

RNA 對於蓖麻蛋血清白蛋白的影響

THE EFFECTS OF RNA ON THE SERUM ALBUMIN

IN ERI-SILKWORM

施 河 · 繆 端 生

Shih Ho and Tuan-Sheng Miu

五十一年繆端生倡議以 RNA 列爲研究之中心問題，當時從者，有施河、陳克卿、林良美、徐亞莉四人。施河負責最廣，陳克卿工作最力，先後完成論文三篇。五十三年五月陳克卿於臺北醫學院生理科任教期間，不幸撞車而亡，生物學界失一大才，不勝痛惜，謹獻此文，以慰英靈！

一、緒 言

核酸中，DNA 任遺傳機序的主要角色，見於細胞核中，而 RNA 則負擔合成蛋白質的任務，分布於細胞核，細胞質及核糖體 (Ribosome)。有關核酸的遺傳作用及化學性質，已有很多報告，但有關核酸在生理上及生態上的作用，才剛開始研究。過去曾有報告，由動物不同組織抽出的 RNA 注入動物器官後，可引起非專一性反應而產生大量的 RNA，至於由植物性的酵母菌所抽出的 RNA，注入動物體後有何反應，尙少報告。作者以酵母菌抽出的 RNA 注入蓖麻蛋的血液，試驗血蛋白有何變化。這是一個開端，以後將有一連串的研究，最後要試驗生態因素對於 RNA 的活動有何影響，本文之血清蛋白，以白蛋白 (Albumin) 爲主，至於球蛋白 (Globulin) 將另文發表。

二、材料與方法

(一) 材 料

供實驗之材料爲蓖麻蛋(31)(32)，其學名爲 *Philosomia cynthia racini* Boisduval.

注射液用 RNA 液及核苷酸液 (Nucleotide) 。RNA 由酵母提煉而得，非專一性 (unspecific) ，用時以 Yeager's insect Ringer's solution 稀釋。核苷酸液由酵母 RNA 經作者以水解法 (Dimroth, 1952) (5)(10)(20) 製成核苷酸後，再以 Yeager's insect Ringer's solution 稀釋成適用濃度。此種溶液含有 adenylic, guanylic, cytidylic, uridylic acids 等數種核苷酸。(11)

(二) 方 法

A. 將生長於 21-22°C，濕度 R.H 78% 下，第17日（即第四次脫皮前二日）的蓖麻蚕，分成 I、II、III、IV 等四區進行實驗：

I 區：控制組，不注射任何物質。

II 區：每蚕注射 0.2ml 的 Yeager's insect Ringer solution.

III 區：每蚕注射 0.5mg/ml RNA 液 0.2ml.

IV 區：每蚕注射 0.5mg/ml 核苷酸液 0.2ml.

B. 注射四天後，分別收集每蚕的血液，加以離心處理後，取其血清，避光、冷藏，供各種定量分析及測定之用。至於取血，一律剪破足基部而得。

C. 血清白蛋白及胺基酸的測定

1. 血清白蛋白 (Serum albumin) 的測定：利用 Lumetron clinical photoelectric colorimeter 以 Greenberg method (並參照 Folin 和 Ciocalteu, 1929) (25) 之光電比色法，測定每 100ml 血中的白蛋白。

2. 分離血清蛋白(20)：用 2.05M (50%飽和液) 的硫酸銨，使球蛋白和纖維蛋白元 (Globulin & Fibrinogen) 沉澱後，再以 2.8M (68%飽和液) 的硫酸銨，使白蛋白沉澱備用。

3. 分析胺基酸，用 Paper chromatograph 雙面體法。展釋溶劑相一為 1-butanol:acetic acid:water=4:1:1 (Reed, 1950)，相二為 70% ethanol 或加 1% diethylamine。利用此法測出各種胺基酸的 Rf 值，以決定胺基酸的種類(5)(20)。

4. 胺基酸的定量，用下列步驟：(a) 以 5% Ninhydrin 丙酮溶液作顯色劑。(b) 置乾的層析紙於 65°C 下 30分鐘，小心剪下每一胺基酸點相，並置於硫酸銅酒精溶

液 (硫酸銅 0.4mg 溶於 75% 酒精 8ml 中)，使浸出顏色。(e) 置此有色溶液於 5300A 的光帶比色，計算其結果 (Giri 1952; Airan 1953)。(3)

三、結 果

1. 蠶之脫皮時間及情況，頗有變化，茲比較如次：

組 別	脫 皮 時 間	脫 皮 時 間 (hr)	比 I 區 增 加 的 時 間 (hr)	脫 皮 情 狀
I (控 制)		42	0	完 全
II (鹽 液)		42	0	完 全
III (R N A)		60	18	不 完 全
IV (核 苷 酸)		60	24	不 完 全

表 1 蠶第四次脫皮時間的比較

本實驗觀察之蠶齡為第四次脫皮，由上表記錄，發現第 III、IV 兩區的蠶，其脫皮的時間顯然延長，而注射核苷酸者更甚於注射 RNA 者。

2. 吐絲量及吐絲時間：各區蠶的吐絲總量，大體一致，惟其脫皮後到開始吐絲的時間，却有差異，注射 RNA 顯能提前吐絲(10)，可提前一天到兩天。茲比較如次：

組 別	I	II	III	IV
時 間 (日)				
第 四 次 脫 皮 到 吐 絲 的 時 間	6	6	4-5	4-5

表 2 吐絲時間的比較

3. 血清白蛋白 (Serum albumin) 的含量，注射 RNA 及核苷酸者均見增加，且頗一致。注射鹽液者反有減少之傾向。茲比較如下表：

組 別	I	II	III	IV
白 蛋 白 量 gm/100ml	4.99	4.57	5.90	5.90

表 3 血清白蛋白的含量

4. 紙張層析 (Paper chromatograph) 的結果(2)，得到 Rf 約數如下表：

Amino acid	相 I Butanol-acetic acid-water	相 II Ethanol
Glycine (1)	0.24	0.40
Alanine (2)	0.38	0.64
Valine (3)	0.60	0.77
Leucine (4)	0.70	0.88
Isoleucine (5)	0.72	0.82
Serine (6)	0.25	0.36
Threonine (7)	0.35	0.48
Methionine (8)	0.52	0.79
Proline (9)	0.48	0.86
Asparatic acid (10)	0.23	0.19
Glutamic acid (11)	0.28	0.33
Phenylalanine (12)	0.67	0.86
Tyrosine (13)	0.46	0.50
Histidine (14)	0.20	0.68
Arginine (15)	0.22	0.88
Lysine (16)	0.12	0.79

表4 胺基酸的 Rf 值 (用 Whatman No. 1 paper 分析)

上法可清楚地分離不同的胺基酸，並由此比較 Rf 值而可確定胺基酸，此外依據顏色也可鑑定胺基酸，惟往往因衍生物而發生誤差。(參閱表5)。

5. 胺基酸定量分析的結果：

用層析法分離的各種胺基酸，以實驗方法 C 之 5 的步驟，得到各溶液的光穿透度 (I)，根據 Beer 定律(8)：

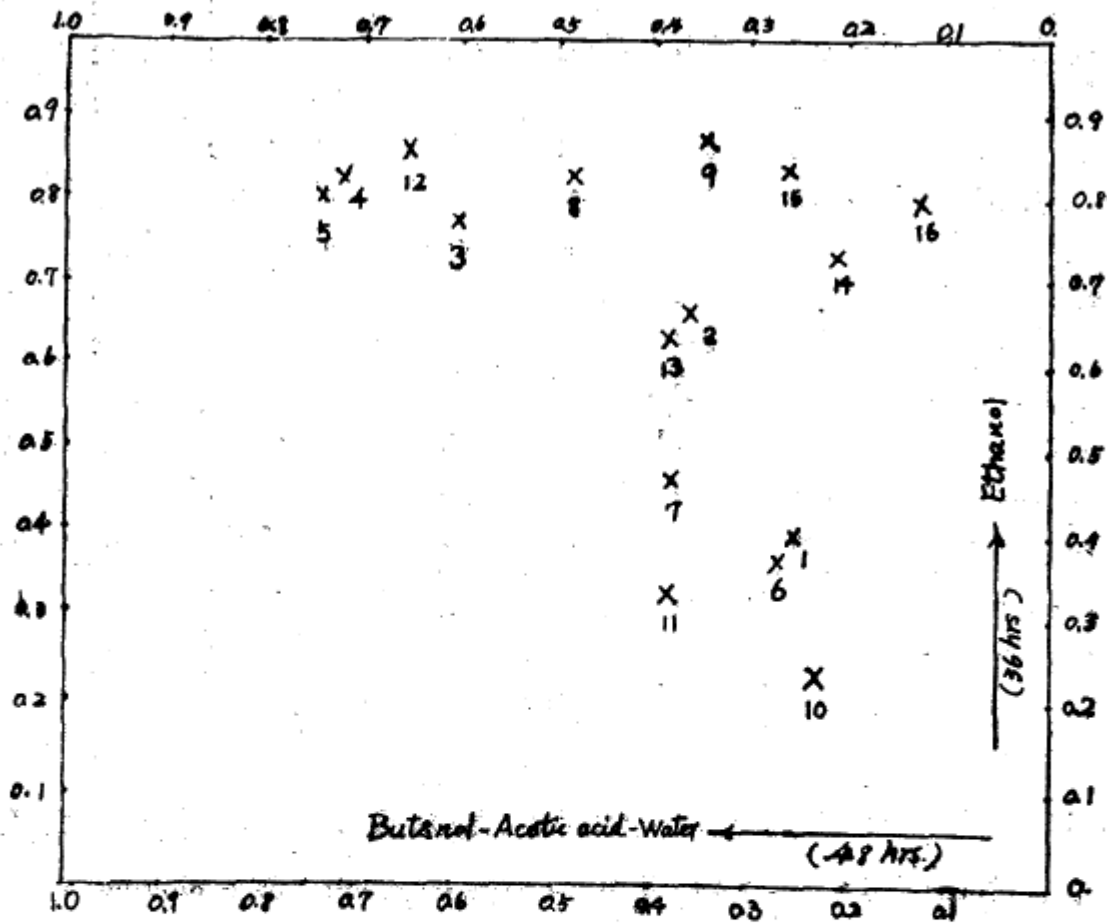
$$\log \frac{I_0}{I} = a_e bc \text{ 計算則 } c = \frac{\log I_0/I}{a_e \times b}$$

b = 管長 (1.5cm)

c = 溶液濃度 (gm)

I₀ = 空試管的光穿透度 (100)

a_e = 常數 (據 I 區材料實驗得知 a_e = 0.0824)。



(表5) 雙面薄板層析所得的色點分布圖

各點僅代表大略位置。相一由右向左，相二由下向上展釋。

每區材料的紙張層析法，均以 tyrosine 為標準 (tyrosine 與 Albumin 之當量比約 16.6)。現將分析結果列表如下：

Constituent	Group	Composition				Comparison			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV
1. Glycine		6.11	5.91	5.90	5.67	0	-0.20	-0.21	-0.14
2. Alanine		3.02	3.00	4.16	4.23	0	-0.02	1.14	1.21
3. Valine		4.80	4.68	4.92	4.68	0	-0.12	0.12	-0.12

4. Leucine	4.38	3.67	4.43	4.54	0	-0.71	0.05	0.16
5. Isoleucine	6.11	7.13	6.43	6.52	0	1.02	0.32	0.41
6. Serine	5.00	4.68	5.32	4.92	0	-0.32	0.32	-0.08
7. Proline	3.38	3.67	3.49	3.29	0	0.29	0.11	-0.09
8. Methionine	3.02	3.00	3.42	3.46	0	-0.02	0.40	0.44
9. Threonine	0.70	0.73	1.02	0.86	0	0.03	0.32	0.16
10. Aspartic acid	10.12	11.31	11.36	11.89	0	1.19	1.24	1.77
11. Glutamic acid	14.56	15.42	19.56	18.70	0	0.86	5.00	4.14
12. Phenylalanine	3.66	3.67	3.78	3.59	0	0.01	0.12	-0.07
13. Tyrosine	4.60	4.23	4.79	4.67	0	-0.37	0.19	0.07
14. Histidine	5.50	5.51	5.55	5.52	0	0.01	0.05	0.02
15. Arginine	6.32	5.98	6.18	6.58	0	-0.34	-0.14	0.26
16. Lysine	4.80	4.84	5.24	5.62	0	0.04	0.44	0.82
Total	86.08	87.43	95.55	95.04	0	1.35	9.47	8.96

表 6 各區蓖麻蠶血清中白蛋白的胺基酸組成表

根據表 6 之記錄，可知 RNA 注射者所含胺基酸總量最多，就胺基酸之組成而言，RNA 注射區顯受影響，除 glycine 及 arginine 略有減少外，其餘 alanine、valine、leucine、isoleucine、serine、proline、methionine、threonine、aspartic acid、glutamic acid、phenylalanine、tyrosine、histidine、lysine 等十四種胺基酸均有增加，其中 alanine、aspartic acid、glutamic acid 三種數字最大。

四、討 論

1. 自不同組織提煉而得的 RNA (9)，注入另一種器官時，可引起非專一性的反應，產生大量的 RNA。實驗結果(1)脫皮情況的差異，是因酵母 RNA 注入蠶體後，引起相似反應，消費了能量(10)(11)，致脫皮延期。

2. 酵母 RNA 水解後，其四種核苷酸的組成比，與 Chargaff 的實驗式 $G+U=A+C$ 相符合(10)(20)：

Adenylic acid	Guanylic acid	Cytidylic acid	Uridylic acid
1.0	0.97	0.61	0.70

3. 分離血清蛋白用硫酸銨(4)，是因其溶解度甚高 (760g/L) 而溫度變化系數甚低之故。而鹽析的利用，在於處理許多無機鹽類(2)。

4. 血中白蛋白的總量(22)(35)，第Ⅱ區（注鹽液）含量最少，此因加入之鈣，鎂離子過多，對於蠶體引起異常所致。鎂離子可與血蛋白結合，而降低血液中的含量 (Levenbroek 1949) (2)。鈣離子又能抑制 peptidase 及 phosphotransacetylase，而使蛋白含量減少。此外鈉離子可抑制 Aceto-CoA kinase 及 ATP-pyruvic transphosphorylase 等(2)，故蠶體注入鹽液後，代謝作用有失常之可能。

5. 蠶體注射 RNA 後，血中白蛋白，顯見增加，RNA 水解後獲得之核苷酸注入蠶體後，亦得相似結果。此證明外來之 RNA 及其核苷酸一旦侵入動物體內，亦能參與蛋白質的合成作用。(19)(14)

6. 酵母 RNA 注入蠶體後，白蛋白之組成引起波動，構成白蛋白之各種胺基酸互有消長。此因 RNA 可影響胺基酸之代謝，使少數之胺基酸 (glycine、arginine) 減少，而使大多數之胺基酸增加。(20)(34)

五、結 論

1. 酵母 RNA 是植物性核酸，且是體外核酸，注入蠶體後可參與白蛋白之合成作用，使血清白蛋白之含量增多，並使構成白蛋白之胺基酸代謝，受到影響而引起消長之現象。

2. 由酵母 RNA 水解而得之核苷酸，注入蠶體後，亦引起相似現象。

參 考 資 料

1. Akamatsu shigeru. J. Biochem. (Tokyo) 39, 203 (1952)
2. A. J. F. Martin & R. Miteiamn. Biochem. J. 43, 353 (1953)

3. A. Keleczkowski Biochem. J. 44, 573 (1949)
4. Arays Siipai & Kobayashi. J. Biochem. (Tokyo) 33,6 (1951)
5. Block. Durrum & Zweig. Paper chromatograph & electrophoresis. 2nd. edi, (1958)
6. C. E. Dent. Biochem. J. 43, 169 (1948)
7. C. H. Iong. Naeterio-Immunology. (Taipei) 1960
8. Daniels. Physical chemistry (1955)
9. Earl Freden Scie. Amer. Vol. 201 No. 2 (1959)
10. Erwin Chargaff & J. N. Davidson. The nueleic acids. Vol. I. II & III. (1960)
11. F. H. C. Crick. Scie Amer. Vol. 207. No. 4 (1962)
12. Frensdorff. & M. T. Watson. J. Amer. Chem. Soc. 75, 5157 (1953)
13. George Brawerman. J. Amer. Chem. Soc. 75, 4113 (1953)
14. Helen Gay. Scie. Amer. Vol. 202 No. 1 (1960)
15. H. Hoch. Biochem. J. 42, 181 (1948)
16. I. L. Huang Scie. Edu. Taipei Vol. 9 No. 8 (1963)
17. J. B. Neilands Outline of Enzyme Chemistry. (1958)
18. J. C. Kendrew Scie. Amer. Vol. 205 No. 6 (1961)
19. Jean Brachet Biochemical Cytology. Belgique (1957)
20. Joseph S. Fruton & Sofia Simmonds General Biochemistry Yale (1958)
21. K. D. Rorder Insect physiology. New Yoyk. (1953)
22. K. M. Bykor Texbook of physiology. Moscow (1960)
23. Langridge & P. J. Gomatos Scie, 141. 694 (1963)
24. L. cook et al. Science. 141, 268 (1963)
25. Litwaek Gerald Experimental Biochemistry (1960)
26. Mahlon B. Hoagland. Scie. Amer. Vol. 201 No. 6 (1959)
27. Marshall W. Nirenberg Scie. Amer. Vol. 208 No. 3 (1963)
28. Mary W. & Qutin van Winkine J. Amer. Chem. Soc. 75. 5440 (1953)
29. M. Santer. Science. 141. 1049 (1963)
30. N. Grobblaar & F. C. Steward. J. Amer, Chem. Soc. 75. 4341 (1953)
31. Ren-Jyre Ho Ann. Nat. His. Soc. No. 9 (1959) (Taipei)
32. Schweigert. B. et al. Amer. J. Physiol. 178. 338 (1954)
33. W. A. Schreoder & Joann LeGette J. Amer. Chem. Soc. 75. 4613 (1953)
34. W. W. Umbreit Metabolie maps. (1960)
35. W. Kauman & R. B. S. Simson J. Amer. Chem. Soc. 75, 5154 (1953)
36. Yao-Kun Ho Scie. Edu. (Taipei) Vol. 18, No. 10 (1962)
37. Y. S. Liang Ann. Nat. History Soc. (Taipei) No. 9 (1959)