

Sh. dysenteriae の酵素的性状について

第 1 篇

発育に於ける栄養要求, 及び静止菌の基質酸化

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上栄教授)

難 波 敏 夫

〔昭和33年11月17日受稿〕

目 次

I. 緒 言

II. 実験材料及び実験方法

III. 実験成績

1. 各菌の catalase 活性

2. 各菌の発育に於ける栄養要求

3. 静止菌の amino 酸代謝

4. 静止菌による C 源の酸化

IV. 総括及び考案

V. 結 言

I. 緒 言

一般に細菌には catalase を保有するものと、然らざるものがある。肺炎菌では catalase を保有しないため発育中、或は静止菌の糖類酸化途次に H_2O_2 が蓄積することが知られて居り、¹⁻³⁾ 又連鎖球菌に於ても同様のことが見られ⁴⁾。此のため血液の添加その他により生成 H_2O_2 を除去しないと菌体が障碍される。

Sh. dysenteriae に属する菌にも catalase を有するものと、これを全く欠くものがある。之等菌の間には catalase 以外の酵素的性状には殆んど有意の差異が認められない。而して本研究に於ては Sh. dysenteriae に属する各菌発育に於ける栄養要求性、静止菌の 2, 3 酵素的性状を比較し、次いで此等の菌の catalase, peroxidase 作用を検討した。以下その実験成績を記して御批判を仰ぐ次第である。

II. 実験材料及び実験方法

供試細菌: Sh. dysenteriae A₁~A₇ に属する標準株の教室保存のもの。

生菌浮游液の調製: 培地より集めた菌体を M/50 磷酸緩衝液 (0.85% NaCl 加, pH 7.0) で 2 回遠沈洗滌し、再び同一組成の緩衝液に浮游した。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。

catalase 活性の測定⁵⁾: Warburg 検圧計を用い主室に菌液 2.0ml, 磷酸緩衝液 0.7ml, 側室に H_2O_2

(終濃度 M/300) 0.3ml, を入れ、側室を主室に混入してから 10 分間の O_2 消費量を測定して catalase 活性を比較することとした。

O_2 消費量の測定: Warburg 検圧計を用い常法⁶⁾に従った。尚阻害剤を用いる実験に於ては、阻害剤は容器の主室に菌液と共に入れよく接触せしめ、15 分後に基質を側室より混入して O_2 消費量の測定を行うようにした。

基質、阻害剤: すべて市販品を蒸留水に溶解して用い、必要によつては NaOH 又は HCl を以て pH を修正した。

amino 酸の paper chromatography⁷⁾: 上昇法により、展開剤は butanol, acetic acid, water (4 : 1 : 2), 又は水飽和 phenol を用いて行い、発色は ninhydrin 反応によつた。これによる定量は精度が低いためその spot の大きさより amino 酸量の概略を +, - の符号を以て示すにとどめた。

glucose の定量⁸⁾: 試料溶液に 3,5-dinitrosalicylic acid 試薬を加え 5 分間沸騰水中に浸し、その赤褐色発色を比色して定量した。

pyruvate の定量⁹⁾: 2,4-dinitrophenylhydrazine を用いる比色法によつた。

III. 実験成績

1. 各菌の catalase 活性

Sh. dysenteriae に属する菌は catalase を有するものと然らざるものがある。そこで実験を行うに先立

ち A₁~A₇ の各供試菌の catalase 活性を測定した。普通寒天18時間培養の菌体を各菌同様の操作で洗滌した後、緩衝液に浮遊せしめ、同一の菌濃度（湿菌量 1 mg/cup）として用い、H₂O₂ 添加後10分間及び20分間の O₂ 発生量を測定して catalase 活性を比較したところ第1表に示す結果を得た。

第1表 各菌の catalase 活性 (pH 7.0)

菌	O ₂ 発生量 μ l
A ₁	0
A ₂	56
A ₃	0
A ₄	0
A ₅	0
A ₆	204
A ₇	189

主室：菌液（湿菌量 1 mg）2.0ml, 緩衝液 0.7ml
 側室：H₂O₂（終濃度M/200）0.3ml
 37°C, pH 7.0, 反応時間 10min.

即ち、A₆, A₇ は catalase 量が著しく大であり、A₂ は僅かに catalase を保有し、A₂, A₃, A₄, A₅ は全く保有していなかった。

2. 各菌の発育に於ける栄養要求

供試菌 A₁~A₇ の各菌の発育に於ける amino 酸及び nicotinamide(NA), VB₆ の要求を調べるため

第二磷酸ソーダ	2.5 gr
第一磷酸カリ	0.35 //
硫酸マグネシウム	0.01 //
硫酸第一鉄	0.001 //
食 塩	3.0 //
グルコース	2.0 //
蒸溜水	1.0 l
pH	7.0

の組成の基礎培地に第2表に示す如く各種 amino 酸及び NA, VB₆ を添加し各菌を接種、同一組成培地に5代継代し発育可能なものを+、不能なものを-として表示した。

第2表 発育に於ける栄養要求

培地No.	培 地 添 加 物 質	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇
No. 1	NH ₄ Cl, glut. NA, VB ₆	-	-	-	-	-	-	-
No. 2	glut. cyst. NA, VB ₆	-	-	-	-	-	-	+
No. 3	glut. cyst. methio. NA	-	+	-	-	-	+	+
No. 4	glut. cypt. metho. NA, VB ₆	-	+	-	-	-	+	+
No. 5	glut. cyst. methio. asp. al. trypt. hist. val. leuc	-	+	+	-	-	+	+
No. 6	No.5+NA	-	+	+	-	-	+	+
No. 7	No.5+VB ₆	+	+	+	+	+	+	+
No. 8	No.5+lysine. gly. prol. ser	+	+	+	-	+	+	+
No. 9	No.8+tyr. val. arg	+	+	+	+	+	+	+

基礎培地組成：第2磷酸ソーダ2.5g, 第1磷酸カリ0.35g, 硫酸マグネシウム0.01g, 硫酸第1鉄0.001g, 食塩3.0g, グルコース2.0g, 水1l, pH7.0

glutamin 酸濃度は 1000 γ /cc, 他の amino 酸は 100 γ /cc, NA は 10⁻⁵M, VB₆ は 10 γ /cc となるようにした。結果は同表の通りであつて NH₄Cl, glutamin 酸培地では NA, VB₆ を添加しても（培地No. 1）何れの菌も発育し得ない。これに cysteine を加えたもの（培地No. 2）では A₇ のみ発育可能となつた。尚此の培地から NA 或は VB₆ を除くと A₇ も発育不能であつた。（培地No. 3）即ち glutamin 酸, cysteine, methionine, NA の存在では A₂, A₆, A₇ が発育可能であり、これに更に VB₆ を加えても（培地No. 4）他の菌は発育不能であつた、即ち A₂, A₆, A₇ は比較的簡単な amino 酸組成で発育が可能であ

るのに対し、A₁, A₃, A₄, A₅ は更に多くの amino 酸を要求するものと考えられる。

そこで amino 酸の種類を漸次増加し、NA, VB₆ を加えた場合と加えない場合についてこれら4菌の発育の可否を調べた。

glutamin 酸, cysteine, methionine, asparagin 酸, alanine, tryptophane, histidine, valine, leucine の場合（培地No. 5）では A₃ のみ発育可能であり、これに NA を添加しても他の菌は発育しないが（培地No. 6）、VB₆ の添加によつて A₁, A₄, A₅ 共発育可能となつた（培地No. 7）。培地No. 5に lysine, glycine, proline, Serine を追加すると（培地No.

8) VB₆ の添加なくして A₁, A₅ は発育可能となり, 更に tyrosine, valine, arginine を追加すると (培地No.9) A₄ も発育可能となつた.

3. 静止菌の amino 酸の代謝

各菌の数種 amino 酸の分解及び生成能を比較するため第3表に示す各 amino 酸を基質として O₂ 消費量を測定した.

第3表 静止菌の amino 酸酸化能
O₂ 消費量 μl

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇
基質なし	5	7	2	6	7	13	55
glutamate	15	181	53	86	48	24	65
asparate	36	112	103	13	96	72	43
alanine	7	96	18	35	31	55	19
glycine	9	17	10	9	13	34	14
leucine	11	9	7	6	9	18	12
tryptophane	5	9	6	11	8	11	10
histidine	6	7	6	9	8	41	5
cysteine	17	19	9	7	12	21	7
methionine	10	8	11	8	7	81	11

菌液 (湿菌量 10mg) 2.0ml, 基質 0.3ml, 全量 3.0 ml とする, pH 7.0, 37°C, 1 hr.

基質濃度: cysteine 以外は終濃度 M/100, cysteine は M/500

表の如く glutamin 酸は A₁, A₆ 以外の菌により, asparagin 酸は A₄ 以外の菌により, alanine は A₁, A₃ 以外の菌によりよく酸化される. 然るに glycine は A₆ 以外の菌では比較的酸化され難く, leucine, tryptophane, histidine, cysteine, methionine は一般に酸化されがたいようであつた.

次に各菌に glutamin 酸, alanine, glycine (各々 M/100) を glucose (M/100) と共に添加して 2 時間振盪し, 上清中の新生 amino 酸を paperchromatography により検索した. 生成 amino 酸の定量は困難であるので chromatogram 上の spot の大きさより, 概量を判定して+, ±, - を以て表示するに止めた. 成績は第4表に一括して示した通りであつた.

(4表は次頁に掲載)

以上の如く各菌共一般に asparagin 酸, glutamin 酸, alanine の検出される場合が多く, 菌によつて β-alanine を生成する場合も認められ, 又 A₂ で glucose+glutamin 酸を与えた場合に微量の leuc-

ine を, A₆ で glucose+asparagin 酸を与えた場合に微量の leucine と valine を検出した. 尚 glutamin 酸, asparagin 酸, alanine, glycine を各単独で菌に与えた場合には新生 amino 酸量は極めて僅かであり, 且つ上述の glucose と共に加えた場合と質的に異なつた amino 酸の生成は認められなかつた.

4. 静止菌による C 源の酸化

各供試菌の C 源, 特に glucose の酸化様式を比較するため, 先づ各静止菌体の glucose, gluconate, ribose, pyruvate, lactate, acetate, succinate (各 M/100) を基質とした O₂ 消費量 (1 時間値) を測定した所, 第5表に示す通りであつた.

第5表 静止菌の C 源酸化
O₂ 消費量 μl

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇
なし	3	10	7	18	14	5	18
glucose	82	91	78	98	64	126	98
gluconate	3	18	41	96	32	12	73
ribose	2	13	127	137	53	60	72
pyruvate	54	107	49	56	45	107	86
lactate	102	20	146	77	59	162	134
acetate	6	20	78	38	22	45	12
succinate	5	66	59	46	25	88	57

菌液 (湿菌量 10mg) 2.0ml, 基質 (終濃度 M/100) 0.3ml, 全量 3.0ml とする pH 7.0, 37°C, 1 hr.

基質無添加の O₂ 消費 (endogenous respiration) は各菌共一般に小であり, glucose, pyruvate, lactate は各菌共よく酸化するが, gluconate は A₁, A₂ により, ribose は A₁, A₅ によりやや酸化され難いようであつた.

次に各菌の glucose 酸化様式を比較するため各種阻害剤の glucose 酸化に対する影響を検討することとした. 各供試菌浮游液に glucose (M/100) を基質として加え, 更に 2,4-dinitrophenol (DNP₁ 10⁻⁴ M, 10⁻³ M), monooacetate (1 A, 10⁻⁴ M, 3 × 10⁻⁴ M), KCN (10⁻⁴ M, 10⁻³ M), arsenite (10⁻⁴ M, 10⁻³ M), hydroxylamine (H × A₁ 10⁻⁴ M, 10⁻³ M), NaN₃ (10⁻³ M, 10⁻⁴ M) を各々加えて振盪し, 1 時間後に遠沈上清中の glucose 残量, pyruvate 蓄積量を定量して, 第6~第12表の成績を得た.

第 4 表 静止菌による amino 酸の生成

		新生 amino 酸				
		asparagin酸	glutamin 酸	alanine	β -alanine	その他
A ₁	glucose+glutamin 酸	±	/	-	-	-
	-+ asparagin 酸	/	±	-	-	-
	-+ alanine	±	±	/	-	-
	-+ glycine	-	-	-	-	-
A ₂	glucose+glutamin 酸	+	/	±	-	leucine (±)
	-+ asparagin 酸	/	+	±	±	-
	-+ alanine	±	-	/	-	-
	-+ glycine	-	-	-	-	-
A ₃	glucose+glutamin 酸	±	/	±	-	-
	-+ asparagin 酸	/	+	-	±	-
	-+ alanine	-	-	/	-	-
	-+ glycine	-	-	-	-	-
A ₄	glucose+glutamin 酸	+	/	±	-	-
	-+ asparagin 酸	/	±	-	-	-
	-+ alanine	±	-	/	-	-
	-+ glycine	-	-	-	-	-
A ₅	glucose+glutamin 酸	±	/	-	-	-
	-+ asparagin 酸	/	+	±	-	-
	-+ alanine	-	±	/	-	-
	-+ glycine	-	-	-	-	-
A ₆	glucose+glutamin 酸	±	/	-	-	-
	-+ asparagin 酸	/	+	-	±	leucine (±). valine (±)
	-+ alanine	±	+	/	±	-
	-+ glycine	±	-	-	-	-
A ₇	glucose+glutamin 酸	+	/	-	-	-
	-+ asparagin 酸	/	±	±	-	-
	-+ alanine	-	-	/	-	-
	-+ glycine	-	-	-	-	-

菌液 (湿菌量 20mg) 1.0ml, glucose 0.25ml, amino 酸 0.25ml, pH 7.0, 37°C,
 反応時間 2 hr., 展開剤 Butanol, acetic acid, water (4 : 1 : 2) 又は水飽和 phenol, 発色剤 ninhydrin.

第 6 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₁

	O ₂ 消費量 μ M	glucose 消費量 μ M	pyruvate 生成量 μ M
glucose	6.9	2.6	0.9
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	7.3	3.2	1.7
-+ DNP 10 ⁻⁸ M	7.0	3.0	4.2
-+ I A 10 ⁻⁴ M	4.2	1.4	0.3
-+ I A 3 × 10 ⁻⁴ M	2.1	1.0	0
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	6.0	1.9	1.0
-+ KCN 10 ⁻⁸ M	1.7	0.6	0.6
-+ arsen 10 ⁻⁴ M	7.2	2.8	3.9
-+ arsen 10 ⁻⁸ M	3.3	1.2	2.0
-+ H × A 10 ⁻⁴ M	5.6	1.9	0.6
-+ H × A 10 ⁻⁸ M	2.2	0.8	0.4
-+ NaN ₃ 10 ⁻⁸ M	7.5	2.7	1.9
-+ NaN ₂ 10 ⁻² M	6.4	2.4	1.4

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 0.3ml,
全量 3.0ml とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

第 7 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₂

	O ₂ 消費量 μ M	glucose 消費量 μ M	pyruvate 生成量 μ M
glucose	5.4	1.9	0.7
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	8.2	3.6	2.9
-+ DNP 10 ⁻⁸ M	3.2	1.6	2.8
-+ I A 10 ⁻⁴ M	1.8	0.6	0.3
-+ I A 3 × 10 ⁻⁴ M	0.9	0.3	0
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	5.2	2.1	1.9
-+ KCN 10 ⁻⁸ M	1.0	0.5	0.2
-+ arsen 10 ⁻⁴ M	5.8	2.3	3.5
-+ arsen 10 ⁻⁸ M	2.7	1.1	2.0
-+ H × A 10 ⁻⁴ M	1.1	0.4	0.2
-+ H × A 10 ⁻⁸ M	0.6	0.2	0.1
-+ NaN ₃ 10 ⁻⁸ M	5.9	2.2	1.1
-+ NaN ₂ 10 ⁻² M	5.6	2.0	1.2

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 0.3ml,
全量 3.0ml とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

第 8 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₃

	O ₂ 消費量 μ M	glucose 消費量 μ M	pyruvate 生成量 μ M
glucose	4.7	1.6	0.6
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	5.1	1.9	1.6
-+ DNP 10 ⁻³ M	3.9	1.5	2.4
-+ I A 10 ⁻⁴ M	1.7	0.5	0.1
-+ I A 3 × 10 ⁻⁴ M	0.4	0.2	0
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	4.9	1.9	1.6
-+ KCN 10 ⁻³ M	0.9	0.4	0.3
-+ arsen 10 ⁻⁴ M	4.5	1.7	2.0
-+ arsen 10 ⁻³ M	1.7	0.7	1.1
-+ H × A 10 ⁻⁴ M	1.0	0.3	0.1
-+ H × A 10 ⁻³ M	0.4	0.1	0
-+ NaN ₃ 10 ⁻³ M	4.6	1.7	0.8
-+ NaN ₃ 10 ⁻² M	4.0	1.5	0.9

菌液 (消費量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 3.0ml, 全量 0.3ml, とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

第 9 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₄

	O ₂ 消費量 μ M	glucose 消費量 μ M	pyruvate 生成量 μ M
glucose	5.2	1.8	0.2
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	5.2	1.9	1.0
-+ DNP 10 ⁻³ M	4.3	1.6	2.0
-+ I A $\frac{1}{3}$ × 10 ⁻⁴ M	2.9	0.9	0.1
-+ I A 10 ⁻⁴ M	1.3	0.4	0
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	4.2	1.5	0.9
-+ KCN 10 ⁻³ M	1.0	0.4	0.4
-+ ars 10 ⁻⁴ M	5.0	1.6	1.2
-+ ars 10 ⁻³ M	2.7	0.8	1.0
-+ H × A 10 ⁻⁴ M	1.6	0.6	0.1
-+ H × A 10 ⁻³ M	1.0	0.4	0
-+ NaN ₃ 10 ⁻³ M	5.9	2.0	0.5
-+ NaN ₃ 10 ⁻² M	5.0	1.8	0.4

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 0.3ml, 全量 3.0ml とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

第 10 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₅

	O ₂ 消費量 μM	glucose 消費量 μM	pyruvate 生成量 μM
glucose	4.1	1.4	0.4
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	4.7	1.9	1.8
-+ DNP 10 ⁻⁸ M	3.4	1.2	2.0
-+ I A $\frac{1}{3} \times 10^{-4}$ M	3.0	1.1	0.2
-+ I A 10 ⁻⁴ M	1.1	0.5	0.1
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	4.6	1.7	1.3
-+ KCN 10 ⁻⁸ M	2.4	0.9	1.0
-+ ars 10 ⁻⁴ M	4.2	1.5	0.8
-+ ars 10 ⁻⁸ M	2.1	0.8	0.4
-+ H×A 10 ⁻⁴ M	4.3	1.5	0.5
-+ H×A 10 ⁻⁸ M	1.2	0.5	0.2
-+ NaN ₃ 10 ⁻⁸ M	4.3	1.5	0.6
-+ NaN ₃ 10 ⁻² M	3.8	1.2	0.5

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 3.0ml, 全量3.0ml とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

第 11 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₆

	O ₂ 消費量 μM	glucose 消費量 μM	pyruvate 生成量 μM
glucose	5.2	1.7	0.3
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	7.0	2.6	0.4
-+ DNP 10 ⁻⁸ M	6.4	2.5	2.0
-+ I A $\frac{1}{3} \times 10^{-4}$ M	3.2	1.0	0.2
-+ I A 10 ⁻⁴ M	1.3	0.4	0
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	4.0	1.5	0.7
-+ KCN 10 ⁻⁸ M	1.0	0.5	0.3
-+ ars 10 ⁻⁴ M	5.5	2.0	
-+ ars 10 ⁻⁸ M			
-+ H×A 10 ⁻⁴ M	5.4	1.9	0.3
-+ H×A 10 ⁻⁸ M	3.0	1.6	0.2
-+ NaN ₃ 10 ⁻⁸ M	5.6	1.9	0.7
-+ NaN ₃ 10 ⁻² M	5.1	1.6	0.6

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 0.3ml, 全量3.0ml とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

第 12 表 glucose 酸化に対する阻害剤の影響

A₇

	O ₂ 消費量 μM	glucose 消費量 μM	pyruvate 生成量 μM
glucose	5.6	1.8	0.4
-+ DNP 10 ⁻⁴ M	6.0	2.0	0.8
-+ DNP 10 ⁻⁸ M	4.5	1.8	2.0
-+ IA 1/3 × 10 ⁻⁴ M	2.2	0.8	0.2
-+ IA 10 ⁻⁴ M	1.0	0.3	0.1
-+ KCN 10 ⁻⁴ M	3.0	1.1	0.5
-+ KCN 10 ⁻⁸ M	1.1	0.4	0.5
-+ ars 10 ⁻⁴ M	5.9	2.1	1.1
-+ ars 10 ⁻⁸ M	2.7	1.0	1.4
-+ H × A 10 ⁻⁴ M	4.4	1.5	0.3
-+ H × A 10 ⁻⁸ M	1.2	0.4	0.1
-+ NaN ₃ 10 ⁻⁸ M	5.9	2.0	0.8
-+ NaN ₃ 10 ⁻² M	5.4	1.7	0.6

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, glucose (終濃度M/100) 0.3ml, 阻害剤 0.3ml, 全量 3.0ml とする, pH 7.0, 37°C, 1hr.

A₁ では阻害剤無添加の場合 O₂ 消費量 6.9 μM に對し, glucose 消費 2.6 μM, pyruvate 蓄積 0.9 μM であるが, DNP 添加により O₂ 消費は僅か乍ら促進され, pyruvate 蓄積は著明に増大し, DNP 10⁻⁸M 添加によつては glucose 1 M の消費に對し 1M 以上の pyruvate 添加により glucose 1M 当り 1M 以上の pyruvate を蓄積した. IA は O₂ 消費, glucose 消費, pyruvate 蓄積を共に著しく抑制し, KCN は 10⁻⁸M で O₂ 消費, glucose 消費を強く抑制し, pyruvate 蓄積の割合は寧ろ増大される傾向であつた. HXA は 10⁻⁸M では O₂ 消費, 消費 glucose を著名に抑制し, 10⁻⁴M では抑制率は小であり, pyruvate 蓄積の glucose 消費に對する割合は, 阻害剤無添加の對照と大差はなかつた. NaN₃ は O₂ 消費 glucose 消費に對する阻害作用は弱く, 又 pyruvate 蓄積の割合に稍々増大する傾向であつた.

以上の成績は A₁ についてであるが A₂~A₇ についても概ね同様の傾向であつて, 阻害剤の影響が特異的であるというような菌は見当らなかつた.

IV. 総括及び考案

Sh. dysenterii に屬する菌には周知の通り catalase を保有するものと, 然らざるものがある. cata-

lase は勿論, 細菌その他の代謝に於て發生する H₂O₂ を分解し, その障除を除去するものとされてゐる. 従つてこれを保有する菌と然らざるもの間には代謝上何等かの差異がないだらうかということは当然考えられることであり, 本研究に於ても Sh. dysenterii に屬する菌の代謝を検討しながらその差異を見出そうと試みた. たゞ有及び無 catalase 菌間の歴然とした差異は見出すことは出来なかつたが, 酵素的性状の概略を知ることが出来た. 以下その実験成績に考案を加える.

先づ磷酸塩 Mg⁺⁺, Fe⁺⁺, NaCl, 葡萄糖を含む培地を用い, これに種々の amino 酸及び NA, VB₆ を加えて各菌の發育に於ける要求度を比較すると, 各菌共 glutamin 酸 NA, VB₆ でも發育し得ず, これに cysteine を加えると A₇ のみ發育可能となり, 更に methionine を加えると A₂, A₆ が可能となる.

これらの菌は何れも catalase を有し, catalase を欠く菌は第 2 表の如く更に複雑な amino 酸組成を要求し, ここに有及び無 catalase 菌間の差異が見受けられる.

一般に catalase を欠く菌, 例へば肺炎菌, 連鎖球菌は發育に於ける營養要求がきびしいように思われるが Sh. dysenterii に於てもこのようなことが認めら

れ、ここに何らかの因果関係が存在するのではなからうか。

次に静止菌の amino 酸の酸化及び生成能を比較すると、一般に glutamin 酸, asparagin 酸, alanine が酸化され易い。又これら amino 酸を glucose と共に菌に与えた場合に他の amino 酸が生成され易いが、この生成 amino 酸も殆んど glutamin 酸, asparagin 酸, alanine に限られて居り、稀に valine, leucine が生成される例が見られるに過ぎない(第4表)。此の実験は前述の発育に於ける amino 酸要求度が有及び無 catalase 菌により差異が見られるということから、amino 酸の酸化或は生成能が catalase の有無により異なるのではないかという考えから行つたのであるが、その成績はまちまちで catalase の有無による差異は見られなかつた。

続いて静止菌のC源、特に glucose の酸化について検討する。先づこれらの基質のC源酸化能を O₂ 消費量により比較すると(第5表)、glucose, pyruvate, lactate は何れの菌もよく酸化し、A₁, A₂, A₆ は gluconate を余り酸化せず、又 A₁, A₂ は ribose を、A₁, A₂, A₅, A₇ は acetate を、A₁ は succinate を比較的酸化し難い。このように菌により種々の差異は見られるが、然し catalase を有するもの A₂, A₆, A₇ と然らざるもの A₁, A₃, A₄, A₅ との間に判然とした差異は見られなかつた。

glucose 酸化様式が菌により異なるか否かを見る手段として本実験に於ては数種の阻害剤による影響を比較するという方法によつた。先づ DNP によつては各菌共一様に glucose を基質とした O₂ 消費、glucose 消費は比較的阻害され難く、且つ pyruvate 蓄積は

増大し、DNP 10⁻³M の添加により 1 M glucose 消費当り 1 M以上の pyruvate が蓄積される。arsenite でも同様に glucose 1M 当り 2M 近くの pyruvate が蓄積されることにより、これらの菌の glucose 酸化は Embden-Meyerhof 経路を経るものと推定せられ、有及び無 catalase 菌間の相異は認められない。

又 catalase を欠く菌は H 伝達機構が catalase を有する菌とは多少異なるのではないかと一応考えられるのであるが、KCN, monoiodoacetate による阻害実験の結果も有及び無 catalase 菌間に差異は見出されず、且つ catalase 作用を阻害することが知られている hydroxylamine, NaN₃ の影響に於ても何ら差異は認められなかつた。

V. 結 言

Sh. dysenterii 1(A₁)~7(A₇) に属する菌の標準株を供試菌とし、発育に於ける栄養要求、並びに酵素的性状を検討して次の結果を得た。

1. 各菌の catalase 活性を比較すると、A₆, A₇ は活性が著しく大であり、A₂ は僅かに活性を示し、A₁, A₃, A₄, A₅ は全く示さなかつた。

2. 発育に於ける栄養要求を比較すると、A₇ はこれらの菌の中、最も簡単な培地組成で発育し得、次いで A₆, A₂ である。これに比し他の菌ははるかに栄養要求がきびしく、従つて catalase を有しない菌は有する菌に比し栄養要求がきびしい傾向が見られた。

3. これらの菌のグルコース酸化に対する数種阻害剤の影響を見た所、catalase を有する菌と有しない菌との間に判然とした差異は見られなかつた。

(文献後掲)

Enzymatic Properties of *Shigella dysenteriae*
Part 1. The Nutrition Requirement for Growth and
the Substrate Oxidation of Resting Cells

Toshio NANBA

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

Using the standard strains belonging to *Sh. dysenteriae* 1. (A₁)-7 (A₇) as the test bacteria, the author studied the nutrition requirement of the growth and enzymatic properties of these cells; and obtained the following results :

1. In comparing the catalase activity of each cell A₆ and A₇ show a marked activity, and A₂ slightly, while A₁, A₃, A₄, and A₅ show no activity at all.
 2. When the nutrition requirements for the growth are compared, A₇ is found to be able to grow in the most simple medium of all, followed by A₆ and A₂. A₁, A₃, A₄ and A₅ possessing no catalase show a tendency to require a more stringent nutrition than those possessing catalase.
 3. Looking over the effects of several inhibitory agents against the glucose oxidation of these cells, no clear-cut difference can be observed between the cells with catalase and without catalase.
-