

舊ツベルクリンより得たる精製ツベルクリン蛋白

武田 徳晴 渡邊 末夫

(臺北帝國大學醫學部細菌學教室)

著者等はツベルクリンの中の如何なる物質がツベルクリン皮膚反應及びツベルクリン死に關與してゐるかを究めるためにツベルクリン及び結核菌體から出來得る限り精製された多糖體及び精製された蛋白を分離してこれについて皮膚反應、致死試験を檢查することにした。

その第一として、武田、太田、佐藤等¹⁻³⁾は窒素を證明し得ざるまでに精製した多糖體をツベルクリン及び結核菌體よりそれぞれ分離して、その各々の物理化學的性狀及びこれを分解して構成する單糖體を明かにし、また Acetyl 基を定量して得たる多糖體が Acetyl-polysaccharidなることを證明した。またその各々の多糖體については前述の生物學的性狀を檢查報告した。

今回の報告は前述の多糖體及び Nuklein 酸を含まず、あるひは含むとしても極めて微量であるごとき精製ツベルクリン蛋白を分離するを目的としたものである。

ここに吾々の注意して置くべきことは Seibert⁴⁾の報告にもあるやうに P. P. D. なる精製ツベルクリン蛋白は時に 4% の多糖體及び 9% の Nuklein 酸を含有してゐるのである。

實驗材料としては特に吾々が日常使用する Koch の舊ツベルクリンを選んだ。その主なる理由は精製ツベルクリン蛋白の研究は大部分が合成培地を基礎とした所謂無蛋白ツベルクリンを材料として研究されて居り、Koch の舊ツベルクリンを材料としての研究は Koch 以來等閑に

- 1) Takeda, Ohta u. Sato: *Z. Immunit. forsch.* 96, 326, 1939.
- 2) Takeda, u. Ohta: *Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiolog. Chem.* 262, 171, 1939.
- 3) Takeda, Ohta u. Sato: *Z. Immunit. forsch.* 98, 297, 1940.
- 4) Seibert: *J. of Biol. Chem.* 133, 593, 1940.

附されてゐる。即ち分離精製の困難を豫想される材料について如何なる程度にまでこれが精製し得るものであるか、また得たる精製ツベルクリン蛋白と、日常使用のツベルクリンとの比較研究を目的としてゐるものである。

實驗方法及び實驗成績の詳細については原著に譲り大體の點について述べる。

まづ 117I の結核菌培養濾液 (Glycerin-bouillon) を濃縮しこれに Trichlor-醋酸を加へて沈澱せしめたるものの乾燥量 13.2 g の粗製ツベルクリン蛋白を得てその中 10 g をとり、さらに次の如き精製を施した。即ち本物質を pH=7.4 の溶液に於て硫酸アンモン半飽和で沈澱と母液とに分ける。沈澱についてはさらに硫酸酸性水に易溶及び難溶の差により分け、さらにセロファンで透析し、かくして三つの Fraktion 即ち (I), (II), (III) Fraktion を得てゐる (表 1)。

母液については pH=7.4 について硫酸アンモンの飽和で沈澱せしめ、さらにこの沈澱物を隣タングステン酸により沈澱精製し分割した各々の分割物について pH=1.5 の硫酸性溶液に可溶、難溶の差により分ち、また透析の有無により、また一部は Alkohol による沈澱の有無について分け、四つの Fraktion 即ち IV, V, VI, VII の Fraktion を得てゐる (表 1)。

その各々について Dische の Carbazol 反應により多糖體の検出を行ひ大體の含量を定め、また Dische の Diphenylamin 反應によつて Nuklein-酸の検出を行ひ、大體の量を定めた。

また各々の Fraktion については結核モルモットに對する皮膚反應及び致死試驗を検し、その最少の皮膚反應及び致死の量を定めた。

以上得たる成績の詳細及びこれを總括した結論は原著に譲り、ここには最も特徴ある Fraktion として I, VII Fraktion のみについて記述したい。

(I) の Fraktion は夾雜物として多糖體、含有量は 0.2% 以下で Nuklein 酸を證明し得ない。また非透析の蛋白である。たゞし Seibert の電氣泳動による多糖體除去試験後の精製ツベルクリン蛋白の含量は 0.8 % である。

この Fraktion I. の蛋白は 10 mg の注射でも結核モルモットに致死作用なく、たゞしそれ以上の量については未検査であるから最少致死量はさらにこれよりも多量である。この物質は結核モルモットについて皮膚反應 0.02 mg の注射にて 14×15 mm の發赤を示してゐる。

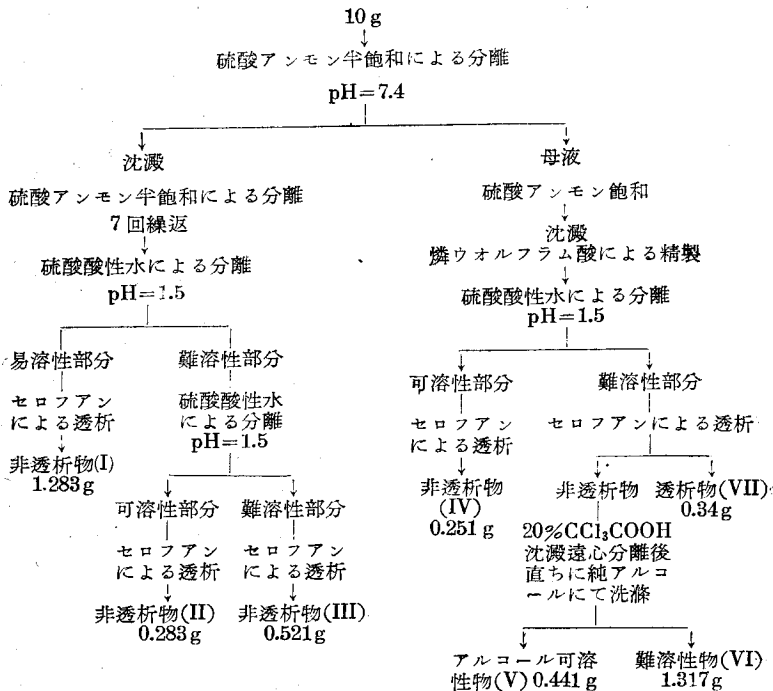
(VII) の Fraktion は透析可能の物質である。1.5 mg 以上の注射に

より結核モルモットを致死せしめ、皮膚反應は 0.1 mg の注射で 6×5 mm あるひは 4×4 mm の發赤を起すものである。

即ち致死作用の強い Fraktion が $\text{pH} = 1.5$ の酸性硫酸水に難溶で透析性であり、皮膚反應の強い Fraktion が前回の酸性水に可溶で非透析性であることは極めて興味深いものである。しかし透析によつて常に致死作用を完全に除去し得るかと云ふに必ずしもさうではない。これは他の Fraktion の成績に現はれてゐる。

なほ本報告の追加としてこの I. Fraktion につき吾々教室の管學士

表 1 三鹽化醋酸沈澱粗製ツベルクリン蛋白



は本學澤田教授の好意により同内科に入院中の結核患者 10 名につき Mantoux 反應を施行した。その際、市販の Alt-Tuberkulin 1000 倍稀釋を對照として種々の稀釋に於ける I. Fraktion を皮内に注射しその效力を比較した。即ち 0.1 γ の皮内注射では 1000 倍稀釋のものに比する

と發赤の程度が少し弱く、1 γ の皮内注射では1000倍稀釋のものに比すると遙かに強い。0.5 γ の程度の注射が1000倍稀釋のものと同等しい發赤を示すものと想定されるも、これは目下檢索中である。その際殆ど全ての患者に於ては自覺症狀として痒感を訴へることがなかつたこと、及び發赤の消失後、何等色素の沈着を残さないことは一つの特長であると見做され得やう。なほ多數の人體實驗は別報で報告する。

本研究は服部報公會の援助によりなされたものである。ここに謹んで謝意を表す。

[詳細は J. Biochem. に發表する]

(受附：昭和17年3月23日)