破傷風トキシイドに関する研究

桜 林 長 生

日本大学歯学部細菌学教室 (主任 白土寿一教授, 指導 宮崎正之助教授)

[受付: 1月18日・1960年]

緒 言

1936年 Eaton¹⁾は、ジフテリア毒素を、硫酸安門(以下硫酸と略記す)、明礬、塩化カルシウムを巧に用い、精製しているが、その際硫酸 $\frac{1}{2}$ 飽和分画は無効なものとして捨てている。

又1937年 Pappenheimer²⁾もジフテリア毒素の硫酸31%飽和分画は無効としている。

わが国においても1951年黒川・村田^{3,4)}等は、ジフテリアトキシイドを硫酸にて分別沈澱を行い、30%飽和分画と60%飽和分画とに分ち、これ等2分画につき、*in vitro* 及び *in vivo* の抗原性をしらべた。この場合においても硫酸30%飽和分画の Flocculation 発現性は、混合法を用いた時においてのみ認められ、且つ動物に対する抗毒原性も著しく弱いことがみられたと。

1952年松本⁵⁾もジフテリアトキシイドを同様硫酸にて分画し、各分画の抗原性につき研究を行っているが、それによつても、ジフテリア毒素及びトキシイドの有効成分の大部分は、硫酸 $\frac{1}{2}$ 飽和分画に移行する事を記載している。

他方破傷風トキシイド硫酸低濃度分画の抗原性について、詳細な報告は著者の寡聞にして未だ聞かない処である。

1948年 Pillemer⁶⁾は結晶破傷風毒素の食塩水溶液が自然にトキシイド化した場合、そのトキシイドは、硫酸水溶液に対し溶解度が悪くなる事を記載している。

著者は今回細谷法にて部分的精製を行つた精製破傷風トキシイドを、更に硫酸をもつて分別沈澱を行い、各分画についてその抗原性をしらべ、興味ある成績を得たのでここに報告する。

実験材料および実験方法

使用菌株:

予防衛生研究所より分与を受けた破傷風菌 Harvard A₁₇ 株を用いた。

毒素産生用培地:

村田等の P₁₁ 培地⁷⁾を使用した。即ち牛心臓熱浸液に「ミクニ」毒素用ペプトン2%, ブドウ糖0.75%, 食塩0.25%, KH₂PO₄ 0.01%, Na₂HPO₄・12H₂O 0.01%, MgSO₄・7H₂O 0.02%, の割に添加、加熱溶解後 pH 7.4 としたものを内容 500ccのペプトン瓶に 350cc宛分注、更に 5 mg/20cc の割に還元鉄を添加し15ポンド20分滅菌した後毒素産生用培地として使用した。

Lf 価測定法:

伝研分与の Pepsin 消化精製 Flocculation 用血清を用い、抗元一定法にて行つた。又実験の正確を期する目的をもつて初発管上清中に遊離の毒素のない事は勿論、又 $\frac{1}{10}$ L+毒素を添加、マウスの皮下に注射し、定型的破傷風症状の下に翌朝までに斃死している事を確め、少なくとも Flocculation を起した初発管上清中には遊離の毒素も抗毒素もない事を確めた。

毒素の最少致死量(以下 M.L.D. と略記)の測定:

中性ブイヨン及び生理食塩水の等量混合液をもつて約20%間隔にて稀釈を行い、その0.4 ccを16 g内外の市販 D.D. 系雄性マウスの左大腿部外側皮下に各3匹宛注射し、4日以内に定型的破傷風症状の下に全試験動物を斃死させる最大稀釈の処をもつて M.L.D. とした。

免疫に使用したマウス:

16—18 gの体重を有する市販 D.D. 系雄性健康マウスを使用した。

各種トキシイドをもつてした免疫方法:

各種トキシイドを注射量0.5 cc中に20, 5, 及び1.25 Lf 含まれる様に生理食塩水にて稀釈し、上記マウスの右側大腿内側皮下に0.5 cc注射した。

耐毒試験:

SAKURABAYASHI Nagau: Studies on tetanus toxoid. Department of Bacteriology, Nihon University, School of Dentistry.—Jap. J. of Bact., 15(8): 733—739, 1960.

免疫注射後2週目に、予め力価を測定し、0.5 ml 中に10mld を含む様に中性ブイヨン及び生理食塩水の等量混合液にて稀釈した標準毒素を、免疫マウスの左大腿部外側皮下に注射した。

観察期間：

1週間とした。尚その成績は和田等の方法により採点した⁹⁾。

透析：

透析膜は市販のセロファン紙を使い、防腐の目的でToluolを重層。又透析後はぬれた濾紙で濾過しToluolをのぞき、0.85%になる様に食塩を加え実験に使用した。

飽和硫酸安門水溶液：

純正化学株式会社製特級硫酸を用い飽和硫酸水溶液を調製、pHをアンモニヤ水にて7.0として使用した。

pHは総べて東亜電波工業株式会社製の電気pH-meterを用いた。

Gel内沈降反応の条件：

棒状寒天を2%の割合に蒸溜水に加え加温溶解せしめ、pHを7.4附近に調節滅菌した後、防腐の目的でマーゾニンを0.01%になる様に添加、これを約10cc滅菌シャーレに流し、よくかたまつてから内径0.6cm、高さ1cmのStainless steel製の円筒をシャーレの中心に1ヶ、そのカップから互に等距離になる様に3ヶのカップを立て、再び寒天を10cc流し固まるのをまつて、中心のカップには抗毒素を、その周囲のカップには抗原を入れ室温に放置し観察した。

実験成績

I. No. 30破傷風毒素より硫酸分画Toxoidの製法

上記Pn培地にHarvard A₁₇株を7日間培養し、雑菌の侵入のないもののみをChamberlandにて濾過、その無菌的濾液を粗毒素として用いた。このものの力価はLf 45、マウスに対する毒性は100万mld/ccであつた。かかる力価の破傷風粗毒素5lを、型の如く細谷法⁹⁾で精製し、過剰の磷酸ソーダを除く目的で一夜流水に向つて透析、透析内液(精製毒素)710ccを得た。この精製毒素の力価は、Lf 225, Kf 11', マウスに対する毒性は150万mld/ccであつた。又この時のpHは7.6であつた。この精製毒素300ccをとり市販のFormalinを0.4%の割合に添加、pH 7.4とし、35°Cの孵卵器に入れ無毒化した。(これに要した日数は7日であつた。)

斯くして得た精製トキシノイドは全量290ccでそのLf値は225, Kf 32'であつた。この精製トキシノイドを2分

し、50ccは氷室に免疫用として保存、他の一方の240ccには、飽和硫酸安水溶液120ccをよく攪拌しつつ徐々に添加し、1/3飽和せしめ、1時間室温に放置後、遠心により上清と沈澱とに分け、沈澱は蒸溜水20ccに溶解、セロファン囊に入れ、流水に向つて2日間透析、Nessler反応陰性となつた淡褐色を呈する内液30ccを得た。そのものは1350 Lf, Kf 40', の値を示し、これを1/3トキシノイドとして氷室に保存。

他方1/3トキシノイドを分画除去した上清液350ccには更に飽和硫酸安水溶液350ccを添加、前者同様室温に1時間放置後、遠心により沈澱を集め、蒸溜水20ccに溶解、セロファン囊に入れ流水に向つて2日間透析、Nessler反応陰性となつた透析内液32ccを得た。このものの力価はLf 850, Kf 190', pHは7.1を示していた。これを

第1表 分画Toxoidの製法

$\frac{2}{3}$ トキシイドとして氷室に保存。両トキシイドは用い
のぞみ所定の如く稀釈し、マウス免疫に供した。

即ち第1表の如くである。

II. No. 30の各種トキシイドをもつてしたマウスの免 疫成績

Greenberg, Morrel 及び Gibbard 等¹⁰⁾, Koerber 及び
Mooke 等¹¹⁾ 及び Ipsen 等^{12,13)} は破傷風 Toxoid の抗原
性試験には、モルモットと同様、マウスの使用可能な事
を報じている。

マウスが破傷風トキシイドの力価検定に使用出来るな
らば、経済的に安価となり取扱いも容易で、従つて一時
に大量の動物を使用し得られるので成績も正確さを増し
て来る。

第2表 実験方法

実験動物:	マウス (16 g~18 g)	♂	市販 D.D.
飼育室温度:	17°C~20°C		
免疫原種類:	精製(細谷法) Toxoid, 硫安 $\frac{1}{3}$ 及び $\frac{2}{3}$ Toxoid		
免疫注射量:	0.5 cc (20, 5, 1.25 Lf) 1 回		
及び部位:	右大腿部外側皮下 (稀釈液: 生理的食塩水)		
免疫注射日:	昭和33年10月14日		
耐毒試験日:	昭和33年10月28日		
注射毒素:	標準毒素 No. 3		
稀釈液:	ブイヨン, 食塩水の等量混合液 pH 7.0		
注射部位:	左大腿部外側皮下		
注射量:	900×0.4 cc (約 10 mld 相当量)		

第3表 No. 30 Toxin より出発せる各種 Toxoid のマウスに対する抗毒原性

Toxoid の種類	注 射 Lf 量	注 射 量	使用 マウス 数	免 疫 中 斃 死	毒素注射後斃死までの日数						生	存
					2	3	4	5	6	7	症 る もの あ の	無 症 状 あ の
					標 点							
					0	1	3	3	3	3		
精製 Toxoid	20Lf	0.5 cc	10	／	3						7	
	5Lf	〃	〃	／	6						2	2
	1.25Lf	〃	〃	／	7	2				1		
$\frac{1}{3}$ Toxoid	20Lf	〃	〃	／	1	1				1	6	1
	5Lf	〃	〃	／	5	3				1	1	
	1.25Lf	〃	〃	1	3	2			1	3		
$\frac{2}{3}$ Toxoid	20Lf	〃	〃	／	1	3				2	4	
	5Lf	〃	〃	／	5	1				1	3	
	1.25Lf	〃	〃	／	10							

そこで著者はマウスを用い各種トキシイドの免疫実験
を行つてみた。

即ち第2表に示した様な条件の下において、第3表に
掲げた様な方法で各種トキシイドのマウスに対する抗原
性試験を行つた。即ちその成績は第3表の如くで免疫中
斃死したものは各群を通じ1匹で、他は耐毒試験を行い
得た。その結果は3・4表に示す如く精製トキシイド免
疫群は毒素注射後2日目に定型的症状の下に注射毒素に
耐えず、斃死したものの各群の累計は16匹で得点なく、
3日目に定型的症状で斃死したものの2匹で2点、7日目
に斃死したものの1匹、その得点は3、発症はしたが観察
期間中生存したもの9匹で36点、無症状で耐過したもの
2匹で12点、それら得点の総計は53点。 $\frac{1}{3}$ トキシイド
においては毒素注射後2日目に斃死したものの9匹で得点

第4表 No. 30 Toxin より出発せる各種
Toxoid のマウス免疫成績

		精 製 Toxoid	$\frac{1}{3}$ Toxoid	$\frac{2}{3}$ Toxoid
20 Lf	生存マウス			
	試験マウス	7/10	7/10	4/10
	10匹の総点数	28	34	25
5 Lf		4/10	1/10	3/10
		20	10	16
1.25 Lf		0/10	0/10	0/10
		5	14	0
計		53	58	41

なく、3日目に斃死したもの6匹で6点、6日目1匹で3点、7日目に斃死したもの5匹で15点、発症はしたが7日間生存していたもの7匹で28点、無症状で耐過したもの1匹で6点、それらマウスの得点の総計は58点。次に $\frac{1}{3}$ トキシイドについては2日目に斃死し得点を得なかつたもの16匹、3日目に斃死し1点を得たもの4匹、7日目に斃死したもの3匹で9点、発症はしたが7日間生存したもの7匹で28点、総計41点の得点を得た。これらの成績からみると $\frac{1}{3}$ トキシイドにおいて免疫成績は良好であることが認められた。

Ⅲ. No. 31破傷風毒素よりの硫酸分画トキシイドの製法

次に毒素の Lot を変えても、No. 30毒素よりの各製剤によつてみられた様な成績が、再び得られるや否や、その真实性を確かめる目的をもつて、No. 31毒素を用い実験を行つてみた。即ち、No. 30粗毒素の場合と同様、前記培地に Harvard A₁₇ 株を培養、Lf 30, Kf 18', マウスに対する毒素 144万/cc, pH 7.7, の粗毒素を得た。又今回は精製度を正確に知る目的をもつて micro kjeldahl 法により窒素量を測定、mgN 当りの Lf 価を測定する事とした。その結果によれば粗毒素の mgN 当りの Lf 価は12.9であつた。

この毒素 5.97 を型の如く細谷法をもつて精製、精製毒素 700ccを得た。而してその pH は 7.5, 力価は Lf 175, Kf 32', で精製毒素の窒素量は 0.592 mg/cc, 従つて 297.3Lf/mgN という値を示していた。

上記の精製毒素 600ccに飽和硫酸水溶液 300ccを攪拌しつつ静かに添加、 $\frac{1}{3}$ 飽和せしめ、1時間室温に放置したが、殆んど全く沈澱を生ぜず、微かに濁濁したのみであつたので、これを濾紙にて濾過し、その清澄な濾液に、さらに飽和硫酸水溶液 900ccを添加、 $\frac{2}{3}$ 飽和せしめ1時間室温に放置したところ、沢山な絮状沈澱を生じた。そこで遠心(3000r.p.m. 15分)により沈澱を集め、蒸留水50ccに溶解、全量52.4ccを得た。このものをセロファン囊に入れ流水に向つて Nessler 反応陰性となるまで透析(48時間)、透析内液76ccを得た。その力価は Lf 800, Kf 10', 1 cc 当りの窒素量は 0.487 mg, 従つて mgN 当りの Lf 価は1642.7であつた。

上記精製毒素76ccの中より70ccをとり、同量の蒸留水を添加、140ccとなし、市販の Formalin を 0.4%に添加、型の如くトキシイド化した。斯くして得たトキシイドは Lf 275, Kf 22' の価を示していた。

上記トキシイドのうちより 100ccをとり飽和硫酸水溶液を添加、 $\frac{1}{3}$ 飽和せしめたところ、毒素の場合とは異

第 5 表 分画 Toxoid の製法

破傷風毒素 No. 33	5.97	{ pH 7.7 Lf 30 Kf 18'	2.324 mgN/cc 12.9 Lf/mgN
細谷法にて精製		{ pH 7.5 Lf 175 Kf 32'	0.592 mgN/cc 297.3 Lf/mgN
透析内液 700cc	600cc		
飽和硫酸水溶液 300 cc 添加 (僅かに濁濁を生ぜしのみ)			
濾紙にて濾過 (濾液 900 cc)			
飽和硫酸水溶液 900 cc 添加 (室温に 1 時間放置)			
遠 心			
沈 澱			
蒸留水 50 cc を加え溶解 (全量 52.4 cc)			
流水に向つて透析 48 時間			
透析内液 76 cc	70 cc	{ pH 7.05 Lf 800 Kf 10'	0.487 mgN/cc 1642.7 Lf/mgN
蒸留水 70 cc 添加			
140 cc とす pH 6.5			
Toxoid 化す			
Toxoid 130 cc (pH 6.5→7.6) (Lf 275, Kf 22')			
100 cc			30 cc (精製 Toxoid) 免疫用として保存
飽和硫酸水溶液 50 cc			
遠 心			
沈 澱			上 清 140 cc
$\frac{1}{3}$ 飽和硫酸水溶液にて洗滌			
遠 心			
沈 澱			上 清 60cc
蒸留水 20 cc に溶解			
流水に向つて透析 (48時間)			
全量 24 cc ($\frac{1}{3}$ Toxoid) Nessler (—) pH 6.9 Lf 600 Kf 40' 0.340mgN/cc 1764Lf/mgN			飽和硫酸水溶液 200 cc
			遠 心
			沈 澱
			$\frac{2}{3}$ 飽和硫酸水溶液にて洗滌
			蒸留水 20 cc に溶解
			流水に向つて透析 (48時間)
			全量 27 cc ($\frac{2}{3}$ Toxoid) Nessler (—) pH 6.7 Lf 200 Kf 40' 0.301 mgN/cc 664 Lf/mgN

なり, 明らかに絮状沈澱を生じたので, そのまま1時間室温に放置した後, 遠心により沈澱と上清に分け, 沈澱は更に $\frac{1}{3}$ 飽和硫酸水溶液60ccで1回洗滌してから蒸留水20ccに溶解し, セロファン嚢に入れ Toluol を重層して流水に向つて Nessler 反応陰性となるまで透析, 内液24ccを得た。このものの力価は Lf 600, Kf 40' で mgN 当りの Lf 価は1764を示していた。次にその上清液 140 ccと, $\frac{1}{3}$ 飽和分画の洗滌とを混合した 200ccには, 等量の飽和硫酸水溶液を添加, 1時間放置後, 遠心により沈澱を集め, 硫酸 $\frac{2}{3}$ 飽和水溶液をもつて1回洗滌後沈澱を蒸留水20ccに溶解, 流水に向つて Nessler 反応陰性となるまで透析, 透析内液 27ccを得た。そのものの力価は Lf 200, Kf 40', で mgN 当りの Lf 価は 664で, $\frac{1}{3}$ トキシノイドに比べ遙かに精製度の低いのが知られた。

即ち第5表の如くである。

IV. No. 31の各種トキシノイドをもつてしたマウスの免疫成績

斯くして得た各種トキシノイドを, 前製剤同様注射量中に 20, 5, 及び1.25 Lf を含む様に稀釈し, 第6表の如き方法を以て, マウスを免疫し耐毒試験を行つた。

その成績は第7表に示した如く, 精製トキシノイド免疫群は, 毒素注射後2日目に斃死したもの2で得点 0, 3日目に斃死したもの5, 発症はしたが7日間生存したものが5, 無症状で耐過したもの18で, その得点の総計は133点。 $\frac{1}{3}$ トキシノイドにおいては免疫中斃死せるもの1, 毒素注射後2日目に斃死したもの3, 3日目の斃死6, 4日目3, 5日目1, 発症はしたが7日間生存した

第6表 実験方法

実験動物:	マウス (17 g) ♂ 市販 D.D.
飼育室温度:	17°C~20°C
免疫原種類:	精製(細谷法) Toxoid, 硫酸 $\frac{1}{3}$ 及び $\frac{2}{3}$ Toxoid
免疫注射量:	0.5 cc (20, 5, 1.25 Lf) 1回
及び部位:	右大腿部内側皮下 (稀釈液: 生理的食塩水)
免疫注射日:	昭和34年1月29日
耐毒試験日:	昭和34年2月12日
注射毒素:	標準毒素 No. 1
稀釈液:	ブイヨン・食塩水の等量混合液 pH 7.0
注射部位:	左大腿部外側皮下
注射量:	900×0.4 cc (約 10 mld 相当量)

第8表 No. 33 Toxin より出発せる各種 Toxoid のマウス免疫成績

		精製 Toxoid	$\frac{1}{3}$ Toxoid	$\frac{2}{3}$ Toxoid
20 Lf	生存マウス			
	試験マウス	9/10	6/10	7/10
	10匹の総点数	53	41	35
5 Lf		9/10	2/10	2/10
		51	20	14
1.25 Lf		5/10	7/10	4/10
		29	39	20
計		133	100	69

第7表 No. 33 Toxin より出発せる各種 Toxoid のマウスに対する抗毒原性

Toxoid の種類	注 射 L f 量	注 射 量	使用 マ ウ ス 数	免 疫 中 斃 死	毒素注射後斃死までの日数						生	存
					2	3	4	5	6	7	症 る も あ の	無 症 状
					標 点							
					0	1	3	3	3	3		
精製 Toxoid	20Lf	0.5 cc	10	／		1					1	8
	5Lf	〃	〃	／		1					2	7
	1.25Lf	〃	〃	／	2	3					2	3
1/3 Toxoid	20Lf	〃	〃	／		1	2				1	5
	5Lf	〃	〃	1	1	4	1	1			1	1
	1.25Lf	〃	〃	／	2	1					2	5
2/3 Toxoid	20Lf	〃	〃	／	2	1					4	3
	5Lf	〃	〃	／	4	3		1			2	
	1.25Lf	〃	〃	／	4	1	1				4	

I

II

III

もの4, 無症状で耐過したもの11, でそれらの得点の総計は100点。次に $1/3$ トキシイド免疫群においては, 毒素注射後2日目に斃死したもの3群中最も多く10を数へ, 3日目斃死したもの5, 4日目1, 5日目1, 発症はしたが耐過したもの10, 無症状で耐過したもの僅かに3であった。しかしそれら得点の総計は69点にすぎなかった。

即ち第7表, 第8表に示した通りである。

V. No. 31毒素より得たる各種トキシイドの Gel 内沈降反応及び超遠心による抗原分析

1946年 Oudin^{14, 15)}は試験管を用いて, 寒天で固らせた抗血清の上に抗原液を重ねると, 抗原が, 抗血清中に拡散して行き, それにつれて反応帯の出来ることを報告, この方法に依つて抗血清中に生ずる反応帯の数から反応系を分析できることを発表した。Oudin に続いて Ouchterlony¹⁶⁾はシャーレの中で寒天を固らせ, その表面につくった凹みに抗原や抗血清を入れて反応させる新らしい方法を案出。又 Jennings¹⁷⁾によつてその変法も発表されるにいたつた。Oudin の試験管内における Gel 内沈降反応では, 1種類の抗原と抗体とを反応させるだけで, 2種以上の抗原の間の相関関係を知ることは出来ない。これに反し, Ouchterlony 法では, 3つあるいはそれ以上の因子を反応させることが出来るのであるから, 元抗原と副抗原とを同時に抗血清に反応させることも可能である。

又鈴木鑑等¹⁸⁾は血清学的に独立した2つの異つた抗原を左右の凹みに入れ, これ等に対応する抗血清を混合して下の凹みに入れたところ, それぞれの反応帯は決して合流することなく, 全く独立的に交叉しながら成立することが認められたと。従つて独立的な反応帯であるかぎり互に影響することはないとしている。しかし血清学的に抗原が同一である場合は互に連絡することを記載している。

そこで著者は, 精製破傷風抗毒素を中心とし, その周囲に全く等距離をなす如く, さきにペニシリンの力価検定に用いられたカップを立て, これに精製トキシイド及び $1/3$, $2/3$ トキシイドを満たし, 室温に7日間放置し, その反応線より, 抗原の反応をしらべ, 強いてはその純度を判断し様とした。

写真に示す様に精製トキシイド, $1/3$ 及び $2/3$ トキシイドともに互に連絡し, しかもはつきりした線が1本存在し, その他 $1/3$ トキシイドにおいてはぼんやりした線が1本存在したのみであった。しかしながら精製及び $2/3$ トキシイドにおいてはぼんやりした数本の線が認められた。

即ち Gel 内沈降反応帯の数からして $1/3$ トキシイドは他の2者に比べ, その純度において勝るといえよう。

次に Ultracentrifuge spinco Model E. による抗原分析においても, $1/3$ トキシイドの Peak は1つしか認められず, 従つておもな Component は1つと考えられる。然るに $2/3$ トキシイドにおいては3つの Peak が認められた。従つて超遠心による分析においても, その純度に

において $1/3$ トキソイドが勝るのが認められた。

総括考按

細谷法による精製破傷風毒素を硫酸安門で分画した場合, $1/3$ 飽和ではほとんど全く沈澱を生ぜず, 微かに濁濁を生ずるのみであった。しかるにこれを Formalin にてトキソイド化すると, 硫酸 $1/3$ 飽和で沈澱を生ずる様になり, 精製トキソイドの Flocculation 有効因子の 52.4% が $1/3$ 飽和分画に移行するのがみられた。然るに $2/3$ 飽和分画には, 微かに 20% が移行するにすぎなかった。又 Moloney 等¹⁹⁾によれば破傷風トキソイドは 3300 Lf/mgN を示すとしていところから, 斯る簡単な操作で 1764 Lf/mgN の値を示す様になり, トキソイドの有効成分の約 54% が硫酸 $1/3$ 飽和分画に移行することが知られた。

又 Gel 内沈降反応においても, $1/3$ 飽和分画トキソイドは, はつきりしたおもな線と副線 1 本が見られるにすぎず, 然るに $2/3$ トキソイドは $1/3$ トキソイドの主線に連なる 1 本の線のほかその前後に数本の巾の広いぼんやりとした線の存在がみられた。

又超遠心による分析における $1/3$ 飽和分画の Peak は 1 つしか認められず, 従つて主な Component は 1 つと考えられる。しかるに $2/3$ 飽和分画トキソイドにおいては 3 つの Peak が認められた。以上のことから, $1/3$ トキソイドは $2/3$ トキソイドに比べ, その純度において勝るものと思惟される。

又マウスに対する抗原性の点についても $1/3$ トキソイドは $2/3$ トキソイドに比べ勝るのが認められた。

ジフテリアトキソイドにおいては, 硫酸をもつて分画を行った場合, 硫酸低濃度分画は, in vitro, in vivo の抗原性は著しく悪いのに比べ, 破傷風トキソイドにおいては, その収量も良好で, しかも Gel 内沈降反応及び超遠心分析による純度も高く, マウスに対する抗原性も良好であることは興味深いものがある。

結 論

1. 精製破傷風毒素は Formalin でトキソイド化することに依り, 硫酸 $1/3$ 飽和で沈澱する様になる。

1. Gel 内沈降反応においては, その純度において, $1/3$ トキソイドは $2/3$ トキソイドに勝る。

1. 超遠心による分析において, $1/3$ トキソイドの主な Component は 1 つである。

1. マウスに対する抗原性も, $1/3$ トキソイドにおいて勝る。

文 献

- 1) Eaton, M. D.: J. Bact. 31, 347(1936).
- 2) Pappenheimer, A. M. Jr.: J. Biol. chem. 120, 543(1937).
- 3) 黒川正身, 村田良介, 大寺正光, 山田隆子, 久保田憲太郎: 日本細菌学雑誌, 6, 57(1951).
- 4) Kurokawa, M., Murata, R., Nakano, Yamada, T. and Kubota K.: The Japanese Med. J. 4, 233(1951).
- 5) 松本秀夫: 日大医学雑誌, 11, 71(昭和 27 年).
- 6) Pillemer, L. and Moore, D. H.: J. Biological Chem. 173, 427(1948).
- 7) Murata, R., Kubota, K., Yamada, T.: Jap. J. Med. sc. Biol. 8, 391(1955).
- 8) 和田英太郎, 山本昭夫 広瀬俊一, 高尾益光, 太田佑, 山本碩三, 宮崎正之助, 小林秀: 日本細菌学雑誌, 14, 546(昭和 34 年).
- 9) 細谷省吾, 出口朗, 利部光四郎: 実験医学雑誌, 28, 420(1944).
- 10) Greenberg, L., Morrel, C. A. and Gibbard, J.: J. Immunol., 46, 333(1943).
- 11) Koerber, W. L. and Mook, G. E.: J. Immunol. 46, 425(1943).
- 12) Ipsen, J.: J. Immunol. 70, 171(1953).
- 13) Ipsen, J.: J. Immunol. 70, 426(1953).
- 14) Oudin, J.: Compt. rend. Acad. sc. 222, 115(1946).
- 15) Oudin, J.: Bull. Soc. chim. bicl. 29, 140(1947) (18 より引用).
- 16) Ouchterlony, Ö.: Acta path. et microbiol. Scand. 25, 186(1948).
- 17) Jennings, R. K. and Malone Frances: J. Immunol: 72, 411(1954).
- 18) 鈴木鑑, 木戸義昭: 日新医学, 43, 342(昭和 31 年).
- 19) Moloney, P. J. and Hennessy, J. N.: Biochem. J. 36, 544(1942).