ツベルクリン活性物質に対する加熱の影響に関する研究

第 III 報 菌株差及び培地組成のツベルクリン蛋白産生に及ぼす影響
及び蛋白分割に対する加熱の影響

脇 田 南 洋

東京大学伝染病研究所第 3 細菌研究部 (部長 武田徳晴教授)

〔受付: 8 月 18 日・1959 年〕

緒 言

ツベルクリン製造の際菌株や培地がことなると培養終末 pH がアルカリ性になるものと酸性になるものがある。此の pH の変動の原因は菌株の性質にもよるが、主として培地成分によつて左右されること及び何れの菌株でも培地が酸性になった時には大部分のツベルクリンで加熱により沈澱を生じ、活性物質が失なわれることを報告した^{1,2)}。

しかし同じ終末 pH 及びほぼ等しい蛋白量を有する濾液でも菌株や培地がことなるとその沈澱量に差が認められる。

Seibert³⁾ はツベルクリン中には物理化学的及び生物学的性状が異つている 3 種類の蛋白があることを明らかにしたが、その量的関係は菌株や Lot で一定していない。最近大友⁴⁾、武谷⁵⁾、武原⁶⁾ は菌株や培地成分の相違によるツベルクリン蛋白の質的量的産生を検討し、菌株差、培地差とツベルクリン蛋白産生量との関係がいくらか明らかになりつつある。

したがつて酸性加熱沈澱の量的相違はツベルクリン中の異つた蛋白の量的差に基くことが考えられるので、培地の終末 pH が酸性になる菌株とアルカリ性になる菌株をえらび、組成のことなつた培地を使用して、蛋白の質的量的変動及び蛋白分割に対する加熱の影響を検討した。

実験方法

1) 菌株及び培地: 本実験に使用したツベルクリンは前報³⁾の実験と同時に培養したもので、菌株は青山 B 株の pH 4.8 株と予研株であり、培地は通常のソートン培地 (A 培地、前報の A 2) とソートンのアスパラギンの代りに同一 N 量のグルタミン酸ソーダを使用した培地 (G 培地前報の G 2) である。培地量は両菌株とも 10l

づつを用い、培養開始後 8 週及び 12 週に 5 l ずつをとり非加熱のものを濾過し更に Seitz 濾過後 pH を測定し、コロジオン膜⁸⁾ (但し 11%) により限外濾過を行い濃縮した。濃縮液は更にセロファン膜で流水透析し、塩類を除き、Seibert の方法³⁾ に準じて 4°C で分割を行つた。

その他濃縮液の一部は硫酸半飽和により PPD-S⁹⁾ をとり、比較に用いた。

2) 化学分析: 蛋白分割 A, B, C について蛋白、多糖体及び核酸量を第 I 報¹⁾と同様に定量した。更に N 量を Dumas の方法により測定した。(N 量の測定は伝研化学分析室に御願ひした。厚く謝意を表す)。

3) 電気泳動: 各試料は 1% の割合に磷酸緩衝液 (pH 7.6, $\mu = 0.1$) に溶解し、一昼夜緩衝液に対して透析したのち日立ゼリウム型電気泳動装置により泳動を行つた。電流は 7 mA、泳動温度は各試料により多少異つたが 15°C ~ 18°C、但し各泳動中の温度は殆んど一定 ($\pm 1^\circ\text{C}$) であつた。

4) 蛋白分割の pH による沈澱性とその際の加熱の影響: a) 菌株、培地を異にするそれぞれ 4 種類の蛋白 A 及 C を 0.1% の割合に溜水に溶解後、これに図の如き pH 2.0 ~ 7.0 にいたる McIlvaine のクエン酸-第 2 磷酸ソーダ Buffer (pH 2.0 は Clark, Lubs の HCl-KCl Buffer) を 10 倍量加え一夜氷室に放置し、遠沈して沈澱を Folin 法により測定し、非加熱のときの沈澱性を観察した。次に上清を 100°C、60 分加熱し、遠沈後沈澱を

WAKITA Nanyo: Studies on the effects of heating on tuberculin active substances. III. On the yield of tuberculin protein and the effects of heating on tuberculin protein fractions with different strains and different composition of media. 3rd. Div., The Inst. for Infect. Dis., Univ. of Tokyo.—Jap. J. of Bact., 171-178, 1960.

上記同様 Folin 法により測定し、加熱による沈澱量とした。

b) 非加熱濾液及び蛋白 A, C (0.2%濃度) につき上記 Buffer を用い、50°C, 70°C, 100°C と温度をかえて30分加熱し、温度差と pH による加熱沈澱量を比較した。

5) 力価: a) 非加熱蛋白 A, C 及び PPD-S のそれぞれ4種類を Folin 量 0.25γ を用い、感作モルモットでラテン交絡法により比較した。

b) 上記の Sample を 0.1%濃度で 100°C, 60分、酸性 (pH 5.2) 及び中性でそれぞれ加熱し、沈澱は 10/N NaOH に溶解したのち上清と一緒にし、0.4γ 濃度で比較した。

c) 他 Lot の蛋白 A, B, C を酸性 (pH 5.7) 及び中性で加熱し、沈澱を除去した上清について力価を比較した。

実験成績

I. 分割の物理化学的性状と力価

1) pH 及び収量: 第1表に示した如く8週及び12週の終末 pH は予研株—G 培地のみがアルカリ性で他は酸性であつた。

性であつた。

分割の総収量は8週及び12週とも pH 4.8 株の方が予研株より多く、又 A 培地の方が G 培地より多い傾向があり、更に12週と8週とを比較すると pH 4.8 株では両培地とも12週の方が増量していたが予研株ではかえつて減少していた。このうち蛋白性分割 A, B 及び C の合計は大体総収量の30%前後を占めているが、総収量に対する割合は予研株の方が pH 4.8 株より多く、また G 培地の方が A 培地より多い。とくに予研株 G 培地は8週で62% 12週で46%と非常に高い値を示した。

個々の蛋白分割についてみると A 蛋白は大体 A 培地 > G 培地であり、pH 4.8 株 > 予研株であるが、B 及び C 蛋白では逆の傾向で、G 培地 > A 培地であり、菌株差は12週の A 培地が殆んど同じであつた他は大体予研株 > pH 4.8 株となる。とくに予研株 G 培地は C 蛋白が多い。

化学分析の結果から A, B, C 各分割中の蛋白量 (Folin 値) を比較すると、第2表の如く、総蛋白量は一般に予研株の方が pH 4.8 株より多く、培地の比較では G 培地の方が A 培地より多い。個々の蛋白について構成成分を比較すると、とくに著明な差の認められたのは A 蛋白で pH 4.8 株では予研株より又培地差では A 培地の方が G

第1表 分割の収量 (mg/l)

培養日 数(週)	菌株 培地・終末 pH 収 量 % 分割	青 山 B pH 4.8 株				青 山 B 予 研 株			
		A (8週 pH 5.2 12週 pH 5.3)		G (8週 pH 5.45 12週 pH 5.4)		A (8週 pH 5.35 12週 pH 5.5)		G (8週 pH 8.9 12週 pH 9.0)	
		収 量	%	収 量	%	収 量	%	収 量	%
		量		量		量		量	
8	蛋白 A	88	23.0	50	18.7	44	19.5	28	11.6
	蛋白 B	12	3.1	17	6.3	21	9.4	42	17.4
	蛋白 C	24	6.3	32	12.0	12	5.3	82	33.8
	多糖体 I	195	51.0	128	48.0	47	20.9	39	16.1
	多糖体 II	52	13.6	32	12.0	91	40.4	42	17.4
	残余蛋白	11	2.9	8	3.0	10	4.5	9	3.7
	計	382	100	267	100	225	100	242	100
12	蛋白 A	122	20.8	112	23.6	48	21.6	14	7.3
	蛋白 B	8	1.4	14	2.9	2	0.9	24	12.5
	蛋白 C	25	4.3	54	11.4	9	4.1	51	26.5
	多糖体 I	340	58.2	230	48.4	76	34.2	73	38.0
	多糖体 II	78	13.3	56	11.8	81	36.4	26	13.5
	残余蛋白	12	2.0	9	1.9	6	2.8	4	2.2
	計	585	100	475	100	222	100	192	100

第2表 蛋白 A, B, C の 分 析 値 (mg/l)

菌株・培地		青 山 B pH 4.8 株 (8週)								青 山 B 予 研 株 (8週)							
		A				G				A				G			
		蛋白	N %	糖	核酸 DNA	蛋白	N %	糖	核酸 DNA	蛋白	N %	糖	核酸 DNA	蛋白	N %	糖	核酸 DNA
蛋 白	A	33	4.76	51	0	24	6.34	21	0.5	46	12.83	13	0	27	11.94	6	0
蛋 白	B	9	11.52	2	0.1	15	12.58	1	0.1	21	15.40	2	0	44	15.04	3	0
蛋 白	C	20	14.19	1	0.2	26	12.64	2	0.5	7	10.62	1	0.2	77	13.86	2	2
計		62		54	0.3	65		24	1.1	74		16	0.2	148		11	2

ツベルクリン蛋白 A

ツベルクリン蛋白 B

ツベルクリン蛋白 C

→ 上昇脚 下降脚 ←

pH 7.6, $\mu=0.1$ 磷酸緩衝液
試料濃度 1%, 7 mA,
15°C~18°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), 30 分

培地より多糖体の比率が多い。pH 4.8 株は多糖体が非常に多いのであるが、収量も多いので総蛋白量としては予研株と大差ない。12週の成績は表には示さなかつたがほぼ同様の傾向にある。

又化学分析の結果、Folin 量では12種中3種が100%以上の値を示し、これらは予研株のうちとくにN量の多いB或はA分割であつた。この理由は Standard に卵白アルブミンを使用しているの、ツベルクリン蛋白とは反応性が異なるためと思われるが、その他にツベルクリン蛋白の質によつても差が認められた。即ちN量 $\times 6.25$ とFolin量を比較してみると、蛋白A>B>Cの順にFolin量がN量に比し高く出る傾向があり、その比率はA:B:C=1.2~1.3:1.05~1.1:0.95~1.0となる。此の比率の菌株及び培地差は最大10%であつた。

2) 電気泳動: 各分割の泳動所見は図1に示した如くであり、C分割では大体単一の峰を形成しているが、A及びB分割では2~3の峰を形成しており単一の蛋白ではなかつた。泳動は常温で行つたために易動度を測定しなかつたがSeibertの成績から蛋白及び多糖体を推定すると泳動図における成分比と化学分析比は大体一致している。また菌株差及び培地差による泳動図を比較すると培地差は殆んどなく、菌株差の方が著明であつた。

3) A蛋白の再精製: 電気泳動学的にA蛋白はなお数個の成分の混合物とみられるのでG培地のpH 4.8株の8週と12週につき精製過程を初めと可及的に同一条件で2回繰り返して再精製した結果A蛋白の回収率は30~40%になり、その他の約40~50%は大部分蛋白Bと多糖体I

第3表 非加熱のA, C蛋白及びPPD-Sの力価

菌 株	培 地	力 価	24 h			48 h		
			蛋白A	蛋白C	PPD-S	蛋白A	蛋白C	PPD-S
青 山 B pH 4.8 株	A	発 赤	15.6	13.0	13.3	11.2	9.8	9.7
		Ratio	1.00	0.83	0.85	1.00	0.88	0.87
	G	発 赤	15.1	13.0	13.0	11.1	9.8	9.9
		Ratio	0.97	0.84	0.84	0.99	0.87	0.89
青 山 B 予 研 株	A	発 赤	14.8	13.7	12.8	11.2	10.1	9.9
		Ratio	0.95	0.88	0.82	1.00	0.90	0.89
	G	発 赤	13.3	12.5	12.9	10.4	10.0	10.3
		Ratio	0.85	0.80	0.83	0.93	0.90	0.92

○Folin 値当り 0.25γ 接種

○発赤は12匹の平均。

○Ratio は pH 4.8株A培地—蛋白Aを基準にした。

の分割としてとれてきた。これを化学分析すると蛋白は14及び19%となり、再精製前にくらべると $\frac{1}{4}$ 及び $\frac{1}{2}$ となった。

4) 力価：まず非加熱の状態でそれぞれ4種の蛋白A, C及びPPD-SをFolin量によって比較すると、結果は第3表に示した如く、蛋白の種類による強さは一般に $A > C \approx \text{PPD-S}$ となる。菌株及び培地差によるA, C及びPPD-Sの比較ではその差は殆んどないが、予研株G培地のA蛋白は他のA蛋白よりやや弱い結果が得られた。

II. ツベルクリン蛋白分割に対する加熱とpHの影響

1) pHの非加熱及び加熱沈澱性に及ぼす影響：菌株差及び培地差による4種づつの蛋白A及びCについてpHによる沈澱性と加熱の影響を検討した結果を図2に示した。

A蛋白では菌株及び培地差により4種の間に著明な差は認められずほぼ同様であつた。即ちA蛋白はpHのみでは殆んど沈澱しないが、熱することによりpH 4.8株では約25%、予研株では20%の蛋白がpH 4.0~4.4を中心としたpH域で沈澱してくる。一方C蛋白は培地の相違では大差ないが、菌株により異つたパターンを示しpH 4.8株ではpHのみで最高約70%が沈澱し更に加熱すると等電点をはずれた両側で沈澱が生じ、特にpH 6.0の所で40%の蛋白が沈澱してくる。予研株ではpHのみによる沈澱はpH 4.8株に比較してすくなく約50%であり、これを更に加熱しても10~20%の沈澱を生じたのみでpH 6.0付近で特に沈澱を生じることとはみられなかつた。これは前報²⁾で予研株の濾紙を加熱した時沈澱が非

常に僅かであつたのと一致している。

2) 加熱温度の影響：培養濾液と蛋白分割を用い加熱温度とその際のpHの影響をみると青山B予研株の濾液では第4表の如くpH 5.0で加熱すると50℃で約30%、70~100℃では45~50%である。pH 6.0では50℃で0%、70~100℃では5~7%の沈澱を生じた。pH 7.0ではいずれの温度でも沈澱していない。此の結果は他の菌株でも同じ傾向であつた。

一方分割した蛋白A, Cについて濃度0.2%で50℃、70℃、100℃加熱の影響をみると、pH 4.8株の場合pH 5.0では蛋白Cは50℃においてやや少く74%で70℃と100℃は殆んど同じで約80%であり、pH 6.0でもほぼ同様の傾向であつた。予研株の蛋白CはpH 5.0ではpH 4.8株よりやや少く65~70%でありpH 6.0では非常に沈澱量が少かつたが温度差では同様の傾向が認められた。試料濃度を2%、0.02%と変えてそれぞれpH 5.0とpH 7.0で100℃30分加熱してみたが沈澱量は大体濃度に比例し、特に濃度差の影響はみとめられなかつた。

3) 加熱蛋白の力価：蛋白A, B, Cについて酸性(pH 5.7)及び中性で加熱したものを遠沈し沈澱をのぞいた上清の力価を測定すると第5表の如く中性加熱でもいずれの分割も非加熱より力価が低下しているが、酸性加熱ではB, C蛋白は沈澱して失われるため力価の低下が著明であつた。とくにC蛋白は大量沈澱し、その力価も非常に低下していた。A蛋白は酸性加熱でも肉眼的には沈澱が認められず、この場合には力価の低下は中性加熱と殆んど同じくらいであつた。

次に4種のツベルクリンから分割した蛋白A, C及び

図 2

- 註 1. 左端の数字は Folin 値
 2. ヒストグラムは試料中の全蛋白量
 3. --- pH のみによる沈澱 pH 沈澱を除いた上清からの加熱沈澱 —— 上記両の計

第 4 表 pH 並に加熱温度の加熱沈澱量に及ぼす影響 (%)

菌株・培地 試料 加熱温度	青 山 B 予 研 株									青 山 B pH 4.8 株								
	A									A								
	濾 液			蛋 白 A			蛋 白 C			蛋 白 A			蛋 白 C			蛋 白 A		
	5.0	6.0	7.0	5.0	6.0	7.0	5.0	6.0	7.0	5.0	6.0	7.0	5.0	6.0	7.0	5.0	6.0	7.0
50°C	30.0	0	0	2.7	1.5	0	65.0	4.2	0	9.1	5.2	0	74.3	73.2	0			
70°C	44.0	7.0	0	23.2	7.2	0	69.0	4.3	0	31.8	16.2	0	80.9	77.8	0			
100°C	47.0	5.2	0	23.0	8.4	0	70.3	9.4	0	40.8	24.1	0	81.9	81.5	0			

第 5 表 非加熱、中性加熱、酸性加熱の各 A, B, C 蛋白の力価

菌 株	試 料	pH	加熱	加熱による沈澱	蛋白量 %	24h	
						発赤	Ratio
H37Rv	蛋白 A	7.0	—	—	17.5	16.7	1.00
		7.0	+	—		13.8	0.83
		5.7	+	—	13.0	14.0	0.84
	蛋白 B	7.0	—	—	23.5	15.0	1.00
		7.0	+	—	24.0	14.1	0.94
		5.7	+	+	17.0	8.9	0.59
	蛋白 C	7.0	—	—	75.0	15.3	1.00
		7.0	+	—	59.0	13.8	0.90
		5.7	+	++	16.5	10.3	0.67

○加熱沈澱は含まない。

・力価の測定には各蛋白とも Folin 量約 0.47 を用いた。

PPD-S を Folin 量を基礎にして同一量を用い、酸性(pH 5.2)と中性で 100°C, 60分加熱後、沈澱の損失のない状態で力価を比較すると、第 6 表に示す如くその差は著明ではないが、24時間値では蛋白 A と PPD-S は中性加熱の方が酸性加熱よりも力価が強く、蛋白 C では酸性加熱の方がやゝ強いが 48時間値では 3 種とも中性加熱の方が酸性加熱より強くなっている。

総括及び考按

ツベルクリン中にある蛋白の質的相違に関しては、Seibert²⁾は A, B, C の 3 種類があるとし、その物理化学的及び Lot によつて蛋白の質的量的割合がことなり、一定の傾向は認められていない。

武谷⁵⁾は青山 B 株のうち九大株と予研株をそれぞれア

スパラギンとグルタミン酸ソーダ培地に培養し、加熱濾液について比較し、九大青山株をグルタミン酸ソーダ培地に培養すると大量の C 蛋白のとれることを報告している。武原⁷⁾はこれを更に検討し、九大株と予研株と比較すると、蛋白 A は両株で差がないが蛋白 C は九大株 > 予研株であり、多糖体は予研株 > 九大株となり、培地別では蛋白 A は殆んど変わらないが、蛋白 C はグルタミン酸ソーダ培地の方が多く産生されとのべている。しかし武原の成績は 1 l 当りの収量が非常に少なく、私の成績や他の成績³⁻⁵⁾のと比較すると約 $\frac{1}{5} \sim \frac{1}{10}$ になる。これは精製に使用した培地量が少いこと及び培養条件がことなるためであろう。私の使用した菌株は青山 B 株のうち予研株と pH 4.8 株であり、培地、培養条件もことなるので直接の比較は困難であるが武原の成績と比較してみると同じ予研株でも蛋白、多糖体分割の比率に相当差があり、武原のは多糖体の量が少い。蛋白性分割の総収量から各蛋白分割 A, B, C の % を比較すると A 培地ではほぼ同様の傾向があるが、G 培地では私の方が蛋白 A 少く、蛋白 C は非常に多く、むしろ九大株に近い。これは G 培地では N 量を A 培地と等しくしたためグルタミン酸ソーダの量が武原のよりやや多いためと考えられる。この他同じ予研株といつても分与後すでに 2 年以上経過しているので性質が変化していることも考えられる。

これらの成績から見ると一般に A 培地の方が多糖体量及び蛋白が多く、蛋白 C は G 培地に多い傾向が認められ菌株ではアルカリ性になり易いもの程蛋白 C が多い傾向があると考えられる。また上記の成績では蛋白 A と B とを一応異つたものとして区別したが両者はアルコールによる沈澱性がことなるのみで、A 蛋白の再精製の結果からみても、また Seibert の成績からみても分割時の条件

第 6 表 非加熱、中性加熱、酸性加熱の各 A, C 蛋白及び PPD-S の力価

菌 株 ・ 培 地	試 料	力 価	24 h			48 h		
			非 加 熱	中 性 加 熱	酸 性 加 熱	非 加 熱	中 性 加 熱	酸 性 加 熱
青 山 B pH 4.8 株 G	蛋白 A	発 赤	15.2	14.0	13.7	10.3	9.3	9.0
		Ratio,	1.00	0.92	0.90	1.00	0.90	0.87
	蛋白 C	発 赤	14.1	12.4	12.7	11.4	10.1	9.5
		Ratio	1.00	0.88	0.90	1.00	0.89	0.84
	PPD-S	発 赤	13.5	12.9	12.7	10.5	10.1	9.8
		Ratio	1.00	0.96	0.94	1.00	0.96	0.93

○酸性加熱は pH 5.2

○Folin 値当り 0.47 接種

・加熱沈澱も含む

に影響され易く、相互に移行することが考えられる。

次に菌株及び培地差でそれぞれの蛋白に力価の相違があるかどうかを検討した結果では予研株 G 培地の A 蛋白が他の A 蛋白はよりやゝ弱い成績が得られた以外は C 蛋白及び PPD-S の両者とも力価の差は殆んど認められなかった。

なおこれらの比較は Folin 量について行つたのであるが、Folin 量と N 量から換算した蛋白量とは完全には一致せず、N 量を基準にして Folin 値を比較すると菌株がことなつても同種の蛋白分割では殆んど差がないが、異つた蛋白即ち A, B, C 蛋白間では、A, B の方が C より高く出る傾向がある。これは蛋白の組成がことなつてゐる¹⁰⁾ことに起因すると考えられる。したがつて N 量で比較すれば A と C の力価は更に差が大きくなる。

次に蛋白 A, C に対して pH による沈澱性をみると培地差よりも菌株による相違が認められ、特に蛋白 C では此の傾向が著明である。即ち pH 4.8 株の C は pH のみで pH 4.0~5.0 の間で各々約 70% が沈澱し、更に上清を加熱すると pH 6.0 附近にピークをもつ加熱沈澱が認められる (約 40% が沈澱する)。一方予研株では沈澱は比較的せまいピークを形成し、加熱沈澱も pH 4.8 株より僅かであつた。予研株の G 培地はアルカリに終つたので予研株の方がアルカリ側に等電点を有する蛋白が多いことを予想したのであるが、これとは逆の結果であつた。即ち培地の終末 pH による差は量的に影響を与えるのみで蛋白分割の質的相違には関係がない様である。

A 蛋白は pH のみでは沈澱しないが、酸性で加熱すれば約 20~25% が沈澱してくる。此の沈澱量は菌株により異なり、培地差は認められなかった。A 蛋白が酸性加熱で沈澱を生ずることは神中¹¹⁾も認めておりほぼ一致した結果であつた。

温度差による沈澱性に関し Seibert¹²⁾ は 70°C 以下で 50% が沈澱し 10% が更に 80~100°C で沈澱するとしているが、私の成績では沈澱するものの大部分は 70°C で沈澱し 100°C では 70°C とあまり差が認められなかった。即ち加熱沈澱はその時の pH が重大な影響をもち、また菌株差や蛋白の質によつてもことなるので此の様な差が出たのであろう。

次に加熱の力価に及ぼす影響を見ると A, C 及び PPD-S とも加熱により低下しており、Seibert¹³⁾ は A 蛋白は易熱性としているが特に A のみが易熱性とはいへない成績であつた。

酸性加熱の力価に及ぼす影響では、濾液の場合と同様沈澱をのぞかないで溶解して上清に加えて比較しても、

中性加熱の場合よりも力価が僅かであるが低下しており、沈澱を除いた上清ではさらに差が大きくなる。

以上を総括すると pH 4.8 株と予研株の 2 株からの結果ではあるが、培地の組成により培養の終末 pH が酸性になつたり、アルカリ性になつたりし、予研株の方がアルカリになる傾向が強いが、収量、泳動所見及び pH による沈澱性から見ると、此の培地組成及び pH の変化は A, B, C 蛋白の量に関係しているだけで、同種蛋白分割の物理的性状の差異には菌株の影響の方が大きいと考えられる。しかし同一条件で培養し分割した蛋白の力価に関しては予研株と pH 4.8 株では培地が異つても殆んど変わらない成績が得られた。これが青山 B 株以外の他の菌株にも適用出来るかどうかは不明であるが、精製ツベルクリンとして力価に差を来すのは主として質的に異つた蛋白の量的相違、不活性の多糖体や核酸の混入率及び精製過程における変性の程度によると考えられる。

結 論

菌株差及び培地差によるツベルクリン蛋白の質的量的産生、生物学的活性及び加熱の影響を検討し次の結果を得た。

1) ツベルクリン蛋白の産生量は一般に青山 B のうち予研株の方が pH 4.8 株より多く、G 培地の方が A 培地より多かつた。また終末 pH のアルカリ性は C 蛋白の産生と関係が認められた。

2) 多糖体は蛋白とは逆の関係となり pH 4.8 株の方が予研株より多く、A 培地の方が G 培地より多い。また A 蛋白でも pH 4.8 株は多糖体が非常に多い。

3) 蛋白分割の物理的性質は菌株によりことなるが菌株及び培地がことなつても同種の蛋白では力価に著明な差が認められない。

4) 酸性加熱により沈澱してくる蛋白は大部分 C 蛋白であるが、加熱による沈澱量は菌株により差が認められ培地差は著明でなかつた。

稿を終るにあたり御懇篤な御指導並びに御校閲をいただいた武田教授に衷心より感謝し、終始御助言、御援助をいただいた渡辺貞博士、青木良雄博士はじめ研究室の諸学兄に謝意を表します。

文 献

- 1) 脇田南洋：日本細菌学雑誌，(第 I 報投稿中)。
- 2) 脇田南洋：日本細菌学雑誌，(第 II 報投稿中)。
- 3) Seibert, F. B.: Am. Rev. Tuberc., 59, 86, 1949.

- 4) 大友信也：結核，29，356，486，1954；30，40
1955.
- 5) 武谷健二：日本細菌学雑誌，11，23，1956.
- 6) 武原雄平：結核，32，101，477，629，1957.
- 7) 武原雄平：福岡医学雑誌，49，2538，2544，
1958.
- 8) 浅見 望：結核，29，482，1954.
- 9) Seibert, F. B. and Glenn, J. T. : Am. Rev.
Tuberc., 44, 9, 1941.
- 10) Seibert, F. B. : Faraday Society Discussion, 13
251, 1953. ツベルクリン，柳沢等，金原出版株
式会社より引用.
- 11) 神中 寛：日本細菌学雑誌，13,757，803，1958.
- 12) Seibert, F. B. : Am. Rev. Tuberc., 17, 394,
1928.
- 13) Seibert, F. B. : Chem. Rev., 36, 107, 1944.