補體結合性抗原產生を條件とする鼻疽菌 の發育要素に就て

岩 下 光 之

(大連滿鐵衛生研究所)

ON THE NUTRITIVE FACTORS FOR THE GROWTH OF BACILLUS MALLEI, WITH SPECIAL REFERENCE TO PRODUCTION OF ANTIGEN FOR COMPLEMENT-FIXATION.

M. IWASHITA.

(From the Hygienic Institute, S. M. R. Co,
Dairen, Manchukuo.)

マレインの精製に梅津氏は ⁽¹⁾Lühns の處方を改良せる無蛋白培養基を使用せり。余も之が精製に當りては最も簡單なる合成培地より出發するの適當なるを考へて實驗を開始し先づ鼻疽菌補體結合性抗原產生に必要な要素を究め以て所期の目的に達し得たれば以下之を報告せんとす。

I. 實驗材料及び方法

實驗に使用せる鼻疽菌株は大連Ⅱ系にして、血清は該菌株の死菌免疫家兎血清なり。

培養基は一種に付き大試験管數本宛製造しPH6.6—6.8となし各管にグリセリン寒天一夜培養菌—白金耳宛を移植しゴム帽を被せて蒸發を防ぎ、毎日發育狀態

を檢査し四週間後取出して滅菌し Berkefeld N にて濾過し濾液を抗原として遞減稀釋を行ひ、其の0.5c.c.と非働性免疫血清0.05c.c.宛を使用して補體結合價を測定せり。

II. 各種アミノ酸の比較

下記梅津氏⁽⁵⁾の處方を基礎として實驗を行へり。

第1 磷酸加里	15.0
第1 磷酸曹達	20.0
(後第2磷酸曹達15.0に改めたり)	
硫酸マグネシウム	12.5
グリセリン	100.0
アスパラギン	25.0
硫酸アムモニウム	40.0
硫酸鐵アムモニウム	0.05
蒸溜水	500.0

該處方中のアスパラギンを第1表に掲ぐる17種のアミノ酸にて代用し之れに鼻真菌株太連Ⅱ系を移植して其の發育狀態を觀察し濾液につき補體結合價を測定せり。

第 1 表

アミノ酸種類	アミノ酸名	發育狀況 5日28日	補體結合價
モノ、アミノ 1 炭素酸	Glycocoll	+	4
	Alaninum	+	32
	l-Leucin	+	2
	Iso-Leucin	+	0
	β-Phenyl-α-alanin	+	2
	Tyrosin	+	16
	α-Valin	+	2
	l-Serin	+	16
	α-Amidobuttersiure	+	16
モノ、アミノ 2 炭素酸	Asparagin	+	16
	Glutamin siure	+	32
γ. アミノ、1炭素酸	D-Arginin	+	16
γ. アミノ、2炭素酸	Cystin	+	(-)
異環性體	l-Tryptophan	+	32
	l-Histidin hydrochl rid	+	256
	l-Prolin	+	32
	l-Oxyprolin	+	32

- 備考. 1. 發育狀況は肉眼的に培養基の混濁度により+, ++, +++, +++++等を現せり
 2. 補體結合價は抗原稀釋度を以て示せり。以下之れに同じ

此の結果によれば菌發育と抗原性とは大體に於て平行するも常に必ずしも平行するものに非るが如し。例へば發育相當に佳良なる Glycocoll, Leucin, Iso-Leucin, Cystin 等に於て抗原性乏しく, α -Amidobuttersäure の如き發育不良なるに拘らず抗原性に富むものあるが如し。而してモノ, アミノ 1 炭素酸に屬するものは成績不同なるも概して良好なるは異環性体に屬するものにして特に L-Histidin hydrochlorid は斷然優良なる成績を示せり。

III. アミノ酸以外の要素

前實驗によりアミノ酸中にては Histidin 最優良なる結果を與ふるを知る。然らば Histidin 單一にて如何なる發育を呈し得るや、或は他の要素の配合を必要とするやを知らんがため梅津氏處方の藥品を各單一に或は 2種, 3種, 4種, 5種, 6種と組合せたる培養基を製造し之に對する發育狀況及び補體結合價を検せり。

第 2 表

配合 藥品數	薬品名	發育狀況 5日:8日	補體 結合價
1種類	Histidin	± ±	2
2種類	Gly. Hist.	++ ++	4
3種類	イ. 第1磷酸, 第2磷酸, Gly.	— —	(—)
	ロ. 第1磷酸, 第2磷酸, Hist.	++ ++	8
4種類	イ. Gly. Hist. 硫安, 硫鐵安.	+ +	(—)
	ロ. 第1磷酸, 第1磷酸, Gly. Hist.	++ ++	32
	ハ. 第1磷酸, 硫マ, Gly. Hist.	++ ++	16
	ニ. 第1磷酸, 硫マ, Gly. Hist.	+ ++	8
5種類	イ. 第1磷酸, 第2磷酸, 硫マ, 硫安, 硫鐵安.	— —	(—)
	ロ. 第1磷酸, Gly. Hist. 硫安, 硫鐵安.	++ ++	8
	ハ. 第1磷酸, Gly. Hist. 硫安, 硫鐵安.	+ ++	16
	ニ. 硫マ, Gly. Hist. 硫安, 硫鐵安.	± +	(—)
	ホ. 第1磷酸, 第1磷酸, 硫マ, Gly. Hist.	++ ++	16

6種類	イ. 硫酸安を欠くもの	卅 卅	32
	ロ. 硫酸を欠くもの	卅 卅	16
	ハ. 第1 燐加を欠くもの	十 卅	32
	ニ. 第1 燐曹を欠くもの	卅 卅	32
	ホ. 硫マを欠くもの	卅 卅 [○]	32
	ヘ. Gly を欠くもの	卅 卅	8
	ト. Hist を欠くもの	卅 卅	(一)

備考. 1種類にて多少發育せる如きは Histidin のみにして他は悉く陰性なる故省略せり。

6種藥品混合培養基即ち梅津處方7種藥品中の1種を除去せるものの中 Histidin を欠くものは稍菌の發育を見るも抗元性なきを示し. Glycerin を欠くもの之に次ぎ夫々惡影響を受くるも他の藥品に就ては孰れの1種を缺くも大なる影響を認めず。

之に反し Histidin は單一にても僅微の發育を見且つ抗元性(2)を示す. 之に Glycerin を加ふれば稍良好となり. 更に第1 燐酸加里. 第1 燐酸曹達を加ふれば發育は最良ならざれど其の抗元性優良なるを示す. 之により余の補體結合性抗原產生の目的には

第1 燐酸加里	15.0	にて可なるべく硫酸マグネシウム. 硫酸アムモニウム. 硫酸鐵アムモニウムの添加を要せざるべし. Heinze ⁽²⁾ は鼻疽菌の發育に Glycerin 窒素化合物(最良なるは Asparagin) 及 Phosphorsäure, Kalium, Magnesiumsalz が絶對必要にして Natrium 及び硫酸は無くとも可なれど加ふれば他の物質と共に 菌の發育を昂進せしむるの利あるべく. 又硫酸鐵アムモニウムの少量添加は發育 を助長すべしと説けり。余の實驗も之等の藥品の發育助長作用は認むべきも余 の目的の爲には上記處方にて充分なるを知れり. 以下該處方による培養基を便宜 上簡易無蛋白培養基と稱す。
第1 燐酸曹達	20.0	
Glycerin	100.0	
Histidin	25.0	
蒸溜水	5000.0	

IV. Amino 酸の代用品

Amino 酸を Amino 基を缺除せる有機酸にて代用して菌の發育を認め得るや否やを蔞酸. 枸櫞酸. 安息香酸. 乳酸. サリチール酸. 酒石酸. ステアリン酸. ロゾール酸. 尿酸. 馬尿酸. 沒食子酸. ピクリン酸. ズルフォサリチル酸. 等¹³

種に就き夫々添加量を異にして實驗せるも遂に菌の發育を見ること能はざりき。

V. 簡易無蛋白培養基の好適水素イオン濃度

前實驗に於て知り得たる鼻疽菌の發育に對する結果に基き簡易無蛋白培養基の好適PHを知らんがため次の處方をPH 9.0, 8.0, 7.0, 6.5, 6.0, 5.5, 5.0, 4.0, となし、之に鼻疽菌株大連Ⅱ系を培養し發育狀態及び補體結合價を檢查せり。

第1 磷酸加里	15.0
第2 磷酸普達	15.0
グリセリン	100.0
ヒスチジン	25.0
蒸留水	5000.0

第 3 表

起 始 PH	發 育 狀 況 5 日 28 日	補 體 結 合 價	濾過後 PH
9.0	— —	0	
8.0	± 卅	8	7.3
7.0	± 卅	32	6.8
6.5	± 卅	16	6.2
6.0	+ 卅	8	6.0
5.5	+ 卅	(—)	5.5
5.0	— —	(—)	4.7
4.0	— —	(—)	4.0

第3表に見る如く發育並に補體結合性抗原產生に最適なるPHは中性附近にしてPH 8.0以上及び5.0以下は菌の發育に適せず。

之れ余等が嘗つて Bouillon 及び Pepton 水にて實驗せる發育PH域と一致す。然れども培養後 Bouillon に於て10日後、Pepton 水に於て5日後頃より夫々 PH はアルカリに向ひ 4週後には各PH8.0以上となり菌は死滅せり、而して此の死滅はPHのアルカリ變化に歸し得るものとせらる。然るに本培養基にてはPHは4週の後迄大なる變化なく従つて菌の死滅を結果することなし。

VI. Glycerin 及び Histidin の適量

簡易培養基に添加すべき Glycerin 及 Histidin の適量を檢定せるに Glycerin は本菌の發育に對し量的に大なる影響なきも Histidin は 0.5—1.0 % を最適とし、以下の量にては漸次發育不良となるが如し。

第 4 表

Glycerin %	發育狀況 5日 28日	補 體 結合價	
5.0	+	卅	16
2.0	+	卅	8
1.0	+	卅	16
0.5	+	卅	8
0	+	卅	8

Histidin %	發育狀況 5日 28日	補 體 結合價	
1.0	++	卅	16
0.5	++	卅	16
0.1	++	卅	8
0.01	+	+	2
0	-	-	(-)

VII. 簡易培養基に於ける鼻疽菌各株の發育と補體結合價

簡易培養基に各株の鼻疽菌を培養し其の發育並に補體結合價を検査せり。

第 5 表

菌 株 名	發育狀況 5日28日	補 體 結合價
1. 大連Ⅰ系	卅 卅	32
2. " Ⅱ系	卅 卅	32
3. " Ⅲ系	卅 卅	32
4. " Ⅳ系	卅 卅	32
5. 釜 山	十 卅	32
6. 鳳 凰 城	卅 卅	16
7. 驛 十 七	卅 卅	16
8. 驛 十 八	卅 卅	32
9. 吉 林	卅 卅	16
10. 奉 天	卅 卅	32
11. 公 主 嶺	卅 卅	32
12. 競 馬 場	卅 卅	64
13. 歐 洲	卅 卅	32
14. 1 5 5	卅 卅	32

左表に示す如く各菌株共本培養基に同様な發育をなし、補體結合價も6—64倍を示せり。依て目的によりては本培養基を充分使用し得べきものなるを信ぜしむ。

在來、東北は余等⁽⁶⁾の嘗て論議せる所謂鞭毛性鼻疽菌(坂本氏⁽⁷⁾の Pfeifferella Parawhitmori なる名稱を附與せん事を提唱せる菌)にして此の2系は本培養基にても他株に比し發育不良にして大連Ⅱ系血清に對し補體結合性を缺く等明かに區別せらるるは興味ある事實なりとす。

15. 1 6 3	卄 卅	32
16. 在 來	卄 卄	(-)
17. 東 北	十 十	(-)

VIII. 總 括

1. 梅津氏培養基の Asparagin を各種 (17種) の Amino 酸を以て代用せるに概して異環性體に屬するものに於て發育佳良且補體結合價高く特に Histidin は斷然好成績を示す。

2. 梅津氏培養基の處方藥品 7 種中重要性を試験せるに Histidin は缺くべからざるものにして單に Histidin 水中にても稍發育の狀を見る。之に Glycerin, 第 1 磷酸加里, 第 2 磷酸曹達 (又は第 1 磷酸曹達) を處方すれば菌の發育, 補體結合價共に梅津氏培養基に劣らざるものと認む。

3. Amino 酸を除きて各種有機酸を種々の量に加ふるも遂に發育を見ること能はざりき。

4. Glycerin 量は 0.5—5 % にて大なる影響は來さざるも Histidin は 0.1—1 % を要すべし。

5. 簡易無蛋白培養基に於ける鼻疽菌の發育 PH 域は 5.5—8.0 にして最適 PH は 6.5—7.0 なりとす。

6. 簡易無蛋白培養基に鼻疽菌 (15 株) を移殖せるに何れも良好なる發育を呈し, 且つ補體結合性抗原を有す。

以上の實驗により鼻疽菌死滅免疫家兎血清に對する補體結合性抗原產生に最も適すべき簡單なる培養基 (簡易無蛋白培養基) の組成は

第 1 磷酸加里	3.0	} にして Amino 基の存在なくしては鼻疽菌の發育を見る こと能はず。
第 2 磷酸曹達	3.0	
グリセリン	20.0	
ヒスチヂン	5.0	
蒸溜	1000.0	

稿を終るに臨み終始懇篤なる御指導を賜りたる所長安東博士並に熱心なる御鞭撻を受けたる科長笠井博士に感謝す。

文 献

1. Lührs; Z. f. Veterkd. Bd. 29. S. 253. (handb. d. Path. Mikorg. Kolle, Kraus, Uhlenenbuth, Bd. VI. S. 13.1927より引用)
2. Heinze; Diss. Berlin. 1921 (同上)
3. Vehse; Mh. Tierhik. 1920 Bd. 31. S. 363. (同上)
4. Löwenstein u. Pick; Biochem. Z. 1911. Bd. 31. S. 142 (同上)
5. 梅津; 日本獸醫學雜誌 12卷. 3號. 昭8年
6. 坂本. 岩下; 中央獸醫會雜誌 43年. 5號. 昭5年
7. 坂本; 同 45年. 9號. 昭7年