Candida 属の栄養に関する研究

II *Candida albicans* のアミノ酸同化について

宮 下 四 良

大阪大学微生物病研究所真正細菌学部 (藤野恒三郎教授)

〔受付: 6 月 27 日 1956 年〕

栄養要求による微生物の分類からみれば, *C. albicans* は増殖因子について「厳しい」異家栄養菌である。すなわちこの菌はビオチンの存在下で, アンモニアのような無機窒素とブドウ糖のような炭素源からすべてのアミノ酸を合成し, 自身の菌体成分を組立てることができる。

微生物の窒素摂取の形式は, (1) 無機窒素, (2) 無機窒素+ビタミン, (3) 有機窒素, (4) 有機窒素+ビタミン, の4つに大別され, *C. albicans* は(2)のかたちをとる。このような窒素の摂取形式を持つている菌, 云いかえれば塩類—〔無機窒素+ビタミン〕—含水炭素 (例えばブドウ糖) で充分増殖できるこの菌が, 既成のアミノ酸をどのようにして自己の代謝系にとり込んでゆくのか, またこの菌の必要とするビタミン (ビオチン) のはたらき方に, この既成のアミノ酸がどのようなかたちで影響するのかわしらべた。

実験材料および方法

菌株: 肺結核患者の喀痰より分離した *C. albicans* FIA-1010 (微研保存株) を使用した。Sabouraud のブドウ糖寒天 (ペプトン 10 g, ブドウ糖 40 g, 寒天 25 g, 蒸留水 1000 ml, pH は修正せず) で 37°C, 24 時間培養の菌を滅菌生理的食塩水で 2 回洗滌したものを接種菌とした。

培地: 基礎培地として Glucose-Simmons 培地 (GS-培地) [食塩 5 g, 硫酸マグネシウム 0.4 g, 第 2 磷酸カリウム 1 g, 第 2 磷酸アンモニウム 1 g, ブドウ糖 5 g, 蒸留水 1000 ml, pH 6.8] を用いた。必要に応じてビオチンを添加する。

使用したアミノ酸は, グリシン, DL- α -アラニン, DL-セリン, L-シスチン, DL-スレオニン, L-メチオニン, DL-バリン, L-ロイシン, DL-イソロイシン, DL-フェニールアラニン, L-チロジン, L-トリプトファン, L-ヒスチジン, L-アルギニン, L-グル

タミン酸, L-アスパラギン酸, L-プロリンであり, カゼイン分解物は Vitamin-free Casein (Enzymatic digest, General Biochemical Inc.) を使用した。

培養条件: A) 静置培養法。硝子キャップをほどこした Coleman 光電比色計用のキューベットに培地 7 ml を分注し, 菌接種後 37°C で静置培養した。

B) 振盪培養法, 培地 100 ml を 500 ml の振盪ビンに分注して菌接種後 35°C で振盪培養するか, 培地 10 ml を振盪試験管に入れて菌接種後 35°C の恒温槽の中で振盪培養した。

増殖度測定法: 菌の濁濁度を Coleman 光電比色計の読み ($\lambda=550 \text{ m}\mu$) で測った。

遊離アミノ酸定量法: Troll & Cannan による Moor & Stein の変法³⁾ によった。

アンモニア定量法: Conway の方法²⁾ によった。

ブドウ糖定量法: Somogyi の還元糖定量法⁴⁾ によった。

実験成績

I. *C. albicans* の増殖に対するビオチンとアミノ酸の相関関係について

1) ビオチン添加 GS-培地で *C. albicans* を培養する場合に, アミノ酸の混合物としてカゼイン分解物を加えるとこの菌の増殖は著しく促進される。カゼイン分解物の増殖促進作用は, ビオチンがその有効濃度以下の 0.01 m μ /ml しか存在しないときでも見られるが, ビオチンを培地中に全く含まない場合には認められない。

(図 1)

すなわちカゼイン分解物は, *C. albicans* の増殖に対してビオチンの代役を演ずることはできないが, ビオチ

MIYASHITA Shiro: Studies on the nutrition of *Candida*. II. Assimilation of amino acids by *Candida*. The Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University. — Jap. J. of Bact., 11 (11), 953-960, 1956.

図 1 カゼイン分解物の増殖促進作用
37°C, 48時間, 静置培養

ンの役割の一部分を補うにたがえる、云いかえれば “Biotin-sparing effect” を持っていると言える。

2) カゼイン分解物が *C. albicans* の増殖に対してあらわす “Biotin-sparing effect” を、18種のアミノ酸の個々について調べてみた。その結果、これらのアミノ酸の中から明かに Biotin sparing effect を持っている6種を選び出すことができた。すなわちアスパラギン酸、グルタミン酸、プロリン、アルギニン、セリン、 α -アラニンであり、他の12種のアミノ酸はこの作用を持っていない。Biotin-sparing effect を持っているアミノ酸の群のうちからアスパラギン酸、持っていないアミノ酸の群のうちからヒスチジンを撰んでこの作用を比較してみると次の図のようになる (図2)

図 2 増殖に関するアスパラギン酸とヒスチジンの比較 (その1)
37°C, 48時間 静置培養

3) このようなアミノ酸の作用は、培地中に含まれる濃度によって制限を受ける。Biotin-sparing effect を静置培養48時間で判定すると、多少の差はあるが、培地中のアミノ酸の濃度を50 r/mlにしたときにはじめて認められ100 r/ml以上では極大値となる。しかし48時間以

上培養を続けると、アミノ酸の濃度に応じて増殖菌量が増加する。

これに反して Biotin-sparing effect を持たないアミノ酸は、たとえ添加量を2000 r/mlまで増量しても全く効果がなく、この菌の増殖を促進しない。アスパラギン酸とヒスチジンを撰んで比較してみると次の図のようになる (図3)

図 3 増殖に関するアスパラギン酸とヒスチジンの比較 (その2)
37°C, 48時間 静置培養

これらの事実から、Biotin-sparing effect を持っているアミノ酸の代謝に対してビオチンが密接な関係にあり、しかもこれらアミノ酸が菌の増殖に重要な役割を果たしていることが推定される。

II. Biotin-sparing effect をもつアミノ酸の同化について。

1) ビオチン (10mg/ml) 添加GS-培地から、それぞれブドウ糖またはアンモニウム塩を取り除いて次の3組の培地を調製した。すなわちA培地：ブドウ糖を取り除いたもの、B培地：ブドウ糖とアンモニウム塩を取り除いたもの、C培地：アンモニウム塩を取り除いたもの。このA・B・C3組の培地に18種のアミノ酸を1種ずつそれぞれ加え、*C. albicans* を接種してその増殖度をしらべた (表1)。

Biotin-sparing effect をあらわしたアミノ酸のうち、アスパラギン酸・グルタミン酸・アルギニンの3種を加えた場合だけにA・B培地で菌の増殖が認められたから、この3種のアミノ酸は菌の増殖に対して唯一の炭素源・窒素源になり得るものといえる。またC培地においても、この3種のアミノ酸およびプロリン・セリン・ α -アラニンを加えた場合だけに菌の著しい増殖が認められた。Biotin-sparing effect を持たないアミノ酸群を加えた場合は (表1にはヒスチジン・メチオニン・トリプトファンについて示し、他のアミノ酸は略する)、A・B培地で増殖は殆んど認められず、C培地ではアンモニウム塩を加えたときよりも菌の増殖は劣る。したがってこ

表 1 増殖度でみたアミノ酸同化 (37°C, 静置培養)

培* 地	添* 加物 培養時間	第二 磷酸 アン モン	ブ ド ー 糖	L- ア ス パ ラ ギ ン 酸	L- グ ル タ ミ ン 酸	L- ア ル ギ ニ ン	L- プ ロ リ ン	DL- セ リ ン	DL- ア ラ ニ ン	L- ヒ ス チ ジ ン	L- メ チ オ ニ ン	L- トリ プ ト フ ァ ン	添 加 せ ず
A	48 60		0.540	0.05 0.15	0.08 0.16	0.100 0.230	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
B	48 60			0.015 0.132	0.05 0.132	0.023 0.080	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
C	24 48	0.015 0.540		0.022 0.640	0.043 0.740	0.075 0.720	0.023 0.650	0.007 0.780	0.008 0.750	0.005 0.110	0.010 0.290	0.009 0.270	0 0.008

* 培地組成 A-培地……食塩, 硫酸マグネシア, 第二磷酸カリ, 第二磷酸アンモン,
B-培地……食塩, 硫酸マグネシア, 第二磷酸カリ,
C-培地……食塩, 硫酸マグネシア, 第二磷酸カリ, ブドー糖,
培地含有量は GS-培地に準ずる。アミノ酸は L-型, 1 mg/ml, DL-型 2 mg/ml とする。
数字は増殖度 (-log T.), 0.005 以下は 0 とする。

図 4 アミノ酸添加 C-培地における増殖曲線
35°C, 振盪培養

のアミノ酸群は、炭素源・窒素源としてこの菌の増殖に関連するところが少いと考えられる。

2) Biotin-sparing effect を持っているアミノ酸をそれぞれ添加した C 培地に、菌を移植して増殖曲線をしらべた。(図 4)

グルタミン酸・アスパラギン酸・アルギニン・プロリン添加の場合、菌の増殖曲線ははじめから比較的急速な立ち上りを見せる(アスパラギン酸・アルギニンの増殖曲線は略する)。α-アラニン・セリン添加の場合は、明かな Lag phase を示した後に菌の増殖を示した。こ

図 5 プロリン同化に対するブドー糖の関与

実線: C-培地 + プロリン 1 mg/ml, 但しブドー糖含量は A 10r, B 1r, C 0.1r, D 0r/ml とする。

点線: C-培地, 但しブドー糖含量は 10r/ml, とする。

35°C, 振盪培養

これらのアミノ酸に比べて, Biotin-sparing effect を持たないアミノ酸(トリプトファンで代表する)は、緩かな増殖曲線を示すに過ぎない。

3) グルタミン酸・アスパラギン酸・アルギニンを唯一の炭素源・窒素源として、この菌は容易に増殖でき

る。プロリン・ α -アラニン・セリンの同化には、ブドー糖の存在が必要である。この事実をより明かに知るために、ブドー糖を 0, 0.1 γ , 1 γ , 10 γ /ml になるように加えた 3 系列の B 培地にプロリン・ α -アラニン・セリンをそれぞれ加えて菌の増殖度をしらべた（プロリンの場合について図示する）（図 5）

ブドー糖の存在しないプロリン単独培地で全く増殖しないこの菌は、僅か 0.1 γ /ml のブドー糖の添加で増殖が認められようになり、1 γ ~10 γ /ml とブドー糖を増量するとその濃度に応じて増殖度が著しく高くなる。しかし α -アラニン・セリンの場合は、ブドー糖量に応じて増殖曲線は立ち上がるが Lag phase の長さは一定である。このことから、プロリン・ α -アラニン・セリンの同化はブドー糖の代謝に誘発されてはじめて行われるものと考えられる。

4) そこでビオチン (10 μ r/ml) 添加 G S-培地にこれらのアミノ酸をそれぞれ添加して、菌の増殖曲線をしらべた（図 6）。

図 6 増殖曲線でみたアミノ酸同化の諸相
35°C, 振盪培養

グルタミン酸・アスパラギン酸・アルギニン添加の場合は、ビオチン添加 G S-培地で見られる菌の増殖に比べて急速に上昇する増殖曲線を示し、その増殖量は著しく増加した（グルタミン酸について図示する）。またプロリン添加の場合も、グルタミン酸等で見られたと同様な傾向を見せる。これは明かにブドー糖の代謝に誘発された同時同化のあらわれであらうと考えられる。ところが α -アラニン・セリン添加の場合は、菌は踊り場（中段）のある重複生長を示して増殖した。この現象は逐次同化によるものと思われる。メチオニンに代表される他のアミノ酸を添加した場合の増殖曲線は、基礎培地の場

合と同じ傾向を示すに過ぎない。

以上の事実から、Biotin-sparing effect をもっているアミノ酸は同化形式の面からみて、直接的に容易にとり込まれるものと、そうでなくておそらく逐次的にとり込まれるものの 2 群に分けられるべきものと考えられる。

Ⅲ. アミノ酸の逐次同化について

1) α -アラニン またセリンをを ビオチン添加 G S-培地に加えることによつて菌の重複生長を見たが、この現象の本質を何に求めるかが問題となる。そこで Monod (1942)⁵⁾⁶⁾ が糖同士について試み、金城 (1955)⁷⁾ がアミノ酸同士について行つたのと同様な手技を用いて解析を始めた。 α -アラニンと平行してセリンについても実験を行つたが、殆ど同様な成績が得られたので主に α -アラニンについての成績をのべる。すなわち菌の重複生長を逐次的同化に基因すると考えれば、おそらく菌によつてまずブドー糖が消費されつくした後に、はじめて α -アラニンが同化されるはずである。この場合重複生長による増殖曲線の踊り場は、その濃度比に応じてあらわれるものと考えられる。そこでブドー糖と α -アラニンの「量の和」を Simmons 培地 1 ml 当たり 2 mg に保ちつつ、「量の比」を (A) 3 : 1, (B) 2 : 2, (C) 1 : 3 と変化させてみると、図 7-1 に示したような A・B・C の 3 曲線をえがいて菌は増殖し、その踊り場はそれぞれ全体の $3/4$, $1/2$, $1/4$ の位置にあらわれた。

またこの考えは、ブドー糖の量 (500 γ /ml) を一定として α -アラニンを 5 γ , 50 γ , 500 γ /ml, と変化させた培地での菌の重複生長の現れ方（図 7-2）から見ても裏付けられる（図 7）

このことから、重複生長の第 1 段階ではブドー糖だけがまず優先的に利用され、続いて第 2 段階で α -アラニンだけが逐次的に利用されるものと考えられる。

2) このような菌の生長過程に見られる重複生長は、酵素系の“転換”のあらわれであると考えられる。それにしてもこの酵素系の転換は、何に基礎をもつものなのだろうか。そこでまず、ブドー糖と α -アラニンの混合培地で 2 段目の発育を行つている菌をとり出して、同組成の培地に移植してその発育曲線をしらべた。しかしこの場合も、菌は増殖の過程に踊り場のある重複生長を示した。同じく菌をブドー糖と α -アラニンの混合培地で培養し、1 段目の発育相と 2 段目の発育相の菌をそれぞれとり出して 2 回滅菌生理的食塩水で洗い、 α -アラニン単独の培地に同量菌量を移植して増殖曲線を比較して

図 7 培地組成による重複生長の変化
(35°C, 振盪培養)

(-1)

A..... αアラニン 500 r + ブドー糖 1500 r/ml
B..... " 1000 r + " 1000 r/ml
C..... " 1500 r + " 500 r/ml

(-2)

A..... αアラニン 500 r + ブドー糖 500 r/ml
B..... " 150 r + " "
C..... " 5 r + " "

図 8 増殖でみた重複生長に伴う適応性の獲得

ブドー糖・アラニン混合培地において、第1段階、第2段階の増殖を行いつつある菌を、アラニン単独培地に移植した場合の増殖曲線 A, B を示す。

(35°C, 振盪培養)

みた (図 8)。すると第1段階の発育の途中にある菌は、長い Lag phase のあとでわずかに増殖曲線の上昇を示したのに比べて、第2段階の菌は直ちに急速な増殖を起した。この培養菌をさらに α-アラニン単独の培地に数代継代培養して再びブドー糖と α-アラニン混合培地に

図 9 重複生長に伴う培地中の遊離アミノ酸、アンモニア、ブドー糖の消長

移植しても、やはり増殖の過程に不明瞭ながら踊り場のある重複生長を示した。これらの事実から、この重複生長は酵素的適応現象と密接な関係にあると考えねばならなかった。

3) 今まで増殖曲線の形状の判定から重複生長という現象が2種の栄養物質の逐次的同化であることを間接的に証明してきたが、この重複生長の本質をなお明かにするために直接的な定量実験をおこなった。すなわちブドー糖と α-アラニン混合培地に菌が接種されて増殖を開始し、重複生長を示して増殖が停止するまでの培地中の遊離アミノ酸の定量をおこなった (図 9・A)。これによれば増殖のはじめは全く遊離アミノ酸は利用されないで、第1段階の菌の増殖が終る頃から踊り場に移行する時期に著明な消耗がみられ、そのうち第2段階の発育が終るまで除々に使われてゆく。またこの場合、培地中のアンモニアの定量をおこなうと (図 9・B)、菌増殖のはじめから僅かずつ消費されてゆくが、第1段階の終りから踊り場にかけて急激なアンモニアの増加を認めた。これは α-アラニンの脱アミノ反応によるものと思われる。さらにこの場合の培地中のブドー糖の定量を行つた (図 9・C)。菌の発育がはじまると直ちに急速なブドー糖の消失をあらわし、それは第1段階の終り頃では全く検出できなくなった。このような定量実験の結果から、糖 (ブドー糖) とアミノ酸 (α-アラニンまたはセリン) の逐次的同化は疑いのないものと思われる。

総括および考按

アミノ酸代謝とピオチンの相関については、数多くの人々によって実験が試みられ論じられてきた。中でもアスパラギン酸との関係については詳細に究められており、酵母を用いた Koser 等 (1942)⁸⁾ や乳酸菌を用いた Stokes 等 (1947)⁹⁾ の増殖実験がある。一方アスパルターゼの研究が進められるにつれて、Gale (1938)¹⁰⁾ は大腸菌の洗滌菌液の減弱したアスパルターゼ活性がアデノ

シン等によつて復活する現象を見出したが、のちに Lichstein や Umbreit (1947) がこの問題をとりあげピオチンがアスパルターゼの補欠分子族の一員として働くのであらうと示唆した。さらに翌年 Lichstein と Christman (1948)¹¹⁾ は、アスパルターゼの活性がアデニール酸かピオチンが菌浮游液に加えられることによつて回復することを新たに見出した。いづれにしても、アスパルターゼの補欠分子族としてピオチンが含まれていることはほぼ確からしい。これと同じく大腸菌の洗滌菌液による実験から、ピオチンがセリンの脱水脱アミノ酵素の補酵素と考えられており、またスレオニン脱アミノ酵素の補酵素としても働くとも云われる¹²⁾。

このような研究成績の裏付から、葉酸やパラアミノ安息香酸等の場合と同じように、菌のピオチン要求量は培地組成によつて変化することは容易に考えられる。

Broquist 等 (1951)¹³⁾ が乳酸菌で観察したのと同じ現象が *C. albicans* においても見られ、培地中のアスパラギン酸の量を 50~100 γ /ml に増加させると、ピオチンの要求量は著しく減少し所謂 “Biotin-sparing effect” を現わす。しかしこの菌はアスパラギン酸単独では増殖できないから、ピオチンはアスパラギン酸の合成だけではなく分解にも関与するものと考えられる。このような Biotin-sparing effect は、ほぼ傾向を同じくしてグルタミン酸、アルギニン、プロリン、セリン、 α -アラニンでも認められる。

Biotin-sparing effect を持たないアミノ酸については、この菌の増殖に対して炭素源になり得ないことを確めたが、更にブドー糖が共存しても充分な増殖を起すことができないことから、窒素源としての関連性も少ないものと考えられる。ところが Biotin-sparing effect を持ったアミノ酸においては、アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニンは菌の増殖に対して唯一の炭素・窒素源になり得る。またブドー糖とアンモニアの存在のもとでは、これらのアミノ酸は明かに同時同化される。プロリンについても同時同化の現象がみられるが、少くとも菌が増殖しはじめる契機はプロリン単独ではつくられない。すなわちプロリン単独では炭素源・窒素源となり得ないで、微量のブドー糖が共存するときに限つて菌の増殖が起る。したがつてこの菌の増殖があらかじめ加えられたブドー糖によつて誘発された後、はじめてプロリンの同化が起るものと考えられる。またセリンと α -アラニンの同化形式は、それらのアミノ酸とは明かに違つたかたちを呈している。セリンまたは α -アラニン単独の培地では、菌の増殖が全く起らない。この場合にブドー

糖を添加すると Lag phase の後に菌の増殖がはじめられるが、グルタミン酸やプロリンの場合に比べて Lag phase は長い。この傾向はさらに、ブドー糖とアンモニアの存在下でしらべると一層明かとなり、菌の増殖曲線は踊り場のある 2 つのカーブとなつてあらわれ、いわゆる重複生長を示す。

このような重複生長について始めて明かにしたのは Monod (1942)⁵⁾ であり、彼は枯草菌の糖同化にみられた Croissance double に対して “Diauxie” と名付ける新しい概念を創造し、その本質・機構について究明した。また Ravin (1953)¹⁴⁾ は *Aerobacter aerogenes* についてブドー糖と TCA-Cycle のメンバーとの間の Diauxie を見出しており、金城 (1955)⁷⁾ は *Vibrio sp.* と *Aerobacter aerogenes* のアミノ酸同士についての逐次的同化を報告している。Monod は Diauxie のあらわれ方から、糖を A・B 2 群に分別し、Diauxie に見られる 2 つの生長段階のおのおのにおいて菌は 2 つの糖のうち一方だけを独占的に利用、第 1 段階で利用されるのは A 群の糖であり第 2 段階で利用されるのは B 群の糖であると言う命題を設けた。そして Diauxie の機構にたち至つて、A 群の糖は構成酵素により利用され B 群の糖は適応酵素により利用されると規定したが、さらに B 群の糖への菌の適応は A 群の糖の存在している限り阻止されるという新しい命題を追加した。このようにして提案された Monod の見解は、この実験においても殆どそのまま受け入れられる。しかも糖同士に見られたこの現象が、本質を同じくして糖とアミノ酸との間でもおこり得ることを確めた。すなわち菌の増殖曲線のあらわれ方から、踊り場までの第 1 段階ではブドー糖がまず独占的に利用され、続いて第 2 段階では α -アラニンまたはセリンが逐次的に利用されることを知つた。この α -アラニンまたはセリンが第 2 段階に至つてはじめて適応的に同化されることは、第 1 と第 2 段階でそれぞれ発育しつつある菌が第 2 段階で利用されるべき基質 (α -アラニンまたはセリン) に対して示す増殖曲線でも明かに示される。このような増殖曲線の形状から重複生長を観察したが、さらに直接的な定量実験によりその本質の解析をおこなつた。まず培地中の遊離アミノ酸の定量を試み、菌増殖が第 1 段階の終りから踊り場に至る間に急激にアミノ酸の消費される現象を見た。この場合培地中には単一のアミノ酸 (α -アラニンまたはセリン) だけが加えられているので、この遊離アミノ酸の消長を該当するアミノ酸そのものの消長とみても、重複生長の理解にさしさわりはなからう。また培地中のアンモ

ニアの消長は、菌の増殖に伴つてアンモニアは第1段階でははじめから消費されてゆくが、踊り場に至つて急激なアンモニアの増加がおこる。これは第1段階で菌増殖のための窒素源としてまずアンモニウム塩が使われ、続いて第2段階に至つて α -アラニンまたはセリンが逐次的に同化されて脱アミノ反応を起した結果と受けとれる。金城は *Vibrio* を用いてアンモニウム塩と或る種のアミノ酸との逐次的同化について調べ、増殖曲線の踊り場はアンモニウム塩の消費と一致すると述べており、アンモニア窒素としての逐次的同化を示唆している。しかし *C. albicans* の場合は、アンモニウム塩は第1段階で消費しつくされるわけではなく、また残されたアンモニウム塩は充分に利用できるかたちで培地中に存在しているのであるから、菌の増殖が一度停止してから更に新しいアンモニウム窒素を得るためにアミノ酸の同化がはじめられるとは考えられない。それではこの逐次的同化が、菌の増殖に伴う物質代謝に何故必要なのだろうか。そこで培地中のブドー糖を定量した。この場合、第1段階の菌増殖がはじまると同時に著しいブドー糖量の減少が見られ、踊り場の直前で既に測定不能(5 r/ml 以下) となった。このような事実から、糖とアミノ酸の混合培地の中で見られる *C. albicans* の重複生長の出現は、増殖に伴う物質代謝に必要な炭素源を求めての逐次的同化であると思われる。またこの重複生長に見られるブドー糖の意義は、一面にはそれが代謝されつつあるときは独占的であり、従つて α -アラニンやセリンを代謝する酵素系の適応的産生を抑え、他面ではそれが代謝されることによつて α -アラニンやセリンを代謝する酵素系の合成を誘発するという二重性においてとらえられるべきものではなからうか。

以上の実験事実から、菌の重複生長としてあらわれる酵素系の転換ということは、ある種の酵素系(α -アラニン、セリン代謝系)の適応的形成の機構と、この適応的形成を抑圧する機構(ブドー糖代謝系が活性をもちつづけること)との相関関係のもとに起りうるものと考えられる。しかしこれらの機構の本質的な解明には、さらに酵素産生の条件や機構、酵素前駆体の本質やその酵素との相互関係等の詳細な研究をまたねばならない。

結 論

C. albicans の増殖から Biotin-sparing effect を持った数種のアミノ酸の存在を知り、その同化過程を調べた。すなわちアスパラギン酸・グルタミン酸・アルギニンは容易に同化され、菌増殖に対して唯一の炭素・窒素

源になり得る。プロリンはブドー糖と共存するときは容易に同時同化される。 α -アラニン・セリンはブドー糖代謝に誘発されて適応的に同化され、またこの2つのアミノ酸はブドー糖とアンモニウム塩の存在下で菌の重複生長をあらわす。この重複生長の本質について解析を行った。

終りにのぞみ部長藤野教授の御指導御校閲を深謝し、また中田助教授および三輪谷俊夫、松代慶三両君の討論を感謝する。

(本論文の一部は昭和30年10月第8回日本細菌学会関西支部総会において発表した)。

文 献

- 1) Troll, W. & Cannan, R. K.: A modified photo metric ninhydrin method for the analysis of amino and imino acid, *J. Biol. Chem.*, 200, 803-811, 1953.
- 2) Conway, E. J.: Microdiffusion analysis and volumetric Error, London Crosby Lockwood and Son Ltd, 1950 (石坂吾治訳: 微量拡散分析及び誤差論, 南江堂, 1952).
- 3) Somogyi, M.: A new reagent for the determination of Sugars, *J. Biol. Chem.*, 160, 61-68, 1945.
- 4) Somogyi, M.: Determination of bloodsugar, *J. Biol. Chem.* 160, 69-73, 1945.
- 5) Monod, J.: Recherches sur la croissance des cultures bactériennes, Hermann et Cie., Paris, 1942. (山口清三郎: Diauxie について, 生物科学, 3, 136-142, 1951).
- 6) Monod, J.: The growth of bacterial cultures, *Ann. Rev. Microbiol.*, 3, 371-394, 1949.
- 7) 金城清勝: アミノ酸の逐次同化について (第1報) *日本細菌学雑誌*, 10, 339-344, 1955.
- 8) Koser, S. A., Wright, M. H. & Dorfman, A.: Aspartic acid as a partial substitute for the growth stimulating effect of biotin on *Torula cremoris*, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 51, 204-205, 1942. (Werkman, C. H. & Wilson, P. W.: *Bacterial physiology*, 1951).
- 9) Stokes, J. L., Larsen, A. & Gunness, M. J.: Biotin and the synthesis of aspartic acid by microorganisms, *J. Biol. Chem.*, 167, 613-614, 1947.
- 10) Gale, E. F.: Factors influencing bacterial deamination, *Biochem. J.*, 32, 1583-1599, 1938. (Werkman, C. H. & Wilson, P. W.: *Bacterial physiology*, 1951).
- 11) Lichstein, H. C. & Umbreit, W. W.: Biotin activation of certain deaminase, *J. Biol. Chem.*, 170, 423-424, 1947.

- 12) Lichstein, H. C. & Christman, J. F.: The nature of the coenzyme of aspartic acid, Serine, and threonine deaminase, *J. Bact.*, 58, 565-572, 1949.
- 13) Broquist, H. P. & Snell, E. E.: Biotin and bacterial growth, *J. Biol. Chem.*, 188, 431-444, 1951.
- 14) Ravin, A. W.: The nature of variations affecting bacterial adaptability, *Adaptation in microorganisms*, Third Symposium of the Society for General Microbiology held at the Royal Institution, London, 46-75, 1953.