576.851.49 : 576.8.098

赤痢菌の代謝に関する研究

第 2 篇

細菌代謝に於ける二基質の相互作用

岡山大学細菌学教室（指導：村上　栄教授）

松　浦　慶　之

〔昭和30年12月10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. 呼吸に於ける二基質の相互作用
2. succinate と aspartate 間の相互作用
3. tartarate と glucose, pyruvate, succinate 間の相互作用
IV. 総括及び考案
V. 結　　論

I. 緒　　言

細菌の物質代謝に於て，二基質を同時に菌に添加することにより，それら基質間の相互作用の結果，各単独添加の場合に比し代謝様式に差異の見られる例が種々ある．即ち acetate その他の脂肪酸[1]，proline, hydroxyproline[2] などの cyclophorase 系による完全酸化に於けるいわゆる sparker[3] の効果，Clostridium に属する菌の amino 酸代謝に於ける Stickland 反応[4]，或は又，種々補酵素を介した coupled reaction など広く研究されているところである．

Sevag[5] によると Pneumococcus に属する菌に於ては，静止菌による glucose, fructose, mannose など糖類の酸化の際，生成する H_2O_2 のため反応が抑制されるが，pyruvate を同時に添加することにより H_2O_2 は処理され，O_2 消費の促進が見られる．又 Bernheim[6] は Pneumococcus の pyruvate を基質とした呼吸に於ては，amino 酸を同時に添加することにより O_2 消費が促進され，基質 pyruvate の消失も又これと平行して増大する．而るに反応前後の amino 酸 N の定量の結果その間に差異の認められないことより，amino 酸は何等変化を受けずして単なる触媒として pyruvate の酸化的脱炭酸を促進するものと推定している．但しその詳細な機構に関しては不明であるとしている．Tonhazy & Pelczar[7] は N. gonorrhoeae に於て，glutamate, pyruvate の同時添加により，各単独添加の場合に比し O_2 消費の促進を認め，この理由を DPN を介した coupled reaction に帰し，更に又 glutamate, fumarate 間の呼吸促進作用については glutamate⇆aspartate 間の transamination をその機構として推定している．

筆者は赤痢菌に於て，citrate, tartarate, histidine などは単独添加の際は O_2 消費，CO_2 発生を認めないが，glucose, pyruvate と共に添加する場合呼吸量を著しく増大することを見ている．本篇に於ては，このような呼吸促進的相互作用を種々の二基質の組合せにつき検討し，更にその機構の一端をうかがうこととした．

II. 実験材料及び実験方法

供試細菌： Sh. dysenteri 3，Sh. flexneri 1（中村菌），Sh. flexneri 3（川瀬菌）各標準株の教室保存のもの．

基質，阻害剤：何れも市販品を適当濃度に蒸

溜水に溶解し，HCl 又は NaOH により pH を修正して用いた.

生菌浮游液：前報[8]と同様操作で洗滌し，M/50 燐酸緩衝液（0.85% NaCl 加）に浮游し，菌量は光電比濁計により決定した.

呼吸量測定：Warburg 検圧計[9]によつた.

amino 酸の分析：amino 酸の定性は paper chromatography[10]によつた. これによる定量は精度が低いため，spot の大きさより amino 酸量の概略を判定するに止めた. 展開剤としては n-butanol・acetic acid・water（4：1：2），水飽和 phenol を適宜用い，発色は ninhydrine 反応によつた.

keto 酸の分析：その定量は 2,4-dinitrophenylhydrazine による比色法[11]，同定はその 2,4-dinitrophenylhydrazone の paper chromatography[12]によつた.

P^{32} を用いる実験：前報と全く同様の操作で実施し，分画は Schneider 法[13][14]により，又 P^{32} 量は Geiger 計数管による 2 分間のカウント数として表わすこととした.

Ⅲ. 実験成績

第１表　O_2 消費に於ける二基質の相互作用（A）

	Sh. dys. 3	Sh. flex. 1	Sh. flex. 3
aspartate	39	28	23
citrate	0	0	0
— ＋asp.	28	25	20
α-ketoglutarate	0	0	0
— ＋asp.	30	28	20
succinate	70	65	51
— ＋asp.	162	113	19
fumarate	49	32	23
— ＋asp.	125	82	15
malate	46	92	25
— ＋asp.	53	103	30
pyruvate	52	24	103
— ＋asp.	135	79	195
glucose	71	51	82
— ＋asp.	171	129	156

菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc，全量 3.0cc とする，pH 7.2，1hr.

第２表　O_2 消費に於ける二基質の相互作用（B）

	Sh. dys. 3	Sh. flex. 3	Sh. flex. 1
glutamate	47	31	26
citrate	0	0	0
— ＋glut.	40	28	25
α-ketoglutarate	0	0	0
— ＋glut.	41	32	29
succinate	69	63	52
— ＋glut.	203	176	97
fumarate	45	33	25
— ＋glut.	155	143	89
malate	47	80	22
— ＋glut.	57	115	38
pyruvate	51	25	93
— ＋glut.	144	87	213
glucose	66	47	81
— ＋glut.	191	136	149

菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc，全量 3.0cc とする，pH 7.2，1hr.

第３表　O_2 消費に於ける二基質の相互作用（C）

	Sh. dys. 3	Sh. flex. 1	Sh. flex. 3
glucose	69	55	71
citrate	0	0	0
— ＋gluco.	108	98	116
α-ketoglutarate	0	0	0
— ＋gluco.	72	54	80
succinate	77	66	41
— ＋gluco.	89	78	88
fumarate	47	40	25
— ＋gluco.	81	70	87
malate	41	96	21
— ＋gluco.	86	111	82
tartarate	0	0	0
— ＋gluco.	101	97	88
histidine	0	0	0
— ＋gluco.	116	89	102
tryptophane	0	0	0
— ＋gluco.	102	71	93
tyrosine	0	0	0
— ＋gluco.	107	88	98
lysine	0	0	0
— ＋gluco.	99	79	108

菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc，全量 3.0cc とする，pH 7.2，1hr.

第４表　O_2 消費に於ける二基質の相互作用（D）

	Sh. dys. 3	Sh. flex. 1	Sh. flex. 3
pyruvate	48	21	97
citrate	0	0	0
— +pyr.	**84**	**53**	**172**
α-ketoglutarate	0	0	0
— +pyr.	51	27	94
succinate	67	63	54
— +pyr.	86	77	106
fumarate	42	33	29
— +pyr.	74	52	113
malate	47	81	23
— +pyr.	70	96	107
tartarate	0	0	0
— +pyr.	**68**	**42**	**129**
histidine	0	0	0
— +pyr.	**71**	**50**	**137**
tryptophane	0	0	0
— +pyr.	**82**	**41**	**121**
tyrosine	0	0	0
— +pyr.	**77**	**39**	**127**
lysine	0	0	0
— +pyr.	**86**	**48**	**136**

菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc 全量 3.0cc とする，pH 7.2，1hr.

1.　呼吸に於ける二基質の相互作用

先ず種々の組合せの二基質を同時に菌に添加した場合の O_2 消費量に現われる影響につき検討した．二基質の組合せの数は極めて多いが，こゝではそのうちの幾種かを選び実験することとした．即ち Sh. dysenteri 3，Sh. flexneri 1，Sh. flexneri 3 を供試菌とし，第1～5表に示す如き基質の組合せに於て O_2 消費量を測定し，呼吸促進的相互作用を示す場合を表中太字を以て表わすこととした．これらの表に見られる如く，一般に各菌共同一組合せに於て促進作用の認められる場合が多いが，中に菌による差異も見られ，Sh. dysenteri 3 に於て succinate 対 tartarate，citrate，histidine，tryptophane，tyrosine，lysine の組合せによる呼吸促進が他菌に比し顕著であること，或は Sh. flexneri 3 に於て aspartate，

第５表　O_2 消費に於ける二基質の相互作用（E）

	Sh. dys. 3	Sh. flex. 1	Sh. flex. 3
succinate	67	61	53
citrate	0	0	0
— +succ.	**102**	71	68
α-ketoglutarate	0	0	0
— +succ.	51	60	55
fumarate	38	26	21
— +succ.	71	64	55
malate	44	91	24
— +succ.	104	105	69
tartarate	0	0	0
— +succ.	**93**	82	69
histidine	0	0	0
— +succ.	**104**	85	71
tryptophan	0	0	0
— +succ.	**95**	71	63
tyrosine	0	0	0
— +succ.	**105**	69	60
lysine	0	0	0
— +succ.	**97**	69	65

菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc 全量 3.0cc とする，pH 7.2，1hr.

succinate 同時添加の際むしろ O_2 消費阻害が見られること，これらはいずれも注目すべき点である．

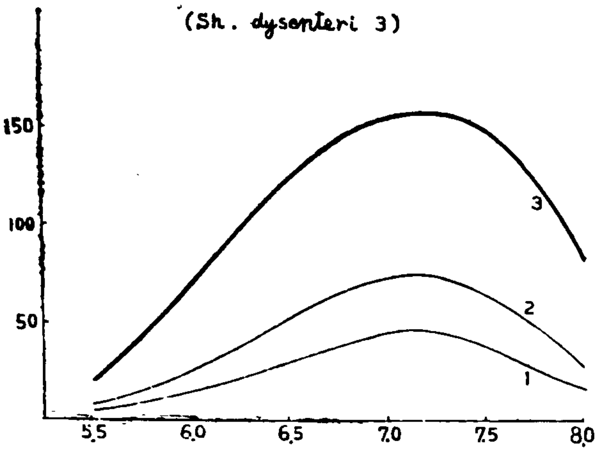
上に表示した種々の組合せの中より二，三の興味あるものにつき以下検討する．

2.　succinate と aspartate 間の相互作用

上述の如く succinate，aspartate を同時に添加することにより，Sh. dysenteri 3，Sh. flexneri 1 に於ては呼吸促進が見られ，Sh. flexneri 3に於ては逆に呼吸阻害が認められる．この呼吸促進作用の pH による影響を見るに，第１図に示す如く促進率の最大は pH7.0～7.5 附近に於て認められた．

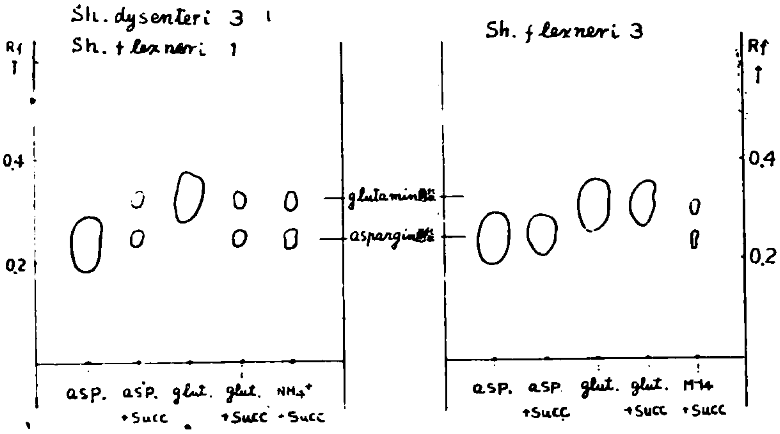
次にこの組合せに於ける呼吸促進機構をうかがう目的から，供試菌三種につき succinate，aspartate，及び succinate，glutamate を添加し incubation 後，medium 中のamino 酸の消長を paper chromatography により検討したところ第２図に示す如き結果を得た．即ち

第1図　aspartate, succinate の相互作用と pH



菌液（湿菌量 10mg）2.0cc, 基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc, 37.5°C, 1hr.
1：aspartate, 2：succinate, 3　aspartate ＋ succinate

第2図　amino 酸の paper chromatograph



菌液（湿菌量 20mg）2.0cc, 基質（終濃度 M/50）各 0.5cc, NH_4^+（終濃度 M/50）0.5cc, 全量 3.0cc とする.
pH 7.2, 37.5°C, 1hr.
展開剤：n-ブタノール•酷酸•水（4：1：2）
発　色：ニンヒドリン反応.

Sh. dysenteri 3, Sh. flexneri 1に於ては aspartate, glutamate単独添加の場合には代謝産物としての他の amino 酸は殆んど検出されず. 又基質 amino 酸の消失もわずかであつた. 然るに succinate を同時に添加することにより，基質 amino 酸の消失は著明となり，代謝産物として夫々 glutamate, aspartate の spot が検出された. これに対し Sh. flexneri 3 に於ては aspartate, succinate 同時添加の場合にも，incubation 後の medium 中に glutamate の生成は殆んど認められず，又 glutamate, succinate に於ても aspartate の生成をわずかに認めるにすぎなかつた.

succinate を基質とした場合，Sh. dysenteri 3, Sh. flexneri 1 では NH_4^+（NH_4Cl, 或は $(NH_4)_2SO_4$）により呼吸が促進されるが，Sh. flexneri 3 に於ては促進が認められない（第6

第6表　NH_4^+ の O_2 消費促進作用

	O_2 消費量 μl		
	Sh. dys. 3	Sh. flex. 1	Sh. flex. 3
succinate	63	51	46
― ＋NH_4^+	103	86	50
NH_4^+	0	0	0

菌液（湿菌量 10mg）2.0cc, 基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc NH_4^+（終濃度 10^{-2}M）0.3cc, 全量 3.0cc とする, pH 7.2, 37.5°C, 1hr.

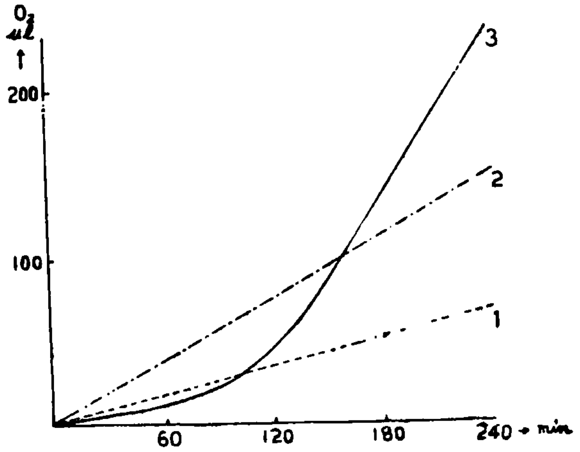
表）. 而してこの際の反応生成物を検索すると，第2図にまとめて示した如く，Sh. dysenteri 3, Sh. flexneri 1 では著明なaspartate, glutamate の生成が認められ，Sh. flexneri 3 に於てはこれが認められなかつた. 以上の如く，Sh. flexneri 3 では aspartate⇆glutamate の反応の起り難いことが推定された.

次に Sh. flexneri 3 につき，succinate, aspartate を基質とした際の O_2 消費の時間的変化を見るに第3図の如く，120′頃迄は両基質同時添加に於ては各単独添加の場合に比し O_2 消費はむしろ減少するのが見られるが，それ以後曲線は漸次立ち上り，呼吸促進的作用の出現が認められた.

3.　tartarate と glucose, pyruvate, succinate 間の相互作用

赤痢菌に於ては，基質として tartarate, citrate, histidine, tryptophane, tyrosine, lysine などを単独で添加しても O_2 消費，CO_2 発生共に認められないに拘らず，glucose, pyruvata, 或は succinate と共に添加する際には O_2 消費の著明な増大が見られる. この種

第3図　呼吸量に対する aspartate, succinateの相互作用

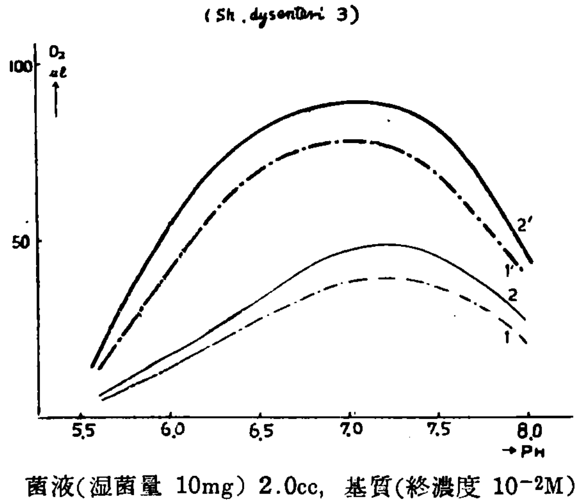


菌液（湿菌量 10mg）2 0cc, 基質(終濃度10^{-2}M) 各 0.3cc, 全量 3.0cc とする, pH 7.2, 37.5°C
1：aspartate, 2：succinate, 3：aspartate ＋ succinate

の組合せの二基質間の相互作用を検討するため，tartarate を代表とし，Sh. dysenteri 3 を供試菌として二，三実験を行つた．

先ず tartarate による呼吸促進作用の pH による影響を見るに，第4図の如く促進作用はかなり広い pH 範囲で見られ，促進率の最大は pH6.5 附近に認められた．

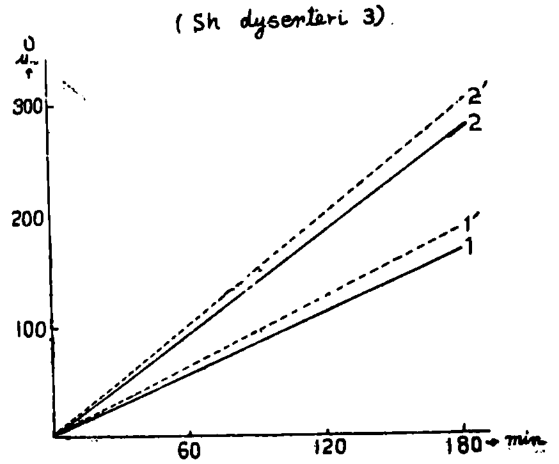
第4図　tartarate の O_2 消費促進作用と pH



菌液(湿菌量 10mg) 2.0cc, 基質(終濃度 10^{-2}M) 0.3cc, 37.5°C, 1hr.
1：pyruvate, 2：succinate, 1′：pyruvate ＋ tartarate, 2′・succinate ＋ tartarate.

又tartarateの呼吸促進作用に対するstreptomycine (10^{-3}M) の影響は第5図に見られる通りである．SM は基質に先立ち菌に加え菌

第5図　tartarate の O_2 消費促進作用に対する SM の影響

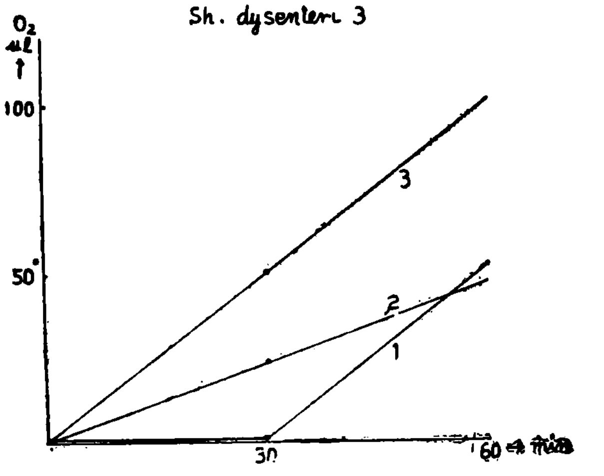


菌液(湿菌量 10mg) 2.0cc, 基質(終濃度 10^{-2}M) 0.3cc, SM (終濃度 10^{-3}M) 0.2cc, 全量 3.0cc とする.
pH 7.2, 37.5°C. 1. succinate, 1′：succinate ＋ SM, 2：succinate ＋ tartarate, 2′：succinate ＋ tartarate ＋ SM

体内への浸入を充分ならしめる如く注意し，各基質は 20′ 後に添加することとした．この実験結果より，tartarate の呼吸促進作用は SM により阻害されず，従つて適応酵素の生成は関与しないと推定された．この実験は citrate, histidine, tryptophane, tyrosine, lysine についても行つたが夫々同様の結果が得られた．

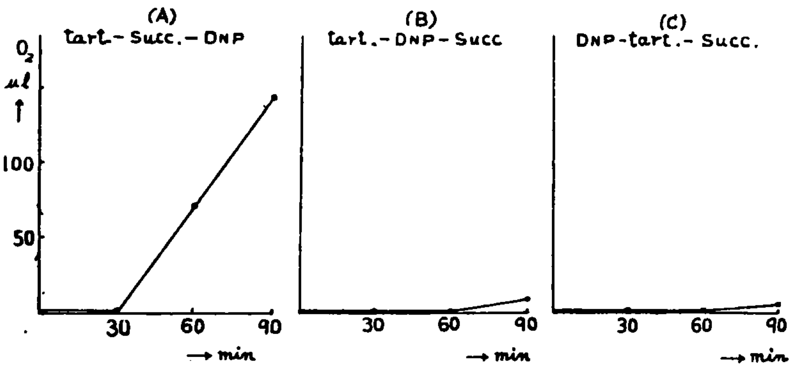
次に tartarate による呼吸促進作用に対する 2, 4-dinitrophenol (DNP) の影響につき検討することとする．tartarate, succinate を菌に与えるに際してはその添加順序により，tartarate の呼吸促進効果に差異の生ずることは第6図の示す通りであり．tartarate は succinate と同時にか或はそれに先立つて添加せねば促進作用が見られない．DNP の作用に関しても，その添加順序による差異を予想し，第7図の如き三通りの順序で基質及び DNP を 30′ 置きに菌に添加し，この間 10′ 毎に O_2 消費量を測定して，DNP の阻害効果を検討した．結果は同図（A）～（C）に見られる如く，DNP を最後に添加した場合には阻害作用が認められないが，他の場合に於ては tartarate の呼吸促進作用が DNP により打消

第6図　tartarate の呼吸促進作用と添加順序



1：最初 tartarate 30分後に succinate,
2：最初 succinate 30分後に tartarate,
2：最初から tartarate ＋ succinate
菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M）0.3cc
全量 3.0cc とする，pH6.5，37.5°C.

第7図　tartarate の呼吸促進作用に対する 2, 4-dinitrophenol の影響



菌液（湿菌量 10mg）2.0cc，基質（終濃度 10^{-2}M），DNP（終濃度 10^{-5}M）0.3cc，全量 3.0ccとする，pH 6.5，37.5°C.

されることを認めた．而してこれと同様の DNP の作用は citrate, histidine, tryptophane, tyrosine, lysine 対 glucose, pyruvate, succinate の組合せについても認められ，これらの呼吸促進作用は一様に，DNP により阻害される如き性状の燐酸代謝を含むことが推察された．

そこで P^{32} を用い succinate を基質とした呼吸時に於ける燐酸代謝に及ぼす tartarate 添加の影響をしらべた．即ち $P^{32}O_4$ を含む燐酸緩衝液に菌を浮游せしめ，succinate, tartarate を添加して incubate し菌体内に摂取された P^{32} の分布状況を検討した．tartarate による呼吸促進作用の至適 pH は 6.5 附近にあるが，この実験に於ては比較のため Mg^{++} 添加についても行う必要上 pH 7.0 を選んだ．又 citrate, histidine, tryptophane, tyrosine 添加の場合をも併せ実験し結果は第7表に一括して示した．同表に見られる如く，succinate, tartarate 同時添加に於ては，succinate 単独の場合に比し，Δ7P に incorporate される P^{32} の著明な増大が認められ，且この増大は tartarate による O_2 消費の増大（第5表）をはるかに上廻つている．Ba 溶存族（六炭糖，三炭糖，pyruvate などの燐酸化合物）に incorporate する P^{32} は tartarate 添加により，succinate 単独の場合よりはむしろ減少することが認められた．Mg^{++}添加により Ba溶存族に incorporate する P^{32} 量が著明に増大することは前報に於て述べた通りである．以上 tartarate 添加により認められた影響は citrate, histidine, tryptophane, tyrosine 添加に於ても見られ，これら添加基質の作用に類似性のあることが推定された．

最後に tartarate 対 glucose, pyruvate 或は succinate 間の相互作用に於て，tartarate 自身は分解されるものか否かにつき実験を行つた．先ず tartarate 添加の呼吸商（RQ）に及ぼす影響を見るに第8表の如く，基質が pyruvate, succinate 何れの場合にも tartarate 添加により RQ の増大が認められ，この発生 CO_2 の一部は tartarate に由来するものと推察された．

次に菌に tartarate 及び ATP を加え，更に keto 酸分解を阻害する α, α'-dipyridyl (10^{-3}M) を添加して incubate し，medium 中の keto 酸の検索を行つたところ第9表の如く，tartarate 単独添加では keto 酸の生成は認められないが，ATPの存在に於て，わずか

第7表 燐酸代謝に於ける二基質の相互作用 (Sh. dysenteri 3)

	P^{32} incorporate (2分間の count 数)		
	Δ7P	Ba 溶存 族	酸不溶性燐
—	547	1633	656
tartarate	614	1745	708
citrate	671	1794	767
histidine	593	1695	749
tryptophane	568	1706	668
tyrosine	608	1652	714
succinate	791	2096	919
— +tartarate	1587	1921	1226
— +citrate	1813	1776	1384
— +histidine	1744	1864	1421
— +tryptophane	1821	1810	1366
— +tyrosine	1796	1920	1326
— $+Mg^{++}$	1963	4611	1446

菌液 (湿菌量 210mg) 7.0cc, 基質 (終濃度 M/50) 各 1.0cc, Mg^{++} (終濃度 $10^{-4}M$) 1.0cc, M/50 燐酸緩衝液 (P^{32}10μc を含む) 1.0cc, 全量10.0cc とする, pH 7.0, 37.5°C, incubation 1hr.

第8表 呼吸商に対する tartarate の影響 (Sh. dysenteri 3)

	O_2 消費 μl	CO_2 発生 μl	RQ
tartarate	0	0	—
pyruvate	46	68	1.47
— +tartarate	98	163	1.66
succinate	58	42	0.72
— +tartarate	121	132	1.09

菌液 (湿菌量 10mg), 基質 (終濃度 $10^{-2}M$) 各 0.3cc, 全量 3.0cc とする, pH 6.5, 37.5°C, 1hr.

の oxalacetate と思われるもの及び著明な pyruvate の蓄積が認められた.

IV. 総括及び考案

二種基質を同時に菌に添加する際各単独添加の場合に比し, それら二基質間の相互作用の結果, 呼吸量が著明に増大される例が多数認められ, その機構に於ても又種々の類型が

第9表 tartarate の分解に対する ATP の効果 (Sh. dysenteri 3)

	pyruvate 生成 μM	他の keto 酸 生成 μM
tartarate	0.2	0.1
— + α,α'-dipyridyl	0.6	0.2
ATP	0.2	0.1
— + α,α'-dipyridyl	0.8	0.2
tartarate + ATP	0.4	0.2
— + α,α'-dipyridyl	2.2	0.9

菌液 (湿菌量 30mg) 2.0cc, 基質 (30μM) 0.25cc, 阻害剤 (終濃度 $10^{-3}M$) 0.25cc, ATP 1.0μM, 全量 3.0cc とする, pH 6.5, 37.5°C, 1hr.

ある. 供試赤痢菌につき種々の組合せで二基質を添加して呼吸促進的な相互作用を検討し, それらの組合せを作用型式を異にする二つの類型に分類すると次の如くなる.

(1) succinat, fumarate に対する aspartate, glutamate の組合せ.

(2) glucose, pyruvate 或は succinate に対する tartarate, citrate, histidine, tryptophane, tyrosine, lysine などの組合せ.

これらのうち (2) では一方の基質 glucose, pyruvate, 或は succinate (Sh. dysenteri 3 に於て) は共に前報で述べた如く Mg^{++} によっても又呼吸促進をうける特徴があり推理に有力な手掛りを与える. これに対し (1) に於ける succinate, fumarate は必ずしも Mg^{++} により, 呼吸促進をうけるとは限らない基質である. 以下これら二, 三の例につきその相互作用の機構をうかがうこととする.

先ず succinate, aspartate の組合せでは, Sh. dysenteri 3, Sh. flexneri 1 に於ては呼吸促進的相互作用を示し, Sh. flexneri 3 ではむしろ阻害作用が認められる. ひるがえって Tonhazy 等[7] は N. gonorrhoeae に於ける glutamate, fumarate 間の呼吸促進作用の機構に glutamate⇆aspartate transamination が関与することを推定している. 赤痢菌に於ても Sh. dysenteri 3, Sh. flexneri 1 など succinate, aspartate 間に呼吸促進的相互作用の見

られる菌では aspartate⇆glutamate の反応が認められ，然らざる Sh. flexneri 3 に於ては殆んど同反応を認め得ない(第2図). 従つて succinate, aspartate 間の相互作用に aspartate⇆glutamate の反応が重要な役割を果すことが推察される. 而してこの aspartate⇆glutamate の反応の性状につき考察するに, Sh. dysenteri 3 などの菌で succinate を基質とした際 NH_4^+ 添加によつても呼吸促進をうけ(第6表), 且 medium 中には aspartate 及び glutamate の生成が認められ（第2図), 生成 aspartate は NH_4^+ と, succinate よりの oxalacetate とから, aspartic dehydrogenase による反応により生成すると考えられ, 従つて上述の aspartate⇆glutamate 反応は aspartic dehydrogenase, glutamic dehydrogenase による二つの反応

aspartate ⇆ oxalacetate + NH_4^+………(1)

NH_4^+ + α-ketoglutarate ⇆ glutamate…(2)

を介して行われるもので, transaminase によるものではないと推察される.

Sh. flexneri 3 に於ては, succinate, aspartate 添加により各単独の場合に比し呼吸量の低下を来すが, これは aspartate 或はその代謝産物により succinate 酸化の何れかの段階が拮抗的阻害をうける結果と考えられ, この菌の succinate, 又は aspartate 代謝に関する酵素系が他菌の場合と若干相異することを暗示するものと推測される. この菌に基質として succinate 及び aspartate を添加した場合の O_2 消費量—時間曲線（第3図）よりするに, 基質添加後120′頃からは促進作用が現れ, 適応的に他菌同様の相互作用の機構が生じるものと見做される.

次に tartarate に対する glucose, pyruvate 或は succinate の組合せについてであるが, 赤痢菌に於ては tartarate 単独添加の場合には O_2 消費, CO_2 発生は共に認められないに拘らず, glucose, pyruvate 或は succinate と共に添加することにより, 呼吸を著明に促進する. この tartarate による呼吸促進が glucose その他の添加により菌が tartarate に適応した結果ではないことは, その O_2 消費曲線（第5図）が反応初期より立ち上つていること, 或は又この促進作用が適応酵素生成の阻害剤streptomycineにより阻害されないことより推定される.

前述の如く glucose, pyruvate, succinate など tartarate により呼吸促進をうける基質はすべて Mg^{++} によつても又著明な促進をうけ, 且 Mg^{++} の呼吸促進の作用点は酸化と共軛した燐酸代謝であると推定されることから, tartarateの作用に於ても燐酸代謝の関与が予想される. このことは又 tartarate の呼吸促進作用に対する DNP の影響（第7図), 及び P^{32} を用い呼吸時に於ける燐酸代謝に対する tartarate の影響を検討した実験結果（第7表）により更に確認される.

$P^{32}O_4$ を含む菌浮游液に基質 succinate を加え更に tartarate 或は Mg^{++} を添加して incubate し, 菌体内摂取 P^{32} の分布を比較するに, Mg^{++} 添加に於ては succinate 単独の場合に比し Δ7P（ATP など高エネルギー燐酸化合物）及び Ba 溶存族（六炭糖, 三炭糖, pyruvate その他の燐酸化合物）に incorporate される P^{32} が増大することは前報の通りであるが, tartarate 添加に於ても Δ7P への P^{32} の incorporation は著明に増大し, 且その増大は tratarate による呼吸量のそれをはるか上廻つている. これに対し Ba 溶存族への P^{32} incorporation は tartarate 添加により, succinate 単独の場合よりむしろ減少する傾向が認められる. これらの事実より考察するに, tartarate 添加により, Mg^{++}添加に於けると同様燐酸代謝の活潑化を来す結果ATP⇆ADP の回転が盛んとなり, 更に Mg^{++} 添加の場合には ATP のエネルギーは菌体内保有の糖類その他の燐酸化に向けられ, ために Ba 溶存族への P^{32} の incorporation が増大するものと考えられ, 一方 tartarate 添加に於ては ATP のエネルギーは tartarate 代謝の方向に向けられるものと解釈される.

このことは tartarate が単独添加に於ては分解されないに拘らず, ATPの共存下では分

解され，α, α'-dipyridyl を添加することにより，反応生成物としての pyruvate の蓄積が認められることからも確認される．

以上のことから，赤痢菌では tartarate の分解に glucose, pyruvate, succinate などのエネルギー源或は ATP による活性化を必要とするものと推定され，又 tartarate による呼吸促進作用も tartarate 添加による ATP⇄ADP の反応の活潑化に起因すると考えられる．ただ tartarate の分解機序の詳細に関しては解明するに至らず今後の研究に待つものである．

而して citrate, histidine, tryptophane, tyrosine なども tartarate 同様その分解に glucose その他のエネルギー源或は ATP による活性化を必要とすると推定され，これらに関しては後報に於て検討することとする．

V．結　論

二，三の赤痢菌を用い，呼吸促進的相互作用を示す基質の組合せの二，三につき，その作用機構に検討を加え，次の結果を得た．

(1) succinate 対 aspartate 或は glutamate の組合せでは，その相互作用の機構に aspartate ⇄ glutamate の反応が関与する．

(2) glucose, pyruvate, 或は succinate 対 tartarate, citrate, histidine, tryptophane, tyrosine, lysine などの組合せに於ては，後者は各単独で菌に添加しても O_2 消費，CO_2 発生共に見られないが，前者と同時に添加する場合，著明な呼吸促進を来し，これは tartarate など後者の添加による ATP⇄ADP 反応の活潑化に起因するものと考えられる．

終り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，併せて放射性同位元素に関し御指導，御協力下さつた金政氏に感謝する次第であります．

参　考　文　献

1) Grafflin, A. L., and D. E. Green . J. Biol. Chem., 176, 95, 1948.

2) Taggart, J. V., and R. B. Krakaur : J. Biol. Chem., 177, 641, 1949.

3) Knox, W. E., B. N. Noyce, and V. H. Auerbach J. Biol. Chem , 176, 117, 1948.

4) Stickland, L. H.: Biochem. J., 29, 889, 1935.

5) Sevag, M. G. : Biochem. Z., 267, 211, 1933.

6) Bernheim, F., and M. L. C. Bernheim J. Bact., 46, 225, 1943.

7) Tonhazy, N. E., and M. J. Pelczar, J. Bact., 65, 368, 1952.

8) 松浦：岡山医学会雑誌，68巻，1〜4号．1956.

9) Umbreit, W. W., et al. . Manometric Techniques and Tissue Metabolism.

10) 佐竹：クロマトグラフ，共立社，91.

11) 標準生化学実験法．文江堂，36.

12) 佐竹：クロマトグラフ．共立社，118.

13) 菊池他：最新医学，6巻，9号，822, 1951.

14) 標準生化学実験法．文江堂，136.

Department of Bacteriology, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Dr. S. Murakami)

Studies on the metabolism of B. dysenteriae

Report 2 : Mutual action between two substrates.

By

Yoshiyuki Matsuura

This study is carried out to determine the mechanism of mutual action between two substrates which act to accelerate bacterial respiration by their mutual action.

From the results of some experiments with some strains of B. dysenteriae, such as Sh. dysenteri 3, Sh. flexneri 1, Sh. flexneri 3, two types of mechanism of the action was discovered, they are as follows.

(1) In the case of succinate and aspartate, or succinate and glutamate, these combinations of substrates can accelerate the respiration as compared in the case of each substrate alone. The mechanism of this mutual action included aspartate ⇆ glutamate reaction.

(2) In the case of couples in which one substrate is glucose, pyruvate, or succinate and another is tartarate, citrate, histidine, tryptophane, tyrosine, or lysine, these couples of substrates can acceletate the respiration too, in spite of the fact that the latter substrates cannot be oxidized when they are added alone to organisms. The mechanism of this mutual action includes the phosphorous metabolism coupling with oxidation, and addition of the substrates such as tartrate, citrate, etc. to glucose, pyruvate, etc. seemed to activate ATP ⇆ ADP reaction.