細菌の栄養に関する研究(第3報)

合成培地における赤痢菌属の窒素源について

水野傳一・小坂璋吾

(国立豫防衛生研究所化学部)

〔受付: 1月13日, 1950年〕

細菌の窒素源の要求段階としては、おうむね、 N_2 — NO_3 — NH_4 —アミノ窒素—アミノ窒素+發育素、という順序に考えられている。赤痢菌属は最後の段階に属するものとされているが(例えば Knight (3, 4) Porter (6)) 前報(5)に示す如く志賀菌(花房株)は最後の二段階の轉移を示す菌群の形をなしている。そこで志賀菌の背景となる赤痢菌属全般が如何なる窒素の要求をもっているかという点、および窒素源の變化に伴つてニコチン酸アミドの要求が如何に異つてくるかということをしらべて見たいと考えた。さしあたり実験室の株として學術振興會の分類による標準菌株についてこの点を吟味したのでここに報告する。

實 験

菌株とその保持 豫研第二細菌部保管の標準菌株12についてしらべた。すなわち志賀(花房)、大野(府中)、駒込A(原株)、駒込B I (原株)、駒込B II (原株)、昭和(15號)、中村(傳研)、川瀬(園口)、西貢(18號)、大原(渡枝)、箕田(九大X)、居石(九大Y)である。そのうち西貢荒井株は18號に準じてしらべなかつた。(2,7) 菌株の保持については志賀(花房)、大原(渡枝)は第二細菌部大村桂子嬢の好意によりなるべく使用に臨んでその都度分與をいただいた。この點同嬢に厚く感謝の意を表する。たゞし合成培地に生育した菌の菌型はとくに詳しくはしらべていない。従つて同一の菌株のうちの變り得る菌型全部が試験培地に生育共存しているものと見た方が安全と考える。殊に大原菌においてそうである。

うえた菌量と生長度の觀察 菌量は24時間斜面培養を白金耳(約1.5mgが普通であつた)を10ccの食鹽水にうかべ、これを100倍にうすめ、その0.3ccを6.7ccの培地に加えた。37°、24~48時間培養し、生長したものは白金耳で繼代3代を行つた。生長度の觀察はColemannのElectrophotometer($\lambda=500m\mu$, 液層は附屬試験管のまま)により混濁度を測定した。吸光係數0.02以下(-), 0.02~0.06(+), 0.06~0.10以上(卅)とし繼代3代の平均を第1表にかかげ

た。アンモニウム鹽を窒素源とした時は培地がやや濁るので培養後5cc培地の滴定に要するN/100NaOHのcc數を上記の標號に合せて用いた。

薬品の純度 トリスチン、トリプトファン、パンテン酸カルシウムは市販の薬品をそのまま用いたがその他の薬品はわれわれが合成したものか、市販品ならば3回以上再結晶して用いた。ゲラチンは市販の寫眞用をそのまま用いた。

窒素源以外の基礎培地

KH_2PO_4	0.1%
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01%
ぶどう糖	0.25%
ニコチン酸アミドある場合	$5 \times 10^{-5}M$
pH 6.8~7.0, 100°30分3回滅菌	

しらべた窒素源.

- i) $NH_4H_2PO_4$ (M/60)
- ii) L-グルタミン酸 (M/30)
- iii) L-グルタミン酸(M/60)+dl-メチオニン (M/500)
- iv) L-グルタミン酸(M/60)+L-シスチン(M/500)
- v) L-アスパラギン (M/30)
- vi) L-アスパラギン(M/60)+dl-メチオニン(M/500)
- vii) L-アスパラギン(M/60)+L-シスチン(M/500)
- viii) L-グルタミン酸(M/60)+L-アスパラギン酸 (M/60)(5)
- ix) 同 上 +パンテン酸カルシウム 1γ/cc (8)
- x) 同 上 +トリプトファン (M/500)
- xi) ゲラチン加水分解培地 N 0.5mg/cc

結 果

結果は第1表に示されるようなものである。アミノ酸の種類、組合せ等についてはまだ無數に考えられる

本論文の要旨は昭和24年10月27日傳研豫研學術集談會の席上講演發表した。

Denichi MIZUNO and Shogo KOSAKA: Studies on the nutritional requirements of bacteria. III. On the nitrogen source for Shigella group in the synthetic medium. Japan. J. Bact., 5(2): 59-61, 1950. (The National Institute of Health of Japan Tokyo).

第 1 表 赤痢菌屬標準菌株と窒素源との関係

窒素源	菌 ニ コ チ ン 酸 ア ミ ド	志 賀		大 野		二 木										大 原		箕 田		石 居	
		志 賀	大 野	志 賀	大 野	駒 A	駒 B I	駒 B II	昭 和	川 瀬	中 村	西 貢	大 原	箕 田	石 居	志 賀	大 野	志 賀	大 野	志 賀	大 野
		(花房)	(府中)	(原株)	(原株)	(原株)	(15號)	(園口)	(傳研)	(18號)	(渡枝)	(九大X)	(九大Y)	(九大X)	(九大Y)	(九大X)	(九大Y)	(九大X)	(九大Y)	(九大X)	(九大Y)
窒素源		無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有
i) $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
ii) グルタミン酸		+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+
iii) グルタミン酸 + メチオニン		+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
iv) グルタミン酸 + シスチン		-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
v) アスパラギン		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
vi) アスパラギン + メチオニン		-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
vii) アスパラギン + シスチン		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
viii) グルタミン酸 + メチオニン + アスパラギン酸		+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ix) 同 上 + パントテン酸		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
x) 同 上 + ト リプトファン		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
xi) ゲラチン水解 培地		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+)……条件によって生える場合、(例えば4日以上観察あるいはブイヨンより一白金耳うる。)

であろうが、志賀菌にグルタミン酸が必須であるという事実(5)を中心にして考えて見た。表中にも散見されるように、条件によって同一培地に生えなかつたり生えたりする場合もある。菌型の變化もさることながら、適應と變異についても一考を要する點である。

われわれの得た結果では赤痢菌標準株 12 のうち3株がアンモニア窒素でもよいことが示される。またそのうち1株はニコチン酸アミドをも必要としないことがわかつた。残りの9株はアミノ窒素を必要としている。同じモノアミノジカルボン酸系であるグルタミン酸とアスパラギン、あるいはアスパラギン酸とでも株によつて好みを異にしている場合がある(志賀花房と箕田九大Y)。またメチオニンが顯著な役割を占めているようである。例えば川瀬、中村菌においてはゲ

ラチン水解培地にあつてはニコチン酸アミドを必要とするのに對して、メチオニン含有培地にあつてはこれを必要としない(このゲラチン水解培地中におけるメチオニンの量は計算によると約 10^{-4}M である)。大野(府中)、箕田(九大X)菌においてはアミノ酸の組合せをこの程度にとどめる限り、如何なる培地にも生育し得なかつた。ときに遅れて生えることがあつても、これは正常な發育とは認めなかつた、というのはゲラチン水解培地には兩株とも速やかに生えるからである。またこの事實は兩株がゲラチンに含有される物質(おそらくはアミノ酸)に不足する爲に生育しないのである。ということを書きするものである。

考 察

以上得た結果と、既にわれわれが得た結果(1,5)と

を先人の仕事に結びつけて考えるならば, 本論文の最初に掲げた細菌の窒素要求の段階は, 次のように細かく分けて考えてみてはどんなものであろうか。

第2表 窒素の要求段階

第2表のような段階はもとより固定したものではなく動的につながりあつていゝものであり, 同一菌株が條件によつていろいろの段階に移り得るであらう。とにかく發育素をニコチン酸アミドにとる限り, われわれは(III), (IV), (V)の段階が同一菌株で同時に示されることをみた。(I)今得た結果からみると赤痢菌屬標準菌株はそのままの形で炭素源をぶどう糖にとる限り, (I)西貢, (II)大原, 駒込B III, (IV)川瀬, 駒込A, 中村, (V)志賀, 中村, (VI)他の5株, の全段階を示す菌株があることになる。そのうち菌株の數として一番多いのは(VI)である。赤痢菌屬は(VI)の段階に屬するものとされる所以であらう。志賀菌屬(花房株)の窒素要求(5)はこのような背景のもとに理解されねばならぬであらう。

結 論

赤痢菌標準菌株 12 の合成培地中における窒素の要

求をしらべたが, 3株はアンモニア窒素でよく, そのうち1株はニコチン酸アミドをも必要としなかつた。他はいずれもアミノ窒素を必要としニコチン酸アミドを必要とするが, なかに4株はアミノ窒素の選擇によつてニコチン酸アミドを必要としないことがあつた。このような窒素要求の段階につき二三の論議を行つた。

終りに激勵御鞭達を賜つた傳染病研究所秋谷教授浮田助教授松本助教授豫防衛生研究所福見博士に厚く感謝の意を表する。

文 献

- 1) 淺野三千三, 水野傳一: 日本細菌學雜誌 3卷3號, 85~89, 昭 23 (1948)
- 2) 福見秀雄, 大村桂子, 砂川澄子: 醫學と生物學 12卷6號, 412~414 昭 23 (1948)
- 3) Knight, B. C. J. G.: "Bacterial Nutrition," Medical Research Council (Brit) Special Rept. Series. No. 210 (1936)
- 4) Idem: Vitamins and Hormones, 3, 108-228 (1945)
- 5) 水野傳一, 小坂璋吾: 日本細菌學雜誌, 5卷2號 51-55 昭 25 (1950)
- 6) Porter, J. R.: "Bacterial Chemistry and Physiology." III Ed. (1946)
- 7) 鶴岡正夫: 醫學と生物學, 10卷6號 292~296, 昭 22 (1947)
- 8) Weil, A. J. & Black, J.: Proc. Soc. exp. Biol. & Med., 55, 24-26 (1944)