Salmonella miami, Salmonella sendai, Salmonella sendai variant の関係について

浦野 恒彦 山口 雄三 大原 一夫

群馬大学医学部微生物学教室 (主任 三橋進教授)

[受付: 3月16日1957年]

緒 言

S. miami 及 *S. sendai* は何れも, Kauffmann-White -Schema¹⁾ に明らかな如く, 抗原構造上は 1, 9, 12; a. 15...で, *Salmonella* D 群に属しているが生化学的性状が異っている。

Edwards²⁾ 等 (1945) は, 平板培養上の所見, 人体感染時の症状, 栄養要求, 糖分解能等の相異から, *S. sendai* は全く異なる菌株と考えた。

福見等³⁾ (1953) は *S. miami* と *S. sendai* の栄養要求, 特に硫黄源代謝についての実験を行い, *S. miami* は $\text{SO}_4^{--} \rightarrow \text{SO}_3^{--} \rightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{--} \rightarrow \text{S}^{--} \rightarrow \text{Cysteine} \rightarrow \text{Protein}$ の経路を有するが, *S. sendai* は $\text{SO}_3^{--} \rightarrow \text{S}_2\text{O}_3^{--} \rightarrow \text{S}^{--}$...

抗原構造は 1, 9, 12; a. 15...で, 硫化水素産生能を有するが糖分解の態度, 栄養要求, 殊に硫黄源代謝, 及平板発育の態度から *S. sendai variant* と考えた。

第1表 *S. sendai variant* の生化学的性状

Glucose	⊕
Arabinose	+ ¹
Dulcitol	+ ¹²
Rhamnose	+ ¹
Xylose	+ ⁵
H ₂ S	+
Simmons, agar	—

第2表 *S. sendai variant* の O. H. 抗原 O 抗原交叉吸収試験

血 清	吸 收 菌	抗 原	吸 收 前	吸 收 後
<i>S. panama</i>	<i>S. sendai</i> ver.	<i>S. panama</i>	1280	0
<i>S. sendai</i> var.	<i>S. miami</i>	<i>S. send. var.</i>	1280	0
		<i>S. send. var.</i>	2560	0
		<i>S. miami</i>	2560	0

H 抗原交叉吸収試験

血 清	吸 收 菌	抗 原	吸 收 前	吸 收 後
<i>S. sendai</i> var. H 因子血清	<i>S. miami</i>	<i>S. paratyphi</i> A	2560	0
		<i>S. thompson</i> var. Berlin 2988	1280	0
		<i>S. sendai</i> var.	2560	0
		<i>S. miami</i>	2560	0

→ Cysteine → Protein の経路を有し, SO_4^{--} の培地に生育しないことを確かめた。しかし彼等は生化学的性状のみの差によつて, 両菌が全く相異なる菌株であるとするに對し疑問の点があると論じている。

今回吾々は一健康保菌者から分離された菌について, 型の如き同定を行つた所, 表 1, 2, 3 に示した如く,

URANO Nobuhiko, YAMAGUCHI Yuzo and OHA-RA Kazuo: Relationship between *Salmonella miami*, *Salmonella sendai* and *Salmonella sendai variant*. Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma University. —Jap. J. of Bact., 12(4), 333-336, 1957.

第3表 S. sendai variant の S 源要求

培地	S	SO ₄	SO ₃	S ₂ O ₃	Cysteine	Methionine
S. sendai var.		—	—	—	—	—
添 加 物						
			VB ₁	Nicotic acid	Tryptophan	
培地 S	SO ₄	—	—	—	—	
	SO ₃	—	—	—	—	
	S ₂ O ₃	—	—	—	+	
	Cysteine	—	—	—	+	
	Methionine	—	—	—	+	

+……生育
—……生育せず

この S. sendai variant は S₂O₃²⁻→S⁰→Cysteine→Protein の径路を有し且各硫黄源の利用に Tryptophan を必要とした。

ここにおいて S. miami, S. sendai, S. sendai variant の三菌（主なる差を表4に示す）について、硫黄源代謝を中心とした実験を行い、此等三菌の関係を更に追求した結果を報告する。

第4表 S. miami, S. sendai, S. sendai variant の主なる相異

	Arabinose	Dulcitol	Xylose	H ₂ S	Simmons Agar	S 代 謝
S. miami	—	—	+ ¹	+	+	SO ₄ ²⁻ →
S. sendai	+ ¹	+ ¹⁷	+ ⁵	—	—	SO ₃ ²⁻ →
S. sendai variant	+ ¹	+ ¹²	+ ⁵	+	—	S ₂ O ₃ ²⁻ → + Tryptophan

微生物の硫黄化合物代謝の型式は、まだ幾多の問題を含んでおるが、培養実験⁹⁾、遺伝生化学の実験¹⁰⁾から次の様に考えられておる。SO₄²⁻→SO₃²⁻→S₂O₃²⁻→S⁰→Cysteine。SO₄²⁻の還元⁷⁾は、嫌気性菌にみられ、Hydrogenase と Coupling し水素の受容体としての意義が報告されておる。S₂O₃²⁻の還元は古く Tarr によつて報告され、ついで三橋等^{8),9),10)}によつてその酵素系が解析された。無機硫黄化合物の生化学的意義は、有機の硫黄源としての意義を有するのみでなく、水素の“acceptor”として培地の酸化還元系の緩衝作用にも意義を有することが三橋¹¹⁾によつて指摘された。

Tryptophan は遺伝生化学¹²⁾によれば、Anthranilic acid→Indole→Tryptophan の代謝路が決定されておる。

Serine ↗

実験方法並びに実験材料

菌株：S. sendai (S-71), S. miami (KD-1), 何れ

も標準菌株を使用し、S. sendai variant は分離菌を使用した。

血清：型の如く三菌の家兎免疫血清を作製し必要に応じて使用した。

培地：基礎培地として NaCl 0.5 g, (NH₄)₂H₂PO₄ 0.1 g, K₂HPO₄ 0.1 g, ブドウ糖 0.2 g, 寒天 2.0 g, 蒸留水 100 cc, pH 7.2 を作製し、硫黄源としては Na₂SO₄, Na₂SO₃, Na₂S₂O₃, 何れも0.02%の割合に加え、更に添加物としては Tryptophan, Indole, Anthranilic acid, を 0.002%, Glutamic acid 0.02%を加えた。即ち基礎培地に一種類の硫黄源と一種類の添加物を加えた組合せを作製して使用した。

実験結果

(1) S. sendai variant が Tryptophan + S₂O₃²⁻ 培地（以下 T. S₂O₃ とす）に発育するので、Tryptophan 不要株を得る事が出来るかどうかについて検討した。図1に示した如く、T. S₂O₃→Indole+S₂O₃²⁻（以下 I. S₂O₃ とす）→Glutamic acid + S₂O₃²⁻（以下 G. S₂O₃ とす）→アンモニウム塩 + S₂O₃²⁻の順序に、複雑な培地から単純な培地に順をおつて、菌を一平板に約 5 6se 塗抹し

37°C, 5日間集落出現の有無を観察した。

コロニーが出現した場合はスライド凝集反応により確認しつつ2代目の培養を行い、同一培地に5代継代可能なものを保存すると共に、次の段階の培地に培養を行い、順次同様な方法を繰返し行つた。

5代継代したものについては生化学的性状を検討した。

結果は順次に簡単な培地に生育する菌株が生じ、最初 Tryptophan を要求した菌が最後には S₂O₃²⁻ のみの培地に発育可能になった。又各段階における菌株の生化学的性状は S. sendai variant に全く一致した。

(2) S. sendai variant の Tryptophan 不要株が得られたので、この菌株が S. sendai と同様な硫黄源代謝をとる様な菌株を生ずるかどうかについて SO₃²⁻を含む培地に大量培養を繰返し行つたが全くコロニーの出現が認められなかつた。

前実験において *S. sendai variant* が $S_2O_3^{--}$ の培地に発育するには Tryptophan を必要としたのと全く同様に, SO_3^{--} の培地に Tryptophan を加えて培養を行ったところ, 数日で無数のコロニーが出現し且 5 代継代可能であった。即ち Tryptophan + SO_3^{--} (以下 T. SO_3 とす) の培地に発育するこの菌株は硫黄源代謝のみについては *S. sendai* と全く等しい。又非常に少い頻度で T. S_2O_3 に生育する *S. sendai variant* は T. SO_3 の培地にコロニーを出現する。この菌株の生化学的性状は *S. sendai variant* と一致した。

$S_2O_3^{--}$ の培地に生育する菌と同様にして I. S_2O_3 , G. S_2O_3 の培地に発育した菌株も T. SO_3 の培地に発育し 5 代継代可能である。

この様にして得られた T. SO_3 の培地に発育する菌株を前実験と同様にして I. $SO_3 \rightarrow G. SO_3 \rightarrow$ アンモニウム塩 + SO_3^{--} の順に夫々培養を繰返した。結果は各段階において 5 代継代可能な菌株を得, SO_3^{--} のみの培地に生育する菌株が得られた。

(3) *S. sendai*, *S. sendai variant* の SO_3 培地に生育する株, *S. sendai variant* の T. SO_3 培地に生育する株, 三菌を夫々 SO_4^{--} 培地に培養を行い観察を行ったが, 繰返し大量を培養してもコロニーの出現を認めなかった。

此等三菌を Tryptophan + SO_4^{--} 培地 (以下 T. SO_4 とす) に培養すると *S. sendai*, *S. sendai variant* の SO_4^{--} 培地に生育する菌は 2—3 日にして無数のコロニーを生じ, 且 5 代継代可能であった。しかし T. SO_3 培地に生育する株から T. SO_4 培地に発育する株は, 充分のコロニーを形成するには, 5 日位を要し且生育株の得られる頻度は僅少であった。又此等三菌から得られた菌株 (T. SO_4 菌) の生化学的性状は *S. sendai* 及 *S. sendai variant* に夫々一致した。

(4) 実験 (3) で得られた菌株を夫々実験 (1) と全く同様にして T. $SO_4 \rightarrow$ Indole + $SO_4^{--} \rightarrow$ Glutamic acid + $SO_4^{--} \rightarrow$ アンモニウム塩 + SO_4^{--} の各段階に順を逐つて培養を行った。

何れも SO_4^{--} のみの培地に生育する菌株が得られた。この菌株は生化学的性状は何れも *S. sendai*, *S. sendai variant* に一致した。即この得られた菌株は硫黄源代謝のみについていえば *S. miami* と全く等しい。

(5) 実験 (4) の Indole $\rightarrow$ Glutamic acid を Indole $\rightarrow$ Anthranilic acid $\rightarrow$ Glutamic acid の径路について検討した結果, 何れも容易に発育を示した。

以上各実験によつて得られた菌株は 1, 9, 12 : a,

15... の血清に夫々凝集を示した。

各実験の概略図は図 1 に示した。*S. miami* は作製した全ての培地に, *S. sendai* は SO_4^{--} 以外の培地に常に良好なる発育を示した。

第 1 図 *S. sendai variant*, *S. sendai* の各培地における発育過程

考 按

以上の実験結果から *S. sendai variant* Tryptophan の存在においてのみ $S_2O_3^{--} \rightarrow S^{--} \rightarrow$ Cysteine $\rightarrow$ Protein の径路を有するが, Fieldes¹³⁾ (1940), Akiba¹⁴⁾ 等 (1952), が *S. typhosa* の Tryptophan 代謝について論じている如く, Tryptophan $\rightarrow$ Indole $\rightarrow$ Glutamic acid $\rightarrow$ アンモニウム塩の径路を経て, 又は Indole $\rightarrow$ Anthranilic acid $\rightarrow$ Glutamic acid $\rightarrow$ アンモニウム塩を経て, Tryptophan 不要株が出現し, 硫黄源代謝においては $S_2O_3^{--} \rightarrow$ T. $SO_3^{--} \rightarrow$ I. $SO_3 \rightarrow$ G. $SO_3 \rightarrow$ SO_3 という径路で *S. sendai* と全く等しいことを示した。しかし硫黄源代謝については全く等しいにも拘らず, 硫化水素産生がみられる点が異っている。しかしこの菌が *S. sendai* と全く同一の母型菌から発生したと考えることは妥当である。同一菌においても生化学的に一部異った態度を示す事は屡々認められる所である。

次にこの *S. sendai*, *S. sendai variant* の SO_3^{--} 発育株が T. SO_4^{--} の培地に発育するコロニーを出現し順次 I. $SO_4 \rightarrow$ G. $SO_4 \rightarrow$ SO_4 の径路を経て SO_4^{--} のみの培地に発育する菌株を生じ硫黄源代謝のみについては *S. miami* と全く同様な態度を示すことから, 此等三菌は全く相等しいと考えたい。

抗原構造が等しい点も併せ考えるならば遺伝学的には全く同一の母型菌から発生したものであつて, 生化学的に多少の差を有するとはいふ Edwards²⁾ 等の云う如く, *S. miami*, *S. sendai* と異つた型の菌種と区別することは一考を要するのではあるまいか。発生学的に同一母型菌から出現した菌種で, 上に示された様な夫々の菌株が一つの決つた過程に従つて得られたものと考えられ

る。S. miami も S. sendai から得られた菌株も、S. sendai variant から得られた菌株も何れも SO_4^{--} の培地に生育することから母型菌は或は S. miami であり、S. sendai, S. sendai variant は S. miami に対して栄養要求が厳しいので、数段階の過程を経て、はじめて S. miami と同一な態度を示す様になつたのであろう。

此等三菌の SO_4^{--} 培地に生育するものについての酵素学的な追求が行はれなかつたが恐らく同一なものを有するであろうし、この点については今後明らかにしたい。

最後にこの実験中屢々硫黄源代謝と密接な関係がある様に思われる Tryptophan と硫黄源代謝についての生化学的な報告はないが、一連の代謝過程において、硫黄源と Tryptophan が不離不即の関係にある事は興味深い。

文 献

- 1) Enterobacteriaceae: by Kauffmann, Second Edition Ejnar Munksguard Publisher Copenhagen 1954.
- 2) Edwards P. R. and Alice. B. Moran. J. Bact. 50, 257-260, 1946.
- 3) Fukumi, H. Sayama E. and Nakaya R.: Jap. J. med. sci. & Biol., 6, 327-329, 1953.
- 4) Mitsuhashi, S. and Nojima. T.: At the meeting of the Institute for Infectious Diseases. February, 1948. May, 1948.
- 5) Lampen, J. O. Roepke, R. R. and Jone, S. M. J.: Arch. Biochem., 13, 55, 1947.
- 6) Horowitz, N. H., Federation Proc., 6, 262, 1947.
- 7) Ishimoto, M., Koyama, J., Omura, T. and Nagai, Y. J.: Biochem. (Japan) 41, 537, 1954.
- 8) Mitsuhashi, S. and Matsuo, Y.: Jap. J. Exp. Med., 20, 729 (1950).
- 9) Mitsuhashi, S. and Matsuo, Y.: Jap. J. Exp. Med., 23, 1 (1953).
- 10) Kawakami, M., and Mitsuhashi, S.: 国際遺伝学会準備討論会 (1957 February) Jap. J. Exp. Med., (印刷中)
- 11) 三橋進: 日本細菌学会総会 (昭和 31 年) 細菌による硫黄化合物の代謝.
- 12) Horowitz, N. H. et al: American Naturalist., 79: 304.
- 13) Fieldes P.: Bact J. Exp. Path., 21, 315, 1946.
- 14) Akiba T. & Takatori. T.: Jap. J. Exp. Med., 22, 391, 1952.