- (4) R. M. SANDSTEDT *et al.*: *Cereal Chem.*, 16, 712 (1939).
 (5) W. J. OLSSON *et al.*: *Cereal Chem.*, 21, 533 (1944).
 (6) W. J. OLSSON *et al.*: *Cereal Chem.*, 24, 299 (1947).
 (7) E. KNEEN *et al.*: *Cereal Chem.*, 27, 299 (1947).
 (8) 富金原 孝, 村松敬一郎: 農化, 27, 398 (1953).
 (9) J. CORMAN and A. F. LANGLYKKE: *Cereal Chem.*, 25, 190 (1948).
 (10) L. L. PHILLIPS and M. L. CALDWELL: *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 3559 (1951).

Summary

The authors examined the effect of β -amylase and mold saccharogenic enzymes for determination of α -amylase activity in mold enzyme preparations by using the iodine-starch reaction as the WOHLGEMUTH procedure.

1. In mold enzyme preparation, as well as in malt, the time to reach the end point (red-brown or achroic point) was considerably decreased by adding β -amylase to the soluble starch medium, but the excess of β -amylase added did not help the reduction of time any more (Fig. 1).

2. A/B values (reaction speed) of 16 strains of mold enzyme preparations were about 6.0~6.8 and these values were similar to A/B values of pure malt α -amylase and crystalline mold (*Asp. oryzae*) α -amylase (Table 1).

From these results, it was concluded that the enzyme comparable to malt β -amylase was not included in mold enzyme preparation (Table 2).

3. In the relative estimation of α -amylase activity among the mold enzyme preparations, the addition of β -amylase (as the method of SANDSTEDT *et al.*) is not necessary.

4. The effects of mold saccharogenic enzymes (glucogenic enzyme, gluc amylase) for the determination of mold α -amylase activity were very weak as compared with the effect of β -amylase, therefore these influences on the estimation of mold α -amylase activity would be neglected (Table 3).

微生物発育現象に関する研究 (第9報)

細菌の発育に及ぼすアミノ酸添加の影響 (その1)

松 山 晃 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和 28 年 11 月 24 日 受理

Studies on the Microbial Growth. Part 9. The Influences of Amino Acids added to Glucose Ammonium Salt Medium on the Bacterial Growth (1)

By Akira MATSUYAMA (Dept. of Agr. Chem., Fac. of Agr., University of Tokyo)

I. まえがき 一般に細菌に対する発育阻害剤の作用が培地中の成分によつてどのような影響を受けるかということは、細菌学的並びに発育阻害剤の作用機序の究明とその応用上の見地から興味深い問題である。食塩の発育阻害作用はアミノ酸の存在によつて著しく影響されるが、食塩は広く防腐剤として実用に供されており、且遊離アミノ酸の共存することも多いので、ここでは食塩による発育阻害作用に対する各種アミノ酸添加の影響を検討した。この場合基本培地の組成によつてアミノ酸添加の生理学的意義が異なるので、食塩による lag に対して発育促進的乃至刺激的に作用するか、或いは発育阻害的に作用するかを検討する立場から、ある程度の発育が可能で而もアミノ酸を含まない合成培地として KOSER の培地を基本培地に採用した。このような培地中では細菌は、その培地成分を利用してアミノ酸及びビタミン等すべての発育必須因子を合成利用し得る状態にあると考えられる。多くのアミノ酸は細菌細胞内において細胞原形質の構成物質としての外に細胞内代謝機能に重要な役割を演じている⁽¹⁾。従つて培地に添加されたアミノ酸が発育促進作用を示すことは予想されるが、他方ある種のアミノ酸及びとくに *d* 型の発育阻害作用も多くの研究によつて知られている^{(2)~(13)}。又細菌のアミノ酸要求は共存する他のアミノ酸の量によつて異なり、アミノ酸相互間の balance が必要で、いわゆる imbalance によるアミノ酸相互間の拮抗作用が報告されている^{(2)(14)~(19)}。これらの研究によれば KOSER の培地に添加されるアミノ酸が単に発育促進的に作用するだけでなく、種類の作用型を示すことが考えられる。合成培地でのアミノ酸の影

響については唯一の N 源又は N 及び C 源として用いた場合並びに NH_4 塩を含む培地に添加された場合について最近 LODGE 等⁽²⁰⁾, MORRISON 等⁽²¹⁾ 及び DAWES⁽²²⁾ によつて論ぜられたが、著者はこれらのアミノ酸の影響を發育阻害剤の作用との関聯の下にさらに多くの種類のアミノ酸について検討した。先ず本報では単一のアミノ酸を發育刺激濃度及び發育阻害濃度の食塩を含有する 2 種の基本培地に添加した場合の影響を現象論的に類型化した。食塩の發育阻害濃度としては第 5 報⁽²³⁾と同様の理由により sublethal conc. (0.5 M) を用いた。又この濃度の食塩の發育阻害作用は殺菌作用による lag の延長、対数期の發育速度並びに定常期の高さの低下の 3 種であるが、この中 lag 延長作用は最も著しいので本実験では主として lag の変化を被検量とした。

II. 実験方法 1. 供試菌株及び發育曲線測定法 従来と同様 *Escherichia coli* (var. *communis*) を用い、静置培養を行つたが、接種培養等の操作及び生菌測定による發育曲線の実測はすべてこれまでと同じ方法⁽²³⁾によつた。發育曲線の実測に際しては、誘導期に殺菌作用のある場合には比濁又は hemocytometer による総菌数測定法は、とくに対数期の初期に測定誤差を生ずるおそれがあるので、發育曲線の実測はすべて生菌数測定法⁽²⁴⁾によつた。KOSER の合成培地中では發育がやや緩慢で培養による誤差が大きい傾向があるので、実験を少くとも 2~3 回繰返して実験結果の再現性に注意した。Inoculum の cell age は lag の長さに著しい影響がある⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾ので、後述の如く前培養は定常期に達してから約 20 時間行い、本培養の lag がほぼ一定の値になるようにした。又前培養は KOSER の培地中で 2 回行つて保存培地中の發育促進物質の影響をさけ、且菌の合成培地に対する適応を充分にし、true logarithmic growth⁽²⁸⁾ が得られるようにした。培養液面は液の蒸発による食塩濃度の変化及び空気中の酸素の及ぼす影響をさけるために流動パラフィンで被ふくした。2. 培地 基本培地として KOSER の合成培地⁽²⁹⁾ (NaCl , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.0 g, K_2HPO_4 1.0 g, Glucose 2.0 g, H_2O 1000 ml; pH 6.8) を用い、食塩濃度は 0.1 M (發育促進濃度) 及び 0.5 M (sublethal conc.) とした。合成培地に用いる水に含まれる重金属は lag に著しい影響があるので glass distilled water を使用した⁽³⁰⁾。培地に添加したアミノ酸は味の素株式会社, Gen. Biol. Inc., Cole Lab. 及び H.M. Chem. Co. 製の精製品を用いた。培地の殺菌は加圧加熱 (110° , 10 分) によつたが、cystine は Seitz 濾過によつた。3. **Bacterial lag の定め方** 細菌發育曲線について lag の長さの定め方には種々の方法があるが⁽²⁵⁾⁽²⁷⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾, LODGE 等, MONOD 及び HINSHELWOOD は初期に殺菌がみられない場合 (Fig. 1, 曲線 A) の lag time を L_1 と定義し, DAGLEY 等⁽³⁰⁾は殺菌作用を伴う場合 (同図, 曲線 B) を L_2 として対数期への移行時に發育曲線

Fig. 1. Bacterial Lag

DAGLEY 等と同じく近似的に L_2 をもつて lag time と定めた。

III. 0.5 M 食塩存在下におけるアミノ酸作用型の定性的類型化 0.5 M 食塩含有培地に対するアミノ酸添加濃度と lag time との関係を、先ず稀釈法によつて定性的に類型化した。視覚法によつて細菌の増殖による液の濁りを識別し得る限度はほぼ $10^{6.3}/\text{ml}$ 程度であるので、 $10^{6.3}/\text{ml}$ 程度の菌濃度になるように接種量を調整、培養し、各アミノ酸添加濃度について lag time を推定した。即ち液が僅かに濁りはじめる時間が lag time に等しいと考えられるが、アミノ酸濃度対 lag time 曲線は、図式化して Fig. 2 に示されるように 3 種の型に要約される。各型に属するアミノ酸を Table 1 に示す。これらの中 cystine は殺菌方法により微生物の發育に対する作用が異なる場合が知られている⁽³³⁾ので、オートクレーブと Seitz 濾過器とによつて殺菌したが、共に B 型で差異はなかつた。立体構造によるアミノ酸の發育に及ぼす影響の差異については多くの研究があり^{(10)~(13)(34)}

がゆるやかで、対数期に入つた時期が明確でない時にもこの定義は好都合であるとした。しかし後者の場合 L_2 は接種時から対数的増殖の始まるまでの時間と対数期の増殖速度との函数になる。殊に殺菌作用が強くあらわれ生菌濃度が著しく初期に減少する場合にはこの傾向は著しい。従つて lag time を接種後対数的増殖が開始されるに要する時間と考えると、この場合 L_3 と定めるのがより適当であろう。本報における基本培地の食塩濃度では殺菌作用による曲線の降下が著しくないこと及び対数期の發育速度が比較的に変化しないので、測定操作の便宜を考慮して曲線 B の場合にも

Fig. 2. Scheme of amino acid actions

(35), 一般に天然系の *l* 型に比べ *dl*-型とくに非天然系の *d*-型が発育阻害作用をもつことが示されている。

本報ではこの点充分の検討は行わなかつたが, alanine 及び methionine の *l*-並びに *dl*-型について行つた実験からは, 従来の知見と同様天然系の *l*-型が発育促進作用が大きいことが推測されるが, 作用型の差異は認められなかつた。

IV. L-C 図法による添加アミノ酸の作用型の検討 前項の定性的類型化に基づいて, 発育曲線の実測により, 定量的に添加アミノ酸の影響を検討した。この際とくに食塩濃度 0.1 *M* 及び 0.5 *M* の場合を比較検討した。実験結果の表示法としては *x* 軸にアミノ酸添加濃度 *C* 又は $\log C$ を, *y* 軸に 0.1 *M* もしくは 0.5 *M* の基本培地における lag time L_1 もしくは L_2 を原点としてアミノ酸添加による lag time の変化量 ΔL をとり, グラフ上の曲線の型を論ずる。 ΔL の符号は lag time を短縮する場合を正, 延長する場合を負と定める。このようにして ΔL 対 *C* 又は ΔL 対 $\log C$ 曲線をもつて添加アミノ酸の作用型をあらわすことにする。このような図式的方法を L-C 図法 L-C diagram method, L-C diagram によつて表わした ΔL 対 *C* 曲線を L-C 曲線とよぶことにするが, その詳細については後報で論ずる。DAGLEY 等⁽²⁶⁾ その他の研究では何れも inoculum の cell age を調整して $L_1=0$, 即ち接種後直ちに對数的増殖が行われる条件下で細菌の発育を論じているが, 本報では $L_1=0$ とせず L_1 が一定の値を示すようにして発育促進作用を検討した。その結果を Fig. 3 に示す。

Conc. of amino acid ($\log_4$)

Fig. 3. L-C Diagrams of Amino Acids added to KOSER's Medium containing 0.1 *M* and 0.5 *M* NaCl.

A; L-Glutamic acid; B, Hydroxy-L-proline; C, DL-Threonine; D, L-Cysteine; E, Taurine; F, DL-Methionine, Conc. of Amino Acids ($\log_4$)
broken line, 0.1 *M* (stimulating conc.); solid line, 0.5 *M* (sublethal conc.); $L=L_2$, $L'=L_2-L_1$
cf. Fig. 1

前述の如く前培養を定常期に達してから約 20 時間行い, 接種量をほぼ $10^5/\text{ml}$ にして, 0.1 *M* 及び 0.5 *M* 食塩存在下の lag time をそれぞれ 10 及び 30 時間前後とした。このような lag time の基本状態に対し, 培

Table 1. Classification of the Actions of Amino Acids added to KOSER's Medium containing 0.5 *M* NaCl.
(cf. Fig. 2)

Type A	Glycine, L-, DL-Alanine, β -Alanine, DL-Valine, L-Leucine, DL-Serine, L-Phenylalanine, L-, DL-Tyrosine, L-Histidine, L-Proline, DL-Tryptophan, L-Lysine, L-Isoleucine, L-Glutamic acid, L-Aspartic acid, L-Arginine
Type B	L-Cysteine, L-Cystine, <i>p</i> -Aminobenzoic acid
Type C	DL-Threonine, Hydroxy-L-Proline, L-, DL-Methionine, Taurine, α -Amino- <i>n</i> -Butyric acid, Sulfanilic acid

地に添加された各種アミノ酸の影響は 0.5 M 食塩存在下では前述の如く 3 種の型に分類される。A 型では ΔL は常に + でアミノ酸は發育促進作用だけを示す。B 型では比較的低濃度では A 型と同様 ΔL は + で發育促進的であるが、高濃度では ΔL は次第に減少してやがて - になり發育阻害的である。C 型は B 型とほぼ同様の傾向を示すが發育促進作用が比較的微弱で、B 型では ΔL が L_1 より大きくなり、曲線の頂きが平であるのに対し、C 型では L_1 より一般に小さく、曲線の頂きが尖っている。0.1 M 食塩存在下では多くのアミノ酸は A 型又は B 型を示すが、taurine 及び α -aminobutyric acid は C 型で、methionine は特異な型を示し比較的低濃度では C 型と同様の傾向を示すが、ある濃度以上では ΔL は再び大きくなり、曲線は極大及び極小を示す。この型を D とする。次に 0.1 M 及び 0.5 M 食塩存在下の型を比較し、その関係を図式化して Fig. 4 に示す。各型の曲線の

Fig. 4. Schematic Classification of Amino Acid Actions by L-C Diagram Method (cf. Fig. 3).

- I, Glycine, L-, DL-Alanine, β -Alanine, DL-Valine, L-Leucine, DL-Serine, L-Phenylalanine, L-, DL-Tyrosine, L-Histidine, L-Proline, DL-Tryptophan, L-Lysine, L-Isoleucine, L-Glutamic acid, L-Aspartic acid, L-Arginine
- II, L-Cysteine, L-Cystine, p -Aminobenzoic acid
- III, Taurine, α -Amino- n -Butyric acid
- IV, DL-Threonine, Hydroxy-L-proline
- V, Sulfanilic acid
- VI, L-, DL-Methionine

性の差異によつてはその作用型は変化しないであろう。食塩は従来細胞膜の透過性を増大させるといわれているが⁽³⁷⁾、taurine の場合は食塩濃度が高くなつても作用型はほぼ同じで曲線の極大点が低濃度に移行しているに過ぎないことは、食塩によつて細胞膜の透過性が増大し且 taurine がほぼ同一の作用機構で影響を与えていることを示している。しかし hydroxyproline とくに methionine について型の変換を検討すると、型の変換が一部透過性の増大に負うているにしても、その他に食塩による細胞内代謝機構への影響によることが考えられる。hydroxy-proline 及び threonine (Fig. 3) において 0.5 M 食塩存在下では發育促進作用を示す濃度範囲が著しく狭くなり、とくに methionine では明かに作用型の変化が認められるので、これらの場合には發育に必要な細胞内代謝機能が阻害されているのであろう。Glutamic acid 等は本実験におけるよりさらに高濃度範囲に亘つて發育阻害作用を示さないが、A 型として分類したアミノ酸の中には、本実験におけるより高い濃度では發育阻害作用を示し、B 型となる可能性が考えられるものもあるが、試料の関係で十分な検討を行わなかつた。又 B 型と C 型とは明確に区別出来ない両者の移行型があり、両者は +- 型の亜型とみなす方が妥当ともいえる。本実験条件下における lag は late lag⁽²⁷⁾ で、その生成機作には未だ明確な説明がないが、アミノ酸の添加により

1 次導函数の符号の変化に着目して図中かつこのようによぶのも L-C 図法にとつて便利であろう。A 及び B 型に属する多くのアミノ酸は食塩濃度の如何にかかわらず型の変換はみとめられないが、一部のアミノ酸食塩濃度によつて型が変わる。この型の変換を検討するに、何れもアミノ酸濃度の高い方で ΔL は減少する傾向を示し、すべて C 型となる。このことは sub-lethal conc. の食塩の發育阻害作用がこの種のアミノ酸にとくに強くあらわれることを示している。食塩濃度による作用型の変化を考慮に入れて、上記アミノ酸を分類すれば型の変化しないもの (A $\rightarrow$ A, B $\rightarrow$ B, C $\rightarrow$ C 型) 及び型の変化するもの (A $\rightarrow$ C, B $\rightarrow$ C, D $\rightarrow$ C 型) の 2 群になる。

V. 考察 合成培地に添加されたアミノ酸の影響は、細胞膜に対する透過性と細胞内代謝機能への影響との綜合されたものと考えられる。アミノ酸の細胞膜透過性が必ずしも同一機構によらないことが知られ⁽³⁸⁾、DAWES⁽²²⁾ は同一物質と思われる threonine-及び serine-deaminase の活性度の差異を threonine の細胞膜透過性がよくないためであろうと推測した。これらの知見によれば培地に添加されたアミノ酸の作用型がアミノ酸の細胞膜透過速度によつて相当影響されることが考えられ、細胞内代謝機構への直接の影響のみによるとはいえないであろう。若しアミノ酸が細胞内代謝に全く同一様式で影響しているならば、透過

lag time が著しく影響されることは、lag phase における細胞内代謝にアミノ酸のもつ重要な意義を示すものといわねばならない。又このことは late lag の生成機作として仮定される selection 説との関係において興味深い。発育阻害濃度の taurine 存在下の発育曲線に示されるように、多くのアミノ酸添加による lag の延長は菌静止作用によるが、methionine の作用はやや殺菌的で growth rate も減少することはこれらアミノ酸の発育阻害機構の検討上注目すべき点である。

VI. むすび 本報では各種アミノ酸の作用型の類型化とくに食塩濃度による作用型の変換を L-C 図法を用いて検討したが、同様の方法で各種の発育阻害剤及び菌種について培地の N 源の種々の条件下で実験を行えば、阻害剤の作用機序並びに各種細菌のアミノ酸代謝機構の解明に資するであろう。次報においてはこのような見地から本報での誘現象について若干の機作論的考察を試みたいと思う。

おわりに終始御懇篤な御指導を頂いた住木諭介先生並びに御批判御援助を頂いた田村助教授はじめ住木教授研究室員諸氏、味の素株式会社川崎工場研究室角田俊直氏に厚く謝意を表する。又本研究費の一部は文部省科学研究助成費によつた。

- (1) PORTER : *Bacterial Chemistry and Physiology*, 765 (1947).
- (2) GLADSTONE *Brit. J. Exptl. Path.*, 20, 189 (1939).
- (3) FOX, FLING and BOLLENBACK : *J. Biol. Chem.*, 155, 465 (1944).
- (4) FLING and FOX : *J. Biol. Chem.*, 160, 329 (1945).
- (5) BONNER : *J. Biol. Chem.*, 166, 545 (1946).
- (6) LAMPEN and JONES : *Arch. Biochem.* 13, 47 (1947).
- (7) KOBAYASHI, FLING and FOX : *J. Biol. Chem.*, 174, 391 (1948).
- (8) GROSSOWICZ : *J. Biol. Chem.*, 173, 729 (1948).
- (9) SIMMONDS and FRUTON : *Science*, 109, 561 (1949).
- (10) NICOLLE : *Compt. Rend.*, 229, 252 (1949). (C.A., 44, 694 による)
- (11) GERHARDT, LEVINE and WILSON : *J. Bact.*, 60, 459 (1950).
- (12) CAMIEN and DUNN : *J. Biol. Chem.*, 184, 283 (1950).
- (13) YAW and KAKAVAS : *J. Bact.*, 63, 263 (1952).
- (14) DANIEL : *J. Cell and Comp. Physiol.*, 36, 41 (1950). (C.A., 45, 4775 による)
- (15) MAAS and DAVIS : *J. Bact.*, 60, 733 (1950).
- (16) ZALOKAR : *J. Bact.*, 60, 191 (1950).
- (17) COWIE, BOLTON and SANDS : *J. Bact.*, 62, 63 (1951).
- (18) GUNSALUS : *Ann. Rev. Biochem.*, 17, 646 (1948).
- (19) BRICKSON, HENDERSON, SOLHJELL and ELVEHJEM : *J. Biol. Chem.*, 176, 517 (1948).
- (20) LODGE and HINSHELWOOD : *J. Chem. Soc.*, 1943, 208 (1943).
- (21) MORRISON and HINSHELWOOD : *J. Chem. Soc.*, 1949, 375, 380 (1949).
- (22) DAWES : *J. Bact.*, 63, 647 (1952).
- (23) 松山 : 農化, 28, 299 (1954).
- (24) 松山 : 農化, 27, 7 (1953).
- (25) HINSHELWOOD *The Chemical Kinetics of the Bacterial Cell*, 42 (1946).
- (26) DAGLEY, DAWES and MORRISON : *J. Gen. Microbiol.*, 4, 437 (1950).
- (27) LODGE and HINSHELWOOD : *J. Chem. Soc.*, 1943, 213 (1943).
- (28) MORRISON and HINSHELWOOD : *J. Chem. Soc.*, 1949, 372 (1949).
- (29) KOSER : *J. Bact.*, 8, 493 (1923).
- (30) DAGLEY, DAWES and MORRISON : *J. Bact.*, 60, 369 (1950).
- (31) 田宮, 柳田, 鈴木 : ペニシリン, 1, 257 (1947).
- (32) MONOD *Ann. Rev. Microbiol.*, 3, 371 (1949).
- (33) SCHUHARDT, RODE, OGLESBY and LANKFORD : *J. Bact.*, 60, 655 (1950).
- (34) LAMPEN, JONES and PERKINS : *Arch. Biochem.*, 13, 33 (1947).
- (35) NICOLLE and JOYEUX : *Compt. Rend.*, 227, 161, 1057 (1948).
- (36) GALE *J. Gen. Microbiol.*, 1, 53 (1947).
- (37) WINSLOW, WALKER and SUTERMEISTER : *J. Bact.*, 24, 185 (1932).

Summary

The stimulatory or inhibitory effects of many amino acids added to KOSER's synthetic medium on the growth of *Escherichia coli* were studied, and the amount of sodium chloride which should be contained in the medium were adopted both of 0.1 M and 0.5 M as the stimulating and sub-

lethal concentrations respectively. The results are shown in Fig. 3 by the L-C diagram method which will be discussed in the further report, and the effects of amino acids are classified into two groups including six types (Fig. 4). From the transformation of types with the salt concentration, sodium chloride is considered not only to act in the permeability of the bacterial cells, but to inhibit the metabolic systems within the cells.

微生物発育現象に関する研究 (第 10 報)

細菌の発育に及ぼすアミノ酸添加の影響 (その 2)

松 山 晃 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和 23 年 11 月 24 日 受理

Studies on the Microbial Growth. Part 10. The Influences of Amino Acids added to Glucose Ammonium Salt Medium on the Bacterial Growth (2)

By Akira MATSUYAMA (Dept. of Agr. Chem., Fac. of Agr., University of Tokyo)

I. まえがき 前報⁽¹⁾において各種アミノ酸の lag に及ぼす影響を現象論的に類型化した。本報ではそれにもとづく機作的考察の一部として threonine 及び hydroxyproline の作用について検討する。供試菌株 (*Escherichia coli*)、実験方法及びその結果の表示法等すべて前報にしたがい培養方法は KOSER の合成培地を用い静置培養を行つた。

II. DL-Threonine 及び Hydroxy-L-proline の発育阻害作用

1. 発育曲線に及ぼす影響 DL-Threonine 及び hydroxy-L-proline は 0.1 M NaCl 存在下では A 型アミノ酸として濃度の増加に伴つて発育促進作用を示すが、0.5 M NaCl 存在下では前報 Fig. 3 の如く比較的低濃度では A 型アミノ酸として発育促進作用をあらわし、ほぼ $10^{-3} M$ より高濃度では次第に発育阻害作用が強くなる。

Fig. 1. Effects of DL-Threonine on the Growth of *E. coli* in KOSER's Medium containing 0.5 M NaCl.

DL-Threonine concentrations:

A, $6.25 \times 10^{-5} M$; B, $6.0 \times 10^{-2} M$; C, nil

Fig. 2. Inhibitory Effects of DL-Threonine on the Logarithmic Growth of *E. coli* in KOSER's Medium containing 0.5 M NaCl.

A, $1.4 \times 10^{-2} M$ threonine + $NH_4H_2PO_4$;
B, $1.4 \times 10^{-2} M$ threonine without NH_4 salt;
C, control.

なる。この阻害濃度の両アミノ酸存在下の発育曲線は Fig. 1 の如く典型的な誘導期延長型を示し、growth rate は僅かに対照区より低下している。誘導期には殺菌作用は両アミノ酸により強化されず、むしろ軽減され両アミノ酸による発育阻害作用は発育必須因子の生合成阻害を示唆するものといわねばならない。DAWES⁽²⁾は glucose - $(NH_4)_2SO_4$ 培地中で threonine の発育阻害作用を研究し、これを α -ketobutyric acid の集積に帰したが、その場合の発育曲線と本報での 0.5 M NaCl 存在下のそれとは異なり、前者では lag の長さが対照区と変わらず、growth rate は対数期にはいつてから低下することが報告されているので、両者では threonine の発育阻害機構が異なるものと思われる。又 threonine が細胞と接触してから発育阻害作用をあらわすに要する時間を対数期の細胞分裂について求めると、Fig. 2 から NH_4 塩の存在如何にかかわらずほぼ等しく $1.4 \times 10^{-2} M$ の threonine では 1.5 時間であつた。この場合に典型的な threonine の菌静止作用がみられるが、24 時間後には $10^8/ml$ 前後の菌の増殖がみられた。このような threonine の発育阻害作用は NH_4 塩無添加の threonine のみを N-源