

好気性孢子形成桿菌類の抗生性に関する研究 I<sup>※</sup>

活性の確認と菌の同定

松本宗人（農産製造学研究室）

Muneto MATSUMOTO

On the Antibiotic Activity of Some Bacilli

(I) Observation on the antibiotic activity of isolated organism and its bacteriological classification

## 緒言

微生物相互間に拮抗現象の存在することは既に菌学の揺籃時代に知られていたが、近年に到って Penicillin の発見以来、微生物に由来する抗生物質の探究が急激に展開され、数多の微生物の抗生性が指摘され、それらから各種の抗生物質が分離されている。

好気性孢子形成桿菌類の抗生性並びに抗生物質についても既に数多く報告されているが<sup>1-3)</sup>、著者は「酵素肥料」なるものゝ微生物の分離に従事中に、*Bacillus* 属の細菌らしき集落の周辺に、同皿内に隣って発生せる他種の集落に対する溶菌環があることを観察して、このような現象は微生物分離操作中にしばしば経験することでもあり、溶菌環が極めて狭いところから、該環が抗生物質の生産によるものかあるいは栄養素の奪い合いによるものか、また抗生物質生産によるものならば、環の様相からして、既報の物質の微量生産によるものかあるいは別種の抗生性の弱い物質の生産によるものか等に関心を抱き、平素微生物取扱い中に繰り返し遭遇観察するこの種の現象の実態を追究してみた。

種々検討の結果、抗生性を確認し、分離同定した抗生物質は既知の dipicolinic acid であった。この物質を糸引納豆生成菌が生産することが既に有働<sup>4)</sup>によって報告されていることを知ったので、この物質が納豆菌の特徴的な生産物であるかと考えて、他の糸引納豆生成能の無い数種の溶菌環形成性の好気性孢子形成桿菌を分離してその抗生性を検討したところ何れも dipicolinic acid の生産によるものと認め、さらに関連する事柄を検討して種々の興味ある知見を得た。本報では端緒となった分離菌株の抗生性確認の経過と菌の同定結果を報告する。

この研究は京都大学大学院特別研究生在籍当時（'46—'48）のもので御指導頂いた恩師片桐教授、北原助教授（当時）に対して衷心より深謝申し上げる。また被検菌を頂いた京大医学部微生物学教室に深謝申し上げる。

## 実 験

## 1. 活性菌の分離

北原助教授より頂いた「柴田酵素」の「元種」（「柴田酵素」<sup>5)</sup>は「酵素肥料」などともいわれ、柴田欣志の発明にかゝるもの、その「元種」は「酵素」の出発点をなす種培養とみられるもので、肉眼的に穀菽蔬菜類の混合調理物と認められ、米、大豆、人蔘等々が原形に近い状態または切片として観察される、種々の発酵微生物が混合培養されたものと判断される）の微生物類の分離に従事した際、肉汁寒天培地で細菌類を分離中に培地表面に発生せる帯淡褐色の小皺ある集落がその周辺においては同培地面内に同時に発生せるグラム陽性の葡萄状球菌の発育を阻止せる無菌環を持つことを観察した。稀釈扁平培養法を反復して得た細菌株のうち、上記の溶菌環を示す株が数種あったが代表として K8 菌（実験分類番号、以下この番号を使用）を活性菌として供試した。後出の K5 菌は同材料より分離した株で菌の分類上の性状は K8 菌に殆んど一致するが溶菌環を示さないものである。

## 2. 抗菌性の確認

被検菌として抗生性研究に常用されていた *Proteus vulgaris*, *E. coli* および *Staphylococcus aureus* Tera-shima（何れも京大医学部微生物学教室より分譲をうけた）を選び、下記の方法を何れも反復試験して抗菌性を検討した。

(1) 塗抹試験 予め肉汁に培養した被検菌の1滴を

\* 納豆菌に関する生化学的研究, I

中性肉汁寒天培地に加えて混和後ペトリ皿に注ぎ、固化後表面に K 8 菌を塗抹接種し 37°C 1 日培養して K 8 菌集落の周囲における被検菌無繁殖部の巾を観察した。結果の 1 例は第 1 表の如くである。すなわち、3 種の被検菌

第 1 表 塗抹試験結果 (K 8 菌)  
(数字は無菌部の巾, mm)

被検菌 接種被検菌の培養日数	被検菌		
	<i>P. v.</i>	<i>E. c.</i>	<i>S. a.</i>
37°C 1 日	0.5	0.5	1.5
同上後室温 1 日放置	1.0	0.5	1.5
“ 2 “	1.0	1.0	2.0
“ 3 “	2.0	1.0	3.0
“ 4 “	2.0	1.0	3.0
“ 5 “	2.0	1.0	3.0

*P. v.* = *Proteus vulgaris*, *E. c.* = *Escherichia coli*,  
*S. a.* = *Staphylococcus aureus* Terashima

の何れに対しても拮抗性が認められる。また無菌部の巾は被検菌の培養が古くなる程増大するから、被検菌は何れも培養が古くなるに従って生育力乃至抵抗性をかなり顕著に減ずるものと考えられる。この試験は 37°C 1 日培養後に観察した結果のみを示したが、2 日以上培養しても無菌部の巾は殆んど増大せず、K 8 菌の繁殖が進み却って不鮮明になる傾向を認めた。比較のため抗生環を示さない K 5 菌について行った同様の試験では分離時と同様に被検菌の何れに対しても無菌環は認められなかった。なお、この試験の結果から、K 8 菌に対する抵抗性は黄色葡萄球菌株が最も弱く、変形菌がこれに次ぎ、大腸菌が最も高いものと推察される。

(2) カップ法応用試験 抗生力検定に常用されるカップを被検菌を混じたペトリ皿中の固体肉汁寒天培地表面に立て、カップ内に K 8 菌および K 5 菌を接種し 37°C に培養してカップ周囲の発育阻止圏を観察した。結果の 1 例は第 2 表の如くである。すなわちこの結果からも 3 種の被検菌に対して K 8 菌が拮抗性を示すことが認めら

第 2 表 カップ応用試験結果 (K 8 菌) (数字は無菌圏の巾, mm)

被検菌の試験培養条件	被検菌		<i>P. v.</i>		<i>E. c.</i>		<i>S. a.</i>	
	試験培養日数	1 日	3 日	1 日	3 日	1 日	3 日	
								1 日
37°C 1 日培養		±	+	±	+	0.5-1.0	1.5	
同上後室温放置 1 日		±	0.5	±	0.5	0.5-1.0	1.5	
“ 2 日		0.5	0.5	0.5	0.5-1.0	1.0	1.5	
“ 3 日		0.5	0.5-1.0	0.5	0.5-1.0	1.0	2.0	
“ 4 日		0.5-1.0	0.5-1.0	0.5	1.0	1.5	2.0	
“ 5 日		0.5-1.0	1.0	0.5-1.0	1.0	1.5	2.0	
“ 6 日		0.5-1.0	1.5	0.5-1.0	1.0	1.5	2.0	
“ 7 日		1.0	1.5	1.0	1.5	1.5	2.0	

れた。この試験法は無菌部の巾が僅少で観察に困難であり、培地の寒天濃度を高めたり操作も慎重に行わないと、カップの外にまで試験菌が蔓延して失敗を来しやすく、塗抹試験法に優るものではなかったが、拮抗性がカップをへだてて示されるのでその確認に役立つものと考えられる。試験培養 3 日後の値は 1 日後の観察値よりも発育阻止部が拡がり観察確認に便であった。また被検菌の培養日数による抵抗性の変異や種類による抵抗性の変異は塗抹試験の結果と同様な傾向となった。なお K 5 菌についての同様の試験では無菌圏が 3 日培養後も殆んど認められなかった。

(3) 液体培地共棲試験 K 8 菌も K 5 菌も液体培地に培養すると菌膜を作り数日間培養しても培地を殆んど混濁しない。このような性質の菌の、変形菌や大腸菌や

寺島株の如く液体培地に繁殖して培地を混濁する菌に対する拮抗性は、試験菌と被検菌とを適当な液体培地に混合接種して共棲させ、混濁の程度を観察することによって知り得ると考えてこの試験を試みた。すなわち、種々検討の末、中型試験管中の肉汁 5 ml に試験菌を接種して 37°C に 1 夜培養後、新たに肉汁 5 ml を注加し、被検菌の肉汁寒天斜面培養 1 白金耳宛を接種し、37°C に静置培養すると K 8 菌の被膜下に透明な部分を生じ、その下に混濁部(上縁は逆メニスカス状となる)を生じ、その混濁度は被検菌の対照培養と比べて明かに小さかったので、試験管内の液の高さ、透明部の厚さ、混濁部の高さ、混濁部の混濁度を観察して目的を達した。この方法で、被検菌の接種に液体培養の菌液を用いると結果は一層強調され明瞭となった。また被検菌の培養が古くなると拮

抗性が顕著となり、共棲培養日数の増加によっても拮抗の結果が著しく顕著となった。またこの方法で試験菌と被検菌とを同時に接種しても上述と殆んど同経過で拮抗

性を明瞭に観察しうることを知った。同時接種による試験結果の1例は第3表の如くである。すなわち、K8菌が3種の被検菌の何れに対しても明瞭な拮抗性を示すこ

第3表 液体培地共棲試験結果・被検菌斜面培養1白金耳接種 (K8菌)

被検菌培養 共棲培養日数	37°C 1日培養							37°C 7日培養					
	1日		2日		5日			1日		2日		5日	
	a/b	T	a/b	T	a/b	T	I	a/b	T	a/b	T	a/b	T
K8	5.4/5.4=1.00	—	1.00	—	1.00	—	—	1.00	—	1.00	—	1.00	—
K8 + <i>Prot. vulgar.</i>	0.7/5.0=0.14	2+	0.17	+~2+	0.35	+	+	0.18	2+	0.20	+	0.40	+
<i>Prot. vulgar.</i>	0/4.8=∞	5+		7+			3+	∞	4+		6+		
K8 + <i>Escher. coli</i>	0.5/4.7=0.11	2+	0.14	2+	0.24	+	+	0.13	2+	0.14	+	0.28	+
<i>Escher. coli</i>	∞	5+		7+			3+	∞	5+		6+		
K8 + <i>Staph. aur. T.</i>	0.8/4.0=0.19	+	0.31	+	0.74	±	—	0.23	+	0.33	+	0.81	±
<i>Staph. aur. T.</i>	∞	3+		4+				∞	3+		4+		

被検菌液体培養液1滴接種 (K8菌)

K8	1.00	—	1.00	—	1.00	—		1.00	—	1.00	—	1.0	—
K8 + <i>Prot. vulgar.</i>	0.25	+	0.39	+	0.68	+		0.27	+	0.42	+	0.63	+
<i>Prot. vulgar.</i>	∞	4+		6+				∞	4+		6+		
K8 + <i>Escher. coli</i>	0.26	+	0.44	+	0.70	+		0.23	+	0.48	+	0.72	+
<i>Escher. coli</i>	∞	4+		6+				∞	4+		7+		
K8 + <i>Staph. aur. T.</i>	0.47	+	0.67	+	0.91	±		0.50	+	0.65	+	≒1.00	—
<i>Staph. aur. T.</i>	∞	2+		3+				∞	2+		3+		

a : 透明部 (膜下より混濁層上縁まで) の厚さ, mm      b : 液の高さ (膜より試験管底まで), mm

T : 培養液の混濁部の混濁度, 肉眼観察      I : インドール生成。

とが確認され、また被検菌の種類による抵抗性の強さについても前述の両試験法における同様の傾向を観察した。K5菌についての同様の試験では、液表被膜直下にあるか無きかの透明部を認めるのみで、培地全体が一樣に対照と殆んど相違ない程度に強く混濁した。なおこの試験法では培地について、被検菌の特徴的産物の存在をしらべて該菌繁殖程度の目安とすることを試み、インドール等を試験して有効な結果を得た。

(4) 高層固体培地共棲試験 上述の方法は極めて適当有効であるが、該法は培養中および観察終了まで培養試験管に動揺を与えぬように静置し、また極めていいに取扱わねばならぬ。にも拘わらず実験中に共同使用のふ卵器内には各種の培養の出入があるために往々にして不都合を来し、遂行上非常な注意を要するので実際的な困難がある。従って高層固体培地に於ても前法と同様な結果が得られると実験が極めて安定容易になると考えて此の方法を試みた。即ち、種々試みたところ、小型試験管内に1ml強の肉汁寒天培地の固化前に被検菌の肉汁37°C 1日培養後室内に7日程度放置せる菌液を殺菌水

で約20倍に希釈したものを1滴加えて混和後直立固化を待って試験菌を表面に接種して37°Cに培養して観察すると、試験菌の表面繁殖被膜直下に被検菌発育阻止の透明度の高い層を生じその下に被検菌の発育による不透明度の高い層を認め透明部の厚さをはかって目的を達することが出来た。結果の1例は第4表に示す如くである。すなわち、本法によっても拮抗性を観察することが出来、

第4表 高層固体培地共棲試験結果 (K8菌)

共棲菌	共棲培養日数		2日	
	1日	2日	h	T
観察項目	h	T	h	T
K8	全層	±	全層	±
K8 + <i>Proteus vulgaris</i>	1.5	2+	2.0	3+
<i>Proteus vulgaris</i>	0	2+	0	3+
K8 + <i>Escherichia coli</i>	1.5	2+	2.0	3+
<i>Escherichia coli</i>	0	2+	0	3+
K8 + <i>Staphyloc. aur. T.</i>	2.0	+	2.5	2+
<i>Staphyloc. aur. T.</i>	0	+	0	2+

h : 透明層の厚さ, mm; T : 混濁部混濁度, 肉眼観察

前法に比べて実験が甚だ安定で容易である。欠点としては寒天を含んだ固体培地であるために培地そのものゝ透明度が低く、従って無菌部（非混濁層）の観察はやゝ困難である。常用大の試験管で試みた場合は特にこの難点が著しかったので小径試験管に変更した。また拮抗層も液体培地共棲試験に於けるよりは大きくないが、結果に見る如く、被検菌の抵抗性の差異、共棲培養日数の経過による拮抗層の増加等についても前法と同様の傾向を観察した。K 5 菌について行った同様の試験では前法と同様に拮抗層が認められなかった。

(5) 培養液の抗菌力 上記の4方法で両試験菌の拮抗性を検討したが何れも生菌によるものであり、抗菌力は強くないので、拮抗性が必ずしも抗菌性物質の生産によるものとは断定し難く栄養素の奪い合いによる疑いが残るので、培養液の無菌ろ液について検討した。培養液に揮発性の殺菌剤として、酒精、ホルマリン、クロロフォルム、トルオール等を用い冷温殺菌を試みたが完全ではなかったため Seitz 型の細菌ろ過器を用いて得た無菌ろ液を採用し、培養液をそのままろ過した液と、傾斜して得た培養液を平圧で加熱して約 1/10容に濃縮した液のろ液とを供試して、3種の被検菌に試験管の液体培地における常法の稀釈方式で抗菌力を試験した結果の1例を第5表に示す。即ち、K 8 菌のろ液は3種の被検菌に

第5表 試験菌培養液無菌ろ液の抗菌性

被検菌	試験菌 稀釈率 稀釈方式	K 8 菌					K 5 菌		
		2 倍		5 倍	10倍	20倍	2 倍	2 倍	5 倍
		(1)	(2)	(1)	(1)	(1)	(1)	(2)	(1)
対照 ろ液 無接種		-	-	-	-	-	-	-	
対照 <i>P. v.</i> 接種		6+	6+	6+	6+	6+	6+	6+	
<i>P. v.</i> + ろ液A		2+	2+	3+	4+	6+	6+	6+	
" " B		-	-	±	2+	3+	8+	6+	
対照 <i>E. c.</i> 接種		5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	
<i>E. c.</i> + ろ液A		2+	2+	3+	5+	5+	5+	5+	
" " B		-	-	±	+	3+	6+	5+	
対照 <i>S. a.</i> 接種		3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	
<i>S. a.</i> + ろ液A		+	+	2+	3+	3+	3+	3+	
" " B		-	-	-	-	3+	3+	3+	

供試ろ液A：培養液の除菌ろ液

" B：培養液を1/10容に濃縮したものゝ除菌ろ液

被検菌：各菌種とも肉汁 37°C 1 日培養液 1 滴宛接種  
稀釈方式，稀釈率：

	2 倍	5 倍	10倍	20倍
肉 汁	5 ml	8 ml	9 ml	9.5ml
供試ろ液	5	2	1	0.5
合 計	10	10	10	10.0

(1)：普通濃度の肉汁 (2)：2倍濃度の肉汁  
観察：37°C 1日培養後各管につき、被検菌の繁殖混濁度を対照と比較した。

対して抗菌性を有し、K 5 菌のろ液は何れの被検菌に対しても抗菌性を示さないことが観察され、K 8 菌の培養液の抗菌力は2倍稀釈で被検菌の繁殖を1/2以下に抑制するものである。被検菌種による抗菌性の差異は寺島株に強く変形菌や大腸菌にはやゝ弱い傾向が認められ、これらの結果は何れも、生菌による前記試験の結果と一致した。また、稀釈に伴う培地栄養素の稀釈の影響を消去するために、2倍稀釈では2倍濃度の肉汁も用いたが、表にみる如く普通濃度の肉汁を用いた場合と同様の結果を得た。なお、培養液を加熱濃縮した液の抗生力の値から判断して、抗生物質は培養液の自然状態の反応である微アルカリ性で煮沸加熱しても効力に変化を来さないことを知った。

(6) 抗生物質の分離性 既報の<sup>6-15)</sup>の好気性胞子形成桿菌の抗生物質の殆んどすべてが、培地のpHを調節するか或いは更に炭末に吸着させて分離されている点に従って、K 8 菌 培養液より抗生物質の分離性をしらべた。即ち、肉汁37°C 1日培養(1立三角瓶に液100ml)の菌膜を除いた液に塩酸を加えてpHを調節して後除菌したろ液と、同様にpHを調節してから炭末を加えて振盪少時加温後除菌したろ液とについて、酸性液は稀NaOH液でpH 7.0に戻してから再び除菌ろ過して、寺島株を被検菌として抗生力をしらべた。結果は第6表の如くで2種のろ液が何れのpHに於ても無処理の場合と同程度の

第6表 分離処理液の抗生力(K 8菌培養液；寺島株液体培養液1滴、肉汁2倍稀釈法1日37°C培養後)

処理	pH約	2	3	4	5	6	7	8*
pH 調節のみ		±	±	±	±	±	±	±
全上炭末処理		±	±	±	±	±	±	±

\* 培養液無処理，寺島株対照 2+

抗生力を示しているため、上記のpH調節や炭末処理によっては抗生物質は沈澱または吸着を起さないものと考えられ、従って此の菌の抗生物質が既報の好気胞子桿菌類から得られた抗生物質の大半とは異なるものと推察した。

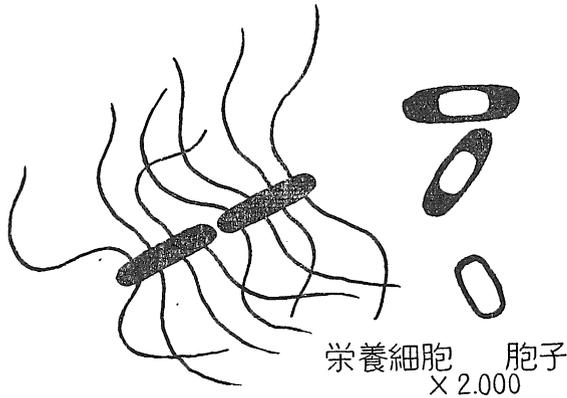
### 3. 菌の性状

K 8 菌と K 5 菌とは性状極めて酷似し共に下記の如くであった。

(1) 鏡下の性状 菌体巾の5倍以上の長さの10本余の周毛ある運動性桿菌、時にやゝ彎曲せる栄養細胞も存

在する。両端は丸味あり、単独または2〜3個乃至長連鎖状を呈す。グラム強陽性、培養長期に亘ると染色性や弱まる。栄養細胞は普通  $0.6\sim 0.8\times 3\sim 4\mu$ 、胞子を極めて形成し易く、 $37^{\circ}\text{C}$  1夜で認めることあり、孢子形成細胞は  $1.0\sim 1.2\times 4\sim 5\mu$ 、胞子は中心的にあり母囊細胞よりも両端の丸味がやゝ少く、 $0.8\sim 1.0\times 1.5\sim 2.5\mu$ 、包囊の存否不詳、培地の種類による形態変化は認めず（第1図参照）。

才1図 K8菌の形態



(2) 培養および生理的性質 肉汁膠質扁平培養：接種後半日で光沢ある粘濁滴状正円の集落が現われ1日後を待たずに白色となり小皺曲を生じ周辺に堤状の隆起を生じ更に蔓延、1〜2日で液化し皿全面に菌膜を生ず。肉汁寒天扁平培養：上記と略同様、集落周縁は切込み小葉裂開状。肉汁寒天斜面：灰白色、乾燥状、粗皺、周辺近くか隆起、粘質物様裏面、凝縮水上に被膜を生じ皺曲あり液澄明。肉汁寒天穿刺：表面に扁平状に、線中途中まで繁殖。肉汁膠質穿刺：漏斗状に液化、液表被膜。肉汁：被膜を生じやゝ厚く有皺で裏面粘質状、液は培養4〜5日頃までは膜直下がわずかに混濁するのみで極めて清澄、1週間を超えてやゝ濁りさらに培養を続けると被膜の一部脱落し破砕片の沈澱をみる、液の色調は培養により褐黄色を増し、魚粉様臭を感ず、アルカリ化（始発7.2, 5日培養8.8〜9.0 pH）。葡萄糖(1%)肉汁：上記にほぼ同じ、繁殖は明らかにより多くより旺盛、単独胞子も多く自己消化も早まる、1週間後半透明液となり以後混濁を増しやがて混濁度を減ずる、培養日数を重ねるとグラム染色性や弱化する傾向、反応は一旦酸性化して後アルカリ化（始発7.2, 1日培養6.2, 3日後7.2, 7日後7.8, 10日後8.0）、ガス発生を認めず。蔗糖肉汁：ほぼ同上、グラム染色性の弱化、単独胞子の増加状態、反応の推移など同傾向。馬鈴薯：多くの大皺曲ある多量の菌苔を生じ、菌苔灰白黄色、菌苔の色も培地の色も培養長期に亘るも殆んど変化せず、菌苔の粘性甚だしく粘質物形

成強し、培地軟化し J-JK 液で赤褐色を呈す。脱脂牛乳：1夜にして凝固後直ちにペプトン化し始める、8mlの培地を5日間で液化しアルカリ性化する。ペプトン水：肉汁にほぼ同じ。KNO<sub>3</sub>肉汁、の分を KNO<sub>3</sub> 麴汁（食塩夫々1%）：何れも10日間の培養中還元せず。KNO<sub>3</sub>をN源とする合成培地（KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub>, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, glucose）：還元する。色素形成：上記各種培地に於て培地の黄褐色色調の増加のほかに特別の色素生産を認めず。酸素：デシケーター内の減圧下に殆んど正常に發育。インドール形成：上述各種培地で10日間培養中常に検出し得ず。アセトイン形成：陽性。上述各種液体培地につき10日培養中 Voges-Proskauer 反応を試みたが異なる結果を得た。当時他種の細菌について実験中の高山氏も同様なことを指摘しておられたので<sup>10)</sup>、原因が培地組成にあるかと考えて検討した。即ち、培地成分のうちN源の肉エキス、ペプトンの質と量、糖類の有無と量、加圧殺菌による培地成分の破壊の影響等をしらべたところ、これらは何れもアセトイン生成に関係していることが分った。結果の要点を第7表に示した。培地には

第7表 K8菌のアセトイン生産と培地組成等との関係

培地	生産量	培地	生産量		
肉エキス汁 (A品)	1% 3 5 1*	± + + ±~+	ペプトン水 (a品)	1% 3 5 1*	± + + ±~+
全上 (B品)	1% 3 5	+ 2+ 2+	全上 (b品)	1% 3 5	+ 3+ 3+
全上 (C品)	1% 3 5	± + +	カゼイン水	1% 3 5	+ 3+ 3+
ペプトン (a品) 水	3%	除菌ろ液	2+		
"	"	平圧間断殺菌	+~2+		
"	"	加圧1気圧30分	+		
"	"	" 2 " 10"	+		
ペプトン (a品) 水	3%*	除菌ろ液	3+		
"	"	* 平圧間断殺菌	2+		
"	"	* 加圧1気圧30分	+~2+		
"	"	* " 2 " 10"	+~2+		

\* 葡萄糖を2%添加

すべて食塩1%を添加し、pH7.2に調節し、殺菌条件の試験区のほかはすべて1気圧30分間で殺菌し、 $37^{\circ}\text{C}$ に培養（試験管内5ml）して、2, 4, 6, 8, 10日目にしらべた結果の最高反応を示した。肉エキスは在庫3種を比べ

たところ銘柄によって生産性に差異があり、量は普通濃度(1%)よりも高い方が生産性が良く、生産性の悪い銘柄品も濃度を増すと生産性が良くなった。ペプトンは2種と比較してハンマーステン・カゼインを併行試験した結果、質において差異があり、濃度も高い方が良かった。糖は葡萄糖を用いて肉汁またはペプトン水に2%添加したものを対照と比較したところ、添加区は菌の繁殖が多くて安定した陽性を与えた。糖添加と無添加のペプトン水について殺菌条件の影響を比べた結果は、無菌ろ過液が最も良く、平圧間断殺菌が次之、加圧殺菌区は共に悪かった。ガス形成：上記各種試験培地で発酵現象を認めず、NH<sub>3</sub>形成：常に陽性。H<sub>2</sub>S：肉汁、ペプトン水で10日培養液に弱陽性。温度：20~30°、37°、45°、50°、75°、100°Cのうち20~45°Cではほぼ正常に生育、50°Cではる日後も生育せず死滅せず、75°C 30分間、100°C 30分間何れも死滅せず。

考 察

菌株分離において、とりあげたK5、K8菌の如く、同類の菌株の多数混在する試料から粘質物を形成するものを稀釈扁平法を反復しても純粋ならざる憂がある、著者は培養数日後の既に孢子を形成し自己消化を起し始めた観のある菌苔をリングル氏液に懸濁して数時間振盪してまた後には振盪の代りに超音波を当て、分散させてから再分離を重ねたが適法と考える。

とりあげた菌株の拮抗性が顕著でない為に、種々の拮抗性試験法を考えて試みざるを得ず、低拮抗性菌の拮抗性試験法を比較検討した結果となったが、何れも一方法のみでは不完全で、諸法を併行して結論を出すべきものとする。諸法のうち、液体混合培養法や高層培地共棲試験法は全く新しい方法であるが適法と考える。抗生力検定用の培養液の無生菌液は、薬品を用いて得ることは先づ困難で、ろ過面の吸着性のおそれはあるがザイツ型等のろ過方式で得ざるを得ないようである。

菌の性状を検索中に、アセトイン生成の条件に関心をひかれて検討した結果は興味深い。菌の性状の判断に有用な該物質生成の有無が、試験法によっては不安定な結果を与えるのである。この実験では主として培養基の組成について有合わせの試料を用いて行ったが、今後この点も、満足すべき試料により理論的に再検討し、また、他の培養諸条件の影響に就ても検討を拡げたい。

抗生物質の分離を、既報<sup>6-15)</sup>の主体となる方法を適用して試みたが得られなかったので、K8菌の生産する抗生物質はペプチド系統のものではないと考えられ、また古くから知られている緑膿菌や霊菌などの抗生物質<sup>17)</sup>とも菌株や培養液色調等の相異からみて自ら異なるものと

判断すると、本菌の抗生物質は本菌と類縁の好気性孢子形成桿菌の抗生物質として既報されたものとは異なるものと推論されるので追究して後報したい。

K5菌、K8菌の分類上の位置について既報<sup>18)</sup>に比較すると、第8表の如く *Bacillus Prausnitzii* Trevisan,

第8表 K8菌と近縁既知菌との性状比較

	K 8 菌	<i>Bacillus prausnitzii</i>	<i>Bacillus tumescens</i>
酸素要求	通性好気性	通性好気性	通性好気性
発育温度	中温性	中温性	中温性
大きさ	0.6~0.8 ×3~4 $\mu$	0.6~0.8 ×3~5 $\mu$	1.4~1.5 ×3~3.5 $\mu$
運動性	有	有	有
周毛	有	有	有
グラム	陽性	陽性	陽性
孢子大きさ	0.8~1.0 ×1.5~2.5 $\mu$	0.7~1.0 ×1.5~2.0 $\mu$	0.8~1.0 ×1.5~2.0 $\mu$
孢子存在位	中心的	中心的	中心的
孢子形成部	膨大	膨大	膨大
膠液化	漏斗状	漏斗状	漏斗状
牛乳	凝固・分解	凝固・分解	凝固・分解
寒天斜面	灰白色、隆起 周辺裂開	灰色、糸状に ひろがる	白色、円形 隆起
肉汁寒夫	被膜、液澄 沈澱	被膜、液濁 沈澱	液濁、 灰白色沈澱
馬鈴薯	灰黄色、粘質 物、有皺	灰黄色、粘性	白色、混濁 光沢、隆起
硝酸還元	陽性	陰性	陰性
インドール	陰性	陰性	陰性
生酸	葡萄糖、蔗糖	葡萄糖、蔗糖 乳糖	葡萄糖、蔗糖 乳糖
澱粉水解	陽性	陰性	陰性

*Bac. tumescens* Zopf. に近く、何れとも細部に亘っては一致しないが、両者のうち特に前者により近く、おそらくその変種と考える。

摘 要

「柴田酵素」より分離した好気性有孢子桿菌のうちの1株が抗菌性を示すことを観察し、抗菌性を検定する方法を数種比較検討し、該菌に適用して、該菌が変形菌、大腸菌、葡萄状球菌等に対して抗菌性を有することを確認した。

抗菌力は培養ろ液の2倍希釈で確認しうる程度であるが、抗生物質分離を試みた結果、既報された好気性有孢子桿菌の共通の抗生物質たるペプチド系統の物質とは異なるものと推論した。

該菌の性状を検索した結果、*Bacillus Prausnitzii* Trevisan の変株と同定した。

## 参 考 文 献

- 1 梅沢純夫：拮抗微生物の化学，慶友社，'49
- 2 同上：抗菌性物質，培風館，'54
- 3 下記一
- 4 有働繁三：日農化 12, 386, '36.
- 5 北原覚雄：「酵素法」の基礎科学，真日本社，'47
- 6 DUBOS : J. exp. med. 70, 1 & 11, '39.; DUBOS & CUTTANE : ibid. 70, 249, '39. ; DUBOS & HOTCHKISS : ibid. 72, 629, '41.; HOTCHKISS & DUBOS : J. Biol. Chem. 132, 791, 793, '40.; 136, 803, '40.
- 7 GAUSE & BRAZHNIKOVA : Nature 154, 703, '44.
- 8 JOHNSON, et.al. : Science 102, 376, '45.
- 9 GAUSE : ibid. 104, 289, '46.
- 10 FOSTER & WOODRUFF : J. Bact. 51, 363, '46.
- 11 SAINT-RAT & OLIVER : Compt. rend. 222, 297, '46.
- 12 CALLOW & HART : Nature, 157, 334, '46.
- 13 JANSEN & HIRSCHMANN : Arch. Biochem. 4, 297, '44.
- 14 JOHNSON & BURDON : J. Bact. 51, 591, '46.
- 15 細谷・添田：日本臨床 3, 289, '45.
- 16 高山瑞男：口述 '46.
- 17 LICHSTEIN : J. Bact. 52, 145, '46.
- 18 Bergey's Manual '30.

## Summary

A strain of *Bacillus* sp. isolated from "Kōso-hiryō—a peculiar mixture of cooked vegetables—showed some antagonistic character and its antibiotic activity to both gram positive and negative bacteria was tested and detected by several methods.

The organism was likely to be *Bacillus prausnitzii* or *B. tumescens* and was identified as a var. of the former. Some observations were shown about the influence of nutrients on the acetoin-production of the bacteria.