

5. 履歴曲線

前述のように酸化タングステンは、常温に於てすでに相當の導電性を持つため、700°C附近に於ける誘電的測定は極めて困難であつて、誘電率の異常はかなりの努力にも拘らず、未だ確認することが出来ない。Sawyer-Towerの方法による履歴曲線の観測も絶対的には困難であるが、試料に直列の空気蓄電器に適當な抵抗を並列につなぐことによつて、試料の導電損失を打消せば、高温迄履歴曲線を観測することが出来る。* 常温に於ては飽和の部分は殆ど現れないが、温度の上昇に伴う抗電力の減少のため高温に於ては却つて典型的に近い曲線が見られ、その幅は温度の上昇と共に次第に減少し、約710°Cに於て履歴曲線は殆ど完全に直線となる。冷却の際にはこれより30°C程低い温度で履歴曲線が面積を持ち始める。

6. 結語

以上の諸事實により酸化タングステンは、チタン酸

バリウムと同型の強誘電體であつて、その自發分極が消失する温度は約710°Cであると結論してもおそらくは誤りでないと思われる。定量的な測定は只今實施中であつて、近く發表の豫定である。

終りに本研究に熱心に協力されつつある藤井信一君に感謝する。

文 献

- 1) 長澤成之：電氣化學，16 (1948)，13，57；17 (1949)，174.
- 2) 岡田，平川，入江：物性論研究，No. 15 (1949)，49.
- 3) 平川金四郎：同 上，No. 26 (1950)，42.
- 4) 上田，市川，小林：同 上，No. 29 (1950)，75.
- 5) 長澤，福井：同 上，No. 31 (1950)，90.
- 6) 安藤，澤田：理工研報告，4 (1950)，223.
- 7) B. T. Matthias：Phys. Rev.，76 (1949)，430.

較正の際の追補：誘電率がやはり700°C附近で異常を呈することが定性的ながらその後の實驗により確認された。

デソキシペントース核酸のナトリウム塩と クルペイン硫酸塩からヌクレオクルペイン の沈澱を得る條件について

鈴木 學 之

On the Formation of the Precipitate of Nucleoclupein from Sodium Desoxy-pentosenucleate and Clupein Sulphate.

By Kenshi Suzuki

ABSTRACT : The solutions of sodium desoxypentosenucleate and clupein sulphate in 2M NaCl were mixed in various proportions, and each mixture was added with water to reduce the concentration of NaCl to 0.14 M.

It was found from these experiments that only when the weight ratio of clupein to nucleate was above 0.7, the long fibrous strands was formed, which had the same appearance and the same contents of both clupein and nucleate as natural nucleoclupein isolated from herring's sperm. When the ratio was between 0.3 to 0.7, amorphous precipitate was formed, whose composition was different from the natural nucleoclupein. And the lower the ratio of clupein to nucleate in the mixture, the lower the content of clupein in the precipitate formed and the smaller the amount of precipitate. There appeared on precipitate when the ratio was below 0.3.

* 酸化タングステン磁器はかなり多孔質であるから、電極の取付けには工夫を要するが、一度800°C附近に迄熱して電極が多少ゆるんだ試料は、丁度空気蓄電器を直列につないだことに相當して高温に於ける履歴曲線を観測するには却つて好都合である。

Moreover, the effect of the concentration of nucleolupin on the formation of precipitate was also tested. When the concentration of nucleolupin in 2M NaCl was very small, it was necessary to reduce salt concentration less than that used when the concentration of nucleolupin was not too small, in order to obtain the precipitate.

From these two series of experiments, the formation of nucleolupin precipitate was thought to be related to at least two factors, i. e., the weight ratio of clupein to desoxyribose nucleate and the concentration of nucleolupin in the original 2M NaCl solution.

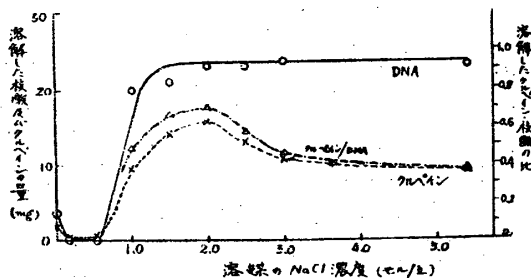
(1951年1月24日受理)

1. 緒 論

ニシン白子のデオキシペントース核蛋白、即ちヌクレオクルペインに就ては、これが白子より先ず 2M NaCl 水溶液で抽出し、その抽出液に水を加えて NaCl の濃度を 0.14 M にすると、糸状沈澱として得られること、及び精製ヌクレオクルペインの分析結果については既に報告した。(1) 更に、ヌクレオクルペインの成分であるデオキシペントース核酸(DNA)とクルペインが、1 M 以上の濃度の NaCl 水中では解離していること、クロロフォルムによる除蛋白法(5)ではこの両者を分別し得ないことについても報告し、(2) 又ヌクレオクルペインの NaCl 水に対する溶解性(4)と、又核蛋白の沈澱条件に対する実験から、上述した 2 M NaCl 水抽出法が原理的にも正しいことが確認された。(3)

これらの実験によると、白子を 1 M NaCl 水で抽出する時には DNA が抽出されて、特有の高粘度の液(7)(6)がえられるが、これに水を加えて NaCl 濃度を 0.14 M にしても沈澱が生じなかつた。然るに此の抽出液に少量のクルペイン硫酸鹽を加えてから水を加えて NaCl 濃度を 0.14 M にすると、2 M NaCl 水抽出液からの場合と全く同様に美しい糸状沈澱が生じる事が分つた。かかる性質は抽出時間により變らず、數回の実験で同様であつて、單に核蛋白の抽出される速度ではなく、その本質的な性質によつて考へられる。

さて、精製したヌクレオクルペイン(1)の NaCl 水



第1圖 ヌクレオクルペインの種々の濃度の食鹽水に対する溶解性

に対する溶解性を研究したところ、その DNA、クルペイン各成分は第1圖に示す様な溶解性をもつことが判つた。(4) 第1圖から、ヌクレオクルペインは水には完全に溶解するが、1 M NaCl 水に対しては明らかにクルペイン部分の溶解率が DNA のそれに比して低く、溶解したもののクルペインと DNA の量の比をとると 2 M が最高で 1 M ではそれより小さくなる。而も、2 M NaCl 液の溶液からは、水を加えると糸状沈澱を生じるのに反し、1 M NaCl 液に溶解した溶液からは沈澱ができず、これにクルペイン硫酸鹽を少量加えてから水でうすめると始めて沈澱を作ることには精製ヌクレオクルペインを用いた場合も前述の如く白子自身の抽出の場合と全く同様であつた。

これらのことから考えると、ヌクレオクルペインが糸状沈澱となるためには、抽出液中のクルペインと DNA の量の間にある関係が満足されねばならないことが豫想される。

この事實を確認する爲に、今回ニシン白子から抽出精製した DNA 及びクルペイン硫酸鹽を種々の比に混合して、その沈澱性を研究し、上のような関係のあることが明らかになつたのでその実験結果を報告する。

2. 實 験

(1) 試料：ヌクレオクルペインはニシン白子を 0.05 M 枸橼酸ナトリウム水溶液で洗滌して精蟲を集め、これを 2 M NaCl 液で抽出し、13 倍容の水を加えて得た糸状沈澱より精製した。(1)

DNA は白子から Hammarsten 法(8)を若干改めて抽出、クロロフォルム法(5)で除蛋白*して精製した。この試料の窒素は 14.9%、燐は 8.66% である。*

クルペイン硫酸鹽は同じくニシン白子から HCl で抽出し、硫酸鹽として沈澱せしめ、ピクリン酸鹽を通

* クルペインはクロロフォルム法で除蛋白されないが、(2)クルペイン以外の異種蛋白を除くことができる。

** 日本化學會第三年會に於て報告 (昭和 25 年 4 月 於京都大學)。

して精製した。窒素は 21.9% である。

(2) 分析法：窒素分析は普通のマイクロエルダール法、磷の分析は Leiboff のメトールによる還元法⁽⁹⁾を用いた。DNA、クルベインなどの成分の量は、夫々の分析値が現在尙明瞭でないので、次の如く一般的な方法でこれらの量を概算した。^(10,11)

$$\text{DNA} = P \times 10.1$$

$$\begin{aligned} \text{クルベイン} &= (\text{全 } N - \text{核酸 } N) \times \frac{100}{31.7} \quad (12) \\ &= (\text{全 } N - P \times 1.7^{(10)}) \times 3.16 \end{aligned}$$

(3) 実験結果

(a) 実験 1. ヌクレオクルベインの濃度による沈殿性の變化。

ヌクレオクルベインを 2 M NaCl 水溶液に溶かす。その濃度はヌクレオクルベインの 10 mg, 5 mg, 2.5 mg, 1.0 mg を夫々 1 cc 中に含む 4 種である。各濃度の溶液に對し、その 1 cc 宛を小試験管にとり、各々に 0.5 cc から 2.5 cc までの種々の量の水を加える。この操作で各濃度のヌクレオクルベイン溶液に就て NaCl は大體 1.3 M から 0.57 M まで變化する。この 4 つの系列について、水を加えて沈殿の生じるか、若くは濁りの生じる變化を調べた。第 1 表にその結果を示す。表中一の符號は何らの變化のないもの、+ は混濁を生じたもの、卍は糸状沈殿を生じたものである。

第 1 表 ヌクレオクルベインの濃度によるその沈殿性の影響

原ヌクレオクルベインの濃度 (mg/cc)	ヌクレオクルベイン溶液 1 cc に加える水の量 (cc) 及びその時の NaCl 濃度 (M)													
	加える水の量	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	2.0	2.5
	NaCl の濃度	1.3	1.25	1.2	1.1	1.05	1.0	0.95	0.91	0.87	0.83	0.8	0.67	0.57
10	-	-	-	-	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
5	-	-	-	-	-	-	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
2.5	-	-	-	-	-	-	-	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	卍	卍	卍	卍

(-) は水を加えても變化のないもの。(+) は混濁を生じたもの。(卍) は沈殿生じたもの。

第 1 表から、初めのヌクレオクルベイン溶液の濃度が 10 mg/cc のものは、0.9 cc の水を加えた時 (NaCl は 1.1 M) 沈殿し始めるが、1 mg/cc の溶液は、1.4 cc の水を加えて (NaCl 0.8 M) 始めて沈殿し始める。總じて初めのヌクレオクルベインの濃度が低くなるとそれを沈殿せしめるには多量の水を加えて NaCl 濃度を低くしなくてはならないが、NaCl が 0.8 M 以下になるとすべて沈殿する。*

(b) 実験 2: DNA, ヌクレオクルベインの混合液よりの沈殿の生成。(其一)

DNA, クルベイン硫酸鹽を各々 2 M NaCl 溶液に溶解せしめる。その濃度は、DNA は溶液 1 cc 中に 10 mg, 5 mg, 1 mg, を夫々含む 3 種、クルベインは同じく 1 cc 中に硫酸鹽として 10 mg, 7.5 mg, 5 mg, 2.5 mg, 1 mg を含む 5 種である。

これらの DNA, クルベイン硫酸鹽溶液を互に 1 cc 宛混合し、それに水を 20 cc 加えた。これで NaCl 濃度は 0.18 M になり、この濃度の NaCl 中でヌクレ

オクルベインは不溶性である筈である⁽⁴⁾。** かくて沈殿の生ずる状態、及びその時の母液の蛋白を坂口反應で定性的にしらべた結果を第 2 表に示す。表中(-) は坂口反應陰性、(卍) は強陽性、他はこれらの中間を示している。

第 2 表から、明らかに沈殿は兩成分の量に關係して、10 mg の DNA に對し 5 mg 以上のクルベイン硫酸鹽混合物よりは糸状沈殿を生じるが、2.5 mg のクルベイン硫酸鹽では架状になり、1 mg では沈殿を生じない。これらのことからみると、DNA に對して

* ヌクレオクルベインの濃度が更に低くなると、水を加えても沈殿に至り難いことがある。

** DNA は Na 鹽で、クルベインは硫酸鹽であるから、兩者の結合の反應は (DNA-Na) + (クルベイン-SO₄) → (DNA-クルベイン) + Na₂SO₄ の形で表わされる。此の場合 形成される Na₂SO₄ の、媒質に對するイオン強度の影響は殆ど無視しうる位である。

第2表 DNA とクルペイン硫酸鹽混合溶液よりの核蛋白沈澱性

		DNA 原液の濃度 (%)		
		1.0	0.5	0.1
クルペイン硫酸鹽原液の濃度 (%)	1.0	糸状 +	糸状 卍	絮状 卍
	0.75	糸状 -	糸状 卍	絮状 卍
	0.5	糸状 ±	糸状 +	絮状 卍
	0.25	絮状 +	絮状 -	絮状 卍
	0.1	乳濁 卍	乳濁 +	絮状 ±

符號は母液の坂口反應の強度を示す。

は、クルペイン硫酸鹽が少くもその 50% 以上混在している溶液からでないとい糸状沈澱を作らないことが豫想される*。

一方蛋白の定性反應から、沈澱が糸状から絮状に移る所で反應がもつとも弱い。これはその前後ではクルペインが母液に残るため、DNA に對しクルペイン硫酸鹽が過剰の場合は、その分丈が母液に残つて後は DNA と沈澱を作り、その時の母液は澄明である。而しクルペイン硫酸鹽過少の場合は、沈澱量が少なく、母液は乳光を示し、沈澱には至らない小粒子が浮遊している様である**。

第3表 DNA とクルペイン混合溶液よりの沈澱の分析

原混液 : DNA = 1 cc (7.4 mg)				沈 澱						母液	
加えたクルペイン液 cc	クルペイン mg	クルペイン DNA	$\frac{N}{P}$	P mg	N mg	$\frac{N}{P}$	DNA mg	クルペイン mg	クルペイン DNA	状 態	坂口反應
0.2	1.17	0.16	2.14								
0.3	1.75	0.24	2.39								
0.4	2.34	0.32	2.64								
0.5	2.92	0.39 _s	2.77	0.114	0.312	2.74	1.03	0.44	0.32	絮 状	
0.6	3.51	0.47 _s	3.15	0.294	0.805	2.74	2.96	0.95	0.32	//	
0.7	4.09	0.55	3.40	0.404	1.17	2.90	4.08	1.29	0.32	//	
0.8	4.67	0.63	3.66	0.460	1.45	3.15	4.65	2.11	0.45	//	
0.9	5.25	0.71	3.91	0.520	1.65	3.17	5.25	2.43	0.46	//	
0.95	5.55	0.75	4.04	0.570	1.99	3.50	5.58	3.33	0.60	//	
1.0	5.85	0.79	4.16	0.625	2.26	3.62	6.31	3.78	0.60	短 糸	
1.5	8.78	1.19	5.43	0.620	2.58	4.16	6.26	4.83	0.72	糸	
2.0	11.7	1.58	6.70	0.625	2.46	3.94	6.31	4.42	0.70	//	
2.5	14.6	2.55	8.5	0.630	2.51	3.99	6.36	4.55	0.71	//	

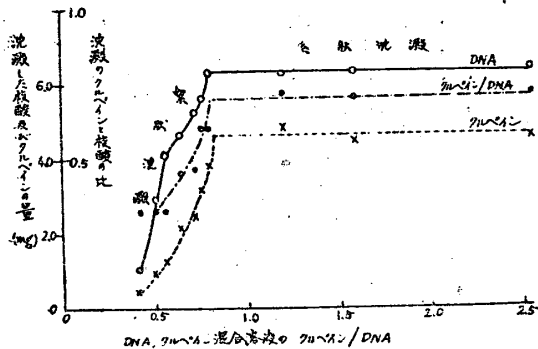
* DNA 濃度が低くなると、糸状沈澱を作りにくくなるように思われる。

** 廣田猛夫氏 [第二回核酸シンポジウム (1950)] の研究を考慮するとこの状態は或は DNA とクルペインが一種のコアセルグァートを作っているのではないかとも思われる。

第 3 表から、先ず沈澱の生成は一定量 (7.4 mg) の DNA に対しクルペイン 2.34 mg (0.4 cc) 以下の混合物からは沈澱を生じない。クルペイン 2.92 mg 以上 5.55 mg までの混合物からは絮状沈澱を生じ、而もその量は、クルペインが増加すると共に増加する。5.85 mg 以上のクルペインと DNA の混合物からは糸状沈澱を生じ、その外觀、組成共に天然のヌクレオクルペイン⁽¹⁾ と全く同様である。

母液の坂口反應については實驗 2 と同じく、沈澱が絮状から糸状に移行するところ (クルペインが 5.55 ~ 5.85 mg) で最も弱く、その前後では強い。

一方沈澱の量及び組成は、第 2 圖を見ると明らかである。横軸は原混液のクルペイン/DNA の比、縦軸はその混合比の DNA、クルペイン混液から、水を加えることによつて沈澱に移行した DNA、クルペインの量、及びその比 (第 3 表 8, 9, 10 列) を表わす。



第 2 圖 DNA, クルペイン硫酸鹽混合液より沈澱した DNA (實線) クルペイン (點線) 及びクルペイン/DNA (破線)

第 2 圖から、DNA を一定にしてクルペインの量を變化させる時、その混液のクルペイン/DNA の値が 0.8 位以上では兩者共に沈澱量が一定する。この部分の沈澱は糸状で、そのクルペイン/DNA 値は 0.6~0.7 位である。而るに原混液のクルペイン/DNA 値が 0.8 以下になると、兩者共に沈澱量は急に減少して 0.3 位になると沈澱しなくなる。同時に、沈澱の成分の比も減少して、クルペイン/DNA が 0.3 位で沈澱を生じなくなる。この間の沈澱は何れも絮状であつて糸状にはならない。

このように實驗 2 に示されたことが量的にも明らかになされた。

3. 考 察

多くのデオキシレベントース核蛋白は 1M 若くは 2M の NaCl 水溶液で抽出され、抽出液に水を加えて NaCl を 0.14 M にすると核蛋白が長い糸状沈澱とし

て析出する。^(6,7) ヌクレオクルペイン⁽¹⁾ も亦 2 M NaCl 水抽出液で同様に糸状沈澱となるが、1 M NaCl 水で抽出した液は水を加え NaCl 濃度を 0.14 M にしても沈澱がえられず、胸腺ヌクレオヒストン⁽¹³⁾、脾臓ヌクレオヒストン⁽¹⁴⁾ 等とは異り水では抽出されない。これはヌクレオクルペインの NaCl 水に対する溶解性の實驗で確かめられた。⁽⁴⁾ これによると (第 1 圖) ヌクレオクルペインを 2 M NaCl 水と、1 M NaCl 水で抽出したときの相異は、前者には完全に溶解抽出されるのに後者ではクルペインの抽出量が DNA に比して少く、従つて抽出液のクルペイン/DNA の値が前者に比べ小さい。然るに本報告の實驗 1, 2 から、クルペイン/DNA が一定値 (0.3) 以下になるとその溶液からは沈澱を生じなくなる。更に糸状沈澱となるためにはこの比が 0.7 以上でなくてはならないことが明らかになつた (第 2 圖)。

今 DNA とクルペイン硫酸鹽との混合物から人工的に沈澱せしめた糸状物の組成と、天然のヌクレオクルペイン⁽¹⁾ のそれを比べてみると、第 4 表の如くなる。その N/P は 4 前後、クルペイン/DNA は 0.6~0.7 で兩者の組成は略等しいものとみられる。

第 4 表 ヌクレオクルペインの分析

試料	クルペイン	DNA	クルペイン	N/P
			DNA	
ヌクレオクルペイン	%	%		
—IV	35.7	54.5	0.655	3.84
—Va	33.2	46.5	0.70	3.98
—Va*	44.1	55.9	0.79	4.23
—Vb	38.4	52.4	0.73	4.05
人工糸状核蛋白**	42.3	57.7	0.71	4.03

* 前の試料をクロロフォルム法で除蛋白し、根跡の不純蛋白を除いたもの。⁽²⁾

** 第 3 表中の糸状沈澱となつたもの三種 (第 12, 13, 14 行) の分析値の平均。

而るに絮状沈澱は、N/P クルペイン/DNA 兩方の値共にヌクレオクルペインのそれらより小さい。而も、これらの沈澱は再び 2 M NaCl 水溶液に溶して再沈澱せしめると次第にこの比が水となり、遂に沈澱し難くなつてくる。これは第 2 圖より説明される。

尙實驗 3 の分析から、糸状沈澱を作る場合でも DNA, クルペイン共に 100% 沈澱を作ることがなく兩者最大量沈澱する時でも、前者は 15%, 後者は 35% が母液に残つた。この原因は第一に、沈澱物の操作中の損失、第二に、クルペイン量の變化のさせ方が間歇的である爲に最高率で沈澱する點を押えていないこと、第三に、試料がその精製中若干の變化を起してい

るかもしれぬこと、第四に前述した DNA, クルペインを N, P の分析値から逆算する方法に不備のあること等考えられるが、未だ明らかではない。

何れにしても DNA とクルペインが核蛋白として沈澱する際には、原溶液中のそれらの量の比が重要な関係をもつことが明らかにされた。

更に實驗1から、ヌクレオクルペインが沈澱する際には、原溶液のヌクレオクルペインの濃度がその沈澱性に關係し、低濃度の場合には沈澱しにくいことが分り、又、第1圖および實驗1から、ヌクレオクルペインは NaCl 濃度が 0.5 M になると必ず沈澱するからその 2M NaCl 水抽出液は水を加えて 0.14 M にまでしなくても (即ち抽出液の 13 倍容の水を加えなくても) 0.5 M にすれば (即ち抽出液の 3 倍容の水を加えれば) 沈澱の目的を達することが分る。

以上の議論から、ヌクレオクルペインの抽出に當つては三つの事が問題になる。第一にはその食鹽水に対する溶解性で、2 M NaCl 水には完全に可溶性であること、0.14~0.5 M の NaCl 液には不溶であること、更に 1 M NaCl では抽出液のクルペイン/DNA の比が小さくなることである。第二には、糸状沈澱となるためには抽出液中の上の比が重要で、それが 0.7 以上にならないと糸状にならぬこと、このためには 2 M NaCl を抽出に用いる必要のあることであり、第三には抽出に用いる 2 M NaCl 溶液の量である (即ちヌクレオクルペイン自身の濃度である)。

このようにヌクレオクルペインが沈澱を作るためには、化學的に三つのことが重要である。即ち NaCl の濃度、クルペイン/DNA の比、DNA, クルペイン夫々の濃度であつて、この關係は夫々獨立に定まらずにお互の關聯の下に、一定の條件下に於てのみヌクレオクルペインの溶解・抽出、糸状沈澱の生成という一聯の操作が可能である。この非常に複雑な DNA, クルペイン, NaCl 系の關係を明らかにするためには尙研究を進めなくてはならない。

4. 結 論

(1) ヌクレオクルペインの 2 M NaCl 水溶液からその沈澱を作るときには、その濃度が影響して低濃度の場合には NaCl 濃度を低くしないと沈澱しない。

(2) DNA, クルペインが核蛋白として沈澱するためには、兩者の量の比が關係し、クルペインが DNA の 70% 以上含まれる場合にのみ糸状沈澱となる。

(3) 以上のこと、及びヌクレオクルペインの溶解性から、ヌクレオクルペインの 2 M NaCl 溶液抽出法の正しいことをたしかめた。

終りに、御指導下さつた渡邊格助教授、實驗の御助力をして下さつた北村とも子嬢に厚く感謝する。研究費の一部は文部省科學研究費によつた。

文 献

- 1) 渡邊, 鈴木: "ヌクレオクルペイン" 第1報, 日化誌, 印刷中.
- 2) 渡邊, 鈴木: 同上 第2報 日化誌, 印刷中.
- 3) 渡邊, 鈴木: 同上 第3報 日化誌, 印刷中.
- 4) 渡邊, 鈴木, 北村: 東京大學放射線化學研究所報告, 第5號, (1950) 16.
- 5) M. G., Savag, D. B., Lackmann & J. Smolens: J. Biol. Chem., **124**, (1938) 425.
- 6) A. E. Mirsky & A. W. Pollister: Proc. Natl. Acad. Sci., **23**, (1942) 344.
- 7) A. W. Pollister & A. E. Mirsky: J. Gen. Physiol., **30**, (1946) 101.
- 8) E. Hammarsten: Biochem. Z., **144** (1924) 383.
- 9) Leiboff: J. Lab. Clin. Med., **16**, (1931) 495.
- 10) G. Schmidt, S. J. Thannhauser: J. Biol. Chem., **161**, (1945) 183.
- 11) T. Z. Csaky, D. Beard, D. S. Dillon, & J. W. Beard: J. Biol. Chem., **185**, (1950) 311.
- 12) H. A. Sober: Proc. Exp. Biol. Med., **70**, (1949) 494.
- 13) R. O. Carter & J. L. Hall: J. Am. Chem. Soc., **62**, 1194 (1940).
- 14) M. L. Peterman & C. M. Lamb: J. Biol. Chem., **176**, 685 (1948).

BHC 及び近縁化合物の赤外線吸収

倉 谷 健 治

Infra-red Absorption Spectra of BHC and Related Compounds.

By Kenji Kuratani

ABSTRACT: Infra-red absorption spectra of 4 isomers of BHC ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$), 4 isomers