

# Vitamin C による Ag-RNA-Complex についての脱銀試験

金沢大学医学部薬理学教室(主任 岡本 肇教授)

正 印 達  
貴 志 源 吾  
中 永 金 弥  
小 寺 一 英

(昭和32年8月29日受付)

## A Method for Regeneration of Ribonucleic Acid from Ag-RNA-Complex by Vitamin C SUSUMU SHOIN, GENGO KISHI, KIN-YA NAKANAGA and KAZUHIDE KODERA

Department of Pharmacology, School of Medicine, Kanazawa University  
(Director : Prof. Dr. Hajime Okamoto)

### 緒 言

さきに清水<sup>1), 2), 3)</sup>は Ag-RNA-Complex に対し H<sub>2</sub>S をもつてする脱銀操作を施して RNA を再生せしめる方法について報告したが、私等はその後此の Ag-RNA-Complex からの脱銀による RNA の再生の問題に対し種々 考査尋究の歩を進めたところ、図らずも Vitamin C が極めて効果的であることを知つた。即ち本論文は Ag-RNA-Complex の Vitamin C による脱銀方法についての記載である。

ところで、私等がここに態々このような実験に着手した所以のものは、現在迄当教室において、さきに正印<sup>4)</sup>によつて発見された“Ag<sup>+</sup>による Streptolysin S (St-S) の耐熱化現象”はこれを St-S の分離・純化の目的に利用し得るとの想定のもとに、Ag-Streptolysin S-Complex (Ag-St-S-Complex) から脱銀により St S

を再生せしめるべく行われた考査では

1) Ag-St-S-Complex は Cysteine, Sodium thioglycolate, K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, 及び Sodium thiosulfate 等いずれの還元剤に対しても抵抗弱く、容易に脱銀的影響を蒙り同時に溶血性の喪失を来すこと<sup>5)</sup>

2) Ag-St-S-Complex に対し前記清水法を施すと、NH<sub>3</sub>-Alkali 性下で H<sub>2</sub>S 処置を行う条件下では St-S 自体に損傷が起り、常に或る程度溶血性の低下した再生 St-S 標品しか得られない<sup>6)</sup>。

というようなことが明らかとなり、少なくとも Ag-St-S-Complex を対象とする限り、これから脱銀によつて St-S を活性状態のまま再生せしめるためには新たに別途の脱銀法を考案する必要が生じたからである。

### I. 実 験 材 料

#### 1) RNA-Na 標品 :

専ら Natrium Nucleinicum a faece “Merck” を使用する。本品の Ag<sup>+</sup> に対する錯塩形成能を清水の方法によつて測定したところ RNA 1mg : Ag 0.16 mg (即ち 1 : 1,000 RNA-Na 水溶液 10cc : N/10 AgNO<sub>3</sub> 0.16cc) であつた。

#### 2) Ag-RNA-Complex の調整 :

1%酵母核酸ソーダ水溶液 300cc に N/10 AgNO<sub>3</sub>

50cc を加え、よく混和した後、2倍量の98%アルコールを加える。直ちに灰白色の沈澱を生起する。これを10分間静置後遠心に付し、得られた沈澱を98%アルコールにて2回洗滌し、更にエーテルにて1回洗滌後デシケータ中にて減圧乾燥す。微灰白色無晶形粉末(即ち Ag-RNA-Complex) 3,370 mg を收得す。

#### 3) Vitamin C :

l-Ascorbin acid を使用する。

## II. Ag-RNA-Complex に対する脱銀試験

表1は Vitamin Cをもつてする Ag-RNA-Complex の脱銀過程を示したものである。即ち Ag-RNA-Complex 400 mg を蒸留水 40cc に溶解した 1% 水溶液に飽和食塩水 16 cc を加える（この時溶液は微に乳濁す）。よく振盪した後、新たに調整した 6% Vitamin C 水溶液 20cc (Vitamin C は 1,200 mg で Ag-RNA-Complex の 3 倍量) を加える。直ちに灰白色の沈澱を生ずる。

この混液を 25°C の水浴中に 1 時間置き、更に一夜氷室に静置せしめて沈澱を完成せしめる。ここにおいて遠心沈澱 (6,900 r.p.m., 10') によつて無色透明の上清液を分取し、この上清液を一旦濾紙で濾過す

る。(沈澱は当初白色であるが間もなく紫褐色となる。不要)。

上記濾液に 2 倍量の 98% アルコールを加える。直ちに白色絮状沈澱が生起する。10 分間静置の後、遠心に付し、分離された沈澱に蒸留水 40cc を加えて溶液(無色透明, pH=6.6 BTB)となし、これに 3 倍量の 98% アルコールと少量の 醋酸ソーダ・アルコールを加え、15 分間静置す。生じた白色絮状沈澱は遠心により分離し、98% アルコールにて 2 回、エーテルにて 1 回洗滌後、減圧乾燥器内に収める。かくて純白色無晶形標品 180 mg (収得率 60%) を得。

## III. 脱銀標品についての物理・化学的並びに生物学的性状の検討成績

ところで、前記の方法によつて収得される標品(以下これを再生 RNA とも記す)では果して脱銀が完全であろうか、即ち換言すれば Ag-RNA-Complex から Vitamin C によつて銀を含まない RNA が再生せられているだろうか? この問題に対し、私等は

1) 一方においては該再生 RNA 標品に対する灰化法による銀の化学的検出実験を行うと共に、

2) a) 他方酵母核酸は全く溶血性を欠くが、Ag-RNA-Complex が 1:80,000 液迄溶血作用を呈すること、及び

b) 酵母核酸には溶連菌に対する発育阻止作用がないに対し、Ag-RNA-Complex では、これが 0.0078% (1:12,800) の高稀釈濃度にブイオンに含まれていても溶連菌の発育に対し抑制的に作用すること、

を利用する生物学的方面からの検討実験をも行つた。

なお、再生 RNA が変性を起していないかを確かめるべく、その物理的並びに化学的性状、及び溶連菌の Streptolysin S の産出を増進せしめる生物学的活性如何を考査した。今再生 RNA 標品の物理的並びに化学的性状、及び生物学的性状について検討した成績を述べれば次の如くである。

1) 物理的性状：

水に易溶(水溶液は無色透明、弱酸性)、鉍酸沈澱性、アルコール、エーテルに不溶、Orcinol 反応陽性。

2) Ag<sup>+</sup> との錯塩形成能試験：

本標品と Ag との錯塩形成能試験は 1 mg : 0.16

mg の値を示した。即ち本標品は原料 RNA-Na とほぼ同等の銀—錯塩形成能を有する。

3) 銀検出実験：

a) 灰化法による場合

本標品 20mg を磁性坩堝に入れ灼熱灰化し、これに 20% HNO<sub>3</sub> 0.5 cc を加えて暫時放置後、蒸留水 5.5 cc を加えて総量 6.0cc の溶液とする。この溶液 1 cc を飽和重曹水にて pH 6.6~6.8 (BTB) とした後、これに N/100 NaCl 2.0 cc を加え、5% K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 2 滴を滴下し、N/100 AgNO<sub>3</sub> で滴定したところ、N/100 AgNO<sub>3</sub> の消費量は丁度 2.0 cc であつた。即ち化学的には銀が証明されない。

b) 生物学的的方法による場合

i) 溶連菌に対する菌発育阻止実験

原料(市販)酵母核酸、Ag-RNA-Complex 及び再生 RNA の三者について、型の如く普通ブイオン (pH 7.6) をメジウムとする溶連菌に対する抗菌試験を行つたところ、

試料	菌発育阻止限界濃度
原料酵母核酸	1 : 100 でも無効
Ag-RNA-Complex	1 : 12,800
再生核酸	1 : 100 でも無効

という成績が得られた。

ii) 溶血力試験

先ず原料 RNA, Ag-RNA-Complex, 及び再生 RNA の三者について、それぞれの10%水溶液を原液として型の如く<sup>7)</sup>、溶血試験を行ったところ、

試料	溶血限界濃度
原料 RNA	1 : 100 で非溶血
Ag-RNA-Complex	1 : 80,000
再生 RNA	1 : 100 で非溶血

という成績が得られた。

#### 4) Streptolysin S 増産効果試験<sup>7)</sup> :

- 1%原料 RNA 加ブイオン 5 cc,
- 1% Ag-RNA-Complex 加ブイオン 5 cc,
- 1%再生 RNA 加ブイオン 5 cc

の3本に対し、溶連菌の24時間普通ブイオン培養液の1滴宛を移植し、37°Cに30時間培養、それぞれの遠心上清液について、型の如く溶血力の比較試験を行う。この実験では

培養液	菌発育	培養上清液の溶血限界濃度
1%原料RNA 加ブイオン	旺盛	1 : 102,400
1%Ag-RNA-Complex加ブイオン	全く発育せず	.
1%再生RNA 加ブイオン	旺盛	1 : 102,400

なる成績が得られた。

即ち、以上の各実験を相照合考察するならば再生 RNA は完全に銀を含まず、しかも RNA の特性を備えていることが自ら明らかといえよう。

## 結 語

本論文では Vitamin C の還元性を利用し、Ag-RNA-Complex から完全に脱銀せしめて RNA を再生

取得する方法について記載した。

## 文 献

- 1) 清水隆作 : 薬学雑誌, 76, 158, 1956.
- 2) 清水隆作 : 薬学雑誌, 77, 676, 1957.
- 3) 清水隆作 : 薬学雑誌, 77, 561, 1957.
- 4) Shoin, S. : Japan. J. Exp. Med., 24, 13, 1954.
- 5) 伊藤佐 : 十全医学会雑誌, 57,

- 1762, 1955.
  - 6) 大門弘文 : 十全医学会雑誌, 58, 921, 1956.
  - 7) Okamoto, H. : Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacology, 12, 167, 1940.
- ; 細胞化学シンポジウム, 3, 145, 1954.

Table I

