the best result by heating at 40°C both in the case of extracting insulin picrate from fish islets and in that of converting it to the hydrochloride.