576.8.095.322 : 547.456

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
I. 緒　言
II. 実験材料及び実験方法
III. 実験成績
1. C_6 化合物よりの C_5 糖の生成
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
V. 結　言
第2編　五炭糖の生成に対する培養条件の影響
I. 緒　言
II. 実験材料及び実験方法
III. 実験成績
1. グルコースよりの C_5 糖生成に対する亜砒酸の影響
2. 培地組成の影響
3. 好，嫌気的条件の影響
IV. 総括及び考案
V. 結　言
参考文献

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（C_5 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 C_3 化合物と C_2 化合物，或は C_3 化合物との縮合である．即ち Jones & Hough[5)] 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 C_5 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 & Schlenk[6)] は Micrococcus よりの酵素液により，果糖—1.6二燐酸とグリコールアルデヒドから C_5 糖を生成することを認め，これは糖果—1.6二燐酸より生成した三炭糖燐酸とグリコ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ヂオキシマレイン酸とから筋肉の作用により C_5 糖を生成することを認め，これはヂ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ス—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 C_5 糖生成過程も示複雑であるが，筆者は2，3病源菌の生菌体による C_5 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 C_5 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 2a, 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 燐酸緩衝液（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．

O_2 消費量の測定： ワールブルグ検圧計を用い常法[8]に従つた．

基質，阻害剤（オーレオマイシン，2.4—ヂニトロフエノール）は何れも市販品を蒸溜水に溶解し，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．

C_5 糖の定量： C_5 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—ヂ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—ヒドロキシヂフエニルを用いる比色法[11]によつた．

焦性ブドー酸の定量： 2.4—ヂニトロフエニルヒドラヂンを用いる比色法[12]によつた．

Ⅲ. 実 験 成 績

1. C_6 化合物よりの C_5 糖の生成

a. グルコン酸

C_5 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 C_5 糖は更に酸化分解されることが予想される．然しこの際 C_5 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，C_5 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—ヂニトロフェノール（DNP と略す）を選び，先づグルコース，グルコン酸，C_5 糖（リボース）を基質とした O_2 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^{-2}M，AM 及び DNP は，10^{-4}M，3×10^{-4}M，10^{-3}M 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 O_2 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^{-4}M で阻害率は15%，10^{-3}M では48%，グルコン酸を基質とした場合には 3×10^{-4}M，10^{-3}M 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^{-4}M，10^{-3}M 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．

第1表 AM の O_2 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

又 DNP についても第2表の如く，リボースを基質とした場合 3×10^{-4}M では阻害率54%，10^{-3}M 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．

第2表 DNP の O_2 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

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 O_2 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 2g/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 3×10^{-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%，68%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育菌でのグルコースを基質とした場合の AM 3×10^{-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3表 AM の O_2 消費阻害

Sh. flexnori 2a 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	347	/
〃 +AM 10^{-4}M	352	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	291	16
〃 + 〃 10^{-3}M	173	50
グルコン酸	397	/
〃 +AM 10^{-4}M	405	0
〃 + 〃 3×10^{-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 μl	阻害率%
グルコース	320	/
〃 +AM 10^{-4}M	336	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	256	20
〃 + 〃 10^{-3}M	163	49
リボース	262	/
〃 +AM 10^{-4}M	263	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	178	32
〃 + 〃 10^{-4}M	102	68

第4表 DNP の O_2 消費阻害

O_2 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 μl	阻害率%
グルコース	347	/
〃 +DNP 10^{-4}M	356	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	274	21
〃 + 〃 10^{-3}M	163	53
グルコン酸	397	/
〃 +DNP 10^{-4}M	406	0
〃 + 〃 3×10^{-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 μl	阻害率%
グルコース	320	/
〃 +DNP 10^{-4}M	337	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	243	24
〃 + 〃 10^{-3}M	147	54
リボース	262	/
〃 +DNP 10^{-4}M	280	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	165	37
〃 + 〃 10^{-3}M	60	77

第5表 AM の O_2 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	/
〃 +AM 10^{-4}M	396	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	316	16
〃 + 〃 10^{-3}M	248	34
グルコン酸	405	/
〃 +AM 10^{-4}M	420	0
〃 + 〃 3×10^{-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 ul	阻害率%
グルコース	342	/
〃 +AM 10^{-4}M	360	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	280	18
〃 + 〃 10^{-3}M	215	37
リボース	217	/
〃 +AM 10^{-4}M	227	0
〃 + 〃 3×10^{-4}M	154	29
〃 ++10^{-3}M	91	58

第6表 DNP の O_2 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 2 a 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 C_5 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 C_6 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^{-4}M，10^{-3}M）を添加し，更にグルコン酸（10^{-2}M）を加えて1時間振盪して O_2 消費量を測定した後遠沈し，上清中の C_5 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 2 a, 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 O_2 消費 9.8 μM で，C_5 糖蓄積は認められず，AM 3×10^{-4}M 添加では O_2 消費，C_5 糖蓄積はそれぞれ7.5, 2.6 μM

第7表 C_5 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^{-3}M 添加ではそれぞれ4.9, 2.9 μM である．又 DNP 3×10^{-4}M 添加ではそれぞれ7.1, 2.0 μM，10^{-3}M 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 C_5 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 O_2 消費 13.2 μM，C_5 糖蓄積はなく，AM 3×10^{-4}M 添加では O_2 消費 11.1 μM，C_5 糖蓄積3.6 μM，10^{-3}M 添加ではそれぞれ 6.3, 3.8 μM となり，又 DNP 3×10^{-4}M 添加ではそれぞれ 10.4, 3.0μM，10^{-3}M では 8.2, 3.6 μM となつて，やはり AM，DNP 添加により C_5 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 C_5 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 C_5 糖蓄積は増大し，且つ O_2 消費に対する C_5 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^{-4}M 添加の場合について見ると，グルコン酸を基質とすると O_2 消費 15.6 μM，C_5 糖蓄積 3.0 μM であるのに対し，グルコースでは O_2

第8表 C_5 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

基質・阻害剤 ＼ 定量値 μM	O_2 消費	C_5 糖蓄積
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

第9表 C_5 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

基質・阻害剤 ＼ 定量値 μM	O_2 消費	C_5 糖蓄積
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^{-1}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

消費 13.8, C_5 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 C_5 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 O_2 消費に対する C_5 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^{-2}M, AM, DNP はそれぞれ 3×10^{-4}M, 10^{-3}M 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 O_2 消費量を測定した後, 遠沈上清についてグルコース消費, C_5 糖, 乳酸, 焦性ブドー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 O_2 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-M 添加では O_2 消費 11.1 μM, グルコース消費 10.0 μM に対し, C_5 糖蓄積 3.8 μM, 乳酸蓄積 1.1 μM, 焦性ブドー酸蓄積 0.8 μM となつて, かなりの C_5 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

基質・阻害剤 ＼ 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
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

性ブドー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_5 糖, 乳酸, 焦性ブドー酸蓄積は 3×10^{-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つた.

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

基質・阻害剤 ＼ 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
グルコース	18.0	13.5	0	0	0.4
〃 +AM 3×10^{-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 3×10^{-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 μM であり, 分解産物蓄積は殆んど認められず, AM 3×10^{-4}M 添加では O_2 消費 13.7 μM, グルコース消費 11.5 μM 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_5 糖, 乳酸, 焦性ブドー酸の蓄積はそれぞれ 3.8, 1.2, 2.6 μM となつて C_5 糖蓄積が最も多く, 次いで焦性ブドー酸である.

AM 10^{-3}M 添加では O_2 消費 9.0 μM 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_5 糖, 乳酸, 焦性ブドー酸の蓄積はそれぞれ 3.2, 2.6, 9.8 μM であつて, 焦性ブドー酸の蓄積は著しく大となり, 次いで乳酸, C_5 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

基質・阻害剤 ＼ 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
グルコース	18.4	15.5	0	0	0.3
〃 +AM 3×10^{-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 3×10^{-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, 3×10^{-4}M では C_5 糖蓄積 3.0 μM に対し, 乳酸, 焦性ブドー酸著積はそれぞれ 2.5, 3.0 μM であり, 10^{-3}M では C_5 糖蓄積 2.7 μM に対し, 乳酸, 焦性ブドー酸蓄積はそれぞれ 3.0, 10.5 μM となり焦性ブドー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 (3×10^{-4}M) では C_5 糖蓄積が大であり, 乳酸, 焦性ブドー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_5 糖蓄積は大差なく, 他の分解産物特に焦性ブドー酸蓄積が増大する.

2. C_3 化合物その他よりの C_5 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_5 糖が生成し, 且つ AM 添加に於ける O_2 消費に対する C_5 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_5 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_5 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燐酸，乳酸，焦性ブドー酸などの C_3 化合物，その他サク酸，コハク酸よりの C_5 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 AM (3×10^{-4}M，10^{-3}M) 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燐酸，乳酸，焦性ブドー酸を基質とした O_2 消費，C_5 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 C_3 化合物よりの C_5 糖蓄積
St. anreus 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O_2 消費 μM	C_5 糖蓄積 μM
グリセロ燐酸	10.3	0
〃 ＋AM 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
焦性ブドー酸	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 C^5 糖蓄積は見られないが，AM 添加により C_5 糖蓄積は増大し，AM 3×10^{-4}M 添加ではグリセロ燐酸を基質として O_2 消費 8.6 μM，C_5 糖蓄積 2.3 μM，乳酸ではそれぞれ 9.5 μM，2.8 μM，焦性ブドー酸ではそれぞれ 7.8 μM，1.7 μM であり，何れもかなりの C_5 糖蓄積が認められる．

而してグリセロ燐酸，或は乳酸を基質とした場合と，焦性ブドー酸の場合とを比較すると，O_2 消費に対する C_5 糖蓄積はグリセロ燐酸，乳酸を基質とした場合の方が大である．

Sh. flexneri 2 a では第14表の如くであり，阻害剤無添加ではグリセロ燐酸（酸化されない），焦性ブドー酸からは C_5 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 C_5 糖蓄積は増大し，3×10^{-4}M に於いてはグリセロ燐酸では O_2 消費 6.6 μM，C_5 糖蓄積 2.0 μM，乳酸ではそれぞれ 13.3 μM，2.8 μM，焦性ブドー酸ではそれぞれ 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 C_5 糖蓄積は増大し，且つ焦性ブドー酸を基質とした場合に

第14表 C_3 化合物よりの C_5 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
グリセロ燐酸	7.8	0
〃 ＋AM 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
焦性ブドー酸	17.2	0
〃 ＋AM 3×10^{-4}M	9.1	1.8
〃 ＋ 〃 10^{-3}M	5.2	1.6

第15表 C_3 化合物よりの C_5 糖蓄積
Sal. typbi 57 普通寒天培養菌

基質・阻害剤	O_2 消費 μM	C_5 糖蓄積 μM
グリセロ燐酸	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
焦性ブドー酸	17.4	0.3
〃 ＋AM 3×10^{-4}M	10.4	1.3
〃 ＋ 〃 10^{-3}M	5.7	1.0

は O_2 消費に対する C_5 糖蓄積の割合はやや小である．

次に C_2 化合物であるサク酸よりの C_5 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 2 a は普通寒天培養菌体はサク酸を基質として O_2 消費を示さないので，サク酸ソーダを 2 g/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 C_5 糖蓄積は認められず，AM 添加に於いてもかなりの O_2 消費は見られるに拘らず C_5 糖蓄積は極めて小であり，St. aureus では AM 3×10^{-4}M 添加で C_5 糖蓄積 0.3 μM，Sh. flexneri 2 a では 0.7 μM，Sal. typhi 57 では

第16表 サク酸よりの C_5 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 C_5 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（C_4 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 O_2 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 C_5 糖蓄積は見られないが AM 3×10^{-4}M 添加に於いては St. aureus では O_2 消費 8.2 μM，C_5 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 C_5 糖蓄積は見られる．

然し O_2 消費に対する C_5 糖蓄積の割合はグリセロ燐酸，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→C_5 糖→焦性ブドー酸→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 C_5 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 C_5 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^{-4}M～10^{-3}M の AM 或は DNP を添加するとかなりの量の C_5 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 C_5 糖の蓄積を見ると，やはり 3×10^{-4}M～10^{-3}M AM，DNP の存在下にかなりの C_5 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 C_5 糖蓄積が認められ，乳酸，焦性ブドー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^{-4}M AM，DNP 添加では C_5 糖蓄積は大となり，他の分解産物，乳酸，焦性ブドー酸蓄積も若干増大し，10^{-3}M AM，DNP 添加では C_5 糖蓄積は 3×10^{-4}M の場合と大差ないかやや小であるが，焦性ブドー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 C_3 化合物（乳酸，焦性ブドー酸）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 C_5 糖生成と, グルコン酸よりの C_5 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 O_2 消費は小であるに拘らず, C_5 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 C_5 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 C_3 化合物となり, これが縮合的に結合して C_5 糖が生成する経路が予想される.

そこでグリセロ燐酸, 乳酸, 焦性ブドー酸, サク酸, コハク酸などからの C_5 糖の蓄積, 及びこれに対する AM の影響を見ると, グリセロ燐酸, 乳酸, 焦性ブドー酸などの C_3 化合物からは AM の添加に於いてかなりの C_5 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→C_5 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ことから, C_5 糖の生成は主としてグルコース→C_3 化合物→C_5 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 C_5 糖→C_3 化合物の分解反応 (酸化) は阻害するが, C_3 化合物→C_5 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 C_5 糖生成について検討して次の成績を得た.

1. 各菌共 3×10^{-4}M～10^{-3}M AM, 或は DNP の存在に於いて, グルコース, グルコン酸, グリセロ燐酸, 乳酸, 焦性ブドー酸よりかなりの C_5 糖を生成蓄積する.

2. St. aureus ではグルコース→グルコン酸→C_5 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→C_3 化合物→C_5 糖の経路により C_5 糖が生成するものと推定される.

3. AM, DNP は C_5 糖→C_3 化合物の分解反応は阻害するが, C_3 化合物→C^5 糖の合成反応は阻害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—ヂニトロフェノールの存在下で生菌体がグルコースより, C_5 糖をかなり蓄積することを認め, 又同時にグリセロ燐酸, 乳酸, 焦性ブドー酸などの C_3 化合物より C_5 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 C_5 糖生成は主としてグルコース→C_3 化合物→C_5 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→C_3 化合物の反応を活発にし, 且つ C_3 化合物 (特に焦性ブドー酸) 以下の酸化を抑制したならばグルコース→C_3 化合物→C_5 糖の反応が促進されるのではないかと予想される.

そこで本編では培養条件を2, 3変えて焦性ブドー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 C_5 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 燐酸緩衝液 (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.

O_2 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溜水に溶解し, 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気的とする場合には，容器を検圧計に取り付けた後窒素ガスを 1～2 l 通じた．

C_5 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，焦性ブドー酸の定量： 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 C_5 糖生成に対する亜砒酸の影響

グルコースの酸化分解に於ける焦性ブドー酸以下の酸化反応を抑制する亜砒酸を添加することにより，C_5 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/cup）に亜砒酸（10^{-3}M）を添加し，更にグルコースを加えて1時間振盪して O_2 消費量を測定した後；遠沈上清中のグルコース消費量，C_5 糖，乳酸，焦性ブドー酸蓄積量を測定した．尚対照として亜砒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，亜砒酸無添加では O_2 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，亜砒酸添加で

第 18 表 グルコースより C_5 糖生成に対する亜砒酸の影響

基質・阻害剤 ＼ 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
グルコース	17.4	13.0	0	0	0.2
〃 ＋亜砒酸 10^{-3}M	8.2	10.5	2.7	1.6	13.8

は O_2 消費 8.2 μM，グルコース消費 10.5 μM，C_5 糖，乳酸，焦性ブドー酸蓄積はそれぞれ 2.7，1.6，13.8 μM となり，焦性ブドー酸以下の酸化が抑制されると C_5 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 C_5 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 O_2 消費，C_5 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ー酸以下の酸化を抑制すると考えられる α,α—ヂピリヂル（ 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

第一燐酸カリ	0.35 g
第二燐酸ソーダ	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，グリセロ燐酸，乳酸，焦性ブドー酸，サク酸，コハク酸を基質とした O_2 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 O_2 消費

O_2 消費 μl

	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'-ヂピリヂル添加培地培養菌
—	47	38	35
グルコース	365	286	235
グリセロ燐酸	124	94	88
乳酸	387	240	208
焦性ブドー酸	275	143	101
サク酸	50	41	37
コハク酸	262	216	183

質無添加の O_2 消費（endogenous respiration）47 μl であり，グルコース，乳酸，焦性ブドー酸を基質として著明の O_2 消費を示し，グリセロ燐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 O_2 消費はやや小であり，特に乳酸，焦性ブドー酸を基質とした O_2 消費が低下している．

又グルコース・α,α'ーヂピ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，焦性ブドー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，焦性ブドー酸蓄積の量的関係，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，グルコース消費 13.5 μM，分解産物蓄積は殆んど見られず，AM 3×10^{-4}M 添加では C_5 糖蓄積 3.7 μM とかなり増大し，焦性ブドー酸，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ー酸の蓄積が著しく増大する．

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 3×10^{-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 3×10^{-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'-ヂピ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＋ 3×10^{-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

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，焦性ブドー酸蓄積はそれぞれ 2.6, 0.6, 3.7 μM となつて，対照培地培養菌に比し阻害剤無添加に於ける分野産物，特に焦性ブドー酸，C_5 糖の蓄積が大である．

AM 3×10^{-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，焦性ブドー酸蓄積はそれぞれ 3.9, 1.4, 4.0 μM で，C_5 糖蓄積は対照培地培養菌体の AM 3×10^{-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，焦性ブドー酸蓄積はそれぞれ3.6, 2.0, 9.4μM で，焦性ブドー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'ーヂピ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，焦性ブドー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 3×10^{-4}M 添加でよこれら

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'-ヂピ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
グリセロ燐酸	5.7	0	5.0	1.1	4.2	1.8
〃 ＋AM 3×10^{-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 3×10^{-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
焦性ブドー酸	14.3	0	13.0	2.0	7.4	2.2
〃 ＋AM 3×10^{-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^{-3}M 添加では焦性ブドー酸蓄積が著しく増大するが，10^{-3}M 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，グリセロ燐酸，乳酸，焦性ブドー酸を基質とした O_2 消費，並びに C_5 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 C_5 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 C_5 が蓄積し，AM 添加により更に増大する．

又グルコース・α'α'—ヂ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 C_5 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 C_5 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'—ヂピリヂル添加培地に培養した菌はこれら C_3 化合物よりの C_5 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

C_5 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 O_2 消費，C_5 糖蓄積を比較した．

培地組成

第一燐酸カリ	0.35 g
第二燐酸ソーダ	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，洗滌後緩衝液に浮游して静止菌とし，ワールブルグ検圧計を用いて1時間の O_2 消費量を測定した後，遠沈上清中の C_5 糖蓄積量を定量した．

菌量は両菌体共 20 mg/cup，基質濃度 10^{-2}M，AM 濃度 3×10^{-4}M 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害剤無添加で各基質よりの C_5 糖蓄積は見られず，AM 添加によつて若干の C_5 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燐酸を基質として O_2 消費 4.0 μM，C_5 糖蓄積 1.7 μM，乳酸ではそれぞれ 8.2，2.6 μM，焦性ブドー酸ではそれぞれ 7.0，2.0 μM となつてかなりの C_5 糖蓄積が見られ，AM 添加によつて僅かながら増大する．

第22表 好気，嫌気培養菌の C_3 化合物よりの C_5 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
グリセロ燐酸	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
焦性ブドー酸	18.7	0	7.0	2.0
〃 ＋AM	12.2	1.1	5.6	2.5

AM：3×10^{-4}M

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 O_2 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 O_2 消費 17.7 μM，グルコース 12.5 μM，分解産物としての C_5 糖蓄積 2.1 μM，乳酸蓄積 1.0 μM，無性ブドー酸蓄積 2.8 μM であり，嫌気培養菌体では阻害剤無添加で O_2 消費 15.2 μM，グルコース消費 13.5 μM に対し C_5 糖，乳酸，焦性ブドー酸蓄積はそれぞれ 2.4，0.9，3.0 μM となつて C_5 糖，焦性ブドー酸の蓄積がかなり大である．又 AM 添加による O_2 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^{-4}M

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^{-4}M，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，C_5 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 C_5 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．

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^{-3}M

嫌気培養菌体では グルコース消費 18.0 μM，C_5 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 C_5 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的条件よりも嫌気的条件の方が C_5 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 C_5 糖の生成はグルコース→グルコン酸→C_5 糖の最短経路を通るよりも，むしろ主としてグルコース→C_3 化合物→C_5 糖の迂廻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→C_3 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 C_3 化合物→C_5 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砒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（亜砒酸無添加）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，C_5 糖蓄積もかなり増大するのが認められる．

従つて亜砒酸添加により C_3 化合物（焦性ブド酸）の酸化が抑制されると C_3 化合物→C_3→C_5 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 C_5 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，特に焦性ブドー酸を基質とした 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ー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'—ヂピリヂル添加培地に培養したものは焦性ブドー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．

又グリセロ燐酸，乳酸，焦性ブドー酸などの 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'—ヂピリヂル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ー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→焦性ブドー酸の間で行なわれ，この間の反応は極めて活発であると考えられ，又α,α'—ヂピリヂルは 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ー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ると推定される．

次に好気的並びに嫌気的に培養した菌を静止菌とし，好気的及び嫌気的条件下での C_5 糖生成能を比較すると，一般に嫌気的条件に於ける方が生成が大であり，又嫌気的培養菌と好気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．即ち嫌気的条件では当然焦性ブドー酸以下の酸化は停止し，これに代つてグルコース→焦性ブドー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ー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'—ヂピリヂル添加培地に培養した菌体では焦性ブドー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. 嫌気的条件では好気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ー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

Depart ment 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 accemulated from glucose, gluconate, glycerophosphate, lactate or pyruvate in every strain of the bacteria tested in the presence of AM or DNP in concentrations of $3x10^{-4}$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-comound 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 obsained 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 suppresion of pyruvate oxidation accelerated the reaction rate which produced pentose from glucose through C_3-compound.