

核酸による溶血性連鎖状球菌の溶血毒 増産現象に関する研究

第17報 メチル酵母核酸の溶連菌の Streptolysin S
産出に及ぼす影響について

金沢大学医学部薬理学教室(指導 岡本肇教授)

金沢大学結核研究所化学部(指導 越村三郎助教授)

清水 隆作 姫野 保徳 貴志 源吾 伊藤 佐

(昭和32年1月7日受付)

Studies on the Phenomenon of High Promotion by Nucleic Acid
of the Production of Streptolysin S of Hemolytic Streptococcus

Part 17. Study on the Influence of Methyl Ribonucleic Acid upon
the Streptolysin S Formation of Hemolytic Streptococci

Ryusaku Shimizu, Yasunori Himeno, Gengo Kishi and Tasuku Itō.

*Department of Pharmacology, School of Medicine, and Department of Chemistry,
Research Institute of Tuberculosis, Kanazawa University*

さきに伊藤¹⁾は Jones & Perkins 法²⁾によつて酵母核酸 (RNA) を 1% NaOH で処置して RNA を各 Mononucleotide に迄解離せしめた溶液, 並びに RNA を酸又はアルカリでその最終構成成分 (Purine, Pyrimidine, Ribose, Phosphoric acid) に迄分解せしめた溶液 (即ち RNA の各構成成分の全部が共存する溶液) では, その何れもが全く Streptolysin S 増産効果を示さないことを実証し, 次いで Bernheimer³⁾によつて RNA に対し Ribonuclease を作用せしめて得られる Ribonuclease-抵抗性の Ribo-核酸分屑が原料 RNA よりも遙かに高度の Streptolysin S 増産効果を呈すること, 及び Adenylic and Guanylic acids, Adenine, Guanine, Uracil, Cytosine, D-Ribose 等の各構成成分はもとより Adenosine triphosphate, Diphosphopyridine nucleotide の如き異種の Nucleotide はすべて全く無効であることが実証せられた

が, これら知見の意義は RNA の Streptolysin S (以下 St-S と略記) 増産に対する効果性 (即ち核酸効果の発現性) とその Polynucleotide 構成との間には密接不離の関係があることを明示した点にあるといえよう。

所で, このような RNA の分解試験に対してここに当然 RNA 自体の誘導体の核酸効果如何という問題が提起して来るのであるが, このことに関しては現在迄只一つ江上等⁴⁾が Brederick 法⁵⁾によつて RNA に HNO₂ を作用せしめて脱アミノして得られた精製 Desaminoribonucleic acid では核酸効果が極度に減殺せられているとした報告があるのみである。

著者等は最近 (1952年) Anderson 等⁶⁾が RNA の Methyl 化物を得たことを報告したので, 不致取ここに Methyl ribonucleic acid の核酸効果如何についての考査に着手した訳である。

I. RNA のメチル化

メルク製酵母核酸ソーダに対し一旦 Sevag 法による精製操作を施した後, 遊離の RNA としたものを原

料とし, これに Anderson 等の記載に準じて Methyl 化を行つた。

即ち第1表は Methyl-核酸合成の過程を示したものであつて、斯くして RNA 2.8g から Methoxy 基の含量 14.6%なる Methyl 化物 0.8gを得た。Anderson 等は Methoxy基の含量が 16.3-16.4%の Methyl 化物を得、この値は $C_{53} H_{77} O_{23} N_{15} P_4$ (a polymerised tetranucleotide containing 8 OMe, and 7 NMe

groups per tetranucleotide) として計算した Methoxy 基含量 16.6% に近似していると記載していることに鑑みると、著者等の得た Methyl-核酸は Anderson 等のそれよりも Methyl 化の程度が幾分低いものといえようが、兎に角この標品について溶連菌の St-S 産出に及ぼす影響を検することとした。

II. Methyl Ribonucleic Acid と Ribonucleic Acid の溶連菌の Streptolysin S 産出に及ぼす影響の比較実験

Methyl ribonucleic acid (Methyl-RNA) はそれ自体水溶性で而も水溶液は中性である所から、これを 10%水溶液とし、又 Sevag 法によつて精製した Sodium yeast ribonucleate (RNA-Na) も 10% 中性水溶液とし、夫々に対し 100°C, 30' の処置を施したものを原液として用意した。

而して St-S 産出に及ぼす影響の実験は培養⁷⁾並びに静菌⁸⁾の両法によつて行つた。

即ち第2表は培養法による実験成績であるが、溶連

菌の 1% RNA-Na 加ブイオン培養の上清液は 1:32⁹⁾ 768 の高稀釈度迄溶血作用を呈しているに対し、1% Methyl-RNA 加ブイオン培養の上清液は僅々 1:8 液迄しか溶血作用を呈せず、その溶血力において普通ブイオン培養におけるそれと全く差異がないことを見る。

而して第3表提示の静菌法による実験でも亦 Methyl-RNA によつて溶連菌の St-S 産出が増進されるような徴は些かも見られないという成績である。

結 語

酵母核酸を Anderson 等の方法によつて Methyl 化して得た Methyl ribonucleic acid 標品について、その溶連菌の Streptolysin S 産出に及ぼす影響関係を試験した。

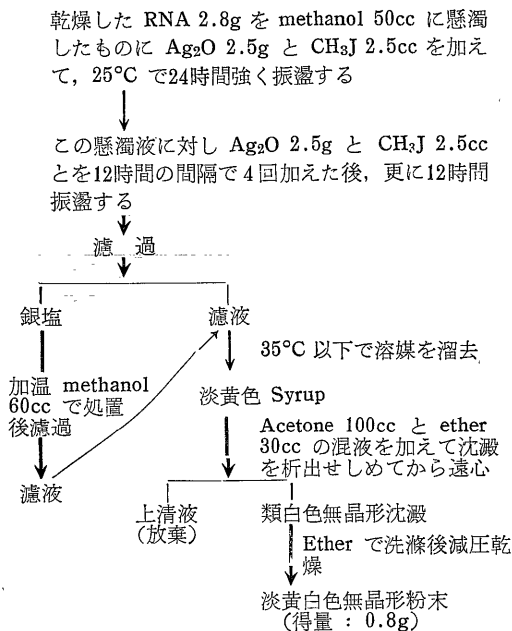
そして Methyl 化によつて Ribo-核酸の有する Streptolysin S 増産に対する効果性が全く消失することを実証した。

文 献

- 1) 伊藤：日本薬物学雑誌, 29, 1 及び 2号, 第 14回日本薬理学会記事, 66, 昭15.
- 2) Jones & Perkins: J. Boil. Chem., 55, 567, 1923.
- 3) Bernheimer and Rodbart: J. Exp. Med., 88, 149, 1948. Bernheimer: ibid, 90, 373, 1949.
- 4) Egami, Shimomura, Yagi, Hayashi, Mase and Hosoya: Japan. J. Exp. Med., 20, 527, 1950.
- 5) Brederick, Berger and Richter: Ber., 74,

- 338, 1941.
- 6) Anderson, Barker, Masson, Gulland and Lock: J. Chem. Soc., 1952, 369.
- 7) Okamoto, Kyoda u. Ito: Japan. J. Med. Sc., IV. Pharmacol., 14, 99, 1941.
- 岡本: 核酸効果とこれに基づく Streptolysin S 研究の展開, 細胞化学シンポジウム, 3, 145, 1954.
- 8) Ito, Okami and Yoshimura: Japan. Med. J., 1, 253, 1948.

第1表 RNA の Methyl 化実験



第2表 培養法による実験

- a) 1% Methyl-RNA 加ブイオン (pH 7.6) 5cc
- b) 1% RNA-Na 加ブイオン (pH 7.6) 5cc
- c) 普通ブイオン (pH 7.6) 5cc

の3者に対し溶連菌 (S-株) のブイオン培養の1滴宛を接種し、37°C、30時間培養した後、夫々の遠心上清液を得。次でこれら3つの上清液について同時に倍下稀釈法による溶血試験を行う。

培地の種類	上清液の稀釈倍数														対照 (上清液を加えず)							
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	8,192	16,384		32,768	65,536	131,072	262,144	524,288		
1% Methyl-RNA 加ブイオン (pH 7.6)	##	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1% RNA-Na 加ブイオン (pH 7.6)	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-	-	-	-	-	-
普通ブイオン (pH 7.6)	##	##	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

37°C、2時間目の判読成績：###=完全溶血；##，##，+=部分的溶血；-=非溶血。

第 3 表 静菌法による Streptolysin S 産出実験

普通ブイヨン 100cc に溶連菌の24時間ブイヨン培養 1 滴を接種して 37°C, 18時間培養したものから菌を遠心によつて分離する。ここに得た生菌体を磷酸緩衝-Ringer 液 (pH 7.2) [M/15 磷酸緩衝液 pH 7.2 1 分に Ringer 液 4 分を加えたもの] 50cc を以て 2 回洗滌した後, 磷酸緩衝-Ringer 液 10cc を加えて濃厚溶連菌浮游液を調製す。

a) 10% Methyl-RNA 原液 0.4cc + 磷酸緩衝-Ringer 液 1.6cc + 濃厚菌浮游液 2cc

b) 10% RNA-Na 原液 0.4cc + 磷酸緩衝-Ringer 液 1.6cc + 濃厚菌浮游液 2cc

c) 磷酸緩衝液 2cc + 濃厚菌浮游液 2cc

のような内容を有する 3 本の試験管を用意して, これらを同時に 37°C 水浴中に置くこと 2 時間, 遠心沈殿によつて得た各上清液について倍下稀釈法による溶血試験を行う。

メジウムの種類	上 清 液 の 稀 釈 倍 数														対 照 (上清液を加えず)	
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096	8,192	16,384		
1% Methyl-RNA 加 磷酸緩衝液 (pH 7.2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1% RNA-Na 加磷酸 緩衝液 (pH 7.2)	###	###	###	###	###	###	###	##	++	+	—	—	—	—	—	—
磷酸緩衝液 (pH 7.2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

37°C, 2 時間目の判読成績 : ###=完全溶血; ##, ++, +=部分的溶血; —=非溶血。