核酸及び核蛋白質の血清学的研究

昭和34年7月13日 受付

松本医科大学生化学教室（指導：藤村紫郎教授）
楢本勝彦

Serological Studies on the Nucleic Acid and Nucleoproteid

Katsuhiko Naramoto
Biochemical Institute, Faculty of Medicine, Shinshu University
(Director: Prof. Shiro Fujimura)

緒言

抗元抗体反応の一つの特徴は酵素反応の如く，その反応の特異性にある。Landsteiner & Lampl①は，抗元の特異性の研究に於て，"Diazo 化した芳香族 Amino 酸誘導体を，Coupling した合成蛋白抗元に対する抗血清は，もとの蛋白部分と関係なく，新に導入された基とのみ特異的に反応する" とする事実を証明した。後 Landsteiner②，Clutton et al③等，数多くの研究者に依り合成蛋白抗元の精細な研究が行はれた。Boyd④の云う如く，此等の事実は，抗体の一定部分に結合する抗元中には，その抗元の特異性を支配する，所謂 Determinant group の存在を示すものである。又種属特異性に就いても，Nuttall⑤の研究以来，多くの研究者に依り，更に各種の精製された蛋白質を用いての新知見が見出されて居る。

他方，Wells⑥は Protamine の様な比較的小分子の蛋白質には，抗体産生力を有しないとして居る。然し Landsteiner 等⑦は Cholesterol の様な物質でも抗元性を有する蛋白質と混合して使用すれば，抗体を産生すると述べて居る。

扨て，現在極めて重要な諸機能を有すると想像される核酸及び之を配合族とする核蛋白質に就いては不明の事が多い。就中，その血清学的性質に就いては余り知られて居ない。

著者は蛋白質部分として比較的小分子である Histone 又は Protamine よりなる動物性核蛋白体に抗元性があるや否や，植物性核蛋白体のそれも合はせて検討した。且又，抗元性を有するとすれば，その血清学的特異性に対して，配合族である核酸が如何なる影響を有するか等を明かにする為に，動物臓器及び植物酵母より核蛋白質及び Ribo 核酸並びに Desoxyribo 核酸を抽出精製し，尚又市販核酸を用いて実験した。実験方法及び結果は以下の如くである。

実験

核蛋白体の調製：－

〔1〕 植物性核蛋白体の調製

抽出材料としては，新鮮なパン及びビール酵母を用いた。抽出法は Clark-Schryver⑧の Ribo 核酸抽出法に準拠した。即ち，可及的蛋白質の変性を防ぐため，之を -10～-15°C で Aceton で処理して，脂質の除去を兼ね乾燥した。Ethylether にて更に脂肪を除いた。之を乾燥后，10% 食塩水に対し 5% の割合で懸濁し，2日間，低温下，振盪抽出した。後低速遠心で大顆粒を除き清澄な上清を分離する。上清に HCl を加へ生じた沈澱を更に 10%NaCl に溶解し，其の不溶分は低速遠心で除去する。この操作を3回繰返した後最后の沈澱を Aceton 及び Ethylether で3回洗滌后乾燥した。

〔2〕 動物性核蛋白体

動物組織よりの Desoxyribose-nucleohistone（以下 DNH と略す）の調製は Petermann-Lamb 法⑨に依つた。即ち新鮮な豚及び牛脾臓を用い，脂肪及び結合組織を除去せる後ホモヂナイズする。之を氷冷 0.05M の拘橼酸ソーダで洗滌した後，10倍容の氷冷 2M NaCl＋0.1M 拘橼酸ソーダ，pH 5.6，-2°C で 3～4日間振盪抽出する。粗大粒子を遠心除去し，上清は更に 12,000 r.p.m. 60分遠心する。之が上清の NaCl の濃度を蒸溜水を用いて 0.15M とする。この際の沈澱分を粗 DNH とする。此等の操作を3回繰返して調製したものを精製 DNH とする。

此等の定性反応及び分析結果は〔第1表〕の如くである。

分析方法：－

紫外部吸収スペクトルは Beckman Model DU に依つた。窒素は Micro Kjeldahl 法，燐は Fiske-Subbarow 法⑩に依り各々測定した。

第1表　各種核蛋白質の化学的性質

反応 ＼ 抗元			パン酵母抗元	ビール酵母抗元	豚抗脾臓元	牛抗脾臓元
五炭糖	Ribose の反応	Bial-Mejbaūm の Orcinol 塩酸反応	＋	＋	－	－
		Euler &. Hahn の $Fe\text{-}cl_3$ phloroglucionol 反応	＋	＋	－	－
	Desoxy-ribose の反応	Dischen の Cysteine 硫酸反応	－	－	＋	－
		Diphenylamine of Dische	－	－	＋	＋
		Nucleal R.of Feulgen	－	－	＋	＋
有機塩基	guanine 塩基の反応	Murexide R.of Fischer	＋	＋	＋	＋
		Xanthine R.of Fischer	＋	＋	＋	＋
	Adenine 塩基の反応	Kossel's reaction	＋	＋	＋	＋
一般糖還元反応	Trommerの反応		－	－	－	－
	Nylanderの反応		－	－	－	－
	Barfoedの反応		－	－	－	－
	Fehlingの反応		－	－	－	－
蛋白質呈色反応	Biuret反応		＋	＋	＋	＋
	Ninhydrin反応		＋	＋	＋	＋
	Xantoprotein 反応		＋	＋	＋	＋
	Millon反応		＋	＋	＋	＋
	硫化鉛反応		±			
	Molisch反応		＋	＋	＋	＋
	Hopkin's-cole反応		＋	＋	＋	＋
蛋白沈澱反応	Sulfosalicyl酸		＋	＋	＋	＋
	Trichlon醋酸		＋	＋	＋	＋
	Ethanol		＋	＋	＋	＋
紫外部吸収スペクトル						
吸収極大波長 (mμ)			260	260－263	258－259	262－265
〃極少 〃 (mμ)			235－239	235－240	242	240
N/P			3.0	2.7	4.9	5.2

抗血清調製法：－

前記の核蛋白質を，体重2～3 kg の白色健康家兎の耳静脈に2～3cc 又は腹腔に5～10cc 宛2日置きに9～12回注射した。最後の注射より7日目に試験採血をなし抗血清を調製した。

血清反応実施法：－

沈降反応及び補体結合反応を用いた。沈降反応は重層法に依り行つた。結果の判定は，重層後15分で著明な白色輪の生じたものを（卅），30分で生じたるを（廿），60分のものを（＋），180分のものを（±）と記し，この際全く白色輪の形成を認めないものを（－）とする。

補体結合反応は Browning 法に依つた。即ち抗元及び抗血清は抗補体作用を呈する量の各々 $^1/_2$ 以下を用いる。2，4，6，8，10，12，15 単位の補体を加へ，37°C 1時間，時々振盪混和しつゝ保持し更に之に7単位3％感作血球 0.25cc を加へる。37°C 1時間保持せる後，溶血反応に依りその結果を判定した。完全溶血を（卅），非溶血を（－）とし，その間の不完全溶血は（廿），（＋），（±）と記する。

尚両血清反応共家兎抗血清は 56°C 30分加熱して，その保有する補体作用を破壊せしめた後用いた。

実験結果

酵母核蛋白質及び脾臓 Desoxyribose nucleohistone（DNH）を以つて免疫して得た家兎抗血清価は第2表の如くである。

即ち酵母核蛋白体には抗元性を認めた。然し脾臓 DNH を注射用抗元として用いた場合には抗元性を認めなかつた。即ち 2 M-NaCl＋0.01 M sod. citrate に溶解し，desoxyribo 核酸（DNA）と蛋白部分である Nucleohistone を解離状態と為して用いた際である。

従つて in vivo に於て脾臓 DNH の抗元性をみる為に次の実験を行つた。Petermann-Lamb ⑨法に依り，脾臓 DNH の 2 M NaCl＋0.01 M sod. citrate 溶液を 1.5 l の氷冷 0.001 M sod. citrate に対し24時間透析し，之の1％溶液3～5cc 宛を前述の方法に依り家兎耳静脈に注射した。結果は第3表に見る如く DNA と Nucleohistone を結合状態にあらしめたものには抗元としての活性を証し得た。

Schrepper として豚血清を DNH の $^1/_{10}$ 量加へて免疫したが，DNH のみの注射に比し抗元力価の何らの増強も認め得なかつた。

かくて酵母核蛋白体，脾臓核蛋白体の何れに於ても，蛋白質と，その配合族である核酸の結合状態のものは抗元性を有することを知つた。次に此等の抗元，抗血清間に種属特異性が存するか否かを知る為交叉的血清反応を実施した。

結果は第4表に示す如くである。

即ち，抗パン酵母核蛋白質血清に対して，ビール酵母核蛋白質は反応するが，豚脾臓及び牛脾臓 DNH は全く反応しない。又抗ビール酵母核蛋白質血清に対しては，パン酵母核蛋白質は反応陽性であるが豚及び牛脾臓 DNH は完全に陰性である。但しパン及びビール

第 2 表 (1)　抗YNP及び抗DNH家兎血清沈降力価

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	検査用抗元の稀釈倍数 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	NaCl 対照	正常家兎血清対照
1	パン酵母	パン酵母	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	+	±	−	−	−	−	−	−	−
2	YNP⊗	YNP⊗	⧻	⧻	⧻	⧻	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	⧺	+	±	−	−	−	−	−	−	−
5	〃	〃	⧻	⧻	⧺	+	+	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−
6	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	−	−	−	−	−	−	−
7	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	+	+	±	−	−	−	−
8	ビール酵母	ビール酵母	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	+	+	+	+	±	−	−	−
9	YNP⊗	YNP⊗	⧺	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	+	+	±	−	−	−	−
11	〃	〃	⧺	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	+	+	±	−	−	−	−
12	豚脾臓	豚脾臓	−	−	−	−	−	−	−	−						−	−
13	DNH△	DNH△	−	−	−	−	−	−	−	−						−	−
14			−	−	−	−	−	−	−	−						−	−
15	牛脾臓	牛脾臓	−	−	−	−	−	−	−	−						−	−
16	DNH△	DNH△	−	−	−	−	−	−	−	−						−	−
18			−	−	−	−	−	−	−	−						−	−

⊗YNP：酵母核蛋白質 (Yeastnucleoprotein)

△DNH：Desoxynucleohistone

第 2 表 (2)　抗YNP及びDNH抗家兎血清補体結合価

家兎番号	注射用抗原	検査用抗原	補体単位 2	4	6	8	10	12	抗元対照	血清対照
1	パン酵母核蛋白質	パン酵母核蛋白質	−	⧻	⧻	⧻			⧻	⧻
2	〃	〃	±	⧻	⧻	⧻				⧻
3	〃	〃	−	⧻	⧻	⧻				⧻
5	〃	〃	±	⧻	⧻	⧻				⧻
6	〃	〃	−	±	⧻	⧻				⧻
7	〃	〃	−	−	⧻	⧻				⧻
8	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母核蛋白質	−	−	−	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
9	〃	〃	−	−	−	⧻	⧻	⧻		⧻
11	〃	〃	−	−	−	−	±	⧻		⧻
12	豚脾臓	豚脾臓	⧻	⧻	⧻				⧻	⧻
13	Desoxynucleo-histone	Desoxynucleo-histone	⧻	⧻	⧻					⧻
14	〃	〃	⧻	⧻	⧻					⧻
15	牛脾臓	牛脾臓	⧻	⧻	⧻				⧻	⧻
16	Desoxynucleo-histone	Desoxynucleo-histone	⧻	⧻	⧻					⧻
17	〃	〃	⧻	⧻	⧻					⧻
18	〃	〃	⧻	⧻	⧻					⧻

第 3 表　　抗脾臓 D N H 家兎血清価

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	補体単位 2	4	6	8	10		抗原対照	血清対照
19	豚脾Desoxy-nucleohistone	豚脾Desoxy-nucleohistone	－	⧻	⧻				⧻	⧻
20	＋		⧺	⧻	⧻					⧻
21	豚血清	〃	±	⧻	⧻					⧻
25	〃	〃	－	－	⧻					⧻
26	〃	〃	＋	⧻	⧻					⧻
30	〃	〃	－	－	⧻	⧻	⧻			⧻
31	〃	〃	±	⧻	⧻					⧻
22	豚脾Desoxy-nucleohistone	〃	－	⧻	⧻				⧻	⧻
23		〃	±	⧻	⧻					⧻
27	〃	〃	－	－	⧻					⧻
28	〃	〃	－	－	±	⧻	⧻			⧻
29	〃	〃	－	⧻	⧻					⧻
32	牛脾Desoxy-nucleohistone	牛脾Desoxy-nucleohistone	±	⧻	⧻				⧻	⧻
33	＋ 豚血清	〃	－	⧻	⧻					⧻
34	〃	〃	－	⧻	⧻					⧻
35	牛脾Desoxy-nucleohistone	〃	－	⧻	⧻				⧻	⧻
36	〃	〃	－	⧺	⧻					⧻
37	〃	〃	－	－	⧻					⧻

第 4 表　　交叉的血清反応 1（沈降反応）

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	抗元稀釈倍数 2	4	8	16	32	64	128	256	対照 食塩水	正常家兎の血清
3	パン酵母核蛋白質	ビール酵母核蛋白質	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	＋	－	－	－
8	ビール酵母核蛋白質	パン酵母核蛋白質	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻	⧺	＋	－	－	－
27	豚脾Desoxy-nucleohistone	〃	－	－	－	－	－				－	－
〃	〃	ビール酵母核蛋白質	－	－	－	－	－				－	－
35	牛脾Desoxy-nucleohistone	パン酵母核蛋白質	－	－	－	－	－				－	－
〃	〃	ビール酵母核蛋白質	－	－	－	－	－				－	－

酵母核蛋白質抗血清共明かに同種核蛋白質よりその試験管内抗亢性が弱いことが認められる。

又抗豚脾臓 DNH 血清には牛脾臓のみ反応し，パン及びビール酵母核蛋白体は交叉反応陰性である。同じく抗牛脾臓 DNH 血清の場合にも豚脾 DNH とは反応するが酵母核蛋白体とは全く反応しない。然もパン及びビール酵母核蛋白体と同様に脾臓 DNH 間に於てもその種類が異れば同種 DNH 間よりも反応が減弱する事を知つた。此等の事実より脾臓及び酵母核蛋白質は血清学的には全く共通性がないものと考へられる。

次に核蛋白質の血清学的特異性に対し，その蛋白部分と核酸部分との何れが支配的位置にあるかを決める為に次の実験を行つた。先ず ribose, desoxyribose 各核酸を調製した。次いで之が血清学的性質を検討した。

核酸の調製：－

1)　酵母核酸（Yeast nucleic acid－YNA とする）

Clark-Schryver 法⑧に依つた。即ち各々 16Kg の新鮮なパン及びビール酵母を細粉し，次の如く処理する。各 20 l の 97％Alcohol に懸濁し，室温で 24 時間

攪拌する。更に少量の Alcohol を加へつゝ容積を一定にしながら2時間煮沸する。之の操作により蛋白質を凝固せしめた後遠心し沈渣を乾燥する。48 l の10% NaCl を加へ 70～80°C に於て強く攪拌しつゝ之を抽出する。遠心により上清を得る。之に HCl を加へて RNA を沈澱せしめ濾過して母液と別つ。之の粗製核酸を10% 醋酸-Na に溶かし不溶分を除く。透明な上澄に Et-OH＋HCl を加へ沈澱せしめる。97%Alcohol, 無水 Alcohol, Ethylether の順に洗滌乾燥したものを YNA-1 とする。YNA-1 は核酸の各反応を有するが蛋白の存在を示さない。(第5表)

2) Desoxyribose 核酸 (DNA とする。)

豚及び牛脾臓 DNA を Feulgen 法[11]に依り抽出した。即ち各 4Kg の脂肪及び結合組織を除去した豚及び牛脾臓を homogenize する。RNA を除去する為 pH 7.0 氷冷 0.05 M sod. citrate で10数回洗滌し最後に氷冷 pH 7.0 0.01 M sod. citrate で洗滌する。蒸溜水に懸濁し，1 l に対し 46.8 gm の sod. acetate を加へ，80°C で加熱しつゝ，30～40分攪拌する。更に 33%NaOH を之の 1 l に対し 15cc 加へ攪拌する。30分後 7.5 gm のタルク及び 20cc の 5% 醋酸を加へ 10 分間加熱攪拌する。5cc の Isoamylalcohol を注加し，熱漏斗で濾過後，漏液に煮沸 Alcohol を加へる。この際，雪状に DNA の Na-塩が析出する。之に水 30cc, Alcohol 60cc, 20% Na-acetate 2cc を加へ，ヌッチェで吸引濾過する。Alcohol に懸濁し 0～2°C に一夜放置する。之の操作を繰返して，gel 状の白色 α-DNA の沈澱を得た。97%，無水各 Alcohol, Ether の順に洗滌し硫酸上真空乾燥した。之を DNA-1 (α-DNA) とする。

Petermann等[9]は DNH が 1 M 以上の高張塩中では DNA と Histon とに解離して存すると述べて居る。之の事実を利用し，Hammarsten[12]の方法に依り，牛及び豚脾臓 DNH の 2M NaCl＋0.01M sod. citrate 溶液に約2倍量の Alcohol を加へる。析出した雪白の糸状物を 1 M NaCl＋0.01 M sod. citrate に冷却しつゝ溶解せしむる。更に Alcohol 添加に依り沈澱した DNA を DNA-2 とする。

此等の核酸の性状は第5表の如くであつた。即ち Biuret 反応は陰性である。

核酸の抗元性：－

前記の各核酸試料を得て，その試験管内抗元性を検討した。結果は第6表の如くである。即ち抗パン酵母核蛋白質血清に対しパン酵母核酸 (YNA-1) は微弱

第5表　YNA-1, DNA-1の化学的性質

			パン酵母 YNA-1 *	ビール酵母 YNA-1 *	脾臓 α-DNA △
五炭糖	Ribose の反応	Bial の Orcinol-Hcl 反応	＋	＋	－
		Phloroglucinol 反応	＋	＋	－
	Desoxyribose の反応	Dische の Cysteine-H_2SO_4 反応	－	－	＋
		Dische の Diphenylamine 反応	－	－	＋
		Feulgan の Nuclea1 反応	－	－	＋
有機塩基	Guaninebase	Murexide 反応	＋	＋	＋
		Xanthine 反応	＋	＋	＋
	Adeninebase	Kossel 反応	＋	＋	＋
一般糖還元反応		Trommer 反応	－	－	－
		Nylander 反応	－	－	－
		Barfoed 反応	－	－	－
蛋白・アミノ酸呈色反応		Biuret 反応	－	－	－
		Ninhydrin 反応	－	－	－
		Millon 反応	－	－	－
		Xanthoprotein 反応	－	－	－
N, P分析値		Total N (gm%)	15.2	15.9	14.5
		Total P (gm%)	7.7	7.95	8.3
		N/P	1.97	2.0	1.75
紫外部吸収スペクトル		極大波長 (mμ)	260	263	257－260
		極小波長 (mμ)	230	234－235	230

* Clark-Schryver 法抽出
△ Feulgen 法抽出

第6表　粗製核酸の抗元性 (1) 沈降反応

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	抗元稀釈倍数 2	4	8	16	32	64	Nacl対照
6	パン酵母核蛋白質	パン酵母 YNA-1	＋	＋	＋	－	－	－	－
6	〃	ビール酵母 YNA-1	－	－	－	－	－	－	－
7	〃	〃	－	－	－	－	－	－	－
6	〃	Merck RNA	－	－	－	－	－	－	－
3	〃	豚脾 DNA-1 (2-DNA)	－	－	－	－	－	－	－
3		牛脾 DNA-1	－	－	－	－	－	－	－
8	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母 YNA-1	＋＋	＋＋	＋	＋	＋	－	－
8	〃	パン酵母 YNA-1	＋	－	－	－	－	－	－
8	〃	Merck RNA	＋	＋	＋	－	－	－	－
8	〃	豚脾 DNA-1	－	－	－	－	－	－	－
8	〃	牛脾 DNA-1	－	－	－	－	－	－	－

2) 補体結合反応

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	補体単位 2	4	6	抗元対照	血清対照
7	パン酵母核蛋白質	パン酵母YNA-1	－	⧺	⧺		⧺
6	〃	ビール酵母YNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
7	〃	〃	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
6	〃	Merck RNA	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
3	〃	豚脾 DNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
3	〃	牛脾 DNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
9	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母YNA1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
11	〃	〃	±	⧺	⧺	⧺	⧺
9	〃	パン酵母YNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
11	〃	〃	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
9	〃	Merck RNA	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
8	〃	豚脾 DNA-1	⧺	⧺		⧺	⧺
8	〃	牛脾 DNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
22	豚脾 DNH	豚脾 DNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
27	〃	〃	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
27	〃	パン酵母YNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
27	〃	ビール酵母YNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
27	〃	Merck RNA	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
33	牛脾 DNH	牛脾 DNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
35	〃	〃	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
35	〃	豚脾 DNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
35	〃	パン酵母 YNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
〃	〃	ビール酵母 YNA-1	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺
〃	〃	Merck RNA	⧺	⧺	⧺	⧺	⧺

DNH : Desoxynucleohistone

ながら抗元性を示し，又ビール酵母核蛋白質核酸の場合も同様である。然し DNA-1, DNA-2 は牛，豚共各核蛋白抗血清に対し反応しない。従つて酵母核酸自身に試験管内抗元性を有するや否やを確定する為更に各核酸の精製を行う事にした。何故ならば化学反応では検出不能な微量の蛋白質が強固に核酸と結合して存在し，之が血清反応を呈する可能性を恐れたからである。

核酸の精製：－

1) 酵母核酸

YNA-1 及び Merck 製 RNA の精製は Vischer-Chargaff 法[13]に依つた。即ち 5.2gm の YNA-1 に 2 N NH_4OH 10cc，蒸溜水 350cc を加へ溶解する。pH 6.8～6.4 に保ち，滷性に傾けざる様注意する。濾液に 95% Alcohol 500cc, 36% HCl 6cc を加へ，白色析出物を生ぜしめる。之を透析せる後乾燥する。即ち YNA-2 である。

更に精度を高める為 Chloroform-gel 法[14][15]に依つた。

YNA-2 をNH_4OH に対し，2%に溶解する。之の溶液 100cc に Chloroform 80cc, Isoamylalcohol 20cc を加へ1時間振盪後，遠心する。上澄に同様な操作を加へ30回反覆する。両境界面に被膜を認めざるに至つたので完全に蛋白質は分離せられたものとし

た。最後の上澄に 15% HCl 30cc を加へ，遠心分離后，50，95，無水 Alcohol，Ether の順に洗滌脱水し，P_2O_5 上，真空で乾燥する。之を YNA-3 とした。分析値は第7表の如くである。

2) 脾臓ＤＮＡ

DNA-2 を Chloroform-gem 法⑯⑰で精製した。Chloroform，Isoamylalcohol の比率は 5：1，振盪時間 60～120 分とした。之を DNA-3 とする。分析結果は第7表の通りであり，胸腺デスオキシリボ核酸に就いての分子量 1.328，N 15.81%，P 9.35%，N/P 1.69 に近似して居る。

第 7 表-1　純化ＹＮＡ（ＲＮＡ）の分析値

精製方法	パン酵母 YNA-3 Chloroformgel法	ビール酵母 YNA-3 Chloroformgel法	△ 酵母核酸理論値	* 酵母核酸理論値
N (%)	15.4	15.2	15.25	16.34
P (%)	8.2	8.8	9.03	9.64
N/P	1.88	1.7	1.69	1.695
紫外部吸収スペクトル				
極大波長(mμ)	263～265	261	260～265	263～264
極小波長(mμ)	233	231～234	233～234	234～235

△ Tetranucleotide, Open chainstructure ⑱

* Ring structure ⑯

△ $C_{38}H_{45}O_{28}N_{15}P_4Na_4$

第 7 表-2　純化ＤＮＡの分析値

核酸	豚脾 DNA-3	牛脾 DNA-3	DNA理論値△ (Greenstein)
精製方法	Chrolofo-rmgel法	Chrolofo-rmgel法	
N (%)	15.0	14.8	15.81
P (%)	8.3	8.7	9.35
N/P	1.8	1.7	1.69
紫外部吸収スペクトル			
極大波長(mμ)	260～265	263～264	
極少波長(mμ)	233～234	234～235	

△Tetranucleotide $C_{38}H_{46}O_{25}N_{15}p_4Na_4$ Greenstein ⑱

精製核酸の抗元性：－

此等の精製 YNA（RNA）及び DNA が抗核蛋白質血清に対し，抗元性を示すか否かを検討した。その結果を第8表に示す。

第 8 表-1

検査用抗元としての精製ＹＮＡの活性

（補体結合反応）

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	補体単位 2	3	6	対照	血清対照
1	パン酵母核蛋白質	パン酵母 YNA-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
3	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
6	〃	ビール酵母 YNA-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
7	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
9	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母 YNA-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
11	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
9	〃	パン酵母 YNA-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
11	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
22	豚脾ＤＮＨ	豚脾ＤＮＨ-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
27	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
30	〃	牛脾ＤＮＡ-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
36	牛脾ＤＮＨ	牛豚脾 DNA-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
37	〃	〃	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻
36	〃	豚脾臓 DNA-3	⧻	⧻	⧻	⧻	⧻

第 8 表-1

検査用抗元としての精製ＹＮＡ及び活性

（沈降反応）

家兎番号	注射用抗元	検査用抗元	抗元稀釈倍数 2	4	8	16	Nacl 対照	正常家兎血清
6	パン酵母核蛋白質	パン酵母 YNA-2	－	－	－	－	－	－
7	〃	〃	－	－	－	－	－	－
6	〃	ビール酵母 YNA-3	－	－	－	－	－	－
7	〃	〃	－	－	－	－	－	－
6	〃	豚脾臓 DNA-3	－	－	－	－	－	－
6	〃	牛脾臓 DNA-3	－	－	－	－	－	－
9	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母 YNA-3	－	－	－	－	－	－
11	〃	〃	－	－	－	－	－	－
9	〃	パン酵母 YNA-3	－	－	－	－	－	－
8	〃	豚脾臓 DNA-3	－	－	－	－	－	－
8	〃	牛脾臓 DNA-3	－	－	－	－	－	－

即ち Vischer-chargaff 法に依り精製した酵母核酸 YNA-2 に於ては僅かに抗元性を示した。然し Chloroform-gel 法で精製したパン及びビール酵母 YNA-3 (RNA) に於ては各々，抗酵母核蛋白体血清及び抗 DNH 血清に対して抗元性を示さない。豚及び牛脾臓 DNA-3 の場合も同様である。

従つて YNA-1, YNA-2 等の如く比較的粗製の核酸の抗元性は，附随する蛋白質に依るものではないかと考へられる。

阻止実験 (Inhibitions reaction)：－

此等各種の粗製及び精製核酸が各種核蛋白質－抗核蛋白質血清との間の血清反応に対し如何なる影響を与へるかを知る為，以下の実験を行つた。

酵母核蛋白質，脾臓 DNH 抗血清 0.025cc に 0.1 %の各種核酸溶液 0.025cc 宛加へ 37°C, 60分保持する。之に各々相当する核蛋白質溶液を加へて，沈降反応及び補体結合反応を実施した。結果は第9表の通りである。

抗パン酵母核蛋白質血清に対しては，パン酵母核酸 YNA-1, YNA-3, 共に血清反応を阻止する。ビール酵母 YNA-1, YNA-2, RNA (Merck) は前者に比し弱いながら之を阻止する。然し豚及び牛脾臓 DNA-3 は殆んど阻止しない。

又抗ビール酵母核蛋白質血清，ビール酵母核蛋白質間の血清反応の場合にも，ビール酵母核酸 YNA-1, YNA-3, Merck RNA 等の如く種を異にする場合にも若干阻止する。然し種の相異の大きい豚及び牛脾臓では阻止しなかつた。抗豚脾 DNH, 抗牛脾 DNH 血清の場合にも全様な関係を示す。即ち同種核酸が最も強く血清反応を阻止するが，異種の酵母核酸に於てはその阻止作用は減少した。

第 9 表　　核蛋白質血清間の反応に及ぼすYNA・DNAの影響

(沈　降　反　応)

家兎番号	注射用抗元	核酸	検査用抗元	検査用抗元稀釈倍数 2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	
6	パン酵母核蛋白質	パン酵母 YNA-1	パン酵母核蛋白質	－	－	－	－	－						－
7	〃	〃	〃	－	－	－	－	－						－
6	〃	パン酵母 YNA-1	〃	±	±	－	－	－						－
7	〃		〃	±	±	±	－	－						－
7	〃	ビール酵母 YNA-1	〃	＋	⧺	⧺	⧺	＋	＋	－	－	－	－	－
7	〃	ビール酵母 YNA-3	〃	⧺	⧺	⧺	⧺	＋	＋	±	－	－	－	－
6	〃	Merck RNA	〃	＋	＋	＋	＋	－	－	－	－	－	－	－
6	〃	豚脾DNA-3	〃	＋	＋	＋	＋	＋	－	－	－	－	－	－
6	〃	牛豚DNA-3	〃	＋	⧺	⧺	⧺	＋	＋	＋	－	－	－	－
11	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母 YNA-1	ビール酵母核蛋白質	±	±	－	－	－	－	－	－	－	－	－
9	〃	ビール酵母 YNA-3	〃	±	±	±	±	－	－	－	－	－	－	－
11	〃	〃	〃	±	±	±	±	－	－	－	－	－	－	－
11	〃	パン酵母 YNA-3	〃	＋	＋	⧺	⧺	＋	－	－	－	－	－	－
9	〃	Merck RNA	〃	＋	＋	±	±	－	－	－	－	－	－	－
9	〃	豚脾DNA-3	〃	＋	⧺	⧺	＋	＋	＋	＋	±	－	－	－
9	〃	牛脾DNA-3	〃	＋	⧺	⧺	⧺	＋	＋	＋	＋	＋	±	－

第 9 表-2　核蛋白体血清間の反応に及ぼすＹＮＡ．ＤＮＡの影響
（補体結合反応）

家兎番号	注射用抗元	核酸	検査用抗元	補体単位 2	補体単位 4	補体単位 6	抗元対照	抗血清対照
7	パン酵母核蛋白質	パン酵母 YNA-1	パン酵母核蛋白質	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋
6	〃	パン酵母 YNA-3	〃	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋
7	〃	〃	〃	＋	＋＋	＋＋		＋＋
6	〃	ビール酵母 YNA-3	〃	＋	＋＋	＋＋		＋＋
7	〃	〃	〃	－	＋＋	＋＋		＋＋
6	〃	Merck RNA	〃	＋	＋＋	＋＋		＋＋
7	〃	〃	〃	±	＋＋	＋＋		＋＋
7	〃	豚脾臓 DNA-3	〃	－	＋	＋＋		＋＋
7	〃	牛脾臓 YNA-3	〃	－	±	＋＋		＋＋
8	〃	ビール酵母 YNA-1	ビール酵母核蛋白質	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋
8	ビール酵母核蛋白質	ビール酵母 YNA-3	〃	＋＋	＋＋	＋＋		＋＋
8	〃	パン酵母 YNA-3	〃	±	＋＋	＋＋		＋＋
8	〃	Merck RNA	〃	±	＋＋	＋＋		＋＋
11	〃	豚脾臓 DNA-3	〃	－	－	＋＋		＋＋
11	〃	牛脾臓 DNA-3	〃	－	＋＋	＋＋		＋＋
27	豚脾臓 DNH	豚脾臓 DNA-3	豚脾臓 DNH	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋
25	〃	〃	〃	＋＋	＋＋	＋＋		＋＋
28	〃	牛脾臓 DNA-3	〃	－	＋＋	＋＋		＋＋
30	〃	パン酵母 YNA-3	〃	±	＋＋	＋＋		＋＋
30	〃	ビール酵母YNA-3	〃	－	＋＋	＋＋		＋＋
36	牛脾臓 DNH	牛脾臓 DNA-3	牛脾臓 DNH	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋
37	〃	〃	〃	＋＋	＋＋	＋＋		＋＋
35	〃	豚脾臓 DNA-3	〃	±	＋＋	＋＋		＋＋
37	〃	パン酵母 YNA-3		－	＋＋	＋＋		＋＋
37	〃	ビール酵母 YNA-3		－	＋＋	＋＋		＋＋

総　括

各種酵母及び脾臓より核蛋白質及び核酸を製し，その血清学的研究を行い，次の結果を得た。

1〕 パン及びビール酵母核蛋白質は抗元性を認めた。然し豚及び牛脾臓に就いては DNA と Nucleohistone を解離状態で免疫せしめたものには，抗元性を認め得なかつた。然し DNA と Nucleohistone を結合状態にしたものは抗体生成作用を認めた。

2〕 精製核蛋白質も抗元性を有する。

3〕 此等の抗血清を用いて交叉反応を行うと，両種酵母核蛋白質は互に反応し，又両種脾臓核蛋白質間にも交叉反応が見られる。然し酵母核蛋白質と脾臓核蛋白質との間には反応がみられない。即ちその配合族たる核酸の種類を異にする核蛋白間に於ては反応が起らない。

4〕 粗製核酸は弱い抗元性を示すが精製核酸には抗元性が認められない。

5〕 両酵母 RNA は，抗酵母核蛋白質血清と抗元

との間の反応を阻止し，又両脾臓 DNA は抗豚及び牛脾血清と，それぞれに対応する DNH との間の血清反応を阻止する。此の場合，種の近縁のもの程阻止作用強く，種の遠ざかるに従つて，その阻止度は減弱し又は全く阻止しない。

以上の事実より，核蛋白体は抗元性を有するが，その血清学的特異性は配合族として含まれる核酸によつて支配される。即ち核酸は核蛋白質の決定族となつていると考へられる。

稿を終るに臨み，終始変らざる御指導を頂き，御校閲を賜つた恩師藤村紫郎教授に深甚なる謝意を表します。

尚本論文の要旨は第70回日本生化学会関東部会に於て発表した。

文　献

①Landsteiner, K. & Lampl, H., Biochem. Z., 86, 343, 1918.　②Landsteiner, K., The Specificity of Serological Reactions, C. C. Thomas, Springfield. 1936.　③Clutton, R. F., Harigton, C. R., Yuill, M. E., Biochem. J. 32, 1111, 1938.　④Boyd, W. C., Fundamentals of Jmmunology, Interscience Publishers, Ins New York. 1947.　⑤Nuttal, G. H. F., Blood Immunity and Blood Relationship. Cambridge, 1904.　⑥Wells, H. G., The Chemical Aspects of Immunity. Chem. Catalog Co., New York, 1952　⑦Landsteiner K., The Specificity of Serological Reactions, 2nd rev. ed., Harvard Univ. Press, Cambridge, 1945　⑧Clark, G., Schryver, S. B., Biochem J., 11, 319, 1917.　⑨Petermann, M. L., Lamb, C. M., J. Biol. Chem., 176, 685, 1948.　⑩Fiske, C. H., Subbarow, Y., ibid., 66, 375, 1925.　⑪Feulgen, R., Z. Physiol. Chem., 90, 261, 1914.　⑫Hammarsten, E., Biochem. Z. 144, 383, 1924.　⑬Vischer, E., Chargaff, E., J. Biol. Chem., 176, 715, 1948.　⑭Bacher. J. E., Allen, F. W., ibid., 183, 633, 1950.　⑮渡辺 格，磯見二郎，日本化学会雑誌，71，280，1950.　⑯Sevag, M. G., Biochem. Z. 273, 419, 1934.　⑰Chargaff, E., Vischer, E., Doniger, R., Green, C., Misani, F., J. Biol. Chem., 177, 405, 1949.　⑱Greenstein, J. P., Adv. in Prot. Chem., 1, 273, 1944.　⑲辻 正一，生化学，23，32，1951. 内田正男，生化学，23，63，1951