水産食品の腐敗中毒に関する研究—Ⅷ.

Proteus 菌群における *l*-(—)-Histidine 脱炭酸酵素の分布と
P. morganii 洗滌菌体懸濁液の脱炭酸能と pH の関係

河 端 俊 治・鈴 木 茂

(1959 年 6 月 16 日受理)

STUDIES ON THE FOOD POISONING ASSOCIATED WITH
PUTREFACTION OF MARINE PRODUCTS—VIII.Distribution of *l*-(—)-Histidine Decarboxylase among *Proteus* Organisms and
the Specificity of Decarboxylating Activity with Washed Cell Suspension
of *Proteus morganii* with Special Reference to the pH.

Toshiharu KAWABATA and Shigeru SUZUKI*

A strain of *Proteus morganii*, presumably the causative organism of an outbreak of allergy-like food poisoning from eating raw flesh of big-eyed tuna (*Parathunnus mebachii*) was isolated by the authors in 1955. The organism was characterized by the production of a large amount of histamine and other unknown vagus-stimulant named "saurine".

The present paper deals with the distribution of *l*-histidine decarboxylase among *Proteus* group as tested with washed cell suspension and the response of the decarboxylating activity upon varying pHs. In addition, the stability of the enzyme in washed cell suspension against temperature and the ability to form ammonia from *l*-histidine or mackerel infusion medium were studied. Results obtained may be summarized as follows:

1. The presence of *l*-histidine decarboxylase in washed cell suspensions of 13 strains of *Proteus morganii* was confirmed, however, the rate of production of histamine was markedly different depending upon strains. Whereas, a very slight activity of *l*-histidine decarboxylase was detected in strains of *P. mirabilis*, *P. rettgeri* or *P. vulgaris* tested.

2. The *l*-histidine decarboxylation by washed cell suspension of any of *Protea* tested, reacted at a range of pH value between 5 and 8 and the activity was the highest at pH 6.0 to 6.5.

3. It is noteworthy that a marked difference was observed in the specificity between *l*-histidine decarboxylase of *P. morganii* and that of *Cl. perfringens*, viz., the former decarboxylates *l*-histidine at such a wide reaction range as pH 4 to 8, in which the pH of optimum activity was at 5.8, while the activity of the latter limited in an acid side below pH 5.5 and the optimum pH was 3.2.

4. The *l*-histidine decarboxylase in washed cell suspension of *P. morganii* was found to be fairly stable at a temperature between 4° to 24°C for 96 hours. While, at 37°C, about 95 per cent of enzyme was inactivated in 24 hours and no detectable activity remained after 96 hours. On the other hand, keeping the suspension in a freezer at -20°C destructed about 70 per cent of activity in 24 hours, however no further inactivation was observed for 96 hours.

5. No appreciable amount of ammonia was formed when certain strains of *P. morganii* were grown in the mackerel infusion media at 25°C for 48 hours, or when a washed cell suspension was mixed with *l*-histidine in buffer solutions at pH 4.5 to 9.0 and incubated at 37°C

* 国立予防衛生研究所 (Dept. Food Control, National Inst. Health, Kamiosaki-chojamaru, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan.

for 3 hours.

6. The facts described above may suggest that the *l*-histidine decarboxylase of *P. morganii* is quite different in nature from that of *Cl. perfringens*.

ま え が き

ある腐敗細菌が *l*-histidine を脱炭酸して histamine を作ることは古く ACKERMANN¹⁾ によつて指摘されて以来、細菌の *l*-histidine 脱炭酸能については HANKE & KOESSLER²⁾, KENDALL & SCHMITT³⁾, KENDALL & GEBUR⁴⁾, HIRAI⁵⁾, EGGERTH⁶⁾, GALE⁷⁾, ALIN⁸⁾ 等、日本でも木俣⁹⁾, 相磯¹⁰⁾ によつて研究が行なわれて来た。対象となつた細菌も *Escherichia*, *Shigella*, *Achromobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* 等にわたつてゐる。筆者ら¹¹⁾ も数年前からサンマ桜干しをはじめ、各種水産食品に多発するアレルギー様食中毒の研究を行ない、検体から多量の histamine をはじめ、未知の saurine と仮称する histamine 様物質を見出し、これを原因物質と考えた。一方 1955 年埼玉県下で発生したメバチマグロ刺身によるアレルギー様食中毒検体から *Proteus morganii* を分離し、毒物の生産能を確認することができた¹²⁾。相磯ら¹⁰⁾ も本菌を中毒原因菌であると考え、漸く本菌のアレルギー様食中毒原因性について各方面の注目を集めるに至つた。従来本菌はいわゆる菌体外毒素を作らず、非病原菌とみなされていたが、小児の下痢症のような特殊の場合にのみ何等かの役割を演ずるものと推定されて来た。

細菌のアミノ酸脱炭酸酵素については GALE^{7), 13)} によつて広範な研究が行なわれて来たが、彼は *Proteus* 菌群の *l*-histidine 脱炭酸能については否定的であつたが、木俣⁹⁾, 相磯¹⁰⁾, 河端ら¹²⁾ の研究により *Proteus* 殊に *P. morganii* の *l*-histidine 脱炭酸能は確定的と考えられるに至つた。筆者らは *Proteus morganii* の *l*-histidine 脱炭酸酵素についての一連の研究をはじめに当り、今回は筆者らの分離した *Proteus* 菌の他、入手した多くの *P. morganii* における *l*-histidine 脱炭酸酵素の分布と、洗滌菌体懸濁液の脱炭酸能と pH の関係、アミノ酸の脱アミノ作用、菌体中での脱炭酸酵素の安定性についてえた知見を報告する。

実 験

実験 1. *Proteus* 菌における *l*-histidine 脱炭酸酵素の分布

1. 供試菌株

P. morganii... # 71, 73 (筆者ら¹²⁾ がメバチマグロ検体から分離した株)。おこし 起 23, 26, 33₁, 33₂, 39, 42, 50; TU-2, 6, 11, 57 (以上 11 株は愛知県起町で発生した原因不明中毒の患者より分離した菌株。分離者岐阜県立医大微生物学教室鈴木博士より分与されたもの)……以上 13 株を用いた。

P. mirabilis. # 106 (北里研究所保管株)

P. rettgeri, # 313 (同上)

P. vulgaris, NNR-6 (東大応微研保管株)

上記 *Proteus* 16 株はいずれも成書の記載にしたがつて生物学的諸性状を再確認してから使用した。

2. 実験方法

(1) 基礎培地: 表皮を除いて細挫したマサバに倍量の蒸留水を加え 100°C で 90 分間煮沸後濾過し、pH を 7.0 に修正 1% の割でブドウ糖を加え、100cc ずつ三角フラスコに分注。15 ポンド 15 分間高圧滅菌した。

(2) 培養および脱炭酸能の測定法: 予め 3 日間ブイヨン培地に継代移植した供試菌の 1 白金耳を基礎培地に接種し、25°C で 7 日間培養した。その間 1 日、3 日、5 日目にそれぞれ 25cc ずつ無菌的に培養液をとり、100°C で 5 分間加熱後、0°C、7350G の冷凍遠心器で 5 分間遠心し、えた上清について分析を行なつた。脱炭酸能は生成した histamine の定量によつたが、その確認には一次元ペーパークロマトグラフィー (*n*-Butanol-acetic acid-water; 4: 1: 2) を展開し、ジアゾ反応並びにスポットの Rf 値で行なつた。定量は Mc Intire-門田法¹⁴⁾ に行ない、同時に pH 値の変化を Beckman pH 計で調べた。

Table 1. Distribution of *L*-(-)-Histidine decarboxylase among *Proteus* group.

Each organism was inoculated in 1% glucose-mackerel infusion medium and incubated at 25°C for 7 days.

Bacterial strain	Incubation period (days)							
	1		3		5		7	
	pH	histamine mg. %	pH	histamine mg. %	pH	histamine mg. %	pH	histamine mg. %
<i>Proteus morganii</i>								
Okoshi-33 ₁	6.1	820	5.8	860	5.4	925	5.2	920
TU-2	6.4	570	5.9	750	5.3	875	5.2	875
# 71	6.2	750	5.7	820	5.6	830	5.6	830
# 73	6.3	770	5.7	780	5.5	775	5.1	800
Okoshi-50	6.4	490	6.1	680	5.5	690	5.2	715
" -33 ₂	6.2	630	6.0	660	5.4	675	5.4	680
" -39	6.6	530	6.0	625	5.3	645	5.0	655
TU-57	5.9	513	5.8	575	5.5	590	5.4	610
" -6	6.0	475	5.8	500	5.5	525	5.4	525
Okoshi-26	6.4	375	6.0	425	5.8	465	5.4	485
" -23	6.6	355	6.0	405	5.6	445	5.3	450
" -42	6.3	330	5.8	375	5.6	420	5.4	435
TU-11	6.4	150	6.3	175	5.8	175	5.7	170
<i>P. mirabilis</i> # 106	6.6	12	6.4	14	6.3	14	5.9	14
<i>P. vulgaris</i> NNR-6	6.4	7.5	6.0	8.5	6.0	8.0	5.5	7.5
<i>P. rettgeri</i> # 313	6.0	2.5	5.7	3.0	5.5	7.0	5.4	6.5

3. 実験結果

供試 16 株の *Proteus* 菌についてえた結果は Table 1 および Fig. 1 に示した。すなわち 13 株の *P. morganii* にはすべて顕著な histamine 形成能が認められた。Fig. 1 に示したように histamine 形成は第 1 日目ではほぼ最高値に達し、それ以降は僅かな上昇するに過ぎない。histamine は 1 週間後もほぼ同じレベルにあつて減少することは認められなかつた。しかし菌株により脱炭酸能に強弱があり、起 33₁, TU-2, # 71, # 72 は 800~900 mg. % で最も強力株。起 50, 33₂, 39, TU-57 は 600~700 mg. %, TU-6, 起 26, 23, 42 は 430~525 mg. %, TU-11 は 170 mg. % と大体 4 段階に分けられた。これに対し供試 3 株の *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri* の histamine 生成能は一応認められたが、その程度は *P. morganii* に比べ、きわめて微弱であつた。

実験 2. *Proteus* 菌の *L*-histidine 脱炭酸酵素の至適 pH

1. 供試菌

P. morganii (*Achromobacter histamineum*, II*)

P. morganii, # 71; # 73 } 埼玉県下のメバチ中毒検体より分離された菌株。

P. vulgaris, # 22; # 77 }

2. 実験方法

(1) 洗滌菌体懸濁液の作成: 1% ブドウ糖加サバエキス培地 (実験 1 に記載) に 3 日間継代移植した供

Fig. 1. Variation in the Rate of Formation of Histamine by Various Strain of *Proteus morganii*.

* 京都大学木俣教授より分与されたもので、はじめは *Achrom. histaminium* II と呼ばれていたもの。

試菌をさらに 50cc の同培地に 25°C, 24 時間培養後遠心し, 3 回生理食塩水にて洗滌, 遠心を繰返し, 最後に 20cc の生理食塩水に懸濁した。

Fig. 2. pHs of Optimum Activity of *l*-(-)-Histidine Decarboxylase in Washed Cell Suspension of *Proteus morganii* and *P. vulgaris*.

(2) 脱炭酸能の測定: 供試菌の洗滌菌体懸濁液 1.0cc, *l*-histidine 1.0cc (1.5mg/cc) と M/20 Mc Ilvaine 緩衝液 (pH 3.0~8.0 まで 0.5 間隔) 2cc を小試験管中にとり, 30°C の恒温水槽で 3 時間反応させた後, 100°C で 5 分間加熱して反応を停止させ, 生成した histamine を Mc Intire-門田法¹⁴⁾で定量した。

3. 実験結果

えられた結果は反応液 1cc 中の histamine の γ 数で示し, それをとりまとめたものが Fig. 2 である。この表から *Proteus* 菌 (菌体懸濁液) の *l*-histidine 脱炭酸酵素の至適 pH はつぎの Table 2 のようになった。

Table 2. pH of optimum activity of *l*-histidine decarboxylase in *Proteus* group.

Species and strain	pH of optimum activity
<i>Proteus morganii</i> , #71	6.0
#73	6.5
Kyoto Univ.	6.0
<i>Proteus vulgaris</i> , #22	6.5

実験 3. *P. morganii* と *Cl. perfringens* (*Cl. welchii*) の脱炭酸至適 pH の比較

実験 2 で示したように *Proteus* 菌の脱炭酸能は中性に近い微酸性で旺盛に行なわれることが判つた。一方 GALE¹³⁾ は *Cl. perfringens* (*Cl. welchii*) の洗滌菌体での脱炭酸至適 pH は 2.5~3.0 と著るしい酸性側にあると報告しているので, ここに *P. morganii* と比較実験を行なつた。

1. 供試菌株

P. morganii, #71 (実験 1 に記載)

Cl. perfringens PB 6-K (type A) (予研血清部保管)

2. 実験方法

(1) 菌体懸濁液の作成: 供試培地の組成はつぎのごとくである。

カツオエキス (極東エリッヒ肉エキス) 10g   ブドウ糖 10g
 ペプトン (ポリペプトン) 10g   水 1000cc
 食塩 3.0g   pH 7.0 として使用。

上記組成の培地 100cc ずつを高圧滅菌し, 供試菌を接種した。*P. morganii* は 30°C, 48 時間, *Cl. perfringens* は 37°C, 48 時間培養し, 菌体を冷凍遠心器 (0°C, 7350 G, 10 分間) にて集菌した。菌体はさらに生理食塩水で 3 回洗滌を繰返し, 最後に生理食塩水に懸濁して使用した。なお, 後述するように酵素力価を菌体蛋白 1mg 当りに換算したので, 供試菌液の蛋白濃度を Lowry の改良¹⁵⁾ Folin-phenol 試薬法

で比色定量した (結果は albumin 相当量にて示した)。

(2) *l*-histidine 脱炭酸酵素力価の測定法: GALE は脱炭酸能の力価測定に Warburg 検圧計を使用した。WEALE¹⁶⁾ や ALIN⁸⁾ は histidine の脱炭酸生成物である histamine をモルモット摘出腸管を使用する Magnus 法が測定した。この生物学的定量法は感度が鋭敏で、かつ操作が短時間で済むので筆者らも一連の腐敗中毒研究に同法を用いて来たので、実験 3 の脱炭酸能の測定は Magnus 法によった。従来の Magnus 法では栄養槽に酸素を通じているが、AOAC の改定法¹⁷⁾ では圧搾空気を使用することになっている。その理由は米国の実験室内では圧搾空気の配管がしてあつて、酸素ポンプより遙かに便利なためであろう。筆者も酸素ポンプの代りに熱帯魚飼育用に販売されている小型で安価なエアポンプを使用したところ、酸素の場合と同感度があり、圧力調節も容易で、かつ経済的であることが判つたので、この改良法を使用することにした。定量方法の原理は被検液による腸管収縮程度を標準 histamine のそれと比較しながら行なうもので、従来と同一である (実験誤差は 5% 以内)。

(3) *l*-histidine 脱炭酸酵素力価の表示法: GALE は Warburg 検圧計を用い、脱炭酸酵素力価を菌体 (酵素) 窒素 1mg 当り、37°C で 1 時間に生成する CO₂ の μ l 量で示したが、筆者らは Magnus 法によつたので、菌体蛋白* 1mg 当り、37°C で 1 時間に生成する histamine 量 (γ) で力価を示した。

(4) 脱炭酸能の至適 pH 測定法: Activity

P. morganii, #71 および *Cl. perfringens*, PB 6-K の洗滌菌体懸濁液の脱炭酸能の至適 pH はつぎの方法で測定した。

菌体懸濁液 1.0 cc
M/20 *l*-histidine 1.0 cc
M/20 McIlvaine 緩衝液 3.0 cc
(pH 2.0 より 8.0 まで)

上記を試験管に入れ 37°C で 1 時間反応させた後、100°C で 5 分間加熱、酵素反応を停止させ、生成した histamine を生物学的方法で定量した。

3. 実験結果

えられた結果は Fig. 3 に示してある。すなわち *P. morganii* の脱炭酸能は pH 4.0~8.0 という広範囲で行なわれ、特に 5~7.5 で活潑である。至適 pH は 5.8 であつた。これに対し *Cl. perfringens* は pH 5.5 以下の酸性に限られ、至適 pH は 3.2 附近にあつた。*Cl. perfringens* についての結果は GALE の報告¹³⁾ とよく一致している。

実験 4. *P. morganii* 菌体中の *l*-histidine 脱炭酸酵素の安定性

P. morganii 洗滌菌体懸濁液中の *l*-histidine 脱炭酸酵素の安定性を調べるため種々な温度で放置した際の酵素力価の変化を調べた。

Activities expressed as γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 3. pHs of Optimum Activity of *l*-(-)-Histidine Decarboxylase with Washed Cell Suspensions of *Proteus morganii*, #71 and *Cl. perfringens*, PB 6-K.

* Lowry の改良 Folin-phenol 試薬法で albumin 相当量で示した。

1. 実験方法

実験3と同様にしてえた *P. morganii*, #71 の洗滌菌体懸濁液 (生理食塩水) を試験管中で 37°, 24°, 4°, -20°C で 24 時間および 96 時間放置後, つぎのように脱炭酸酵素力価を測定した。

すなわち,

一定条件下で放置後の菌体懸濁液 1.0cc

M/300 *l*-histidine 1.0cc

M/5 磷酸緩衝液 (pH 5.8) 3.0cc

を混合し, 37°C で1時間反応させ, 生成した histamine を実験3に準じて測定した。

2. 実験結果

えられた結果は Fig. 4 に示してある。すなわち, 4~24°C では 96 時間後もほとんど力価に変化はない。37°C では 24 時間後に 95% は不活性化され, 96 時間では完全に不活性化された。-20°C の冷凍機中に放置すると 24 時間後に 73% の力価の減少が認められたが, それ以降はほとんど変化がない。したがって菌体懸濁液の保存には 4°C の冷蔵庫が好都合であろう。

実験 5. *P. morganii* のアミノ酸脱アミノ作用

P. morganii 中 histamine 形成能の強力な菌株についてサバエキス中 (培養法) 中における NH₃-N の形成並びに洗滌菌体懸濁液について *l*-histidine 脱アミノ作用を pH 4.5~9.0 の範囲で調べた。

1. 供試菌株

培養法には *P. morganii*, 起 33₁, 89, TU-2, #71, #73 の5株, 洗滌菌体懸濁液の実験には #71, #73 の2株を使用した。

2. 実験方法

培養法には供試菌を予め pH 5.0 および 7.0 に反応を修正し 50cc ずつ分注したサバエキス培地に 25°C で 48 時間培養後, pH, Mc Intire-門田法による histamine 並びに Conway 微量拡散法と Nessler 比色併用法¹⁸⁾ で NH₃-N の測定を行なった。

#71, 73 株の洗滌菌体は実験3と同様に作成, 菌液 1cc, M/20 *l*-histidine 1cc と, pH 4.5~9.0 にわたる M/20 Mc Ilvaine 緩衝液 2cc とを試験管中に入れ, 37°C で3時間反応させ生成した NH₃-N を前記方法により定量した。

Activities expressed as γ histamine/mg. bacterial protein/hr. at 37°C.

Fig. 4. Temperature Sensitivity of *L*(-)-Histidine Decarboxylase in Washed Cell Suspension of *Proteus morganii*, #71.

Table 3. Formation of ammonium-N and histamine by *Proteus morganii* in growing culture.

(Incubated at 25°C for 48 hours in the mackerel infusion medium)

Strain	Initial pH of medium pH 5.0			Initial pH of medium pH 7.0		
	Final pH	Histamine mg. %	NH ₃ -N mg. %	Final pH	Histamine mg. %	NH ₃ -N mg. %
<i>P. morganii</i>						
Okoshi-33 ₁	6.04	178	4.3	7.03	120	0
TU-2	6.31	150	0	7.02	101	0
# 71	6.03	155	1.1	7.01	97	1.8
# 73	6.01	148	2.9	7.06	99	0
Okoshi-39	6.07	101	1.1	7.44	71	0

Table 4. Formation of ammonium-N from *l*-histidine with washed cell suspension of *Proteus morganii*.

(Incubated at 37°C for 3 hours)

	Reaction pH (M/20 Mc Ilvaine's buffer)									
	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0
<i>P. morganii</i>										
# 71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
# 73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

3. 実験結果

培養法によるサバエキス培地の pH の変化, histamine 量, $\text{NH}_3\text{-N}$ 量は Table 3 にとりまとめている。すなわち初期 pH 5.0 および 7.0 いずれにおいても多量の histamine の形成が認められたが, $\text{NH}_3\text{-N}$ の増加はほとんど認められなかった。

71, 73 の菌体量懸濁菌の *l*-histidine 脱アミノ作用は pH 4.5~8.0 においては全く認められなかった (Table 4 参照)。

考 察

GALE¹³⁾ は彼の調べた 20 株の *P. vulgaris* および *P. morganii* の大部分が glutamic acid と ornithine 脱炭酸酵素を有していたと報告していて, *Proteus* 菌の *l*-histidine 脱炭酸酵素の存在については否定的である。MøLLER¹⁹⁾ は腸内細菌の分類の一手段としてアミノ酸脱炭酸酵素*の有無を目安とすることを提唱している。

一方, 日本の研究者中相磯ら¹⁰⁾, 河端ら¹²⁾, 木俣ら⁹⁾, 田中²⁰⁾ は *P. morganii* に *l*-histidine 脱炭酸能が存在することを確認している。したがって *Proteus* 菌における本酵素の分布を調べることは, 公衆衛生上はもとより細菌学的見地からも重要な問題である。相磯らによれば供試した 35 株の *P. morganii* のすべてから *l*-histidine 脱炭酸能が認められたという。筆者らの今回調べた 13 株にもすべて脱炭酸能が検出された。しかし菌株によりその能力に強弱があつた。*P. vulgaris* の *l*-histidine 脱炭酸能については筆者ら¹²⁾ はすでに報告してあるが, 今回調べた *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri* にもきわめて微弱な脱炭酸能が認められた。

細菌によるアミノ酸の分解と pH の関係については, 一般に酸性側では脱炭酸, 中性よりアルカリ側では脱アミノが行なわれ, 脱炭酸と脱アミノが同時に起る pH はないものと考えられている¹³⁾。*l*-histidine の脱炭酸について, GALE¹³⁾ は *Cl. perfringens* (*Cl. welchii*) では酸性側で行なわれることをみ, EGGERTH⁶⁾ は *E. coli* についても同様な事実を見出している。

アレルギー様食中毒原因としての *P. morganii* の意義を考えてみると, まず本菌の *l*-histidine 脱炭酸は pH 5 以上の中性に近いところで旺盛に行なわれ, その至適 pH は 6 附近である。また本菌は pH が 7.5~8 というアルカリ側でも脱炭酸する。この点 *Cl. perfringens* とはかなり趣を異にする。pH 6 附近は魚肉殊に赤身のサバ, サンマの腐敗初期までの pH である。一方, 本菌は pH 4.5~9.0 の範囲で *l*-histidine やサバエキスからアンモニアの形成することが認められなかった。この事実は本菌のアミノ酸殊に *l*-histidine 分解能の特殊性ともいうべきであつて, また本菌には蛋白分解能のない事実¹²⁾ と併せ, もしこの菌が何等かの条件下で異常増殖をするなら外観上の変化やアンモニアの増加を伴わないで histamine 等の毒物の異常蓄積が起る可能性がある。1955 年のメバチマグロ刺身による中毒例¹²⁾ ではこれが事実で立証されている。

* その中で *P. morganii* についてはグルタミン酸 (+), オルニシン (+), リジン (-), アルギニンは菌株により (+) または (-) としてある。

総 括

1. *Proteus morganii* 13 株, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. rettgeri* 各 1 株ずつについて *l*-histidine 脱炭酸能を調べた。供試 *P. morganii* にはいずれも脱炭酸能が認められたが、菌株により強弱の程度に相違があつた。他の 3 株の *Proteus* 菌にもきわめて微弱な脱炭酸能が認められた。

2. *Proteus* 菌の *l*-histidine 脱炭酸は pH 5~8 という広範囲で行なわれ、至適 pH は 6~6.5 であつた。

3. *P. morganii* #71, *Cl. perfringens* PB 6-K (type A) の *l*-histidine 脱炭酸能と pH との関係を比較してみると、前者は pH 4~8.0 という広範囲にわたつて脱炭酸し、その至適 pH は 5.8 であつたのに対し、後者は pH 5.5 以下の酸性側に限られ、至適 pH は 3.2 であつた。

4. *P. morganii* の菌体懸濁液中の *l*-histidine 脱炭酸酵素は 4~24°C の間で安定で、その中で 4°C が最も安定であつた。37°C で 24 時間後に 95% が不活性化され、96 時間では全く脱炭酸能は消滅する。−20°C では 24 時間後に 75% 位不活性化されるが、それ以降 96 時間までには変化が認められなかつた。

5. 供試 *P. morganii* 5 株はいずれもサバエキス (pH を 5.0 または 7.0 に調整) 中で 25°C, 48 時間の培養を行なつた際アンモニアの形成をみなかつた。また 2 株 (#71 および #73) の菌体懸濁液について *l*-histidine の脱アミノ作用を調べたが、pH 4.5~9.0 の間では陰性であつた。

本研究に種々御教示、御鞭撻をえた東大森高次郎先生、予研遠山祐三先生に厚く感謝の意を表わすとともに、*Proteus morganii* を供与された岐阜県出医大鈴木祥一郎博士、*Cl. perfringens* を供与された予研血清部山田隆子技官に深謝する。なお本研究の一部は厚生科学研究費によつた。

文 献

- 1) D. ACKERMANN: Z. physiol. Chem., **65**, 504 (1910).
- 2) M. T. HANKE & K. K. KOESSLER: J. Biol. Chem., **50**, 131 (1922).
- 3) A. J. KENDALL & F. O. SCHMITT: J. Inf. Dis., **39**, 250 (1926).
- 4) A. J. KENDALL & E. GEBUR: J. Inf. Dis., **47**, 1930 (1930).
- 5) K. HIRAI: Biochem. Z., **1**, 267 (1933).
- 6) A. H. EGGERTH: J. Bact., **37**, 205 (1939).
- 7) E. F. GALE: Biochem. J., **34**, 392 (1940); **35**, 66 (1941); **36**, 64 (1942).
- 8) K. ALIN: Acta allergol., **III**, 136 (1950).
- 9) 木俣正夫・河合 章: 京大食研報, **5**, 21 (1951); **12**, 29 (1953).
- 10) 相磯和嘉・豊浦秀世・藤田久稔: 日細菌, **10**, 1615 (1955); **11**, 517 (1956).
- 11) 河端俊治・石坂公成・三浦利之: 本誌, **21**, 335 (1955); **21**, 341 (1955); **21**, 347 (1955); **21**, 1167 (1955).
- 12) 河端俊治・石坂公成・三浦利之・佐々木忠尚: 本誌, **22**, 41 (1956).
- 13) E. F. GALE: Advances in Enzym., **VI**, 1 (1946), Interscience Pub. Inc., New York.
- 14) 門田 元・井上淳太郎: 本誌, **19**, 916 (1953).
- 15) O. H. LOWRY: J. Biol. Chem., **193**, 265 (1951).
- 16) E. WERLE: Biochem. Z., **306**, 264 (1940); **309**, 61 (1941).
- 17) (Change in A. O. A. C. method at 69th Meeting, Oct., 1955), J. A. O. A. C., **39**, 91 (1956).
- 18) 河端俊治: 鮮度保持研究班連絡情報, No. 8 (1955) (水産庁).
- 19) V. MØLLER: Acta Path. Microbiol. Scand., **34**, 102 (1954).
- 20) 田中定平: 日細菌, **13**, 1000 (1958).