

好気性胞子形成桿菌類の抗生性に関する研究 Ⅱ ※

分離1菌株の抗菌力と培養条件との関係

松本宗人 (農産製造学研究室)

Muneto MATSUMOTO

On the Antibiotic Activity of Some Bacilli

(II) The relation between antibacterial potency and cultural condition concerning to one strain previously isolated (a var. of *B. prausnitzii* T.)

緒 言

前報(本誌, 143-1, 以下同様), に於て「柴田酵素」の「元種」から分離した好気性有孢子桿菌の2株(K8菌とK5菌)について性状を検討し, その1株(K8菌)が抗菌性を有することを確認し, 該菌が *B. prausnitzii* T. の1変種であると論じたが, 引き続き, 主として抗菌性物質生産に最適の条件を知る目的で, 該菌について抗菌力と各種培養条件等との関係に就ての実験を行って2~3の知見を得, 抗生物質の基質等も推論したので以下にその概要を報告する。

この研究は前報と同当時のもので御指導頂いた恩師片桐教授, 北原助教授に対して衷心より深謝申し上げる。

実験および考察

1. 各種培養基と抗菌力との関係

下記の如き各種の培地に K 8 菌を培養しそれぞれ抗菌力を検定した。

(1) 培養基 A. 肉汁普通濃度; 同高濃度; 同各種糖類添加; 肉汁, ペプトンの商品別等. 特記せぬ場合は肉エキスは「亜鉛印」を, ペプトンは「ポリペプトン」を常用した. B. 肉エキス汁(エキス1, 2, 3%; 食塩0.5%). C. ペプトン水(1~3%, 食塩0.5%); 同加糖. D. 酵母水: 圧搾酵母はクロロフォルム, 炭酸石灰添化, 37°C, 3日間自己消化後調製. E. 牛乳: 加温脱脂. F. 大豆汁: 風乾大豆60gより煮熟汁300mlをえたもの, 中和後ろ過, 比重1.020 G. 合成培地: 1) 無窒素 (KH_2PO_4 0.2%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{aq}$ 0.04%,

NaCl 0.5%, CaCl_2 0.01%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{aq}$ trace, Glucose 0.2%, 水道水); 2) 上記1) にペプトン1%添加; 3) 上記1) に Casein (Hammarsten) 1%添加; 4) 上記1) にアミノ酸を添加; 5) 上記1) に無機N源を添加. H. 上記の合成培地では繁殖が悪かったので組成を改めてみた. (K_2HPO_4 0.05%, KH_2PO_4 0.05%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{aq}$ 0.02%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{aq}$ 0.0005%, NaCl 0.2%, CaCl_2 0.01%, Glucose 0.5%); ペプトン, カゼイン, 無機N源等を添加. I. 上記の改良合成培地でも無機N源の場合は生育が悪かったので, この処方に麦芽汁(調製法普通)を加えて試験したところ, 無機N源の場合でも培地20mlに対して麦芽汁0.5mlを添加すれば(0.1ml添加で効果が認められた)充分繁殖して来ることを知り, 麦芽汁を添加した改良処法合成培地に上述各種N源を添加した培地についても試みた, この培地にはカゼイン水解物(ハマーステンカゼインを硫酸分解)も添加してみた。

(2) 培養 上述各種培地は何れも20mlを150ml容三角フラスコに入れ(表面積: 液容量=1.5強), 1気圧30分間殺菌, K8菌の斜面1白金耳を接種, 37°C静置。

(3) 抗菌力の検定 培養液のザイツ型器による無菌ろ液について, 稀釈法により黄色葡萄球菌寺島株(京大医学部微生物学教室)に対する効力を検定. 肉汁に1日培養した寺島株の菌液1滴を各検定管に加え37°Cに24時間培養後繁殖の程度を観察し, 対照管の繁殖による混濁度を標準として比較し抗菌力の強度を判定した. この表示法は次の如く設定した。

混濁度 (対照) ± + +~++ ++ ++~+++ +++(対照)
表示 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3

※ 納豆菌に関する生化学的研究 Ⅱ

また稀釈は次の2方法を随時適用した。

- 1) 稀 釈 率 2 倍 5 倍 10倍 20倍
 肉 汁 5 ml 5 ml 5 ml 5 ml
 培養ろ液 5 " 26滴 13滴 6 滴
 (滴数は容積を予め検定してきめた)

- 2) 肉 汁 5 5 5 5 ml
 培養ろ液 5 2 1 0.5 ml

(4) 結果 第1表に示した。

第1表 K8菌の各種培養液の抗菌力検定結果

培 地	培養 日数	PH	各稀釈液の 繁殖			備考
			× 2	× 5	× 10	
A 1 肉汁普通濃度 肉エキス 1% ペプトン 1% 食 塩 1% 水 道 水	0	7.0	2.5	3	3	a. 1)
	1	8.0	1	2	3	
	2	8.4	1	1.5	3	
	3	8.6	1	1.5	3	
	4	8.8	1.5	2	3	
	5	8.6	1.5	2	3	
	6	8.8	1.5	2	3	
	7	8.8	1.5	2	3	
	8	8.8	1.5	2	3	
	9	8.8	1.5	1.5	3	
10	8.8	1.5	2	3		
A 2 同 上 "ボン印"肉エキス を使用	0	7.0	3	—	—	
	3	8.0	1	2	3	
	1	8.6	1	2	3	
	5	8.8	1	2	3	
A 3 同 上 "ボン印"ペプトン を使用	0	7.2	3	—	—	a.
	1	8.0	1	2	3	
	3	8.4	1	2	3	
	5	8.8	1	2	3	
A 4 同 上 "ボン印"肉エキス "ボン印"ペプトン を使用	0	7.0	3	—	—	a.
	1	8.2	1	2	3	
	3	8.4	1	2	3	
	5	8.6	1	2	3	
A 5 同 上 "ボン印"肉エキス "フナイ"ペプトン を使用	0	7.0	3	—	—	a.
	1	8.0	1	2	3	
	3	8.6	1	2	3	
	5	8.6	1	2	3	
A 6 肉汁高濃度 肉エキス2%ほか普 通濃度	0	7.0	2	2.5	3	a. s.
	1	8.0	1	2	3	
	3	8.6	0.5	1	3	
	5	8.8	0.5	1.5	3	
	7	8.8	1	2	3	

A 7 同 上 肉エキス3%ほか普 通濃度	0	7.0	2	2.5	3	a. s.
	1	8.0	1	1.5	3	
	3	8.4	0.5	1	3	
	5	8.8	1	1.5	3	
A 8 同 上 ペプトン2%ほか普 通濃度	0	7.0	2	2.5	3	a. ss.
	1	8.0	0.5	1.5	3	
	3	8.8	0.5	1	3	
	5	8.6	1	1.5	3	
A 9 同 上 ペプトン3%ほか普 通濃度	0	7.0	2	2.5	3	a. ss.
	1	8.2	0.5	1.5	3	
	3	8.6	0.5	1.5	3	
	5	8.8	1	2	3	
A 10 同 上 肉エキス2% ペプトン2% ほか普通濃度	0	7.0	2	3	3	a. ss.
	1	8.0	0.5	2	3	
	3	8.8	0.5	1.5	3	
	5	8.8	0.5	1.5	3	
A 11 同 上 肉エキス3% ペプトン3% ほか普通濃度	0	7.0	2	3	3	a. ss.
	1	8.2	0.5	2	3	
	3	8.8	0.5	2	3	
	5	8.8	0.5	2	3	
A 12 肉汁加糖 A 1 + arabinose 1%	0	7.0	2.5	3	3	a.
	1	7.0	1.5	2	3	
	3	8.4	1	2	3	
	5	8.6	1.5	2.5	3	
A 13 同 上 A 1 + xylose 1%	0	7.0	2.5	3	3	a.
	1	7.0	1.5	2	3	
	3	8.4	1.5	2	3	
	5	8.4	1.5	2	3	
A 14 同 上 A 1 + glucose 1%	0	7.0	2.5	3	3	a.
	1	6.8	1.5	2	3	
	3	8.4	1.5	2	3	
	5	8.4	1.5	2	3	
A 15 同 上 A 1 + fructose 1%	0	7.0	2.5	3	3	a.
	1	6.8	1.5	2	3	
	3	8.4	1.5	2	3	
	5	8.6	1.5	2	3	
A 16 同 上 A 1 + galactose 1%	0	7.2	2.5	3	3	a. ss.
	1	7.4	0.5	1	3	
	3	7.6	0.5	1.5	3	
	5	7.8	0.5	1.5	3	

A 17 同 上	0	7.0	2.5	3	3	a.	C 4 ペプトン水加糖	0	7.0	3	—	—	b.
A 1	1	7.0	1	2	3		C 1	1	7.4	1	2	3	
+ sucrose 1%	3	7.8	1	2	3		+ xylose 0.5%	3	8.2	1	2	3	
	5	8.4	1	2	3			5	8.8	1	2	3	
A 18 同 上	0	7.0	2.5	3	3	a.	C 5 同 上	0	7.0	3	—	—	b.
A 1	1	7.0	0.5	1.5	3	ss.	C 1	1	7.0	1	2	3	
+ lactose 1%	3	7.6	0.5	1.5	3		+ glucose 0.5%	3	8.0	1	2	3	
	5	8.2	0.5	1.5	3			5	8.6	1	2	3	
A 19 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	C 6 同 上	0	7.0	3	—	—	b.
A 1	1	7.4	0.5	1.5	3	s.	C 1	1	7.0	1	2	3	
+ maltose 1%	3	8.4	1	1.5	3		+ fructose 0.5%	3	8.2	1	2	3	
	5	8.6	1	2	3			5	8.6	1	2	3	
A 20 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	C 7 同 上	0	7.0	3	—	—	b.
A 1	1	7.4	1	2	3		C 1	1	7.8	0.5	1.5	3	ss.
+ glycerine 1%	3	8.0	1.5	2	3		+ galactose 0.5%	3	8.0	0.5	1	3	
	5	8.0	1.5	2	3			5	8.2	0.5	1.5	3	
A 21 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	C 8 同 上	0	7.0	3	—	—	b.
A 1	1	7.6	1.5	2	3		C 1	1	7.0	1	2	3	
+ mannit 1%	3	8.0	1.5	2	3		+ sucrose 0.5%	3	8.0	1	2	3	
	5	8.0	1.5	2	3			5	8.4	1	2	3	
B 1 肉エキス水	0	7.0	2	3	3	a.	C 9 同 上	0	7.0	3	—	—	b.
肉エキス 1%	1	7.6	1.5	2	3		C 1	1	7.4	0.5	1.5	3	ss.
食塩 0.5%	3	8.4	1.5	2	3		+ lactose 0.5%	3	8.0	0.5	1.5	3	
水道水	5	8.4	1.5	2	3			5	8.2	1.0	1.5	3	
B 2 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	C 10 同 上	0	7.0	3	3	3	b.
肉エキス 2%	1	7.6	1.5	2	3		C 1	1	7.2	0.5	1.5	3	ss.
食塩 0.5%	3	7.8	1.5	2	3		+ maltose 0.5%	3	8.0	0.5	1.5	3	
水道水	5	8.2	1.5	2	3			5	8.4	1.0	2	3	
B 3 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	C 11 同 上	0	7.0	3	—	—	b.
肉エキス 3%	1	7.4	1.5	2	3		C 1	1	7.6	1	2	3	
食塩 0.5%	3	7.8	1.5	2	3		+ glycerine 0.5%	3	8.0	1	2	3	
水道水	5	8.0	1.5	2	3			5	8.0	1	2	3	
C 1 ペプトン水	0	7.2	2	3	3	a.	C 12 同 上	0	7.0	2	3	3	a.
ペプトン 1%	1	8.4	1.5	2	3		C 1	1	7.4	1	2	3	
食塩 0.5%	3	8.8	1	2	3		+ mannit 0.5%	3	8.0	1	2	3	
水道水	5	8.8	1.5	2	3			5	8.4	1	2	3	
C 2 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	D 1 酵母水	0	7.0	2	3	3	a.
ペプトン 2%	1	8.6	0.5	1.5	3	ss.		1	7.4	1	2	3	
ほか同上	3	8.8	0.5	1.5	3			3	8.0	1	2	3	
	5	8.8	0.5	1.5	3			5	8.4	1	2	3	
C 3 同 上	0	7.0	2	3	3	a.	D 2 同 上	0	7.0	2	3	3	a.
ペプトン 3%	1	8.4	0.5	1.5	3	ss.	5 倍濃度	1	7.2	1	2	3	
ほか同上	3	8.6	0.5	1.5	3			3	7.8	1	2	3	
	5	8.8	0.5	1.5	3			5	8.4	1	2	3	

E 牛乳	0	5.6	2	3	3	a. ss.
	1	5.0	1	2	3	
	3	7.0	1	1.5	3	
	5	7.4	0.5	1	2	
	7	7.4	0.5	1	2	
F 大豆煮熟汁	0	7.2	2	3	3	a.
	1	7.8	1.5	3	3	
	3	8.0	1	2	3	
	5	8.2	1	2	3	
G 1 合成培地 無窒素	0	6.8	1.5	2	3	a. n.
	3	7.2	1.5	2	3	
	5	7.2	1.5	2	3	
G 2 同上 G 1 +ペプトン 1%	0	7.0	3	3	—	b.
	1	7.4	1	2	3	
	3	8.0	1	2	3	
	5	8.0	1	2	3	
G 3 同上 G 1 + カゼイン 1%	0	7.0	3	3	3	b. ss.
	1	7.6	1	2	3	
	3	7.6	1	2	3	
	5	8.0	0.5	1	2	
G 4 同上 G 1 + glycine 0.4%	0	6.2	2.5	3	3	b. m. w.
	1	6.2	2	3	3	
	3	6.4	2	3	3	
	5	6.4	2	3	3	
G 5 同上 G 1 + asparagine 0.4%	0	6.4	2.5	3	3	b. o. w.
	1	6.8	2	3	3	
	3	7.4	2	3	3	
	5	7.6	2	3	3	
G 6 同上 G 1 + glutamic acid 0.4%	0	6.4	2.5	3	3	b. o. w.
	1	6.6	2	3	3	
	3	7.6	2	3	3	
	5	8.0	2	3	3	
G 7 同上 G 1 + NaNO ₃ 0.4%	0	6.8	1.5	3	3	b. m. w.
	1	7.0	1.5	3	3	
	3	7.4	2	3	3	
	5	7.6	2	3	3	
G 8 同上 G 1 + (NH ₄) ₂ SO ₄ 0.4%	0	6.8	2	3	3	b. m. w.
	1	7.0	2	3	3	
	3	7.0	2	3	3	
	5	7.2	2	3	3	
	7	7.4	2	3	3	
H 1 改良合成培地 無窒素	0	7.0	2	3	3	b. n. w.
	3	7.2	2	3	3	
	5	7.4	2	3	3	
	7	7.4	2	3	3	
H 2 同上 H 1 + ペプトン 1%	0	7.0	3	3	3	b.
	1	7.4	1	3	3	
	3	8.2	1	2	3	
	5	8.2	1	2	3	
H 3 同上 H 1 + カゼイン 1%	0	7.0	3	3	3	b. ss.
	1	7.6	1	2	3	
	3	8.0	1	2	3	
	5	8.0	0.5	1	2	
	7	8.4	0.5	1	2	
H 4 同上 H 1 + グリシン 0.4%	0	7.0	2.5	3	3	b. m. w.
	1	7.0	2	3	3	
	3	7.6	2	3	3	
	5	7.8	2	3	3	
H 5~7 同上 H 1 + NaNO ₃ 0.4% 又は (NH ₄) ₂ SO ₄ . NH ₄ NO ₃	0	7.0	2.5	3	3	b. m. w.
	1	7.0	2	3	3	
	3	7.0	2	3	3	
	5	7.4	2	3	3	
	7	7.8	2	3	3	
I 1 改良合成培地 麦芽汁添加 無窒素	0	7.0	2.5	3	3	b. m. w.
	3	7.4	2	3	3	
	5	7.4	2	3	3	
	7	7.6	2	3	3	
I 2 同上 I 1 + ペプトン 1%	0	7.0	3	3	3	b.
	1	7.6	1	2	3	
	3	8.2	1	2	3	
	5	8.2	1	2	3	
I 3 同上 I 1 + カゼイン 1%	0	7.0	3	3	3	b. ss.
	1	7.6	0.5	1	2	
	3	8.4	0.5	1	2	
	5	8.4	1	2	3	
I 4 同上 I 1 + カゼイン水解物 (カゼインに換算 して) 1%	0	7.0	3	3	3	b. ss.
	1	7.6	0.5	1	3	
	3	8.2	0.5	1	3	
	5	8.4	1	2	3	
I 5 同上 + glycine 0.4%N	0	7.0	3	3	3	b. m. w.
	1	7.4	2	3	3	
	3	7.6	2	3	3	
	5	7.6	2	3	3	
I 6 同上 I 1 + alanine 0.4%N	0	7.0	3	3	3	b.
	1	7.4	1	2	3	
	3	8.0	1	2	3	
	5	8.4	2	3	3	

I 7	同上 I 1 + leucine 0.4%N	0	7.0	3	3	b. w.
		1	7.4	2	3	
		3	7.8	2	3	
		5	8.2	2	3	
I 8	同上 I 1 + aspartic acid 0.4%N	0	7.0	3	3	b.
		1	7.4	1	2	
		3	7.8	1	2	
		5	8.4	1	2	
I 9	同上 I 1 + cystine 0.4%N	0	7.0	2.5	3	b. w.
		1	7.2	2	3	
		3	7.4	2	3	
		5	7.6	2	3	
I 10	同上 I 1 + glutamic acid 0.4%N	0	7.2	3	3	b.
		1	7.8	1	2	
		3	8.4	1	2	
		5	8.6	2	3	
I 11	同上 I 1 + arginine 0.4%N	0	7.0	3	3	b.
		1	7.6	1.5	3	
		3	8.4	1.5	3	
		5	8.4	2	3	
I 12	同上 I 1 + histidine 0.4% N	0	7.0	3	3	b.
		1	7.4	1.5	2	
		3	8.2	2	3	
		5	8.4	2	3	
I 13	同上 I 1 + NaNO ₃ 0.4% N	0	7.0	2.5	3	b. w.
		1	7.4	2	3	
		3	7.6	2	3	
		5	8.0	2	3	
I 14	同上 I 1 + (NH ₄) ₂ SO ₄ 0.4% N	0	7.0	2.5	3	b. w.
		1	7.0	2	3	
		3	7.0	2	3	
		5	7.4	2	3	
I 15	同上 I 1 + NH ₄ NO ₃ 0.4% N	0	7.0	2.5	3	b. w.
		1	7.4	2	3	
		3	7.8	2	3	
		5	7.8	2	3	

表示法本文中; 稀釈20倍の結果は省略した; a は稀釈方式の1), b は稀釈方式の2), 1) 培養6日目頃から混濁しはじめる; s は抗菌力や>強し; ssは抗菌力強し; n は殆んど繁殖せず; m は繁殖悪し; o は繁殖や>悪し; w は抗菌力弱しまたは認め難し。

(5) 考察 上の結果から; a) 常用培地の肉汁, 肉エキス水, ペプトン水, 酵母水, 牛乳, 大豆煮熱汁等では抗菌性を認め, 無機合成培地では組成を考慮すればやや繁殖するが生育悪く, 麦芽汁を添加した合成培地で

は繁殖はほぼ正常であったが抗菌力は認められなかった。カゼインやカゼイン水解物では顕著な抗菌力が認められ, 合成培地にアミノ酸をN源として添加した結果では, 供試した酸のうち, アスパラギン酸, グルタミン酸, アラニンの場合には抗菌力が確認され, アルギニン, ヒスチチンでも抗菌力があるらしく観察され, グリシン, ロイシン, シスチン等の場合には認められなかった。これらのアミノ酸を加えた合成培地では何れもほぼ正常か正常な生育を示したので, 抗菌性物質はアミノ酸混合物または数種の特定のアミノ酸をN源とする培地では生産されるという興味ある知見を得た。なお, 肉エキスやペプトンの商品別の比較結果は差異を認め難かった。b) 特定培地において特に高い抗菌力を発現することは認められなかったが, 牛乳やカゼイン等では他の培地よりも顕著な発現を認め, また糖の添加によってガラクトースや乳糖や麦芽糖の場合には抗菌力が上昇顕著となる傾向を認めた。これは他の種々の糖を添加した結果と比較して, 糖添加により生育を旺盛にするが如き影響とは考え難く, ガラクトース分子の特異作用か, または乳糖や麦芽糖のマルトース型結合の如き構造の影響か何れとも判断し難い。肉エキスとペプトンではペプトンの方が抗菌力発現には有効な結果を認めた。これらの結果や酵母水の高濃度のものとの差異のない結果などから抗菌性物質がその基質の質によって生産を左右されることはあっても, 量的に生産量が大きく左右されることは認め難く, 従って抗菌性物質は所謂発酵産物とは考え難く狭義の代謝産物と考えられる。c) 合成培地に麦芽汁を少量添加して, 生育が著しく改善されることから, 供試菌に必要な微量要素があってそれが麦芽汁に含まれていることが推論され, その耐熱性は加圧殺菌に耐える程度に強いものと見られる。d) 培養日数と抗菌力との関係を見ると, 一般に培養1日にして抗菌力を発現して後に低下する傾向を認めるが消失してしまうことはないようである。e) 以上より抗菌力の特に高く現われる培地を見出すことは出来なかったが, 一般性のある培地としてはペプトン水(2%程度)に或る種の糖を添加するとかなり顕著な抗菌力を与えることを知った。この実験で抗菌性物質の生成機作についての推察も行なわれようが後報にゆづる。

2. 培養法と抗菌力との関係

(1) 培養温度との関係 ペプトン2%, 食塩0.5%, 水道水の培地で, 25°, 30°, 35°, 37°, 41~42°Cの各温度に培養(条件は前出同様)して抗菌力の差同を検定し, 第2表に示す結果を得た。35°C以上では繁殖も殆んど同程度に旺盛で, 抗菌力は培養1日後で強く現われるが, 30°, 25°Cでは順次に繁殖が遅れ抗菌力は2日後に

第2表 培養温度と抗菌力との関係 (K8菌, 寺島株)

培養温度	培養日数	PH	抗菌力(被検菌の繁殖)			稀釈法
			2倍	5倍	10倍	
41~42°C	0	7.2	2	3	3	a
	1	8.6	0.5	1.5	3	
	3	8.8	0.5	1.5	3	
	5	9.0	0.5	1.5	3	
37	1	8.6	0.5	1.5	3	a
	3	8.8	0.5	1.5	3	
	5	8.8	0.5	1.5	3	
35	1	8.4	0.5	1.5	3	a
	3	8.8	0.5	1.5	3	
	5	9.0	0.5	1.5	3	
30	1	8.4	1	2	3	a
	2	8.8	0.5	1.5	3	
	3	8.8	0.5	1.5	3	
	5	8.8	0.5	1.5	3	
25	1	8.0	1	2	3	a
	2	8.0	0.5	2	3	
	3	8.6	0.5	1.5	3	
	5	9.0	0.5	1.5	3	

表示法は第1表に同じ。

強くなった。従って抗菌力は温度によって発現速度に影響されるのみでこれは単に菌の生育速度に関することで最高抗菌力も温度による差異がなかった。

(2) 通気培養による影響 供試菌が好気性なので通気培養を行って静置培養と比較した。通気は底面近い側面に直立側管を有する棚付三角瓶に側管から滅菌ろ過綿を経て空気を導くために瓶口にガラス管をつけたゴム栓を施しこの管からろ過綿を経て水流ポンプで引いて通気した。培地は(1)と同じく、表面積：液容比は通気と静置共に1として37°Cで培養し第3表の結果を得た。すなわち、通気培養液の抗菌力は静置のそれよりも早く現

第3表 酸素分圧と抗菌力 (K8菌) (稀釈方式a)

培養法	接種菌量	培養日数	PH	抗菌力(被検菌繁殖)		
				2倍	5倍	10倍
対照	—	0	7.2	3	3	3
静置	1白金耳	1	7.4	0.5	1.5	2.5
通気	〃	1	7.8	0.5	0.5	2
静置	〃	3	8.6	0.5	1	2.5
通気	〃	3	8.6	0.5	0.5	1.5
静置	培養液 ¹⁾	1	7.6	0.5	1.5	2.5
通気	〃	1	8.0	0.5	0.5	2
静置	〃	3	8.6	0.5	0.5	0.5
通気	〃	3	8.8	0.5	0.5	2

被検菌は葡萄球菌寺島株；表示法は第1表に同じ；

1) 予め培養せる培養菌液を10%の割合に添加。

われ、かつ、幾分強い。菌の接種量を加減して比較した場合もこの傾向が明かで、これは通気による繁殖速度の促進や繁殖能の増強や代謝能力の増大等によるものと解釈できる。

3. 培養液の加熱による抗菌力の変化

前報で培養液の除菌ろ液を加熱しても抗菌力従って抗菌性物質は安定であることを知ったが、この辺の消息を確認するために、培養液やその除菌ろ液を加熱処理して抗菌力を検定してみた。処理方法と結果は第4表に示す如くである。すなわち、加熱処理によって培養液のPH

第4表 培養液の加熱処理による抗菌力の変化

供試液	PH	被検菌の繁殖		
		2倍	5倍	10倍
1), 2)無処理対照	7.8	0.5~1.0	2	3
1) 処理	8.2	0.5	2	3
2) 処理	8.2	0.5~1.0	2	3
1), 2)無接種対照	7.2	3	3	3
3), 4)無処理対照	7.8~8.0	0.5	2	3
3) 処理	8.2	0.5	2	3
4) 処理	8.2	0.5	2	3
3), 4)無接種対照	7.0	3	3	3

供試菌 K8 菌；被検菌は葡萄球菌寺島株；表示法は第1表に同じ；※)：1) ペプトン2%，麦芽糖0.5%，食塩0.5%，水道水の培地 40ml に K8 菌を接種し 37°C，2日の培養液を、冷却管をつけて沸騰湯浴中に30分間加熱後ザイツ型器で無菌ろ過したろ液；2) 上記と同様の培養液をザイツ無菌ろ液として菌体を除いて、上記同様の加熱処理して再びザイツろ液としたもの；3) 培養基の1)の麦芽糖を乳糖に代え、加熱時間を1.5時間としたほか1)と同様の処理せるもの；4) 培養液は、加熱処理は3)と同じ、除菌後加熱処理を2)に準じて行ったもの。

はわずかに上昇することと抗菌力は変化しない結果とを得た。また菌体を存したまま加熱した場合には除菌ろ液を加熱したものよりも抗菌力がやゝ高くなる結果を得た。このことは菌体内に抗菌性物質が存在し、且つ加熱によって溶出することを暗示する。よって菌体を水に懸濁して加熱した抽出液について抗菌力を検定してみた。その方法と結果は第5表の如くで、菌体内に抗菌性物質が存在し加熱によって水に溶出することが顕著ではないながらも確認された。

4. 培養液のPHと抗菌力との関係

第5表 菌体の熱水抽出処理液の抗菌力

供 試 液	PH	抗菌力 (稀釈液の被検菌繁殖)		
		2 倍	5 倍	10倍
抽 出 液	7.6	0.5	2	3
対 照	8.0	2	3	3

※麦芽糖添加 (0.5%) ペプトン (2%) 水 (0.5%) 食塩、水道水) 40ml に K8 菌を培養 37°C, 2日の菌苔 (菌膜) 5本分を集め、水道水で2回洗浄して40mlの水道水 (PH 8.0に NaOH 液で調節) に入れて沸騰湯浴中に 1.0 時間加熱し、ザイツ無菌ろ液として供試して、対照水道水と比較。被検菌は寺島株。表示法は第1表と同じ。

供試菌の培養液は普通 PH 7.0~9.0 のアルカリ側にあり、従来の抗菌力検定では培養液の PH は修正しないで実験を進めて来たがまたこの PH の影響は無視しうるものと考えたが、供試菌の抗菌力が極めて微弱である関係上種々の条件を慎重に検討すべきものと再考して、培養液の PH を 6.4 と 8.6 の 2~3 点に修正して抗菌力との関係を検討した結果は第6表の如くで、両者間に格別の関係はないことを確認した。

第6表 培養基と培養液の PH と抗菌力との関係 (上欄) と培養液に新しい培地を加えて培養した場合の抗菌力 (下欄) (K 8 菌 : 被検菌葡萄球菌寺島株)

供 試 液	PH	稀釈液の抗菌力		
		2 倍	5 倍	10倍
培養基(対照) ^{※1}	8.8, 8.0, 7.0, 6.2何れも	3	3	3
培養ろ液	8.6 無修正	0.5	1.5	3
"	8.0 稀塩酸で修正	0.5	1.5	3
"	7.0 "	0.5	1.5	3
"	6.4 "	0.5	1.5	3
1 ^{※2}	8.0	0.5	1.5	3
2	8.0	0.5	1.5	3
3	8.8	0.5	1.5	3
4	8.8	0.5	1.5	3
対 照	7.0	3	3	3

※1 : 培地はペプトン 2% ガラクトース 0.5%, 食塩 0.5%, 水道水。PH 7.0, K 8 菌を接種, 37°C, 3日培養。対照は NaOH で PH を調節。 ※2 : 培地同上 (但しペプトン 0.5%)。1 : 40ml, 2日培養。2 : 同上培養液に新培地を等量添加してさらに 2日培養。3 : 同上 4日培養。4 : 同上 6日培養。

5. 抗菌性物質に対する推察

以上の実験結果から、供試菌の生産する抗菌性物質は

熱に安定で、培養期間中の或る 1 時期に現われて速やかに消失するか如きものではない様であるが、これまでの実験で培養日数の進むにつれて抗菌力が現われてからやゝ低下する傾向があるように見られる様でもあるので、該物質が菌によって再び資化吸収されるかを推量するために、培養後の液に新しい培地を添加し培養して抗菌力の消長をしらべてみた。該物質がペプトンを基質とするらしい考えから、この実験ではペプトン含量を特に低くして行い、第6表に示す結果を得た。すなわち、前培養液中の抗菌力は後培養において破壊または資化吸収されて消失することはないものと判断される。なお、抗生物質の生産がペプトン水に於て培養後速やかに認められ、また、カゼインに於てはペプトン化が進んでから認められ、同水解物やアミノ酸培地では培養後速やかに認められること等から、該物質がペプチドが分解される過程に生産されるものでなく、アミノ酸 (とその他の物質と?) から合成されるものと推察され、また通気培養において抗菌力発現が顕著なことから、菌発育量に比例して該物質も生産されるものか或いは酸化的代謝過程に於て生産されるものかと推察される。

要 約

1. *B. prausnitzii* T. の 1 種と同定した分離菌の抗菌力を各種培養基について検討した結果、肉汁、ペプトン水、肉エキス水、酵母水、大豆煮熱汁、牛乳、カゼイン等の培地に於て明瞭な活性を示すことを知った。
2. カゼイン水解物や数種の アミノ酸 (グルタミン酸、アラニン、アスパラギン酸、アルギニン、ヒスチジン) を 1 種のみ含有する合成培地に於ても抗菌力を示す。
3. 無機 N 源やグリシン、ロイシン、シスチン等を含む合成培地では抗菌力が殆んど現われない。
4. 供試菌は麦芽汁中に存在する熱に安定な微量栄養素を必要とするらしい。
5. 牛乳、カゼイン、ペプトン等の培地ではやゝ高い抗菌力を発現する。また、数種の糖 (ガラクトース、乳糖、麦芽糖) の 1 種を添加すると抗菌力が顕著となる。
6. 通気培養液の抗菌力は静置培養のそれよりもやゝ顕著である。
7. 抗菌力は加熱、PH、培養日数、培養温度等では格別の影響をうけない安定なものである。
8. 菌体内にも抗菌性物質が存在し、加熱すると水中に溶出するようである。

Summary

The antibiotic potencies of the culture fluids of the strain of *B. prausnitzii* T. were observed on many kinds of media, on various conditions of culture and on the culture fluids variously treated.

The potencies of the culture fluids were observed to be distinguished in Bouillion, peptone water, yeast extract, soybean extract, milk, casein and salts media containing casein hydrolysate or such one amino acid as glutamic acid, aspartic acid, alanine, arginine and histidine.

The potency increased by the addition of any of such sugars as galactose, lactose and maltose to the media above mentioned.

The potency was not almost detected in any salt media containing mineral N-compounds or any of glycine, leucine and cystine as N-source.