

細菌の化學的組成

醫學士 明石修三

細菌は下等植物に屬する微生物中最も簡単な形態を具へてゐるものであるが、人類とは直接間接交渉を持つものが多い。而し醫學的見地からして細菌就中病源性細菌の化學的組成の研究が殊に意義がある。さて著者は偶々多量の鼠チフス菌菌體 (Mäusetyphusbacillen) を入手する機會を得たので、先づ其化學的諸成分中特に細菌の生活現象に重要な意義を有するヌクレイン酸に就て研究を行つた。從來の細菌ヌクレイン酸に關する研究を觀るに、其數は大腸菌、⁽¹⁾アゾトバクテリア⁽²⁾、結核菌、⁽³⁾⁽⁴⁾チモテー菌、⁽⁵⁾デフテリー菌⁽⁶⁾等僅少例に限られ、而も其成績は頗る區々である。何れの場合に於ても先づ疑問視せられる點は、ヌクレイン酸が細菌體中に存することは既定の事實としても、既知ヌクレイン酸と同一種か、別種か、或は細菌相互に異なるものか、といふ問題である。元來既知ヌクレイン酸の構造が尙未解決の今日此問題を細部に亙つて追究することは不可能であつて、更に細菌體採集に要する莫大な費用、手數や、純粹試料製出に伴ふ困難等を考慮すれば一層かゝる事情の當然なことが首肯される。著者の本研究の目的は成る可く純粹なヌクレイン酸を得ること、既知ヌクレイン酸との比較、主として成分の質的並に量的比較を行ふにある。さて試料とする鼠チフス菌ヌクレイン酸の製法は、菌體を稀アルカリで冷浸し、浸液に鹽酸、酒精を加へ、先づ粗製ヌクレイン酸を調製す、次に之を鹽化銅と氷醋酸とにて處理して銅鹽に導き、最後に再び遊離酸となし、ビウレット反應全く陰性の純粹品とした。該ヌクレイン酸は N 14.48%, P 9.01%, Pentose 含有量 11.2%, チモヌクレイン酸含有量 23% の分析數値を與へた。成分分析の結果 Pyrimidin 鹽基として Cytosin, Uracil 及び Thymin を見出した。更に Purin 鹽基として Guanin, Adenin の量的比較、Purin N 對 Pyrimidin N 及び Purinnukleotid P 對 Pyrimidinnukleotid P の比例等の定量分析は目下未だ成績が擧つてゐない。上述の實驗結果から推して、一見該ヌクレイン酸が、チモヌクレイン酸及び酵母ヌクレイン酸兩者の混合物であるかの如き推論が下される様であるが、然し濃厚醋酸に對する溶解性の異なる事實に基いて、然らざることを證明した。即ち濃厚醋酸に對して酵母ヌクレイン酸は難溶であり、チモヌクレイン酸は易溶であつて、又事實兩者の混合物から難溶の酵母ヌクレイン酸を分離することが企てられてゐる。鼠チフス菌ヌクレイン酸に就ては後述の實驗條件の下に於ては明かにチモヌクレイン酸と同様の溶解性を示し酵母ヌクレイン酸の混在を否定してゐる。従つて該ヌクレイン酸の呈する Pentose 反應は酵母ヌクレイン酸以外の未知の Ribonukleinsäure に因つて與へられることが結論される。然し未知ヌクレイン酸

が單一のものか、或はチモヌクレイン酸との混合物であるかは、兩者の分離が出来ない以上の確なことは云はれぬ。依つて龔に述べたチモヌクレイン酸含有量(23%)は未知ヌクレイン酸に混在せるチモヌクレイン酸量を直ちに指示するものとは斷言し難い。次に序に結核菌、及びチモテー菌ヌクレイン酸の研究成績を表示し、併せて比較の爲鼠チフス菌ヌクレイン酸、酵母ヌクレイン酸及びチモヌクレイン酸の成績をも掲げた。

	結核菌ヌクレイン酸 Brown & Johnson	チモテー菌ヌクレイン酸 (Coghill)	鼠チフス菌ヌクレイン酸	酵母ヌクレイン酸	チモヌクレイン酸
P (%)	8.11	7.9	9.01	8.6	9.05
N (%)	11.3	14.9	14.45	15.21	14.59
Pentose	+(微量)	+(20%)	+(11.2%)	+(20.8%)	—
Thymin	+	—	+	—	+
Uracil	—	+	+	+	—
Feulgen 反應			+	—	+
濃厚醋酸に對する溶解性			易 溶	難 溶	易 溶

上表の成績を觀れば、結核菌ヌクレイン酸とチモテー菌ヌクレイン酸とは著しく相違し、前者はチモヌクレイン酸に、後者は寧ろ酵母ヌクレイン酸に著しく類似してゐることを知る。斯様に近接の菌種に於てさへ尙且つヌクレイン酸が質的に著しく相違してゐることは興味ある事實であつて、又實際種々の未知ヌクレイン酸の細菌體內分布の推定が單に推定に止らず、將來確證せられる時期が來るのではあるまいかと考へる。

實 驗 の 部

寒天平板培養基上に培養採集したる鼠チフス菌を酒精、エーテルを以て脱水脱脂し、空氣中常温にて乾燥粉末となしたるものを用ひた。

ヌクレイン酸の製法

菌體 450 g を乳鉢にとり、常温にて 2.5 l の 2%苛性曹達液を加へ搗りて糊狀となし、1時間後之に 2 l の水を注ぎよく混和し、得たる菌浮游液に醋酸を加へリトマス中性とし、ついで遠心分離す。強く濁せる上層液を分離し、沈澱を再び 2.5 l の水に浮游せしめ遠心分離す。上記二回の上層液を合し、濾過に便ならしめる爲稀薄膠狀液適量を加へ、よく攪拌し皺襞濾紙を以て濾過す。透明濾液に鹽酸を加へコンゴレッド酸性とし、更に酒精等量を注ぎ、生じたる白色沈澱を遠心分離す、沈澱は酒精、エーテルにて脱水粉末とし、之を粗製ヌクレイン酸とする。得量 20 g 粗製ヌクレイン酸は多量の蛋白質を混有し數回のアルカリ及び酸による精製操作に依つてはビウレット反應陰性とならず、又毎回其爲による損失も少くないので次の如くし

て精製す。

精製法

粗製ヌクレイン酸 15 g を 200 ccm の 10 % 醋酸曹達液に溶解し之に 5 倍量の氷醋酸を加へ不溶解分を遠心分離し、上清液に 10 % 鹽化銅液を加ふればヌクレイン酸銅を析出す。暫時放置後遠心分離し沈澱を二回醋酸にて洗ひ、銅鹽は鹽酸含有アセトンにて三回よく洗滌し銅を除去す。白色化したる沈澱は之を少量の水に浮游し冷却しつゝ少量の苛性曹達液を加へて溶解し、微量の不溶解性物質を濾別したる後、透明濾液に鹽酸を加へコンゴロッド酸性となし等量の酒精を注ぎ、生じたる沈澱を酒精、エーテルにて白色粉末とす。得量 55 g。

精製ヌクレイン酸の性質 無色非吸濕性粉末、ビウレット反應は常法にても亦 Osborn の改良法に依つても證明されぬ。Orcin 反應 Phloroglucin 反應は共に陽性、フクシン、亞硫酸による Feulgen の核反應 (Nuklealreaktion) も陽性である。Na 鹽の濃厚水溶液は膠化せず粘張度小なり。

分析結果

分析試料はアブデルハルデン乾燥器で 100° 恆量迄乾燥す。但其際少しく淡褐色調に變ず。

窒素の定量 (Microkieldahl 法)

I	3.452 mg	3.70 ccm n/100 HCl	N 14.63 %
II	5.254 "	5.30 " "	" 14.33 "
平均値			N 14.48 %

磷の定量 (Pregl-Lieb 法⁽⁷⁾)

I	11.312 mg	71.2 mg	磷モリブデン酸安門	P 9.07 %
II	5.980 "	36.9 "	" "	" 8.95 "
平均値				P 9.01 %

$$N:P = 1.61$$

ペントーゼの定量 (Hoffman 法⁽⁸⁾)

0.1234 g	8.83 mg	Furfurol
	或は 13.81 "	Pentose
故に	Pentore 含有量	11.2 %
Tettraribopolymikleotid として理論數 20.8 %		

チモヌクレイン酸の定量 (Caspersson 法⁽⁹⁾)

2.692 mg	0.612 mg	チモヌクレイン酸
チモヌクレイン酸含有量		22.8 %

Pyrimidin 鹽基の分離

試料 2.0 g を 10 ccm の 25 % (vol) 硫酸と共に加壓釜中 150—160° に 5 時間加熱し、冷却後硫酸をバリットで除き硝酸銀を以て先づ Purin 鹽基を沈澱除去し、濾液に硝酸銀とバリット

とを加へ Pyrimidin 鹽基を析出せしむ。Pyrimidin 銀の沈澱は硫化水素で分解遊離 Pyrimidin とす。

Cytosin の證明

前記遊離 Pyrimidin 液を硫酸酸性とし、燐ウオルフラム酸液を加へ、生じたる白色沈澱をバリットを以て分解遊離鹽基とし、蒸發濃縮すれば帶黃白色結晶 0.085 g を得、之は Wheeler, Johnson の Cytosin 反應を強く與ふ。

Thymin 及び Uracil の證明

Cytosinphosphorwolframat を濾過したる濾液に就てバリットを以て過剰の燐ウオルフラム酸及び硫酸を除き、透明濾液を蒸發濃縮すれば白色結晶を得、得量 0.12 g. 此結晶に就て Johnson, Harkins に依る Thymin の Acetol 反應を行ふに確實に青色螢光を認む。又別個に Wheeler, Johnson の Uracil 反應を行ひ陽性成績を得た。

濃厚醋酸に對する溶解性

先づ酵母ヌクレイン酸、チモヌクレイン酸、鼠チフス菌ヌクレイン酸の三つをとり次に掲げる五種類の試料を調製す。

- a) 10 mg 酵母ヌクレイン酸
- b) 5 mg 酵母ヌクレイン酸 + 5 mg チモヌクレイン酸
- c) 2.5 mg 酵母ヌクレイン酸 + 7.5 mg チモヌクレイン酸
- d) 10 mg チモヌクレイン酸
- e) 10 mg 鼠チフス菌ヌクレイン酸

試料各 10 mg 宛を別々の試験管にとり 1 ccm 宛の 5% 醋酸曹達液を加へて溶解し、次に之等各に氷醋酸 9 ccm 宛を注ぐ、a, b, c. にあつては直ちに沈澱析出するも、d, e. は何時までも透明である。

文 獻

- (1) Schoffer, Folkoff & Bayne, Bull. of the Johns Hopkins Hospital, 33, 151 (1922).
- (2) Mockridge, Biochem. J., 18, 150 (1922).
- (3) Johnson & Brown, J. biol. chem., 54, 721 (1922).
- (4) Brown & Johnson, J. amer. chem. soc., 45, 1823 (1923).
- (5) Coghill, J. biol. chem., 90, 57 (1931).
- (6) Coghill & Barnés, An. Soc. Espan. Fis. Quim. 30, 208 (1932); Chem. Zentralbl., 1923 I, 3307.
- (7) Pregl, Die quantitative org. Mikroanalyse 3 Auf.
- (8) Hoffman, J. biol. Chem., 73, 15 (1927).
- (9) Caspersson, Biochem. Z., 253, 97 (1932).

(第 9 回大阪講演會に於て發表)