

## Impact-Cell-Mill(ICM)による単細胞タンパク質の抽出について(第4報) : 核酸類とタンパク質の分離

早川, 功  
九州大学農学部食品製造工学教室

安松, 睦郎  
九州大学農学部食品製造工学教室

野村, 男次  
九州大学農学部食品製造工学教室

<https://doi.org/10.15017/23135>

---

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 27 (3/4), pp.139-146, 1973-07. 九州大学農学部  
バージョン :  
権利関係 :

# Impact-Cell-Mill (ICM) による単細胞タンパク質 の抽出について (第4報)

## 核酸類とタンパク質の分離

早川 功・安松睦郎\*・野村男次

九州大学農学部食品製造工学教室

(1973年1月9日受理)

### On an Isolation Method of Protein from Single Cell by Impact-Cell-Mill (ICM)

#### Part. 4 Isolation of Nucleic Acid and Protein from Single Cell

ISAO HAYAKAWA, MUTSUO YASUMATSU\*  
and DANJI NOMURA

Laboratory of Food Technology, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka

## 緒 言

著者らはタンパク質資源の開発を目的として、石油資化性酵母、クロレラ、並びにパン酵母などから既存の方法とは異なる物理的な衝撃作用を用いて微生物タンパク質の連続的大量処理方法を開発した(早川・稲神, 1972 a ; 早川・稲神, 1972 b ; 早川・Khai・野村, 1972)。一方、これらの単細胞生物は核酸類をも多量に含有しており、調味料製造原料として一部用いられてはいるが、強靱な細胞壁を有するために(Mandelstam and Rogers, 1959; 武谷・久恒, 1966)、内容物を抽出する上で障害となり、生産効率の低下を招いている。そこで著者らは自からが開発した単細胞破碎装置、即ち Impact-Cell-Mill (以下 ICM と略記する) を新しく細胞破碎装置兼酵素反応装置として利用することを考えた。

本報は ICM の物理的破碎作用と化学的作用の組合せによる酵母タンパク質の回収と平行して、核酸類の分離方法について実験を行なったものである。

## 実験材料と方法

### 材 料

供試試料には *Saccharomyces cerevisiae* を用いた。また一部にアセトン処理酵母をも用いた。

### 実 験 方 法

#### 1) ICM 処理と化学的処理の組合せ

実験 1. 試料に化学的前処理を施し、核酸類を抽出後、ICM 処理し、タンパク質の分離をはかる方法。

実験 2. ICM で試料を処理するとき、核酸分解剤並びに分解酵素などを添加し、試料の破碎と同時に核酸類の低分子化をはかり、タンパク質と核酸類を分離する方法。

実験 3. 試料を ICM 処理し、単細胞内容物が外部の反応を受けやすくなったのち、化学的処理を行ない核酸類の低分子化をはかり、タンパク質と核酸類を分離する方法。

\* カルピス食品工業東京研究所 (渋谷区恵比寿 2-4-1)

## 2) 処理方法

### 実験1の場合

#### 1<sub>a</sub> 酸, 塩基, 塩処理

生酵母 15 g を各種抽出液 35 ml に懸濁し, 規定時間処理後, 菌体を分離した.

1<sub>2a</sub> 1<sub>a</sub> の処理で生酵母の代わりにアセトン処理酵母 5 g を抽出液 45 ml に懸濁抽出した場合.

#### 1<sub>b</sub> 界面活性剤処理

生酵母 5 g をクエン酸緩衝液 20 ml に懸濁し, 0.5 % 界面活性剤 25 ml を追加添加後, 2 時間振盪抽出した. なお, 供試界面活性剤 (ARMOUR 社製) は次の 3 種類である.

陽イオン界面活性剤: Lauyl-dimethyl benzyl-ammoniumchloride

陰イオン界面活性剤: Dodecyl-benzene Na-sulfonate

非イオン界面活性剤: Nonyl-phenyl polyoxy-ethylen ether

#### 1<sub>c</sub> 核酸分解酵素処理

生酵母 0.5 g を水 45 ml に懸濁, 5 % 水酸化ナトリウムで pH 7.7 に調整し, 50 ml に定容後, 1 ml につき, リボスクレアーゼ 30 r を添加し, 37°C, 2 時間振盪抽出した. リボスクレアーゼは牛のすい臓から得たリボスクレアーゼ A (SIGMA 社製) を使用した.

#### 1<sub>d</sub> 過塩素酸処理

生酵母 600 g を 0.7 N 過塩素酸 1400 ml に懸濁し, 煮沸湯浴上で 7 時間加熱 (到達温度 80°C) 後, 遠心分離し, 沈澱を水 1 l で 2 回洗浄, 各上澄液並に沈澱を実験に供した (Table 3 参照).

### 実験2の場合

#### 2<sub>a</sub> 酸およびアルカリ処理

生酵母 500 g を所定の酸およびアルカリ溶液に懸濁し, ICM で 6 回処理後, 破碎液を採取し, 実験に供した (Table 4 参照).

2<sub>2a</sub> 2<sub>a</sub> の実験で生酵母 500 g の代わりにアセトン処理酵母 170 g を供した場合.

#### 2<sub>b</sub> 過塩素酸処理

生酵母 500 g を所定の過塩素酸溶液 3.5 l に懸濁し, ICM で 8 回処理後, 破碎液を採取し, 実験に供した (Fig. 3 参照).

#### 2<sub>c</sub> 酵素処理

生酵母 125 g を水 2.8 l に懸濁し, 5 % 水酸化ナトリウム液で pH 7.7 に調整後, 水で 3 l に定容し, 1 ml につき, 核酸分解酵素 40 r 添加後, ICM で 8 回処理した.

### 実験3の場合

#### 3<sub>a</sub> 過塩素酸処理

生酵母 3600 g を水 2.4 l に懸濁し, ICM 処理を施し, 遠心分離後 (9200 g, 30 分), 上澄液 1.5 l を採取し, 所定濃度の過塩素酸溶液を加え, 全量を 3.0 l とし, ICM で数回処理した (Fig. 4 参照).

#### 3<sub>b</sub> 酵素処理

生酵母 2400 g を水 1.6 l に懸濁し, ICM 処理を施し, 遠心分離後 (9200 g, 30 分), 沈澱を水 2 l で洗浄し, 上澄液を合して 3 l とし, 1 ml 当り核酸分解酵素 180 r 添加後, 再び ICM 処理を数回行なった.

### ICM の作動条件

懸濁液噴射圧力は 600 kg/cm<sup>2</sup>, ノズルと衝突板の間隔は 30 mm とし, ノズル絞り角度は 15° のものを使用した (早川・稲神, 1972 b).

### 分析方法

タンパク質の定量はマイクロケルダール法を用いて行ない, 総窒素量に 6.25 を乗じて求めた. またビュレット法をも適時使用した. 標準タンパク質は牛の血液から得たアルブミン (SIGMA 社製) を用いた.

抽出液のリボスクレオチド量は Schneider 法 (Schneider, 1945) により抽出し, Orcinol 法により比色定量した (Ceriotti, 1955). 標準リボスクレオチド (株式会社興人製) を用いた.

核酸類の測定は紫外部吸光測定法により 260 m $\mu$  の吸光度を求め, これを乾燥菌体 1 g から得られた値に補正し, E 260 m $\mu$  として表示した.

また, リンの定量には Allen の変法 (赤堀, 1966) を用いた. 全リンと無機リン量の差を有機リン量として表示した.

### 実験結果および考察

#### 1. 化学的前処理と ICM 処理の利用

種々な前処理を用いて核酸類の抽出を試みた. その結果を Table 1 に示す.

##### 1) 酸, 塩基, 塩処理

1<sub>a</sub> の処理を 30°C, 2 時間の抽出条件の下では, 核酸類の抽出はほとんど見られなかつた. しかし, 加熱すると, 紫外部吸収物質の量は数倍から 10 数倍へと増加し, タンパク質量も水や緩衝液使用の場合に比較して 3 倍以上の値を示した.

塩基性緩衝液, 水酸化ナトリウム, 蔞酸を用いた場合, 加熱することにより, タンパク質の収量は 100

Table 1. Effect of pretreatment on the separation of nucleic acid and protein from Baker's yeast.

Pretreatment		Yield of nucleic acid (r/g dry cell)		Yield of protein (mg/g dry cell)	
		E <sub>260</sub>	RNA	Kjeldahl N ×6.25	Biuret method
Water	(30°C, 2.0 hr)	68	10		
Water	(100°C, 5.0 min)	366	43	61.9	13.0
pH 3.0 Citrate buffer	(30°C, 2.0 hr)	36	12		11.0
pH 3.0 Citrate buffer	(100°C, 5.0 min)	304	46	63.4	37.9
pH 9.0 Carbonate buffer	(30°C, 2.0 hr)	73	23		14.0
pH 9.0 Carbonate buffer	(100°C, 5.0 min)	1034	2841	103.6	63.9
pH 11.0 Carbonate buffer	(30°C, 2.0 hr)	73	6		11.0
pH 11.0 Carbonate buffer	(100°C, 5.0 min)	1268	2931	113.7	56.6
0.25% Sodium hydroxide	(30°C, 2.0 hr)	101	25	18.5	18.0
0.50% Sodium hydroxide	(30°C, 2.0 hr)	488	2022	76.0	45.9
0.50% Sodium chloride	(30°C, 2.0 hr)	72	7	13.5	
0.50% Potassium chloride	(30°C, 2.0 hr)	67	8	2.7	
1.25% Ammonium acetate	(100°C, 5.0 min)	337	91		34.2
1.25% Ammonium oxalate	(100°C, 5.0 min)	380	124		42.7
1.00N Perchloric acid	(100°C, 5.0 min)	1653	143	68.2	48.3
1.00N Oxalic acid	(100°C, 5.0 min)	1093	55	105.0	42.6
0.5 % Sufactant nonion	(30°C, 2.0 hr)	86			56.4
0.5 % Sufactant cation	(30°C, 2.0 hr)	44			32.1
0.5 % Sufactant anion	(30°C, 2.0 hr)	44			32.1
Ribonuclease 30r/ml, pH 7.7 (37°C, 2.5 hr)		343		13.3	

Table 2. Effect of pretreatment on the separation of nucleic acid and protein from Baker's yeast (Yeast cells were treated with cooled acetone before pretreatment)

Pretreatment (30°C, 2.0 hr)	Yield of nucleic acid (r/g dry cell)		Yield of protein (mg/g dry cell)	
	E <sub>260</sub>	RNA	*Kjeldahl N	Biuret method
Water	654	457	145.0	
pH 3.0 Citrate buffer	490	62	129.2	76.8
pH 7.0 Citrate buffer	788	553	140.3	80.0
pH 9.0 Carbonate buffer	703	1837	140.3	86.8
pH 10.0 Carbonate buffer	530	1488	151.4	94.0
0.5% Sodium hydroxide	1401	8789	218.1	92.6
1.0% Sodium hydroxide	1597	581	212.4	95.4
10 % Sodium chloride	1025	6661	345.0	
2.5% Potassium chloride	1572	241	390.0	
1.25% Ammonium oxalate	744	1116	128.5	55.0
0.5 N Oxalic acid	799	316	184.2	90.8
0.25N Perchloric acid	905	33	256.0	
0.5 N Perchloric acid	1513	60	49.2	

\* Kjeldhal N×6.25

mg/g·dry cell 以上の値を示したが、核酸類の抽出も多く、核酸とタンパク質の分離抽出から見た場合良好とはいえないが、1N 過塩素酸を使用した場合、核酸類の抽出は良く、各種抽出剤中で最高値を示した。粗タンパク質は菌体1g当り、105mg 程度抽出されていたが、これは加熱により遊離のアミノ酸が抽出されたためと考えられる。したがって、生酵母に対する化

学的前処理として1N 過塩素酸処理がもつとも有効と考えられた。

## 2) 界面活性剤処理

微生物に対する界面活性剤の作用については藤田・古賀(1965)や大林(1963)らにより明らかにされているが、この実験では1<sub>0</sub>に記した3種類の界面活性剤について検討した。しかし、このように酵母濃度が

高く、振盪抽出時間2時間では十分な結果を得ることが出来なかつた。

### 3) 核酸分解酵素処理

供試試料に生酵母を使用したためか、1cの処理条件では良好な結果を得ることが出来なかつた。

### 4) アセトン処理酵母

供試試料にアセトン処理酵母を用いた場合、各種抽出剤の効果は顕著に現われた。その結果を Table 2 に示す。リボヌクレオチドの収量は 0.5% NaOH で 8.79 mg/g·dry cell, 10% NaCl で 6.66 mg/g·dry cell の高い値を示した。

一方タンパク質の抽出状況は核酸類ほど変化なく、過塩素酸処理で 49.7 mg, 塩や塩化ナトリウムで 400 mg 以下の値であつた。

### 5) 過塩素酸前処理と ICM

次に実験1の中で有効と考えられた過塩素酸処理条件について検討を行なつた。その結果を Fig. 1 に示す。酵母中に含まれている核酸以外の含リン成分として無機リン、リン脂質などが考えられるが、パン酵母のリン脂質は少なく(佐藤, 1966)、多くは有機リンであるため、抽出リン量で核酸量を比較した。無加熱の場合、0.2 N で7%, 2 N で41%のリンが抽出され、この間過塩素酸濃度と抽出リン量に比例関係が存在した。7分加熱の場合、0.7 N に極大値86%

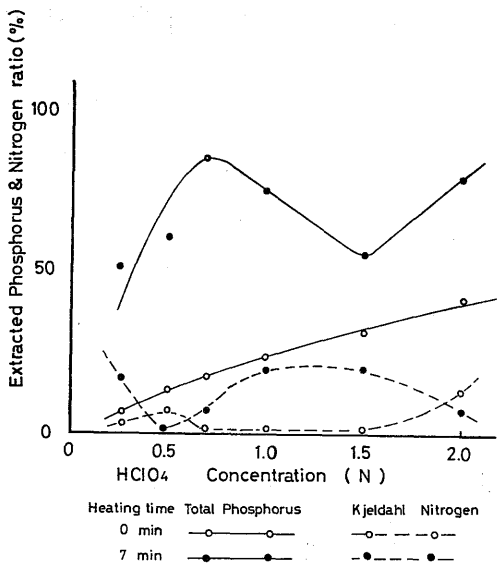


Fig. 1. Effect of perchloric acid concentration on the separation of nucleic acid and protein from Baker's yeast which were heated at 100°C in perchloric acid of various concentration.

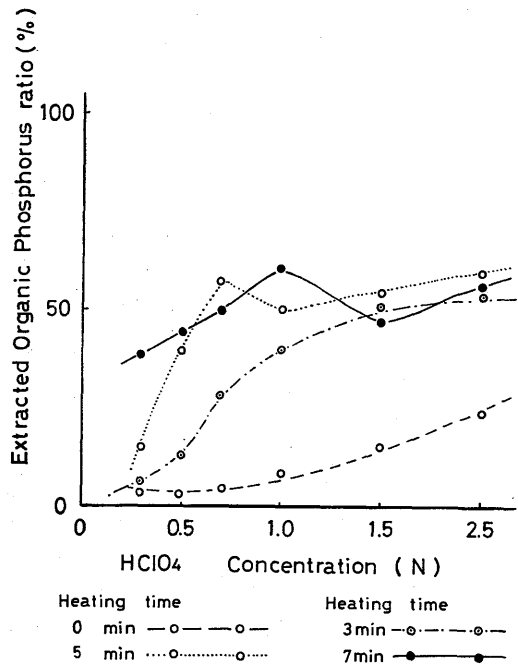


Fig. 2. Effect of perchloric acid concentration on the extraction of organic phosphorus from Baker's yeast which were heated at 100°C in perchloric acid of various concentration.

を、1.5 N に極小値 56% を示した。抽出窒素量は 0.5 N に極小値 1.5% を示し、それ以外では大きな変化はなく、2 N でやや減少の傾向を示した。

次にこの実験で抽出された核酸類の分解状況を把握するために全リン中の有機リン量の変化について測定した。その結果を Fig. 2 に示す。0.7 N, 5 分間加熱の場合、58.5%, 1.0 N, 7 分間加熱の場合、60.5% のように、それぞれ最適条件が存在した。また 1 N で 7 分加熱の場合、抽出リン量の約 80% が有機リンとして検出された。

神立・齊藤(1968)の報告によると、0.45 N, 70°C 20 分間加熱で 86%, 0.75 N で 98.7% が酸可溶性に分解されている。この実験では生酵母に直接作用させたので、リボヌクレオチドがタンパク質などにとり囲まれて、神立らの結果よりも小さい値を示したものと考える。

次に細胞構成物質とともに沈澱しているタンパク質の回収について検討した。この処理条件は 1a の方法に従い、結果を Table 3 に示す。タンパク質は pH 3.0, 7.0, 8.0 でほとんど抽出されず、0.2% NaOH で 14.3%, 0.5% NaOH で 85% と急増した。この

**Table 3.** Effect of Impact-Cell-Mill on the extraction of protein from Baker's yeast after nucleotides had been extracted with 0.7% perchloric acid.

Condition of solution	Passed times of ICM	Yield of protein (%)
pH 3.0	0	trace
pH 3.0	8	trace
pH 7.0	0	trace
pH 7.0	8	trace
pH 8.0	0	trace
pH 8.0	8	trace
0.2% Sodium hydroxide	0	3.3
0.2% Sodium hydroxide	8	14.3
0.5% Sodium hydroxide	0	6.2
0.5% Sodium hydroxide	8	85.0

現象は過塩素酸前処理によりタンパク質などが酸収縮を起し、細胞自身が収縮硬化し、衝撃破砕に強くなったものと考えられる。しかし、水酸化ナトリウムなどの強アルカリで処理すると収縮した細胞が膨潤し、細胞自身は酸収縮、アルカリ膨潤の両作用を受け、急速に細胞壁強度が低下し、窒素抽出率が向上したものと考えられる。また ICM 無処理の場合、窒素抽出率は 6.2% と低く、これらの結果から判断すると、一般に行なわれているアルカリ抽出法とは異なった作用が生じているものと考えられる。

## 2. 化学的作用と ICM 処理の同時併用

本実験は酵母菌体中のタンパク質および核酸類を同時に分離することを目的にしたものである。

### 1) 酸およびアルカリ処理の併用

2<sub>a</sub> の処理条件の下では Table 4 のような結果が得られた。生酵母使用の場合、タンパク質は 0.1%

NaOH の併用、リボヌクレオチドは 0.01% HCl の併用で高い収量を得た。また、これらの処理で酸およびアルカリ濃度の低い方が良好であった。ICM 処理はアルカリなどに有効な濃度範囲が存在し、この範囲を超過した場合、逆に ICM 処理効果は低下し、窒素抽出率も減少した (早川・Khai・野村, 1972)。一方、酸を用いた場合、生酵母のタンパク質回収量はアルカリ使用のときに比較して低下し、酸濃度の増加により益々減少した。しかし、リボヌクレオチドの収量は他に比較してきわめて高い値を示した。この現象は核酸が弱酸性側で分解されやすいことを示している。またアセトン処理酵母 (2<sub>2a</sub> 処理) を用いた場合、水酸化ナトリウムと ICM の同時併用の効果は低く、生酵母の場合に比較して、タンパク質並びに核酸の抽出率は低下した。

### 2) 過塩素酸処理の併用

2<sub>b</sub> の条件で行なった結果を Fig. 3 に示す。核酸類の抽出量は過塩素酸濃度の増加により上昇し、濃度 1N の場合、ICM 処理 0 回で 20%、3 回で 39%、8 回で 51%、2N の場合、30%、66%、68% とそれぞれ増加した。

ICM の処理効果は過塩素酸濃度の低い 2N 以下において顕著にあらわれた。そして高い濃度では ICM 処理効果は減少し、処理回数の変化による相違は低下した。

次に沈澱を脱イオン水 1*l* で 2 回洗浄し、炭酸ナトリウム系 (0.1M, pH 10) 緩衝液で数回洗浄し、各上澄液を合して定容後、抽出タンパク質量を測定した。その結果、3 回処理で 58%、8 回処理で 85% と良好な結果が得られた。

**Table 4.** Effect of the treatment by Impact-Cell-Mill with various solvents.

Sample	Solvent	ICM treatment	Yield of RNA (r/g dry cell)	Yield of protein (mg/g dry cell)	
Baker's yeast	Water	control	trace	2	
	Water	6 times	757	38	
	0.1% NaOH	control	6	11	
	0.1% NaOH	6 times	4456	321	
	0.5% NaOH	control	5	42	
	0.5% NaOH	6 times	3336	299	
	*0.01 N HCl	control	44	5	
	*0.01 N HCl	6 times	16289	286	
	*0.05 N HCl	control	33	4	
	*0.05 N HCl	6 times	3231	207	
	Baker's yeast acetone powder	0.1% NaOH	control	2379	77
		0.1% NaOH	6 times	2287	162
0.5% NaOH		control	3487	107	
0.5% NaOH		6 times	2994	140	

\* Centrifuged after adjusting pH 9.2

Table 5. Effect of use of Impact-Cell-Mill with ribonuclease.

Treatment		Yield of phosphorus	Yield of nitrogen
None enzyme	Incubation (30°C, 80 min.)	1.3%	0.9%
None enzyme	ICM (room temp., 9 times)	47.7%	42.9%
*Ribonuclease added	Incubation (30°C, 20 min.)	0.9%	0.9%
*Ribonuclease added	ICM (room temp., 9 times)	70.3%	42.7%
*Ribonuclease added	Incubation (30°C, 50 min.)	0.9%	0.8%
*Ribonuclease added	ICM (room temp., 9 times)+Incubation (30°C, 30 min.)	70.7%	42.7%
*Ribonuclease added	Incubation (30°C, 80 min.)	1.0%	0.8%
*Ribonuclease added	ICM (room temp., 9 times)+Incubation (30°C, 60 min.)	75.2%	42.7%

\* Solutions include 40  $\gamma$ /ml of ribonuclease

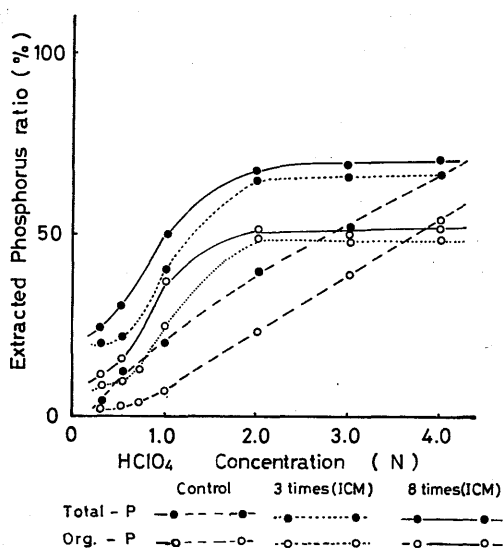


Fig. 3. Effect of perchloric acid concentration and treatment of Impact-Cell-Mill on extraction of organic phosphorus.

Yeast cells suspended in perchloric acid solution were treated with Impact-Cell-Mill and nitrogen was detected about 1-2% in all cases by Kjeldahl method.

### 3) 酵素処理の併用

2c の条件で行なった結果を Table 5 に示す。ICM の処理効果は酵素添加の有無で大きく異なり、抽出窒素量に比較して抽出リン量は 47.4% から 70.3% へと急激に増加し、酵素作用が顕著にあらわれた。比較のれめ振盪器で 50 分間振盪抽出した結果、ICM 処理は 70 倍以上の高い値を示した。

また、リン抽出率は ICM 処理後、その液を採取し 60 分間振盪抽出してもほとんど増加しなかつた。ために、酵素作用の多くは ICM 処理過程に行なわれたものと考え。そして、タンパク質の抽出率は ICM 8 回処理で 90% 以上の値を示した。

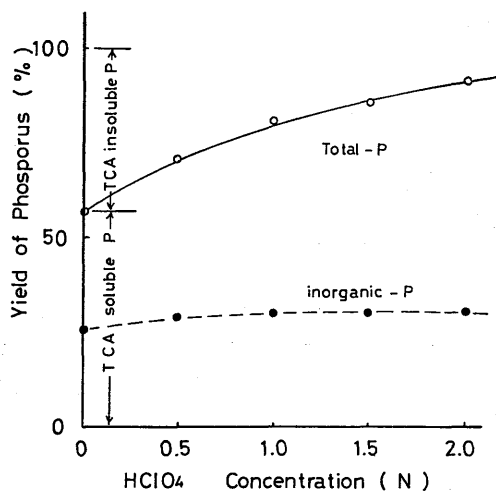


Fig. 4. Effect of after-treatment by using perchloric acid with Impact-Cell-Mill.

Used samples were supernatant treated 4 times with Impact-Cell-Mill.

### 3. ICM と化学的後処理の利用

ICM 処理を施した試料に核酸分解剤を添加し、再び ICM 処理を施し、核酸類の可溶化をはかつた。すなわち、この実験は ICM のリアクターとしての作用を ICM の後処理に用いたものである。

#### 1) ICM と過塩素酸後処理

3a の条件の下で行なった実験結果を Fig. 4 に示す。上澄液中の 5% TCA 可溶性リンは総リン中 57% 占めていたが、後処理により、0.5 N の場合、71.0%、1 N の場合、81.0%、2 N で 93% と上昇した。また、核酸類以外の大部分の窒素含有物質は沈澱中に移行した。この値を神立・齊藤 (1968) の結果と比較すると ICM 処理効果が大きかつた。また、菌体タンパク質の抽出率は約 42% を示し、残りの大部分は生酵母から破碎上澄液を分離するとき、破碎残渣と共に沈澱したものと考えられるが、溶出タンパク態窒素量

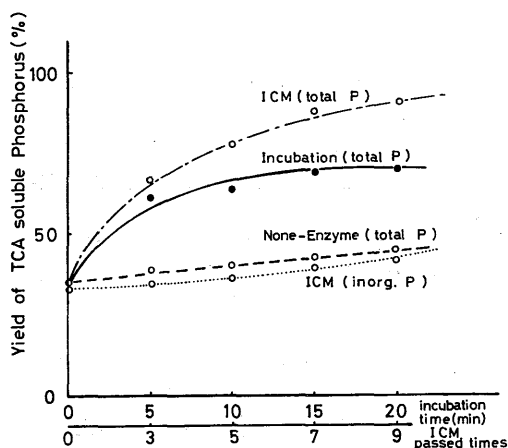


Fig. 5. Effect of after-treatment by using ribonuclease with Impact-Cell-Mill on the separation of nucleotides.

Used samples were supernatant treated with Impact-Cell-Mill and concentration of ribonuclease was 180  $\gamma$ /ml.

の約 95 % を回収出来た。

#### 2) ICM と核酸分解酵素後処理

次に 3<sub>b</sub> の条件の下でリボヌクレアーゼを用いた実験結果を Fig. 5 に示す。ICM 処理により得た生酵母破碎液の上澄液中に 5 % TCA 可溶性リンは 35 % 存在していたが、酵素添加後、ICM 4 回処理で 43 %、8 回処理で 88 % と上昇した。また、37°C、15 分間振盪抽出した場合、68 % であつた。しかし、この実験中において、無機リンの増加は少なかつた。

酵母タンパク質の抽出率は約 42 % で、そのうちタンパク態窒素量の約 95 % が回収された。

### 要 約

酵母など単細胞生物からタンパク質ならびに核酸類を連続的かつ大量に分離する方法の開発を目的として、Impact-Cell-Mill (ICM) と化学的な処理方法を組合せ (併用) して、次のような結果を得た。

1) 化学的な前処理と ICM 処理の組合せにより、核酸類とタンパク質の分離回収する方法として過塩素酸処理が良好であつた。0.7 N 過塩素酸処理で核酸類の約 85 % が抽出可能となり、抽出残渣に 0.5 % NaOH を添加して、ICM 処理を施した結果、タンパ

ク態窒素の約 85 % が回収出来た。

2) 化学的作用と ICM 処理の併用の場合。生酵母懸濁液に過塩素酸または核酸分解酵素を添加し、ICM 処理を施すと、核酸類の約 70 % が 5 % TCA 可溶性となり、37°C、20 分間振盪抽出した場合に比較して約 70 倍以上の値を示した。また、タンパク態窒素量の約 85 % が回収出来た。

3) ICM と化学的後処理の場合。ICM 処理で得られた生酵母破碎液の上澄液に過塩素酸または核酸分解酵素を添加した後、再び ICM 処理を完施した結果、2 N 過塩素酸で 92.3 %、リボヌクレアーゼで 89.8 % が TCA 可溶性リンとなり上澄に移行し、タンパク態窒素量の約 95 % が沈澱として回収された。

### 参 考 文 献

- 赤堀四郎 1966 酵素研究法 1 巻。朝倉書店、東京、14-18 頁
- Ceriotti, G. 1955 Determination of nucleic acids in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **214**: 59-70
- 藤田輝道・古賀正三 1965 酵母に対する界面活性剤の作用。日本農芸化学会昭和 41 年度大会講演要旨: No. 1205
- 早川功・稲神馨 1972 a Impact-Cell-Mill (ICM) による単細胞タンパク質の抽出について (第 1 報)。日本食品工業学会誌, **19**: 1-8
- 早川功・稲神馨 1972 b Impact-Cell-Mill (ICM) による単細胞タンパク質の抽出について (第 2 報)。日本食品工業学会誌, **19**: 9-15
- 早川功・Nguyen Duy Khai・野村男次 1972 Impact-Cell-Mill (ICM) による単細胞タンパク質の抽出について (第 3 報)。九大農芸誌, **24**: 529-539
- 神立誠・齊藤洋子 1968 筋肉の核酸定量法の検討。農化誌, **42**: 479-489
- Mandelstam, J. and H. J. Rogers 1959 The incorporation of amino acids into the cell-wall mucopolysaccharide of staphylococci and the effect of antibiotics on the process. *Biochem. J.*, **72**: 654-662
- 中村道徳 1950 磷酸の比色定量法。農化誌, **24**: 1-5
- 大林晃 1963 微生物に対する界面活性剤の作用 (第 2 報)。農化誌, **37**: 265-267
- Schneider, W. C. 1945 Phosphorus compounds in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **214**: 59-70
- 佐藤友太郎 1966 パン酵母, 光琳書院, 東京, 43 頁
- 武谷健二・久恒和仁 1966 細菌細胞壁の微細構造。蛋白質核酸酵素, **11**: 863-874



### Summary

An experiment was carried out to establish a new method for the isolation of protein and nucleic acid from single cell employing an Impact-Cell-Mill.

Chemical pretreatment with 0.7 N perchloric acid gave a good result to isolate nucleic acid from Baker's yeast. About 85 % of protein was obtained using an Impact-Cell-Mill after the treatment of 0.7 N perchloric acid.

Concurrent treatment of an Impact-Cell-Mill and chemical procedure gave also a good result. In this case, 0.7 N perchloric acid and 40  $\gamma$ /ml of ribonuclease were used, and about 70 % of nucleic acid was isolated and 85 % of protein was recovered with the treatment of an Impact-Cell-Mill.

The third is an utilization of an Impact-Cell-Mill as a reactor. In this case, adding 180  $\gamma$ /ml of ribonuclease, nucleic acid was isolated about 90 % and 95 % of protein was obtained from the supernatant of yeast suspension treated with an Impact-Cell-Mill.