394. 鈴木友二, 村岡三郎: アルギニンの微生物定量法に対するアルギニン代謝産物の影響について

Tomozi Suzuki and Saburo Muraoka: Effects of Arginine and its Metabolites on Growth of Bacteria in Arginine-Free Media.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto*)

坂口反応はグアニジル基をもつ化合物一般を呈色せしめ従来よりアルギニンの化学的比色定量に用いられてきたが、もし微生物定量法によつてアルギニンのみ正確に定量できれば坂口反応の定量値と微生物定量の定量値の差からアルギニン以外のグアニジル基をもつた物質の存在量を予測することが可能である。著者らは貝類エキス中の新グアニジン誘導体を検索し、その量を定めるに際して、上の考えに基いてアルギニンのみ正確に定量できる条件、即ちアルギニンのみを必須とし他のグアニジン誘導体によつて障害されることのない菌種と定量の条件について検討したのでその結果について報告する。

さきに Snell¹⁾ 等はアルギニンの代謝前駆物質であるオルニチン、チトルリンの各菌種間におけるアルギニン活性度、並びにカナバニンのアルギニン定量に及ぼす阻止作用について報告した。その結果によれば *St. faecalis* はアルギニンのみを必須とするが、*Lact. arabinosus* はチトルリンを、又 *Lact. fermenti* はオルニチン、チトルリンをアルギニン代用物質となしうる。著者らは貝類エキス中のアルギニンを定量する目的からエキス中に存在の可能性があるアルギニン代謝産物、即ち軟体動物のタコ、ホタテガイから分離されたオクトピン²⁾ (L-arginine-N- α -propionic acid)、アカガイの一種 (*Arca noae*) から分離されたアルカイン³⁾ (tetramethylene diguanidine) 及び海綿やタコ、イカ等から分離されたアグマチン⁴⁾ (4-guanidinobutylamine) などの各菌種に対するアルギニン活性度をしらべた。菌種としては *Lact. fermenti*, *Lact. arabinosus*, *Strept. faecalis* の3種を用い、オクトピン、アグマチン、アルカインを夫々アルギニン欠除培地に加えてそれらのアルギニン活性度を検し又アルギニン添加培地におけるこの3物質の防止作用を見た。その結果を次の Table I に示す。

Table I

Comparative Effects of Arginine and Related Compounds on Growth of Bacteria in Arginine-Free Media

	Additions, amount per 2 cc.						
	None	Agmatine 200 γ	Arcaïne 200 γ	Octopine 200 γ	Arginine 10 γ 100 γ	Octopine 1000 γ + Arg.	Arcaïne 1000 γ + Arg.
<i>L. fermenti</i>	—	—	—	—	++ ##	++	
<i>L. arabinosus</i>	+	+	+	+	++ ##	++	
<i>S. faecalis</i>	—	—	—	—	++ ##	++	++

— no growth, + easily visible growth, ++ good growth ## heavy growth

即ち著者らの実験結果によればアグマチン、アルカイン、オクトピンはアルギニン欠除培地中でアルギニン代用物質とならず、又アルギニン定量に際して防止的な作用をも示さないことを知つた。著者らの以上の結果及び Snell 等の実験結果である *St. faecalis* はオルニチン、チトルリンをアルギニン代用物質となし得ないということとを総合すれば、*St. faecalis* を用いるときはオルニチン、チトルリン、アグマチン、アルカイン、オクトピンはアルギニンの微生物定量を妨げないことが判明した。尙これらの結果に基いて実際にアルギニンの微生物定量用の検量曲線 (Fig. 1) を作成し、これに基いてカラス貝エキスについてアルギニンの比色定量と微生物定量を

* Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

1) Snell, B. Volcani: J. Biol. Chem. **174**, 893 (1948).

2) 京大医紀 **9**, 285 (1927).

3) Ackermann: Z. Physiol. Chem. **199**, 273 (1931).

4) Z. Biologie **81**, 65 (1924). Fr. Kutscher, Ackermann: Z. physiol. Chem. **199**, 277 (1931).

5) Henderson: J. Biol. Chem. **172**, 15 (1948).

Fig. 1 Standard Curve of Arginine

行つた。その結果、両者の間で殻共 1 kg の検体について 15 mg の定量値の差が見られたが、この差はアルギニン以外のグアニジン誘導体の量に相当する。この際著者らが作成した検量曲線を用いての定量可能範囲は従来の文献⁶⁾記載のものに比べて著しく広くなし得ている。尙著者らの用いた *L. arabinosus* 17-5 は Snell の実験結果と異なりアルギニンを必須としなかつた。

本研究に際し終始御指導を賜つた京大薬学科高木教授に謹んで深謝する。又試料を提供された京大医学部明石助教授、東京工大杉野教授、並びに微生物定量に際し種々御便宜を賜つた武田薬工研究所大村栄之助氏に感謝する。

実 験 の 部

基礎培地及び試料の調製 基礎培地は Henderson-Snell のアミノ酸定量用培地を基準とした。その 1L 中の組成は次の通りである。グルコース 20 g, クエン酸ナトリウム 20 g, 酢酸ナトリウム 1 g, アデニン 10 mg, グアニン 10 mg, ウラシル 10 mg, サイアミン 1000 γ, リボフラビン 1000 γ, ビリドキサール 200 γ, パントテン酸カルシウム 1000 γ, ニコチン酸 1000 γ, PABA 200 γ, ビオチン 10 γ, 葉酸 10 γ, DL-アラニン 1000 mg, DL-アスパラギン酸 1000 mg, L-グルタミン酸 1000 mg, L-リジン 200 mg, ヒスチジン, イソロイシン, ロイシン, メチオニン, フェニールアラニン, プロリン, スレオニン, チロジン, バリン, トリプトファン, シスチン, ゼリン, グリシンは L-型のときは夫々 100 mg (DL-型のときはその倍量), K_2HPO_4 1 g, KH_2PO_4 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.4 g, NaCl 0.02 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02 g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.1 g. このものを pH 7.0 に調整し、ここに調製した培地 1 cc をとり予め作成した試料の溶液 1 cc を加え Table 1 の濃度になるように作成した。試料は何れも合成品でアグマチン⁶⁾, アルカインは何れも硫酸塩である。

使用菌種 *Lactobacillus arabinosus* 17-5, *Streptococcus faecalis* R, *Lactobacillus fermenti* 36. 接種菌 (Inoculum): 保存培養した各微生物をカゼイン酸分解物をアミノ酸源とした培地で 24 時間培養し、更にその一部をとり合成アミノ酸を用いた完全合成培地に接種し、24 時間培養後これを集め常法により 0.9% 食塩水に懸濁せしめて接種菌とする。

培養及び測定法 培養は *S. faecalis* は 30° 24 時間, *L. arabinosus* は 30° 24 時間, *L. fermenti* は 37° 24 時間行い、何れも濁度によりその増殖度を比較した。

貝類エキス中のグアニジン誘導体の定量 i) 微生物定量によるアルギニンの定量: 12 月に琵琶湖で採取したカラス貝検体を 85~90° の熱湯中に投じて茹汁を作り、濃縮後 60 V% アルコール性としグリコーゲン、蛋白質、高分子窒素化合物をのぞき、さらに鉛醋を加えてペプチド類を除いたものから過剰の鉛は H_2S で沈澱せしめ、更に H_2S を除いて pH 7.0 に調節したものについて *S. faecalis* を用いて微生物定量を行つた。かくして定量した結果は殻共 1kg 当り 9 mg であつた。

ii) 坂口反応によるグアニジール誘導体の定量: Jorpes-Thoren 法⁷⁾により水酸化ナトリウムアルカリ性で α -ナフトール、次亜ブROM酸ナトリウムで呈色せしめ、光电比色計を用いて比色定量した。その結果はアルギニンに換算して 24 mg/kg であつた。

京都大学医学部薬学科

Summary

Using *Lactobacillus fermenti*, *Lact. arabinosus* and *Streptococcus faecalis*, tests were made of octopine, arcaine, and agmatine, the metabolic products of arginine, as to their arginine activity in arginine-free medium and inhibitory action in medium containing arginine. It was found that these three compounds do not act as arginine substitute or inhibitory in arginine determination. These results, together with the reports

6) 大戸: 日化 67, 132 (1946).

7) Jorpes, Thoren: Biochem. J. 26, 1504 (1932).

of Snell¹⁾, seem to indicate that it would be possible to determine the content of arginine in the presence of ornithine, citrulline, agmatine, arcaine, and octopine, using *Strept. faecalis*.

(Received June 25, 19652)

395. 長谷川 淳：二次電子光電管を用いた比色計の試作について

Jun Hasegawa: A Colorimeter using Multiplier Photo-Tube.

(Pharmacy, Tokyo University Hospital*)

近年理論、応用化学方面の測定技術中で長足の進歩をとげたものに比色法（光度分析法）がある。その特長は

微量の資料で簡易な手技により極めて短時間に測定を行うことが出来る点である。此の急速な進歩は光源、分光器、検知装置等の各分野の総合的発達の結果であるが、検知装置の進歩としては実用方面ではセレン光電池の発達¹⁾があり、又精密測定には光電管の代りに二次電子光電管 (multiplier photo tube) が用いられるようになったこと^{2,3,4)}がある。

Fig. 1 は二次電子光電管の構造図で、その原理上、光電効果に依ることは今迄の光電管と同様であるが異なる点は光電面（陰極）と陽極との間に二次電子を放出する数個のダイノードが存在し、此のダイノードの作用により光電子は順次増倍されて陽極に達するまでには数十万倍乃至百万倍程度増幅される。

Fig. 1 1 光陰極 2~10
ダイノード 11 陽極

Table I

	最高感度 波長 Å	感光範囲 Å	最高陽極 電圧 V	最大陽極 電流 mA	平均陽極 電流 mA	最大陽極 暗電流 μA	陽極感度 Amp/Lm	選倍率
RCA 1P21	4000	3100~6600	1250	1.0	0.1	0.1	80	2×10^3
RCA 1P22	4200	4000~8000	1250	10	1.0	0.25	0.6	2×10^5
RCA 1P28	3400	2300~6500	1250	5	0.5	0.1	20	1×10^6
RCA 931-A	4000	3100~6600	1250	10	1.0	0.1	20	1×10^6
RCA 5819	4800	3100~6500	1250	7.5	0.75	0.05	24	6×10^5
東芝 MS-6S		(アンチモン- セシウム)	700			0.01	4.5mA/Lm	5600

* RCA 特性表, 東芝特性表による

Table I は現在用いられている二次電子光電管の特性を示す。幸いに東芝製 MS-6S, RCA 製 931-A を入手し得たので之を用いフィルター式の比色計を試作し良好な結果を得たので報告する。試作に当つては次の4点を考慮した。1) 自作する関係上構造を極めて簡易なものとする。2) 安定度は充分良好なものとし、測定誤差は 0.5%程度とすること。3) 将来分光々度計に改造できる様にする。4) キュベットは最長 10 cm (液量 5 cc 程度) のものを使用できる様にする。

Fig. 2 は Multiplier に供給する高圧の安定回路図, Table II はその部品表, Fig. 3 は使用せる光学系の構造図, Fig. 4 は定電圧回路の安定特性, Fig. 5 はメーター指針の安定性, Table III は使用例を示す。

定電圧回路は耐圧に充分注意をすればその他は特に注意すべき事はない。T-307 は使用規格は 600 V 程度であるが、此の回路では 1100 V がかかっている。然し陽極損失の範囲内であるので連続使用しているが格別のこ

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) 斎藤正行：光電比色計による臨床化学検査，伊藤超短波研究所発行，1950 年

2) 柴田和雄：化学と工業 **2**, 250 (1949).

3) Ind. Eng. Chem. **21**, 1546 (1949).

4) Ind. Eng. Chem. **22**, 154 (1950).