

細菌の合成培地に関する研究

第一編

窒素源添加平板培地での細菌発育状態の検討

岡山大学医学部微生物学教室(主任:村上 栄教授)

仲 西 弘 孝

〔昭和33年10月1日受稿〕

緒 言

細菌の培養に当って基礎になる培地として化学的に組成のはつきりした物質か、或は組成ははつきりしなくとも、できるだけ不純物の少い物質を選ぶことが、細菌の代謝関係の研究を進める上に極めて重要であることは当然である。

1933年 Knight & Fildes¹⁾ は *Clostridium sporogenes* に対して、酵母から抽出した物質が無蛋白培地にて微量で発育を促進することを認めて、この物質を *Sporogenes vitamin* と名づけたが、以来微量で細菌の発育を促進するところの発育素の研究が盛になり、それにつれて合成培地の研究、細菌のアミノ酸要求の研究も多くなってきた。

Fildes, Gladstone & Knight (1933)²⁾ は *E. typhosa* について、Fildes(1935)³⁾ は *B. botulinus* について、又 Knight(1937)⁴⁾⁵⁾ は *Staphylococcus aureus* についてそれぞれアミノ酸を主体とした合成培地を発表した。以来各種の細菌に対する合成培地が工夫され、本邦に於ても桑原⁶⁾⁷⁾⁸⁾¹⁵⁾、水野⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、鷹取¹²⁾¹³⁾、新井¹⁴⁾ 等によつて殆どすべての病原菌に対する合成培地の検討がなされている。

一般に今日まで行はれた研究は多くの種類のアミノ酸より成る合成培地よりある種のアミノ酸を抜き取る方法にて、夫々の細菌に適した合成培地にて比較的簡単なものを求める方式が採られた。著者は葡萄球菌の2株、サルモネラ菌属7株、赤痢菌属2株に対して個々のアミノ酸を中心とした窒素源の発育に対する影響を観察した結果を基礎とし、次に二種、更に数種以上の窒素源を加える方法を試みることは今後の研究に便なる合成培地の改良に役立つものと考え、窒素源19種類を選んで実験を行い検討してみた。

第1章 実験材料及び実験方法

第1節 実験材料

1) 使用菌株：当教室保存の *Staphylococcus aureus* (寺島株) *Staphylococcus albus*, *Sal. enteritidis*, *Sal. typhi* 57 S, *Sal. typhi* 57 R, *Sal. paratyphi* A. 同 B, 同 C, *Sal. typhi murium*, *Sh. sonnei* (大原菌) *Sh. flexneri* 2a (駒込 Birt) の各菌を夫々普通寒天に継代して純化を計り、使用時には数代の培養を行つた後使用した。

2) 使用培地

寒 天	18%~20%
Na ₂ HPO ₄	2.5 gr.
KH ₂ PO ₄	0.35 gr.
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 gr.
NH ₄ Cl	0.5 gr.
Fe SO ₄	0.001 gr.
Mg SO ₄	0.001 gr.
Glucose	1.0 gr.
Pepton	0.4 gr.
蒸 溜 水	1000 ml.

上記の物質を煮沸溶解して pH 7.2 に調整し、100°C で30分間3回間歇滅菌する。寒天及び葡萄糖は特に純度の高いものを選んだ。本実験に加えたペプトンの量決定に当つては、0.1 gr~1.0 gr の間について各種の実験を行い 0.4 gr. 程度が発育状況の観察に好条件なることを確め得た。

3) 窒素源：市販の各種窒素源を上記の培養基より glucose と寒天及び Pepton を除いた液体に 2 mg/ml の割に溶解し、これを幅 0.5 cm 長さ 1.5 cm に切つた上質の濾紙に吸収させたものを平板上に置いた。即ち paper disc method の術式を応用した方法である¹⁶⁾。

第2節 実験方法

第1節に記した培地を固まらない範囲でなるべく低温に冷却した後に使用の菌を、菌量 0.24 γ /ml (St. albus のみは 2.4 γ /ml) 混和し固ませた平板の表面に、各種窒素源を 2 mg/ml の割に溶かした液を吸収させた濾紙を置き、37°C に置き、24時間後、48時間後とに観察した。

最初の実験は窒素源 1 種宛を吸収した濾紙を用い、(第1表) 第2の実験は窒素源 2 種を適宜組合せて溶かした液を 1 枚の濾紙に吸収させたものを用いた。(第2表~第12表)

第2章 実験成績

第1節 窒素源 1 種宛を用いた場合

1 個の平板培地上に窒素源を加えた液を吸収させた濾紙と、窒素源を加えない液を吸収させた濾紙とを置き、菌の発育状況を比較観察するに、発育が窒素源によつて促進される場合には当該窒素源を吸収した濾紙の周囲にて対照の場合よりも集落の大きいもの、又は集落が多数認められ一帯に溷濁度を増す。又発育が抑制されて透明度を増す場合も僅かに認められたが著明なものは認めなかつた。これらの結果を第1表に示した。

窒素源の略号第1表以下同じ

DL-tryptophan	Try.	L-lysine	Lys.
DL-valine	Val.	DL-methionine	Met.
L-tyrosine	Tyr.	glycine	Gly.
creatine	Cre.	DL-leucine	deu.
L-aspartic acid	Asp.	L-histidine	His.
DL-alanine	Ala.	L-cystine	Cys.
L-proline	Pro.	L-arginine	Arg.
DL-phenylalanine	Phe.	DL-threonine	Thr.
DL-serine	Ser.	L-glutamic acid	Glu.
nicotinic acid	Nic.		

Staph. aureus では Try. Cys. Pro. に於ては幾分発育が増強され、Nic. に於ては著明な発育を見た。

Staph. albus では、Asp. His. Cys. にて少々強く発育し、Nic. の場合発育は強く促進した。

Sal. enteritidis は Try. Ala. Tyr. Ser. にて幾分増強され Cys. Nic. にて強度に増強した。

Sal. typhi 57S は Cys. Thr. 及び Glu. にて多少の促進があり、Nic. で強く促進した。

Sal. typhi 57R では Gly. Cys. Thr. で幾分増強し、Nic. では全く増殖に影響を認めなかつた。

第1表

窒素源	菌株										
	St. aureus	St. albus	Sal. ent.	Sal. typhi 57(S)	Sal. typhi 57(R)	Sal. paratyphi A	Sal. paratyphi B	Sal. paratyphi C	Sal. typhi murium	Sh. sonnei 大原	Sh. flex 2a 駒込 BIII
Try.	+	-	+	±	+	-	±	±	±	-	-
Lys.	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Val.	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	+
Met.	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	±
Try.	-	-	±	-	-	-	-	-	±	-	+
Gly.	-	-	±	±	+	±	±	-	-	+	-
Cre.	-	-	±	-	-	-	±	-	±	-	±
Leu.	+	-	-	±	±	±	±	+	-	-	+
Asp.	+	+	-	±	-	±	-	±	±	±	+
His.	-	+	±	-	-	±	+	±	+	±	±
Ala.	-	-	+	±	-	±	+	+	+	+	-
Cys.	+	+	±	+	+	-	+	+	-	±	±
Pro.	+	-	-	-	-	-	-	±	±	-	±
Arg.	±	-	±	-	-	-	-	±	-	±	-
Phe.	-	±	±	±	-	-	±	-	-	±	-
Thr.	±	-	+	+	+	+	±	-	±	±	±
Ser.	±	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Glu.	±	-	+	-	±	-	-	±	±	±	±
Nic.	±	±	±	-	-	±	-	±	±	±	+

Sal. paratyphi A では Gly. Ala. で相当強く増強し Thr. で多少増強した。

Sal. paratyphi B では His. Cys. のみで多少増殖するを認めた。

Sal. paratyphi C に於ては、Leu. Ala. Cys. で幾分促進され、His. のみ相当強く促進した。

Sal. typhi murium は His. Ala. で僅かに増強し Nic. では相当強く促進した。

Sh. sonnei は Gly. Ala. Ser. で少々促進され、Glu. Nic. では著明な発育をした。

Sh. flex 2a の場合は Val. Met. Leu. Asp. Ser. Nic. で少々増強し、Cys. に於て最も強く発育した。

第2節 窒素源 2 種混合した場合

第1節の1種の窒素源を使用した場合と同様濾紙の周辺に於て、大きい集落又は多数の集落を生じた場合を促進と認めて、第2表以下第12表までの成績を得た。

Staph. aureus (寺島株) に於て、(第2表) Cys は単独にても発育を幾分促進したが、Met. His.

第2表 寺島株に於ける窒素2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys.	卅	±	-	±	+	-	-	-	-	-	-
Met.	+	+	-	±	卅	±	-	-	-	-	-
Gly.	-	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-
Asp.	-	-	-	-	卅	-	±	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-
Cys.	卅	卅	±	卅	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Phe. Glu と混合した場合に相当強く発育を促進し、Gly. 及び Nic. では著明な促進作用を現わした。

Staph. albus にて (第3表) Cys. Ser. の混合に於て少々促進作用を見たが、他は何れも Nic. の存在の場合に限り Lys. Met. Phe. の混合せる時強く発育促進を認めた。

第3表 Staphyrococcus albus に於ける窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-
Lys.	卅	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
Met.	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gly.	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Asp.	±	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cys.	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sal. enteritidis に於ては (第4表) Nic. に夫々 Gly. His. Glu. が混合した場合は相当強く発育を促進したが、他は Gly. +Glu. Gly. +Phe. Asp. +Ala. Cys. +Ses. の場合に少々発育促進を認めた。

Sal. typhi 57S に於ては、(第5表) Nic. は Try. Lys. Gly. Cys. Phe. Glu. 何れと混じても発育を強く促進する。Glu. は Lys. と混じて僅かに促進し、Gly. Cys. と混じて強く促進する。Phe. は Cys. と、Cys. Lys. Gly. Asp. His. Ala と

第4表 Sal. enteritidis に於ける窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Aap.	Met.	Lys.	Try.
Try.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Met.	±	±	-	-	-	±	-	-	-	-	-
Gly.	卅	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Asp.	±	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
His.	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	±	-	±	-	-	-	-	-	-
Cys.	-	-	+	±	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第5表 Sal. typhi 57S に於ける窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	卅	-	-	-	-	-	卅	±	±	-	±
Lys.	卅	+	-	-	卅	-	-	±	±	-	-
Met.	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-
Gly.	卅	卅	-	-	卅	-	-	±	-	-	-
Asp.	-	±	-	-	卅	-	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-
Cys.	卅	卅	-	卅	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

混じて強く発育促進作用を示す。又 His. と Try. の混合せる場合も強く発育を認める。

Sal. typhi 57 R に於ては、(第6表) Try. + Cys. の場合に発育最も良く、Cys. +Lys. Cys. + Gly. Cys. +Glu. Cys. +Phe. Cys. +Nic. の場合も強く発育を示した。尚 Gly. +Met. の場合も少々発育を促進する。

Sal. paratyphi A に於ては、(第7表) Cys. が Try. Lys. Met. Asp. His. Ala. Ser. Phe. と混じた場合強く発育は促進され、Cys. +Gly. Glu. +Phe. の場合僅かに促進作用を認める。

Sal. paratyphi B の場合は、(第8表) Cys. + Ser. の混合で僅かに促進を見た以外、他の組合せでは明らかな促進作用を認めなかつた。これは基礎培地で可成よく発育する菌では添加効果が著明に現

第6表 *Sal. typhi* 57R に於ける窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	-	-	-	-	++	+	+	+	+	-	-
Lys.	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Met.	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
Gly.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Asp.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Ala.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cys.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第7表 *Sal. paratyphi* A における窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Gly.
Try.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Lys.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Met.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Gly.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Asp.	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Cys.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第8表 *Sal. paratyphi* B に於ける窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Met.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Gly.	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Asp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Cys.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

われないことによる。

Sal. paratyphi C に於ては、(第9表) Nic. が Try. Gly. と組合された場合夫々相当強く促進し、Phe. と組合された場合は僅かに発育が促進された以外、Phe. + Gly. に於て強い添加効果を見たのみであつた。

第9表 *Sal. paratyphi* C に於ける窒素源2種を混合の実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lys.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Met.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Gly.	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Asp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ala.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cys.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sal. typhi murium に於ては、(第10表) Nic. + Try. Cys. + Asp. Cys. + Ala. の場合に相当強く発育を見た以外は大した影響はなかつた。

第10表 *Sal. typhi* murium に於ける窒素源2種を混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Lys.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Met.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Gly.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Asp.	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
His.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Cys.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sh. sonnei (大原菌) の場合は、(第11表) Nic. は単独の場合にも強い促進作用を示したが、複合の場合には、Asp. 又は Ser. と組合された場合に最も顕著であり、Try. Gly. His. Phe. 等と組合せた場合も発育を促進した。一方 Cys. の場合も Cys.

第11表 大原菌に於ける窒素源2種混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lry.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Met.	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-
Gly.	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-
Asp.	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-
His.	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Cys.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-Met. Cys. +Ala. の時は添加効果を現わした。

Sh. flet. 2a (駒込 BIII) に於ては、(第12表) 単独では著明な發育促進は認めなかつたが、Cys. に Try. Lys. Nic. 等を夫々組合せた時は強く促進作用を認め、その他の窒素源を組合せた時も稍々

第12表 駒込BIIIに於ける窒素源2種混合した実験

窒素源	Nic.	Glu.	Ser.	Phe.	Cys.	Ala.	His.	Asp.	Gly.	Met.	Lys.
Try.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Lys.	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Met.	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Gly.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Asp.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
His.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ala.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Cys.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Phe.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ser.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glu.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

發育を促進した。その他に Nic. +Asp. の場合促進作用を認めたに過ぎなかつた。

総括及び考按

細菌發育に當つては菌体自身の原形質を合成する為は無機塩、炭素源、窒素源、エネルギー源等を必要とし、これ等は吸熱的な合成過程のエネルギー源として用いられるか、或いは原形質成分を構成するに必要な構造上の要素の原料として用いられる。かかる観点より細菌を分類すれば、栄養的に「厳しい」

(exacting organism), 栄養的に「厳しくない」菌 (nonexacting organism), に分けられ、「厳しい」菌は或る種のアミノ酸について「厳しい」菌、發育素に就て「厳しい」菌等小括される。著者の実験に使用した菌種は何れもアミノ酸に関してはかなりの要求性を持ち、發育素に関しても Staphylococcus, Shigella 等はかなり「厳しい」菌に属するが血液血清イーストエキス等の生蛋白を必要とはしない。

著者の実験目的は合成培地調製の基礎実験として如何なる窒素源が發育を促進せしめるかを概括的に把握ししかもその実験方法の確立にある為、実験材料に記した如く、炭素源として最も利用度の広い Glucose を0.1%添加し、Pepton を0.04%の低濃度に含有する半合成培地を使用し添加例が基礎培地發育対照より如何なる發育促進があるかに着眼した。

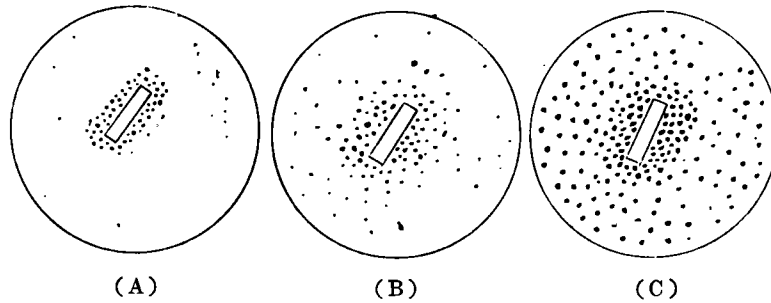
Pepton は有馬等¹⁷⁾に依ると5~6%程度のアミノ窒素を含有し、又 Niacin. Thiamin. Riboflavin, Pantothenic acid, Biotin 等のビタミン類を含有している為、これ等を低濃度に含んでいれば、著者の使用した何れの菌種に対しても少くとも發育最小培地以上と云い得る。これらに Paper disc method に依つて各種アミノ酸を追加して發育促進性によつて判定を下す事になる。Paper disc method¹⁶⁾は微生物の突然変異の栄養要求の決定に當つて不安定若しくは原株に戻り易い菌に最も適した方法として好んで用いられるが、此の方法に依れば一度に多数の栄養素に就て簡単に実験を行い得る利点がある為上記の如き実験を行つた。

かくして得られた実験結果は表に示す如く+と-で表示したが、これらの發育状態に関しては総括してみる必要がある。

(A) に示す如く paper disc の周囲にのみ暈を描いて發育し、他の部分は白濁程度で殆んど發育集落が見られず、暈は効果により径に大小を生ずる場合、(B) に示す如く一般に集落は小さいが全体に發育し、Paper disc の周囲のみ集落数が調密で大きな場合、又 (C) に示す如く全体的に良好な發育を示し僅かの差を以て Paper disc の周囲が發育促進される場合で判定が困難である場合の三つの型に分類される。

著者の使用した菌種で、Staphylococcus aureus. Staphylococcus albus は (A) に属し、0.04%程度の Pepton では發育困難であり、窒素源要求に関してはかなり「厳しい」菌であると言ひ得る。Salmonella typhi 及び Paratyphi. Shigella は

図表 紙片法に依る発育促進状態の分類



(B)に属し, *Staphylococcus* 等に次いで「厳しい」と云へる。次に *Sal. enteritidis* 及び *Sal. murium* は (C)に属し, 栄養素要求性は非常に低く基礎培地のみで充分発育した。

Staphylococcus は特に発育素に関しては valine, proline, aspartic acid 等を不可欠要素として要求するが¹⁸⁾, 著者の実験に於ても nicotinic acid は著明な発育促進を示した。又 S 源を含む cystine が両菌共に促進し, methionine は著効を示さなかつた。しかし nicotinic acid との複合の場合は methionine は cystine の場合と同様に著効を示し nicotinic acid は methionine の S 源代謝に関係すると推測される。Salmonella 属中 *Sal. typhi* 57S, *Sal. typhi* 57 R, *Sal. paratypi* A, *Sal. paratypi* B, *Sal. paratypi* C に就ても殆どの菌に於て cystine が発育促進を示し, methionine は効果がなかつた。又 nicotinic acid は単独又は複合せる場合も著効を示さなかつた。Sh. sonnei 及び Sh. flex. 2a に於ては nicotinic acid が発育促進著明であり Peterson¹⁹⁾ がビタミン定量実験に於て nicotinic acid の場合赤痢菌を用いる事を提唱しているが, Shigella の場合は量比的な発育を示し, 著者の実験に於ても nicotinic acid 添加部分は他に比し集落は稠密且大であつた。次に *Sal. enteritidis* 及び *Sal. typhi murium* に於ては前述した如く基礎培地のみにて良く発育する為, 発育促進状態を正確に追究す

る事は困難であり nicotinic acid の促進性のみが僅かに認められた程度であつた。

以上の如く Paper disc method による発育促進栄養物の研究には図表 (A) の如き発育状態になすことが望ましく, この為には各菌種夫々に適応した発育最少培地を考案し, これ等を用いて実験を進める必要があると考える。

結 論

細菌の合成培地の研究に当つて, 各種窒素源の発育促進性を見る為, 著者は Glucose 0.1% Peptone 0.04% 含有の半合成寒天培地に Paper disc method により窒素源添加をする実験を行い次の結論を得た。

1) 著者の行つた Paper disc method に依る方法は簡単且つ一度に多くの窒素源に就いて実験を行い得る利点がある。

2) この場合使用する基礎培地は各菌種に就て発育最小培地を調整し Paper disc の周囲のみ層を形成して発育するような条件で行えば判定が容易であり確実である。

3) nicotinic acid は *Staphylococcus* 及び *Shigella* に対して発育促進著明であり, cystine は殆どの菌に対して効果があつた。

稿を終るに当り終始御懇篤なる御教示を戴き, 御校閲を賜つた恩師村上栄教授に心から深謝致します。

文 献

- 1) Knight, B. C. J. G. et. al. Brit. J. exp. path., 14, 112, 1933.
- 2) Fildes, P. et. al. : Brit. J. exp. path., 14, 189, 1933.
- 3) Fildes, P. : Brit. J. exp. path., 16, 309, 1935.
- 4) Knight, B. C. J. G. : Biochem. J., 31, 966, 1937.
- 5) Knight, B. C. J. G. et. al. : Biochem. J., 32, 1241, 1938.
- 6) 桑原 : 医学と生物学, 第11巻, 94, 1947.
- 7) 桑原 : 日新医学, 第35巻, 519, 1948.
- 8) 桑原最新医学, 第3巻, 1948.
- 9) 水野外 : 日本細菌学雑誌, 第3巻, 85, 1948.

- 10) 水野：日本細菌学雑誌，第5巻，53，1950。
11) 水野：微生物化学，P. 80，1953。
12) 鷹取：日本細菌学雑誌，第7巻，245，1952。
13) 鷹取：日本細菌学雑誌，第7巻，251，1952。
14) 新井：日本細菌学雑誌，第7巻，343，1952。
15) 桑原：総合医学，第5巻，1039，1948。
16) 吉川他：標準生化学実験，432，1953。
17) 有馬他：日本細菌学雑誌，第12巻，932，1957。
18) 水野他：日本細菌学雑誌，第7巻，229，1952。
19) Peterson, W. H. et. al. : Bact. Rev., 9, 49, 1946.

Studies on the Synthetic Media for culture of some Bacteria

Part I Some findings about the growth of bacteria on nitrogen source added plate media

By

Hirota NAKANISHI

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

In order to study the effect on growth of bacteria of some compounds served as nitrogen source, the author observed the effects of addition of these compounds by paper disc method on the synthetic agar media containing 0.1% glucose and 0.04% peptone. The species of bacteria used were *Staph. aureus*, *Staph. albus*, *Sal. enteritidis*, *Sal. typhi* 57 S and R, *Sal. paratyphi* A, *Sal. paratyphi* B, *Sal. paratyphi* C, *Sal. typhi murium*, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* 2a, which were stock-cultured in the author's laboratory. And the results were as follows.

1) The paper disc method, the author adopted, showed the advantages, in that the method could detect the effect of several nitrogen sources very easily and simultaneously.

2) In this examinations, it was beneficial for reading the effect to prepare the basal nutrient media to each species tested, so as to grow the bacteria merely around the paper disc.

3) Nicotinic acid exerted the marked effect of growth stimulation on *Staphylococcus* and *Shigella*.

And cystine showed some effect of stimulation on almost all species.
