在することは明確であるが、この異常が如何なることを意味しているかは明かでない。

総 括

- 1) フィブロイン溶液の $s_{20w} = 2.6 \times 10^{-13}$ であった。
- 2) 尿素 0.5 M 溶液中におけるフィブロインの s は尿素を添加のない場合と変らなかった。
- 3) フィブロイン溶液の s と C の曲線は 0.9% 近傍に極大をもつ。
- 4) 電気泳動から求めたフィブロイン溶液の等電点は $pH = 3.4$ であった。
- 5) フィブロイン溶液の $[\eta] = 0.5$ であり、 η_{sp}/C と C 又は $(\ln \eta_{rel})/C$ と C の曲線 0.9% は近傍に極小をもつ。
- 6) 超遠心と粘度の結果から、フィブロイン溶液は低濃度で他の蛋白に見られない異常を有することを認めた。

(1) 林, 小田, 小林 : 本誌, 542 (1956).

Sci. Inst., 23, 609 (1952).

(2) T. SVEDBERG, K. O. PEDERSEN : *Die Ultrazentrifuge* (1939).

(4) F. HAUROWITZ : *Chem. Biology of Protein*, p. 130 (1950).

(3) D.F. WAUGH, D.A. YPHANTIS : *Rev.*

動物消化管内繊維分解菌に関する研究 (第 2 報)*

ガラクトーズフクシン寒天, オメリヤンスキー寒天による分離成績

赤 司 景 (九州大学農学部畜産学教室)

昭和 31 年 3 月 7 日 受 理

緒 言

第 1 報⁽¹⁾においてオメリヤンスキー寒天なるものを考案し、反芻胃内の繊維分解菌を従来の法より短期間に分離し得ることを報告した。その概略を述べれば次の通りである。先ず胃内容物の新鮮なもの又は風乾したものをオメリヤンスキー培養液中の濾紙上に少量接種し 20~37° で培養 (30° 内外が良好の場合が多い)、約 2 週間後、濾紙が分解切断を開始したものの培養液を約 1:100 → 1:1000 の割に滅菌生理的食塩水で稀釈し、これをオメリヤンスキー培養液に 2% の割に寒天を混ぜた固型培養基に培養し、37° 前後で培養後生じた孤在聚落より鈎菌して再びオメリヤンスキー培養液内の濾紙で分解能力の有無を検して分離するのである。これによれば前報の如く分離期間の短縮にはオメリヤンスキー培養液中に単糖類 (キシロース, ガラクトーズ, 又はグルコース) を 0.05~0.1% の割合に添加すれば、有効であることも判明した。併しこの方法には、次の如き検討すべき諸点がなお存在するのである。即ち (1) 繊維分解菌と夾雑菌との聚落より鈎菌して再びオメリヤンスキー培養液により分解能力を検さねばならない。(2) オメリヤンスキー寒天は、本菌の發育に必要な繊維素の炭素源を使用していないため聚落の形成が微細であり、形成する聚落の差異を認め難いことがある。これらについて、改良すべく種種検討して次の実験を行つた。

実験 I. ガラクトーズフクシン寒天の作成及びそれに發育した繊維分解菌の聚落について

上述第 (1) 項については、分解菌として判定する為のオメリヤンスキー培養液を使用せず、繊維素寒天のように形成した聚落を以て直ちに分解するものとして判定されるように、遠藤フクシン乳糖寒天の如く聚落を色別的に判定し、第 (2) 項については形成した聚落を十分に發育せしめて、分解菌株としての特長を出さしめれば、分離容易であるが、これが為には、本菌属の發育を良好にすると同時に、一方雑菌を抑制するものを添加する必要がある。第 1 報⁽²⁾において分解刺激物として各種糖類特に単糖類が分解刺激剤として良好であることが判明した。これら糖類の分解刺激物添加は夾雑菌の發育を促すが、分解菌により酸が生産されて雑菌の阻害も考えられる。しかもこれは OMELIANSKY⁽³⁾, KELLERMANN⁽⁴⁾, BOJANOVSKY⁽⁵⁾ 等の cellulose-agar 又は silica gel 法の如くにゲル状の繊維が分解菌により糖に転化されて、夾雑菌の發育を促すより良好と思ふされる。

* Studies on the Cellulose-decomposing Bacteria in the Alimentary Canal of Animals.
Part II. On the Isolation Using the Galactose-fuchsin-agar or OMELIANSKY-agar.
By Akira AKASHI (Faculty of Agriculture, Kyushu University.)

単糖類の中でアラビノーズ、キシロース、シュクロース、ガラクトースが分解基質物として良好であるが、その中でガラクトースは BERGEY⁽⁶⁾ によれば *Enterococcus* 及び *Enterobacterium* 中にガラクトースを分解するもの少なく、繊維素分解菌の資化は強力であるので、これを添加物とした。なお第 1 項の色別は遠藤フクシン乳糖寒天にならいフクシンを用いることとし、次の如く所謂ガラクトースフクシン寒天を作成した。即ち

{	K ₂ HPO ₄	1.0 g	CaCO ₃	2.0 g	この固型培養基を溶解し、これにガラクトース 0.5g を加え、フクシン原液 0.25~0.3 cc を加えて混和する。次に 10% 亜硝酸ソーダ液 1.5 cc を加える (但しこの量はフクシンの赤色が褪色する迄で必ずしも 1.5 cc とは限らない) 上述のものを加熱溶解後直ちに 50~60° で加温しつつ濾過し 20~30 分宛 3 日間、間歇滅菌を施行し、用に臨んでこれを溶解して培養に供する。この培養基は室温に放置すると 1~2 週間を経過すると紅色に酸化して来るので、使用の際は作成後 5 日間以内のものが良好である。亜硝酸ソーダの添加は後述培養後の聚落の呈色に重要な関係がある。
	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0 g	NaCl	痕 跡	
	MgSO ₄	0.3 g	蒸 溜 水	1000 cc	
			寒 天	10.0~20.0 g	

上述の如く、ガラクトースフクシン寒天を考案したが、分離の際如何に聚落が形成されるかを検討した。

(A) 繊維分解菌の聚落 繊維分解菌の中、ガラクトースを分解するものは紅色-赤色の色素を形成し、混和培養した場合寒天内の聚落には、円形又は楕円形をなすもの、又は比較的微細な顆粒状聚落を形成するもの等あり、寒天表面に發育した聚落は、円形湿潤の聚落を形成する。微細聚落は *cell-vibrio* 属、*Pseudomonas* 属、*cell-falciculla* 属に多く見られ、顆粒状でやや前者より大型のものは *cytophaga* 属に多い。

ガラクトース非分解である *sporocytophaga* 属等は、白色又は透明無色の聚落を寒天表面に形成する。但し本培養基の作成に当り、亜硝酸ソーダでフクシンの赤色を退色せしめる際過量に入れ過ぎるか、又は、不足で完全に退色せしめない場合は、作成後 5 日以上を経過して培地が赤色になつたものと共に、聚落上の色素産生が分解菌でも赤色にならなかつたり、或は非分解菌でも聚落の色素が赤色になる事があるので、注意すべきである。滅菌後やや赤色になつたものが冷却すると又退色するものは先ず作成が適正と見てさしつかえないと思う。

(B) 非繊維分解菌の聚落 本培養基では發育は概して不良である。又その形成する聚落は、白色をなすものが多い。特に赤司⁽⁷⁾が分離した胃内細菌 11 株 (其中ガラクトース分解菌 4 株) は 24 時間乃至 5 日間の経過においても白色を呈し、其中ガラクトース分解菌も白色の微細な聚落を形成することは興味あることである。これらの菌は、肉汁寒天の如き栄養源が与えられたならば發育旺盛でフクシンを酸化して赤色となるが、この培養基がガラクトース以外には無機塩類のみで、發育を良好ならしめず、その生理化学的作用を抑制することによるものと思われる。しかし例外の場合 (聚落の赤変) も考えられるので、それらのものについては一括して後日検討を加える予定である。以上の如くガラクトースフクシン寒天で繊維分解菌と非分解菌との差異を認められ、これを再びオメリヤンスキー寒天によつて、この分解能力判定はその菌株同定及び保存上からも、非特異的例を検す意味においても必要である。

実験 II. ガラクトースフクシン寒天及びオメリヤンスキー寒天による分離成績

実験 I において、ガラクトースフクシン寒天を作成しそれに發育させたが、これを利用しての本菌の分離状況をオメリヤンスキー寒天と比較した。

実験方法 供試物は胃内容物の新鮮のもの (A 材料)、風乾物としたもの (B 材料)、供試胃内容物をオメリヤンスキー培養基の濾紙に接種して濾紙が分解切断したものを 1 カ月放置したもの (C 材料) として、これらを 1:100→1:1000 に稀釈し、ガラクトースフクシン寒天 (F 寒天)、又はオメリヤンスキー寒天 (O 寒天) に塗抹又は混和培養し、發育した聚落をオメリヤンスキー液 (OmL) 内の濾紙及び次の組成の培養液 (FeL) 中の濾紙に接種した。

FeL → [(NH₄)₂SO₄ 又は NaNO₃ 0.1%, K₂HPO₄ 0.1%, MgSO₄·7 H₂O 0.005%, FeCl₃ 痕跡, アスパラギン痕跡, 蒸溜水 100 cc, セルローズ]

なお濾紙上の色素を 3 群に別ち、次の如くした。

α 群 → (透明色, クリーム-白色, 白色) → 白色系

β 群 → (卵黄色, 淡黄色, 螢光色, オレンジ色) → 黄色系

γ 群 → (黒, 黒褐色, 赤褐色, 褐色) → 褐色系 分離成績は次の通りである。

第 1 表において分離確率の一番良好なのは、A 材料 → F 寒天 (混和) → OmL か又は、A 材料 → O 寒天 (混和)

第 1 表 新鮮な胃内容物を培養した培養成績

培 養 方 法	分離された 3 群の色 素系における菌株数			分 離 確 率	
	α	β	γ	分離された菌株数	分離された繊維分解菌数
A 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	0	8	1	9/9(100%)	
A 材料→O 寒天(混和培养)→OmL	0	0	4	4/9(44%)	
A 材料→F 寒天(混和培养)→FeL	2	3	1	6/6(100%)	
A 材料→F 寒天(塗抹培養)→OmL	0	0	0	0/7(0%)	
A 材料→F 寒天(塗抹培養)→FeL	0	0	0	0/7(0%)	
A 材料→F 寒天(塗抹培養)→FeL	0	0	0	0/7(0%)	
A 材料→O 寒天(塗抹培養)→OmL	0	0	0	0/4(0%)	
A 材料→O 寒天(塗抹培養)→FeL	0	0	0	0/4(0%)	

第 2 表 風乾胃内容物を使用した場合の培養成績

培 養 成 績	分離された 3 群の 色素系の菌株数			分 離 確 率	
	α	β	γ	分離された菌株数	分離された繊維分解菌数
B 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	7	11	8	19/28(64%)	
B 材料→F 寒天(混和培养)→FeL	3	7	0	10/28(33%)	
B 材料→O 寒天(混和培养)→OmL	1	9	8	18/24(66%)	
B 材料→F 寒天(混和培养)→FeL	1	9	8	18/24(66%)	
B 材料→F 寒天(混和培养)→FeL	0	4	2	6/24(28%)	
B 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	0	7	2	9/24(34%)	
B 材料→O 寒天(塗抹培養)→OmL	0	5	2	7/10(70%)	
B 材料→O 寒天(混和培养)→FeL	0	1	2	3/10(33%)	

第 3 表 オメリヤンスキー培養液に約 1 カ月集積培養された材料を
使用した培養成績

培 養 成 績	分離された 3 群の 色素系菌株数			分 離 確 率	
	α	β	γ	分離された菌株数	分離された繊維分解菌数
C 材料→F 寒天(塗抹培養)→OmL	13	6	1	20/40(50%)	
C 材料→F 寒天(塗抹培養)→FeL	10	4	1	15/40(33%)	
C 材料→O 寒天(塗抹培養)→OmL	0	0	4	4/9(44%)	
C 材料→F 寒天(混和培养)→FeL	0	1	1	2/9(22%)	
C 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	5	9	8	22/41(55%)	
C 材料→O 寒天(混和培养)→FeL	3	7	8	18/41(45%)	
C 材料→O 寒天(混和培养)→OmL	1	2	23	26/30(86%)	
C 材料→O 寒天(混和培养)→FeL	1	2	10	13/30(42%)	

第 4 表 3 群色素産生繊維分解菌の各分離確率良好な培養方法

色 素 系 の 区 分	培 養 成 績	3 群色素系に於ける菌 株の分離された菌株数			分 離 確 率	
		α	β	γ	分離された菌株数	分離された繊維分解菌数
α	C 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	13	6	1	20/40(50%)	
	C 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	5	9	8	22/41(50%)	
β	B 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	7	11	1	19/28(64%)	
	A 材料→F 寒天(混和培养)→OmL	0	8	1	9/9(100%)	
γ	A 材料→F 寒天(混和培养)→FeL	2	3	1	6/6(100%)	
	C 材料→O 寒天(混和培养)→OmL	1	2	23	26/30(86%)	
γ	A 材料→O 寒天(混和培养)→OmL	0	0	4	4/9(44%)	
	C 材料→O 寒天(混和培养)→FeL	1	2	10	13/30(45%)	

る。なお本菌の分離は産生する色素が同定の際重要な要素になり得るので、その意味において、ガラクトーズフクシン寒天はオメリヤンスキー寒天より優る成績を得ているものと思われる。又本成績は、分離する際の色素を主とした分離成績でこれを菌株とし保存する場合、色素産生に変化があるや否や、これについては、今日迄得た成績では変化はないのであるが、これに関しては菌株保存として別の問題であり、これは将来検討する予定である。以上を総括すれば

(1) 本菌の分離の際、材料としては新鮮な胃内容物及びこれをオメリヤンスキー培養液内で本菌を集積したもの、ガラクトーズフクシン寒天、又はオメリヤンスキー寒天で混和培养すると比較的各色素系のものが多く分離される。(2) 更に、白色系のものは、オメリヤンスキー培養液で本菌を集積したものを、ガラクトーズフク

→であり、又塗抹培養から本菌が分離されなかつたのは、本実験に使用した材料のみによるものか、今後検討を加える予定である。

第 2 表において分離確率の良いいのは、B 材料→F 寒天(混和)→OmL 又は B 材料→O 寒天(混和)→OmL で比較的に β 群(黄色を主としたもの)が多く分離されている。

第 3 表において分離確率が良好なのは、旧材料(胃内容物をオメリヤンスキー培養液の濾紙に接種し、1 カ月放置したもの)→O 寒天→OmL で γ 群(褐色を主としたもの)が遙かに多く分離されている。以上を総括し、色別的に見た分離確率の良好なものを示すと第 4 表の通りになる。

総括及び考察

第 1 表～第 3 表において、更に第 4 表において本実験の総括的な成績が得られたのであるが、オメリヤンスキー寒天及びガラクトーズ寒天の分離成績を比較すると、繊維分解菌の分離確率は両者とも 50～60% にあり、ガラクトーズ寒天がやや優るが、ほぼ同等の結果を得ている。これは今後分離例数が増加するに従い、又非特異的な例数が増加するに従い、その確率は上昇すると思われる。但し、色別的に見た第 4 表においてガラクトーズフクシン寒天は、オメリヤンスキー寒天に優る点が見出され

シン寒天で混和又は塗抹培養し、黄色系のものは新鮮な材料又は風乾材料をガラクトーズフクシン寒天で混和培養を行い、褐色系のものはオメリヤンスキー培養液で集積した後オメリヤンスキー寒天で混和培養するとよく分離される。(3) ガラクトーズフクシン寒天上の聚落の赤変の有無に関しては、非特異的な場合も考えられるのでこれらについては後日一括して検討を加える予定である。

稿を終るに臨み本研究に御助言を賜った東京大学農学部朝井勇宜教授、越智勇一教授、山田浩一助教授、東北大学農学部梅津元昌教授、九州大学農学部山崎何恵教授、平井敬蔵教授、岩田久敬教授、本江元吉助教授並びに東京大学農学部朝井研究室上田清基氏に深甚なる謝意を表すると共に、本研究(分担研究)の主任研究者東京大学農学部神立誠教授、畜産第二講座主任教授加藤嘉太郎教授に敬意を表する次第である。

(1) 赤司 景 日畜誌, 25(2~4), 193(1954).	(5) R. BOJANOVSKY : <i>Centralbl. Bact.</i> , II 64, 223 (1925).
(2) 赤司 景 同上.	(6) D.H. BERG : <i>Manual of Determinative Bact.</i> , 6th ed. (1949).
(3) W.L. OMELIANSKY : <i>Centralbl. Bact.</i> , II 8, 255 (1925).	(7) 赤司 景 : 九州大学農学部学芸雑誌, 12, 405 (1952).
(4) K. F. KELLERMANN : <i>Centralbl. Bact.</i> , II 34, 485 (1912).	

糸状菌の糖類脱水素酵素に関する研究 (第 4 報)*

糸状菌より酵素の調製

倉 沢 文 夫, 伊 賀 上 郁 夫 (新潟大学農学部)

昭和 31 年 3 月 19 日 受 理

緒 論

既報⁽¹⁾にて糖に対する酸化還元指示薬の微アルカリ性溶液での酸化作用につき報告した。糖は酸化還元指示薬によつて分解されることを認めたので糖類脱水素酵素の研究にはこの糖の自働酸化作用を基礎として実験を進めた。

糸状菌による葡萄糖からグルコン酸の生成については多くの研究がある。特に *Aspergillus oryzae* については坂口⁽²⁾は最適の条件では 95% のグルコン酸が生産されることを認めている。よつてこの反応を触媒する酵素の研究は非常に重要である。即ち MÜLLER⁽³⁾ は *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* の圧搾汁を用い、葡萄糖からグルコン酸を生成する酵素の存在を認め葡萄糖酸化酵素とした。FRANKE 等⁽⁴⁾ は MÜLLER の酵素を葡萄糖脱水素酵素であるとした。一方 *Aspergillus oryzae* については小倉、永久^(5,7)及び小倉^(6,8)によつて葡萄糖脱水素酵素の存在が認められた。この酵素は直接酸素をとらず、2,6-ジクロールフェノール、インドフェノール、チオニン等の酸化還元色素が水素受納体となることを認めた。しかしながら酵素の精製及び性質については比較的研究が少い。よつて私達は種種の糸状菌について葡萄糖よりグルコン酸の生成を触媒する葡萄糖脱水素酵素について実験して *Aspergillus oryzae* A 1002 が強力な酵素を含むことを認め、かつ酵素をメタノール-エーテル混液によつて粉末状に得た。この酵素は非常に安定であつた。得られた結果を報告する。

実 験 の 部

1. 菌株 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus*, *Rhizopus nigricans*, *Penicillium* Q 236 等について脱水素酵素を実験したが *Aspergillus oryzae* A 1002 が酵素力強く、かつ繁殖力旺盛にして短時間に多くの菌糸を生成するためこれを用いた。

2. 培養方法 液体、表面、静置培養で 200 ml ルー瓶に下記のような培養基を入れ、これに *Aspergillus oryzae* A 1002 を 30° で 4~5 日培養して菌体を得た。

培養液：蔗糖 60 g, NH₄NO₃ 2 g, MgSO₄·7 H₂O 2 g, KH₂PO₄ 5 g, FeCl₃ 微量, 蒸溜水 1 l.

3. 酵素の調製 下記の如くして酵素を調製す。

* Sugar-dehydrogenase of Mould. Part IV. The Preparation of Enzyme from Mould.
By Humiwo KURASAWA and Ikuo IGAUE (Faculty of Agriculture, Niigata University)