

精製 Streptolysin S と酵母核酸との紫外線— 並に赤外線—吸収スペクトル及び 電気泳動に於ける比較実験

金沢大学医学部薬理学教室

岡 本 肇

有 沢 和 夫

梶 崎 哲 夫

金沢大学結核研究所化学部

越 村 三 郎

清 水 隆 作

(受付：昭和31年4月14日)

核酸効果（即ち核酸による溶連菌の溶血毒素 Streptolysin S 増産現象）が発見¹⁾された事で、今では高度活性の精製 Streptolysin S 標品（以下単に St-S と略記）を容易に而も好収量で分離把握し得る様になつた。²⁾³⁾⁴⁾然し本溶血毒素の化学的本質如何の問題に関しては、高分子生体物質研究の常にもれず、尙直截に結論し得ない処があり、「本毒素は本質的には蛋白体ではなく Polynucleotide 構成の核酸属である」とする岡本等⁴⁾の説に対し、Bernheimer 等⁵⁾⁶⁾の「蛋白或は核蛋白性らしいが、さりとて Polynucleotide にも本質的意義があるとする可能性は否定出来ない」という甚だあいまいな意見が出ているといつた現情⁶⁾である。*

此の様に見解の別れる所以は、何分 St-S が

化学的並に理学的影響、就中熱に対して甚しく鋭敏であり容易に不活性化される処から自然の活性状態を保持せしめたいばかりに思いつた精製純化——尤も St-S が Polynucleotide 性であるならば Ribo- 或は Desoxyribo- 核酸と同様結晶化は望み得ないであろうが——の操作を施し得ず、勢い精製標品に就て、溶血力を標示としながら、その化学的並に物理的性状を精査することによつて間接的に本毒素の本姿を推定するより外に、現在の処途がないことに原因しているといえよう。

処で私等が今回精製 St-S と酵母核酸とを対象として、紫外線—並に赤外線—吸収スペクトル測定、及び電気泳動試験**の三方面よりの比較考査を行つた事も、亦直接的考証でないにし

* 岡本等の論拠と Bernheimer 等の論拠に就ては「細胞化学シンポジウム」に詳記⁷⁾した。尙極く最近、正印⁸⁾、有沢⁹⁾、山本（泰）¹⁰⁾等が“St-S が Ag⁺ と Complex を形成して水溶液状態で100°C、数時間の処置にも耐え得る事”を実証した事¹¹⁾、及び Petermann¹²⁾が“精製 St-S の電気泳動試験で最速動性であるが溶血力を欠く Polynucleotide 分と、中等度移動性であり溶血性の殆ど全部が保有されている Polynucleotide 分と、最遅動性で、非溶血性の蛋白分の三分割に分離し得た事”は何れも St-S の核酸説を支持するものといえよう。然し此に対するものとして Bernheimer の Zone electrophoresis による試験での“精製 St-S 標品では 260 m μ 吸収帯を標示として測定した Polynucleotide 分布曲線と、溶血力を標示として測定した St-S 分布曲線との間には或る程度のずれがあつた”とする記載¹²⁾がある。

** Cinader & Pillemer は精製 St-S の電気泳動試験を行つているが、St-S の本質に就ては何も触れていない。

ても、之によつて St-S の本質問題の解明に資せんとしたに外ならない。

実験資料

1) 精製 Streptolysin S 標品：

岡本²⁾、正印³⁾等の記載に準じて溶連菌の1%核酸加ブイオン培養液から分離した I-N-F-Streptolysin S-fraction (岡本等の I_β1 分層に該当)を使用、本標品の性状は次の如くである：

a) 水に易溶(水溶液は中性)、鉍酸沈澱性、アルカリ可溶性で、アルコール、エーテルに不溶の類白色無晶形粉末。遊離磷酸は含まず。

b) 溶血限界濃度 $\approx 1:20$ Mill.—50 Mill.

c) Orcinol 及び Molish 反応は何れも強陽性、Feulgen 反応陰性。

d) 5%水溶液で Ninhydrin 反応は極微に陽性。

因に精製過程より見て I-N-F-Streptolysin S fraction には St-S の外に不活性化 St-S、酵母核酸、及

び極微量の蛋白性物質が含まれていると考えられる。

2) 酵母核酸標品：

メルク製酵母核酸ソーダを使用、其の性状は次の如くである：

a) 水に易溶(水溶液は中性)、鉍酸沈澱性、アルカリ可溶性で、アルコール、エーテルに不溶の類白色無晶形粉末。

b) 溶血性無し。

c) Orcinol 及び Molish 反応は何れも強陽性、Feulgen 反応陰性。

d) 5%水溶液で Ninhydrin 反応は相当強く陽性。

因に前記の1%核酸加ブイオンの調製には本酵母核酸ソーダ標品を使用した。

実験成績

I. 紫外線吸収スペクトル測定：

Fig. 1 に示した様に精製 St-S の紫外線吸収スペクトルは酵母核酸ソーダのそれと同一であるという成績であつた。

II. 赤外線吸収スペクトル測定***：

試料を流動パラフィン (Nujol) と煉り合せ、2枚の岩塩板の間に薄膜状に挟んで測定した。使用した装置は Perkin-Elmer 112 型分光器。

Fig. 2 (スペクトル図中 5.5—7.5 μ の点線は空気中の水蒸気を消去した部分を示す) に示した様に精製 St-S と酵母核酸ソーダとでは同様の赤外線吸収曲線であつて、其の間に有意の差は認められなかつた。

III. 電気泳動試験：

Fig. 3 でも明らかな様に精製 St-S は酵母核酸ソーダに酷似した電気泳動図を与えた。

以上の如く今回実験の成績を総括すると、精製 St-S と酵母核酸とは電気泳動試験、紫外線—並に赤外線—吸収スペクトル測定試験の何れに於ても夫々同様の態度を示し、其の間に有意の差を認めしめなかつたという事になるのであるが、此の成績に対し一歩退いて考察をめぐらせば次の様である。

1) 先づ電気泳動試験或は吸収スペクトル測定では、必ずしも相似物質の識別、微量物質混在の証明が出来るとは限ないのであるから、叙上の成績は厳密な意味に於て、精製 St-S 標品の溶血性が Polynucleotide 以外の微量物質の存在によるとする可能性を否定するものでもなけ

*** 赤外線吸収スペクトルの測定、解析をして下さつた倉敷レイオン 富山工場製造課西野豊氏に衷心より感謝の意を表します。

れば、又肯定せしめるものでもないともいえよう。然し、

2) 少くとも此の場合、精製 St-S 標品には物理的・化学的性状に於て酵母核酸とは凡そ懸絶した異常成分が、電気泳動像或は吸収スペクトルの上に反映する程の量的関係に於て混在していない事だけは明白といえよう。

3) そして、茲に St-S の蛋白或は核蛋白性説がある以上、論考の焦点は当然今回供試した I-N-F-Streptolysin S fraction が Ninhydrin 反応極微陽性であつたという事に集中されてくる訳であるが、之に対しては対象資料とした非溶血性の酵母核酸 (RNA) が亦 Ninhydrin 反応陽性である事、及び Frick 等が¹³⁾¹⁴⁾ Desoxyribo-核酸には其の分子内に鞏固に結合した成分蛋白の微量があるとさえ云つている様に、現在核酸

化学に於ては完全なる除蛋白方法が確立されているといえない事に想到しても、精製 St-S 標品の Ninhydrin 反応陽性も亦単なる混在物としてのものに過ぎないだろうという説明も成り立つ訳である。

要するに Streptolysin S の本質問題の考究には、菌型転換が真に Desoxyribo-核酸によるか或は之に微量に検出される蛋白性物質によるかの問題が現在尙水解するに至つてをらず論議¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾ されていると同様の難関に当面している処があり、新考証方式の導入されない限り厳密なる意味に於ける最後の断案は今寸前の処で下し得ない状態にあるといつた方が穩当でもあろうか。

結 語

1) 精製 Streptolysin S は酵母核酸に酷似した電気泳動像を示した。

2) 紫外線吸収スペクトルはもとより赤外

線吸収スペクトルの測定実験に於ても精製 Streptolysin S は酵母核酸と同一の吸収スペクトル図を示した。

文 献

- 1) Okamoto, H. : Japan. J. Med. Sci., IV. Pharmacol., **12**, 167, 1940.
- 2) Okamoto, H., Kyoda, S., and Ito, R. : Ibid., **14**, 99, 1941.
- 3) Bernheimer, A. W. : J. Exp. Med., **90**, 373, 1949.
- 4) 岡本肇, 松田研吉, 京田進 : 日本薬物学雑誌, **33**, 370, 1941.
- 5) Cinader, B., and Pillemer, L. : J. Exp. Med., **92**, 219, 1950.
- 6) Bernheimer, A. W. : Bacter. Reviews, **12**, 195, 1948.
- 7) 岡本肇 : 細胞化学シンポジウム, **3**, 145, 1954.
- 8) Shoin, S. : Japan. J. Exp. Med., **24**, 13, 1954.
- 9) 有沢和夫 : 十全医学会雑誌, **58**, 54, 1956.
- 10) 山本泰 : 十全医学会雑誌, **56**, 2200, 1955.
- 11) 岡本肇 : 細菌毒素シンポジウム, **1**, 93, 1955.
- 12) McCarty, M. :

- Streptococcal Infections, p. **27**, 1954.
- 13) Frick, C. : Biochim. et Biophys. Acta, **13**, 41, 374, 1954; Ibid., **8**, 625, 1952.
- 14) Fleming, M., and Jordan, D. O. : Disc. Farady Soc., **13**, 217, 1953. (cited from Frick's report).
- 15) 清水隆作 : 薬学雑誌, **76**, 158, 1956.
- 16) Mirsky, A. E. : Nucleic Acids and Nucleoproteins in Symposia on Quantitative Biology (Cold Spring Harbor Symposia), Vol. II, 16, 1947.
- 17) 江上不二夫 : 核酸及び核蛋白質, 上・下巻, 1951.
- 18) Chargaff, E., and Davidson, J. N. : The Nucleic Acids, Chemistry and, Biology (Academic Press Inc.), Vols. I and II, 1955.

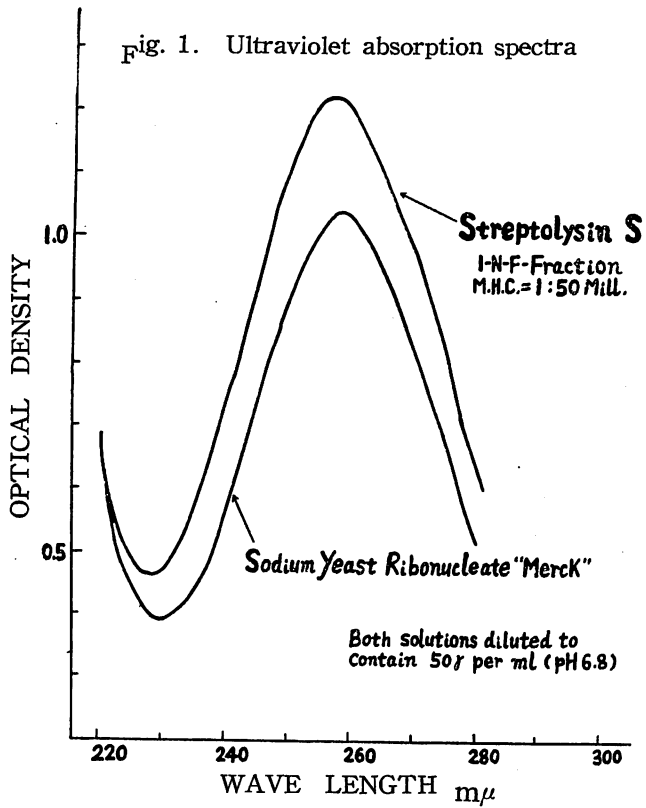
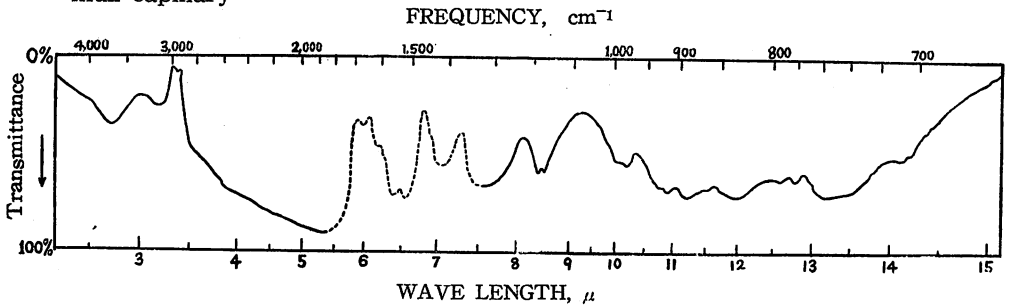


Fig. 2. Infrared absorption spectra

Streptolysin S (I-N-F-Streptolysinfracion, M. H. C. = 1 : 50 Mill.) : Nujol mull capillary



Sodium yeast Ribonucleate "Merck" : Nujol mull capillary

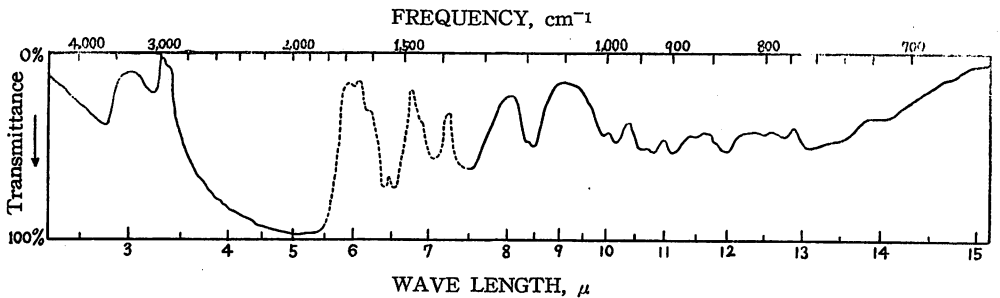
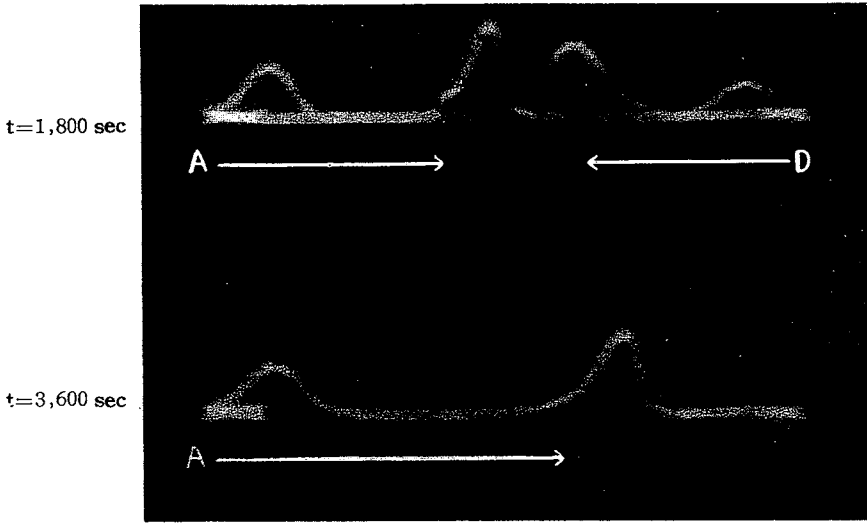


Fig. 3.

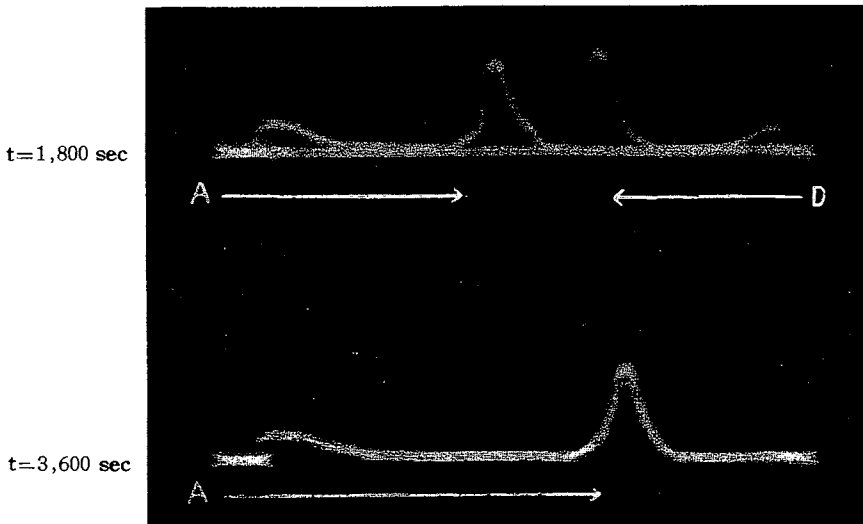
Comparative electrophoresis of purified streptolysin S and
sodium yeast ribonucleate

Streptolysin S (I-N-F-Fraction)



Sample : 10mg/ml 0.05M phosphate buffer, pH 7.8, Temperature : 22°C

Sodium yeast ribonucleate "Merck"



Sample : 10 mg/ml 0.05M phosphate buffer, pH 7.8, Temperature: 22°C