大腸菌群細菌の糖代謝に関する研究 (その 1)

Studies on the Carbohydrate Metabolism of the Coli
Group Organisms (Report 1)

(1) α -Glucosidase と β -Galactosidase の分布

(1) Distribution of the α -Glucosidase and β -
Galactosidase.

国立予防衛生研究所 (The National Institute of Health,)

諸岡 信一 (NOBUICHI MOROOKA) 小野 尚子 (NAOKO ONO)

We are used phenol- α -glucoside and p nitrophenol- β -galactoside for the colorimetric determination by the electric method and distribution in coli group organisms of α -glucosidase, β -galactosidase are described.

The carbohydrate metabolism of coli group organisms shows that α -glucosidase, β -galactosidase an integral part of thier determination.

はしがき coli group, *Proteus vulgaris* の glycosidase については此の報告以前に種々の研究が行われている。即ち Hess, Tropp (1926)⁽¹⁾ は生菌を用いて、基質 α -methyl-glucoside, β -methyl-glucoside, α -methyl-galactoside, β -methyl-galactoside で酸又はガス産生試験を行い *B. coli communis*, *B. acidilactici* は α -methyl-glucoside を分解しないと報じ、*B. coli communior*, *B. lactis aerogenes* は α -methyl-glucoside を分解して酸又はガスを産生すると云っている。又 Kendall and Gross (1930)⁽²⁾ は *B. coli-communis*, *B. coli communior*, *B. cloacae*, *B. lactis aerogenes*, *B. Proteus* 等の菌を用いて α -methyl-glucoside の分解試験を行い、*B. coli communis*, *B. coli communior*, *B. lactis aerogenes* は分解力を持たず、*B. cloacae*, *Proteus* が α -methyl-glucoside の分解力を持つて居ると報告している。Koser and Saunder (1932)⁽³⁾ⁱ は fecal coli, *Aerobacter* を分離し、 α -methyl-d-glucoside 分解を IMVIC system と併用して fecal coli は α -methyl-d-glucoside を分解せず、*aerobacter* は此の基質を分解して酸又はガスを産出するといっている。又 Koser and Saunder (1933)⁽³⁾ⁱⁱ は *B. coli*, *B. aerogenes* を α -methyl-d-glucoside に作用させ、*B. aerogenes* だけが分解すると云っている。Tittsler and Sandholzer (1935)⁽⁴⁾ は *Escherichia-aerogenes* は α -methyl-glucoside を分解するものと分解しないものがあると報告している。吾が国では井上(1941)⁽⁵⁾ が大腸菌群の α -methyl-d-glucoside 分解試験を行い Koser and Saunder(1932), Tittsler and Sandholzer(1935) の試験とほぼ同様の結果を得たと報告している。

一方 Hofmann (1934)⁽⁷⁾ は菌の酵素による disaccharide 開裂試験の中で *B. coli* による hetroside 即ち α -methyl-glucoside, α -phenol-glucoside, α -phenol-galactoside, β -phenol-glucoside, β -phenol-galactoside の分解試験の報告を見る。此の試験結果では *B. coli* では hetroside である β -phenol-galactoside だけが開裂されて galactose が遊離されたとの報告を見る。又江崎(1942)⁽⁸⁾ 小林 (1944)⁽⁹⁾ 三輪

(10) 等によつて *B. coli* は β -galactosidase を持つている事を明白にされた。

又最近に到つて E. Hoeckner(1950)(6)は *Escherchia coli* の数株を用いて重複六炭糖が六炭糖にまで分解される時 α -glucosidase の重大性に関して報告を行つている。

故に吾々は此所で生菌培養時に起る糖分解の最終生産物のみで菌の性状を知る事は出来ない。故に此所で lactose の加水分解にあずかる酵素、即ち β -galactosidase、及び sucrose, maltose の加水分解にあずかると云われている α -glucosidase の分布を調べ、此れと並行して生菌培養時の sucrose, maltose, lactose の分解能とを比較しその結果生菌、死菌の間で如何に其の作用が異なるか、又 glucosidase 試験の結果が大腸菌群細菌の鑑別に少しでも役立つものではないかと思ひ此の試験を行つた。

実 験 I. 生菌培養時に於ける糖醱酵

1. lactose, sucrose, maltose を基質にし 37°C で生菌を培養し 48 時間後に lactose, sucrose, maltose の分解を見、表 I の如き結果を得た。
2. glucose を基質とし 37°C で生菌を培養し 48 時間後に酸の産生、ガスの産生を見た。此れは lactose, sucrose, maltose を加水分解した時一分子の glucose はいずれの基質を分解しても分離されて来る、故に加水分解後の糖の分解有無をしらべるために特にこの試験を行つた。
3. 供試菌は Paar の方法で菌型の確認をした。

II. 酵素による基質の分解試験

1. β -galactosidase

(1) 酵 素 液

lactose 加中性ブイヨン寒天に 37°C 20~24 時間培養の菌を 2 mg 白金耳で生理食塩水(滅菌)の 2 cc に懸濁液を作りトルオールを加え此れをそのまま酵素液として用いた。

(2) 基 質 液

p-nitro-phenol- β -galactoside 160mg を蒸溜水に溶解 100cc とした。

(3) 反応混合液

基 質 液	1 cc
酵 素 液	2 cc
磷酸塩緩衝液 (pH 7.0)	1 cc

を混ぜ 37°C に保ち時間毎に反応を見た。

(4) 酵素有無の判定

定性試験のため p-nitrophenol β -galactoside の分解の結果生ずる p-nitrophenol の呈色を肉眼的に判定した。

2. α -glucosidase

(1) 酵 素 液

前項 β -galactosidase の酵素液と全く同一方法によつた。

(2) 基 質 液

phenol α -glucoside 160mg を蒸溜水に溶解 100 cc とした。

(3) 反応混合液

Table I

Distribution of the α -glucosidase and β -galactosidase

Substrate Bacteria Strain	37°C 43 hr				p-nitrophenol β -galactoside	phenol α -glucoside	IMVIC System (paar)				菌 型	菌 名 (出 所)
	lactose	sucrose	maltose	glucose			indol	M. R.	V. P.	Citrate		
C-1	AG	—	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	B. coli communis (伝 研)
C-4	AG	—	—	AG	+	—	+	—	—	—	不明	(" 研)
C-11	AG	AG	AG	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	B. lactis aerogenes (" 研)
C-12	AG	AG	AG	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
C-13	AG	AG	AG	AG	+	—	+	—	—	—	不明	B. coli communior (" 研)
C-14	AG	AG	AG	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	B. cloacae (" 研)
C-15(1)	AG	AG	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	B. coli communior (" 研)
C-16	AG	AG	AG	AG	+	—	+	—	+	—	不明	B. coli communis (" 研)
C-17	AG	AG	AG	AG	+	—	+	+	—	—	不明	B. coli communior (" 研)
C-6	AG	—	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	B. acidi lactici (" 研)
池田株	AG	—	AG	AG	+	—	+	—	—	—	不明	(予 研)
C-13	AG	—	AG	AG	+	—	+	+	—	—	不明	(予 研)
C-15(2)	AG	AG	AG	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	(予 研)
2 A I	AG	AG	AG	AG	+	—	—	—	+	+	A. 1	(予 研)
4 A I	AG	AG	AG	AG	+	—	—	—	+	+	A. 1	牛乳より分離 (予研当室)
5 E 1	AG	—	AG	AG	+	—	+	+	—	—	A. 1	" (" 研)
7 E 1	AG	AG	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	" (" 研)
小 coli	AG	—	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	" (" 研)
ス coli	AG	AG	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	Esch. coli communis (榮 研)
井 coli	AG	—	AG	AG	+	—	+	+	—	—	不明	Esch. coli neopolitana (" 研)
B. oxg	AG	AG	AG	AG	+	+	—	—	+	+	E. C. 1	Esch. acidi lactici (榮 研)
39	AG	A	AG	AG	—	—	+	+	—	—	A. 1	Aerobacter oxgtocum (" 研)
40	AG	AG	AG	AG	+	—	+	+	—	—	E. C. 1	Esch. coli 患者より分離 (北 研)
51	AG	AG	AG	AG	+	—	+	+	+	+	E. C. 1	Esch. coli (" 研)
E 3 イ	AG	—	—	AG	+	+	+	—	+	+	不明	Esch. coli (" 研)
IV	AG	—	—	AG	+	+	+	—	+	+	A. II	食品より分離 (当 室)
VI 15 イ	AG	—	—	AG	+	+	+	—	+	+	A. II	" (" 研)
V 7	AG	—	—	AG	+	+	+	—	+	+	A. II	" (" 研)
VI 20 口	AG	—	—	AG	+	+	+	—	+	+	A. II	" (" 研)
VI 26	AG	—	—	AG	+	+	+	—	+	+	A. II	" (" 研)
E 11-2	AG	—	—	AG	+	—	—	+	—	—	E. C. 1	" (" 研)
中 I 31, 1	AG	—	—	AG	+	+	—	+	—	+	中. 1	" (" 研)
33	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
34	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
35 (2)	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
37 (1)	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
37 (2)	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
37 (3)	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
38 (1)	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
47 (1)	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
48	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
44	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
27	AG	—	—	AG	+	+	—	—	+	+	A. 1	" (" 研)
28	AG	—	—	AG	+	+	+	+	—	+	中. II	" (" 研)
29	AG	—	—	AG	+	+	+	+	—	+	中. II	" (" 研)
30 (1)	AG	—	—	AG	+	+	+	+	—	+	中. II	" (" 研)
30 (2)	AG	—	—	AG	+	+	+	+	—	+	中. II	" (" 研)
7	AG	—	—	AG	+	+	+	+	—	+	中. II	" (" 研)

基 質 液	1cc
酵 素 液	2cc
磷酸塩緩衝液 (pH 7.0)	1cc

を混じ 37°C に保温し 24 時間以後 phenol α -glucoside から遊離する phenol を O Seivers and L. Jannes の改良方法を用い呈色反応によりその有無を判定した。

試薬: p-nitrophenol β -galactoside は教育大学三輪教授より分譲を受け, Phenol α -glucoside の合成は E. Fischer (1916)⁽¹¹⁾ B. Helferlich (1933)⁽¹²⁾ E. Fischer (1916)⁽¹³⁾ の法によつた。上記の表に見られる様に IMVIC system Paar (1936)⁽¹⁴⁾ で大腸菌群鑑別を行い, 一方 β -galactosidase, α -glucosidase の有無判定を行い, 菌型との関係を比較した。

実験成績 1. 供試大腸菌群 48 株中 (例外 3 株を除いて) Esch. coli I II 型, 中間 I II 型, aerobacter I II 型の 45 株 (菌型不明の 6 株を含む) はいずれも β -galactosidase を持つて居た。

2. 供試大腸菌群中 Aerobacter I II 型, 中間 I II 型は 30 株中 28 株は α -glucosidase を有し, E. coli I II 型は α -glucosidase を持つていない事を知つた。

考 察 1. 供試大腸菌群の大部分は β -galactosidase を持つて居る様に思われる。もしも此の酵素が存在する事によつて lactose を分解して酸又はガスを產生するとすれば, Emil Fischer の Indirect fermentation 説の様に加水分解によつて monosaccharide となり分解が進むものと思われ, 初期糖分解の重要な部分を司るものと考えられる。

2. α -glucosidase の存在に於ても又同様に α -glucoside 結合の disaccharide の分解が可能である事が云えると思う。

3. 死菌の suspension で α -glucosidase の存在を証明出来ないにもかかわらず α -glucoside 結合の sucrose, maltose 等を酸又はガス迄に分解する菌は Doudoroff⁽¹⁵⁾ の云つてゐる Amylomaltase によるものではないかと考えられる。又 sucrose の場合は Doudoroff, Wolochow^{(16) (17)} 等の云つてゐる transglucosidase か又は β -h-fructosidase⁽⁶⁾ 又は fructose の transfer lase 等の存在によつて起るかである。又 lactose 分解⁽¹⁸⁾ に関しても以上述べた事柄と同様な事が推測される。

結 論 以上の事柄より β -galactosidase, α -glucosidase の大腸菌群内に於ける分布は生菌培養時に於ける糖分解と同様又はそれ以上に菌の鑑別に重大な意義を持つてゐると思われる。

終りに臨み御指導御校閲を賜つた東京教育大学三輪知雄教授, 国立栄養研究所井上憲政博士に衷心より感謝するとともに御鞭撻御便宜を頂いた東京教育大学理学部高野, 田中, 安村, 予研化学部水野諸氏に改めて深甚なる謝意を呈する。また菌株を譲渡下さつた伝研山本, 北研安斎, 予研斎藤諸先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- (1) Hermann Hess und Caspar Tropp, Cent. Bakt. Para. und Infek. Originale I, Apt 100 B. 273~284 (1926).
- (2) A. I. Kendall., J. Intect. Diseases. Vol XLVII, 249~260 (1930).

- (3) i S. A. Koser and Felix Saunder., J. Bact., 24 (1932).
- (3) ii " " " " J. Bact., 26, 4751 (1933).
- (4) R. P. Tittsler and L. A. Sandholzer, J. Bact., 29, 363~368 (1935).
- (5) 井上憲政 : 栄養研究所報告 Vol. x, No. 2, 82 (1941).
- (6) Eva Hoeckner : Chemical abst. Vol. 44, No. 5, 2070 (1950).
- (7) E. Hofmann : Biochemische Zeit, 272, Bd. 133~143 (1934).
- (8) 江崎 : J. Biochem, 32, 107 (1940).
- (9) 小林 : 日生化, 18, 41 (1944).
- (10) 三輪 : 昭 21. 10. 酵素化学対論会講演.
- (11) E. Fischer : Ber. 49, 584 (1916).
- (12) B. Helferich, E. Schnitz-Hillebrecht, Ber., 66, 378 (1933).
- (13) E. Fischer, L. Mechel : Ber. 49, 2817 (916).
- (14) L. W. Paar : Am. J. P. H 26, 39~45 (1936).
- (15) Doudoroff, M., Hassid, W. Z., Putman, E. W., Potter, A. L., and Lederberg, J. : J. Biol. Chem., 179, 921 (1949).
- (16) Doudoroff, M., Barker, H. A., and Hassid, W. Z. : J. Biol. chem., 168, 725 (1947).
- (17) Wolochow, H., Putman, E. W., Doudoroff, M., Hassid, W. Z. and Barker, H. A. : J. Biol. chem, 180, 1237 (1949)
- (18) J. Leibowitz and S. Hestrin : Adv. Fuzy., 5, 87 (1945).