Streptolysin “O” の研究

II Streptolysin “O” 製品 (DPN-ase) による Diphosphopyridine Nucleotide の破壊作用について

飛 松 源 治

埼玉県衛生研究所病理細菌部 (部長 早野正己博士)

[受付: 6月6日 1957年]

I. 序 言

早野, 飛松, 内崎, 多比良等¹⁾は Streptolysin “O” (SLO) 類似の可逆的酸化還元性溶血素が, 概してチトクロームを欠除し, 且嫌気性呼吸を営む細菌によつて産生される事実より, 之等の溶血素が, 菌体呼吸と関連を有するのではないかと思考し研究を進めた。其の結果 SLO 製品が著明にビール酵母細胞抽出液の酸化呼吸及び焦性ブドウ酸の産生を阻止することを見出し, 更に酵母抽出液及びアルコール脱水素酵素—助酵素 I (Diphosphopyridine Nucleotide 又は DPN) 系のメチレン青還元を著しく阻止遅延せしめることを発見した。

之等の研究とは関係なく, Carlson, Kellner 及び Bernheimer 等²⁾は微量の SLO が心筋の収縮力を速かに減弱することより, 更に兎心筋より得た, ミトコンドリアのクエン酸 Cycle の或る部位の酸化的代謝が阻害されることを殆んど同時に報告した。そして此の作用物質は SLO と異なるものと考え, 溶連球菌培養濾液中に未記載の酵素, Streptococcal Diphosphopyridine Nucleotidase (DPN-ase) と予報した。

著者等は上述の作用物質を DPN Binding Substance (DBS) と仮称し, SLO と DBS との異同については尚判断を保留した。飛松³⁾は其の間, 更に心筋, 肺, 肝抽出液においても其の作用を認め, 生物学的性質より SLO とは異なる物質との記載を得ていた。

本報告は SLO に関する既知の諸特性を基礎として, SLO と DBS との比較を行い, それが SLO の精製に附随した酵素 DPN-ase なることを確認し, その諸性状, 産生及び分布状態を SLO と平衡して研究したものである。

II. 実験材料及び実験方法

1. Streptolysin “O”: 東大伝染病研究所より分与された A 群溶連球菌, Richards 株を Todd-Hewitt 氏培地に培養し, その上液より Herbert 及び Todd 氏等⁴⁾の方法に従い, 第四段階まで精製濃縮して, 凍結乾燥し保存した。60.8 hu/mg, DBS (DPN-ase) 38.5 u/mg。

2. Streptolysin “O” 抗体グロブリン: 上記 SLO の活性化せるものを, 家兎耳静脈内に注射免疫して得た免疫血清を硫酸塩析分劃法⁵⁾により精製した。20結合単位 (cu)/mg。

3. 赤血球 Stroma: 洗滌牛血球を Ponder 氏⁶⁾の方法より調製, 洗滌沈澱を15回反覆後, 凍結乾燥して保存した。

4. 反応用溶媒: 溶血反応には pH 6.5 等張磷酸緩衝液⁷⁾, DBS の測定には pH 7.3 M/10 磷酸緩衝液を使用した。

5. Diphosphopyridine Nucleotide (DPN): 市販パン酵母より銅塩沈澱法⁸⁾により調製した。純度12%。

6. DPN 定量及び DBS 活性度測定: Cyanide-Procedure⁹⁾にて DPN の定量を行った。Kaplan, Colowick 及 Nason 等¹⁰⁾は Neurospora DPN-ase の研究で, 低 pH (約 5) 液 0.5 ml 中にて 0.01 μ mol. DPN を 7.5 分に分解する酵素量を以て 1 単位としたが, 著者は本実験で, 測定の便宜上, 0.2 μ mol. DPN を pH 7.3 磷酸緩衝液 1.0 ml 中にて 37°C 8 分で 50% 分解する酵素量を以て一単位と定めた。即ち反応後, 直に M シアン化カリ 3 ml を加え, 更に蒸溜水 1 ml を加えて全量 5 ml とし, 日立 U 型光電比色計, 波長 340 m μ で吸光度を測定した。

TOBIMATSU Genji: Study on Streptolysin “O” II Decomposition of Diphosphopyridine Nucleotide by a Streptolysin “O” Preparation (Streptococcal DPN-ase) Institute of Hygiene, Saitama Prefecture—Jap. J. of Bact., 12(8), 643-650 (1957).

法7. 窒素定量：マイクロキールダール法によつた。

8. 焦性ブドウ酸定量：Dinitrophenyl Hydrazine¹¹⁾によつた。

9. 溶血素力価及びSLO抗体価測定：SLO力価はHerbert¹²⁾の方法に準じ、50%溶血値を以て一溶血単位(hu)とした¹³⁾。SLO抗体価はRantz及びRandall氏等の方法により自製SLOを以て結合単位(cu)を測定した¹⁴⁾。

10. メチレン青還元速度の測定：Thunberg手技に準じて行つた。即ち0.1%メチレン青0.2 ml, M. 果糖1.6 二磷酸0.2 ml, DPN30γにPotter-Elvehjem型ホモナイザーでガラス粉と共に寒剤中にて磨碎して得た。パン酵母よりの抽出液を加え、pH 7.3 M/10 磷酸緩衝液を以て全量1 ml として、37°Cで反応せしめ、褪色時間を測定した。

11. SLO製品によるパン酵母抽出液の呼吸阻害の測定：ワールブルグ氏マンオメーターを用い、早野等¹⁵⁾により行つた。

III. 実験

1) 赤血球 Stroma 及びSLO抗体処理による影響

DBSの作用がSLOと異り、活性化を要せず且コレステロールにより阻害されぬことは既に知られた¹¹⁾。活性SLOが赤血球 Stroma に吸着されることは先に知られているが、此の性質を利用して、SLO製品よりSLOを除去し、両者の分離が試みられた。分離過程は第1図に示めされた。

SLOがDBSと同一物とすれば、不溶性 Stroma に吸着され、その遠心上清には最早や作用物質が消失す

第1図 赤血球 Stroma による SLO 製品より DBS の分離

第2図 赤血球 Stroma による SLO 吸着前後の製品によるパン酵母エキス、メチレン青還元阻止作用

第3図 SLO 製品のパン酵母エキス、メチレン青還元阻止に対する SLO 抗体の影響

る筈である。原SLO (A)と吸着除去後SLO (B)のパン酵母抽出液メチレン青還元の阻止作用を実験した結果が第2図に示めされた。

赤血球 Stroma にDPN-aseが存在すると言われているが¹⁶⁾対照として、それが溶液中に溶出してないことを確めた。又100°C5分加熱赤血球 Stroma にても為された。

SLOの溶血作用は吸着除去されたにも拘らず、メチレン青還元阻害作用は、作用物質が濃縮せる為か、反つて増強されて残つた。

SLOに関する既知諸種反応はその特異的抗体により阻止されることが知られている。従つて次にSLO製品の斯る作用に対するSLO抗体グロブリンの影響についての実験が行われた。即ち、SLO製品とSLO抗体グロブリンと予め混和25°C15分加温後、反応系に加えて、メチレン青還元時間を測定し、その結果が第3図に示された。

SLO結合単位について、二倍量の抗体を以てしても、尚其の作用が残され、明かに影響をみなかった。

2) SLO製品のDPN破壊作用

早野等¹⁷⁾は夙にSLO製品による、脱水素酵素—助酵素I系反応の阻害がDPNを不活化するためと考えた。著者は上述SLO吸着除去前後のSLO製品のDPN分解及びそれに対するSLO抗体グロブリンの影響について、実験を行い、その結果が第4図に示された。

DBSは赤血球 Stroma 及びSLO抗体グロブリンの添加の有無に関せず、迅速にDPNを分解することが判明した。

3) SLO製品のパン酵母抽出液の代謝作用阻害 (DPN分解及び溶血作用の耐熱性)

各種温度及び時間について、SLOの耐熱性を実験し

第4図 赤血球 Stroma にて溶血作用除去
前後のSLO 製品の DPN 分解能比
較、及び SLO 抗体の影響

第5図 Streptolysin O の加熱による溶血価,
脱酸素酵素反応系, パン酵母エキスの解糖
及び呼吸阻害能の変化比較

た結果、50°C15分にてその溶血力を失うことが判明したので、50°C 2.5, 5, 10, 15分間、加熱せるSLO製品について溶血作用、パン酵母エキスの解糖、呼吸、メチレン青還元能に対する阻害作用を比較実験し、その結果が第5図に示された。

溶血作用は50°C15分で完全に破壊され、メチレン青還元阻止作用の消失も亦これに伴った。酸素消費と焦性ブドウ酸産生に対する阻害は完全に除去されなかったが、略平行して阻害作用が減弱することが判った。

更にDBSのDPN分解作用の耐熱性に関する実験を試みた。即ちSLO製品の水溶液を37, 45, 50, 60及び70°Cにて夫々10分間、加熱しそのDPN分解力を測定した結果が第6図に示された。

DBSは50°C10分にて完全にDPN分解力を喪失し、パン酵母抽出液、メチレン青還元阻害作用の耐熱性と一

第6図 DBS の耐熱性

第7図 DBS の変量と DPN 分解

致した。反応至適温度とされた37°Cで既にその活性度の低下が見られたが、至適温度は屢々酵素活性を破壊することが先に知られている⁹⁾。加温及び測定条件で変動もあり得るだろうが、既知のDPN-aseの耐熱性については、脳組織DPN-aseで70°C5分¹⁰⁾70°C10分¹⁵⁾60°C10分(80%破壊)¹⁰⁾、Neurospora DPN-aseについてpH5で80°C2分¹⁰⁾が知られている。

4) SLO製品によるDPN分解の諸条件

a: 一定量DPNに対する変量SLO製品の分解

0.2 μmol DPN に対する各単位量SLO製品の分解力の比較が行われ、その結果が第7図に示された。

基質破壊度—log 酵素量曲線はS字状を示し、比の関係が、先にDPNとの間に量的拮抗を示す不活化物質という感を抱しめたものである。

b: SLO製品のDPN分解至適 pH

脳組織DPN-aseの至適pHは7.5¹⁵⁾、6.5~7.0¹⁵⁾ Neurospora DPN-aseの至適pHは3~9の間で、広範囲に亘ると言われる¹⁰⁾。溶連球菌の完全菌体によるDPN分解はpH 6~7¹⁸⁾と報告された。

第8図 DBS の DPN 分解至適 pH

SLO製品によるDPN分解の至適 pH 測定には0.1 M. クエン酸リン酸緩衝液(pH 2-6)及び0.1 M. 磷酸緩衝液(pH 5-8.5)を用い、一定量DPNに対し、一定時間後のDPN分解量の%を以て比較し、其の結果が第8図に示された。

各 pH における分解率曲線は、脳組織のものとは¹⁵⁾類似し、広汎且平坦な *Neurospora* DPN-ase とは著しく異っている。

c: 各基質 (DPN) 濃度における SLO 製品の分解作用

DPN濃度M/500~M/5000 の間において、各 1 ml 中における、一定量SLO製品の分解速度を測定しその結果が第9図に示された。

ミカエリス定数を Lineweaver-Burk の図解法⁹⁾により求めると okm は3.83程度であつた。脳DPN-aseについて $\frac{1}{2}$ 最大速度は基質濃度 10^{-4} より小さい所にあると報告され¹⁰⁾肝DPN-aseで K_m は $1.08 \times 10^{-4} M$ とされた¹⁷⁾。本研究では溶連球菌DPN-aseが *Neurospora* DPN-ase¹⁰⁾の K_m $0.5 \times 10^{-3} M$. に略々近似であることを知つた。

第9図 諸 DPN 濃度における DBS の分解

第10図 DBS の DPN 分解至適温度

d: 作用至適温度

SLO 製品の DPN 分解の 至適温度を求めて、 $0^{\circ} \sim 53^{\circ} C$ の間における分解力の比較実験を行い、其の結果が第10図に示された。

$0^{\circ} C$ では全く作用を示さず、 $48^{\circ} C$ を越えると殆んどその作用を失つた。至適温度は $37^{\circ} C$ で、 $27^{\circ} C \sim 37^{\circ} C$ の間における Q_{10} は2.12程度であつた。

5) 還元型DPNに対する作用

Green 及び Dewan 等¹⁹⁾の方法により還元型DPNを調整し、SLO製品による分解の有無を検したが全く作用を見なかつた。即ち *Neurospora* DPN-ase¹⁰⁾と同様に還元型 DPN は分解できぬことが判つた。脳組織 DPN-ase¹⁵⁾は酸化還元型両型共に分解し得ると言われ此の点、動物のものと異なると思われる。

6). ニコチン酸アミド、イソニコチン酸ヒドラチッド (INAH), ノイトラルロート、フェノサフラニンの影響

蛇毒DPN-ase¹⁴⁾動物組織DPN-ase^{14) 15) 16) 20)}の分解作用はニコチン酸アミドにより阻害されると言われた。フェノサフラニン¹⁰⁾ノイトラルロート²¹⁾による阻害も知られINAHの影響も亦研究された²⁰⁾。

SLO製品のDPN分解に対する此等薬剤の影響を見る為に、終末濃度 $10^{-1} \sim 10^{-4} M$ の添加により実験を試み、其の結果が第11図に示された。

Handler 及び Klein 等¹⁵⁾の報告に従つて行つた実験で、ニコチン酸アミドは $10^{-1} M$ で脳DPN-aseを殆んど阻害し得たのに反して、SLO製品に対しては全く作用を示さず、此の点は *Neurospora* DPN-ase についての報告¹⁰⁾に一致した。他の阻害剤も $10^{-2} \sim 10^{-4} M$ の間で僅に阻害傾向を示したに過ぎず、殆んど阻止し得なかつた。此れらの点よりすればSLO製品中のDPN-aseは動物組織及び蛇毒 DPN-ase より、寧ろ *Neurospora*

第11図 各種 DPN-ase 阻害剤の影響

DPN-ase に類似していると考えられる。溶連球菌完全菌体による DPN 分解作用¹⁸⁾は高濃度ニコチン酸アミドにより(基質の2000倍量)50%の阻止をみたと言われており、菌体のそれと同一か否かは不明だが少くとも甚だ阻害され難いと思われる。

7) SLO 製品の溶血作用, DPN 分解作用に及ぼす、塩類及び酵素毒の影響

SLO 溶血作用に対する諸種塩類の影響は一部 Smyth 及び Harris 等²²⁾及び Herbert 及び Todd 等⁴⁾により報告され、酸化銅、硝酸フェニール水銀、塩化フェニール水銀、塩化カルシウム、ヨード醋酸及び——アミドが阻止したと言われる。此れらの諸種物質の作用機序は単一なものではないと考えられるが、著者は最終濃度 M/200 の18種類の塩類で実験したが、重金属イオンの血球変性をみるものを除去すると塩化カルシウムの外に著しい影響を示すものを見なかった。

SLO 製品の DPN 分解に対するこれら諸剤の影響を最終濃度 M/100 及び M/1000 で試み対照の DPN 分解量に対する比率%で示したものが第12図である。

第12図 DBS の DPN 分解に対する
各種塩類及び酵素毒の影響
(0.2 μ, mol, DPN, pH 7.3, 50 γ(3 hu)
SLO (DBS) 37°C 8')

10^{-2} M. Cu, Ca, Sr, 10^{-3} M. Pb, Hg, Ag, Zn が著しく阻害作用を示したが、其他は殆んど影響を示さなかった。Neurospora DPN-ase¹⁰⁾が Zn 欠除状態の培養で著明に産生を増加するが、其の酵素は 0.05M Zn, Fe, Mn, Ca, Mg 及び F, Cystein Versen, シアンに影響を受けなかったと言われている。

8) 抗原性

溶連球菌の菌体外代謝産物は多数報告されているが、其の毒素及び酵素は殆んど、抗体を産生し得る。SLO も活性、非活性の状態で家兎血管に注射されるとき、その中和抗体が産生される。SLO 製品を活性化し、2ヶ月に亘って、免疫し製造せる血清及び精製抗体グロブリンには、SLO 抗体を見たが、DPN の分解を阻止する抗体は見られなかった。

9) 溶連球菌の培養と SLO 及び DBS (DPN-ase) 産生の関係

a: ブドー糖、血清添加の影響

ブイヨン培養中の溶血素の産生は SLO の場合、血清を含まず、ブドー糖の添加が好しく Streptolysin "S" (SLS) には、反之、ブドー糖を含まず、血清の添加が好しいと知られている²³⁾。

改良 Todd-Hewitt 氏培地⁷⁾にブドー糖及び馬血清をそれぞれ添加せるものと、然らざるものとの組合せを作り、此れに溶連球菌 Richards 株を接種し 37°C. 21時間培養後、菌発育度⁷⁾ SLO, SLS 及 DBS の産生を測定比較した。SLO, SLS の同定には活性化の必要の有無、及び SLO 抗体グロブリンによる溶血作用阻止の存否を検して行つた。その結果は第1表に示された。

菌の発育は糖、血清の添加により著しく増加したが、各溶血素の産生は Todd が述べた如く、SLS の産生は糖の添加により阻止され血清の添加により促進されたが、反之、SLO の産生は血清の添加により、阻害され

第1表 培養基による溶血素及び DBS 産生の比較

2%プロテオース ペプトンブイヨン		培 養 物		
10%馬 血清	0.2%ブ ドー糖	菌 発 育 (O.D.)	溶 血 素 u/ml	DBS u/ml
+	+	0.200	14.8*	250
	-	0.155	24*	172
-	+	0.190	125**	170
	-	0.113	110**	180

*...Streptolysin S

**...Streptolysin "O"

糖の存在により甚だしく増進された。然るにDBSの産生は殆んど此等の条件に阻碍されず、略同一で血清、糖の添加により、反つて菌の發育増加を来し、これに従つて著明に増進された。

b: 菌發育とSLO, DBS産生の比較

11の改良 Todd-Hewitt 氏培地に同培地18時間培養の10mlを移植し、37°C培養9時間以降、一定時間毎に、飛松の方法²⁾により pH 修正とブドウ糖添加を行い、培養3時間~36時間における、菌の發育度、SLO, DBSの産生度を測定し、比較した。その結果が第13図に示された。

第13図 菌の發育と Streptolysin "O", DBS産生の比較

pH 修正、ブドウ糖添加によつてSLOは22時間を頂点とし、その後は液量の増加の爲か反つて減少の傾向を示した。反之、DBSの産生は、其の後尚上昇の一端を辿つた。これらの産生条件の諸点よりしても、SLO DBSは異なる物質ならんと思ふ。

10) DBSの培地中の分布

動物系DPN-aseは蛇毒のもの^{10,20}を除いて、何れも細胞内に存在することが知られている。即ち磨碎組織に強い活性を現し且大部分が洗滌遠心残渣中に含まれ^{15,16}酵素は浮游液中に溶解流出しない¹⁵。赤血球stromaにも含まれているが¹⁹、著者の実験でも、溶出されなかつた。肝細胞中での分布に関する研究で¹⁷核、ミクロゾーム、細胞液上清に彌散しており、ミクロゾームに最も活性を認め、ミトコンドリアには認めなかつたと言われた。

溶連球菌を Todd-Hewitt 氏培地に培養36時間後、本酵素の分布を測定したが、寒剤中で磨碎せる菌体抽出液、完全菌体及び上清のDPN分解に対する活性を比較せるものが第2表に示された。

DPN分解能は菌体抽出液に認められず、完全菌体及び培養上清に認められ、N量0.606 mg 相当完全菌体のそれより培養上清0.05 mlに遙かに大なる活性を見出した。これらの点より溶連球菌 DPN-aseは菌体表面及び菌体周辺において、何らかの役割を演ずるものと考え

第2表 溶連球菌の Todd-Hewitt 培地中 發育後の DBS の分布

		破壊 DPN%
磨碎菌体エキス	(N=0.106 mg)	0
完 整 菌 体	(N=0.606 mg)	20
培 養 液 上 清	(0.05 ml)	100

DPN 0.2 μ mol, pH 7.3, 37°C. 8'

られる。

Neurospora DPN-ase¹⁰⁾では菌体抽出液、培養上清、両者にその存在を認められたが、溶連球菌菌体のDPN分解酵素は¹⁹浮游液中に溶出されず、又容易に抽出されぬと云われている。

著者は Oxygen labile 溶血素としてSLOに類似の Pneumolysin, Clostridium welchii の θ -Toxine を検したが作用を示さなかつた。

VI. 考 案

早野等¹⁾及び Carlson 等²⁾が期せずして同時に認めた DPNが関与する反応に対するSLO製品中の阻碍物質は、Carlson 等によつてDPN-aseならんと予報され、早野等はDBSと仮称し、SLOの異同性については尚疑問を残した。

然るに其の後行つた、一群の研究の結果その作用が活性化を不要とし、コレステロール及びSLO抗体グロブリンに依り、阻碍を受けず赤血球 Stroma に吸着されず、且その産生条件、産生率に両者の併行を見ず、更に各菌株の産生も比例的に非ざる諸点より²⁰明かにSLOとDBSとは異なる物質であると思われた。

又DBS含有のSLO製品は酸化型DPNを分解する性質を示し、其の諸性質が酵素的であつた。

DPNを分解する酵素としてはDPN-aseの他に Nucleotide Pyrophosphatase^{25,26)}が知られているが、磷酸結合の分離に際してはシアン結合の結果としての吸収スペクトルに変化を及ぼすと報告されている。SLOの製品の作用を受けたDPNはシアン添加後、吸収スペクトルに減少を示し、且脱水素酵素一助酵素I系反応を示さなくなるので、SLO製品中に含まれた DPN-ase は DPN のニコチン酸アミドーリボース結合を分離する DPN-Nucleosidase と思われる。

既知の動物系DPN-aseはその作用が、比較的少量のニコチン酸アミドにより阻碍され、且還元型DPNにも作用すると云われているが、溶連球菌 DPN-ase は Neurospora DPN-ase¹⁰⁾と同じくニコチン酸アミドで

阻碍され難く、又還元型DPNに作用しない。この点、植物系のもの、特徴となるか否か興味あることである。

尚本酵素の安定性についての系統の実験は行われていないが、低温下、硫酸塩析状態で半年後、又凍結乾燥状態で数年後も尚活性を認めたことより、かなり安定なものと思われる。

溶連球菌培養上清のDPN-ase最高活性のもので $5 \times 10^{-4}M$ 基質濃度中の分解初速度は $280 \mu \text{mol/ml/hr}$ で先に報告を見た *Neurospora* DPN-ase についての記載より換算した $14.4 \mu \text{mol/ml/hr}$ 。脳DPN-ase の $0.4 \sim 1.8 \mu \text{mol/mg dry wt./hr}$ 。及び酵素の抽出を見ていないが、溶連球菌完全菌体が $4 \times 10^{-4}M$ の濃度 DPN で $390 \mu \text{mol/mg/hr}$ 。に比すれば遙かに強力なものと思われる。

DPN-ase を保有する組織細胞におけるその役割についても種々推測と実験が試みられているが、著者の実験で本酵素がニコチン酸アミドで阻碍されぬ点より見て動物組織で考えられた様な基質と分解物の間に平衡関係が成立することなく、少くも菌体周辺においては、其の発育中、かなり、徹底的な分解が為されるものと思われる。McIlwain 等¹⁸⁾は溶連球菌完全菌体にニコチン酸アミドと酵母アデニール酸を与えるとブドウ糖の存在で菌体内 DPN量が著しく増加し $20 \mu \text{mol/mg/hr}$ 。の速度でなされることを知った。又ニコチン酸アミドで Feeding した酵母中の DPNが $3 \times 10^{-4}M$ より $7 \times 10^{-4}M$ に増加したこと²¹⁾も知られており、溶連球菌の場合、菌体外の DPNを菌体内に転換する一連の反応に何らかの役割を演じているのではなからうかと考えられる。尚溶連球菌の DPN量は脳の $5 \times 10^{-4}M$ ¹⁸⁾、酵母のそれより遙かに多く $1 \sim 2 \times 10^{-3}M$ と報告された¹⁸⁾。

細菌の発育促進作用で等モル濃度における DPNとニコチン酸アミドは、後者が優れていると云われ、其の原因として、細胞透過性等が考えられたが水野等²¹⁾は其の機序としてその菌自体の DPN-ase の作用により解釈を加えた。菌体外に多量の DPN-ase を産生する溶連球菌の場合酵素の意義の一つが、利用効率のよいニコチン酸アミドを得る為か否か興味ある問題である。

V. 結 論

1) A群溶連球菌培養液上清より精製濃縮せる Streptolysin “O” 製品中に Diphosphopyridine Nucleotidase (DPN-ase) が存在することを認め、諸性質において Streptolysin “O” と異なることを証明した。

2) 本酵素の至適 pH 7.3, 至適温度 37°C, 耐熱性

50°C10分, p km は3.83程度, Q_{10} は2.12程度で、酸化型 DPN にのみ作用し、ニコチン酸アミドで阻碍されず、家兎免疫において中和抗体を産生しなかつた。

3) 溶連球菌培養中の菌発育、溶血素 (Streptolysin “O” 及 “S”) 及び本酵素産生に及ぼす血清並びにブドウ糖添加の影響を調べ、溶血素産生は甚しく作用を受けたが、本酵素産生は、影響を受けなかつた。又本酵素は菌体磨砕抽出液には認められず、完全菌体にその作用を認め、菌体外に多量産出されることを知った。

本研究は一部文部省科学試験研究費によつた。本研究の要旨は昭和32年3月20日、予研伝研学術集談会に報告された。又第10回日本細菌学会関東支部例会において発表される。

稿を終るに臨み、終始、御懇切な御指導を賜り、御校閲下さつた、東大伝研工藤正四郎教授、並びに当衛生研究所早野正己博士に衷心より感謝を捧げます。

参 考 文 献

- 1) 早野、飛松、内ヶ崎、多比良: 日本細菌学雑誌, 11: 1021 (1956).
- 2) Carlson, A. S., Kellner, A. & Bernheimer, A. W.: J. Exp. Med. 104: 577 (1956).
- 3) 飛松: 日本細菌学雑誌, 12: 57 (1957).
- 4) Herbert, D. & Todd, E. W.: Biochem. J., 35: 1124 (1941).
- 5) 伝研編: 細菌学実習提要, p. 324, 昭 28.
- 6) Ponder, E.: J. Gen. Physiol., 28: 349 (1944).
- 7) 飛松、中島、早野: 日本細菌学雑誌, 11: 503 (1956).
- 8) 赤堀四郎編: 酵素研究法, I 巻, 昭 30.
- 9) Colowick, S.P., Kaplan, V.O., & Ciotti, M. M.: J. Biol. Chem., 191: 447 (1951).
- 10) Kaplan, N. O., Colowick, S. P., & Nason, A.: J. B. C., 191: 473 (1951).
- 11) 斎藤正行著: 光電比色計による臨床化学検査, 昭 28.
- 12) Herbert, C.: Biochem. J., 35: 1116 (1941).
- 13) Alivisator, S. G. A. & Denstadt, O. F.: Science, 114: 281 (1951).
- 14) Mann, P.J.G. & Quastel, J. H.: Biochem. J., 35: 502 (1941).
- 15) Handler, P. & Klein, J. R.: J. B. C., 143: 49 (1942).
- 16) Mcilwain, H. & Rodnight, R.: Biochem. J. 44: 470 (1949).
- 17) Sung, S. C. & Williams, J. N.: J. Biol. chem., 197: 175 (1952).
- 18) Mcilwain, H. & Hughes, D. E.: Biochem. J., 43: 60 (1948).
- 19) Sumner, J.B. & Somers, G.F.: Chemistry and Methods of Enzymes, 3 th. p. 252 (1953).

- 20) Zatman, L. J., Kaplan, N. O., Colowick, S. P. & Ciotti, M. M.: J. B. C. 209 : 453 (1954).
- 21) Mizuno, D., & Nojima, T.: Jap. J. Med. Sci. & biol., 5 : 397 (1952).
- 22) Smyth, C. V., & Harris, T. N.: J. Immunol., 38 : 283 (1940).
- 23) Todd, E. W.: J. Path. Bact., 47 : 423 (1938).
- 24) Chain, E.: Biochem. J., 33 : 407 (1939).
- 25) Kornberg, A. & Lindberg, O.: J. B. C., 176 : 665 (1948).
- 26) Kornberg, A. & Pricer, W. E.: J. B. C. 182 : 763 (1950).
- 27) Handler, P. & Kohn, H. I.: J. B. C., 447, (1943).
- 28) 飛松: 日本細菌学雑誌掲載予定.