琉球大学学術リポジトリ

# 甘蔗糖蜜中に含まれる核酸誘導体の分離同定



| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 沖縄農業研究会<br>公開日: 2009-01-29<br>キーワード (Ja): サトウキビ<br>キーワード (En):<br>作成者: 比嘉, 信吉, 橋爪, 斌, Higa, Shinkichi, Hashizume, Takeshi<br>メールアドレス:<br>所属: |
| --- | --- |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002015277 |

# 甘蔗糖蜜中に含まれる核酸誘導体の分離同定

比　嘉　信　吉・橋　爪　　斌
（琉球大学農芸化学科）　（京都大学農芸化学科）

Shinkichi Higa and Takeshi Hashizume : Separation and Identification of the Nucleic acid Derivatives of Cane Molasses

## I　緒　　言

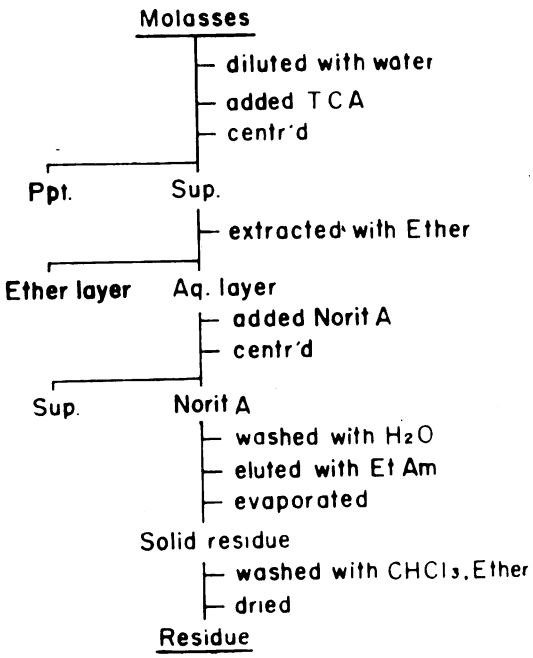
筆者らはさきに台湾，ルイジアナ，ハワイ，沖縄産糖蜜中に含まれる核酸成分の17個のうち，11個の成分をカラムクロマトグラフィで分離同定し，さらに同定した4種類のヌクレオチドについては産地別にその含有量を定量して比較検討した．その成果は既に（Agricultural and Biological Chemistry 30(4) 1966)発表したが，今回は引続き，前回のカラムクロマトグラフィで分離したピーク12の未知成分について検索したので，未完成ではあるがこの機会に中間報告する．

## II　実験材料，方法および結果

### 1.　糖蜜の前処理

台湾，ルイジアナ，ハワイ，沖縄産糖蜜を第1表のとおり前処理した．

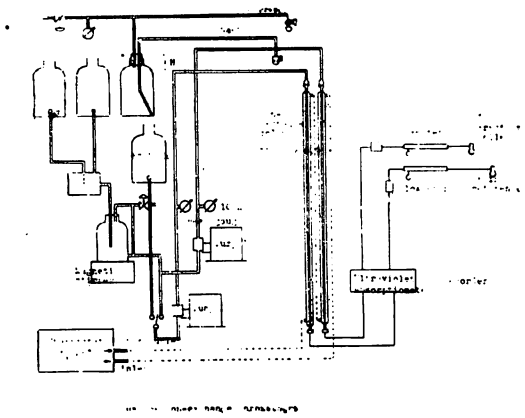
第1表　糖蜜の前処理




即ち糖蜜に同量の蒸溜水を加え，さらにトリクロロ酢酸を全量の5％になるように加えて攪拌後，生成した沈澱物を遠心分離（3000rpm30min.）し除蛋白を行なう．その上清をエーテルで180hr連続抽出後，エーテル可溶物を充分に除去する．その水層の一部をとって，予め酸，アルカリで前処理した乾燥活性炭を加え，充分に核酸成分を吸着させる．遠心分離後，漏斗に活性炭を集めて蒸溜水で2～3回洗滌し，つぎにエタノールアンモニア（Ethanol 50Vol : ammonia 5Vol : Water 45Vol）で溶出した濾液を50°C以下で減圧濃縮乾固し，さらにその乾固物をクロロホルム，エーテルで洗滌した後デシケータ中で減圧乾燥して，暗褐色の固形残溜物を原糖蜜の約1％程度得ることができた．

### 2.　分　析　装　置

前記の乾固物から75mgをとり，pH4.4の0.15M酢酸緩衝液で薄め，第1図のような柳本核酸分析装置の150cmカラムの上端に注入して溶出を行なった．



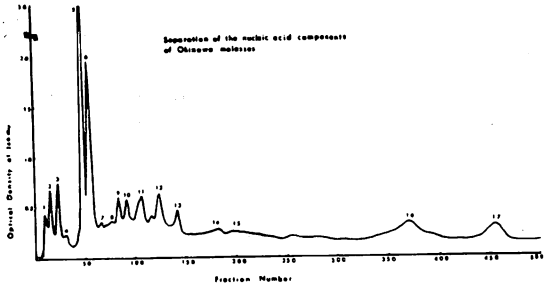
第1図　柳本核酸分析装置略図

この150cmカラムにはDowex 1×8の200～400meshの酢酸型イオン交換樹脂が充填され，カラム温度は20°～45°Cになるように，また流速は毎分0.7mlにセットし，溶出液は最初マグネティックスターラーの壜に0.15M酢

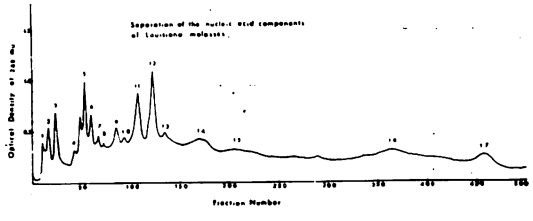
酸緩衝液を入れておき，分析開始と同時に3Mの酢酸緩衝液に切り換えて，リニヤーな勾配溶出を行なった．次に溶出したフラクションは波長260$m\mu$における吸光度を測定して，イオン交換クロマトグラムを作った．

## 3. 産地別クロマトグラム

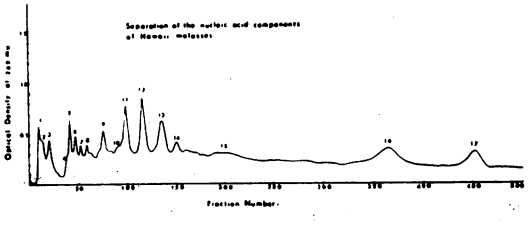
台湾，ルイジアナ，ハワイ，沖縄産糖蜜のクロマトグラムは第2図，第3図，第4図，第5図のとおりである．



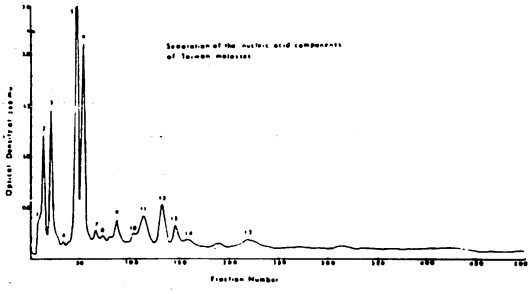

第2図　台湾産糖蜜のクロマトグラム




第3図　ルイジアナ産糖蜜のクロマトグラム




第4図　ハワイ産糖蜜のクロマトグラム

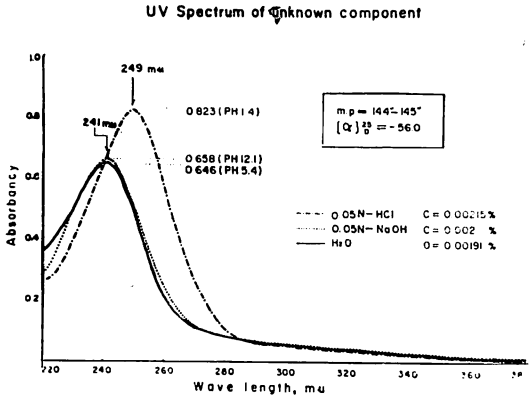



第5図　沖縄産糖蜜のクロマトグラム

各産地別クロマトグラムピークを流出の順序に番号を附すと，番号の順に2番からシチジン，ウリジン，イノシン，アデノシン，アデニン，グアニン，5'-IMP，5'-AMP，5'-GMP 12番が未知物質で13番がADPと既報の通り同定された．

## 4. 未知物質の検索

前記4種類の糖蜜中に共通して存在する12番のピークは第6図に示すように紫外吸収スペクトルの吸収極大値が水（pH5.4）と0.05N-NaOH（pH12.1）では241$m\mu$で，0.05N-HCl では249$m\mu$となっており割合大きいシフトを示していた．さらに濃度が0.00215%，0.002%，0.00191%とその濃度差が僅少であるにかかわらず 0.05 N-HCl（pH1.4）溶液では吸光度が水やアルカリに較べて遥かに高く0.823を示すことがわかり，またペーパークロマトによる Rf 値から判断してもこのような物理的性質をもった核酸成分は，筆者らの知る限りでは外にない全く新しい核酸様物質であると考えられたので，結晶状で量的に採取することを試みた．即ち前記した分析装置に試料も前記の約10倍量を挿入してピーク12番の分離操作を繰り返し，さらにペーパークロマトによる精製を行なった結果ヌクレオチドと思われる白色綿状の結晶物を約237$mg$分取することができた．次にこの結晶物質を試料として融点，比旋光度を測定した結果第6図に示すとおり，mp=144°～145°$[\alpha]_D^{25°}$=−56.0で，どちらも第2表に示す既知ヌクレオチドのそれとは異なった物質であり，光学的に活性を持ち，不整炭素原子を持っていることが窺われた．

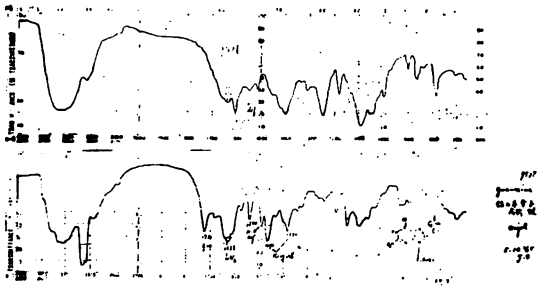



第6図　未知分質の紫外吸収スペクトルと融点，比旋光度測定値

第2表　核酸物質の融点，比旋光度値

| Nucleic acids | m.p | $[\alpha]_D$ $H_2O$ |
|---|---|---|
| Adeno Sine | 229 | − 60.0 |
| Guano Sine | 237～240 | − 60.52 |
| Uridine | 165 | − 6.0 |
| Cytidine | 220～230 | − 29.63 |
| Inosine | 218 | − 47.7 |

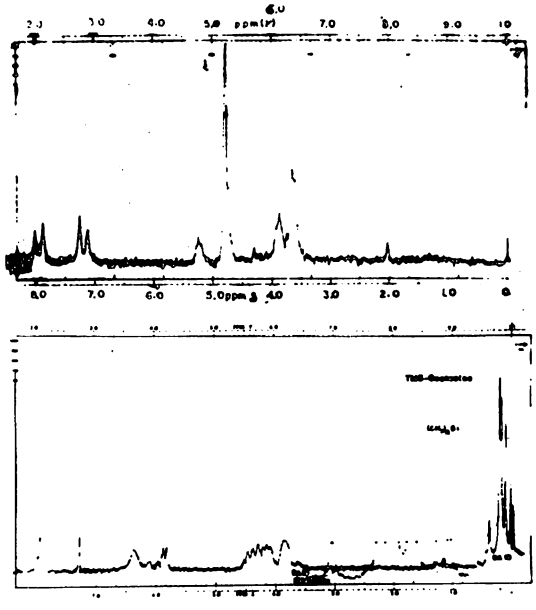
## 5. 未知物質の赤外線吸収スペクトル



第7図　未知物質とグアノシンのIR

第7図は未知物質とグアノシンの赤外線吸収スペクトルを示した．　未知物質では 1550 カイザーにイミド基（=NH）1610カイセーにニトリル基（−CN）1640カイザーにアミド基（RCONH−）3300 カイザーにヒドロキシル基（−OH）の吸収がみられる．これをグアノシンの吸収曲線と比較した場合，アミド基，イミド基の吸収があることはよく似ているが1730カイザー附近にケトン基の吸収がみられない．この外両者の吸収曲線は随分と異なっていることが窺える．

## 6. 未知物質の核磁気共鳴



第8図　未知物質とTMS化グアニンのNMR

第8図は未知物質とTMS（Tetra Methyl silane）化したグアノシンの核磁気共鳴スペクトルである．未知物質で特徴的なことは対になった2つのプロトンであるが，これは既知の核酸塩基部分であるピリミジン，プリン系のプロトンとも異っており，またこの附近のプロトンは赤外線吸収曲線とも考えて合せて糖部分のプロトンと考えられる．しかしこれだけではは っきりしたことがいえない．その外両者を較べた場合随分と異なっていることがわかる．

以上の結果から12番のピーク成分は既知のヌクレオチドではなく，全く新しい核酸様物質であることを暗示している．今後，元素分析や分子量等の測定を行ないさらにはっきりした構造を究明したい．

## Ⅲ　摘　　要

1．筆者らが既に発表した(Agricultural and Biolo-

gical Chemistry- 30 (4),1966) 甘蔗糖蜜中に含まれるピーク12の未知核酸様物質について，その構造を明らかにするために種々検索を行なった．

2．試料は主に台湾産を用い，分取は柳本の核酸分析装置，精製はペーパークロマトグラフィ法によった．その結果白色綿状の結晶物を約237mg得た．

3．この結晶物質の酸，アルカリ水溶液の紫外線吸収スペクトル吸収極大の波長のシフトは大きく，また殆んど同濃度でも酸溶液の吸光度は遥かに高い値を示した．さらにこの物質のペーパークロマトグラフィによるRf値は他の既知の核酸物質とも異なることが窺われた．

4．この未知物質の融点，比旋光度を測定した結果mp=144°～145°，$[\alpha]_D^{25°}=-56.0$であり，光学的に活性で，不整炭素原子を持っていることがわかった．

5．未知物質の赤外線吸収スペクトル (IR) および核磁気共鳴 (NMR) の吸収曲線図からグアノシンとも異なっていることがわかった．

6．今後未知物質の元素分析や分子量測定等を行ない，その構造を究明していきたい．

最後に本実験を行なうにあたってたえず協力下さった三井教授始め農産製造学研究室の学生諸君に厚く感謝の意を表します．

## 参考文献

1) Takeshi Hashizume etc: 1966. Constituents of Cane Molasses, Part I Separation and Identification of the Nucleic acid Derivatives. Agricultural and Biological Chemistry 30(4): 319～329.

2) 後藤俊夫外二名訳 1964. フィザー最新有機化学 I：29～31. 丸善

3)4) 日本化学会編 1964. 実験化学講座 I：291～396, 517～560.