

結核菌物質代謝に関する研究

第 2 編

毒力株, 弱毒株の生菌並びに無細胞液による
脱水素反応の比較検討

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上 栄教授)

岡 好 万

〔昭和 32 年 5 月 9 日受稿〕

目 次

- | | |
|--|--|
| 1. 緒 言
2. 実験材料並びに実験方法
3. 成 績
A) 糖及び糖アルコールを基質とした場合 | B) 有機酸類を基質とした場合
C) アミノ酸類を基質とした場合
4. 総括及び考案
5. 結 論 |
|--|--|

1 緒 言

一般に酵素の活性はその濃度に比例し、もし細菌細胞を酵素液とした時、この稀釈又は bacteriolysis は活性の低下を起す。この低下の要因として補酵素が洗い流されることが考えられる。Jowett, Quastel (1933)¹⁾ は人の erythrocytes の glyoxalase の活性は lysis 又は稀釈により損失するが、これに補酵素を加えると回復するのを見ている。Young (1929)²⁾ は *E. coli* を用い最初の 2~3 回の凍結融解により glucose, lactic acid の dehydrogenase は著しく活性が低下するが, formic, succinic dehydrogenase には影響ないことを示した。Quastel 等 (1930)³⁾ は *Micrococcus lysodeikticus* を唾液又は卵白で lysis すると glucose dehydrogenase は完全に不活化され, lactic dehydrogenase は 70% 低下し, glutamic dehydrogenase と peroxidase には影響なく, fumarase と urease の活性は高められたことを述べている。又 Young (1929)²⁾ の凍結融解による *E. coli* の glucose dehydrogenase

の活性の低下, Ponrose, Quastel (1930)³⁾ の *Micrococcus lysodeikticus* での実験で glucose, lactic acid の dehydrogenase の活性の低下は補酵素を加えても回復しないことを Yudkin (1937)⁴⁾ は確認している。そこで彼は活性の低下は補酵素の洗い流されたことのみ因るものでなく、酵素は細胞構造と何かの方法で密接に結びついているものであり、従つてこの結合が破壊されると活性の低下が起ると暗示している。

Oginsky, Umbreit (1954)⁵⁾ は特に物質代謝を細胞の表面構造と結びつけ、物質が細胞膜を通過するのは、其の一つは膜の両側に於ける相対的濃度勾配によるものであり、他の場合は物質代謝が膜内で活潑に行われている時のみ撰択的に通過すると述べている。又彼等は、或る菌の生菌は succinate を代謝しないにもかかわらず fumarate を代謝する。然るに細胞膜を破壊すると簡単に succinate を代謝するようになる。即ちこれは細胞膜物質が何らかの関係により酵素作用を阻害した例と思われる。

結核菌は他の細菌と比較して基本的性質に差がある。即ち発育は弛かであり、大量の抗酸性脂質を含み、疎水性であることである。リポイド溶媒で抽出しても抗酸性を失うことのない原因として Lembke, Ruska (1940)⁶⁾ や Wells, Long (1932)⁷⁾ は、もし抗酸性が表面構成成分であるとすれば、これは遊離した物質としてではなく、細胞体に堅く結びついた他の構成成分と結合していることを示唆するものであると述べている。更に Oginsky, Umbreit (1954)⁵⁾ は抗酸性脂質は細胞膜部に存在することを述べている。

細菌細胞表面構造中真の意味で透過性を司る部位が細胞膜部である限り、結核菌では抗酸性脂質が透過性に関与するであろうことは充分考えられる。

著者は1編で結核菌の脱水素酵素反応を各種基質の単独添加のもとに検討し幾つかの所見を得たが、しかしこれは抗酸性を確実に維持する無傷の生菌で得られた成績である。もし菌体を破壊し、抗酸性を完全に消失した所謂無細胞液を用いた場合如何なる結果が得られるか、又生菌で得た毒力株と弱毒株の関係と同一の傾向が、この無細胞液で再現可能なものか否かを追究するため、生菌と、機械的に磨砕して得られた無細胞液との比較検討を試みた。

勿論生菌によるものと無細胞液によるものの結果を直に膜透過性又は抗酸性の有無に関係づけることは早計である。しかしこれが成績に関与するであろうことは充分考えられると思う。

2 実験材料並びに実験方法

供試株……毒力株として人型 H37 Rv (以下 Rv とす) を、又これに対する弱毒株として人型 H37 Ra (以下 Ra とす) を撰んだ。両株とも中性小川培地に継代中のものを sauton 培地に移し、以後3代同培地に継代してから以後供試した。供試株の培養期間は2週間である。

菌浮游液及び無細胞液の作製……菌浮游液

の作製は1編の記載に準じた。無細胞液は、Werkman (1945)⁸⁾ 山村⁹⁾ の法を参照し磨砕法によつた。即ち上記培養を滅菌濾紙にて濾過。濾紙上の菌を遠心管に集め、硝子棒で菌塊を砕きながら 0.02M. 磷酸緩衝液 (pH, 7.0) を添加し、充分攪拌し、3000 r, p, mにて20分間遠心洗滌、以下同様の装作を4回繰返し充分洗滌した菌体を濾紙で脱水、秤量し0°Cの冷凍室内で硝子粉と共に乳鉢中で1時間強力に磨砕し、秤量菌 40g に対し上記緩衝液を 300 ml の割合に添加し、充分攪拌し、3000 r, p, mにて40分間遠心、其の上清を更に 13000 r, p, mにて40分間遠心して得られた上清を無細胞液とし、Rv ではそのままを、Ra は緩衝液で2倍に稀釈したものを実験に使用した。菌磨砕より以後の装作は0°~2°Cの温度下で行つた。

基質……その他、並びに実験方法は1編に準じた。即ち反応液内に於ける菌の濃度は、生菌の場合は 5.7mg/1ml であるが、無細胞液では Rv の場合は 37mg/1ml, Ra は 18 mg/1ml の生菌濃度に概当する。

成績は基質添加時に於ける Mb 脱色時間の逆数から無基質(対照)の場合の Mb 脱色時間の逆数を差引きした値を求め、これを生菌、無細胞液にかかわらず生菌 1mg の活性に換算して示した。勿論基質添加時の逆数が対照のそれより小さい時は除外した。

3 成績

今対照 1mg 当りの Mb 還元速度を A. 基質添加時に於ける還元速度を B とし、E を基質添加による有効還元速度とすると

$E = B - A$ ……で示される。又 E を促進率、P で表わすと $P = \frac{100(E)}{A}$ ……で示すことが出来る。

しかし脱水素反応を速度論的にのみ解決することは困難であるので、上記算出法が完全なものとは思われない。従つて P が 10% 以下のものは実験誤差と見做した。

次に生菌の脱水素反応に於ける E を a とし、無細胞液による E を b とすると次の理論が成

立すると思う。

1) b/a が1に近かければ生菌に於ける活性が、そのまま無細胞液に移行し再現されたことになる。

2) b/a が1より大きい程、生菌の場合は細胞表面構造により酵素作用が阻害されたと考えられる。故に表面構造の破壊された無細胞液で活性が高く現われることになる。

3) b/a が1より小さい程、抽出不十分か又は酵素の不活化を意味する。

表1 生菌並びに無細胞液に対する基質の効果(糖, 糖アルコール)

substrate	H 37 Rv		H 37 Ra	
	生菌によるP	無細胞液によるP	生菌によるP	無細胞液によるP
glycerol	—%	24%	23%	—%
arabinose	—	24	—	24
xylose	25	10	14	7
rhamnose	14	16	34	43
glucose	23	69	76	39
mannose	14	33	63	39
galactose	17	54	45	34
fructose	25	50	29	24
sucrose	15	50	10	24
trehalose	23	24	14	24
maltose	2	24	14	15
lactose	4	10	10	13
sorbitol	5	—	3	18
inositol	10	—	—	13
adonitol	14	33	—	13
mannitol	21	—	—	24
dulsitol	17	18	12	18

A) 糖及び糖アルコールを基質とした場合、表1に示す如く Rv の生菌で glycerol, arabinose を、Ra の生菌で arabinose, inositol, adonitol, mannitol を、又 Rv の無細胞液で sorbitol, inositol, mannitol を、Ra のそれで glycerol を基質とした場合は、それぞれの対照より還元速度は低く、従つてEを求めることは出来ない。

glucose を始め6炭糖を基質とした場合 Rv の生菌で得られるPは低いが、無細胞液では高くなり sucrose でもこの傾向が見られる。しかし xylose, rhamnose, trehalose, lactose

では生菌、無細胞液の何れのPも、殆んど値に差を認めない。

Ra で6炭糖を基質とした場合は Rv の結果とは逆に、無細胞液でPが幾分低いか又は生菌と同程度である。

一般に6炭糖以外の糖、糖アルコール類を添加し、両菌株の生菌、無細胞液でたとえPが求められても極めて値が低く、その持つ意味は薄弱と思う。

表2 生菌及び無細胞液の活性の比較

substrate	H 37 Rv			H 37 Ra		
	a	b	b/a	a	b	b/a
glycerol		0.27		1.31		
arabinose		0.27			0.57	
xylose	0.58	0.12	0.20	0.82	0.17	0.20
rhamnose	0.33	0.18	0.54	1.90	1.01	0.53
glucose	0.54	0.76	1.40	4.31	0.91	0.21
mannose	0.33	0.37	1.12	3.56	0.91	0.26
galactose	0.40	0.60	1.50	2.50	0.80	0.32
fructose	0.58	0.56	0.96	1.63	0.57	0.35
sucrose	0.36	0.55	1.52	0.60	0.57	0.95
trehalose	0.54	0.27	0.50	0.82	0.57	0.70
maltose	0.05	0.27	5.40	0.82	0.35	0.42
lactose	0.10	0.12	1.20	0.60	0.30	0.50
sorbitol	0.14			0.18	0.42	2.33
inositol	0.24				0.30	
adonitol	0.33	0.37	1.12		0.30	
mannitol	0.49				0.57	
dulsitol	0.40	0.20	0.50	0.60	0.42	0.70
*A	2.30	*1.10		5.60	*2.30	

*対照1mgのMb還元速度。

**無細胞液で1mg当りに換算したもののMb還元速度。

表2はb/aの関係を示したもので、無細胞液の対照のAは、Rvでは生菌の1/2に、Raでは1/2.5に低下している。

Rvで6炭糖(fructoseを除く)を基質とした場合一般にb/aは1より幾分大きい。即ち無細胞液が生菌よりも活性が幾分高くなることを意味する。又Rvでmaltose, lactose, adonitolも1より大であるが、しかし還元速度が低く対照と大差なきため意味はないと思う。

Ra の無細胞液では 6 炭糖を始め、すべての糖、糖アルコール (sorbitol を除く) で生菌よりも活性は低下し、glucose では生菌の約 1/5 の活性しか保有しない。又 sorbitol がただ一つ 1 より大きい、還元速度が低いから意味はないと思う。

B) 有機酸類を基質とした場合.

有機酸を基質とした場合の脱水素反応は興味深い。

表 3 生菌並びに無細胞液に対する各種基質 (有機酸) の効果

substrate	H 37 Rv		H 37 Ra	
	生菌による P	無細胞液による P	生菌による P	無細胞液による P
pyruvate	851%	181%	289%	127%
lactate	1165	1054	600	242
acetate	—	36	3	—
citrate	13	50	17	9
succinate	70	124	115	53
malate	61	252	94	127
fumarate	52	90	89	98
tartrate	4	41	60	63
oxalate	5	25	32	18
n-butyrate	1	36	5	24

表 3 に示すように pyruvate を添加した Rv の生菌の場合、P は 851% であるが、無細胞液になると 181% になる。即ち無細胞液は生菌の約 1/5 に低下している。又 pyruvate を添加した Ra の生菌による P は、Rv の生菌によるものの約 1/3 に低下し、289% であるが、無細胞液では 127% になり生菌の約 1/2 しか低下しない。

1 編で述べた如く lactate は供試基質中最も効果の高い物質であり、Rv の生菌で P は 1165%, Ra 生菌で 600% であり、Rv が約 2 倍高い。

更に両株の無細胞液の P を見ると、Rv では生菌の場合と殆んど差が見られない。然るに Ra では生菌の場合の約 1/2.5 に低下している。即ち lactate は Rv の生菌で Ra のそれよりも、約 2 倍も速進効果が高く、更に無細胞液に於ても Rv は生菌と殆んど促進率に差は見られない。

citrate を添加した場合、両株とも生菌の場合には P は極めて低いが、Rv の無細胞液では生菌の約 4 倍も高くなる。Ra では無細胞液でむしろ低くなっているが生菌、無細胞液ともに P が低いので判然としない。

succinate の添加では、Ra の生菌が Rv のそれよりも約 1.7 倍 P が高いが、無細胞液になると生菌の約 1/2 に低下する。しかし Rv の無細胞液は生菌の約 2 倍近くも P は高くなる。換言すれば succinate の場合には Rv は生菌よりも無細胞液で P が高くなるが Ra では其の逆である。

malate を添加した場合 Rv の生菌の P は、Ra の生菌より幾分低いが、これが無細胞液になると生菌の 4 倍以上も高くなる。然るに Ra の無細胞液では生菌の 1.3 倍しか高められない。即ち malate の場合に於ける P は両株ともに生菌よりも無細胞液に於て高いが、特に Rv でこの傾向が著明である。

基質に fumarate を撰んだ場合の P は、両株間に於て、又生菌、無細胞液の比較に於ても大差を認めることは出来ない。

Rv の生菌に tartrate を与えた場合は殆んど促進効果は認められないが、無細胞液になると促進せられる。oxalate, n-butyrate は反応速度が低いため、たとえ P が得られても重要な意味はないと思う。

糖、糖アルコールの脱水素反応の項でも述べた如く、対照に於ける無細胞液の活性は、生菌のその場合よりも著しく低下しているから、P が生菌と同程度又は幾分高い位では b/a は 1 以上にはならない。

即ち表 3 で見る如く succinate, fumarate の添加の場合 Rv の無細胞液の、malate, fumarate, tartrate の場合は Ra の無細胞液の P が、それぞれの生菌の場合より高いにかかわらず、表 4 に示す如く b/a は 1 以下である。

次に citrate, malate, tartrate を基質とした場合は Rv の無細胞液に於て生菌の場合よりも活性は高くなっている。特に malate は P も高い関係上、このことは興味があると思

表4 生菌及び無細胞液の活性の比較

substrate	H 37 Rv			H 37 Ra		
	a	b	b/a	a	b	b/a
pyruvate	19.60	2.00	0.10	16.20	2.93	0.18
lactate	26.80	11.60	0.43	33.30	5.58	0.16
acetate	—	0.40	—	0.19	—	—
citrate	0.31	0.56	1.80	0.96	0.21	0.21
succinate	1.60	1.37	0.85	6.45	1.23	0.19
malate	1.42	2.78	1.95	5.31	2.93	0.55
fumarate	1.21	1.00	0.82	5.00	2.27	0.46
tartrate	0.10	0.46	4.60	3.33	1.47	0.44
oxalate	0.12	0.28	2.33	1.80	0.42	0.23
n-butyrate	0.03	0.40	13.33	0.33	0.57	1.72
*A	2.30	*1.10	—	5.60	*2.30	—

*対照 1mg の Mb 還元速度。

**無細胞液で 1mg 当りに換算したものの Mb 還元速度。

う。

又 Rv で oxalate, u-butyrate を基質とした場合に b/a は 1 より高いが、しかし反応速度が低いため重要とは思われない。

Ra の無細胞液の活性は全基質に於て、生菌よりも低下している。又 pyruvate, lactate は両株の無細胞液に於て、citrate, succinate は Ra の無細胞液に於て、それぞれの生菌の場合の活性と比較して遙かに低下している。このことは抽出不充分が、又は酵素の不活化を意味するものと思われる。

C) アミノ酸類を基質とした場合。

Rv と Ra の生菌と、無細胞液の何れを問わずアミノ酸は、ある一部のものを除き一般的には脱水素反応に対する効果は余り高くない。表5はアミノ酸類を基質とした場合の P を示したものである。

両株とも生菌で glycine を基質とした場合は、対照に比較して還元速度が余り高められないので P も低い。しかし両株とも無細胞液では P は高くなる。特に Ra の無細胞液でこの傾向は強い。

alanine を基質とした場合、Rv の生菌は対照の 115% の著明な効果を示した。又その無細胞液は生菌より効果は幾分低下するが、殆

表5 生菌並びに無細胞液に対する各種基質（アミノ酸）の効果

substrate	H 37 Rv		H 37 Ra	
	生菌による P	無細胞液による P	生菌による P	無細胞液による P
glycine	29%	45%	14%	52%
alanine	115	93	23	48
valine	12	30	14	17
leucine	16	30	27	28
serine	10	54	21	40
methionine	12	50	15	40
lysine	16	41	15	—
arginine	15	16	—	—
proline	16	37	10	22
histidine	21	114	15	98
tryptophan	38	12	27	41
glutamate	51	63	18	43
asparagin	35	33	14	58

んど変りなく、P は 93% という高い値を示している。然るに Ra では生菌、無細胞液ともに P は Rv より遙かに低い。そして Ra の無細胞液の P は 48% で、生菌で alanine を添加した場合の P の約 2 倍値である。

valine は glycine より更に還元速度は低く、両株の生菌、無細胞液とも P は極めて低く効果は認め難い。leucine を添加した場合も両株ともに P は低く valine と同一の傾向を示した。serine, methionine も生菌の場合も両株とも P は極めて低いが、無細胞液になると両株とも同程度に生菌よりも高くなった。しかし serine, methionine の場合は対照と比して還元速度が著しく高いものではないから余り重要とは思われない。

又 lysine, arginine, proline 等を添加した場合も還元速度は極めて低く、両株とも P の値よりも生菌、無細胞液の関係を論ずることは意味がないと思う。

histidine を基質とした生菌の場合の効果は低く Rv で P は 21%, Ra で 15% であるが、これが無細胞液の場合になると極めて高くなる。即ち Rv で P は 114%, Ra で 98% に高まる。このことは前者は生菌の 5.5 倍、後者は 6.5 倍高められたことを意味するもので、

アミノ酸中最も興味がある。

tryptophanの添加は両株とも生菌では余り効果は高くないが、これが無細胞液になると Rv では更に低下する。しかし Ra のそれは幾分高くなる傾向を示した。

glutamate, asparagineの添加は Rv の生菌で中等度の効果を示すが幾分 glutamate の方が高い。これの無細胞液も生菌と同程度の P の値を示す。然るに Ra の生菌では殆んど効果は認められない。しかし無細胞液になると P の値は幾分高められる結果を得た。

表6 生菌及び無細胞液の活性の比較

substrate	H 37 Rv			H 37 Ra		
	a	b	b/a	a	b	b/a
glycine	0.82	0.50	0.57	0.56	1.21	2.16
alanine	3.22	1.03	0.31	0.94	1.12	1.19
valine	0.35	0.34	0.97	0.56	0.42	0.75
leucine	0.47	0.34	0.65	1.08	0.65	0.61
serine	0.30	0.60	1.71	0.87	0.91	1.04
methionine	0.35	0.55	1.37	0.63	0.91	1.44
lysine	0.47	0.46	0.98	0.63	—	—
arginine	0.42	0.18	0.40	—	—	—
proline	0.47	0.41	0.80	0.40	0.52	1.30
histidine	0.61	1.26	2.06	0.63	2.27	3.60
tryptophan	1.07	0.14	0.13	1.08	0.96	0.88
glutamate	1.45	0.70	0.46	0.75	0.99	1.32
asparagine	0.98	0.37	0.36	0.56	1.35	2.41
*A	2.80	*1.10		4.00	*2.30	

*対照 1mg の Mb 還元速度。

**無細胞液で 1mg 当りに換算したものの Mb 還元速度。

表6に見る如く対照の成績は、Rv の無細胞液は、その生菌の約 2/5 に、Ra の無細胞液では生菌の 5/9 に活性が低下している。

今 b/a が 1 に近い値を示すものは、Rv では valine, lysine, proline 等であり、Ra では alanine, valine, serine, tryptophan 等である。

b/a が 1 より大きい値を示すものは Rv では serine, methionine, histidine, 等であり、Ra では glycine, methionine, proline, histidine, glutamate, asparagine 等である。

以上 b/a の関係から Rv の無細胞液では

alanine に対する活性が生菌より著しく低下するが、Ra の無細胞液では全く低下は見られない。

両株とも無細胞液で histidine に対する活性は生菌より遙かに高まる。

Rv の無細胞液では glycine, glutamate, asparagine に対する活性は生菌よりも低下しているが、Ra の無細胞液では、これらの基質に対して活性は高められている。

4 総括及び考案

1編で人型、牛型の毒力株及び弱毒株の生菌による脱水素反応を述べたが、更に人型毒力株 H37 Rv と、これに対する弱毒株 H37 Ra を撰び、これを無細胞液となし、これと生菌との脱水素反応を比較検討した。

H37 Rv の無細胞液は無基質の場合、生菌の無基質の場合の 1/2~2/5 に、H37 Ra の無細胞液は生菌のその場合の 1/2.5~5/9 に活性が低下している。即ち無基質に於ける生菌の活性は同一条件に於ける無細胞液の活性の約 2 倍に相当する。

glycerol は Proskaner, Beck, Long (1919)¹⁰⁾ 以来結核菌の C 源として最適のものとされているが、脱水素反応に関する研究は極めて少なく、山村 (1950)¹¹⁾ が glycerol の脱水素には Cor は関係しないことを鳥型菌で報告しているにすぎない。又山村 (1949)¹²⁾ は glucose 以外の 6 炭糖並びに 5 炭糖は適応により利用されるが、2 糖類は全く利用されないと述べている。

著者の実験成績でも、糖、糖アルコールを基質とした場合は、無基質の対照に比較して還元速度が著しく高められるようなことは見られないが、glucose を始め 6 炭糖は、他の糖、糖アルコールに比し遙かに効果があつた。6 炭糖を添加した場合に H37 Rv では、生菌 1mg のこれに対する活性が、そのまま又は、それ以上に無細胞液で再現される(表2)。

このことは H37 Rv では細胞表面構造(恐らくは抗酸性脂質)が基質の透質性に影響を与えているのではないかと思われる。しかし

H37 Ra では、これが余り影響せず、従つて無細胞液で活性が著明に低下したのは他の原因が強く現われたためと思われる。

H37 Rv の生菌の pyruvate の添加に対する菌 1 mg 当りの還元速度は、H37 Ra のそれより 3 倍も高いが、無細胞液になると生菌の場合の 1/5 に低下し、その低下度は H37 Ra の無細胞液の場合より遙かに著しい。

H37 Rv の生菌、無細胞液の何れも lactate を添加した場合は、対照の還元速度の 10 倍以上も高められるが、H37 Ra の生菌では 6 倍しか高められず、無細胞液になると生菌の場合の約 1/2.5 に低下する。

H37 Rv の無細胞液の succinate, malate, fumarate の添加による還元速度に対する効果は生菌よりも高い。H37 Ra の無細胞液では succinate は生菌より著しく効果が低下し、fumarate では生菌、無細胞液間に差を見ない。

tartrate, oxalate, n-butyrate は還元速度が無基質の対照と比較して大差がないから効果を論ずることは意味がないと思う。

pyruvate, 又は lactate を基質とした場合 H37 Rv では、b/a は 1 より遙かに小さい。これは無細胞液で抽出不十分か、酵素の不活化を意味するものと思われる。

又 H37 Rv は succinate, fumarate では b/a は 1 に近く、生菌の活性がそのまま無細胞液に移行することが考えられるが、citrate, malate では 1 より大きく、特に malate は還元速度も対照に比し高い。このことは菌体表面構造（恐らくは抗酸性脂質）が生菌の脱水素反応に阻害的に作用するのではないかと思う。

H37 Ra は総ての有機酸で b/a は 1 以下である。即ち無細胞液の活性は生菌のそれより低下している。特に pyruvate, lactate, citrate, succinate 等では低下度が著しい。

アミノ酸中基質として特に興味があるのは alanine と histidine である。

基質が alanine の場合 H37 Rv の生菌で得られる還元速度の効果は H37 Ra で得ら

れるものより 5 倍も高いが、無細胞液になると、H37 Ra の 2 倍に低下する。

histidine は両株とも生菌では効果は少いが、無細胞液になると H37 Rv では生菌の約 5.5 倍、H37 Ra では生菌の約 6.5 倍効果が高まる。

glutamate, asparagine の添加は、H37 Rv の生菌では幾分効果が見られるが、H37 Ra の生菌では殆んど見られない。しかし H37 Ra は無細胞液になると幾分効果が現われる。

次に histidine を基質とした場合は、両株とも b/a は 1 より遙かに高い。即ち菌体表面構造の除かれた無細胞液の活性が、生菌よりも遙かに高まることを意味する。

H37 Rv の無細胞液は histidine を除き、一般に活性が生菌より低下しているが、H37 Ra では両者間に余り差が起らない。このことは H37 Ra では菌体表面構造が H37 Rv 程脱水素反応に影響を与えられないためではないかと思う。

5 結 論

人型毒力株 H37 Rv と人型弱毒株 H37 Ra の生菌、並びに無細胞液を使用し、各種基質の単独添加による脱水素酵素反応を比較検討し下記の結論を得た。

- 1) 無基質に於ける無細胞液の活性は、両株とも生菌の時の約 1/2 に低下する。
- 2) 6 炭糖を基質とした場合 H37 Rv は、生菌よりも無細胞液に於て活性が幾分高まるが、H37 Ra の無細胞液では生菌より低下を来す。
- 3) pyruvate, lactate に対する活性は、両株とも無細胞液に於て著しく低下するが、malate に対しては H37 Rv の無細胞液は生菌よりも高くなる。
- 4) histidine に対しては両株とも、無細胞液が生菌より遙かに活性が高まる。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師村上教授に深甚の謝意を表し、併せて本研究に御援助をいただいた北村博士に感謝する次第であります。

文 献

- | | |
|--|--|
| 1) Jowett, M. & Quastel, J. H.: <i>Biochem. J.</i> ,
27, 486, 1933. | 19, 217, 1940. |
| 2) Young, E. G.: <i>Biochem. J.</i> , 23, 831, 1929. | 7) Wells, H. G. & Long, E. R.: <i>Baltimore</i> , 2d
ed. rev., Xiii. +481 pp. 1932. |
| 3) Quastel, J. H. et al.: <i>Proc. roy. Soc. B</i> , 107,
168, 1930. | 8) Werkman, C. H. et al.: <i>J. Bact.</i> , 49, 595,
1945. |
| 4) Yudkin, J.: <i>Biochem. J.</i> , 31, 1065, 1937. | 9) 山村: 結核菌の生化学, 23. |
| 5) Oginsky, E. W. & umbreit, W. W.: <i>An in-</i>
<i>troduction to bacterial physiology</i> , 30, 1954. | 10) Long, E.: <i>Am. Rev. Tuberc.</i> , 3, 86, 1919. |
| 6) Lembke, A. & Ruska, H.: <i>Klin. Woch.</i> , | 11) 山村: 酵素化学の進歩, 2集, 270, 1950. |
| | 12) 山村: 大阪医誌, 1, 2, 12, 1949. |

 Studies on the Metabolism of *Mycobacterium tuberculosis*

 II. Comparative studies on the dehydrogenase reactions
 by intact cell suspensions and cell-free extracts
 of virulent and avirulent strains

By

Yoshikazu Oka

 Department of Microbiology, Okayama University Medical School
 (Director: Professor Dr. Sakae Murakami)

By using H37 Rv and H37R astrains of human tubercle bacillus, a series of comparative studies have been made on the dehydrogenase reactions by the intact cells possessing the acid-fast natures and by the cell-free extracts without that nature. The results are as follows:

- 1) In both strains, in the case of cell-free extracts without the addition of substrate, dehydrogenase activity decreases to about 1/2 of that of the intact cells.
 - 2) With the use of hexose as substrates, the dehydrogenase activities of the cell-free extract of H37Rv strain are somewhat higher than those of intact cells, while in the case of H37Ra strain the activities of the cell-free extract are lower than those of intact cells.
 - 3) The activities of the cell-free extracts to pyruvate and lactate are, in both strains, markedly lower than those of intact cells, whereas in the case of H37 Rv strain the malate dehydrogenating activity is greater in the from of cell-free extract than in intact cells.
 - 4) To histidine, the activity of the cell-free extracts of both strains is far greater than that of intact cells.
-