

結核菌の物質代謝の研究

第 1 編

無細胞液並びに其の透析内液、外液と
脱水素酵素反応の関係について

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上 栄教授)

滝沢 千之助

〔昭和 33 年 11 月 5 日受稿〕

目 次

1. 緒 言	に及ぼす影響
2. 実験材料並びに実験方法	(C) 結核菌乳酸脱水素酵素の耐熱性につい
3. 実験成績	て
A) H 37 Rv, H 37 Ra の無細胞液による 脱水素酵素反応	4. 総括並びに考案
B) 無細胞液の透析処理が脱水素酵素反応	5. 結 論
	6. 文 献

1. 緒 言

電子顕微鏡の解像力は細菌細胞の微細構造を次々と解明し、又発見するに至り、最近これら各構造物質が物質代謝に於て果たす役割を明かにせんとする努力が払われつつある。

病原細菌の物質代謝も次第にこの傾向が高まり、嘗て完全な細菌細胞を中心としたものから、無細胞或は更に精製された段階に於ての研究が始まりつつある。其の一例は Youmans (1955)¹⁾、山村等²⁾に於て見られる。

勿論複合酵素系の完全に統一された細胞によるものと、これから抽出された物質によるものとの間には自から其の目的も異なることは Yudkin (1937)³⁾、Gale (1953)⁴⁾ 等も述べているが、しかし各構造の追究は将来完全細胞に対する観点を更に進め特に病原細菌に対する毒力或は抗原抗体反応にも及ぶのではないかと思われる。

翻つて過去に於ける結核菌の研究を眺めると極めて現象論的なものが多く、結核独特の基礎学的な研究は割合に少いようである。

物質代謝の面から見ても毒力結核菌は他の一般病原細菌と比して一段と危険視され、多くは鳥型結核菌或は非病原性抗酸性菌が、この目的に使用され、

其の結果から毒力菌の代謝を推測したものが多いようである。しかし最近 Mudd 等 (1951)⁵⁾ の刺激により、顆粒構造に富む結核菌は其の微細構造の面からも次第に興味を持たれるに至り、これの酵素学的研究は次第に増加の傾向にある。

元來結核菌の毒力は実験動物による病原性 1 本に頼つていたが Dubos (1949)⁶⁾ は dl-serine 培地、neutral red 反応 (1948)⁷⁾ 等による生化学的根拠により極めて短期間でこれを解決せんとした。又 Bloch (1950)⁸⁾ は脱水素酵素反応により抗酸性菌の毒力菌と無毒菌を判別出来ることを述べ、これを臨床上にも応用している。Patnode (1954)⁹⁾ はこの試みは動物実験と完全に一致すると述べている。又抗酸性菌の毒力を左右する因子は菌特有の抗酸性脂質と密接な関係があることを暗示している。

最近山村並びに其の協同研究者²⁾ により結核菌の生化学特に酵素学的な詳細な研究が総説された。又岡 (1957)¹⁰⁾ は人型、牛型毒力菌並びに其の弱毒菌 (無毒菌) を使用し、更にそれ等の生菌、無細胞抽出液について脱水素酵素能、酸素消費量を比較検討している。

著者は結核菌表面構造の主体をなす抗酸性脂質は発育培地中の glycerol の濃度と極めて密接な関係にあり、glycerol の代りに glucose を C 源とする

と著しく脂質量は減少すると云う Long, Finner (1927)¹¹⁾, Terroine, Lobstein (1923)¹²⁾ の報告に留意し、通常の sauton 培地と、これから glycerol を除き glucose を添加した変法培地を使用し、この両培地に発育した人型毒力株と無毒株につき無細胞液による脱水素能、酸素消費量を検討し、更にこれを透析し、之の内液、外液につき各種基質を中心に脱水素能を検討した。

2. 実験材料並びに実験方法

供試菌株： 人型 H 37 Rv, 人型 H 37 Ra (以下 H 37 Rv, H 37 Ra と略す). 牛型 263 (以下 B 263 と略す), BCG の各株で何れも予研, 柳沢研究室の好意により分与を受けた。

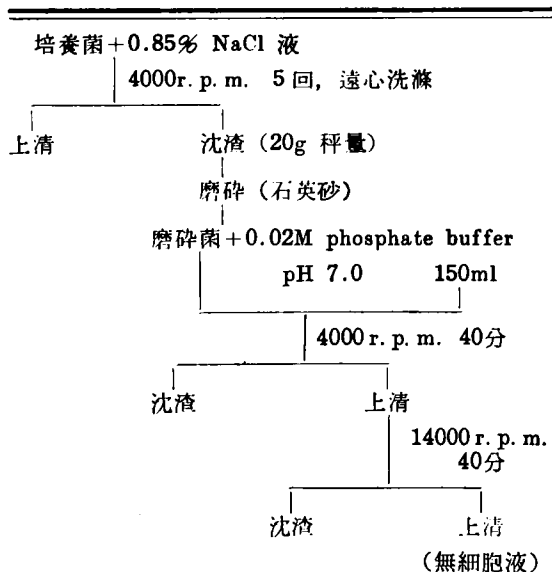
発育培地： sauton 培地 (以下 S 培地), glucose 2% 加 sauton 培地 (以下 glucose 培地) の両者である。

S 培地の組成は asparagin. 4g. glycerol. 60 ml. citrate. 2 g, KH₂PO₄. 0.5 g, MgSO₄. 0.5 g, クエン酸鉄アンモン, 0.05 g, water, 1l であり, glucose 培地は S 培地中の glycerol 代りに 20 g の glucose を添加したものである。

培養法： 中性小川培地に継代中の保存菌株を上記 2 種培地に 5 代以上継代し, 以後実験に使用した。実験使用菌は 16 日発育菌である。

無細胞液並びに透析液の作製法： 無細胞液は上記培地発育菌を集め, 十分に蒸留水にて洗滌し, 濾

第 1 表 無細胞液の作製法
sauton 16 日培養の H₃₇R v, H₃₇Ra



注 以上の装作は総て低温処理 (0~5°C) によつた。

紙上に集め脱水 (濾紙の間にはさみ圧する) 秤量し, 以後第 I 表に示す行程で処理して得た。菌の磨碎は乳鉢中にて石英砂によつた。無細胞液を得るまでの総ての操作は低温処理 (0~5°C) で実施した。

無細胞液は -20°C で凍結保存したが, 一般に作製後 2 日以内に使用した。透析内, 外液の作製は上記無細胞液を透析膜中に収め, これと等量の蒸留水を外液とし 0°C の状態で 24 時間透析し, 其の外液を Co 部とし, 内液は更に大量の蒸留水で繰返し被透析成分の除去に努力した。かくて得られた内液を Apo 部とした。

実験測定法は脱水素反応により Thunberg 法を採用した。

3. 実験成績

A) H 37 Rv, H 37 Ra の無細胞液による脱水素酵素反応

脱水素酵素反応の本質的過程について毒力株と弱毒株との間に差があるとは勿論考えられないが, 各基質に対し其の脱水素能に強弱のあることは一応考えられる。川畑 (1934)¹³⁾ は結核菌の菌型, 培養法により脱水素能に差のあることを述べている。又岡 (1957)¹⁴⁾ の報告によれば結核菌は其の完全細胞で多くの基質の効果を検討するには不適當であるとしている。

著者は毒力或は抗酸性脂質含量と物質代謝の關係を検討するため, 前記 2 種培地に発育した H 37 Rv と H 37 Ra の無細胞液について検討を加えた。基質は pyruvic, lactic acids を初め TCA cycle に直接關係ある有機酸を撰んだ。

測定は Thunberg 法 (1934)¹⁵⁾ により, 管の内容は 0.1 M phosphate buffer 液 (pH. 7.0) 0.5 ml. 0.1 M 基質 0.5 ml. 0.0002 M mthylene blau (以下 Mb と略す). 0.25 ml, 並びに無細胞液 0.5 ml である。

各基質は NaOH 液にて pH. 7.0 に補正して供試し, 無細胞液は作製そのままのもの或は適宜稀釈したものを使用した。この稀釈の目的は対照の脱色時間を調節するためである。

上記内容を収めた Thunberg 管は真空ポンプにて水銀柱 1~2 mm Hg の状態で 5 分間排気後 37°C 恒温槽中にて 2 分間放置, 温度平衡を待つて内容を混合し, 其の瞬間より Mb 脱色までの所要時間を測定した。

各々基質添加時の脱色色間を Z, 基質無添加時

(対照)の脱色時間を Z' とし、その逆数即ち $1/Z'$ 、 $1/Z'$ に100を剰したものを一応逆数値とし、対照逆数値と各々基質添加時の逆数値の差を求め、これを仮に基質による有効活性度と見た。

第2表並びに第3表はS培地及び glucose 培地に発育した H 37 Rv の成績である。

S 培地発育菌の無細胞液は作製そのままのものを、glucose 培地発育菌は作製後3倍に稀釈したものを使用した。稀釈せる理由は原液のままでは内部呼吸(基質添加なしの脱水素能)が高く、又基質による特異的活性を検討するのに不便のためである。

第2表 H37Rv 無細胞液の基質に対する脱水素能

基 質	発 育 培 地	
	S 培 地	glucose 培地
pyruvic acid	7.1	0.7
lactic acid	43.1	7.3
acetic acid	1.4	0.0
citric acid	2.0	- 0.2
succinic acid	5.1	0.8
malic acid	10.3	0.7
fumaric acid	5.5	0.5
tartaric acid	1.7	0.4
n-butyric acid	1.4	- 0.8

第3表 H37Ra 無細胞液の基質に対する脱水素能

基 質	発 育 培 地	
	S 培 地	glucose 培地
pyruvic acid	5.3	0.9
lactic acid	10.1	6.7
acetic acid	- 0.3	0.4
citric acid	0.3	0.2
snccinic acid	2.4	1.7
malic acid	5.3	0.9
fumanic acid	4.1	0.7
tartaric acid	2.3	0.9
n-butyric acid	1.0	0.5

S 培地に発育した H37Rv. H 37 Ra の両無細胞液の脱水素能を比較すると、一般に総ての供試基質に対し H 37 Rv は活性度が高い。即ち pyruvic acid に於ても稍々高く、又 lactic acid に於ては4倍以上も、又 succinic acid で2倍以上、malic acid で約2倍、fumaric acid でも稍々高い。

然るに glucose 培地に発育した H 37 Rv. H 37 Ra

の両無細胞液に於ては、両株間につの活性度に於て殆んど差が認められない。

更に S 培地、glucose 培地に発育した H 37 Rv を検討すると有意の差が認められる。即ち S 培地の H 37 Rv は pyruvic acid で10倍、lactic acid. 6倍、succinic acid, 7倍、malic acid. 15倍、fumaric acid. 11倍と著しく活性が強い。

同様に S 培地、glucose 培地の H 37 Ra を比較しても、この傾向がやはり認められる。

即ち pyruvic acid. 6倍、lactic acid. 1.5倍、succinic acid. 1.4倍、malic acid. 6倍、fumaric acid. 6倍、tartaric acid. 2.5倍と S 培地発育菌の無細胞に於て活性が強い。しかし H 37 Rv の両培地に於ける差に比較すると H 37 Ra では遙かに弱い。

以上の成績から H 37 Rv, H 37 Ra 共に glucose 培地発育菌の無細胞は S 培地のものに比較して活性が低い。特に其の差は H 37 Rv に於て著明である。

結核菌は炭素源として glycerol, glucose 共に利用し発育、増殖することは可能であるが、glycerol を炭素源とすることがやはり適当であり、この場合活性は著しく高められる。このことは特に毒力株に於て著明に現われるものと思われる。

B) 無細胞液の透析処理が脱水素酵素反応に及ぼす影響

山村(1949)¹⁶⁾は鳥型結核菌竹尾株の無細胞液を使用し、各種脂肪酸を基質として脱水素反応を検討し、更に無細胞液を透析して得られた内液(Apo部)と外液(Co部)について n-butyric acid を基質として脱水素反応を実施し、Apo部+Co部の場合に於てのみ n-butyric acid が脱水素される。その至適 pH は7.7附近であることを述べている。即ち透析により Apo部と Co部に区別せられることを確認した。

著者は前記実験に使用した H 37 Rv. H 37 Ra の無細胞液を透析処理し、前記基質中 pyruvic acid, lactic acid, succinic acid, malic acid と更に糖として glucose, trehalose の2種、更に amino acid として dl- α -alanine, l-histidine-HCl, glutamic acid を供試した。

Thuuberg 管の内容は 0.1M phosphate buffer 液。(pH 7.0) 0.5 ml, 0.1 M 基質. 0.5 ml, 0.0002 M methylen blau. 0.25 ml, これに Apo部の場合、これを 0.5 ml, 又 Apo部+Co部の場合、それぞれ 0.4 ml+0.6 ml として実験した。

H 37 v の S 培地, glucose 培地発育菌無細胞液の透析内, 外液による実験結果は第 4 表に示した.

第 4 表 透析内, 外液による脱水素反応
0.1M 基質……0.5ml, 0.1M phosphate buffer.
pH 7.0……0.5ml, 0.0002M Mb……0.25ml,
内, 外液は表中の如し.

(H37Rv)

基 質	内液 ml	外液 ml	S 培地	glucose 培 地
			脱 色 時 間	
glucose	0.5		—	83'
	0.4	0.6	107'	63'
trehalose	0.5		—	77'
	0.4	0.6	135'	65'
dl- α -alanine	0.5		—	63'
	0.4	0.6	106'	17'30''
l-histidine-HCl	0.5		155'	52'
	0.4	0.6	42'	28'
glutamic acid	0.5		—	79'
	0.4	0.6	115'	62'
pyruvic acid	0.5		78'	29'
	0.4	0.6	44'	14'
lactic acid	0.5		12'	10'
	0.4	0.6	13'	13'
succinic acid	0.5		58'	63'
	0.4	0.6	52'	58'
malic acid	0.5		125'	40'
	0.4	0.6	25'30''	18'30''
control (0.85% NaCl)	0.5		—	—
	0.4	0.6	110'	75'

透析内液のみで基質の加わらない対照は, 測定 3 時間後にも脱色は認められない. 然るに内液と外液を合せた対照に於ては長時間の観察で脱色が見られる. このことは外液中に純粹の Co 部以外に微量ながら methylen blau により酸化され得る物質の何かが存在することを示したものと思う. 但し Co 部のみでは肉眼的に脱色は認められなかつたので表からは略した.

lactic acid 並びに succinic acid をそれぞれ基質とした場合は, 内液のみの場合と, 内液+外液の場合の両者間に於て, 各々の脱色時間に殆んど差が見られない. 即ち外液はこれら基質の脱水素反応に何

等関与しないことを示したものと思う.

malic acid, histidine を各々基質とした場合, S 培地発育 H 37 Rv の内液のみでは脱色に極めて長時間 (2 時間以上) を要するが, これに外液が加わると著しく時間は短縮される. この傾向は glucose 培地発育の H 37 Rv に於ても同様に認められる. しかし後者は内液のみでも前者程脱色時間が長くないので, 外液添加による見掛上の効果は S 培地発育 H 37 Rv 程著明でない.

pyruvic acid を基質とした場合も, 外液を添加することにより, 両者培養とも効果が見られる.

alanine, glucose を各々基質とした場合にも外液の効果は認められるが, glucose に於ては余り著明ではない.

H 37 Ra に於る結果は第 5 表に示した.

第 5 表 透析内, 外液による脱水素反応
0.1M 基質……0.5ml, 0.1M phosphate buffer
pH 7.0……0.5ml, 0.0002M Mb……0.25ml,
内, 外液は表中の如し.

(H37Ra)

基 質	内液 ml	外液 ml	S 培地	glucose 培 地
			脱 色 時 間	
glucose	0.5		46'	60'
	0.4	0.6	30'	48'
trehalose	0.5		43'	63'
	0.4	0.6	30'	55'
dl- α -alanine	0.5		42'	59'
	0.4	0.6	21'30''	25'
l-histidine-HCl	0.5		40'	40'
	0.4	0.6	18'	27'
glutamic acid	0.5		41'	55'
	0.4	0.6	26'30''	28'
pyruvic acid	0.5		38'	57'
	0.4	0.6	19'	32'
lactic acid	0.5		5'40''	25'
	0.4	0.6	7'	28'
succinic acid	0.5		25'	48'
	0.4	0.6	22'	51'
malic acid	0.5		42'	50'
	0.4	0.6	17'	29'
control (0.85% NaCl)	0.5		66'	—
	0.4	0.6	45'	58'

表に示した如くS培地発育 H 37 Ra の内液のみによる対照、内液と外液を合せた対照、又 glucose 培地発育 H 37 Ra による内、外液を合せた対照の3者に於ては脱色が見られた。このことは前記 H 37 Rv に於て述べたと同様に外液中に Co 部以外に酸化され得る物質の存在を疑わしめると同時に、内液中にも被透析成分特に Co 部の残存を思わしめる。

lactic acid 並びに succinic acid では前記 H 37 Rv に於けると同様、脱水素反応に透析外液は関与していない。しかし pyruvic acid, malic acid, histidine を基質に撰んだ場合は、外液を添加することにより脱色時間が短縮される。特に其の傾向は S 培地発育菌の場合に於て著明である。又 alanine, glutamic acid の場合に於ても外液添加の効果が現われる。但し glucose の場合は余り著明ではない。

C) 結核菌乳酸脱水素酵素の耐熱性について

山村、楠瀬等 (1952)¹⁷⁾¹⁸⁾ は鳥型菌竹尾株を使用し、其の処理法により2種の乳酸脱水素酵素を認めている。即ち 50°C, 10分間の加熱処理に安定なものと、不安定なものに区別している。しかし後者は透析処理に対しては安定であるとしている。岡 (1957)¹⁰⁾ は人型、牛型、BCG 等の結核菌で其の S 培地、6週発育菌は殆んど基質に対して脱水素反応は起らないが、lactic acid に対しては長期に亘り活性が存続し、特に弱毒菌(無毒菌)の6週発育菌の lactic acid に対する活性は幼若菌(S培地2週発育菌)と殆んど差がないことを述べている。この条件を用うれば乳酸脱水素酵素反応の検討に極めて好都合である。

そこで著者は H 37 Ra の S 培地発育 6週菌の無細胞液より透析内液、外液を前記同様の方法により作製し、この内液を熱処理することにより、反応に及ぼす影響を検討した。

其の成績は第6表の如くである。

即ち内液を 50°C, 10分間処理することにより活性は無処理内液の $1/6 \sim 1/7$ に低下し、更に 60°C, 10分間処理すると $1/20 \sim 1/25$ に急速に低下することが認められた。

著者の検討した乳酸脱水素酵素は透析には極めて安定であるが、熱処理には著しく不安定である。このことから考えて山村 (1952)¹⁸⁾ の報告した凍結融解法によつて得られた乳酸脱水素酵素と一致するものと思う。

第6表 乳酸脱水素酵素の耐熱性について
0.1M lactic acid……0.5ml, 0.1M phosphate buffer pH 7.0……0.5ml, 0.0002M Mb……0.25ml, 内液, 外液は表中の如し。

外液 ml	内 液			0.85% NaCl ml	脱色時間
	無処理 ml	50°C, 10分 ml	60°C, 10分 ml		
0.5	0.5				6'30"
	0.5				6'
	0.5			0.5	6'*
0.5		0.5		0.5	6'*
		0.5			33'
0.5			0.5		40'
0.5			0.5		125'
			0.5		150'

注. *……0.1M lactic acid の代りに0.85% NaCl を添加したもの

4. 総括及び考按

抗酸性菌の物質代謝の研究に於ては、一般に非病原性抗酸菌、鳥型菌等を使用したものが多い。しかし病原性、抗酸性、発育性状等諸点に於て人型、牛型結核菌と其の性状に相違のあることは事実である。

Ingram (1939, 1940)¹⁹⁾²⁰⁾ は B. cereus の内部呼吸の高いのは菌体内に存在する脂質が関与していることを述べ、又結核菌に於ても多量の抗酸性脂質が内部呼吸に関与することは考えられている。

そこで結核菌の抗酸性脂質に密接な関係のある glycerol と、之の代りに glucose を C 源とした場合、両者培養菌間に差が求められるか否かを見ることは興味あるものと考え、総ての実験は S 培地、glucose 培地に各々発育した人型毒力株 H 37 Rv, 無毒株 H 37 Ra の無細胞液並びに之を更に透析処理して得られた内液 (Apo 部) と外液 (Co 部) につき、pH 7.0 の状態で脱水素酵素反応により検討した。

即ち glycerol を C 源とした S 培地発育菌は、一般に供試基質に対し H 37 Rv の方が活性は強い。特に lactic acid に於ては4倍、malic acid に於ては2倍も H 37 Ra より強い。このことは毒力菌側に於ては glycerol を C 源とした場合、各種基質に対し代謝が旺盛である証拠と思う。

次に glucose 培地に発育した H 37 Rv, H 37 Ra を見ると両株共に S 培地発育菌に比し、活性は一段と低下する。特に H 37 Rv に於ては、この傾向は

著しいものがある。第2, 3表に於て見られる如く H 37 Rv の glucose 培地発育菌は S 培地のものに比し lactic acid では $1/6$, malic acid で $1/15$, Pyruvic, fumaric acids で約 $1/10$, succinic acid で約 $1/7$ に低している。ところが H 37 Ra の glucose 発育菌は S 培地の発育菌に比し lactic, succinic, acids で稍々低下する程度で余り差は見られない。pyruvic, malic, fumaric acids で約 $1/6$ 低下が見られた。即ち glucose を C 源とした場合は毒力株, 無毒株共にその代謝は低下するが, 特に毒力株に於て其の影響は大であると思われる。

更に実験を一段と精製の段階に進めるため H 37 Rv, H 37 Ra 両株の S 培地, glucose 培地発育菌の無細胞液を透析処理し, 其の内, 外液と基質との関係を検討したが, 其の結果は第4, 5表に示した如く lactic, succinic acids では全く外液に関係なく内液のみで反応は進行する。succinic dehydrogenase には被透析成分のないことは以前より明かにされているが, lactic dehydrogenase には2種あることが述べられている。著者の場合の処理法に於ては山村等 (1952)¹⁷⁾¹⁸⁾ の述べている 50°C , 10分の加熱に不安定で, 透析に安定な lactic dehydrogenase と思われる。

又 malic acid, histidine が各々基質である場合は外液が著明に反応に関与することが認められた。其の他のものに於ても外液の関与を思わしめるもの (alanine, glutamic, pyruvic acids) もあるが, しかし著者の撰んだ処理法により完全に Co 部, Apo 部の分離が出来ていないことも窺えるので決定は至難である。即ち外液に酸化され得る物質の存在が認

められること, 又内液に僅か乍らも Co 部の残存を思わしめるものがあることである。

又 lactic dehydrogenase の加熱に対する影響を検討した結果, 50°C , 10分間の加熱により $1/6\sim 1/7$ に活性は低下し, 60°C , 10分間で $1/20\sim 1/25$ に低下した。以上のことから熱処理に極めて敏感に影響を受けることが判明した。

5. 結 論

人型毒力株 H 37 Rv, 無毒株 H 37 Ra を S 培地並びに glucose 培地に発育せしめ, その無細胞液及び之の透析内液, 外液につき脱水素酵素反応を検討し, 下記の結論を得た。

1. S 培地発育菌より得た無細胞液は H 37 Rv, H 37 Ra 共に glucose 培地発育の, それに比し活性は強い。特に H 37 Rv に於て著明である。
2. glucose 培地発育のものは, S 培地のものより活性は低下する。この傾向は特に H 37 Rv に於て著しい。
3. lactic, succinic acids を各々基質とした場合は外液は全く反応に関与しないが, malic acid, histidine の場合は著明に外液が関与する。
4. 菌磨碎, 遠心により得られた無細胞液中の lactic dehydrogenase は熱処理に対して極めて不安定である。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師, 村上教授に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Youmans, G. P. : J. Bact., 70, 5, 557, 1955.
- 2) 山村 : 結核菌の生化学, 共立出版社.
- 3) Yudkin, J. : Biochem. J., 31, 1065, 1937.
- 4) Gale, E. F. : Chemical activities of Bacteria., 1951.
- 5) Mudd, S., et al. : J. Bact., 62, 459, 1951.
- 6) Dubos, R. J. : Am. Rev. Tuberc., 60, 385, 1949.
- 7) Dubos, R. J., and Middlebrook, G. : Am. Rev. Tuberc., 58, 698, 1948.
- 8) Bloch, H. : Am. Rev. Tuberc., 61, 270, 1950.
- 9) Patnode, R. A., et al. : Am. Rev. Tuberc., 69, 599, 1954.
- 10) 岡 : 岡山医誌, 69, 5, 1229, 1957.
- 11) Long, E. R., and Finner, L. L. : Am. Rev. Tuberc., 16, 523, 1927.
- 12) Terroine, and Lobstein. : Bull. Soc. Chem. Biol., 5, 182, 1923.
- 13) 川畑・福岡医誌, 27, 833, 1934.
- 14) 岡・岡山医誌, 68, 5, 1247, 1957.
- 15) Dixon, M. : Biochem. J., 28, 237, 1934.
- 16) 山村, 今津 : 医療, 3, 9, 15, 昭和24年.
- 17) 楠瀬他・結核, 27, 72, 243, 1952.
- 18) Yamamura, Kusunose. : J. Biochem., 39, 227, 1952.
- 19) Ingram, M. : J. Bact., 38, 6, 599, 1939. 38, 6, 613, 1939.
- 20) Ingram, M. : J. Bact., 40, 5, 683, 1940.

Studies on the Metabolic Aspects of *Mycobacterium tuberculosis*

I: Cell-Free Extract, its Outer and Inner Solutions of Dialysis and Their Dehydrogenase Activities

By

Sennosuke TAKIZAWA

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

The acid-fast lipid of *Mycobacterium tuberculosis*, which is considered to be important for the manifestation of its virulence, has very intimate relation with the concentration of glycerol in culture media. In addition to this, glycerol plays a very important role in the metabolism of carbon sources of *Mycobacterium tuberculosis*. In consideration of these facts, the author studied the dehydrogenase activities of the cell-free extract and of its outer and inner solutions of the dialyzate of *Mycobacterium tuberculosis* cultured in each of Sauton's liquid media containing glycerol and glucose in place of glycerol. The results are briefly summarized as follows:

- 1) The dehydrogenase of the cell-free extract of H37Rv and H37Ra, particularly of H37Rv, cultured in Sauton's glycerol media are stronger than those cultured in glucose media.
- 2) For the dehydrogenation of lactate and succinate by the cell-free extract, the addition of the outer solution of dialysis is not needed. In cases of malate and histidine, however, the outer solution is highly needed.
- 3) The lactic dehydrogenase of the cell-free extract obtained by disintegration in the mortar and centrifugation is very unstable to heating.