

## 細菌表面構造の研究

## 第 5 編

## 細菌表面構造の生理化学的研究

岡山大学医学部細菌学教室 (主任: 村上教授)

医学士 田 口 一 美

〔昭和40年3月9日受稿〕

## 目 次

## 其の I 細菌表面構造と適応酵素との関係に関する生理化学的研究

1. 序 言
2. 実験方法
3. 細菌表面構成物質の適応酵素活性化能について
4. Ribo 核酸の適応酵素活性化能について
5. 細菌表面構成物質と Ribo 核酸の相互作用について
6. 細菌表面構成物質の物質代謝に及ぼす影響

## 其の I 細菌表面構造と適応酵素との関係に関する生理化学的研究

## 1 序 言

第2編より第4編にわたって細菌々体表面の物理化学的構造或いは化学的構造についてその基本的問題を解決し、更にこれらの構造が一定の生理化学的現象に於て規則正しい変化をなす事を見出し、その意義について詳説したわけであるが、このような研究の帰結に対しては生理化学的な裏付けが必要である。一定の生理化学的現象で、細菌表面構造が重要な意義を有するものであるならば、単離された細菌表面構成物質にも何等かの生理化学的作用がなくてはならない。この事は酵素化学における無細胞酵素の単離によつて始めてその酵素系が確認されるという場合に似ていて、かかる研究をなし得て始めて充分なるものといひ得るのである。

本編で取り扱う生理化学的現象とは近時微生物生理化学で盛んに論議されている適応酵素である。即ち適応酵素反応体としての細菌表面構成物質の作用及び従来重要な同反応体であるといわれている Ribo 核酸の作用との比較並びに両者の相互作用時

## 7. 結 論

## 其の II 細菌表面構造と振盪毒素との関係に関する研究

1. 序 言
2. 実験方法
3. Ribo 核酸の振盪毒素産生能について
4. 細菌表面構成物質の振盪毒素産生能について
5. 振盪毒素産生における Ribo 核酸と細菌表面構成物質との干涉作用について
6. 結 論

認められる所謂干涉現象についてである。

生体内で酵素が作り出される機構については、その微細な機作に至ると未だ簡単な蛋白質の合成機作ですら判っていない今日の科学の進歩をもつてしては、到底窺知できない所である。

酵素の適応的増強或いは適応的転換なるものが、微生物を使用して比較的簡単な条件下に観察され、酵素の活性化に及ぼす物理的乃至は化学的因子に関して、漸次明瞭にされてきた事はかかる現在の状況に対して光明を与えるものである。この結果、Gale<sup>1)</sup>、Spiegelman<sup>2)</sup>、須田<sup>3)</sup>等の輝かしい業績が現われたのである。併しながら、適応酵素なるものは決して生細胞の自発的現象ではなく、環境とその細胞との相互作用に基いたものである。即ち外界の物質変化に多面的に適応する現象である。ここに物質変化に最も敏感に接するものとしての細菌表面構造の意義がある。さて、適応現象の本質には次の様な三つの場合<sup>4)</sup>が考えられる。

- 1) 微生物によりある基質の分解される原因がその微生物の振興に基く Mutant strain である場合 (Lewis 等の所謂 Natural Selection<sup>5)</sup>)
- 2) 微生物の細胞内にその基質に特異性をもつ酵

素の場合

3) 微生物の培養過程において異つた基質相互の菌響が細胞酵素系に出現する場合

ここに問題にするのは主として(2)の場合であるが、(2)及び(3)は従来多数の人々によつて取りあげられた領域であり、最初 Karström によつて Adaptive enzyme として、Constitutive Enzyme より区別されたものである。

基質との接触によつて微生物内に適応酵素が発達してくる過程は Stephenson, Yudkin, Gale<sup>1)</sup> 等が菌量測定と酵素活性の比較より定性的に研究した所であるが、最近に至り Spiegelman<sup>2)</sup> は更に詳細にこの機作を研究し、適応酵素の産生は力源代謝と深い関係を有し、生細胞内合成反応の出現と同時に酵素活性が現われる事を証明し、逆にこの合成反応の担体は Plasmagen とよばれる反応体である事を見出した。更に最近に至つて須田<sup>3)</sup> 及び尾田、竹田<sup>6)</sup> は遂に Plasmagen は Ribo 核酸であつて、これが生細胞内酵素始原体(おそらくは核蛋白)の相互転化の反応体たる事を実証した。

概要、この様な現況にある適応酵素の問題を背景に、上述の様な観点から、以下述べる様な諸実験を行なつた。

2 実験方法

使用細菌は Staphylococcus aureus 寺島株及び S. 57S 型菌である。

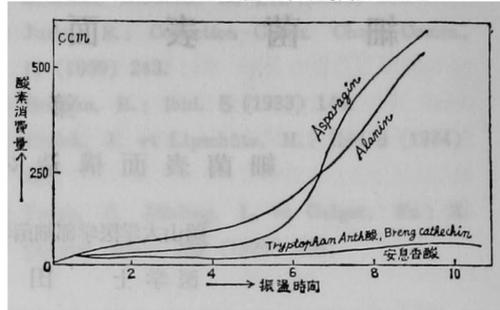
培養は普通寒天平板培養とし、37°C 20時間後集菌し、蒸溜水2回洗滌後、秤量し pH 7.4 の M/48 磷酸緩衝、生理的食塩水に浮遊する。基質は Tryptophane, Anthranil 酸, Brenzcathechin, Warburg 検圧法により基質の酸化分解を測定した。基質は主として M/50 ガス腔は空気、恒温槽は 37°C である。使用菌種の保存は成績を安定にするため、必ず同条件の下に毎日 37°C 20時間継代培養に行なつた。

3 細菌表面構成物質の適応酵素活性化能について

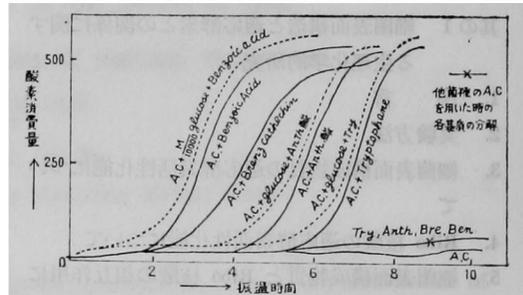
細菌表面構成物質の分離精方法は第3編と同じである。

上述の方法で培養した菌は Staphylococcus aureus 寺島株, S. 57S 型何れに於ても Tryptophane, Anthranil 酸, Brenz-cathechin, 安息香酸の何れをも長時間振盪後も分解しない。唯, Asparagin, Alanin には図1にみられるように適応現象が認められる。

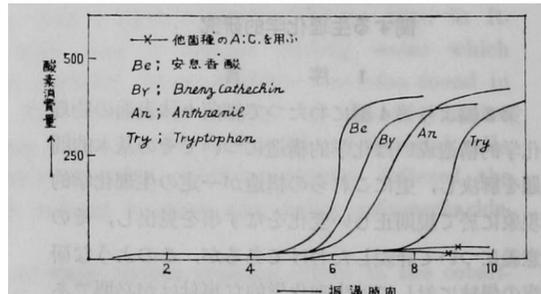
第一図 S. 57S 型菌の各種基質の分解



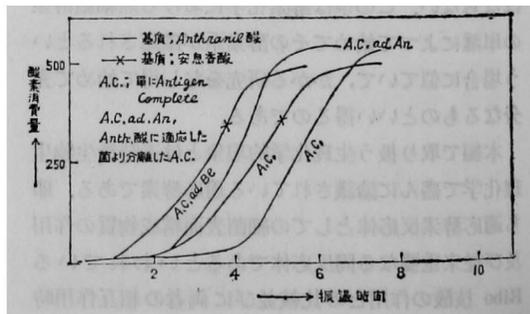
第二の I 図 菌体表面構成物質 (A. C. 57/10mg 菌量) の適応酵素活性化作用 (S. 57S 型菌)。



第二の II 図 菌体表面構成物質 (A. C 57/10mg 菌量) の適応酵素活性化作用 (Staphylococcus aureus 寺島株)



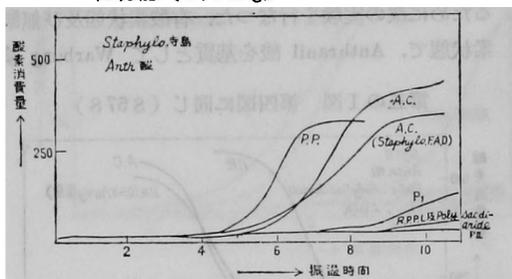
第三図 適応菌及び非適応菌より分離した Antigen Complète (57/10mg 菌量) の適応酵素活性化能の比較 (S 57S)



然るに各菌より単離精製された *Antigen Compléte* を 57/10mg 菌量に混じると, *Tryptophané*, *Anthranil* 酸, *Brenz-cathechin*, 安息香酸, 何れもある一定の時間後に急激に酸化分解が認められる。この場合, 使用する *Antigen Compléte* は各自菌種のものでなければならないし, 更に, 例えば *Anthranil* 酸に適應した菌より分離した *Antigen Compléte* は更に強い活性化能を有する (第3図)。この事は *Antigen Compléte* のこの作用には菌種特異性を有すると同時に多少基質特異性もあるのではないかという事を暗示するものである。即ち, この様に *Antigen Compléte* は適應酵素の反応体として作用し得るのであつて, この事は細菌表面構成物質の適應酵素反応体としての意義を見出し得たものであるといわねばならない。 *Staphylococcus aureus* 寺島株では S.57S 型菌の *Antigen Compléte* と同様にして精製した物質即ち *Ribo* 核酸-Mg-*Polysaccharide*-*Poly*-*Peptide*-*Lipid*-複合体には全然かかる反応体としての作用がない。この事は既に第3編に於ても述べた様に, *Staphylococcus aureus* 寺島株では *Polysaccharide*-*polypeptide*-*Lipid* 複合体が *Ribo*-核酸と結合して存在するという発見の端緒となつたものである。然らば, なぜ *Ribo* 核酸-Mg-*Polysaccharide*-*Poly*-*Peptide*-*Lipid* 複合体は不活性であるかを考察する。第2編, 第3編, 第4編における本物質の分子構造は *Ribo* 核酸分子と残余複合体分子とは並行に結合した細長い分子であり, 表面には *Ribo* 核酸その他が大部分をしめ, *Poly*-*peptide* は殆んど現われていないのである。一方菌の表面にある *Cobalt* 蛋白波或いは *Poly*-*peptide* 性結合水が適應酵素産生過程で一定の時期に出現する事より考えて, *Poly*-*peptide* 部分が重要な意義を有するものと思われるから, これの余り現われていない *Ribo* 核酸-*Polysaccharide*-*Poly*-*peptide*-*Lipid* 複合体では不活性であるのであろう。(第4図)。

所で, このように *Antigen Compléte* が強力な適應酵素活性化能があるならば, 本物質が *Polysaccharide* 及び *Poly*-*peptide* 並びに *Lipid* の複合体であるという点に着目し, いかなる程度の分子までこの様な作用があるかを知る事は生物学的に極めて興味ある問題であり, 同じく強力な活性化能を有する *Ribo* 核酸の場合には得られ難い問題である。第3編の様に *Antigen Compléte* を各構成成分に分離して, その作用を検してみると, 第5図の様な結果が得られた。即ち *Antigen Compléte* より *Lipid* 成分を分離した

第四図 *Antigen Compléte* (A.C.), *Polysaccharide*-*Poly*-*peptide*-複合体 (P.P.), *Poly*-*peptide* I (P.I.), *Poly*-*peptide* II (P.II) 適應酵素活性化能 (57/10mg)



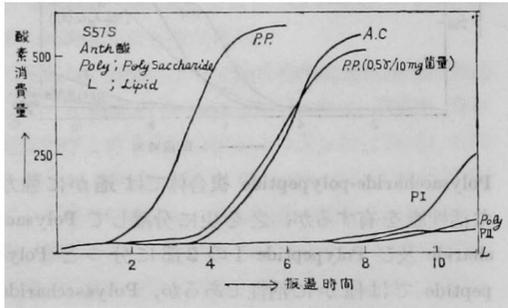
*Polysaccharide*-*polypeptide* 複合体では遙かに強力な活性化能を有するが, 之を更に分離して *Polysaccharide* 及び *Poly*-*peptide* I の2部分に分つと *Poly*-*peptide* では僅かに活性であるが, *Polysaccharide* には活性化能が認められない。又 *Lipid* も不活性である。この結果は上編でのべた様に *Lipid* をとる *Poly*-*peptide* が大量表面に現われてくるためであると, と解釈される。然らば単離した *Poly*-*peptide* I には更に強力な活性化能があつて然るべきであると思われるが事實は殆んど不活性に近い。この両者の相違は *Poly*-*peptide* I が *Polysaccharide* と結合すると, *Poly*-*peptide* 鎖が長く延びて, 一種の蛋白変性に近い状態にあり, 種々の基が活性化している事と関連するものと思われる蛋白の変性型が生理作用を現わす事は他にも例がある所であつて<sup>7)</sup>, かかる結論も妥当である。併しながら, これが単なる変性型であるという事のみでは充分でない事は *Poly*-*peptide* I の変性型である *Poly*-*peptide* II は不活性である事より明らかであつて, ここに何らかの機転がなければならない。この問題に多少の暗示を与えるのは第3編の *Poly*-*peptide* I 及び II の全窒素の分析結果であつて明らかに *Poly*-*peptide* I より II の方が全窒素が多い。この事は *Poly*-*peptide* I が何等かの複合蛋白と考えられるからである。

以上の結果は第2編及び第4編の適應酵素産生過程における透電スペクトル及び *Polarograph* 極大抑制能並びに *Cobalt* 蛋白波の実験と相まつて細菌表面構造の適應酵素産生過程における重要な意義を示すものであるが, 表面構造の適応的活性化, 即ち適應酵素活性化と考えるのは早急である。というのは, 無酸素状態で振盪適應せしめた菌は有酸素状態で振盪した菌に比して酸化分解を始める時間がおそいからである (第5図)。即ち, 菌体表面の適応酸活性化→未知の因子の活性化→全酵素活性化の道をたど

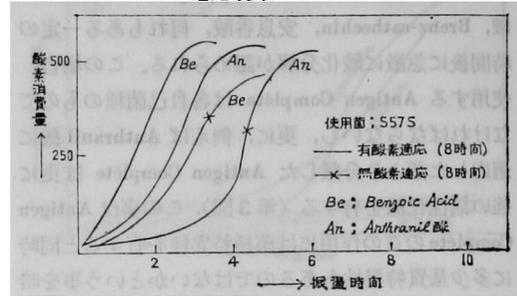
るものと思われる(実験条件は次述)。

次に上述の様に Antigen Complète は多少基質特異性のある反応体であるが、更に進んでこれを確かめるために次の実験を行なつた。有酸素状態及び無酸素状態で、Anthranel 酸を基質として Warburg 検

第五の I 図 第四図に同じ (S 57 S)



第五の II 図 有酸素及び無酸素状態に於ける適応現象



圧法の場合と同条件で振盪し適応めしめる。この菌を蒸留水 2 回洗滌し、Thunberg 法 (1 脚 = 0.25cc M/5000 Methylene-blue; 他脚 = 0.5cc M/100 Anthranilic acid + 0.75cc 磷酸緩衝生理的食塩水 (1 mg 菌を含む)) で、Methylene-blue の脱色時間を 37°C で

第一表 適応酵素産生過程に於ける Methylene blue 脱色時間 (S. 57 S 型菌)

基質		適応時間							
		0 分	1 時間	2 時間	3 時間	4 時間	5 時間	6 時間	対 照
M/50 Anth. 酸 + Antigen Complète (有酸素状態)	M/50 Anth. 酸	88' 30"	65' 0"	43' 0"	38' 30"	41' 0"	49' 30"	50' 05"	2 時間後も脱色せず。
	M/50 Brenz Calthechin	64' 10"	63' 20"	60' 20"	61' 0"	58' 30"	59' 0"	57' 50"	"
M/50 Anth. 酸 + Antigen Complète (無酸素状態)	M/50 Anth. 酸		63' 30"	47' 20"	35' 50"	42' 50"	47' 20"	53' 0"	"
	M/50 Brenz Cathechin		64' 0"	66' 20"	64' 50"	63' 10"	67' 0"	65' 20"	"

測定してみると、第 1 表結果が得られた。

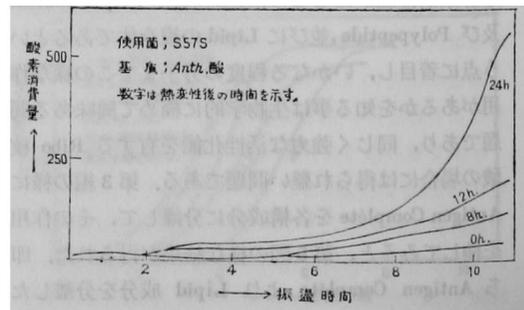
この実験によると無酸素状態でも、明らかに適応基質である Anthranilic acid の脱水素酵素は活性化している。この場合、Anthranilic acid の分解過程である Brenzcathechin に対しては有酸素、無酸素何れに於ても、脱水素酵素はあまり活性化していないのである。即ち、基質特異性を支配する酵素は明らかに活性化しているといえる。一方、菌体表面は無酸素状態でも一定の変化を示しているから、この様な結果から見ると、菌体表面構造そのものが基質特異性酵素ではないかと考えられる。

次に Antigen Complète による適応酵素活性化における力源代謝の意義であるが、M/1000 の割合に Glucose を入れて、Warburg 法で測定してみると、Glucose を入れないものより多少時間が短縮するが、著明でない事より力源代謝はあまり重要性でない事が想像される(第 2 図)。

Antigen Complète には既述のように Polypeptide があり、第 3 編で述べた蛋白変性能等の様に酵素的性質が多分にある。然らば、普通の酵素と同じ様に変性に伴う活性化能の失格があり得る事は予想でき

る。Antigen Complète の溶液を沸煮温浴上で 100°C 2 分間熱し、直ちに水で冷して直後 12 時間後、24 時間後にその活性化能を測定してみた。結果は直後のものは全然活性化能なく、12 時間後では多少、24 時間後では更に強い活性化能を有する事がわかつた。即ち、12 時間では 10 時間後、24 時間では 8 時間後に適応酵素を活性化せしめている。即ち、熱による Polypeptide 変性による活性化能の失格は可逆的である。但し長時間熱したものでは斯く活性化は存してこない(第 6 図)。

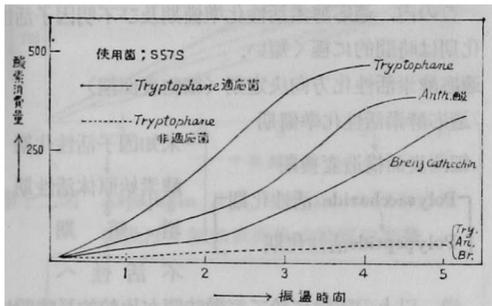
第六図 Antigen Complète の熱変性による失格とその回復





最後に使用細菌である *Staphylococcus* 寺島株及び S.57S 型菌における Tryptophane 代謝について一言する。適応酵素の実験が物質代謝の追求に役立つ事は須田等<sup>4)</sup>により、所謂逐次適応として認められたものである。即ち、ある基質に適応せしめた菌はその分解過程の物質に適応しており、この原理を使用すれば、その基質の分解過程が判明するといふのである。第7図はあらかじめ Tryptophane に適応せしめた菌とせしめない菌の Tryptophane, Anthranil 酸, Brenz-cathechin 安息香酸の酸化的分解の測定である。

第七図 Tryptophane 及びその分解物の酸化分解 (逐次適応を示す)



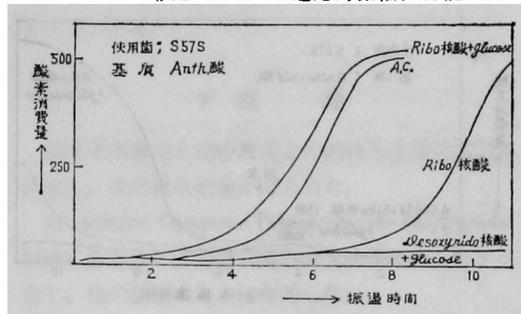
尚、この外に Salicyl 酸, Hydrochinone, Resoreinol, P-Amino-安息香酸を用いたが、分解されなかつた。この結果よりすると Tryptophane の分解は Tryptophane  $\rightarrow$  Anthranil 酸  $\rightarrow$  Brenz Cathechin  $\rightarrow$  X  $\rightarrow$  の如く行なわれるものと思われる。尚この結果は須田等の結果と同一である。

4 Ribo 核酸の適応酵素活性化能について

Ribo 核酸が強力な適応酵素活性化能を有する事は須田等<sup>5)</sup>によつて見出された所である。所が、菌体表面構成物質にも同様の作用がある事は上述の様であり、又、その機転も異つたものである事は第2編で既にのべた所である。更に生理化学的にこの両者の差異を見出す事が必要である。この意味で、Ribo 核酸の適応酵素活性化能の実験を行なつた。

3と同じ条件で Antigen Complète の代りに Ribo 核酸及び Desoxy ribo 核酸 (使用菌白体のものを第3編でのべた様に精製したもの) を 5 $\gamma$ /10mg 菌量に加えて、酸消費量を測定してみると、第8図の様に比較的長時間後に Ribo 核酸の場合に限つて、

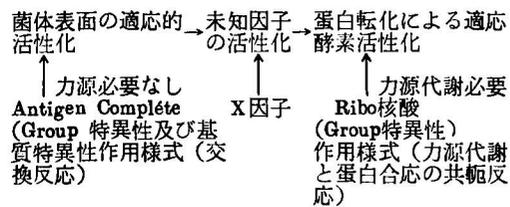
第八図 Ribo 核酸及び Desoxyribo 核酸及び A. C. の適応酵素活性化能



適応酵素が活性化してくる。更に力源代謝との関係を知るため微量の Glucose (M/10000) を加えると、Ribo 核酸の活性化能は著しく促進され、Desoxyribo 核酸では依然として分解しない。即ち Ribo 核酸の活性化能には力源代謝との共軛が必要である事を示すものであつて、尾田等<sup>6)</sup>によれば、この Ribo 核酸なる反応体は一つの力源代謝と蛋白合成との共軛反応に関係する物質である。然るに、上述の様に Antigen Complète には力源代謝が余り重要でないから、Ribo 核酸と Antigen Complète の作用点は別個であると考えられる。この事は既に透過スペクトルによつても証明し得た所である (第2編) (第8図)。

5 細菌表面構成物質と Ribo 核酸との相互作用について

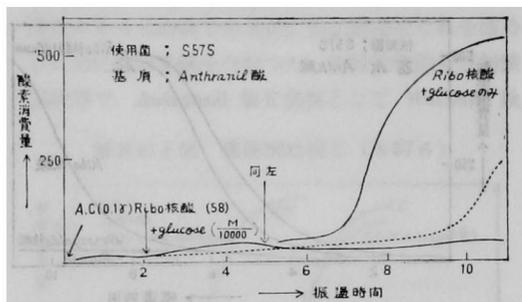
上述の様に細菌表面構成物と Ribo 核酸の適応酵素活性化能の相違は前者が力源代謝を必要としないのに反して、後者はこれを必要とし、更にその適応過程に於て菌体の物理化学的構造の変化の様式が異なり、結局次の模式の様に考えられるのである。



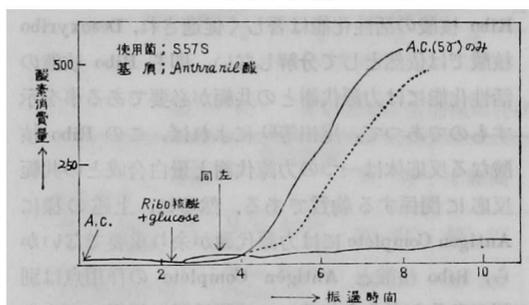
この様に同じ適応酵素活性化反応体でありながら、作用点も異なり、又その様式も異つている両者がその相互作用に於て相互にその作用を打ち消しあうという干渉現象 (この意義については本編其のIIに於て詳説する) を呈するという興味ある事が見出された。

第9図に見られる様に、例えば、Antigen Complète

第九の I 図 適応酵素産生過程に於ける反応体の示す干渉現象の一例



第九の II 図 適応酵素産生に於ける反応体の示す干渉現象の一例



を適応酵素活性化能が認められない程度に微量、即ち  $0.5\gamma/10\text{mg}$  菌量に加えて、基質と共に振盪し、2時間後 Ribo 核酸を適応酵素活性化能を示す程度

の量 ( $5\gamma/10\text{mg}$  菌量) と  $M/10000$  に glucose を入れて、更に振盪し、Warburg 検圧法によつて測定すると、適応酵素は活性化されてこない。この Antigen Compléte を干渉性反応体、Ribo 核酸を被干渉性反応体と呼ぶ事とする。Antigen Compléte と Ribo 核酸を反対にしても同様である。この場合最初に Antigen Compléte 若しくは Ribo 核酸を干渉性反応体として入れて一定時間より後では、後より入れる反応体、即ち、被干渉性反応体による活性化は起つて来、Antigen Compléte では2時間半、Ribo 核酸では3時間半より後にそれぞれ Ribo 核酸又 Antigen Compléte を入れると活性化は抑制されない。即ち、ここに両者が相互干渉を起すためには一定時間以内でなければならないのであつて、この時間は Antigen Compléte の方が短い。

次に上述の場合の干渉性反応体を被干渉性反応体とし、被干渉性反応体を干渉性反応体としてみても、同様な現象が認められる。即ち、例えば、充分量の Antigen Compléte を使用して最初より適応せしめ、

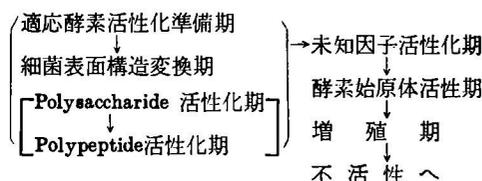
途中 Ribo 核酸を加えると、Antigen Compléte による適応酵素活性化は起つてこない。又逆にしても同じである。これにも亦時間が問題であつて、後から入れる干渉性反応体は一定時間以内でなければ干渉しない。その時間は上述の場合と一致する (第9図)。

この様に両物質は互いに干渉を起すのであるが、この干渉を起すためには一定の時間的制限があるが、これは第2編で述べた様に表面結合水が増加する時間であつて、その量が極値に達した後では、干渉し得ないのである。この現象の本質は本編其のIIの毒素産生における干渉現象と共に述べる事とする。

以上、本項までで適応酵素に関する記述を終るわけであるが、透電スペクトル、Polarograph 及び本編の実験結果より適応酵素産生過程は次の様に分類するのが適当と思われる。

この内、適応酵素活性化準備期及び不明因子活性化期は時間的に極く短い。

適応酵素活性化方向決定期 (細胞表面期)



尚、以上の実験に於て振盪時間が比較的長時間にわたるため、分解産物その他に適応した現象ではないかと疑われる場合もあるから、これに対しては次の点に留意した。1) 遠洗洗滌後、該基質に適応している事。2) 逐次適応をなしている事。3) 酸素消費量。4) 菌数が増えていない事。5) 他の類似構造の基質に適応していない事。

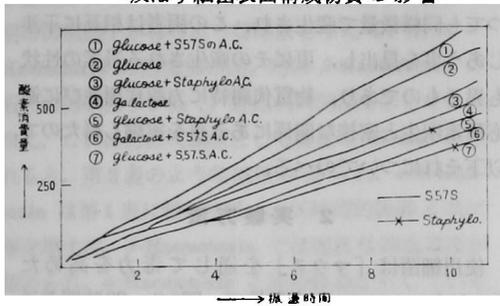
## 6 細菌表面構成物質の物質代謝に及ぼす影響

適応酵素産生に対して独特の反応体として作用する細菌表面構成物質は他の一般物質代謝即ち Constitutive enzyme に対しても一定の生理作用をもつている事が次の実験で明らかにされた。

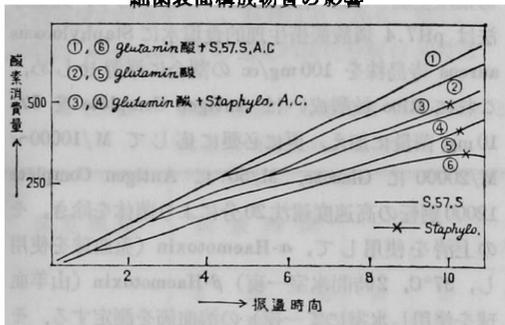
使用菌種は上述と同じである。基質は Glucose, Galactose, Glutamin 酸, Arginin, Histidin, Tyrosin, Glycine で濃度  $M/50$ ,  $0.5\text{cc}$  を使用した。表面構成物質は Antigen Compléte で  $10\gamma/10\text{mg}$  菌量に使用したものである。実験方法は上述と同じく、Warburg 検圧法  $37^\circ\text{C}$  で行なつた。

これらの実験結果は第10図~第12図の様であつて、

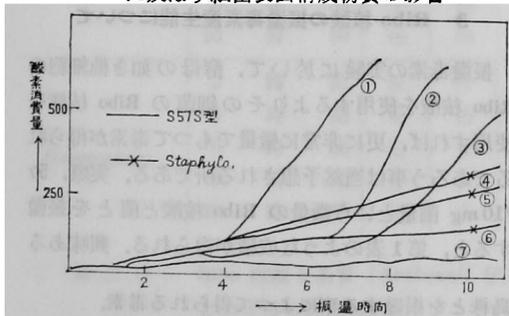
第十四図 Glucose 及び Galactose の分解に及ぼす細菌表面構成物質の影響



第十一図 Glutamin 酸の酸化分解に及ぼす細菌表面構成物質の影響



第十二図 Asparagin 及び Histidin の酸化分解に及ぼす細菌表面構成物質の影響



- ① Asparagin + S. 57 S + S. 57 S の Antigen Compléte
- ② Asparagin + S. 57 S
- ③ Asparagin + S. 57 S + Staphylo. (寺島) の A. C.
- ④ Histidin + Staphylo + Staphylo の A. C.
- ⑤ Histidin + Staphylo
- ⑥ Histidin + Staphylo + S 57 S の A. C.
- ⑦ Histidin + S 57 S

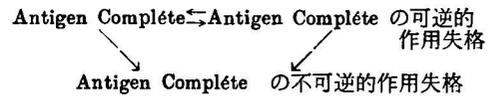
同一菌よりとつた Antigen Compléte はその菌のこれ等基質の分解に促進的に作用する。ただ、S. 57 S 型菌で Galactose の分解には反対に抑制的に働いている。又、他菌種より、即ち Staphylococcus aureus 寺島株の Antigen Compléte を S57S 型菌のこれら基質の分解の場合に加えると反対に抑制する。即ち細菌の表面構成物質は自己の Constitutive enzyme

には(ある場合を除いて)促進的に、他菌の Constitutive enzyme には抑制的に作用するのではないかと思われる。

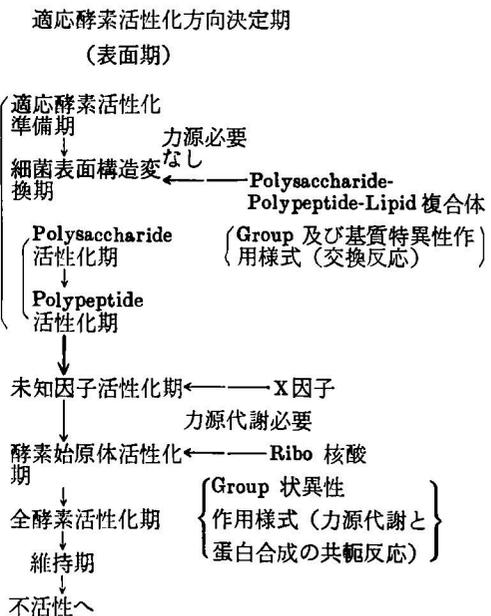
## 7 結 論

細菌表面構造と適応酵素との関係を生理化学的に追求し、次の様な結論が得られた。

- 1) Antigen Compléte (Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体) は強力な適応酵素活性化能を有する。但し、他の菌種のものには作用しない。
- 2) Ribo核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体には適応酵素活性化能がない。
- 3) Antigen Compléte の階段的分解物、Polysaccharide-Polypeptide 複合体は Antigen Compléte よりも更に強い適応酵素活性化能を有し、Polypeptide I は僅かに之を有し、Polypeptide II, Polysaccharide, Lipid は之を有しない。又この結果を分子構造論的に考察した。
- 4) 有酸素状態でも、無酸素状態でも、細菌表面の適応的活性化は起る。
- 5) Antigen Compléte 熱変性による適応酵素活性化能の失格と回復は次のようである。



6) 適応酵素産生の過程は次の様に結論される。





事に Ribo 核酸のみ振盪した場合には、 $\beta$ -Haemotoxin が産生されないような成績が得られ、むしろ何か不明の抑制因子があるような印象を与える。更に  $\alpha$ -Haemotoxin の溶血価の高い時は  $\beta$ -Haemotoxin の場合の抑制因子が低く、逆比例的関係を示している。次に、これに力源代謝源として微量の Glucose を入れると、第2表のような成績が得られ、 $\alpha$ -Haemotoxin は第1表に較べて低く、又時間的経過と共に漸次増すが、 $\beta$ -Haemotoxin では強烈な溶血毒素が認められ、 $\alpha$ -Haemotoxin と逆の経過を示している。次に第1表の場合に基質として Anthranil 酸を加えると、第3表のように Anthranil 酸を加えない場合と同程度の溶血を示し、経過は逆である。但し、この時は Anthranil 酸の適応的酸化分解は非常に

遅れる。次に第3表の場合に Glucose を加えると、 $\alpha$ -Haemotoxin では更に低い溶血価を示し、その経過は  $\beta$ -Haemotoxin と反対で、又  $\beta$ -Haemotoxin は4時間で強烈な溶血価を示し、更に後になると漸次低下する事が解る(第4表)。これ等と同じ条件で、Warburg 検圧法に依り酸素消費量を測定した成績は第1図のようである。これ等の成績を説明すると、先づ力源代謝があると、それに伴つて強烈な  $\beta$ -Haemotoxin が出現し、 $\alpha$ -Haemotoxin は逆に出現し難くなる。然るに、力源代謝がないと、反対に  $\beta$ -Haemotoxin には未知の抑制因子が出現し、 $\alpha$ -Haemotoxin は力源代謝がある場合と比較して強く出現する。基質 Anthranil 酸の適応的分解とは余り関係は認められない。又第2編第4編で述べた表

第二表 Ribo 核酸と力源代謝 (Glucose) と Staphylococcus aureus 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

毒素種類	振盪時間	稀 積 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
$\alpha$ -Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
	4 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
	6 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	8 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
	10 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
$\beta$ -Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+
	4 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
	6 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
	8 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-
	10 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+

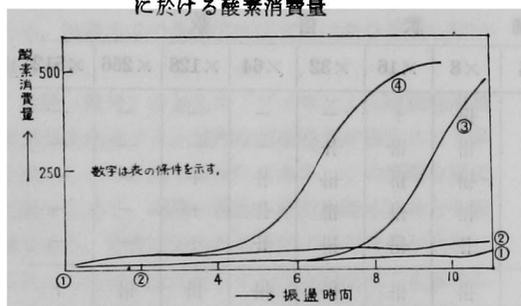
第三表 Ribo 核酸と基質 (Anthranil 酸) と Staphylococcus aureus 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

毒素種類	振盪時間	稀 積 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
$\alpha$ -Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-
	4 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
	6 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	8 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
	10 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
$\beta$ -Haemotoxin	2 時 間	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-
	4 時 間	-	±	±	+	±	-	-	-	-	-	-
	6 時 間	-	±	+	卅	+	±	-	-	-	-	-
	8 時 間	-	±	+	卅	+	-	-	-	-	-	-
	10 時 間	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	-

第四表 Ribo 核酸と力源代謝 (Glucose) と基質 (Anthranil 酸) と *Staphylococcus aureus* 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

毒素種類	振盪時間	稀 積 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
α-Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-
	4 時 間	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-
	6 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-
	8 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-
	10 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
β-Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	卅	-
	4 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
	6 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	8 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
	10 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-

第一図 Ribo 核酸による振盪毒素産生過程に於ける酸素消費量



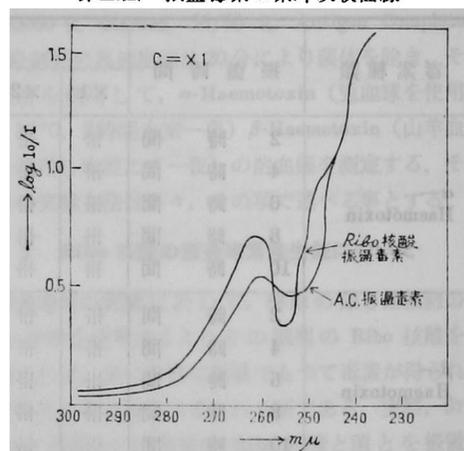
面構造の適応過程に於ける変化とも直接関係なく、むしろ内部結合水の変化と一致している。即ち、力源代謝は蛋白合成と共軛反応をいとなみ、これに Ribo 核酸が作用するという上述の帰結からすると、Ribo 核酸によつて得られる毒素はかかる反応の結果菌体外に出て来るものと思われるのである。

また、この成績は一見二つの因子があり、互いに干渉しているのではないかとと思われる。というのは α-β-Haemotoxin が逆比例関係にあるからである。次にこの振盪液の上清の紫外吸収曲線の測定結果を示すと、第 2 図のように 2600Å に吸収極大が認められ、この吸光係数は β-Haemotoxin の溶血価と逆比例関係にあり、β-Haemotoxin がそれと平行関係にある事が解つた。即ち、核酸系の物質の存在が α-Haemotoxin と並行して出現している事が解るのである。ここにも、また 2 因子の存在が予想される。

#### 4 細菌表面構成物質の振盪毒素産生能について

*Staphylococcus Aureus* 寺島株より精製した Poly-

第二図 振盪毒素の紫外吸収曲線



saccharide-Polypeptide-Lipide-複合体を Ribo 核酸の場合と同様にして振盪毒素産生能を実験してみると第 5 ~ 第 8 表の成績が得られた。

特異な事に、この場合の溶血は Ribo 核酸と異つて血球破壊毒素と思われるような様相を呈し、溶血の弱い所では桃色、更に強くなると細かい褐白色の沈渣状で、色は褐色味強く、更に強くなると管底に褐白色の大きい沈渣物を生じ、上清は透明な褐赤白色である。即ち、Ribo 核酸の場合と全然異つた毒素の存在を疑はしめるものである。条件と成績の関係は次のようである。Antigen Complète のみでは α-, β-Haemotoxin 共に証明されない。これに力源代謝源を加えると α-, β-Haemotoxin 共に出現するが、非常に低い値であり、α-, β-Haemotoxin の経過は逆である。更に Antigen Complète と基質 Anthranil

第五表 Antigen Complete と *Staphylococcus aureus* 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

毒素種類	振盪時間	稀 積 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
α-Haemotoxin	2 時 間	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	4 時 間	-	±	++	+	±	±	-	-	-	-	-
	6 時 間	-	±	++	+	+	±	-	-	-	-	-
	8 時 間	-	±	++	+	±	±	-	-	-	-	-
	10 時 間	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-
β-Haemotoxin	2 時 間	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	4 時 間	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	6 時 間	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	8 時 間	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	10 時 間	-	±	++	+	+	±	-	-	-	-	-

第六表 Antigen Complete と力源代謝 (Glucose) と *Staphylococcus aureus* 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

毒素種類	振盪時間	稀 積 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
α-Haemotoxin	2 時 間	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
	4 時 間	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
	6 時 間	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
	8 時 間	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
	10 時 間	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
β-Haemotoxin	2 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
	4 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-
	6 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
	8 時 間	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-
	10 時 間	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-	-

第七表 Antigen Complète と基質 (Anthranyl 酸) と *Saphylococcus aureus* 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

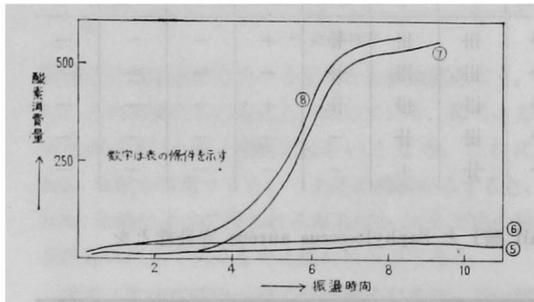
毒素種類	振盪時間	稀 積 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
α-Haemotoxin	2 時 間	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-
	4 時 間	-	±	++	+	±	-	-	-	-	-	-
	6 時 間	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	8 時 間	-	±	+	+	±	-	-	-	-	-	-
	10 時 間	-	±	+	±	-	-	-	-	-	-	-
β-Haemotoxin	2 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
	4 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
	6 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
	8 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
	10 時 間	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-

第八表 Antigen Complète と力源代謝源 (Glucose) と基質 (Anthranil 酸) と Staphylococcus aureus 寺島株とを振盪する事によつて得られる物質。

毒素種類	振盪時間	移 釈 倍 数										
		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512	
α-Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	
	4 時 間	卅	卅	卅	卄	+	-	-	-	-		
	6 時 間	卅	卅	卅	卄	卄	+	-	-	-		
	8 時 間	卅	卅	卅	卄	卄	卄	-	-	-		
	10 時 間	卅	卅	卅	卄	卄	卄	卄	+	-		
β-Haemotoxin	2 時 間	卅	卅	卅	卄	卄	卄	卄	卄	+	-	
	4 時 間	卅	卅	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	-	
	6 時 間	卅	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	-	
	8 時 間	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	-	
	10 時 間	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	卄	+	-	

酸を加えると α-Haemotoxin は証明されず、β-Haemotoxin は割合強い値を示し、2 時間で極大を示す。更にこれに力源代謝源を加える α-Haemotoxin も現し β-Haemotoxin は一つの極大を示して更に強い値を示している。この場合の酸素消費量は第 3 図のようである。

第三図 細菌表面構成物質による振盪毒素産生過程に於ける酸素消費量



この成績と第 2 編、第 4 編の成績を合わせて考えると、Antigen Complète による振盪毒素は特に力源代謝と深い関係にあると思われぬ。むしろ、表面構造の変化とは密接に関係しているものと考えられる。この場合にも、Ribo 核酸の場合と同じく 2 因子の存在を思わせる。

次にこの振盪液の上清の紫外吸収曲線は殆んど全く Ribo 核酸の場合と反対であつて、β-Haemotoxin の溶血値は 2600Å の吸収係数と比例し、α-Haemotoxin では逆比例する。

次に Ribo 核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipid-複合体を使用して同じように実験してみると、

非常に低い毒素産生能を示しその傾向は大体 Antigen Complète の場合と一致すると思われる (第 9 表)。これは適応酵素活性化能と比較して興味ある成績であり、僅かに現われる毒素は力源代謝のみによつて起るのであつて、Ribo-核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipid-複合体にはその能力がないものと思われる。

##### 5 指盪毒素産生に於ける Ribo 核酸と細菌表面構成物質との干渉現象について

Ribo 核酸と細菌表面構成物質はその適応酵素活性化能に於いて著明に干渉し合う事は上述のようであるが、振盪毒素産生に於いても同様の干渉現象が認められるのである。

例えば、Ribo 核酸と Glucose と Anthranil 酸と共に菌を 4 時間振盪後、遠心沈澱によつて磷酸緩衝生理的食塩水で、2 回菌を洗滌後再び Ribo 核酸等同じ条件にもどして振盪すると、始めと同じ溶血値を示す。第 3 回振盪迄は同じ値を示すが、第 4 回以後は値が低くなり、第 5 回では証明できなくなる。

これと同様の事は Antigen Complète と Anthranil 酸と Glucose という条件でも認められる。併し、Ribo 核酸混液の次に Antigen Complète 混液を使用すると溶血値が著しく低くなる。即ち著明に干渉し合うのである。これを色々と組合せて行なつて見ると、第 10 表の成績が得られる。今第 1 回に使用する混液を干渉性混液、第 2 回に使用する別離の混液を被干渉性混液と命名する。と干渉性混液の後更に 2 回被干渉性混液を使用すると、第 2 回目の場合より

第九表 Ribo 核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipide-複合体 R. P. P. T と *Staphylococcus aureus* 寺島株とを振盪する事によつて得られる毒素。

振盪条件	毒素種類	振盪時間及び稀釈倍数				
		1時間	4時間	6時間	8時間	10時間
R. P. P. L+菌	$\alpha$ -	× 0	× 0	× 0	× 0	× 0
	$\beta$ -	× 0	× 0	× 0	× 0	× 0
R. P. P. L+glucose+菌	$\alpha$ -	× 2	× 4	× 4	× 8	× 8
	$\beta$ -	×32	×32	×32	×32	× 2
R. P. P. L+Anth. 酸+菌	$\alpha$ -	× 0	× 0	× 0	× 0	× 0
	$\beta$ -	× 0	× 0	× 0	× 0	× 0
R. P. P. L+Anth. 酸+glucose+菌	$\alpha$ -	× 4	× 8	×16	×32	×64
	$\beta$ -	×32	×32	×32	×64	×32

第十表 振盪毒素産生に於ける Ribo 核酸と Antigen Complète との干渉現象 (其の I)

条件変更回数	振盪条件	完全溶血倍数稀釈数	
		$\alpha$ -Hae-motoxin	$\beta$ -Hae-motoxin
Ribo 核酸のみで条件変更を行った場合			
1	Ribo 核酸+G+A+菌	×64	×256
2	Ribo 核酸+G+A+菌	×64	×256
3	Ribo 核酸+G+A+菌	×64	×128
4	Ribo 核酸+G+A+菌	×16	× 32
A. C のみで条件変更を行った場合			
1	A. C+G+A+菌	× 4	×64
2	A. C+G+A+菌	× 4	×64
3	A. C+G+A+菌	× 4	×64
4	A. C+G+A+菌	× 1	×16
Ribo 核酸 (干渉性) と A. C. (被干渉性) の場合			
1	Ribo 核酸+G+A+菌	×64	×256
2	A. C+G+A+菌	× 0	× 4
3	Ribo 核酸+G+A+菌	×16	× 32

但し G=glucose  
A=Anthranil 酸  
菌=*Staphylococcus aureus* 寺島株

も、第3回目の方が価が高く恢復して来る事を示す。以上の事は  $\alpha$ -Haemotoxin 何れの場合も認められるのである。

以上の成績は次のように考察すると妥当であると考えられる。即ち菌体表面には Ribo 核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipide 複合体がある。又

第十表 振盪毒素産生に於ける Ribo 核酸と Antigen Complète の干渉現象 (其の II)

条件変更回数	振盪条件	完全溶血倍数稀釈数	
		$\alpha$ -Hae-motoxin	$\beta$ -Hae-motoxin
Ribo 核酸 (干渉性) と A. C. (被干渉性) の場合及びその恢復。			
1	Ribo 核酸+G+A+菌	×64	×256
2	A. C+G+A+菌	× 0	× 4
3	A. C+G+A+菌	×32	× 32
A. C (干渉性) と Ribo 核酸 (被干渉性) の場合			
1	A. C+G+A+菌	× 4	× 64
2	Ribo 核酸+G+A+菌	× 8	× 8
3	A. C+G+A+菌	× 0	× 16
A. C (干渉性) と Ribo 核酸 (被干渉性) の場合及びその恢復			
1	A. C+G+A+菌	× 4	× 64
2	Ribo 核酸+G+A+菌	× 8	× 8
3	Ribo 核酸+G+A+菌	×32	× 64

但し G=glucose  
A=Anthranil 酸  
菌=*Staphylococcus aureus* 寺島株

内部には Ribo 核酸がある。前者の Ribo 核酸分子と残余複合体分子とは並行に並んで結合して居り、その結合は一部分イオン結合残部は主として共有結合であると考えられ (上述)、またこの関係は Polysaccharide 分子と残余複合体との成立すると思われる。後者については、未だ実験的に成功していない。これ等表面にある両成分と内部の Ribo 核酸とはその細菌の性質上一定の比率を有している事が必

要であると解釈する。然るに今 Ribo 核酸と振盪すると何らかの機転で、菌体内部に Ribo 核酸が入ると並行を保つために、菌体表面にある Ribo 核酸系物質も菌体外に遊離する。併し、これに伴つて多少の非核酸系物質も出て来る事は考えられるが、抑制因子のため明らかでない。而るに、これに力源代謝を与えると、力源代謝と蛋白合成との間に核酸が働くために、菌体内部の Ribo 核酸は費され、平衡が破れ、菌体表面の Ribo 核酸も内部に入つて費される。これと平衡を保つために、菌体表面の非核酸系物質が遊離し、これが即ち非核酸系 (Polysaccharide 系) 毒素である。

次に Polysaccharide-Polypeptide-Lipide 複合体の振盪毒素ではその溶血態度より異つた毒素が出ると考えられる。それは一種の破壊毒素である。而も  $\beta$ -Haemotoxin の方が核酸系、 $\alpha$ -Haemotoxin の方が非核酸系である。先づ、核酸系毒素の方から考えると、これは明らかに適応酵素産生過程に於ける表面構造の変化と関係がある。而も表面構造の変化は表面の Ribo 核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipide 複合体より Ribo 核酸の除去、即ち Polypeptide 露出と考えられる。即ち、Ribo 核酸系毒素が出て来るという事になるのである。然し、同時に全体の平衡が破れるために特に内部の Ribo 核酸が過剰となり、これも外に出る。又、Polysaccharide 系も外に同時に出て来て、 $\alpha$ -Haemotoxin となる。

然らば、何故これ等両者に干渉現象が現われるのであろうか。今、例を Ribo 核酸干渉性、Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体を被干渉性とする場合にとると、Ribo 核酸のために内部構造は明かに変化している。即ち、Ribo 核酸のために或る一つの状態より、他の状態に変化している。

これは第 2 編で述べた一種の Sol $\rightarrow$ 他 Sol 変化である。然るに、Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体を加えると、この場合は細胞が Ribo 核酸の場合と異つた状態にならなければならない。前に一旦他状態にあるため今度他の状態にもち来すためには異常な変化をしなければならなくなる。而して、細菌はある 1 つの正常の状態より他状態へ更に他の状態に変化するためには必ず正常の状態に復する事が必要である (もしこれがなければ細胞はいくらでも変化し、細胞の特性は失われる) とするならば、一旦正常状態より他の状態に変化している時は更に他

の状態に変化する場合、正常状態にある時より変化し難いのは当然であろう。このような事が干渉現象の本質であると考えられる。

## 6 結 論

細菌表面構造と振盪毒との関係を研究し次の結論が得られた。

1) 細菌とその Ribo 核酸とを振盪すると、溶血毒素が得られる。この毒素は二つの毒素があり一つは核酸系の他は非核酸系 Polysaccharide 系毒素であり、両者が条件によつてその出て来る比率が異なる。力源代謝があると、後者は大量に、これがないと前者が大量に得られる。而して、この両者の毒素産生と適応酵素産生とは直接に関係がない。唯、力源代謝と蛋白合成の共軛反応を介して関係する。かかる Ribo 核酸毒素の得られる機転を細菌の構造と関連して考察した。

2) 細菌とその Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体とを振盪すると Ribo 核酸の場合と異つた一種の破壊毒素が得られる。この毒素にも二種あり、一つは核酸系、他は非核酸系の Polysaccharide 系毒素である。これ等の毒素は適応酵素過程に伴う表面構造の変化と密接な関係があり、力源代謝とは余り関係がない。而してこの機転は適応酵素産生に於ける細菌表面構造の活性化と関係して出て来るものである事を考察した。

3) Ribo 核酸-Mg-Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体と菌とを振盪すると、少量の毒素が得られる。これは前 1), 2) 者の合せたような性質を示す。

4) Ribo 核酸および Polysaccharide-Polypeptide-Lipid 複合体振盪毒素産生は相互に干渉現象を示しまたその回復も認められる。

終りに臨み、終始、ご指導とご鞭撻を戴いた村上教授に深謝する。なお、実験の補助を願つた奥野孝世助手に感謝する。

また、本研究は文部省科学研究費の補助の下に行なつたものである。

本研究は第 3 回日本細菌学会中四国地方支部総会、第 462 回岡山医学会例会に於いてその概要を発表した。

## 文 献

- 1) Stephenson, Yudkin, *Biochem. J.*, **30** (1936) 506. Stephenson, Yudkrn, *Cale; Biochem, J.*, **31** (1937) 1311.
- 2) Spiegelman; *J. Gener, Physiol.*, **31** (1947) 27.
- 3) 須田正己; *自然*, Vol. 5. No. 6 (1950) 32; Vol. 5, No. 7 (1950) 18.
- 4) 須田正己, 早石 修, 尾田義治; *酵素化学シンポヂユウム第I集* (1949) 73.
- 5) Lewis; *J. Bact.*, **28** (1934) 619.
- 6) 尾田義治, 竹田義郎; *生化学*, **22** (1950) 256.
- 7) 藤井; *動物細胞の増殖と分化* (1948) 38, 99.
- 8) 須田正己; *酵素化学シンポヂユウム, 第III集* (1950).
- 9) 岡本 肇; *gap. Jr. Med. Sci.*, **IV. 12** (1940) 167.
- 10) 細谷省吾; *実験医学雑誌*. **25**卷 (1941) 484.
- 11) 林 霏義, 細谷省吾, 江上不二夫; *日本細菌学雑誌*. **4**卷 (1949) 181.
- 12) 林 霏義; *日本細菌学会関東支部総会記録* (1950) 4.
- 13) 江上不二夫; *科学*, **19** (1949) 296.
- 14) Burnet; *F. M.; J. Path. Bact.*, **33** (1930) 1.

---

 Studies on surface structures of the bacterial cell.

 Report V. Physiolo-chemical studies on surface structures  
 of the bacterial cell.

Kazumi Taguchi, M. D.

Department of Bacteriology, Okayama University Medical School

In the first item of this report, coordination of the surface substance with activity of adaptation enzyme has been studied. Purified polysaccharide-polypeptide-lipid compound had strong activity to promote the activity of adaptation enzyme, although ribonucleic acid-Mg-polysaccharide-polypeptide-lipid compound did not show any action on enzyme. Furthermore, this activity was strongest in polysaccharide-polypeptide compound. However, polypeptide or lipid had no such activity. Consequently, it was concluded that only the condition in which polysaccharide molecules were vailed on the surface of bacterial cell against both of intracellular and extracellular circumstances made it to promote the enzyme action.

In the second item, the author described the bacterial toxin obtained by shaking and its relation to surface structures of the bacterial cell. By shaking bacterial cell with ribonucleic acid purified from the same kind of bacteria, there were obtained two kinds of hemolytic toxin, e. g. one contained ribonucleic acid and other contained polysaccharide. When energy substance, such as glucose, was added sufficiently, latter was predominantly produced. On the contorary, when the mixture was shaken without energy substance, former was predominantly produced. Thus, intimate relation with energy metabolism was found in the production of this kind of toxin.

By shaking bacterial cell with polysaccharide-polypeptide-lipid compound, there obtained another kind of toxin which showed no intimate relation with energy metabolism.

---