

細菌による五炭糖の生成

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上 栄教授)

本 松 格 史

〔昭和 35 年 6 月 23 日受稿〕

目 次

第 1 編 数種 C 源よりの五炭糖の生成	II. 実験材料及び実験方法
I. 緒 言	III. 実験成績
II. 実験材料及び実験方法	1. グルコースよりの C ₅ 糖生成に対する 亜硫酸の影響
III. 実験成績	2. 培地組成の影響
1. C ₆ 化合物よりの C ₅ 糖の生成	3. 好, 嫌気的条件の影響
2. C ₃ 化合物その他よりの C ₅ 糖の生成	IV. 総括及び考案
IV. 総括及び考案	V. 結 言
V. 結 言	参考文献
第 2 編 五炭糖の生成に対する培養条件の影響	
I. 緒 言	

第 1 編 数種 C 源よりの五炭糖の生成

I. 緒 言

五炭糖は六炭糖と同様広く生物界に存在し, 特に助酵素類, 核酸などの構成成分として重要な地位を占めるものである。

生物細胞に於ける五炭糖 (C₅ 糖と略) の生成機序に関しては多くの研究があるが, 生成経路は二つに大別しうる, 即ちその一つはグルコース→グルコース-6P→グルコン酸-6P→2-ケトグルコン酸-6P→アラビノース-5P となり, アラビノース-5P は転位してリボース-5P となる経路であり¹⁻³⁾, このような経路は酵母, 大腸菌などより得た酵素液によつても証明されている⁴⁾。

又他の一つは C₃ 化合物と C₂ 化合物, 或は C₃ 化合物との縮合である。即ち Jones & Hough⁵⁾ はグリセリンアルデヒドとグリコールアルデヒドとの混合物をアルカリ性で放置して置くと C₅ 糖を生成することを認め, 生体内でもアルドラーゼの作用によりこのような反応が起りうる可能性を予想し, Murmar & Schlenk⁶⁾ は Micrococcus よりの酵素液により, 果糖-1.6二磷酸とグリコールアルデヒドから C₅ 糖を生成することを認め, これは糖果-1.6

二磷酸より生成した三炭糖磷酸とグリコールアルデヒドの縮合によるものと推定している。

又赤堀, 上原⁷⁾ はグリセリンアルヒドとデオキシマレイン酸とから筋肉の作用により C₅ 糖を生成することを認め, これはデオキシマレイン酸より生成したオキシ焦性ブドー酸とグリセリンアルデヒドの縮合によるものと推定している。

尚同氏等はグルコースよりのリボースの生成経路として, グルコース→グルコン酸-P→2-ケトグルコン酸-Pとなり, これからグリセリンアルデヒド-Pとオキシ焦性ブドー酸を生成し, 両者が縮合してリブローサー-Pとなり, 更に転位してリボース-Pとなることを推定している。

細菌は極めて複雑な複合酵素系であり, その C₅ 糖生成過程も示複雑であるが, 筆者は 2, 3 病原菌の生菌体による C₅ 糖生成, 特にグルコースよりの生成経路の一端をうかがう目的で, 先づ数種 C 源よりの C₅ 糖生成能について検討した。

II. 実験材料及び実験方法

供試菌: Staphy. aureus, sh. flexneri 2 a, Sal. typhi 57 標準株の教室保存のもの。

静止菌浮游液の調製：培地より集菌した菌体を M/50 磷酸緩衝液 (0.85% NaCl 加 pH 7.2) を以つて 2 回遠沈洗滌後、同緩衝液に浮遊した。

菌量は光電比濁計により濁度を測定し、あらかじめ作成した標準曲線と対比して決定した。

O₂ 消費量の測定：ワールブルグ検圧計を用い常法⁹⁾に従つた。

基質、阻害剤 (オーレオマイシン, 2,4-チニトロフェノール) は何れも市販品を蒸留水に溶解し、必要によつては NaOH, 又は HCl を以つて pH を修正して使用した。

C₆ 糖の定量：C₆ 糖はリボースその他種々のものがあるが、本実験に於いてはオルシン・HCl 反応⁹⁾ によ定量し、すべてリボースに換算した。

グルコースの定量：3,5-チニトロサルチル酸を用いる比色法¹⁰⁾ によつた。

乳酸の定量：P-ヒドロキシチフェニルを用いる比色法¹¹⁾ によつた。

焦性ブドウ酸の定量：2,4-チニトロフェニルヒドラゼンを用いる比色法¹²⁾ によつた。

III. 実験成績

1. C₆ 化合物よりの C₅ 糖の生成

a. グルコン酸

C₆ 糖生成反応の一つはグルコン酸の酸化的脱炭酸であるが、生菌を用いた場合にはグルコン酸より生成した C₆ 糖は更に酸化分解されることが予想される。然しこの際 C₆ 糖の酸化を特に強く阻害するような阻害剤を添加して置くと、C₆ 糖が蓄積するようになると考えられる。

そこでこのような阻害剤としてオーレオマイシン (AM と略す), 2,4-チニトロフェノール (DNP と略す) を選び、先づグルコース, グルコン酸, C₅ 糖 (リボース) を基質とした O₂ 消費に対するこれら阻害剤の阻害度を各菌について比較した。

St. aureus では普通寒天培養 (15時間) の菌体を用い、菌量は湿菌量 80 mg/cup, 基質はいずれも 10⁻²M, AM 及び DNP は, 10⁻⁴M, 3×10⁻⁴M, 10⁻³M の 3 段階とし、これら阻害剤はあらかじめワールブルグ検圧計容器の主室に菌液と共に入れてよく接触せしめ、15分後に側室より基質を混入して 1 時間の O₂ 消費量を測定した。

AM については第 1 表の如くであり、グルコースを基質とした場合には, 3×10⁻⁴M で阻害率は 15%, 10⁻³M では 48%, グルコン酸を基質とした場合には

第 1 表 AM の O₂ 消費阻害
St. aureus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μl	阻害率%
グルコース	287	/
〃 + AM 10 ⁻⁴ M	296	0
〃 + 〃 3×10 ⁻⁴ M	245	15
〃 + 〃 10 ⁻³ M	149	48
グルコン酸	152	/
〃 + AM 10 ⁻⁴ M	165	0
〃 + 〃 3×10 ⁻⁴ M	117	23
〃 + 〃 10 ⁻³ M	78	49
リボース	260	/
〃 + AM 10 ⁻⁴ M	249	0
〃 + 〃 3×10 ⁻⁴ M	177	32
〃 + 〃 10 ⁻³ M	70	73

3×10⁻⁴M, 10⁻³M でそれぞれ 23%, 49% であるのに対し、リボースを基質とした場合には 3×10⁻⁴M, 10⁻³M でそれぞれ 32%, 73% となつてグルコース, グルコン酸の場合に比し阻害度はかなり大である。

又 DNP についても第 2 表の如く、リボースを基

第 2 表 DNP の O₂ 消費阻害
St. aureus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μl	阻害率%
グルコース	295	/
〃 + DNP 10 ⁻⁴ M	290	0
〃 + 〃 3×10 ⁻⁴ M	233	21
〃 + 〃 10 ⁻³ M	194	34
グルコン酸	162	/
〃 + DNP 10 ⁻⁴ M	165	0
〃 + 〃 3×10 ⁻⁴ M	124	23
〃 + 〃 10 ⁻³ M	78	52
リボース	247	/
〃 + DNP 10 ⁻⁴ M	215	0
〃 + 〃 3×10 ⁻⁴ M	114	54
〃 + 〃 10 ⁻³ M	80	68

質とした場合 3×10⁻⁴M では阻害率 54%, 10⁻³M では 68% であつて、グルコース, グルコン酸を基質とした場合に比し阻害度は大である。

次に Sh. flexneri 2a, Sal. typhi 57 についてであるが、これらの菌は普通寒天培養菌体はグルコン酸, リボースを基質とした O₂ 消費が極めて小であるので、グルコン酸を 2 g/l となるように加えた普通寒天, リボースを 2 g/l となるように加えた普通寒天に 3 代以上継代して馴らした菌体 (15 時間培養)

を用いて実験を行なつた。

菌量は何れも 20 mg/cup とし、基質、阻害剤濃度は *St. aureus* の場合と同様にした。

AM については第 2 表に示した如くであり、グルコン酸添加培地発育菌ではグルコースを基質とした場合、AM $3 \times 10^{-4}M$ 、 $10^{-3}M$ に於ける阻害率はそれぞれ 16%、50%、グルコン酸を基質とした場合にはそれぞれ 24%、53% であり、リボース添加培地発育菌でのグルコースを基質した場合にはそれぞれ 20%、49% であるのに対しリボースを基質とした場合にはそれぞれ 32%、58% であつて、リボースに於ける AM の阻害度は他の基質に於けるより大である。

DNP では第 3 表の如く、グルコン酸添加培地発

第 3 表 AM の O₂ 消費阻害

Sh. flexneri 2a グルコン酸添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μ l	阻害率%
グルコース	347	/
" + AM $10^{-4}M$	352	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	291	16
" + " $10^{-3}M$	178	50
グルコン酸	397	/
" + AM $10^{-4}M$	405	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	302	24
" + " $10^{-3}M$	187	53

Sh. flexneri 2a リボース添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μ l	阻害率%
グルコース	320	/
" + AM $10^{-4}M$	336	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	256	20
" + " $10^{-3}M$	163	49
リボース	262	/
" + AM $10^{-4}M$	263	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	178	32
" + " $10^{-3}M$	102	68

育菌でのグルコースを基質とした場合の AM $3 \times 10^{-4}M$ 、 $10^{-3}M$ の阻害率はそれぞれ 21%、53%、グルコン酸ではそれぞれ 28%、58% であり、リボース添加培地発育菌でのグルコースの場合にはそれぞれ 24%、54% であるのに対し、リボースでは 37%、77% であつて、やはり基質リボースに於ける阻害度はかなり大である。

Sal. typhi 57 に於いても第 5、6 表の如く、*Sh.*

第 4 表 DNP の O₂ 消費阻害

O₂ 消費に対する阻害剤の影響

Sh. flexneri 2a グルコン酸添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μ l	阻害率%
グルコース	347	/
" + DNP $10^{-4}M$	356	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	274	21
" + " $10^{-3}M$	163	53
グルコン酸	397	/
" + DNP $10^{-4}M$	406	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	286	28
" + " $10^{-3}M$	167	58

Sh. flexneri 2a リボース添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μ l	阻害率%
グルコース	320	/
" + DNP $10^{-4}M$	337	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	243	24
" + " $10^{-3}M$	147	54
リボース	262	/
" + DNP $10^{-4}M$	280	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	165	37
" + " $10^{-3}M$	60	77

第 5 表 AM の O₂ 消費阻害

Sal. typhi 57 グルコン酸添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μ l	阻害率%
グルコース	376	/
" + AM $10^{-4}M$	396	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	316	16
" + " $10^{-3}M$	248	34
グルコン酸	405	/
" + AM $10^{-4}M$	420	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	344	15
" + " $10^{-3}M$	255	37

Sal. typhi 57 リボース添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μ l	阻害率%
グルコース	342	/
" + AM $10^{-4}M$	360	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	280	18
" + " $10^{-3}M$	215	37
リボース	217	/
" + AM $10^{-4}M$	227	0
" + " $3 \times 10^{-4}M$	154	29
" + " $10^{-3}M$	91	58

第6表 DNP の O₂ 消費阻害
Sal. typhi 57 グルコン酸添加培地発育菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μl	阻害率%
グルコース	376	/
“ +DNP 10 ⁻⁴ M	389	0
“ + “ 3×10 ⁻⁴ M	267	13
“ + “ 10 ⁻³ M	274	27
グルコン酸	405	/
“ +DNP 10 ⁻⁴ M	412	0
“ + “ 3×10 ⁻⁴ M	344	15
“ + “ 10 ⁻³ M	251	38
Sal. typhi 57 リボース添加培地培養菌		
基質・阻害剤	O ₂ 消費 μl	阻害率%
グルコース	342	/
“ +DNP 10 ⁻⁴ M	356	0
“ + “ 3×10 ⁻⁴ M	291	15
“ + “ 10 ⁻³ M	254	26
リボース	217	/
“ +DNP 10 ⁻⁴ M	220	0
“ + “ 3×10 ⁻⁴ M	163	25
“ + “ 10 ⁻³ M	128	41

flexneri 2a と全く同様であつて、リボースを基質とした場合の AM, DNP の阻害度はグルコース、グルコン酸を基質とした場合に比し大である。

以上の如く AM, DNP は各菌に於いて C₅ 糖 (リボース) の酸化を特に強く阻害することが認められたので、次にこれらを添加してグルコン酸よりの C₆ 糖の生成を検討した。即ちワールブルグ検圧計を用い、供試菌浮游液に AM, 或は DNP (それぞれ 3×10⁻⁴M, 10⁻³M) を添加し、更にグルコン酸 (10⁻²M) を加えて1時間振盪して O₂ 消費量を測定した後遠沈し、上清中の C₅ 糖蓄積をオルシン-HCl 反応により定量した。尚比較のためグルコースを基質とした場合についても同様に行ない、又対照としては阻害剤無添加の場合、基質無添加の場合についても同様に行なつた。St. aureus では普通寒天培養菌を用い、湿菌量 80 mg/cup とし、Sh. flexneri 2a, Sal. typhi 57 ではグルコン酸添加培地に培養した菌を用い、20 mg/cup とした。

St. aureus では第7表の如くであり、グルコン酸を基質とした場合、阻害剤無添加では O₂ 消費 9.8 μM で、C₅ 糖蓄積は認められず、AM 3×10⁻⁴M 添加では O₂ 消費、C₅ 糖蓄積はそれぞれ 7.5, 2.6 μM

第7表 C₅ 糖蓄積に対する AM, DNP の影響
St. aureus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	定量値 μM	
	O ₂ 消費	C ₅ 糖蓄積
グルコン酸	9.8	0
“ +AM 3×10 ⁻⁴ M	7.5	2.6
“ + “ 10 ⁻³ M	4.9	2.9
“ +DNP 3×10 ⁻⁴ M	7.1	2.0
“ + “ 10 ⁻³ M	4.6	2.5
グルコース	13.7	0
“ +AM 3×10 ⁻⁴ M		
“ + “ 10 ⁻³ M		
“ +DNP 3×10 ⁻⁴ M		
“ + “ 10 ⁻³ M		
基質なし	2.2	0
“ +AM 3×10 ⁻⁴ M	2.0	0
“ + “ 10 ⁻³ M	1.6	0.5
“ +DNP 3×10 ⁻⁴ M	2.1	0
“ + “ 10 ⁻³ M	1.5	0.2

であり、AM 10⁻³M 添加ではそれぞれ 4.9, 2.9 μM である。又 DNP 3×10⁻⁴M 添加ではそれぞれ 7.1, 2.0 μM, 10⁻³M 添加では 4.6, 2.5 μM であつてこれら阻害剤添加によつて C₅ 糖蓄積は明らかに増大することが認められた。

グルコースを基質とした場合には、阻害剤無添加では O₂ 消費 13.2 μM, C₅ 糖蓄積はなく、AM 3×10⁻⁴M 添加では O₂ 消費 11.1 μM, C₅ 糖蓄積 3.6 μM, 10⁻³M 添加ではそれぞれ 6.3, 3.8 μM となり、又 DNP 3×10⁻⁴M 添加ではそれぞれ 10.4, 3.0 μM, 10⁻³M では 8.2, 3.6 μM となつて、やはり AM, DNP 添加により C₅ 糖蓄積は増大する。

尚基質無添加の場合にも AM, DNP 添加により僅かに C₅ 糖蓄積が認められるが、これは菌体内保有の物質より生成したものと想像される。

Sh. flexneri 2a では第8表の如くであり、グルコン酸、グルコースを基質とした場合 AM, 或は DNA 添加により C₅ 糖蓄積は増大し、且つ O₂ 消費に対する C₅ 糖蓄積の割合は、グルコースを基質とした方がグルコン酸を基質としたよりも大である。例えば AM 3×10⁻⁴M 添加の場合について見ると、グルコン酸を基質とすると O₂ 消費 15.6 μM, C₅ 糖蓄積 3.0 μM であるのに対し、グルコースでは O₂

第8表 C₅糖蓄積に対する AM, DNP の影響
Sh. flexneri 2a グルコン酸添加培地発育菌

定量値 μM	O ₂ 消費	C ₅ 糖蓄積
基質・阻害剤		
グルコン酸	20.4	0.3
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	15.6	3.0
" + " 10 ⁻³ M	10.0	3.2
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	15.2	1.9
" + 10 ⁻³ M	8.5	2.0
グルコース	16.8	0.2
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	13.8	4.1
" + " 10 ⁻³ M	8.2	3.3
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	13.2	3.2
" + " 10 ⁻³ M	7.9	2.5
基質なし	2.1	0
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	1.9	0
" + " 10 ⁻³ M	1.7	2.0
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	2.0	0
" + " 10 ⁻³ M	1.7	0

消費 13.8, C₅糖蓄積 4.1 μM である。

Sal. typhi 57でも第9表の如く, AM, DNP の添加により C₅糖蓄積は増大し, 且つ AM 添加に於いてはグルコースを基質とした方がグルコン酸の場合よりも O₂消費に対する C₅糖蓄積の割合は大である。

次に各供試菌の普通寒天15時間培養菌体を用いグルコースの酸化に於ける量的関係, 及びこれに対する AM, DNP の影響を検討した。

菌量は St. aureus では 80 mg/cup, Sh. flexneri 2a, Sal. typhi 57 では 20 mg/cup とし, 基質 (グルコース) は 10⁻²M, AM, DNP はそれぞれ 3×

第9表 C₅糖蓄積に対する AM, DNP の影響
Sal. typhi 57 グルコン酸添加培地発育菌

定量値 μM	O ₂ 消費	C ₅ 糖蓄積
基質・阻害剤		
グルコン酸	21.7	0.2
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	18.1	2.4
" + " 10 ⁻³ M	13.4	3.8
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	17.7	2.5
" + " 10 ⁻³ M	12.5	2.7
グルース	15.8	0
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	13.6	3.7
" + " 10 ⁻³ M	10.4	3.0
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	11.7	3.0
" + " 10 ⁻³ M	9.8	2.3
基質なし	3.2	0
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	3.0	0
" + " 10 ⁻³ M	2.6	0.3
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	2.9	0
" + " 10 ⁻³ M	2.6	0.2

10⁻⁴M, 10⁻³M とし, 阻害剤は菌液と共に容器主室に入れ, 15分後に側室よりグルコースを添加して1時間振盪して O₂消費量を測定した後, 遠沈上清についてグルコース消費, C₅糖, 乳酸, 焦性ブドウ酸蓄積量をそれぞれ定量した。

結果は St. aureus では第10表の通りであり, 阻害剤無添加では O₂消費 13.2 μM , グルコース消費 10.5 μM で, 分解産物蓄積は殆んど認められず, AM 3×10⁻⁴M 添加では O₂消費 11.1 μM , グルコース消費 10.0 μM に対し, C₅糖蓄積 3.8 μM , 乳酸蓄積 1.1 μM , 焦性ブドウ酸蓄積 0.8 μM となつて, かなりの C₅糖蓄積の増大と, 僅かの乳酸, 焦

第10表 グルコースの酸化に対する AM, DNP の影響
St. aureus 普通寒天培養菌

定量値 μM	O ₂ 消費	グルコース消費	C ₅ 糖蓄積	乳酸蓄積	焦性ブ蓄積
基質・阻害剤					
グルコース	13.2	10.5	0	0	0
" +AM 3×10 ⁻⁴ M	11.1	10.0	3.8	1.1	0.8
" + " 10 ⁻³ M	6.3	9.0	3.6	1.8	1.0
" +DNP 3×10 ⁻⁴ M	10.4	9.5	3.4	1.0	0.5
" + " 10 ⁻³ M	8.2	9.0	3.0	1.3	1.5

性ブドウ酸蓄積が認められる。

AM $10^{-3}M$ では O_2 消費はかなり抑制されるが、 C_6 糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積は $3 \times 10^{-4}M$ の場合と大差ない。

DNP に於いても AM の場合と同様の傾向であった。

Sh. flexneri 2a では第 11 表の如くであり、阻害剤無添加では O_2 消費、グルコース消費はそれぞれ

第 11 表 グルコースの酸化に対する AM, DNP の影響

S., flexneri 2a 普通寒天培養菌

定量値 μM	O_2 消費	グルコース消費	C_6 糖蓄積	乳酸蓄積	焦性ブ蓄積
基質・阻害剤 グルコース	18.0	13.5	0	0	0.4
" + AM $3 \times 10^{-4}M$	13.7	11.5	3.8	1.2	2.6
" + " $10^{-3}M$	9.0	10.5	3.2	2.6	9.8
" + DNP $3 \times 10^{-4}M$	13.3	12.0	3.0	2.5	3.0
" + " $10^{-3}M$	8.3	10.5	2.7	3.0	10.5

$18.0, 13.5 \mu M$ であり、分解産物蓄積は殆んど認められず、AM $3 \times 10^{-4}M$ 添加では O_2 消費 $13.7 \mu M$ 、グルコース消費 $11.5 \mu M$ となつてグルコース消費の阻害は O_2 消費阻害より小であり、 C_6 糖、乳酸、焦性ブドウ酸の蓄積はそれぞれ $3.8, 1.2, 2.6 \mu M$ となつて C_6 糖蓄積が最も多く、次いで焦性ブドウ酸である。

AM $10^{-3}M$ 添加では O_2 消費 $9.0 \mu M$ となりかなりの阻害が見られるが、グルコース消費は 10.5 で阻害度は比較的小であり、 C_6 糖、乳酸、焦性ブドウ酸の蓄積はそれぞれ $3.2, 2.6, 9.8 \mu M$ であつて、焦性ブドウ酸の蓄積は著しく大となり、次いで乳酸、 C_6 糖の順である。

第 12 表 グルコース酸化に対する AM, DNP の影響

Sal. typhi 57 普通寒天培養菌

定量値 μM	O_2 消費	グルコース消費	C_6 糖蓄積	乳酸蓄積	焦性ブ蓄積
基質・阻害剤 グルコース	18.4	15.5	0	0	0.3
" + AM $3 \times 10^{-4}M$	14.9	15.0	5.0	1.8	3.6
" + " $10^{-3}M$	11.3	14.0	4.7	3.8	12.4
" + DNP $3 \times 10^{-4}M$	14.1	14.5	3.0	1.5	4.0
" + " $10^{-3}M$	12.0	13.0	2.6	2.8	13.0

DNP 添加に於いても同様であり、 $3 \times 10^{-4}M$ では C_6 糖蓄積 $3.0 \mu M$ に対し、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はそれぞれ $2.5, 3.0 \mu M$ であり、 $10^{-3}M$ では C_6 糖蓄積 $2.7 \mu M$ に対し、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はそれぞれ $3.0, 10.5 \mu M$ となり焦性ブドウ酸蓄積が著しく大となる。

Sal. typhi 57 に於いても Sh. flexneri 2a と同様の傾向が見られ、AM、或は DNP の比較的稀濃度 ($3 \times 10^{-4}M$) では C_6 糖蓄積が大であり、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はこれに比しやや小であるが、阻害剤濃度が大 ($10^{-3}M$) となると、 C_6 糖蓄積は大差なく、他の分解産物特に焦性ブドウ酸蓄積が増大す

る。

2. C_3 化合物その他よりの C_6 糖の生成

前述の通り Sh. flexneri 2a, Sal. typhi 57 ではグルコン酸、グルコースより C_6 糖が生成し、且つ AM 添加に於ける O_2 消費に対する C_6 糖蓄積の割合は、グルコン酸を基質とした場合よりグルコースを基質とした方が大であつた。

従つてグルコースよりの C_6 糖生成はグルコン酸を過て行なわれる以外に他の経路、例えばグルコースより C_3 化合物が生成し、 C_3 化合物或は C_2 化合物が縮合して C_6 糖が生成する機構も存在することが推定される。

そこで次にグリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸などの C₃ 化合物、その他サク酸、コハク酸よりの C₅ 糖生成の可否を検討した。

菌量、基質濃度は上記実験と同様とし、阻害剤は AM₁ (3×10⁻⁴M, 10⁻³M) として、先づ普通寒天15時間培養の供試菌に於けるグリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸を基質とした O₂ 消費、C₅ 糖蓄積を見た。

St. aureus では第13表の如くであり、各基質と

第13表 C₃ 化合物よりの C₅ 糖蓄積

St. aureus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
グリセロリン酸	10.3	0
" + AM ₁ 3×10 ⁻⁴ M	8.6	2.3
" + " 10 ⁻³ M	5.3	1.7
乳酸	12.9	0.2
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	9.5	2.8
" + " 10 ⁻³ M	5.8	2.4
焦性ブドウ酸	11.2	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	7.8	1.7
" + " 10 ⁻³ M	3.2	1.5

も AM 無添加では C₅ 糖蓄積は見られないが、AM 添加により C₅ 糖蓄積は増大し、AM 3×10⁻⁴M 添加ではグリセロリン酸を基質として O₂ 消費 8.6 μM, C₅ 糖蓄積 2.3 μM, 乳酸ではそれぞれ 9.5 μM, 2.8 μM, 焦性ブドウ酸ではそれぞれ 7.8 μM, 1.7 μM であり、何れもかなりの C₅ 糖蓄積が認められる。

而してグリセロリン酸、或は乳酸を基質とした場合と、焦性ブドウ酸の場合とを比較すると、O₂ 消費に対する C₅ 糖蓄積はグリセロリン酸、乳酸を基質とした場合の方が大である。

Sh. flexneri 2a では第14表の如くであり、阻害剤無添加ではグリセロリン酸 (酸化されない)、焦性ブドウ酸からは C₅ 糖蓄積は認められず、乳酸では極めて僅かの蓄積が見られるにすぎないが、AM 添加により C₅ 糖蓄積は増大し、3×10⁻⁴M に於いてはグリセロリン酸では O₂ 消費 6.6 μM, C₅ 糖蓄積 2.0 μM, 乳酸ではそれぞれ 13.3 μM, 2.8 μM, 焦性ブドウ酸ではそれぞれ 9.1 μM, 1.8 μM である。

Sal. typhi 57 でも第15表の如く同様の傾向がうかがわれ、AM 添加によつて各基質よりの C₅ 糖蓄積は増大し、且つ焦性ブドウ酸を基質とした場合に

第14表 C₃ 化合物よりの C₅ 糖の蓄積

Sh. flexneri 2a 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
グリセロリン酸	7.8	0
" + AM ₁ 3×10 ⁻⁴ M	6.6	2.0
" + " 10 ⁻³ M	3.8	2.1
乳酸	18.9	0.2
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	13.3	2.8
" + " 10 ⁻³ M	8.1	2.6
焦性ブドウ酸	17.2	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	9.1	1.8
" + " 10 ⁻³ M	5.2	1.6

第15表 C₃ 化合物よりの C₅ 糖蓄積

Sal. typhi 57 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
グリセロリン酸	6.8	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	5.5	1.0
" + " 10 ⁻³ M	3.3	0.8
乳酸	19.2	1.2
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	13.6	2.6
" + " 10 ⁻³ M	8.1	2.4
焦性ブドウ酸	17.4	0.3
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	10.4	1.3
" + " 10 ⁻³ M	5.7	1.0

は O₂ 消費に対する C₅ 糖蓄積の割合はやや小である。

次に C₂ 化合物であるサク酸よりの C₅ 糖生成の可否を見た。

St. aureus, Sal. typhi 57 は普通寒天15時間培養菌体を用い、Sh. flexneri 2a は普通寒天培養菌体はサク酸を基質として O₂ 消費を示さないので、サク酸ソーダを 2g/l となるように添加した普通寒天に継代して馴らした菌体 (15時間培養) を用いて実験を行なつた。

菌量、基質濃度、阻害剤濃度は上記実験と同様にした。

結果は第16表に一括して示した通りであり、各菌共阻害剤無添加に於いても C₅ 糖蓄積は認められず、AM 添加に於いてもかなりの O₂ 消費は見られるに拘らず C₅ 糖蓄積は極めて小であり、St. aureus では AM 3×10⁻⁴M 添加で C₅ 糖蓄積 0.3 μM, Sh. flexneri 2a では 0.7 μM, Sal. typhi 57 では

第16表 サク酸よりの C₅ 糖蓄積

St. aureus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
サク酸	11.0	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	7.4	0.3
" + " 10 ⁻³ M	3.0	0.5

Sh. flexneri 2a サク酸添加培地培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
サク酸	12.6	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	7.9	0.7
" + " 10 ⁻³ M	3.7	0.6

Sal. typhi 57 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
サク酸	15.8	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	8.1	0.6
" + " 10 ⁻³ M	4.0	0.8

第17表 コハク酸よりの C₅ 糖蓄積

St. aureus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
コハク酸	9.6	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	8.2	1.7
" + " 10 ⁻³ M	5.0	2.0

Sh. flexneri 2a 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
コハク酸	17.6	0
" + AM 3×10 ⁻⁴ M	14.2	2.8
" + " 10 ⁻³ M	8.0	2.6

Sal. typhi 57 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
コハク酸	16.2	0
" + AM 8×10 ⁻⁴ M	13.3	2.4
" + " 10 ⁻³ M	8.2	2.0

0.6 μM にすぎず、これは基質無添加の対照(第1~3表)と殆んど同程度である。

次にコハク酸(C₄化合物)よりの生成について見る。

各供試菌共普通寒天培養菌体はコハク酸を基質として著明な O₂ 消費を示すので、いずれもこれを用

いることとした。

結果は第17表に一括した如くであり、阻害剤無添加では各菌共 C₅ 糖蓄積は見られないが AM 3×10⁻⁴M 添加に於いては St. aureus では O₂ 消費 8.2 μM, C₅ 糖蓄積 1.7 μM, Sh. flexneri 2a ではそれぞれ 14.2, 2.8 μM, Sal. typhi 57 ではそれぞれ 13.3, 2.4 μM となつてかなりの C₅ 糖蓄積は見られる。

然し O₂ 消費に対する C₅ 糖蓄積の割合はグリセロリン酸、乳酸を基質とした場合に比し小である。

IV. 総括及び考察

生菌によるグルコン酸の酸化経路の一つとしてはグルコン酸→C₅ 糖→焦性ブドウ酸→の経路、即ちいわゆる Warburg-Dickens 経路が知られている、而してこの過程のうちで C₅ 糖の酸化の段階を特に強く抑制するような阻害剤を加えて置くと C₅ 糖が蓄積されるはずである。

St. aureus の静止菌液にグルコン酸を加え、更に 3×10⁻⁴M~10⁻³M の AM 或は DNP を添加するとかなりの量の C₅ 糖の蓄積が見られ、又 Sh. flexneri 2a, Sal. typhi 57 でもグルコン酸加培地に継代してグルコン酸酸化能を賦与した菌体に於いては同様のことが認められ、AM, DNP はこのような目的に適合した阻害剤であると見做される。

そこでこれらの阻害剤を用い、グルコースよりの C₅ 糖の蓄積を見ると、やはり 3×10⁻⁴M~10⁻³M AM, DNP の存在下にかかなりの C₅ 糖蓄積が認められる。即ち St. aureus では阻害剤無添加に於いては分解産物蓄積は殆んどないが、AM、或は DNP 添加では C₅ 糖蓄積が認められ、乳酸、焦性ブドウ酸も僅かながら蓄積する。

Sh. flexneri 2a, Sal. typhi 57に於いても阻害剤無添加では分解産物蓄積は極めて僅かであるが、3×10⁻⁴M AM, DNP 添加では C₅ 糖蓄積は大となり、他の分解産物、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積も若干増大し、10⁻³M AM, DNP 添加では C₅ 糖蓄積は 3×10⁻⁴M の場合と大差ないかやや小であるが、焦性ブドウ酸蓄積は著しく大となる。

而してこの際 10⁻³ MAM, DNP 添加のグルコースよりの分解産物蓄積の量的関係を見ると、グルコース IM よりの C₃ 化合物(乳酸、焦性ブドウ酸)蓄積量の合計は IM よりかなり大となり、グルコースは主として Embden-Meyerhof 経路により分解されると見做され、又一方グルコン酸添加培地に

継代した *Sh. flexneri* 2 a, 或は *Sal. typhi* 57 に於いてグルコースよりの C₅ 糖生成と、グルコン酸よりの C₆ 糖生成を量的に比較して見ると、AM 添加に於いて同じ菌液を用い同時に行なつた実験で、グルコースを基質とした場合にはグルコン酸の場合に比し O₂ 消費は小であるに拘らず、C₅ 糖蓄積は大である。

これらのことから *Sh. flexneri* 2 a, *Sal. typhi* 57 ではグルコースよりの C₅ 糖生成はすべてがグルコン酸をへて行なわれるのではなくして、それ以外の経路も存在することが推定される。即ちグルコースが一旦 C₃ 化合物となり、これが縮合的に結合して C₅ 糖が生成する経路が予想される。

そこでグリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸、サク酸、コハク酸などからの C₅ 糖の蓄積、及びこれに対する AM の影響を見ると、グリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸などの C₃ 化合物からは AM の添加に於いてかなりの C₅ 糖蓄積が起り、特に前二者からの蓄積は大であり、コハク酸からは若干の蓄積が認められるが、サク酸からは全く認められない。

従つて *St. aureus* ではグルコース→グルコン酸→C₅ 糖の経路も存在するかも知れないが、*Sh. flexneri* 2 a, *Sal. typhi* 57 ではグルコースの分解に Warburg-Dickens 経路が余り関与しないと考えられる。

第 2 編 五炭糖の生成に対する培養条件の影響

I. 緒 言

前編に於いてはオーレオマイシン、2,4-ジニトロフェノールの存在下で生菌体がグルコースより、C₅ 糖をかなり蓄積することを認め、又同時にグリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸などの C₃ 化合物より C₅ 糖の生成が可能なこと、並びに *Sh. flexneri*, *Sal. typhi* ではグルコースは主として Embden-Meyerhof 経路により分解されると見做されることなどから、グルコースよりの C₅ 糖生成は主としてグルコース→C₃ 化合物→C₅ 糖の経路によると推定した。

従つてグルコースの酸化に於けるグルコース→C₃ 化合物の反応を活発にし、且つ C₃ 化合物（特に焦性ブドウ酸）以下の酸化を抑制したならばグルコース→C₃ 化合物→C₅ 糖の反応が促進されるのではないかと予想される。

ことから、C₅ 糖の生成は主としてグルコース→C₃ 化合物→C₅ 糖の経路によるのではないかと推定される。

而して AM 或は DNP は C₅ 糖→C₃ 化合物の分解反応（酸化）は阻害するが、C₃ 化合物→C₅ 糖の合成反応は阻害しないと考えられ、この分解と合成は異なつた酵素によるものと見做される。

V. 結 言

St. aureus, *Sh. flexneri* 2 a, *Sal. typhi* 57 を供試菌とし、グルコースその他の基質よりの C₅ 糖生成について検討して次の成績を得た。

1. 各菌共 3×10⁻⁴M~10⁻³M AM, 或は DNP の存在に於いて、グルコース、グルコン酸、グリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸よりかなりの C₅ 糖を生成蓄積する。

2. *St. aureus* ではグルコース→グルコン酸→C₅ 糖の経路も考えられるが、*Sh. flexneri* 2 a, *Sal. typhi* 57 では主としてグルコース→C₃ 化合物→C₅ 糖の経路により C₅ 糖が生成するものと推定される。

3. AM, DNP は C₅ 糖→C₃ 化合物の分解反応は阻害するが、C₃ 化合物→C₅ 糖の合成反応は阻害しないと考えられる。

そこで本編では培養条件を 2, 3 変えて焦性ブドウ酸以下の酸化を不円滑とした菌体を用いてグルコースよりの C₅ 糖生成能を検討した。

II. 実験材料及び実験方法

供試菌：*Sh. flexneri* 2 a の教室保存標準株

菌培養法：後記所要培地（平板）に菌を接種し、好気培養では空気中で、又嫌気培養では窒素ガスを充填した嫌気びん中で、37°C, 15時間培養した。

静止菌浮游液の調製：培地より集菌した菌体を M/50 磷酸緩衝液（0.85% NaCl 加, pH 7.2）を以つて 2 回遠沈洗滌後、同緩衝液に浮游した。

菌量測定は光電比濁計によつた。

O₂ 消費量の測定：ワールブルグ検圧計を用い常法に従つた。基質、阻害剤はいずれも市販品を蒸留水に溶解し、必要によつては NaOH, HCl を以つて pH を修正して使用した。

尚ワールブルグ検圧計容器を嫌氣的とする場合には、容器を検圧計に取り付けた後窒素ガスを1~2l通じた。

C₆糖の定量： 前編同様オルシン・HCl反応により定量し、リボースとして換算して定量した。

グルコース、乳酸、焦性ブドウ酸の定量： 前編同様いずれも比色法により定量した。

Ⅲ. 実験成績

1. グルコースより C₆糖生成に対する亜硫酸の影響

グルコースの酸化分解に於ける焦性ブドウ酸以下

の酸化反応を抑制する亜硫酸を添加することにより、C₆糖の蓄積は如何に影響されるかを見るため、ワールブルグ検圧計を用い菌液(20 mg/bdp)に亜硫酸(10⁻³M)を添加し、更にグルコースを加えて1時間振盪してO₂消費量を測定した後、遠沈上清中のグルコース消費量、C₆糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積量を測定した。尚対照として亜硫酸無添加の場合についても同様に行なつた。菌は普通寒天15時間培養のものを用いた。

結果は第18表の如くであり、亜硫酸無添加ではO₂消費17.4 μM, グルコース消費13.0 μM, 分解産物の蓄積は殆んど認められないが、亜硫酸添加で

第18表 グルコースより C₆糖生成に対する亜硫酸の影響

定置値 μM	O ₂ 消費	グルコース消費	C ₆ 糖蓄積	乳酸蓄積	焦性ブドウ酸蓄積
グルコース	17.4	13.0	0	0	0.2
" + 亜硫酸 10 ⁻³ M	8.2	10.5	2.7	1.6	13.8

はO₂消費8.2 μM, グルコース消費10.5 μM, C₆糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はそれぞれ2.7, 1.6, 13.8 μMとなり、焦性ブドウ酸以下の酸化が抑制されるとC₆糖蓄積が増大することが認められる。

2. 培地組成の影響

菌のグルコース分解様式とC₆糖生成能の関係を見るため、培地組成を2, 3変えて継代して馴らした菌体を用い、各種基質に於けるO₂消費、C₆糖生成を比較した。

培地は(1)下記組成のもの、(2)これにグルコースを2 g/lとなるように加えたもの、及び(3)Fe⁺⁺と結合することによりグルコースの酸化に於ける焦性ブドウ酸以下の酸化を抑制すると考えられるα,α-チピリヂル(mg/l)、及びグルコース(2 g/l)を加えたものの3種とし、各培地に5代以上継代して馴らし、その15時間培養のものを静止菌として実験に供した。

培地組成

第一磷酸カリ	0.35 g
第二磷酸ソーダ	2.5
ペプトン	10.0
食塩	3.0
硫酸マグネシウム	0.01
寒天	30.0
水	1.0 l
pH	7.2

菌量はいずれも湿菌量20 mg/cupとし、先づ各培地に発育した菌体のグルコース、グリセロ磷酸、乳酸、焦性ブドウ酸、サク酸、コハク酸を基質としたO₂消費量を比較した。

結果は第19表の如くであり対照培地培養菌体は基

第19表 各培地培養菌のO₂消費

	対照培地 培養菌	グルコース 添加培地 培養菌	グルコース α, α'-チピ リヂル添加 培地培養菌
—	47	38	35
グルコース	365	286	235
グリセロ磷酸	124	94	88
乳酸	387	240	208
焦性ブドウ酸	275	143	101
サク酸	50	41	37
コハク酸	262	216	183

質無添加のO₂消費(endogenous respiration) 47 μlであり、グルコース、乳酸、焦性ブドウ酸を基質として著明のO₂消費を示し、グリセロ磷酸ではこれらに比しやや小であり、サク酸ではendogenous respirationと殆んど差がない。

これに対しグルコース添加培地培養菌体で一般にO₂消費はやや小であり、特に乳酸、焦性ブドウ酸を基質としたO₂消費が低下している。

又グルコース・ α, α' -デヒリヂル添加培地培養菌体では一般に O_2 消費は更に小であり、乳酸、焦性ブドウ酸など末端物質の酸化能はグルコース添加培地培養菌体よりも更に低下している。

次にこれらの菌体を用いグルコースの酸化に於け

る O_2 消費、グルコース消費、分解産物としての C_5 糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積の量的関係、及びこれに対する AM の影響を比較した。

結果は第20表の如くであり、対照培地培養菌体では AM 無添加で O_2 消費 18.2 μM 、グルコース消

第 20 表 各培地菌養菌のグルコースの酸化に対する AM の影響

菌	基質・阻害剤	O_2 消費 μM	グルコース消費 μM	C_5 糖蓄積 μM	乳酸蓄積 μM	焦性ブ蓄積 μM
対照培地培養菌体	グルコース	19.2	14.5	0	0	0.4
	" + AM $3 \times 10^{-4} M$	13.9	12.5	3.7	1.0	2.5
	" + " $10^{-3} M$	9.0	10.5	3.0	2.4	10.0
グルコース添加培地培養菌体	グルコース	16.0	13.5	2.6	0.6	3.7
	" + AM $3 \times 10^{-4} M$	13.4	12.0	3.9	1.4	4.0
	" + " $10^{-3} M$	8.2	10.5	3.0	2.0	9.4
グルコース・ α, α' -デヒリヂル添加培地培養菌体	グルコース	14.2	13.5	3.8	0.8	5.8
	" AM+ $3 \times 10^{-4} M$	13.0	12.5	4.9	1.4	6.7
	" + " $10^{-3} M$	8.5	11.0	4.2	1.8	10.5

費 13.5 μM 、分解産物蓄積は殆んど見られず、AM $3 \times 10^{-4} M$ 添加では C_5 糖蓄積 3.7 μM とかなり増大し、焦性ブドウ酸、乳酸蓄積もやや増大する。AM $10^{-3} M$ 添加では分解産物のうち特に焦性ブドウ酸の蓄積が著しく増大する。

グルコース添加培地培養菌体に於いては阻害剤無添加で O_2 消費 16.0 μM 、グルコース消費 13.5 μM 、 C_5 糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はそれぞれ 2.6, 0.6, 3.7 μM となつて、対照培地培養菌体に比し阻害剤無添加に於ける分野産物、特に焦性ブドウ酸、 C_5 糖の蓄積が大である。

AM $3 \times 10^{-4} M$ 添加では O_2 消費 13.4 μM 、グルコース消費 12.0 μM 、 C_5 糖、乳酸、焦性ブドウ酸

蓄積はそれぞれ 3.9, 1.4, 4.0 μM で、 C_5 糖蓄積は対照培地培養菌体の AM $3 \times 10^{-4} M$ 添加に於ける場合よりやや大である。

AM $10^{-3} M$ 添加では O_2 消費 8.2 μM 、グルコース消費 10.5 μM に対し、 C_5 糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はそれぞれ 3.6, 2.0, 9.4 μM で、焦性ブドウ酸蓄積が特に大となるが、 O_2 消費、グルコース消費、分解産物蓄積の量的関係は対照培地培養菌体に於ける AM $10^{-3} M$ 添加の場合と大差ない。

グルコース・ α, α' -デヒリヂル添加培地培養菌体に於いては阻害剤無添加の場合の C_5 糖、焦性ブドウ酸蓄積は上記グルコース添加培地培養菌体に於けるより更に大であり、AM $3 \times 10^{-4} M$ 添加ではこれら

第 21 表 各培地培養菌の C_3 化合物よりの C_5 糖蓄積

基質・阻害剤	対照培地培養菌体		グルコース添加培地培養菌体		グルコース・ α, α' -デヒリヂル添加培地培養菌体	
	O_2 消費 μM	C_5 糖蓄積 μM	O_2 消費 μM	C_5 糖蓄積 μM	O_2 消費 μM	C_5 糖蓄積 μM
グリセロリン酸	5.7	0	5.0	1.1	4.2	1.8
" + AM $3 \times 10^{-4} M$	4.6	2.0	4.5	2.5	3.0	2.8
" + " $10^{-3} M$	2.7	1.7	2.8	2.3	2.5	2.0
乳酸	18.5	0	16.2	2.9	9.7	3.8
" + AM $3 \times 10^{-4} M$	14.6	2.9	13.7	4.0	9.0	4.9
" + " $10^{-3} M$	5.9	2.7	6.0	3.7	5.2	4.1
焦性ブドウ酸	14.3	0	13.0	2.0	7.4	2.2
" + AM $3 \times 10^{-4} M$	11.0	1.7	10.7	2.7	6.2	2.6
" + " $10^{-3} M$	5.2	1.5	6.1	2.4	4.0	2.0

は更に増大し、AM 10⁻³M 添加では焦性ブドウ酸蓄積が著しく増大するが、10⁻³M 添加の場合のグルコース分解に於ける量的関係は他の2菌と大差がない。

次に同じくこれら3種の培地に培養した菌体を用い、グリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸を基質としたO₂消費、並びにC₅糖蓄積、及びこれらに対するAMの影響を検討した。

結果は第21表の如くであり、対照培地培養菌体では阻害剤無添加では各基質いずれからも殆んどC₅糖はされず、AM添加により始めてその蓄積が認められるが、グルコース添加培地培養菌体では阻害剤無添加に於いてもC₅が蓄積し、AM添加により更に増大する。

又グルコース・α'-α'-チピリヂル添加培地培養菌体では阻害剤無添加に於ける各基質よりのC₅糖蓄積はグルコース添加培地培養菌体よりも更に大であり、AM添加に於けるC₅糖蓄積も他の2菌体よりも大である。

従つてグルコース添加培地、或はグルコース・α'-α'-チピリヂル添加培地に培養した菌はこれらC₃化合物よりのC₅糖生成能が増大して居り、特に後者ではその傾向が大であることがうかがわれる。

3. 好、嫌気的条件の影響

C₅糖生成に対する好、嫌気的条件の影響を検討するため、先づ好気培養（振盪培養）、及び嫌気培養（流動パラフィン重層）を行なつた菌体の各種基質に於けるO₂消費、C₅糖蓄積を比較した。

培地組成

第一リン酸カリ	0.35 g
第二リン酸ソーダ	2.5
食塩	3.0
硫酸マグネシウム	0.01
硫酸第一鉄	0.001
ペプトン	10.0
グルコース	2.0
水	1.0 l
pH	7.2

好気培養（振盪培養）では上記組成培地をコルベンに少量入れ、空気との接触をよくして振盪しながら培養し、嫌気培養では流動パラフィンを重層して培養した。培養時間は両培養法に於ける発育のphaseをlog phaseの中期に一致させるため好気培養では8時間、嫌気培養では20時間とした。菌体は

集菌、洗滌後緩衝液に浮遊して静止菌とし、ワールブルグ検圧計を用いて1時間のO₂消費量を測定した後、遠沈上清中のC₅糖蓄積量を定量した。

菌量は両菌体共20 mg/cup、基質濃度10⁻²M、AM濃度3×10⁻⁴Mとなるようにした。

結果は第22表の如くであり、好気培養菌体では阻

第22表 好気、嫌気培養菌のC₃化合物よりのC₅糖の蓄積
好 気 的 条 件

基質・阻害剤	好気培養菌		嫌気培養菌	
	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM	O ₂ 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM
グリセロリン酸	8.7	0	4.0	1.7
“ +AM	5.0	1.2	3.1	2.1
乳 酸	21.6	0	8.2	2.6
“ +AM	13.4	2.0	7.7	3.0
焦性ブドウ酸	18.7	0	7.0	2.0
“ +AM	12.2	1.1	5.6	2.5

AM : 3×10⁻⁴M

害剤無添加で各基質よりのC₅糖蓄積は見られず、AM添加によつて若干のC₅糖蓄積が認められるようになるのに対し、嫌気培養菌体では阻害剤無添加でグリセロリン酸を基質としてO₂消費4.0 μM、C₅糖蓄積1.7 μM、乳酸ではそれぞれ8.2、2.6 μM、焦性ブドウ酸ではそれぞれ7.0、2.0 μMとなつてかなりのC₅糖蓄積が見られ、AM添加によつて僅かながら増大する。

次にグルコースを基質とした場合の量的関係を見ると第23表の如くであり、好気培養菌体では阻害剤無添加でO₂消費21.6 μM、グルコース消費14.5 μM、分解産物は見られず、AM添加ではO₂消費17.7 μM、グルコース消費12.5 μM、分解産物としてのC₅糖蓄積2.1 μM、乳酸蓄積1.0 μM、無性ブドウ酸蓄積2.8 μMであり、嫌気培養菌体では阻害剤無添加でO₂消費15.2 μM、グルコース消費13.5 μMに対しC₅糖、乳酸、焦性ブドウ酸蓄積はそれぞれ2.4、0.9、3.0 μMとなつてC₅糖、焦性ブドウ酸の蓄積がかなり大である。又AM添加によるO₂消費、グルコース消費、分解産物蓄積への影響は好気培養菌体よりもやや小である。

次に好気培養菌体、及び嫌気培養菌体の嫌気的条件下に於けるグルコースの分解の量的関係、並びにこれに対するAMの影響を比較した。即ちワールブ

第 23 表 好気、嫌気培養菌のグルコース分解に於ける量的関係
好 気 的 条 件

菌	基質・阻害剤	O ₂ 消費 μM	グルコース 消費 μM	C ₅ 糖蓄積 μM	乳酸蓄積 μM	焦性ブ蓄積 μM
好気培養菌体	グルコース	21.6	14.5	0	0	0
	" +AM	17.7	12.5	2.1	1.0	2.8
嫌気培養菌体	グルコース	15.2	13.5	2.4	0.9	3.0
	" +AM	14.0	12.0	3.9	1.5	5.0

AM : 3×10⁻⁴M

ルグ検圧計を用い、主室に菌液、AM を入れ側室よりグルコースを M/100 となるように混入することとし、気層を空気の代わりに窒素ガスを充填して行なつた。

菌量はいずれも 20 mg/cup, AM は 3×10⁻⁴M, 反応時間 1 時間とした。

結果は第 24 表の如くであり、好気培養菌体では阻害剤無添加でグルコース消費 15.5 μM に対し、C₅

第 24 表 グルコース分解に於ける量的関係
嫌 気 的 条 件

菌	基質・阻害剤	グルコース消費	C ₅ 糖蓄積 μM	乳酸蓄積 μM	焦性ブ蓄積 μM
好気培養菌体	グルコース	15.5	3.0	20.2	0
	" +AM	14.0	3.0	20.0	0
嫌気培養菌体	グルコース	18.0	5.0	23.7	0
	" +AM	17.0	5.2	22.0	0

AM : 3×10⁻³M

糖蓄積 3.0 μM, 乳酸蓄積 20.2 μM となり、分解産物としては乳酸が多く次いで C₅ 糖であり、焦性ブドー酸蓄積は見られない。又 AM 添加によつてはグルコース消費はやや減少するが、分解産物蓄積には殆んど差異が見られない。

嫌気培養菌体ではグルコース消費 18.0 μM, C₅ 糖蓄積 5.0 μM, 乳酸蓄積 23.7 μM であり、グルコース消費に対する C₅ 糖蓄積の割合は好気培養菌体に於けるより大である。

AM の影響は好気培養菌体に於けると同様小である。

従つて前実験と比較すると好、嫌両培養菌体では共に好気条件よりも嫌気条件の方が C₅ 糖生成が大であり、且つ嫌気培養菌体は好気培養菌体よりも生成能が大であることがうかがわれる。

IV. 総括及び考案

前編に於いては *Sh. flexneri* などではグルコースよりの C₅ 糖の生成はグルコース→グルコン酸→C₅ 糖の最短経路を通るよりも、むしろ主としてグルコース→C₃ 化合物→C₅ 糖の迂迴した経路を通ること

が考えられることを記した。

一般の細菌ではグルコース→C₃ 化合物→焦性ブドー酸→酸化（一部酸化又は完全酸化）の如く焦性ブドー酸となり、更に次に酸化されて行く場合が多いが、この焦性ブドー酸以下の酸化を抑制するような環境に菌を置いた場合 C₃ 化合物→C₅ 糖の反応が円滑となるか否かについて *Sh. flexneri* 2a を供試菌として本編で検討した。

先づ普通寒天培養の静止菌につき、グルコースの酸化過程のうち焦性ブドー酸以下の酸化を阻害する亜硫酸を添加した場合の、グルコースの酸化分解に於ける量的関係を見ると、対照（亜硫酸無添加）に比しグルコースよりの焦性ブドー酸蓄積が増大すると同時に、C₅ 糖蓄積もかなり増大するのが認められる。

従つて亜硫酸添加により C₃ 化合物（焦性ブドー酸）の酸化が抑制されると C₃ 化合物→C₃→C₅ 糖の方向に反応が推移するものと見做される。

そこで次に培養条件を 2, 3 変えて培養した菌体の酵素的性状と C₅ 糖生成能の関係を比較検討する。

先づグルコースを加えた培地（普通寒天）に培養

した菌体と、対照培地（普通寒天）に培養したものとについて見ると、グルコース添加培地培養菌は一般に O_2 消費量が対照菌に比し小であり、特に焦性ブドウ酸を基質とした O_2 消費が小である。而して阻害剤無添加に於いてもグルコース分解産物としての焦性ブドウ酸の蓄積が大であり、同時に C_5 糖の蓄積もかなり見られ、AM 添加によつて更に増大する。

従つてグルコース添加培地培養菌は対照菌よりも C_5 糖生成能が大であることがうかがわれる。

グルコース・ α, α' -デヒドロキシ添加培地に培養したものは焦性ブドウ酸酸化能が更に小であり、同時にグルコースよりの C_5 糖生成能は更に大であることが認められる。

又グリセロリン酸、乳酸、焦性ブドウ酸などの C_3 化合物よりの C_5 糖生成能を比較すると、やはりグルコース添加培地培養菌は対照菌に比し大であり、更にグルコース・ α, α' -デヒドロキシ添加培地培養菌は大である。

前述の如く、グルコース添加培地に培養した菌体は焦性ブドウ酸以下の酸化能が減弱して居り、従つてエネルギーの獲得は主としてグルコース→焦性ブドウ酸の間で行なわれ、この間の反応は極めて活発であると考えられ、又 α, α' -デヒドロキシは Fe^{++} と錯塩を作ることによりこれを除去し、従つてこれを加えた培地では菌の焦性ブドウ酸酸化は他の培地に於けるより更に不円滑となると見做され、これらの培地に培養した菌は対照菌に比し C_3 化合物→ C_5 糖の反応は増大し、グルコース→ C_3 化合物→ C_5 糖の経路が円滑になつていと推定される。

次に好氣的並びに嫌氣的に培養した菌を静止菌とし、好氣的及び嫌氣的条件下での C_5 糖生成能を比較すると、一般に嫌氣的条件に於ける方が生成が大であり、又嫌氣的培養菌と好氣的培養菌とを比較すると前者の方が C_5 糖生成能が大である。即ち嫌氣的条件では当然焦性ブドウ酸以下の酸化は停止し、これに代つてグルコース→焦性ブドウ酸間の反応は極めて円滑となるためグルコース→ C_3 化合物→ C_5 糖の反応も円滑となるものと考えられる。

V. 結 言

Sh. flexneri 2a を供試菌とし、培養条件と C_5 糖生成能の関係を検討して次の結果を得た。

1. グルコース添加培地に培養した菌体はグルコースの酸化に於ける焦性ブドウ酸以下の酸化能が減弱していると同時にグルコース、 C_3 化合物よりの C_5 糖生成能が大である。
2. グルコース、 α, α' -デヒドロキシ添加培地に培養した菌体では焦性ブドウ酸以下の酸化能は更に衰弱しており、 C_5 糖生成能は更に大である。
3. 嫌氣的条件では好氣的条件に於けるより、グルコースよりの C_5 糖生成は大である。
4. これらのことから焦性ブドウ酸の酸化が不円滑となるとグルコース→ C_3 化合物→ C_5 糖の反応は活発となると見做される。

参 考 文 献

- 1) Lipmann, F.: Nature, **138**, 588 (1936).
- 2) Warburg, O. & Christian, W.: Biochem. Z., **242**, 287 (1937).
- 3) Dickens, F.: Nature, **138**, 1057 (1936).
- 4) Cohen, S.S. & Mc Nair, Scott, D.B.: J. Biol. Chem., **188**, 509 (1951).
- 5) Hough & Jones: Nature, **167**, 180 (1951).
- 6) Marmur, J. & Schlenk, F.: Arch. Biochem. Biophys., **31**, 154 (1951).
- 7) 赤堀, 上原: 日化, **73**, 311, 411 (1952).
- 8) Umbreit, et al.: Manometric Techniques. (1949).
- 9) 標準生化学実験, 114.
- 10) 標準生化学実験, 18.
- 11) 標準生化学実験, 35.
- 12) 標準生化学実験, 36.

Studies on Pentose Formation by Bacteria

Part I Pentose Formation from Several Kinds of Carbon Sources

By

Kakushi HONMATSU

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Sakae MURAKAMI)

Using *St. aureus*, *sh. flexneri* 2a and *Sal. typhi* 57, the author carried out the studies on pentose formation from glucose or other substrates. The following results were obtained.

1) A fairly large amount of pentose was formed and accumulated from glucose, gluconate, glycerophosphate, lactate or pyruvate in every strain of the bacteria tested in the presence of AM or DNP in concentrations of $3 \times 10^{-4}M$ and $10^{-3}M$.

2) Pentose was supposed to be formed from glucose through gluconate in the case of *St. aureus*, but was probably formed through C_3 -compound in the case of *Sh. flexneri* 2a and *Sal. typhi* 57.

3) It was postulated that AM and DNP inhibited the break-down of pentose to C_3 -compound; however, did not inhibit the synthesis of pentose from C_3 -compound.

Part II Effect of Changes in Culture Condition on Pentose Formation

With the use of *Sh. flexneri* 2a as test organism, the author investigated the effect of changes in culture condition on pentose formation and obtained the following results.

1) The bacterial cells cultured on glucose added media showed further oxidation of pyruvate to a less extent and was able to produce pentose to a greater extent from glucose and C_3 -compound in glucose metabolism.

2) The bacterial cells cultured on glucose and α , α -dipyridyl added media was more inferior in the further oxidation of pyruvate, and was more promoted pentose formation rate.

3) Pentose was produced to a greater extent under anaerobic condition than under aerobic condition.

4) From these results, it could be stated that the suppression of pyruvate oxidation accelerated the reaction rate which produced pentose from glucose through C_3 -compound.
