終りに臨み御指導賜った東京農大佐橋佳一教授, 当ミツワ化研小平勲博士, 中山昭彦博士, 発表を許可された工場長江崎平八に感謝致します。又赤外吸収スペクトルに御援助賜った専売公社中央研究所大西勲氏, 元表分析を依頼した東大農芸化学教室微量分析室の諸氏, ガスクロマトを測定して下さいった当工場野口駿氏, 山本伶子嬢に深謝致します。

(1) A. Knorr, A. Weissenborn and Winthrop Chem. Co., U. S. P. 1, 844, 013(1929); T. F. West, H. J. Strausz and D. H. R. Barton: Synthetic Perfumes, p. 145, Edward Arnold & Co., London (1949).	(5) R. Adams, E. Montgomery : J. A. C. S., 46, 1518 (1924).
(2) M. G. J. Beets, H. van Essen : Rec. trav. chim., 70, 25 (1951).	(6) C. D. Hurd, R. N. Meinert : Org. Synth., 12, 64 (1932).
(3) 新谷誠之 : 本誌, 29, 96 (1955).	(7) A. A. Pavlic, H. Adkins : J. A. C. S., 68, 1471 (1946).
(4) H. Meyer, K. Bernhauer : Monatsch., 53, 54, 721 (1929).	(8) 船久保 : 有機化学確認法, p. 354, 養賢堂(1954).
	(9) 新谷誠之 : 本誌, 29, 93 (1955).

酸化醗酵に関する研究 (第17報)*

α -ケトグルタル酸醗酵 (その3)

朝井勇宣, 清水克己, 室岡治義 (東京大学応用微生物研究所)

昭和 33 年 7 月 31 日 受理

先に朝井等が α -ケトグルタル酸を多量に生成蓄積する菌として分離した strain No. 84 C は, 生化学的性質に於て *Escherichia* に類似し, しかも鞭毛は *Pseudomonas* の様に極毛であることより, 新たに *Kluyvera* なる新属を設定してそれに所属せしめることを提案し⁽¹⁾, この菌を *Kluyvera citrophila* と命名した。この菌のグルコースから α -ケトグルタル酸生産の諸条件に就いては詳細な検討を行い, その結果は既に発表した⁽²⁾, 今回その生成蓄積の機構を解明すべく研究を開始した。 α -ケトグルタル酸は TCA cycle に含まれる有機酸であり, 当然 TCA cycle の経路を経て生成されることが考えられるが, 又他の経路も考えられている。その生成機構を大別すると, (1) グルコース (C_6) がピルビン酸 (C_3) 迄分解されてから α -ケトグルタル酸に到る経路と, (2) ピルビン酸を経ず, 炭素鎖の再結合なしに, 直接 α -ケトグルタル酸を生成する経路である⁽³⁾。さらに (1) の経路については, (a) ピルビン酸から TCA cycle の経路を経て生成されるものと, (b) TCA cycle の経路を通らずに生成されるものとに分けることができる。片桐等は大腸菌群細菌について(b)の経路を支持し, ピルビン酸と酢酸 (Acetyl Co-A) と縮合して α -ケトグルタル酸を生成する反応を想定している⁽⁴⁾。著者等は *Kluyvera citrophila* について, これら従来の諸説を検討し, 本菌が如何なる経路を経て α -ケトグルタル酸を生成するかを追及しつつあるが, 現在迄に得られた知見をここに報告する。

実験方法

使用菌種 *Kluyvera citrophila* α nov. sp. Asai⁽⁵⁾.

洗滌菌体の調製法 肉エキス 1%, ポリペプトン (武田) 1%, 食塩 0.3% を含む肉汁寒天斜面培地に 24 時間前培養した *K. citrophila* α を, グルコース 10%, $(NH_4)_2SO_4$ 0.2%, KH_2PO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02%, $FeSO_4$ 10 p. p. m., $CaCO_3$ 2.5% の組成の液体培地に接種し, 24 時間 30° で振盪培養を行い, 後, 集菌した。菌体は 0.85% 食塩水で 2 回, 蒸溜水で 1 回洗滌した後蒸溜水に懸濁して実験に供した。

分析方法 α -ケトグルタル酸及びピルビン酸の確認はペーパークロマトグラフィー⁽⁶⁾によって行い, 定量は Friedemann-Haugen 法⁽⁷⁾を改良した清水法⁽⁸⁾に従って行った。酸素吸収及び炭酸ガスの放出はワールブルク・マノメーターにより測定を行った。

無細胞抽出液の調製法 集菌, 洗滌した菌体を M/15 磷酸緩衝液 (pH 6.5) に懸濁し, 10 kC の sonic os-

* On the Oxidative Fermentation. Part XVII. α -Ketoglutaric Acid Fermentation (3).
By Toshinobu ASAI, Katsumi SHIMIZU and Haruyoshi MUROOKA (Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo)

第 1 図 *K. citrophila* の洗滌菌体によるグルコースから α -ケトグルタル酸及びビルビン酸の生成

第 1 表 *K. citrophila* の洗滌菌体によるグルコース、グルコン酸、2-ケトグルコン酸及びビルビン酸から α -ケトグルタル酸の生成

基 質	α -ケトグルタル酸生成量 (μ M)	
	10時間	24時間
グルコース	53.0	24.8
グルコン酸	33.2	20.0
2-ケトグルコン酸	15.8	13.2
ビルビン酸	22.0	9.8

反応液の組成: 基質 200 μ M, 菌体 30mg (乾燥量), M/15 磷酸緩衝液 (pH=6.0) 4ml, 全量 10ml.

3. Mg 添加の影響 本菌の α -ケトグルタル酸生成に対する Mg 添加の影響を検討するために, 500 ml 容振盪フラスコ中で, ビルビン酸に洗滌菌体を 30° で 24 時間作用せしめ, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 添加の有無による α -ケトグルタル酸生成量の差異を測定した. 第 2 表に見られる様に, Mg 添加は α -ケトグルタル酸の生成

第 2 表 Mg 添加の影響

MgSO ₄ ·7H ₂ O	反応時間 (hrs.)	ビルビン酸 添加量 (μ M)	ビルビン酸 消費量 (μ M)	α -ケトグルタル酸 生成量 (μ M)	収率 (%)
—	14	4,000	3,809	28	0.7
—	24	4,000	3,948	21	0.5
+	14	4,000	3,867	48	1.2
+	24	4,000	3,944	49	1.2

反応液の組成: ビルビン酸ソーダ 4mM, 菌体 150mg (乾燥量), 硫酸マグネシウム 0.1mM, 磷酸緩衝液 (pH=6.2) 5mM, 全量 40ml.

第 3 表 CaCO_3 の影響

組 成	基質添加量 (μ M)	基質消費量 (μ M)	α -ケトグルタル酸 生成量 (μ M)	収率 (%)
グルコース	4,000	2,470	649	26.3
グルコース+ CaCO_3	4,000	2,900	595	20.5
ビルビン酸	4,000	3,994	60	1.5
ビルビン酸+ CaCO_3	4,000	3,995	62	1.6

反応液の組成: 基質 4mM, 菌体 150mg (乾燥量), 硫酸マグネシウム 0.1mM, 磷酸緩衝液 (pH=6.2) 5mM, 全量 40ml.

cillater により 10 分間細胞膜の破砕を行った. 後 15,000 g, -5° で 20 分間冷凍遠心し, その上澄液を無細胞抽出液として実験に供した.

反応方法 すべて 30° で振盪機或いはワールブルク・マノメーターの装置を用いて振盪しながら好氣的に反応を行わせた.

実験結果

1. 洗滌菌体によるグルコースから α -ケトグルタル酸及びビルビン酸の生成
ワールブルク・マノメーターの装置を用いて, グルコース 1 μ M を基質とし, 30° で 3.5 時間好氣的に作用せしめた. 反応液の組成は, グルコース 1 μ M, 菌体 5mg (乾燥量), M/15 磷酸緩衝液 (pH=6.0) 1.0 ml, 全量 2.5 ml とし, 20% 苛性カリ溶液 0.2 ml を副室に入れて反応を行った. 反応終了後, 反応液に 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの塩酸溶液を加え, ケト酸の 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンをつくり, 3% アンモニア水飽和・*n*-ブタノールを展開剤としてペーパークロマトグラフィーを行った. 第 1 図に示すごとく $R_F=0.08$ の位置に濃い spot 及び $R_F=0.38, 0.60$ の位置にうすい spot が認められた. $R_F=0.08$ の spot は同時に展開した合成 α -ケトグルタル酸の 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの R_F と一致し, このものは α -ケトグルタル酸と考えられる. 猶 $R_F=0.38, 0.60$ の二つの spot は R_F の値からビルビン酸の spot であると考えられる.

2. 洗滌菌体によるグルコース, グルコン酸, 2-ケトグルコン酸及びビルビン酸から α -ケトグルタル酸の生成

30 ml 容の逆 T 字型フラスコを使用して実験を行った. グルコース, グルコン酸石灰, 2-ケトグルコン酸石灰, ビルビン酸ソーダ, それぞれ 200 μ M を基質とし, これに洗滌菌体を 30° で 24 時間作用せしめた. 第 1 表に示した結果から明らかな如く, α -ケトグルタル酸はグルコース, グルコン酸, 2-ケトグルコン酸及びビルビン酸から洗滌菌体によっても生成されることが明らかになった. この結果及び前述のペーパークロマトグラフィーの結果から, ビルビン酸はグルコースから α -ケトグルタル酸が生成される経路に, 中間体として存在しているものと考えられる. 猶, 一度生成された α -ケトグルタル酸も, 時間の経過と共に分解され, 反応液中の量が減少することが分った.

量を増加させることが明らかになった. 猶, モル収量の低いのは反応時間が長すぎたためと考えられる.

4. 炭酸カルシウムの影響

洗滌菌体による α -ケトグルタル酸の生成蓄積に炭酸カルシウム添加の影響があるか否かを検討した. 500 ml 容振盪フラスコを用いて, グルコース, ビルビン酸ソーダそれぞれ 4mM を基質とし, 炭酸カルシウム 200 mg を添加したものと,

第2図 *K. citrophila* の洗滌菌体によるコハク酸、フマル酸、リンゴ酸、ピルビン酸、酢酸の代謝（酸素吸収）

反応液の組成：基質 2 μ M, 菌体 5 mg (乾燥量), M/15 磷酸緩衝液 (pH=6.0) 1.0 ml, 全量 2.5 ml, 30°, 気腔 空気。

(1) コハク酸, (2) フマル酸, (3) ピルビン酸
(4) リンゴ酸, (5) 酢酸, (6) 自家呼吸

第3図 *K. citrophila* の洗滌菌体によるコハク酸、フマル酸、リンゴ酸、ピルビン酸、酢酸の代謝（炭酸ガス放出）

反応液の組成：基質 2 μ M, 菌体 5 mg (乾燥量), M/15 磷酸緩衝液 (pH=6.0) 1.0 ml, 全量 2.5 ml, 30°, 気腔 空気。

(1) コハク酸, (2) フマル酸, (3) ピルビン酸
(4) リンゴ酸, (5) 酢酸, (6) 自家呼吸

第4図 *K. citrophila* の洗滌菌体によるグルコース、クエン酸、シスアコニット酸、イソクエン酸、 α -ケトグルタル酸の代謝（酸素吸収）

反応液の組成：基質 2 μ M, 菌体 5 mg (乾燥量), M/15 磷酸緩衝液 (pH=6.0) 1.0 ml, 全量 2.5 ml, 30°, 気腔 空気。

(1) グルコース, (2) α -ケトグルタル酸, (3) クエン酸
(4) イソクエン酸, (5) シスアコニット酸, (6) 自家呼吸

第5図 *K. citrophila* の洗滌菌体によるグルコース、クエン酸、シスアコニット酸、イソクエン酸、 α -ケトグルタル酸の代謝（炭酸ガス放出）

反応液の組成：基質 2 μ M, 菌体 5 mg (乾燥量), M/15 磷酸緩衝液 (pH=6.0) 1.0 ml, 全量 2.5 ml, 30°, 気腔 空気。

(1) グルコース, (2) α -ケトグルタル酸, (3) クエン酸
(4) シスアコニット酸, (5) イソクエン酸, (6) 自家呼吸

添加せずに、反応を行ったものとの間の α -ケトグルタル酸生成量の比較を行った。但しグルコースのみを基質とした場合は苛性ソーダで中和しながら反応を行った。反応は 30° で 14 時間行った。その結果を第 3 表に示す。ビルビン酸の収量の悪いのは反応時間が長すぎたためと思われる。以上の結果、培地に炭酸カルシウムを加えて培養して得た菌体については炭酸カルシウムを更に加えて反応を行わせても、加えずに反応を行わせても α -ケトグルタル酸の生成量に差異が認められなかった。故に以後の実験には炭酸カルシウムを添加せずに行った。

第 6 図 *K. citrophila* の洗滌菌体並びに無細胞抽出液によるグルコース、フマル酸、クエン酸の酸化

反応液の組成：(1) 洗滌菌体の場合、基質 $2\mu M$ 、菌体 5 mg (乾燥量)、 $M/15$ 磷酸緩衝液 ($pH=6.0$) 1.0 ml 、全量 2.5 ml 。(2) 無細胞抽出液の場合、基質 $5\mu M$ 、無細胞抽出液 1.5 ml 、全量 2.0 ml 、 30° 、気腔 空気。

(1) グルコース、(2) フマル酸、(3) クエン酸
但しいずれも自家吸収値を差引いた。

第 7 図 *K. citrophila* の洗滌菌体並びに無細胞抽出液によるグルコース、シスアコニット酸、イソクエン酸の酸化

反応液の組成：(1) 洗滌菌体の場合、基質 $2\mu M$ 、菌体 5 mg (乾燥量)、 $M/15$ 磷酸緩衝液 ($pH=6.0$) 1.0 ml 、全量 2.5 ml 。(2) 無細胞抽出液の場合、基質 $5\mu M$ 、無細胞抽出液 1.5 ml 、全量 2.0 ml 、 30° 、気腔 空気。

(1) グルコース、(2) シスアコニット酸、(3) イソクエン酸
但しいずれも自家吸収値を差引いた値。

5. 洗滌菌体による TCA cycle に属する各有機酸の代謝 (酸素吸収及び炭酸ガス放出) TCA cycle に属する各有機酸 (いずれもソーダ塩を使用) に本菌の洗滌菌体を作用せしめ、ワールブルグ・マノメーターを用いて酸素吸収及び炭酸ガスの放出を測定した。この実験を行うにあたり、上述の如くして得られた洗滌菌体の浮遊液を 30° で 3 時間振盪し、自家呼吸を減少せしめ、再び遠心分離して得た菌体を $M/30$ 磷酸緩衝液 ($pH=6.0$) に 10 mg (乾燥量)/ ml の割合で懸濁して使用した。その結果を第 2~5 図に示す。C₄-ジカルボン酸を基質とした場合は酸素吸収及び炭酸ガスの放出が明らかに観察されたが、C₆-トリカルボン酸及び α -ケトグルタル酸を基質とした場合はほとんど認められなかった。しかし、これら C₆-トリカルボン酸の代謝を考える場合、当然細胞膜の基質透過性の問題があるので、次に記す如く無細胞抽出液の作製を試み、同様の実験を行った。

6. 無細胞抽出液によるグルコース、フマル酸、クエン酸、シスアコニット酸、イソクエン酸の酸化 前述の方法によって培養して得た菌体 $0.7\sim 1.0\text{ g}$ (wet) を $M/15$ 磷酸緩衝液 ($pH=6.5$) 10 ml に懸濁し、前記方法で無細胞抽出液を作製し、実験を行った。第 6~7 図に示す如くクエン酸、シスアコニット酸、イソクエン酸を基質とした場合洗滌菌体ではいずれも酸素吸収が殆んどみられなかったが、無細胞抽出液ではかなり活発な酸素吸収がみられた。この結果本菌による糖の末端代謝系には TCA cycle が存在するものと考えられる。

7. TCA cycle に属する各有機酸から α -ケトグルタル酸の生成 次に TCA cycle に属する各有機酸に本菌の洗滌菌体を作用せしめ、 α -ケトグルタル酸が生成蓄積されるか否かを検討し、その生成量を

第 4 表 TCA cycle に属する有機酸から α -ケトグルタル酸の生成

	基質添加量 (μ M)	α -ケトグルタル酸 生成量 (μ M)	収率 (%)
リンゴ酸	4,000	341	8.5
フマル酸	4,000	73	1.8
コハク酸	4,000	49	1.3
クエン酸	200	1.0	0.5
オキサロ酢酸	200	0.1	0.05
シスアコニット酸	200	0.1	0.05

反応液の組成: (1) リンゴ酸, フマル酸, コハク酸 (500 ml 容振盪フラスコ使用) の場合, 基質 4 mM, 菌体 150 mg (乾燥量), 硫酸マグネシウム 0.1 mM, 硫酸鉄溶液 (pH=6.2) 5 mM, 全量 40 ml. (2) クエン酸, オキサロ酢酸, シスアコニット酸 (マノメーター・フラスコ使用) の場合, 基質 200 μ M, 菌体 8 mg (乾燥量), 燐酸緩衝液 (pH6.0) 250 μ M, 硫酸マグネシウム 5 μ M, 全量 2.0 ml.

α -ケトグルタル酸を生成蓄積することが推測される。シスアコニット酸, クエン酸からの収量の悪いのは, 前述の如く基質の細胞膜透過性の困難性にもとづくものであらうと思われる。

考 察

グルコースに *K. citrophila* の洗滌菌体を好氣的に作用させた場合, α -ケトグルタル酸と共にピルビン酸が反応液から検出されること及びピルビン酸からも α -ケトグルタル酸が多量に生成されることから, 本菌による α -ケトグルタル酸生成過程にはピルビン酸が中間体として存在していると考えられる。グルコースからピルビン酸に到る経路については, 二, 三の異った過程が考えられるが, グルコン酸, 2-ケトグルコン酸からも相当量の α -ケトグルタル酸を生成する事実から, グルコース $\rightarrow$ グルコン酸 $\rightarrow$ 2-ケトグルコン酸 $\rightarrow$ ピルビン酸, の直接酸化の経路が本菌においても推測されるが, これが主経路であるかどうかは更に検討の要がある。ピルビン酸から α -ケトグルタル酸に到る経路については, 本菌による糖の末端代謝系に TCA cycle の存在が推定されること, 及び TCA cycle に属する各有機酸から α -ケトグルタル酸が生成蓄積されることなどから α -ケトグルタル酸は, ピルビン酸 $\rightarrow$ オキサロ酢酸 $\rightarrow$ クエン酸 $\rightarrow$ シスアコニット酸 $\rightarrow$ イソクエン酸 $\rightarrow$ オキサロコハク酸 $\rightarrow$ α -ケトグルタル酸の経路を通して生成され, α -ケトグルタル酸 $\rightarrow$ コハク酸の反応速度が低いために該酸の蓄積が起るのではないかと考えられる。

要 約

α -ケトグルタル酸を多量に生成蓄積する菌株, *Kluyvera citrophila* α nov. sp. Asai の該酸生成機構を追究し, 次の結果を得た。

(1) 本菌は培養による他, 洗滌菌体によってもグルコースから α -ケトグルタル酸及びピルビン酸を生成することを認めた。猶, グルコン酸, 2-ケトグルコン酸, ピルビン酸からも α -ケトグルタル酸を生成した。

(2) TCA cycle に属する有機酸に本菌の洗滌菌体を作用させると, コハク酸, フマル酸, リンゴ酸を基質とした場合酸素吸収及び炭酸ガス放出が見られたが, クエン酸, シスアコニット酸, イソクエン酸, α -ケトグルタル酸を基質とした場合は見られなかった。しかし, 無細胞抽出液ではクエン酸, シスアコニット酸, イソクエン酸の酸化が見られた。

(3) 本菌の洗滌菌体を TCA cycle に属する各有機酸に作用させると, いずれも α -ケトグルタル酸の生成蓄積が認められた。

以上の結果よりグルコースより α -ケトグルタル酸の生成は, ピルビン酸を経て TCA cycle の経路に入り α -ケトグルタル酸が生成されるという推論を行った。

本研究を行うに当り, 有益な助言を得た当研究室の相田浩助教授に感謝する。尚本研究は昭和 33 年 5 月 5 日, 日本農芸化学会大会に於て発表した。

- (1) T. Asai, S. Okumura, T. Tsunoda : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 3, 13 (1957).
- (2) T. Asai, K. Aida, Z. Sugisaki, N. Yakeishi : *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 1, 308 (1955).

- (3) R. Weimberg, M. Doudoroff : *J. Biol. Chem.*, 217, 607 (1955).
- (4) H. Katagiri, T. Tochikura : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 22, 143 (1958).
- (5) T. Asai, S. Okumura, T. Tsunoda : *J.*

- Gen. Appl. Microbiol.*, 3, 13 (1957). (7) T. E. Friedemann, G. E. Haugen : *J. Biol. Chem.*, 147, 415 (1943).
 (6) D. Cavallini, N. Frontali, G. Toschi : *Nature*, 163, 568 (1949). (8) T. Shimizu : *J. Biochem.*, 37, 421 (1950).

酸化醗酵に関する研究 (第 18 報)*

α -ケトグルタル酸醗酵 (その 4)

朝井勇宣, 清水克己, 室岡治義 (東京大学応用微生物研究所)

昭和 33 年 7 月 31 日 受 理

著者等は前報⁽¹⁾に於て α -ケトグルタル酸生産菌 *Kluyvera citrophila* α を用い、グルコースより α -ケトグルタル酸の生成機構を追究した結果、グルコースは分解されてピルビン酸を通り、TCA cycle の経路に入り、該酸が生成蓄積されると推定される事実を得た。この推定に従い、ピルビン酸が TCA cycle の経路に入るものとするならば、ピルビン酸の CO_2 固定があるはずである。今回は放射性同位元素 C^{14} を用いてその証明を行い、且つ α -ケトグルタル酸の炭素鎖のどの位置に C^{14} が incorporate されているかを調べることににより、 α -ケトグルタル酸生成経路の検討を行った。尚、片桐等⁽²⁾は大腸菌群細菌を用い、 α -ケトグルタル酸生成経路に、ピルビン酸と酢酸の縮合を推定しているが、*K. citrophila* にもこの事実が存在する否かを検討した。本報はこれらについて行った実験結果を報告する。

実 験 方 法

使用菌種 *Kluyvera citrophila* α nov. sp. Asai.

洗滌菌体の調製法 前報と同様の方法で洗滌菌体の調製を行った。

反応方法 反応はすべて洗滌菌体を用い振盪機或はワールブルク・マノメーターの装置を用いて、 30° で振盪しながら好氣的に反応を行った。

分析方法 α -ケトグルタル酸及びピルビン酸の確認は前報に述べた如く、2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンのペーパークロマトグラフィー⁽³⁾によって判定し、定量は Friedemann-Haugen 法⁽⁴⁾を改良した清水法⁽⁵⁾に従って行った。還元糖の定量は micro-Somogyi 法⁽⁶⁾によった。

放射能の測定 α -ケトグルタル酸及びピルビン酸が放射性同位元素 C^{14} でラベルされたか否かは、オートラジオグラフィーによって判定した。 α -ケトグルタル酸、コハク酸、菌体等の放射能は Van Slyke-Foich の方法に従って wet oxidation⁽⁷⁾を行い炭酸バリウムの懸濁液としてアルミニウムの皿に spot し、赤外線ランプで静かに乾燥し、後、Geiger-Müller 計数管により測定し、自己吸収の補正を行った。

放射性炭酸水素ナトリウムの調製法⁽⁸⁾ ワールブルク検圧器用の容器の主室に放射性炭酸バリウム、副室に炭酸バリウムに対して計算量の水酸化ナトリウム、側室に乳酸を入れ、コックを閉じてから側室の乳酸を入れ炭酸ガスを発生させて水酸化ナトリウムに吸収させ調製した。

実 験 結 果

1. 炭酸水素ナトリウムの α -ケトグルタル酸生成に及ぼす影響 CO_2 の固定を検討する場合、 C^{14}O_2 を反応液中に炭酸水素ナトリウム ($\text{NaHC}^{14}\text{O}_3$) として混合し、反応を行わせるのが便利である。故に、この実験を行

第 1 表 炭酸水素ナトリウムの α -ケトグルタル酸生成に及ぼす影響

NaHCO_3 添加量 (μM)	α -ケトグルタル酸生成量 (γ)
20	104
0	98

反応液の組成：グルコース $10\mu\text{M}$ 、菌体 5mg (乾燥量)、 $\text{M}/15$ 磷酸緩衝液 ($\text{pH}=6.0$) 1.0ml 、全量 2.8ml 。反応条件： 30° 、4.5 時間

うに先立って先ず炭酸水素ナトリウムの α -ケトグルタル酸生成に及ぼす影響について検討を行った。ワールブルク検圧計の容器を用いて、グルコース $10\mu\text{M}$ を基質とし、炭酸水素ナトリウム $20\mu\text{M}$ を添加したもの、添加しないものとの間の α -ケトグルタル酸生成量の比較を行った。その結果第 1 表に示す如くその差異が認められなかった。即ち、 α -ケトグルタル酸の生成過程に CO_2 固定反応が行われているか否かを検討する場合に、炭酸

* On the Oxidative Fermentation. Part XVIII. α -Ketoglutaric Acid Fermentation (4).
 By Toshinobu ASAI, Katsumi SHIMIZU and Haruyoshi MUROOKA (Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo)