

## 細菌の合成培地に関する研究

## 第二編

葡萄球菌、サルモネラ菌属及び赤痢菌属の  
液体合成培地に於ける発育に就いて

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

合成培地での細菌発育に関する研究は Fildes etc (1933)<sup>1)</sup> の研究に端を発して以来、これらに刺戟されて、非常に多くの実験的研究がなされている。Knight<sup>2)3)</sup>, Mueller<sup>4)5)</sup>, Porter<sup>6)</sup>, Mc. Cullough<sup>7)</sup>, 桑原<sup>8)</sup>, 水野<sup>9)</sup>, 藤取<sup>10)</sup>, 新井<sup>11)</sup> 等により窒素源の順次添加或は抜取りを行い発育に必須な物質の解明、進んでは代謝機構の究明に努力が払われている。

著者は第一編に於て葡萄球菌2株、サルモネラ菌属7株、赤痢菌属2株、等が合成培地に発育し得る場合必要な最少限の窒素源を簡便にしかも総括的に究明する目的を以て Paper disc method により各菌株に就いて興味ある知見を得た。しかしこの場合用いた平板培養基中には 0.4 g/l のペプトン及び 1.8%~2% の割に寒天が加えられてあり少量の窒素源は無視して実験を試みた。そこで総ての蛋白を除いた完全合成液体培地を調整し、これに第一編に於て得た知見を基礎にして各種の窒素源を添加しこれら窒素源添加合成培地での各菌株の発育状況を光電比色法により比較し、当教室で実験に広く用いられている教室保存菌11株の栄養要求性を検討し些かの知見を得たので茲に報告する。

## 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* 57S, *Sal. typhi* 57R, *Sal. paratyphi* A, *Sal. paratyphi* B, *Sal. paratyphi* C, *Sal. typhi murium*, *Sh. sonnei* (大原菌) *Sh. flexneri* 2a (駒込 BIII 菌) を常法により普通寒天

培地に数代継代することにより純化を計り使用した。

## 2) 使用基礎培地

第2 磷酸ナトリウム	2.5 g
第1 磷酸カリウム	0.35 g
硫酸アンモニウム	0.5 g
塩化アンモニウム	0.5 g
硫酸鉄	0.001 g
硫酸マグネシウム	0.001 g
葡萄糖	1.0 g
蒸溜水	1000. cc

基礎になる合成培地は上記の如き組成に調整し、溶解後10% Na HCO<sub>3</sub> 液にて pH 7.2 に修正し、高圧滅菌器にて 120°C にて 15~20 分滅菌後試験管に 10 cc 宛分注し爾後の使用に供した。

3) 窒素源：上記基礎培地に添加する窒素源はすべて市販品のなるべく純度の高いものを用い（別に精製は行はなかつた）10 mg を 5 cc の基礎培地用液に溶解し、蒸気滅菌器にて 15分3回滅菌し、0.3 cc を基礎培地 10 cc に添加した。この場合 1乃至3種の窒素源添加を行つた場合 10.3 cc より 10.9 cc の培地量の変動はあるが、大した影響はないものと看做し無視して実験を行つた。

使用した窒素源は L-glutamic acid, DL-tryptophan, DL-methionine, L-Cystine, DL-alanine, glycine, L-histidine, DL-phenylalanine, nicotinic acid, L-lysine, L-aspartic acid, DL-serine の 12種である。

第2節以下にて窒素源の名称は次の如く略号を用い、必要な場合を除き L-, DL- は省略した。

L-glutamic acid	Glu.	nicotinic acid	Nic.
DL-tryptophan	Try.	L-lysine	Lys.
DL-methionine	Met.	L-aspartic acid	Asp.

L-cystine	Cys.	DL-serine	Ser.
DL-alanine	Ala.		
glycine	Gly.		
L-histidine	His.		
DL-phenylalanine	Phe.		

## 第2節 実験方法

第一編に於て得た実験結果を参照して1~3種の窒素源を添加した合成培地に、18時間普通寒天培地培養の菌を培養した。培養菌は標準白金耳で可及的に正確に2mgを掻き取り無菌操作により生理的食塩水にて洗滌し前培地よりの窒素源の混入を避け10ccの生理的食塩水に浮遊せしめ0.1~0.3ccを注加培養した。しかる後孵卵器中に37°Cで24時間、48時間放置した後、光電比色計にて検定した。光電比色計は、島津製5号D型L<sub>4</sub>(470mμ)キュベットは吸収液槽10mmを用い、Blankには同組成の合成培地を菌培養することなく孵卵器中に放置したものをを用い、これを透過度100%として成績は総て透過度(%)で表示した。

## 第2章 実験成績

### 第1節 単独窒素源加培地に於ける各菌株の発育に就いて

第1章第1節に記述した窒素源を夫々単独で添加した培地に11株の菌を培養し、24時間、48時間で比色計にて測定した結果は第1表の通りである。

*Staph. aureus*, *Staph. albus* は如何なる窒素源の場合も発育は皆無であつた。

*Sal. enteritidis* は基礎培地のみにて24時間85%、48時間73%と発育するが、この基礎培地に各種窒素源を添加した場合は何れの場合も発育は増強されCystineは特に発育良好で24時間54%、48時間50%の値を示した。

次に *Sal. typhi* 57 S は、Serinを除いて殆どの場合発育し、48時間では特に60%~70%程度の発育増強を来した。Cystine, methionin, glutamic acid, aspartic acid, nicotinic acid の場合は、24時間で既に70~80%の発育速度の著明な増加を見ている。serine では24時間95%、48時間98.5%と発育は全く見られぬ。

*Sal. typhi* 57 R の場合は57 S に比較して発育は劣るが大体57 S と類似した傾向を示した。

*Sal. paratypi* A は殆どすべての場合発育は見られずCystine添加の場合のみ僅かの発育を来した。

*Sal. paratypi* B は48時間値にて多くの場合90%程度で、glutamic acid の場合にのみ24時間値89%、48時間値82%と著明に発育増強を来たす。

*Sal. Paratypi* C は *Sal. paratypi* A. B. に比してよく発育する結果を得たが、glycine, Cystine, Nicotinic acid 等では何れも48時間で80%迄で時間の経過による激増は見られず発育度も他に比して稍々良好であつた。

*Sal. typhi murium* の場合は *Sal. enteritidis* の場合と同じく基礎培地の場合に24時間で72%、48時間で65%と発育し、窒素源添加の場合は勿論発育は著明でCystineの場合最高値を示した。

次に *Sh. sonnei* に於ては殆どの場合95%以上を示し発育不能と看做し得る結果が得られ、nicotinic acid の場合も発育は殆ど見られなかつた。

*Sh. flexneri* 2a (駒込 BIII) は如何なる窒素源を添加しても発育せず、nicotinic acid の場合も勿論発育は見られなかつた。

### 第2節 2種以上の窒素源を添加せる培地に於ける各菌株の発育に就いて

著者の使用した窒素源の2種乃至3種以上の組合せとなると膨大な数になるため、第一編に於て得られた結果、及び本編の第1節に於ける単独窒素源の場合の結果を基にして窒素源を組合せて実験を行つた。

先づ *Staph. aureus* (寺島株) 及び *Staph. albus* には、著者の実験範囲内では何れの場合も発育不能であつた。

*Sal. enteritidis* の場合に於ける結果は、表の2如くである。*Sal. enteritidis* では単独添加の場合は勿論基礎培地の場合も発育は良好である為2種以上の窒素源添加の場合何れも良く発育する。特にCystine添加の場合は他に比して大である。(第2表参照)

*Sal. typhi* 57 S では、単独添加の場合でも第1節に述べた如くSerinを除いては良く発育する。従つて2種以上の添加の場合には同等或はそれ以上の発育を来している。単独の場合との差は一種の窒素源に含S窒素源又はnicotinic acidを同時に添加した時は24時間で既に著明な増殖を見、48時間値は大差なかつた。即ち発育の最高値に達する時間が著しく短縮されている。含S窒素源としては、methionineよりCystineの方がより有効であつた。又一方Serineは単独の場合でも全く発育に対して効が無かつたが、表に示す如くよく発育する組合せに添加すると、逆に発育は抑制される結果を得た。

第1表 単独の窒素源を添加した場合の発育  
(注 1. 数字は透過度を示す 2. 透過度100は-と記す)

窒素源	培養時間	菌株										
		Staph. aureus	Staph. albus	Sal. enteritidis	Sal. typhi 57S	Sal. typhi 57R	Sal. paratyphi A	Sal. paratyphi B	Sal. paratyphi C	Sal. typhi murium	Sh. sonnei	Sh. flex. 2a
Gly.	24	-	-	64	97.5	95	-	97	80.5	64.5	-	-
	48	-	-	43.5	80	95	-	93	80	54.5	98	-
Ala.	24	-	-	63	97	96	-	98	88	66	-	-
	48	-	-	57	78	92	7	95	82	55	97.5	-
Phe.	24	-	-	68	91.5	92	-	96.5	91	68	-	-
	48	-	-	65	75	88	-	91	87	57	99	-
Ser.	24	-	-	61	95	96	-	97.5	92	75	-	-
	48	-	-	55	97.5	95	-	90	86	62	97	-
Try.	24	-	-	63	92.5	96	-	98.5	85	67	-	-
	48	-	-	55	69	96	-	90	85	55	95	-
His.	24	-	-	68	92.5	97	-	97	92	68.5	-	-
	48	-	-	64	72	95	-	90	83	55	96	-
Met.	24	-	-	58	85	92	-	99	83	61	-	-
	48	-	-	52	65	80	-	92	82	50	98	-
Cys.	24	-	-	54	75.5	94	95	99.5	81	59	-	-
	48	-	-	50	63	73	89	91	80.5	51	96.5	-
Glu.	24	-	-	70	71	94.5	-	89	87	64	-	-
	48	-	-	64	67.5	77.5	-	82	83	57	-	-
Asp.	24	-	-	61	92.5	95	-	99	92	68	-	-
	48	-	-	56	69	85	-	94	87	53.5	95	-
Lys.	24	-	-	82	92	93	-	96	90	68	-	-
	48	-	-	80	73	70	-	94	84	57	99	-
Nic.	24	-	-	68	81	85.5	-	96.5	85	65	97	-
	48	-	-	53	56	75	-	89.5	87.5	58	95	-
無	24	-	-	85	98	99	-	99.5	90	72	-	-
	48	-	-	73	97	97	-	92	87	65	-	-

第2表 Sal. enteritidis の発育

添加窒素源	24時間		48時間		添加窒素源	24時間		48時間	
	T	%	T	%		T	%	T	%
Gly. Cys.	52	49	Glu. Nic.	55	50				
Gly. Met.	55	52	Gly. Cys. Nic.	49	45				
Gly. Nic.	54	48	Gly. Met. Nic.	52	46				
Asp. Cys.	63	54	Asp. Cys. Nic.	50	45				
Asp. Met.	63	55	Asp. Met. Nic.	51	45				
Asp. Nic.	54	48	Glu. Cys. Nic.	52	47				
Glu. Cys.	53	48	Glu. Met. Nic.	51	40				
Glu. Met.	51	42							

(第3表参照)

次にSal. typhi 57R では単独の場合は Cystine, glutamic acid, aspartic acid で僅かの発育を見たのみであったが、複合添加の場合は第4表に示す如く著明な発育を来す。特に含S窒素源である Cystine 又は methionine と nicotinic acid の2つの添加で発育速度も発育度も増強して来る。これら両者を添加することにより24時間で既に70%前後の発育を来し、就中 glutamic acid+cystine+Nicotinic acid の時は24時間で57.5%、48時間で55%と最高の発育

第3表 Sal. typhi 57S の発育

添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)	添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)
Gly. Cys.	77	70	Asp. cys. Nic.	73.5	71
Gly. Met.	78	73	Asp. Met. Nic.	70	68
Gly. Nic.	77	76	Lyr. Cys.	78	78
Gly. Cys. Nic.	71	65	Lys. Met.	75	64
Gly. Met. Nic.	74	70	Lys. Nic.	77	76
Ser. Cys.	93	90	Lys. Cys. Nic.	71.5	69.5
Ser. Met.	92	89	Lys. Met. Nic.	70	67.5
Ser. Nic.	95	88	Try. His.	61.5	58.5
Ser. Cys. Nic.	82	77	Try. His. Cys.	71	67
Ser. Met. Nic.	85	79	Try. His. Met.	76	69
Try. Cys.	81	81	Try. His. Nic.	64	60
Try. Met.	85	82	Asp. Glu.	88	67
Try. Nic.	80	54	Arp. Gly. Cys.	70	64
Try. Cys. Nic.	71	62	Asp. Glu. Met.	72	65
Try. Met. Nic.	71	63	Asp. Gly. Nic.	86	83
Glu. Cys.	75	75	Gly. Cys. Ser.	86	68
Glu. Met.	73	74	Try. Cys. Ser.	93	80
Glu. Nic.	72.5	69	Try. Met. Ser.	92	83
Glu. Cys. Nic.	76	74	Gly. Cys. Ser.	84	73
Glu. Met. Nic.	79	77.5	Asp. Met. Ser.	71	68
Asp. Cys.	71.5	71.5	Asp. Cys. Ser.	92	81
Asp. Met.	72	70	Asp. Glu. Ser.	86	82
Asp. Nic.	75	72			

第4表 Sal. typhi 57R の発育

添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)	添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)
Met. Nic.	73	68	Glu. Cys.	96	69
Cyo. Nic.	72.5	63	Glu. Met.	92	70
Gly. Cyo.	96	74	Glu. Cys.	81	64
Gly. Nic.	68	63	Nic. Glu. Met.	57.5	55
Gly. Cys. Nic.	60	60	Nic. Lys. Cys.	63	59
Gly. Met. Nic.	62	61	Lyo. Met.	96	68
Try. Cys.	96	72	Lys. Met.	90	69
Try. Met.	89	75	Loy. Nic.	82	59
Try. Nic.	79	68	Lys. Cys. Nic.	75	65
Try. Cys. Nic.	91	62	Lys. Met. Nic.	76	68
Try. Met. Nic.	90	65			

を示す。尚表には示さなかつたが, serine は Sal. typhi 57 S に於けると同じく発育阻害を示した。

Sal. paratyphi A は単独の場合は Cystine のみの時僅かの発育を見たが, 組合せの場合も Cystine の存在が必須の条件であり, tryptophan, gultamic acid に Cystine が組合せられた時80%前後の発育を

し, 就中 tryptophan+Cystine が発育良好であり, 更にこの上に methionine 添加の時70%, glycine 添加の時74%と発育は増強している。(第5表参照)

第5表 Sal. paratyphi A の発育

添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)	添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)
Gly. Cys.	95	93	Glu. Cys. Nic.	96	94
Ala. Cys.	96	94.5	Lys. Cys. Nic.	94	87
Phe. Cys.	94	93	Try. Cys. Nic.	93	92
Ser. Cys.	91	91	Try. Cys. Met.	75	70
Try. Cys.	89	88	Try. Cys. Gly.	78	74
His. Cys.	94	92	Try. Cys. Asp.	84	83
Gly. Cys.	78	78	Try. Cys. His.	85	85
Asp. Cys.	93	91	Try. Cys. Ala.	83	83
Lys. Cys.	85	91	Try. Cys. Phe.	85	84
Met. Cys.	93	89	Try. Cys. Ser.	85	81
Nic. Cys.	83	82	Try. Cys. Glu.	92	90

Sal. paratyphi B では第6表に示す如く Cystine, nicotinic acid を phenyl alanin, serin, tryptophan, glutamic acid に添加しても発育に及ぼす影響はさして認められない。これに反して glutamic acid+phenylalanin の場合は著明に増殖を来す結果が得られた。更にこの組合せの表に示す如き窒素源添加を行つて見たところ glutamic acid+phenylalanine +aspartic acid, glutamic acid+phenylalanine+Cystine の場合は更に発育が増強されている。(第6表参照)

第6表 Sal. paratyphi B の発育

添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)	添加窒素源	24時間 (T%)	48時間 (T%)
Phe. Cys.	95	90	Glu. Phe. Ala.	78	72
Phe. Nic.	93	85	Glu. Phe. Ser.	72	64
Ser. Cys.	91	91	Glu. Phe. Try.	78	72
Ser. Nic.	92	86	Glu. Phe. His.	82	70
Glu. Cys.	98	90	Glu. Phe. Met.	79	70
Glu. Nic.	96	90	Glu. Phe. Cys.	70	61
Try. Cys.	91	91	Glu. Phe. Asp.	88	60
Try. Nic.	92	83	Glu. Phe. Lys.	75	70
Glu. Phe.	69	57	Gly. Phe. Nic.	75	68
Glu. Phe. Gly.	73	67			

Sal. paratyphi C の場合も第7表に示す如く Sal. paratyphi B とよく似た結果を得ている。Cystine, methionine 等の S 源又は nicotinic acid の添加が大して影響なく glycine+glutamic acid+

nicotinic acid, tryptophan + glutamic acid + nicotinic acid 等 glutamic acid を添加することにより発育が促進される。又 glycine + glutamic acid + phenylalanine の場合が最大で24時間71%, 48時間で65%の透過度を示している。(第7表参照)

第7表 Sal. paratypi C の発育

添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)	添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)
Gly. Cys.	83	80	Glu. Met. Nic.	81	77
Gly. Met.	82	81	Gly. Ala. Nic.	86	81
Gly. Nic.	83	83	Gly. Phe. Nic.	83	77
Gly. Cys. Nic.	85	83	Gly. His. Nic.	85	79
Gyl. Met. Nic.	83	79	Gly. Try. Nic.	83	81
Try. Cys.	85	82	Gly. Glu. Nic.	78	73.5
Try. Met.	84	81	Gly. Asp. Nic.	86	81
Try. Nic.	84.5	82	Gly. Glu. Nic.	70.5	65
Try. Cys. Nic.	88	83	Try. Ala. Nic.	84	79
Try. Met. Nic.	88	86	Try. Phe. Nic.	87	79
Glu. Cys.	86	82	Try. His. Nic.	85	81
Glu. Met.	85	82	Try. Glu. Nic.	77	73
Glu. Nic.	84	80	Try. Asp. Nic.	82	81
Glu. Cys. Nic.	80	77			

Sal. typhi murium では単独添加の場合でも非常によく発育する為に複合添加を行つても著明な発育促進は見られない。S源としての cystine, methionine 等が入れば僅かながら発育が促進する結果が得られたのみである。尚表には示さなかつたが glycine, alanine, glutamic acid 等を色々と組合せて実験を試み、いづれも発育良好であるが、単独の場合との著明な差は見出し得なかつた。(第8表参照)

第8表 Sal. typhi murium の発育

添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)	添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)
Try. Cys.	60	52	Glu. Cys. Nic.	59	58
Try. Met.	62	57	Glu. Met. Nic.	58	56
Try. Nic.	63	56.5	Asp. Cys.	59	57
Try. Cys. Nic.	59	51	Asp. Met.	61	52
Try. Met. Nic.	62	53	Asp. Nic.	60	51
Glu. Cys.	60	52	Asy. Cys. Nic.	57	45
Glu. Met.	62	51	Asp. Net. Nic.	57	47
Glu. Nic.	61	50			

Sh. sonnei (大原菌) では単独添加の場合発育を来す例は見出し得なかつたが、著者は nicotinic

acid をそれ以外の窒素源と組合せて添加を試み主要なもののみを第9表に示した。窒素源に Cystine 又は methionine を組合せた場合には発育は殆ど見られなかつた。然し発育素として nicotinic acid を添加せる場合には著明に発育を来し、その際の窒素源としては aspartic acid が最も発育良好であり glutamic acid の時も良好であつた。特に aspartic acid + cystine + nicotinic acid の時が最も高い値を示した。(第9表参照)

第9表 Sh. sonnei の発育

添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)	添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)
Try. Cys.	100	97.5	Asp. Met. Nic.	67	61.5
Try. Met.	98	95	Glu. Try.	99	97
Try. Nic.	70	69	Glu. Try. Cys.	100	98
Try. Cys. Nic.	74	65	Gln. Try. Nic.	62	62
Try. Met. Nic.	74	61	Phe. Cys.	99	96
Glu. Cys.	97	92	Phe. Nic.	68.5	65
Glu. Met.	96	89	His. Cys.	90	87
Glu. Nic.	79	72	His. Nic.	71	69
Glu. Cys. Nic.	70	65	Ser. Cys.	90	85
Glu. Met. Nic.	73	70	Ser. Nic.	67.5	63
Asp. Cys.	96	93	Cys. Met.	100	96
Asp. Met.	96	94	Cys. Nic.	80	72
Asp. Nic.	67	67	Met. Nic.	81	74
Asp. Cys. Nic.	69	62			

Sh. flex. 2a の場合は大体 Sh. sonnei に類似しており、窒素源に nicotinic acid が加わつた場合に発育が著明であり、更にこれにS源である cystine が添加されると発育が増強される。又この際の窒素源には aspartic acid が最適であつた。

第10表 Sh. flexneri 2a の発育

添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)	添加窒素源	24時間(T%)	48時間(T%)
Try. Cys.	100	100	Glu. Cys. Nic.	69	59
Try. Met.	98	96	Glu. Met. Nic.	72	62
Try. Nic.	88	67	Asp. Cys.	95	92
Try. Cys. Nic.	63	62	Asp. Met.	92	90
Try. Met. Nic.	68	65	Asp. Nic.	75	70
Glu. Cic.	100	100	Asp. Cys. Nic.	65	60
Glu. Met.	99	98	Asp. Met. Nic.	68	63
Glu. Nic.	87	80			

### 総括及び考按

細菌の窒素源の要求段階としては  $N_2-NO_2-NH_4$ -アミノ窒素と四段階に分類せられるが、著者の用いた菌株では発育素との combination を考慮に入れて①アンモニア窒素②アンモニア窒素+発育素③アミノ窒素+発育素の4つの要求度に大別し得る。発育素としては  $Co_I$  および  $Co_{II}$  のニコチンアミド部分を供給して細菌生長因子の最も普遍的なものの一つである nicotinic acid を選び、窒素源には必須アミノ酸を含む11種を選んで極力多数例の組合せを作成して実験を行った。

*Staphylococcus* は thiamin, pyridoxin, nicotinic acid 等発育素的にも厳しく又窒素源としても糖類の有無によつて異るとは云へ valine, proline, arginine 等多くを必要とする為<sup>9)</sup>、著者の行つた発育素を含めて三種迄の複合添加実験では著明な発育は認め得なかつた。

次に *Sal. enteritidis*, *Sal. typhi murium* は著者の用いた基礎培地のみにも充分発育を来し、アンモニア窒素のみにて窒素源は充分と考えられ、添加物としては cystine, methionine のみが効果著明であつて即ち S 含有窒素源は発育を更に促進する。

*Sal. typhi 57 S* 及び R では S 源としての Cystine, methionine 又は nicotinic acid が添加されると発育速度が増すことが見出され発育度も又少々増加した。しかも cystine の方が methionine よりより有効であつた。又窒素源としては鷹取等<sup>12)</sup> は aspartic acid が有効な事を述べているが著者の実験に於ては glutamic acid 及び aspartic acid が有効であつた。複合添加の場合は Cystine と nicotinic acid の両者を含む場合は発育速度が更に大なることを見出した。一方 serine は DL-serine を用いた為単独複合共に発育抑制的な作用を示し、これは既に水野等<sup>13)</sup>がチフス菌の発育に対しては D-serine は有効であるが DL-serine は阻止的であると報告しているのと一致する。又蜂須賀等<sup>14)</sup>は枯草菌の発芽に対する実験を行い DL-serine は発芽に有効なアミノ酸であり、その後の新生細菌の出現には阻止的でありしかも増殖に必須アミノ酸との組合せにおいても拮抗的であると報告しているが、著者のチフス菌の増殖に及ぼす影響に於ても阻止的な結果を得て、以上より DL-serine は必須アミノ酸との組合せに於ても阻止的作用を有すると断定し得る。

*Ssl. paratyphi A* では *Salmonella* 属中最も発

育不良であるが cystine のみが有効であり、複合添加の場合も cystine を含むことが必須条件であることが分つた。

*Sal. paratyphi B* 及び C では glutamic acid が最も有効であり、glutamic acid+phenylalanine を含む場合は特に有効で、これに反し S 源及び nicotinic acid は著効を示さなかつた。又窒素源としては水野<sup>8)</sup>、牛田<sup>15)</sup>の述べている如く aspartic acid が最も有効であり次で glutamic acid が有効であつた。尚 S 源物質は単独の場合はなんら作用を示さなかつたが複合添加の場合はこれ等の存在が発育促進的に影響を及ぼし aspartic acid+cystine+nicotinic acid の時は最も良く発育を来した。

*Shigella* 菌属中著者の使用した教室保存の *Sh. sonnei* 及び *Sh. flexnei 2a* を比較するに後者の方が栄養要求性が高いことが分つた。又 nicotinic acid に対する態度であるが、何れの菌も単独添加の場合は発育は殆ど見られなかつた。しかし *Sh. sonnei* 及び *Sh. flex. 2a* は glucose が存在すればアンモニア窒素+nicotinic acid で充分発育し得ると云う水野等<sup>16)</sup>の報告に接するが当教室保存株ではかかる結果は得られず当教室牛田<sup>15)</sup>の報告している結果と略一致した結果が得られたに過ぎなかつた。しかし複合添加に nicotinic acid を用いた場合は著明に発育促進的に働く結果が得られた。

### 結 論

*Staph. aureus*, *Staph. albus*, *Sal. enteritidis*, *Sal. typhi 57 S* 及び R, *Sal. paratyphi A*, *Sal. paratyphi B*, *Sal. paratyphi C*, *Sal. typhi murium*, *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri 2a* の各教室保存株を供試菌として発育に及ぼす窒素源の影響を11種のアミノ酸及び nicotinic acid に就て単独及び各種組合せの場合の発育に及ぼす影響を液体培地を用いて検討し次の結果を得た。

1. *Staphylococcus aureus* 及び *albus* は多数のアミノ窒素及び発育素を必要として著者の行つた実験範囲では発育不能であつた。

2. *Sal. enteritidis* 及び *Sal. typhi murium* はアンモニア窒素のみで充分発育可能であるが Cystine が添加されれば発育は増強される。

3. *Sal. typhi 57 S* 及び R, は窒素源中 S 源を含む Cystine 及び methionine が添加されると発育速度が増強される。窒素源としては glutamic acid 及び aspartic acid が有効であつた。 *Sal. paratyphi*

A は cystine が必須であり, *Sal. paratyphi* B 及び C は glutamic acid, phenylalanine が有効である。

4. *Shigella* 属は2株共 nicotinic acid が不可欠因子であり, 更に aspartic acid は有効窒素源で

ある。

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) Fildes, P. et. al. . Brit. J. exp. path., **14**, 189, 1933.
- 2) Knight. B. C. J. G. . Biochem. J., **31**, 966, 1937.
- 3) Knight, B. C. J. G. et. al. . Biochem. J., **32**, 1241, 1938.
- 4) Mueller, J. H. . J. Bact., **36**, 499, 1938.
- 5) Mueller, J. H. et. al. J. Bact., **43**, 763, 1942.
- 6) Porter, J. R. et. al : J. Bact., **42**, 141, 1941.
- 7) Mc. Cullough, N. B. et. al. : Proc. Soc. explt. Biol. Med., **52**, 310, 1943.
- 8) 桑原 : 日新医学, 第35巻, 519, 1948.
- 9) 水野他 : 日本細菌学雑誌, 第7巻, 229, 1952.
- 10) 鷹取 : 日本細菌学雑誌, 第7巻, 251, 1952
- 11) 新井 : 日本細菌学雑誌, 第7巻, 343, 1952.
- 12) 鷹取 " 第7巻, 245, 1952.
- 13) 水野 : モダンメデイア, Vol. 2.
- 14) 須賀他 : 第31回日本細菌学会総会講演.
- 15) 牛田 : 岡山医学会雑誌, 第69巻, 611, 1957.
- 19) 水野 : 日本細菌学雑誌, 第5巻, 59, 1950.

## Studies on the Synthetic Media for Culture of some Bacteria

### Part II On the growth of some bacteria, Staphylococcus, Salmonella and Shigella, in synthetic fluid media.

By

Hiroataka NAKANISHI

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

Using the fluid media containing any one member out of eleven amino acids and nicotic acid or certain combination of them, the author studied the effect of these nitrogen sources on the growth of some species of Staphylococcus, Salmonella and Shigella, that were the departmental stock of author's laboratory.

And the following results were obtained.

1) It was found that Staph. aureus and Staph. albus required many species of amino nitrogen and growth factors. The author failed to culture them in the media described above, for the lack of some required components for their growth.

2) *Sal. enteritidis* and *Sal. typhi murium* could grow sufficiently in the media containing merely ammonium nitrogen, but the extra addition of cystine to the media showed the marked increase of growth.

3) The growth of *Sal. typhi* 57 S and R were accelerated by the addition of sulfur containing amino acids, cystine and methionine, And also glutamic acid and aspartic acid could serve to these micro-organisms as nitrogen source.

*Sal. paratyphi* A required cystine as the essential amino acid, but in the case of *Sal. paratyphi* B and C it was effective to add glutamic acid and phenylalanine to the basal media.

4) Nicotinic acid served as the essential factor to the *Shigella* species, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* 2a; in addition, aspartic acid showed the stimulation for growth.

---