

レプトスピラの代謝に関する研究

第 2 編

レプトスピラ・ヘブドマーデイスの呼吸に就いて

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上 栄教授)

泉 康 治

〔昭和 33 年 10 月 23 日受稿〕

目 次

- | | |
|--|--|
| I. 緒 言
II. 遠沈操作による呼吸に及ぼす影響
III. 酵素活性と培養日数の関係
IV. 各種基質に依る呼吸について
V. アミノ基転移及応 | VI. 呼吸に及ぼす各種阻害剤の影響
VII. 呼吸に及ぼす金属イオンの影響
VIII. 総括及び考案
IX. 結 言 |
|--|--|

I 緒 言

稲田, 井戸¹⁾等に依, 「レ」の純培養に成功して以来, 「レ」の栄養要求²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾の詳細について検索が行われているが, 今だ完全合成培地への段階に達していない。又 Chang⁶⁾, Marshall⁷⁾は物質代謝の一面である酸素呼吸の測定を行い, その定量的測定に成功し, 吾が国に於いて桑島⁸⁾は「レ」の酸素呼吸を確認した。

然し細菌の酸素呼吸測定に比し, 「レ」の測定は進まず, 酸素呼吸を行うと云う一端の報告に接するにすぎない。

此の事は栄養要求の複雑(血清の添加なくして培養は不可能)と云う「レ」集菌の困難がしからしめている事である。

著者は, この点について, 種々の試みを行い, 実験操作の簡易, 又「レ」の自然の状態に於いて観察を行うと云う事に留意し, 前編に於いて報告した培養成績良好な牛血清加 Korthof 培地に, L-hebdomadis を大量培養, 遠沈により集「レ」を行い, 「レ」の酵素分布状態を知る為 Warburg 検圧計により, 酵素消費量を測定し, 2, 3 の知見を得たので報告する。

II 遠沈操作による呼吸に及ぼす影響

実験材料及び方法

1) 使用「レ」

教室保存の L-hebdomadis を使用した。

非働化した牛血清を10%の割に加え, 又家兎赤血球を 0.5%の割に加えた Korthof 培地 (pH 7.2~7.4) に 27°C~30°C で培養保存した。

培養 4日目「レ」

培養 11日目「レ」

のものを用い 2000 r. p. m 10分で軽く遠沈を行い, 培養上の夾雑物を除き, 上清を 8000 rpm 10分 (0°C~4°C) 遠沈, 管底の「レ」を少量の M/50 磷酸緩衝液 (0.85% 食塩添加) pH 7.2に浮游し, この操作を繰り返えし, 集めた「レ」を洗滌の目的で, M/50 磷酸緩衝液を元の培地の 1/20 になる迄加え, 再び遠沈 (8000 rpm 15分) 沈渣を適量迄に磷酸緩衝液を加え浮游した。遠沈操作によつて, 呼吸に及ぼす影響を見る目的で, この操作を基準操作として, 遠沈速度, 洗滌回数, 氷室に一夜静置, 等による集「レ」法, 洗滌方法の相異下の静止「レ」を比色計にて (10倍稀釈した「レ」が) 40%透過度となる様に調製し, 同濃度「レ」浮游液をもつて実験を行った。

2) 基 質

基質は総て再蒸溜水に溶解し (最終濃度が M/100) pH 7.2 に修正して用いた。

3) 呼吸量の測定

Warburg 検圧計を Umbreit⁹⁾ の常法に従つて用いた。容器内容は, 副室に10% KOH, 0.3ml を入

れ呼吸による炭酸ガスを吸収せしめ、菌液は2.0 ml, 基質は0.3 ml で全量を3.3 ml となる様に補正して実験を行った。又常に endogenous. respiration を対照とし、各基質に対する測定値からこれを引いた値を以て酸素量の測定値とした。

4) 定量方法

残液中の糖の定量は, Sumner¹⁵⁾ 法, 焦性ブドウ酸は清水¹⁶⁾ 法, 乳酸は石井¹⁷⁾ 法によつた。

実験成績

牛血清 Korthof 培地に4日, 11日培養を行つた「レ」を洗滌回数, 遠沈速度の相異下で実験を行つた所図(1), (2) に示す成績を得た。

図1 基質グルコース (M/100)

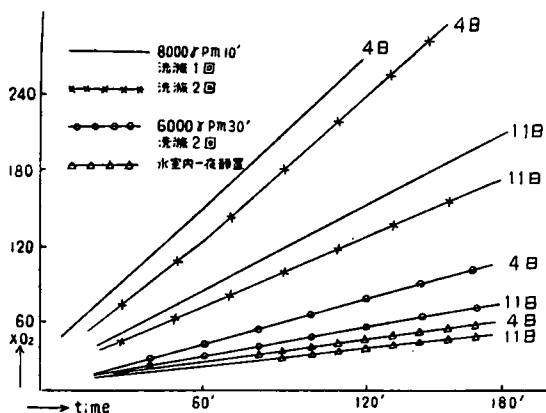
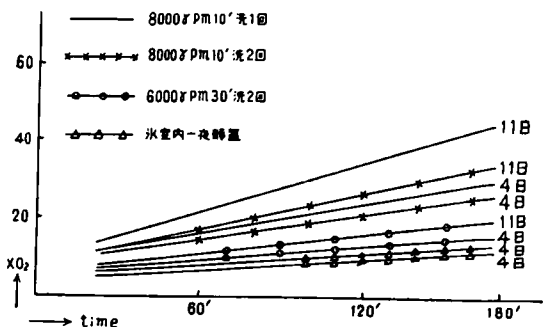


図2 自己呼吸



図の如く 8000 rpm 10分集「レ」を洗滌1回した静止「レ」が, 4日「レ」, 11日「レ」共に酸素消費が大であつた。又この成績に於いて, 氷室内一夜静置後呼吸測定を行うと, 細菌では, 呼吸量に差が見られないが, 「レ」に於いては, その低下は, 前日に比し著しい事, 又培養基内の「レ」を完全に集「レ」すべく, 400000 rpm 10' の操作を行つて集「レ」した所, その呼吸は1, 2の基質を除いては呼吸が低下し, 自己呼吸に劣る結果を示した(表略)。

自己呼吸の点に就いて, 8000 rpm 10' で集「レ」した後1, 2, 3回と洗滌を行い観察した所, その成績に著差は見られなかつた。尚遠沈操作, Warburg 検圧計3時間観察後「レ」を暗視野にて観察したが, 3時間後「レ」がやや長くなつたのを見たが, 数及び運動は集「レ」前と全く変らなかつた。

此等の成績より以下の実験に於いて集「レ」洗滌方法は, 標準操作によつて行うこととした。

III 酵素活性と培養日数の関係

実験材料及び方法

前章により自然の状態での呼吸量を測定し得る事を知つたので, 基準操作により集「レ」を行い培養日数相異下の「レ」の呼吸を測定した。

実験成績

「レ」の発育各期の酵素活性を観察するため基質として, グルコース, コハク酸, 焦性ブドウ酸, 醋酸, グルタミン酸, アスパラギン酸, 乳酸の7種の基質の酸素消費量を測定した。この本実験の前に「レ」の発育必須栄養素である血清, 及び培地成分のペプトン, 血球について呼吸を測定した。

表(1)の如く, 血清, 血球共に旺盛な酸素消費量を示した。又ペプトンを用いた呼吸量も高い。

又血清とグルコース, 血清と乳酸, 血清と焦性ブドウ酸等, 組合せの測定を合わせて観察した所, その活性は著しく高い。

又自己呼吸は180分観察を行つたが, その値は著しく低い。

予備実験で 培養4日目 「レ」
培養11日目 「レ」
培養25日目 「レ」

の活性の差異が認められたが, 各基質に対しては表(3)の如く, 培養4日目「レ」に於いてグルコースの酸素消費量が非常に高く, 次いでグルタミン酸, 乳酸であり, 醋酸, 焦性ブドウ酸, コハク酸, アスパラギン酸による酸素消費量は殆んど等しい。次に培養11日目「レ」に於いては, 焦性ブドウ酸が最も高い消費量を示し, 乳酸, グルタミン酸, グルコースが殆んど等しく, 醋酸, アスパラギン酸の順となる。

培養25日では, 醋酸が高く, グルコース, 焦性ブドウ酸, 乳酸, グルタミン酸, 次いでコハク酸, アスパラギン酸であるが, 総体的に酵素活性能は著しく低下を示した。

特に興味のあるのは, 培養日数相異下に於いて,

表 1

基 質	培養 日数	振 盪 時 間		
		60'	120'	180'
なし	4	12	31	41
	11	17	36	48
	25	20	41	50
家 兎 血 清	4	127	190	×
	11	146	241	×
	25	89	122	153
牛 血 清	4	105	157	207
	11	112	180	221
	25	69	89	145
血 球	4	62	92	128
	11	74	111	145
	25	31	72	119
ペ プ ト ン	4	105	166	192
	11	112	182	×
	25	45	87	141
牛血清ペプトン	4	146	201	×
	11	184	×	×
	25	126	191	231
牛血清・血球	4	107	151	196
	11	106	196	×
	25	65	121	175
家兎血清・ペプトン	4	181	×	×
	11	201	×	×
	25	111	145	181

表 2

基 質	培養 日数	振 盪 時 間 (XO ₂)		
		60'	120'	180'
牛 血 清	4	105	157	207
	11	112	180	221
	25	61	142	194
牛 血 清 グ ル コ ー ス	4	246	×	×
	11	169	×	×
	25	121	199	200
牛 血 清 乳 酸	4	126	211	×
	11	191	×	×
	25	101	146	196
牛 血 清 焦 性 ブ ド ウ 酸	4	130	225	×
	11	201	×	×
	25	106	161	198

牛 血 清 コ ハ ク 酸	4	101	179	×
	11	132	201	×
	25	94	111	136
牛 血 清 醋 酸	4	121	169	×
	11	142	211	×
	25	89	112	151
牛 血 清 ア ス パ ラ キ ン 酸	4	120	172	×
	11	142	215	×
	25	91	142	169
牛 血 清 グ ル タ ミ ン 酸	4	186	×	×
	11	191	×	×
	25	101	126	161

表 3

基 質	培養 日数	振 盪 時 間		
		60'	120'	180'
なし	4	12	28	36
	11	15	34	42
	25	18	37	48
グ ル コ ー ス	4	153	265	×
	11	89	188	219
	25	62	87	141
乳 酸	4	68	174	208
	11	86	166	236
	25	41	96	138
焦 性 ブ ド ウ 酸	4	63	161	219
	11	97	217	×
	25	40	81	111
コ ハ ク 酸	4	54	138	191
	11	71	147	209
	25	29	41	86
醋 酸	4	56	128	196
	11	67	152	216
	25	21	41	72
ア ス パ ラ キ ン 酸	4	56	121	187
	11	65	147	211
	25	28	65	96
グ ル タ ミ ン 酸	4	81	197	×
	11	85	207	×
	25	38	96	128

グルコースを基質とした消費量を比較すると、培養4日「レ」が著しく高い活性を示し、次いで11日、25日「レ」と低下する。

然し他の基質では培養11日「レ」の酵素活性は他より高い。これは予実験で示した血清、血球、ペプトンに対する酸素消費量において見られたと同様な傾向であつた。又血清とグルコース、血清と乳酸、血清と焦性ブドウ酸と組合せた場合も、血清と乳酸、焦性ブドウ酸では、11日「レ」が著しく高く、血清とグルコースの組合せでは、4日「レ」が、著しく高い酸素消費量を示した事と一致した結果である。尚培養4日「レ」、11日「レ」のグルコース、焦性ブドウ酸を基質として振盪後、グルコース焦性ブドウ酸の消費及び、生成物を定量比較した所、4日「レ」のグルコース消費はやや高く、又血清とグルコースを組合せた残液は、著明に消費、生成を示した。焦性ブドウ酸については、呼吸量の高い11日「レ」が、消費、生成とも著しい。

表 4

基 質	培養日数	消費・生成量		
		消費量 グルコー ス μM	生 成 量 焦性ブド ウ酸 μM	乳 酸 μM
グルコース	4	15 μM	3.75	2.8
	11	8 μM	3.0	1.88
牛血清 グルコース	4	20	4.15	2.8
	11	15	3.25	1.88
焦性ブドウ酸	4	—	10	1.88
	11	—	20	1.88
牛血清 焦性ブドウ酸	4	—	15	1.88
	11	—	25	1.88

IV 各種基質に依る呼吸について

前章に於いて「レ」の培養日数と酵素活性との関係を検討した。此処では「レ」の酵素分布状態を知るため糖類、カルボン酸、アミノ酸の各基質について酸素消費量を観察した。

1) 糖 類

培養11日を用い、其の酸素消費量を180分迄測定した(表5)。

即ちラムノーゼ、キシロース、リボース、グリコーゲン、イヌリン、ズルチッドの酸素消費量は、自己呼吸と差が見られなかつた。又実験時間を5時間迄延長したが、所謂適応現象は見られなかつた。

表 5

基 質	振 盪 時 間		
	60'	120'	180'
arabinose	29	61	121
glucose	72	151	196
sucrose	19	42	63
rhamnose	15	40	61
ribose	17	36	51
galactose	45	102	171
maltose	65	130	181
lactose	15	37	59
mannose	35	73	121
inuline	29	51	89
sorbit	41	87	131
mannit	50	99	141
durcit	10	36	55
dextrine	13	32	59
glyoegen	16	39	51
glycerin	12	40	70
xylose	16	42	71
Endogenous respiration	12	39	51

此事から、「レ」に於いて、グルコース、マンノース、ガラクトース、アラビノースを分解する酵素系の存在する事を知つた。

2) カルボン酸

前記糖類同様実験を行つた。

表(6)に示した如く、乳酸、グリセロリン酸、焦性ブドウ酸、コハク酸、 α -ケリグルタル酸、醋酸では著しい酸素呼吸が認められたが、フマル酸、リンゴ酸の酸素消費量は低く、自己呼吸との差は見られなかつた。

3) アミノ酸

使用基質のうち、グルタミン酸、アスパラギン酸、アラニンの酸素消費量は、糖類同様の強い活性を示した表(7)。

アミノ酸を基質とした場合、この3種以外に於いても、細菌同様、時間経過につれて僅かながら上昇を示した。

但し、例外としてシステインは、開始15分に、すでに他を圧した活性を示し、他種アミノ酸とは逆に時間経過による急激な上昇は見られない。

表 6

基 質	振 盪 時 間		
	60'	120'	180'
succinic acid	54	129	189
fumaric acid	29	101	140
acetic acid	56	128	196
pyruvic acid	93	161	219
gluconic acid	31	111	142
lactic acid	68	174	208
malic acid	19	72	107
citric acid	16	34	42
tartaric acid	15	31	40
glycerophosphoric acid	69	180	230
α -Ketoglutaric acid	62	181	231
malonic acid	15	30	41
oxalic acid	19	40	56
propionic acid	11	29	36
anthranilic acid	10	27	39
benzoic acid	14	31	41
Endogenous	12	29	38

表 7

基 質	振 盪 時 間		
	60'	120'	180'
l-asparagin 酸	56	121	187
l-glutamin 酸	81	197	×
dl-alanine	65	145	197
l-glycine	17	32	43
l-tryptophane	17	31	45
l-methio nine	54	116	165
l-cysteine	107	149	161
l-cystine	69	132	165
l-lysine	14	31	47
l-arginine	19	36	49
l-histigine	13	30	46
l-valine	14	35	43
l-leucine	16	32	45
l-phenylalanine	19	34	47
l-proline	21	37	49
dl-serine	11	30	40
l-tyrosine	14	31	39
endogenous	15	31	42

V アミノ基転移反応

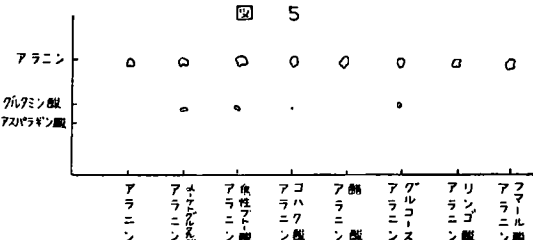
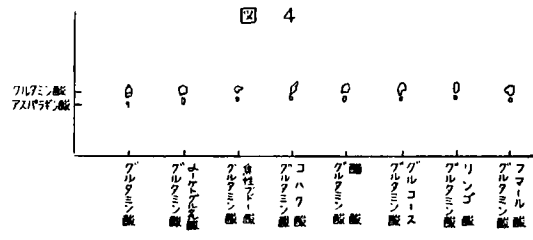
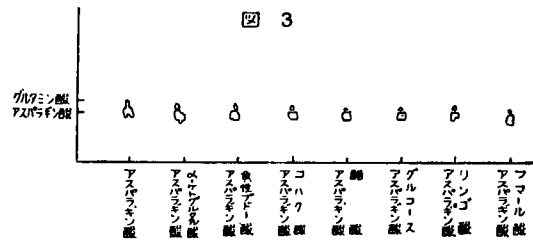
これは主として反応液の菌体除去後、濃縮した液について、ペーパークロマトグラフィーを行う事に

より追求した。

即ち、先に「レ」のアミノ酸を基質とした O₂ 消費を測定した。アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン及び脂肪酸を、種々の組合せのもとに「レ」の洗滌後磷酸緩衝液に浮遊したのを加え、一夜 37°C に放置を行つた後、10倍のアルコールを加え、氷室に静置後、濾過を行い「レ」を除去した後、磁製の蒸発皿に移し重湯煎上で蒸発させ、その濃縮液について、ペーパークロマトグラフィーを試みた。

実験成績

図 3, 4, 5, に示した様に、グルタミン酸→アスパラギン酸のアミノ基転移、又アスパラギン酸→グ



ルタミン酸、アラニン→グルタミン酸のアミノ基転移反応も証明された。

然しアスパラギン酸→アラニン間の直接的アミノ基転移反応は証明されなかつた。

又脂肪酸と同様、グルコースとアミノ酸を組合せた所、脂肪酸と同様に新しい Spot を捉える事が出来た。

VI 呼吸に及ぼす各種阻害剤の影響

前章に於いて種々の基質の酵素活性を測定したが、今回は、グルコース、焦性ブドウ酸の 2 基質の呼吸に及ぼす各種阻害剤の影響を検討した。

使用阻害剤 KCN 3×10^{-3} M, 10^{-3} , 10^{-4} M
 亜硫酸ソーダ 10^{-3} M, 10^{-4} M
 NaN_3 10^{-2} M, 10^{-3} M
 NaF 10^{-2} M, 10^{-3} M
 モノヨード醋酸 10^{-4} M, 10^{-5} M

実験成績

各種阻害剤の二基質に対する影響を実験時間180分迄観察した所、グルコース、焦性ブドウ酸に対し表 8, 9 の如く、KCN では50%阻害、亜硫酸ソーダのグルコースに対する阻害は50%焦性ブドウ酸では100%阻害を示した。NaF に就いて、二基質共阻

害は見られず特に焦性ブドウ酸を基質とした際は促進の傾向がみられた。又測定的、残液の定量を行った。表 8, 9, に呼吸量と比較して示した。

これによると亜硫酸ソーダの添加により、グルコースからの焦性ブドウ酸、乳酸の生成が、他に比して蓄積が著明であつた。

VII 呼吸に及ぼす金属イオンの影響

使用基質としては、前章同様グルコース、焦性ブドウ酸を用い、 Fe^{++} , Mg^{++} の影響を観察した。

表 8

基質及び阻害剤	振盪時間消費生成量 阻害濃度	振 盪 時 間			消費量	生 成 量	
		60'	120'	180'	グルコース μM	焦性ブドウ酸 μM	乳 酸 μM
グルコース		90	188	×	10	3.75	3.75
K C N	3×10^{-3}	20	41	82	7.5	0	0
	10^{-3}	28	65	93	7.5	0	0
	10^{-4}	72	150	201	10	1.88	1.88
N a F	10^{-2}	36	79	125	9.5	0.94	0.94
	10^{-3}	70	121	171	9.0	0.94	0.94
亜 砒 酸 ソーダ	10^{-3}	41	86	111	9.5	5.2	3.8
	10^{-4}	52	102	136	9.5	5.2	3.8
モノヨード醋酸	10^{-3}	42	71	131	9.5	0.94	0.94
	10^{-4}	56	101	142	9.5	0.94	0.94

表 9

基質及び阻害剤	振盪時間消費生成物 阻害濃度	振 盪 時 間			消費量 μM	生成物 μM
		60'	120'	180'	焦性ブドウ酸	乳 酸
焦性ブドウ酸		65	170	×	10	1.9
K C N	3×10^{-3}	21	45	68	7.5	0.9
	10^{-3}	27	67	104	7.5	0.9
	10^{-4}	45	95	165	10	1.9
N a N ₃	10^{-2}	60	158	×	10	0.9
	10^{-3}	68	184	×	10	0.9
N a F	10^{-2}	52	145	208	10	0.9
	10^{-3}	69	148	211	10	0.9
亜 砒 酸 ソーダ	10^{-3}	19	41	65	10	1.9
	10^{-4}	30	52	87	10	1.9
モノヨード醋酸	10^{-3}	29	60	120	10	1.9
	10^{-4}	47	106	142	10	1.9
	10^{-5}	49	121	175	10	1.9

実験成績
 Fe^{++} , Mg^{++} の基質に対する影響は、表 (10) に示した如く、その活性は認めなかつた。

又金属イオン添加後、残液をとり、グルコースの消費、生成量を定量的に検べたが、呼吸量と同様差異はない。

表 10

基質及び金属イオン	振盪及び消費生成量 阻害濃度	振盪時間			消費量 μM	生成量 μM	
		60'	120'	180'	グルコース	焦性ブドウ酸	乳酸
グルコース	—	75	165	199	8	3.75	1.88
Fe^{++}	10^{-3}	67	156	196	8	3.75	1.88
	10^{-4}	71	154	197	8	3.75	1.88
Mg^{++}	10^{-3}	74	167	198	8	3.75	1.88
	10^{-4}	70	159	196	8	3.75	1.88
焦性ブドウ酸	—	87	184	×	—	11.25	1.88
Fe^{++}	10^{-3}	79	190	×	—	11.25	1.88
	10^{-4}	80	180	×	—	11.25	1.88
Mg^{++}	10^{-3}	82	181	×	—	11.25	1.88
	10^{-4}	82	179	×	—	11.25	1.88

Ⅷ 総括及び考案

「レ」の物質代謝の研究は、殆んど栄養要求の一点に集中され、固形培地培養の試みがなされているが、今だ不成功であり、現在では主として Korthof 培地が用いられている。

この培地では「レ」は可なり良好な発育を行い又、その組成も簡単で、一般培養には、極めて優秀である。然し液体培地である事、血清の添加、という二点で「レ」の大量培養集菌は困難を極め、ワクチン等の実用性、「レ」の酵素活性の究明等で、一考を要している。

この為微生物の代謝に関する報告は多くあるが、「レ」に就いては殆ど省みられていない。Chang は始めて酵素呼吸の測定を試みたが、不成功に終わった。後 Marshall は Warburg 検圧計により酸素消費の測定を行い、その QO_2 は約 25 であると報告している又桑島は、同様測定を行い、「レ」の抗生物質の影響を観察したと述べている。

然し、以上の実験では、集「レ」大量培養の困難に基づいて、静止「レ」による観察は行われていない。培地の $1/6$ 濃縮「レ」浮游液を用いているため、活性は低く、酵素の分布等の観察には到らなかつた。

著者は「レ」の物質代謝の研究に於いて、上記の点に留意し、前編に於いて報告した Korthof 培地

に、家兎血清血球を添加した培地を使用し、血清の採取による大量培養を易にした。

1) に示した遠沈操作に改良を加え、北里¹⁰⁾ が 6000 rpm 30分で培養「レ」を殆んど集「レ」出来ると述べた方法等の集「レ」法により、集「レ」した各々について呼吸測定を行つた所、8000 rpm 10分1回洗滌、静止「レ」が酵素活性を究明する上に適している事を知つた。

この方法で静止「レ」を得、培養日数と酵素活性との関係を追求した。

Gale¹¹⁾ によると、細菌に於いて一般に、対数増殖期前に集めた菌は活性が低く、培養時間の経過と共に活性は上昇し、発育が停止する直前に於いて最高に達し、以後順次低下すると述べている。

土屋¹²⁾ は普通 Korthof 培地では $25^{\circ}C$ 4日より増殖が起り、14~15日を頂点として、以後増殖は低下すると報告している。

著者は前編で述べた如く、 $27^{\circ}C$ 培養に於いて、4日頃より増殖が起り、12~13日頃を頂点として増殖が低下したという成績に基づいて、培養4日目の極めて若い「レ」増殖の頂点11日「レ」死滅期の25日「レ」の呼吸量を各基質について測定した結果、グルコースを除き、11日「レ」が高い活性を示した。

又 Gale は菌が急激に分裂している時高い活性を示す酵素は合成に関する酵素であると云つている。

又 Krebs¹³⁾ は T. C. A. サイクルは完全分解によりエネルギーを得るための回数であると述べている。

同様に教室の松浦¹⁴⁾ は大腸菌、赤痢菌、チフス菌を供試し、T. C. A. サイクル上の物質、或いはこれと関連のあるコハク酸、アスパラギン酸が増殖期に高い活性を示すのは、合成過程と関係があるからだろうと述べている。

以上と実験成績を照合すると、一般の細菌とは異なり「レ」に於いては、グルコースを基質とした活性が、4日「レ」に於いて高い活性を示し、合成過程に主として用いられると考えられる。又コハク酸、アスパラギン酸、乳酸、焦性ブドウ酸、醋酸は、合成過程は無論関係するであろうが、増性の停止以後の生命の維持にも必要であるため、活性度があまり変わらないと考えられる。

各種基質について「レ」の酵素分布を見るため実験を行つたが、グルコース、マンノース、ガラクトースの活性は細菌のそれと劣らない高い活性を示した。カルボン酸については、コハク酸、乳酸、焦性ブドウ酸、 α -ケトグルタル酸以外の活性は低い。又アミノ酸の呼吸は、一般に細菌のそれに比し活性は低く、適応的な態度が見られた。但しシステインの酸化態度は他と異なり、開始後直ちに強い活性を示したが、詳細については検討していない。

又以上のアミノ酸のうち、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニンと脂肪酸及びグルコースの組合せにより、アミノ基転移反応を観察した。グルタミン酸とアスパラギン酸との間、及びグルタミン酸とアラニンとの間に証明されたが、然しアスパラギン酸とアラニンとの直接的アミノ基転移反応は証明されなかつた。この事より従来知られているグルタミン酸を中心としたアミノ基転移反応が「レ」の内部に於いて行われていることがわかる。又脂肪酸同様、グルコースとアミノ酸の間に見られたアミノ基転移は、先づグルコースより焦性ブドウ酸が生成され、焦性ブドウ酸とアミノ酸との代謝により、アミノ基

転移反応が行われたと考えられる。

次にグルコース、焦性ブドウ酸に対する各種阻害剤の影響を見た。

KCN. モノヨード、亜硫酸により強く阻害を受け、NaF ではやや低い。

又呼吸測定後、グルコース消費、生成の定量を行つた所、著明な蓄積が認められたが、グルコースの代謝経路の推定を行う事は出来なかつた。

又金属イオンの影響を見たが、その影響はグルコース、焦性ブドウ酸共に見られず、基質の消費、生成を定量的に検べたが、差異は認められなかつた。

IX 結 言

L-hebdomadis 教室保存株の酵素的性状を知る目的で、牛血清加 Korthof 培地培養の静止「レ」の糖類、カルボン酸、アミノ酸の酸化能を検討して次の結果を得た。

1) L-hebdomadis は L-icterohaemorrhagiae 同様、酸素呼吸を行う。

2) L-hebdomadis 以下「レ」は、糖類では、6炭糖酸化に於いて高度の活性が見られ、5炭糖酸化能は極めて低い。脂肪酸、アミノ酸の酸化は、一般細菌に比べると低いが、或る種の基質に於いて活性が認められた。

3) 「レ」はグルタミン酸—アスパラギン酸、及びグルタミン酸—アラニン間のアミノ基転移反応を行う。

4) グルコースの酸化に対する阻害剤、KCN, NaF, モノヨード醋酸亜硫酸ソーダ或いは二価金属イオン、 Mg^{++} , Fe^{++} の影響を見たが、グルコースの代謝経路の推定は行えなかつた。

摺筆するに臨み終始御懇切な御指導と御校閲を賜りました恩師村上栄教授並びに御鞭撻を賜つた松浦慶之博士に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 稲田・井戸：細菌学雑誌, 231, 621, 大正4年.
- 2) 前田：医学研究26, 115~129, 1956.
- 3) 高須：関西医学, 5, 593~604, 1956.
- 4) 土屋：慶応医学, 27, 209~218, 1950.
- 5) 山地・日医大誌, 19, 1278~1289, 1952.
- 6) Chang, S. L. : J. Infect. Dis. 81, 35, 1947. 81, 28, 1947.
- 7) Marshall, P. B. : J. Infect Dis. 84, 150, 1949.
- 8) 桑島：伝染病学会雑誌, 26,
- 9) Umbreit : W. W. et al. : Manometric techniques and tissue metabolism (1949)
- 10) 北岡・井上 細菌学雑誌, 8, 1, 43~49 (1953)
- 11) E. F. Gale and M. Stephenson Biochem. J. 33, 1245 (1939)

- 12) 土屋：慶応医学, 27, 109~218, 1950. 103, 51 (1935)
13) O. Krebs. Biochem, J. 51 (1952) 16) 清水：生化学, 17, 102 (1950)
14) 松浦：未発表. 17) 石井：医学と生物学, 16, 317 (1950)
15) Sumner, J. B. : J. Biol Chem. 65, 393(1925).
-

Studies on the Metabolism of *Leptospira*

Part II On the respiratory metabolism of *Leptospira hebdomadis*

By

Yasuji IZUMI

Department of Microbiology, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Dr. Sakae Murakami)

In order to investigate the enzyme activity of *L. hebdomadis* stock-cultured in author's department, the oxidation of some sugars, carbonic acids and amino acids by the resting organism cultured on ovine serum supplemented Korthof's media was studied. And the results were as follows.

1) It was found that *L. hebdomadis* was capable of aerobic metabolism as like as *L. icterohaemorrhagiae*.

2) In the light of sugar metabolism, the organism had the higher enzyme activity to hexose oxidation: but it had remarkably low to pentose oxidation.

The oxidative activities on carbonic acids and amino acids was lower than that of true bacteria, though the activity on some substrates, i. e. aspartic acid, glutamic acid, pyruvic acid, succinic acid, and lactic acid, was fairly high.

3) The organism showed the transamination reactions between glutamic acid and aspartic acid, and also between glutamic acid and alanine.

4) Although the author carried out the experiment of additional effect of KCN, NaF, monoiodoacetic acid, sodium arsenite, Mg^{++} and Fe^{++} in order to investigate the metabolic pathway of glucose, it could not establish the metabolic pathway so far as the results obtained.
