

# 原 著

## 數種無蛋白培地ニ於ケル結核菌ノ發育ト 「ツベルクリン」產生トノ關係 結核菌ノ發育ニ關スル研究 (其ノ2)

九州帝國大學醫學部細菌學教室(主任 戸田忠雄教授)

醫學士 吉 田 長 之

### 目 次

緒 論	第五項 培地 PH ノ移動ト「ツベルクロプロ テイン」產生能
第一章 實驗方法	第六項 「ツベルクロプロテイン」沈澱量ト「ツ ベルクリン」皮内反應
第一節 使用菌株	第二節 水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱 ニ必要ナル水素「イオン」濃度ノ限界ニ 就テ
第二節 實驗操作	第一項 實驗方法
第三節 使用各培地ノ製法	第二項 實驗成績
第二章 實驗成績	總括並考按
第一節 「ツベルクリン」產生ト培地成分	結 論
第一項 各培地成分ト結核菌發育量	文 獻
第二項 培養濾液ニ、三鹽化醋酸ヲ附加セル 場合ノ沈澱物浮游狀況	附圖説明
第三項 三鹽化醋酸附加後遠心法ニヨル沈澱 狀況	附 圖
第四項 各種沈澱劑ニヨル「ツベルクロプロ テイン」沈澱量ノ比較	

### 緒 論

結核菌發育培地トシテハ數多ノ合成培地アリ、就中「ツベルクリン」產生ノ目的ヲ以テ特ニ考案セラレタル培地ハ極メテ多シ。1929年 Henley<sup>(1)</sup>ハ「ツベルクリン」產生培地トシテ理想的ナルハ、次ノ條件ヲ必要トスト言ヘリ。即チ最短期間内ニ、而モ發育菌量最モ多キ培地タルコトヲ要スト。

斯ノ意味ニ於テハ Henley and Le Duc<sup>(2)</sup>(1930)等ノ Ammonium malate 培地ハ Henley 氏「アスバラギン」含有培地ヨリ、「ツベルクリン」

產生用培地トシテハ遙カニ劣ルワケナリ。其ノ後 White<sup>(3)</sup>(1934)ハ Purified Protein Derivative (P.P.D.)ヲ製作スル際、使用合成培地内ノ「アスバラギン」含有量ヲ大量トナスコトニヨリ、培養結核菌ノ發育ヲ良好トナシ、而カモ豫想以上ノ蛋白分子量ヲ獲得スルコトニ成功セリ。Wong and Weinzirl<sup>(4)</sup>(1936)ハ頗ル經濟的ナル培地ヲ發表シ、其ノ際他ノ培地ト比較スル條件トシテ、發育菌量ノ大小ノミヲ以テシ、「ツベルクリン」產生能ニ關シテハ觸レザリキ。

他方、近年ニ至リ、多クノ學者ニヨリテ、「ツベルクロプロテイン」抗元ハ結核ノ免疫及ヒ脱感作實驗ニ使用セラルル傾向多ク必然的ニ次ノ如キ幾多ノ疑問ヲ生ズルニ至レリ。

即チ、(1)諸種合成培地内ニ於ケル「ツベルクリン」產生能ナルモノハ、從來考ヘラレタル如ク、結核菌ノ發育量ト平行スルモノナリヤ。

(2)然リトスレバ、「ツベルクリン」產生ニ及ス要約トシテ、發育菌量以外ニ別種ノ因子アリヤ。

(3)合成培地内ニ於テ產生セラルル「ツベルクロプロテイン」沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應強度ト相平行スルモノナリヤ。

然ルニ是等ノ問題ニ關シテ詳細ニ研究セル者少ク、僅ニ次ノ如キ人々ノミナリ。即チ、1928年 Seibert<sup>(6)</sup>ハ Synthetic medium tuberculin (S.M.T.)研究報告ニ於テ Tuberculoprotein 產生量ト培養期間トノ關係ヲ論ジ、1934年同氏<sup>(7)</sup>ハ P.P.D.ノ分離實驗中、同型ノ或ル結核菌株ハ他結核菌株ノ三倍量ノ「ツベルクリン」ヲ產生セシコトヲ經驗セリ。

1937年 Wong<sup>(8)</sup>ハ「グリセリン」ヲ含有セズ而

モ「ツベルクリン」產生能大ナル培地ヲ製セリ。該培地ハ Long<sup>(9)</sup>氏培地ノ3分ノ1ノ代價ニテ濟ミ、「グリセリン」ノ代用物トシテ葡萄糖ヲ用ヒタリ。而シテ、培養ノ途中ニ於テ、培地ヲ「アルカリ」側ニ移動セシムルトキハ「ツベルクリン」產生能大トナリ、且ツ、培地ヲ「アルカリ」側ニナス際、Long培地ニ比シ、菌發育量約半量ナルニ、其ノ「ツベルクリン」收量ハ三倍量ニ相當セシコトヲ報告シ、結核菌ノ發育量ト、「ツベルクリン」產生能トハ必ズシモ平行スルモノニアラザルコトヲ實證セリ。

何レニセヨ、實際問題トシテ、種々ノ目的ニ、「ツベルクリン」ヲ使用セントスル際、吾人ノ希望トスル所ハ、最短期間一、最大量ノ「ツベルクリン」ヲ產生シ、而カモ價格低廉ナル培地タルコトナリ。

偶々著者ハ、結核菌ノ發育竝ビニ「ツベルクリン」產生ニ及ボス培地ノ諸要約ニ就テ、研究シツツアリ。茲ニハ今日迄ニ得タル成績ノミヲ報告シ將來ノ研究ニ資セントス。

## 第一章 實驗方法

### 第一節 使用菌株

本教室ニ保存ノ人型強毒菌F株ヲ用ヒタリ。約1ヶ月ニシテ最高發育ニ達シ「ツベルクリン」產

生ノ研究ニ便利ナル菌株ナリ。

### 第二節 實驗操作

豫メソートン氏培地一3週間培養セル結核菌ノ菌膜ヲ直徑7mmノ大型渦卷白金耳ヲ以テ略々等量宛取り「ツベルクリン」產生用ノ「コルベン」ニ移植ス。各「コルベン」内ノ培地容量ハ便宜上200ccトシ、實驗ノ精確ヲ期センガため、同條件ノ「コルベン」4個宛ヲ使用セリ。

菌移植後6週乃至8週ニシテ、各「コルベン」ヲ100°C、20分滅菌シ、濾紙ヲ以テ、「ツベルクリン」含有濾液ヲ濾過シ、該濾液ニ就キテ「ツベルクロプロテイン」含有量ヲ測定セリ。

#### 「ツベルクロプロテイン」測定方法

100度20分滅菌セル上述原濾液ノ適當量ヲ遠心管ニトリ、1分間3000廻轉遠心器ニテ遠心沈澱シ上清ヲ滅菌試験管ニトリ、該液ヲ0.5cc、1.0cc、2.0cc宛濁沈澱管ニ入レ、各々等量ノ20%三鹽化醋酸溶液ヲ加ヘ、24時間氷室ニ保存シ、沈澱物浮遊狀況ヲ觀察シタル後、再ビ1分間3000廻轉遠心器ヲ使用シ、30分間遠心シ、沈渣ヲ讀ムコトトセリ。而シテ、直チニ此ノ値ヲ以テ「ツベルクロプロテイン」量ト見做シタ

リ。  
「ツベルクロプロテイン」沈澱劑トシテハ後述スル如ク、三鹽化醋酸ノ代リニ、「ズルフォザリチール」酸、5%「メタ」磷酸、エスバ、ハ氏試薬、

燐「タンゲステン」酸、10%加里明礬ヲモ用ヒ、比較對照セリ。  
水素「イオン」濃度測定ニハ比色法ヲ用ヒタリ。

### 第三節 使用各培地製法

使用培地トシテハ次ノ如キモノヲ用ヒタリ。  
培地番號(3) Long<sup>(6)</sup>氏人工培地 Long and Seibert, 1926)

Wasser	1000cc.
Glyzerin	50cc.
Magnesium sulphate	1.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	3.0 g
Na carbonate	3.0 g
Asparagin	5.0 g
Eisen-Amm-citrate	0.05 g
Ammonium-citrat	5.0 g

PH 7.2 = 修正シ、各「コルベン」= 200cc宛分注シ、100°C 30分3日間滅菌ス。

培地番號(4) Glukose-Maltose medium

A液

Malic acid, the inactive form	10g
Ammonium hydroxide (10 per cent Solution)	40cc.
Potassium acid phosphate	3g
Sodium chloride	2g
Magnesium sulphate	1g
Ferric ammonium citrate	0.04 g
Distilled water	900cc.

以上ヲ加熱溶解シ、沈澱ヲ生ズル故ニ、濾紙ニテ濾過シ、内容 500cc. ノ「フラスコ」ニ 180cc. 宛分注シ、100°C 30分1回滅菌シ之ヲA液トシ、下記ノB液ヲ調製シ之ニ加へ、100°C 15分3回滅菌ス(A液 180cc.+ B液 20cc.)。

B液

Glukose	50 g
Maltose	10 g
Distilled water to make	100cc.

B液ハ 20cc宛試験管ニ分注シ 100°C 15分1回滅菌ス。

培地番號(7) Sauton 氏人工培地

Wasser	940cc.
Glyzerin	60cc.
Mag sulfat	0.5 g
Asparagin	4.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
Acid, citric	2.0 g
Eisen Amm citrat	0.05 g

PH 7.2 = 修正シ、各「コルベン」= 200cc宛分注シ 100°C 30分3日間滅菌ス。

培地番號(6) Sucrose-Glukose medium

A液

Malic acid, the inactive form	10g
Ammonium hydroxide (10 per cent solution)	40cc.
Potassium acid phosphate	3g
Sodium chloride	2g
Magnesium sulphate	1g
Ferric ammonium citrate	0.04 g
Distilled water	900cc.

以上ヲ加熱溶解シ PH 7.2 トシ、濾紙ニテ濾過シ、各「コルベン」= 180cc. 宛分注シ、100°C 30分1回滅菌ス。

B液

Sucrose	50 g
Glukose	10 g
Distilled water to make	100cc.

B液ハ 20cc宛試験管ニ分注シ 15分滅菌シ、A液 180cc.ニ附加シ後、100°C 15分2回滅菌ス。

培地番號(2) Glukose-Sucrose medium

A液

Malic acid, the inactive form	10g
Ammonium hydroxide (10 per cent Solution)	40cc
Potassium acid phosphate	3g
Sodium chloride	2g
Magnesium sulphate	1g
Ferric ammonium citrate	0.04g
Distilled water	900cc

以上ヲ加熱溶解シ、PH 7.2 =修正シ、濾紙ニテ濾過シ、各「コルベン」ニ 180 cc 宛分注シ、100°C 30 分 1 回滅菌ス。

B液

Glukose	50 g
Sucrose	10 g

Distilled water to make 100cc

B液ヲ 20cc 宛試験管ニ分注シ、15 分滅菌シ、A液 180 cc =附加シタル後、100°C 15 分 2 回滅菌ス。

培地番號 A 味ノ素含有培地 (Sauton 氏變法)

Wasser	940cc
Glyzerin	60cc
Mag. sulfat	0.5 g
Ajinomoto (味ノ素)	8.0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
Acid citric,	2.0 g
Eisen Amm, citrat,	0.05 g

以上ヲ加熱溶解シ、PH 7.2 トシ、濾紙ニテ濾過シ「コルベン」ニ 200cc 宛分注シ、100°C 30 分 3 回滅菌ス。

## 第二章 實驗成績

### 第一節 「ツベルクリン」產生ト培地成分 (實驗第一)

結核菌培地成分トシテ極メテ重要ナル因子タル「グリセリン」含有培地並ニ「グリセリン」不含培地ノ數種ヲ使用シ、各培地ニ於ケル人型菌ノ發育量ト「ツベルクロブロテイン」量トガ果シテ並行スルモノナリヤ否ヤヲ檢スルタメニ本實驗ヲ行ヒタリ。

#### 第一項 各種培地成分ト結核菌發育量

第一表ノ如ク、實驗ニハ各 4 個宛ノ「コルベン」ヲ使用セリ。ソノ結果ハ Long 氏培地ハ最モ發育可良ニシテ、「味ノ素」加培地 (ソートン氏變法) 之ニ次ギ、「グリセリン」不含 Glukose-Maltose (5:1) 培地、ソートン氏培地、「グリセリン」不含 Sucrose-Glukose (5:1) 培地、「グリセリン」不含 Glukose-Sucrose (5:1) 培地ノ順序ナリ。

而シテ Glukose-Maltose (5:1) 培地ハ人型結核菌發育要素タル「グリセリン」ヲ含マザルニモ不拘「グリセリン」含有ソートン氏培地ヨリモ發育勝レリ。本事實ハ「グリセリン」ヲ含有セズトモ、糖類ヲ適當ニ選擇スル場合ニハ、結核菌發

育培地トシテ可成り優秀ナル培地タリ得ルコトヲ示スモノナリ。然レドモ Sucrose-Glukose 培地及ビ Glukose-Sucrose 培地ハ他培地ニ比較シテ、發育餘リ良好ナラズ。「グリセリン」ノ代リニ糖類ヲ以テ代用スル際ニハ、糖類ノ種類並ニ其ノ量的關係ニ重大ナル關係アルモノト思惟セラル。從ツテ此ノ難點ヲ避クル簡易ナル方法トシテ、依然トシテ「グリセリン」ハ Kohlen-

第 1 表 人型 F 株 7 週培養ニ於ケル發育狀況

培地	菌發育狀況			
	培養基「コルベン」番號			
	I	II	III	IV
3. Long's medium	+++	+++	+++	+++
4. Glukose-Maltose medium (5:1) non Glycerol	++	++	++	++
7. Sauton's medium	++	++	++	++
6. Sucrose-Glukose Medium (5:1) non Glycerol	+	+	+	+
2. Glukose-Sucrose Medium (5:1) non Glycerol	+	±	-	-
A. 「味ノ素」加培地 (ソートン氏變法)	+++	+++	+++	+++

第 2 表 人型 F 株 50 日培養ニ於ケル培養濾液 = 三鹽化醋酸ヲ加ヘタル場合ノ狀況

培 地	CCl <sub>3</sub> COOH 添加直後ニ於ケル白濁狀況			CCl <sub>3</sub> COOH 添加後 24 時間ニ於ケル沈澱物浮遊狀況		
	沈澱管内ノ原濾液量			沈澱管内ノ原濾液量		
	cc. 0.5	cc. 1.0	cc. 2.0	cc. 0.5	cc. 1.0	cc. 2.0
3. Long's med	+++	+++	+++	++	++	++
4. Glukose-Maltose Med	++	++	++	+++	+++	+++
7. Sauton's med	++	++	++	++	++	++
6. Sucrose-Glukose Med	+	+	+	+	+	+
2. Glukose-Sucrose Med	+	+	+	+	+	++
A. 「味ノ素」加培地	+++	+++	+++	+++	+++	+++

stoffquelle トシテ重要ナル要素タル位置ヲ失ナハズ。

第二項 三鹽化醋酸附加ニヨル沈澱物生成狀況

第 2 表ノ如ク、沈澱管内ノ濾液量ヲ 0.5cc、1.0 cc、2.0cc ノ三組ニ分ケ各培地ノ原濾液ニ三鹽化醋酸ヲ加ヘタル直後ノ濾液ノ白濁狀況及ビ、24 時間氷室靜置後ノ沈澱物生成狀況ヲ比較スルニ、「味ノ素」加培地ハ最大ナレドモ、純粹ノ Aminosäure ナラザル故ニ之ヲ除クトキハ、添加直後ニ於テハ Long 氏培地、Sauton 氏培地、Glukose-Maltose 培地、Glukose-Sucrose 培地、Sucrose-Glukose 培地ノ順ナリ。三鹽化醋酸添

加後氷室 24 時間放置後沈澱物浮遊狀況ハ、添加直後ト異ナリテ、Glukose-Maltose 培地、Long 氏培地、Sauton 氏培地、Glukose-Sucrose 培地、Sucrose-Glukose 培地ノ順序ニシテ、後述スル如ク、鳥瀉氏沈澱管ニヨリテ遠心沈澱シタル後ノ實際上ノ沈澱量ト比較スルニ、白濁ニヨル外見上ノ沈澱量推定ハ不確實ナルヲ知ルベシ。

第三項 三鹽化醋酸添加後遠心ニヨル沈澱量

第 3 表ノ如ク、鳥瀉氏沈澱管内ニ菌培養後ノ濾液ヲ 0.5cc、1.0cc、2.0cc 宛注入シ、之ト各々同量ノ 20% CCl<sub>3</sub>COOH ヲ注加シ 24 時間氷室ニ保存シタル後之ヲ毎分 3000 廻轉遠心器ヲ以テ 30 分間遠心シタル後、其沈澱量ヲ目盛ヲ以テ測定セリ。各培地ノ「ツベルクリン」產生能力ハ Glukose-Maltose 培地、Long 氏培地、Sauton 氏培地、Glukose-Sucrose 培地、Sucrose-Glukose 培地ノ順ニシテ、之ヲ各培地ノ結核菌發育量ト比較スルニ、Glukose-Maltose 培地ハ、Long 氏培地ヨリモ發育劣レルニモ拘ハラズ、「ツベルクロプロテイン」產生能力ハ却テ優レリ、且ツ Glukose-Sucrose 培地ハ Sucrose-Glukose 培地ヨリモ發育劣レルニ、第 3 表ノ如ク、「ツベルクロプロテイン」沈澱量ハ多シ。然ルニ一方、Long 氏培地ト Sauton 氏培地トヲ比較スルニ、前者ノ發育量ハ後者ヨリモ遙カニ勝ル、然ルニ「ツベルクリン」產生能ハ少シク勝レタルノミ。

第 3 表 人型 F 株 50 日培養濾液中ノ Tuberculoprotein 沈澱量

培 地	發 育 菌 量	濾液ノ PH	CCl <sub>3</sub> COOH = ヨル沈澱量		
			沈澱管内ノ原濾液量		
			0.5cc	1.0cc	2.0cc
3. Long's medium	+++	6.2	2.5	4.0	6.8
4. Glukose-Maltose Med	+++	7.4	3.2	5.1	7.6
7. Sauton's med	++	7.6	2.1	3.5	6.0
6. Sucrose-Glukose Med	+	7.4	1.9	2.5	3.2
2. Glukose-Sucrose Med	+(土、一、一)	7.2	2.5	4.0	4.7
A. 「味ノ素」加培地	+++	7.8	3.8	5.8	8.5

Sucrose-Glukose 培地及 Glukose-Sucrose 培地ハ發育量、並ニ「ツベルクリン」產生能力兩者共ニ他種培地ヨリモ遙カー劣ル。

「味ノ素」加ソートン氏培地ノ沈澱量ハ甚ダ多シ。サレド、「味ノ素」自身、Glutaminsäures Natrium 以外ノ不純物ヲ含ム故ニ、上述培地ト同條件ノ許ニ比較シ得ズ。

以上ニヨリテ、菌發育量ト「ツベルクリン」產生能ハ必ズシモ平行セズ、却ツテ、逆現象ヲ示スコトアルヲ知レリ。即チ菌發育量多キ培地ハ、「ツベルクリン」產生用培地トシテ必ズシモ、適切ナリト謂ヒ難シ。

今回ノ實驗=於テ Glycerol ヲ含有セザル Glukose-Maltose 培地ハ甚ダ優秀ナリシコトハ興味アル點ナリ。

更ニ培養濾過液ノ PH ト Tuberculoprotein 沈澱量トヲ比較スルニ、菌發育量甚ダ多キニ拘ハラズ沈澱量少キ、Long 氏培地ハ PH 6.2 ナルニ Glukose-Maltose 培地ハ PH 7.4 ニシテ「アルカリ」性ヲ示シ、他ノ培地モ第 3 表ノ如ク「アルカリ」性ナリ。即チ培地ノ終末水素「イオン」濃度ハ、「ツベルクリン」產生能ト密接ナル關係アルモノノ如ク、第 4 表ニ示ス如ク、PH ヲ「アルカリ」側ニナストキハ「ツベルクリン」產生能増大スルモノノ如シ。

第四項 各種沈澱劑ニヨル「ツベルクロ  
プロテイン」沈澱量ノ比較

第 4 表記載ノ如ク Tuberculoprotein 沈澱用試藥トシテ下記ノ如キモノヲ使用セリ。

1) 三鹽化醋酸 10% 溶液ヲ使用シ、培養濾液

ニ對シ該液 2 cc ヲ附加シ、遠心沈澱シ、沈澱量ヲ目盛ニテ測定シ記入セリ。以下ノ試藥ニ就テモ、同一方法ヲトレリ。

2) 「スルフォサリチール」酸 20% 溶液ヲ使用セリ、即チ該製法ハ 13 瓦ノ「サリチール」酸ヲ 10cc ノ濃硫酸ニ溶解シ、100cc ニ稀釋セルモノヲ用ヒタリ。

3) 5% 「メタ」燐酸液  
Acidum phosphoricum glaciale meta pro analysi (Schering-Kahlbaum) ヲ碎キ、ソノ 5 瓦ヲ水ニ溶解シ全量ヲ 100cc トナス。但シ溶解スル際加熱ヲ避ク、而シテ使用時以外、之ヲ氷室内ニ貯藏スルトキハ少クトモ約 1 箇月半ハ不變ナリ。

4) 「エスバッハ」試藥 「ピクリン」酸 10 瓦、枸橼酸 20 瓦ヲ蒸溜水ニ溶解シ 1000cc トス。黄色ノ溶液ナリ。

5) 燐「タングステン」酸溶液  
5% 硫酸水中ニ 30% ノ割合ニ燐「タングステン」酸ヲ溶解セルモノ。

6) 10% 加里明礬液、成ル可ク精製セラレタルモノヲ用ヒタリ。

以上ノ如キ蛋白沈澱劑ヲ用ヒテ、人型結核菌 Frankfurt 株 60 日培養濾液中ノ蛋白分子ヲ沈澱セシメタルニ、第 4 表ノ如ク、各沈澱劑ノ種類ニヨリテ、沈澱量ハ一定セズ、即チ三鹽化醋酸ノ場合ハ Glukose-Maltose 培地及ヒ Sauton 氏培地、共ニ等量ノ沈澱ヲ生ジ、Long 氏培地 (PH 6.2) 及ヒ Sucrose-Glukose 培地ハ遙カー少量ナリ。

第 4 表 人型 F 株 60 日培養濾液中ノ Tuberculoprotein 沈澱量

培地	菌發育狀況	濾液ノ PH	「ツベルクロプロテイン」沈澱用試藥					
			三鹽化醋酸	「スルフォサリチール」酸	5% 「メタ」燐酸	「エスバッハ」試藥	燐「タングステン」酸	10% 加里明礬
3. Long's medium	卅	6.2	6.0	4.5	3.2	4.6	6.0	0.9
4. Glukose-Maltose Med	卅	7.5	9.5	9.3	6.5	8.5	9.8	1.5
7. Sauton's medium	卅	7.2	9.5	9.5	8.5	5.0	5.5	1.5
6. Sucrose-Glukose Med	+	7.5	5.0	4.5	4.5	8.4	3.6	0.5
A. 「味ノ素」加培地	卅	7.6	10.5	13.5	10.5	3.5	14.5	1.5

沈澱劑「スルフ、サリチール」酸ノ場合ハ Glukose-Maltose 培地 (9.3) Sauton 氏培地 (9.5) ニシテ、殆ド沈澱量等シク、Long 氏培地 (4.5)、Sucrose-Glukose 培地 (4.5) ーシテ沈澱量等シ。5%「メタ」磷酸ヲ使用スル時ハ Glukose-Maltose 培地 (6.5)、Sauton 氏培地 (8.5) ーシテ、前者ハ後者ヨリモ、沈澱量少シク劣ル。Long 氏培地 (3.2)、Sucrose-Glukose 培地 (4.5) ニテ菌發育量ト逆ノ現象ヲ示セリ。

Esbach' Reagenz ヲ以テ沈澱セシムルニ、Glukose-Maltose 培地 (8.5)、Sauton 氏培地 (5.0) Long 氏培地 (4.6)、Sucrose-Glukose 培地 (8.4) ーシテ、前述三種ノ沈澱劑使用ノ場合ト可成リ異ナレル沈澱狀況ヲ示シ、殊ニ Sucrose-Glukose 培地 (8.4) ハ大イニ異ナル點ナリ。

燐「タングステン」酸ニヨル沈澱狀況ヲ見ルニ、Glukose-Maltose 培地 (9.8) ハ Sauton 氏培地 (5.5) ノ約倍量ノ沈澱量ヲ示シ、Long 氏培地 (6.0) ハ Sucrose-Glukose 培地 (3.6) ノ倍量ニ相當シ、各培地間ノ沈澱量ノ差大ナリ。

10%加里明礬使用ノ際ハ Glukose-Maltose 培地 (1.5) ハ Sauton 氏培地 (1.5) ト等シク、Long 氏培地 (0.9) ハ Sucrose-Glukose 培地 (0.5) ノ約倍量ナリ。

以上ノ實驗成績 ーヨリテ、三鹽化醋酸、「スルフ、サリチール」酸、5%「メタ」磷酸ノ三者ハ Tuberculoprotein 沈澱劑トシテ、多少ノ差異ハアレドモ、各培地間ノ相互關係相似テ充分使用ニ堪ユルモノト考ヘラル。サレド、「エスバッフア」試藥、燐「タングステン」酸、10%加里明礬ハ、沈澱量ノ差異甚ダシク、各培地相互關係モ、前

三者ト全く狀況ヲ異ニシ、スクノ如キ實驗ニハ不適當ナルモノト認メラル。

而シテ人型 F 株 60 日培養ニ在リテモ、菌發育狀況竝ニ濾液ノ水素「イオン」濃度ト、培養濾液ノ Tuberculoprotein 含有量トノ相互關係ハ第 3 表 50 日培養ノ場合ト殆ド同様ナリ。

第五項 培地 PH ノ移動ト Tuberculoprotein 產生能

前述ノ實驗ニヨリテ、培養濾液ノ PH ト、「ツベルクロプロテイン」產生能トノ間ニハ密接ナル關係アルコトヲ知レリ、於是、培養途中ニ於テ、人工的ニ PH ヲ移動セシメ、該關係ヲ知ラントシ、Long 氏培地竝ニ Glukose-Maltose 培地ヲ用ヒ、人型 F 株 60 日培養ノモノ一、N/10 NaOH ヲ少量加ヘ、對照トシテ之ヲ附加セザルモノヲトレリ。兩者トモ其ノ後 25 日間 38°C ニ培養シ、100°C 20 分滅菌シタル後、濾過シ、培養濾液ニ就キテ、Tuberculoprotein 沈澱量ヲ測定セル一、第 5 表ノ如キ成績ヲ得タリ、即 Long 氏培地 ー於テ、PH 6.0 及ビ PH 6.2 ノ培養濾液ニ就キ比較スルニ、沈澱劑トシテ、三鹽化醋酸、「スルフ、サリチール」酸、5%「メタ」磷酸、10%加里明礬、「エスバッフア」試藥ヲ用フル際、何レノ場合ニ於テモ、PH 6.2 ナル培養濾液ハ PH 6.0 ナル培養濾液ヨリ勝ル。

且ツ亦 Glukose-Maltose 培地ニ於テモ同様ニシテ、第 5 表ノ如ク、PH 7.2 ナル培養濾液ノ沈澱量ハ PH 7.0 ナル培養濾液ノ沈澱量ヨリモ、烏瀉沈澱管ノ目盛ニテ 0.7 乃至 1.3 多シ。サレバ以上 ーヨリ、培養途中ニ於テ、PH ヲ「アルカリ」側ニ移動セシムル時ハ Tuberculoprotein

第 5 表 培地水素「イオン」濃度ノ移動ト「ツベルクロプロテイン」產生能

培地	濾液ノ PH	「ツベルクロプロテイン」沈澱用試藥				
		Trichlor-essigsäure	Sulfosalicylsäure	5% Meta 磷酸	10% Kalialaun	Esbach 試藥
3. Long's medium	6.0	2.9	1.8	5.0	3.05	4.1
3'. Long's medium	6.2	2.95	1.85	5.0	3.1	4.9
4. Glukose-Maltose Med non Glycerol	7.0	4.1	3.2	3.1		
4'. Glukose-Maltose Med non Glycerol	7.2	4.8	4.2	4.4		

產生能モ良好トナルコトヲ知レリ。

第六項 Tuberculo-protein 沈澱量ト

「ツベルクリン」皮内反應トノ關係

前述ノ如キ、三鹽化醋酸ニヨル沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應強度トガ相竝行スルナラバ、無蛋白「ツベルクリン」檢定方法トシテ、該方法モ用ヒ得ルワケナリ。

第 6 表ハ、人型 F 株 50 日培養濾液ノ「ツベルクロプロテイン」沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應強度ヲ比較セルモノニシテ、化學的不純ナル「味ノ素」加培地ハ之ヲ除キ、純粹 Asparagin ヲ含有スル Sauton 氏培地ノ沈澱量ハ三者ノ中、最大量ナリ。「ツベルクリン」皮内反應ヲ見ルニ人體實驗ニ於テハ該濾液ヲ 0.1cc 皮内ニ注射セル場合 48 時間後其ノ發赤 40×70 mm ニシテ、硬結モ相當程度認めラレ、Glukose-Sucrose Med ハ 19×17 mm, Sucrose-Glukose Med. ハ 16×16 mm ニシテ、三鹽化醋酸ニヨル沈澱ト、大體ニ於テ竝行ス。然ルニ海猿ニ於テハ表ノ如ク、Sauton's Med, Sucrose-Glukose Med. Glukose-Sucrose Med. ノ順序ニ皮内反應出現

シ人體ノ場合ト少シク異ナレドモ、Sauton 氏培地ノ反應力最高ナル點ニ於テハ同様ナリ。「味ノ素」加培地ハ參考トシテ該表ニ加ヘタルノミナリ。

第 7 表ハ、人型 F 株培養濾液ニ就キ、各種培地ノ沈澱量ト皮内反應強度トヲ比較セルモノニシテ、對照トシテ傳研製舊「ツベルクリン」10 培液ヲ使用セリ。原濾液ハ、稀釋セズシテ其ノママ、0.1cc ヲ海猿皮内ニ注射シタリ。

表ニヨリテ、判明スル如ク、各々海猿ニヨリテ反應強度ハ異ナレドモ、沈澱量多キ、Long 氏培地ハ、48 時間後ノ反應最モ強ク、次ハ沈澱量少シク劣レル Sauton 氏培地ナリ。Glukose-Maltose 培地ハ沈澱量大ナルニモ關ハラズ、皮内反應度ハ比較的弱シ。Glukose-Sucrose 培地及ビ Sucrose-Glukose 培地ハ沈澱量何レモ少一テ、且ツ皮内反應度モ弱シ。參考トシテ使用セル「味ノ素」加培地ハ「アミノ」酸以外ノ不純物質ヲ含有セル故、三鹽化醋酸ニヨル沈澱量大ナルニ比シ、皮内反應ハ弱シ。

第 8 表ハ、人型 F 株 60 日 Long 氏培地培養濾

第 6 表 人型 F 株 50 日培養濾液ノ Tuberculo-protein 沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應トノ關係

培地	三鹽化醋酸ニヨル「ツベルクロプロテイン」ノ沈澱			「ツベルクリン」皮内反應ノ程度		
	人	海猿 (1)	海猿 (2)	人	海猿 (1)	海猿 (2)
2. Glukose-Sucrose Med	2.5	4.0	4.7	19×17mm	6×5mm	5×3mm
6. Sucrose-Glukose Med	1.9	2.5	3.2	16×16mm	9×7mm	15×12mm
7. Sauton's Med	2.1	3.5	6.0	40×70mm	13×10mm	16×12mm
A. Ajinomoto 加培地	3.8	5.8	8.5	20×18mm	10×9mm	11×10mm

第 7 表 人型 F 株 50 日培養濾液ノ Tuberculo-protein 沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應トノ比較

培地	三鹽化醋酸ニヨル「ツベルクロプロテイン」ノ沈澱量			「ツベルクリン」皮内反應ノ程度		
	海猿 (6)	海猿 (7)	海猿 (8)	海猿 (6)	海猿 (7)	海猿 (8)
2. Glukose-Sucrose Med	2.5	4.0	4.7	7×7mm	18×15mm	10×10mm
3. Long's Med	2.5	4.0	6.8	15×11mm	18×15mm	10×10mm
4. Glukose-Maltose Med	3.2	5.1	7.6	11×10mm	6×6mm	11×10mm
6. Sucrose-Glukose Med	1.9	2.5	3.2	10×10mm	10×10mm	10×10mm
7. Sauton's Med	2.1	3.5	6.0	11×11mm	16×10mm	12×11mm
A. Ajinomoto-Medium	3.8	5.8	8.5	8×7mm	20×15mm	10×10mm
K. Old Tuberculin-10 x-Denken				7×6mm	6×6mm	9×8mm



第 8 表 人型 F 株 60 日 Long 氏培地培養ニ於テ培養濾液ノ PH ラ異ニセル場合ノ「ツベルクロプロテイン」沈澱量ト「ツベルクリン」皮膚反應トノ關係

培地	培養濾液ノ PH	「ツベルクロプロテイン」沈澱		「ツベルクリン」皮内反應ノ程度		
		三鹽化醋酸	「スルフォサリチール」酸	人體	海狸 (4)	海狸 (5)
3. Long's medium	6.0	2.9	1.8	20×20mm	15×12mm	18×18mm
3'. Long's medium	6.2	2.95	1.85	25×20mm	16×13mm	25×17mm

液ヲ使用セルモノニシテ、培養ノ途中ニ於テ、人工的ニ PH ラ移動セシメタルモノナリ。PH 6.2 ナル培地ハ「ツベルクロプロテイン」沈澱量モ大ニシテ、「ツベルクリン」皮内反應ノ強度ハ人體ニ於テ、48 時間後發赤 25×20 mm ナルニ、PH 6.0 ナル培地ニ於テハ 20×20 mm ナリ。

且ツ海狸ニ於テモ同様ニシテ、表ノ如ク、PH 6.2 ナル培地ハ「ツベルクリン」皮内反應強シ。即チ、同一培地ニ於テ、PH ラ異ニスル場合、「ツベルクロプロテイン」沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應トハ互ニ相並行スルモノナリ。

第二節 水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱ニ必要ナル水素「イオン」濃度ノ限界ニ就テ (實驗第二)

所謂 Tuberculoprotein ノ分離並ニ之ガ精製ニ關シテハ、該物質ガ最大ノ沈澱ヲナスタメニ、如何ナル等電位點ヲ有スルカラ検索スルコトハ、極メテ重要ニシテ、Gabbe<sup>(10)</sup>(1923) 及ヒ Long and Seibert<sup>(9)(11)</sup>(1926) ハ PH 4.0 ニ近シト言ヒ、Hanan, E. B. and Ericks, W. P.<sup>(12)</sup>(1937) ハ變性セザル Tuberculoprotein ハ最大沈澱域 PH 2.8 ニシテ PH 2.4 ヨリ 3.0 迄ノ間ニ在リ、且ツ、加水分解セル後ノ Tuberculoprotein ハ、之ヨリ「アルカリ」側ニ傾キ、PH 4.6 ナリト報告セリ。而シテ該實驗ニハ Long 氏無蛋白培地ヲ使用セリ。余ハ偶々、實驗第一ニ於テ各種無蛋白培地ノ「ツベルクリン」產生能ヲ比較研究セリ。於是、各種培地ニ就キテ、Tuberculoprotein 沈澱ニ必要ナル PH ノ差異ヲ研究セルヲ以テ、併セテ報告スル次第ナリ。

第一項 實驗方法

水素「イオン」濃度標準液トシテハ Mc Ilvaine's PH Standards ヲ使用セリ。該標準液ノ製作方法ハ第 6 表記載ノ如クニシテ、PH 2.2 ヨリ PH 7.0 迄ノ溶液ヲ作り、實驗ニ供セリ。該標準液 8 cc.ニ、結核菌培養濾液 1 cc.ヲ附加ス

スルモ、混合液ノ PH ハ實測ニヨリテ、殆ド變化セザルコトヲ利用シ、PH 2.2 ヨリ、PH 6.0 ニ至ル、20 種ノ標準液 8 cc.宛ヲ遠心沈澱管ニトリ、之一、實驗第一ニ使用セル、結核菌培養濾液 1 cc.宛ヲ附加シ、一夜氷室ニ靜置シタル後、1 分 3000 廻轉遠心器ニテ 30 分遠心シ、沈澱狀況ヲ検査シ、續イテ該液ノ上清 2 cc.宛ヲ滅菌「ビベット」ニテ鳥瀉氏遠心沈澱管ニトリ、三鹽化醋酸 2 cc.宛ヲ注加シ、1 分 3000 廻轉遠心器ヲ使用シ、30 分遠心シ、前沈澱操作ガ完全ナリヤ否ヤヲ確メタリ。

本實驗ニ使用セル培地並ニ培養期日ハ實驗第一部ニテ使用セシ、Long 氏培地、Glukose-Maltose 培地、Sauton 氏培地、Sucrose-Glukose 培地ニシテ、何レモ人型結核菌 F 株 60 日培養濾液ナリ。

第 9 表 Mc Ilvaine's PH Standards

PH required	0.2M. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> cc.	0.1M. citric acid cc.
2.2	0.80	39.20
2.4	2.48	37.52
2.6	4.36	35.64
2.8	6.34	33.66

3.0	8.22	31.78
3.2	9.88	30.12
3.4	11.40	28.60
3.6	12.88	27.12
3.8	14.20	25.80
4.0	15.42	24.58
4.2	16.56	23.44
4.4	17.64	22.36
4.6	18.70	21.30
4.8	19.72	20.28
5.0	20.60	19.40
5.2	21.44	18.56
5.4	22.30	17.70
5.6	23.20	16.80
5.8	24.18	15.82
6.0	25.26	14.74
6.2	26.44	13.56
6.4	27.70	12.30
6.6	29.10	10.90
6.8	30.90	9.10
7.0	32.94	7.06

第二項 實驗成績

1) Long 氏培地

60日培養ノモノシテ、實驗時濾液ノPHハ6.2、第10表記載ノ如ク、Tuberculo-protein沈澱域ハPH2.2ヨリ次第ニ増量シ、PH3.6及ビ3.8ニ至リテ、最高値ヲ示シ、PH4.0ヨリ、PH6.0ニ至ル間ハ沈澱ヲ生ゼズ。

上述沈澱域内ニ在リテハ、遠心沈澱後上清2ccニ、三鹽化醋酸2cc宛ヲ附加スルモ、殆ド沈澱スル蛋白分子ナク、PH3.8ヨリPH6.0ニ至リ、沈澱量次第ニ増加シ、PH5.6、PH5.8、PH6.0ノ場合ハ、鳥瀉沈澱管内ノ沈澱量1.0、1.5、1.5ナリ。

即チ以上ニヨリ、PH2.8乃至PH3.8迄ハ相當量ノTuberculo-protein沈澱シ、PH3.6及ビ3.8ニ於テ、沈澱量ハ最高ニ達スルコトヲ知レリ。

2) Glukose-Maltose 培地

實驗時ノ培養濾液PH7.4ニテ、人型F株60日培養ノモノシテ、實驗成績ハ第11表ニアリ、

第10表 水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱ト水素「イオン」濃度 (Long 氏培地 (3)號 PH6.2 ヲ使用セル場合)

試験管番號	標準液ノPH	水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱狀況	
		標準液8cc+濾液1cc附加遠心後ノ沈澱狀況	遠心後ノ上清2cc+三鹽化醋酸2cc附加後ノ鳥瀉沈澱管内ノ沈澱
1	2.2	—	—
2	2.4	+	—
3	2.6	+	—
4	2.8	+	—
5	3.0	+	—
6	3.2	+	—
7	3.4	+	—
8	3.6	++	—
9	3.8	++	+
10	4.0	—	+
11	4.2	—	+
12	4.4	—	+
13	4.6	—	+
14	4.8	—	+
15	5.0	—	+
16	5.2	—	+
17	5.4	—	+
18	5.6	—	+ 1.0
19	5.8	—	+ 1.5
20	6.0	—	+ 1.5

即チ、PH標準液8ccニ培養濾過液1ccヲ附加シ、遠心後ノ沈澱狀況ヲ見ルニPH2.2ヨリ次第ニ増量シ、PH2.8ニ於テ最高ニ達シ、更ニ少シク減量シ、PH4.2ニ至ルマデ(+)以上ナリ。PH4.4ヨリPH5.4迄ハ、極メテ少量沈澱シ、PH5.6、5.8、6.0ハ沈澱全クナシ。

更ニ遠心後ノ上清2cc宛ニ、三鹽化醋酸2ccヲ附加セル後ノ沈澱管内ノ狀況ヲ比較スルニ上述實驗ニ於テ最高沈澱ヲ生ゼシ、PH2.8ニ於テハ沈澱0.05ニテ極メテ微量ナリ。然ルニ、上述實驗ニ於テ、沈澱量少ナカリシ限界即チPH數ノ増加ニ伴ヒテ、三鹽化醋酸ニヨル沈澱ハ次第ニ増量シ、PH5.6、5.8、6.0ニ於テハ鳥瀉氏沈澱管ノ目盛ニテ、3.3、3.2、3.2ナリキ。即チ本實驗ニ際シ、水可溶性「ツベルクロプロ

第 11 表 水可溶性「ツベルクロプロテイン」  
沈澱ト水素「イオン」濃度培地(4)號PH7.4  
Glukose-Maltose 培地使用

試験管番號	標準液ノ PH	水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱狀況	
		標準液 8 cc + 濾液 1 cc 附加遠心後ノ沈澱狀況	遠心後ノ上清 2 cc + 三鹽化醋酸 2 cc 附加後ノ鳥潟沈澱管内ノ沈渣
1	2.2	++	」0.03
2	2.4	++	」0.05
3	2.6	++	」0.05
4	2.8	卅	」0.05
5	3.0	卅	」0.1
6	3.2	卅	」0.1
7	3.4	++	」0.1
8	3.6	++	」0.1
9	3.8	+	」0.1
10	4.0	+	1.5
11	4.2	+	1.4
12	4.4	±	1.5
13	4.6	±	1.8
14	4.8	±	2.1
15	5.0	±	2.2
16	5.2	±	2.4
17	5.4	±	2.6
18	5.6	-	3.3
19	5.8	-	3.2
20	6.0	-	3.2

第 12 表 水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱ト水素「イオン」濃度 Sauton 氏培地(7) (PH7.2)ニ於ケル「ツベルクロプロテイン」

試験管番號	標準液ノ PH	水可溶性「ツベルクロプロテイン」沈澱狀況	
		標準液 8 cc + 濾液 1 cc 附加遠心後ノ沈澱狀況	遠心後ノ上清 2 cc + 三鹽化醋酸 2 cc 附加後ノ鳥潟沈澱管内ノ沈渣
1	2.2	-	++ 2.0
2	2.4	-	+ 0.5
3	2.6	+	± 0.3
4	2.8	++	-
5	3.0	++	-
6	3.2	++	-
7	3.4	++	-
8	3.6	++	-
9	3.8	卅	-
10	4.0	++	-
11	4.2	++	-
12	4.4	+	」
13	4.6	-	」
14	4.8	-	」
15	5.0	-	」
16	5.2	-	」
17	5.4	-	」
18	5.6	-	++
19	5.8	-	±
20	6.0	-	」

テイン」ノ最モ多ク沈澱スルハ PH 2.8(卅) PH 3.0(卅)ニ相當セリ。

3) Sauton 氏培地

人型 F 株 60 日培養濾液ヲ用ヒタリ。實驗時ノ PH 7.2 ーシテ、實驗成績第 12 表ノ如シ。即チ標準液 8 ccニ培養濾液 1 ccヲ附加シ遠心後ノ沈澱狀況ヲ見ルニ、PH 2.2 及 2.4 ニ於テハ沈澱セズ、PH 2.6 ヨリ沈澱量増加シ初メ、PH 3.8 ー於テ、最高値ニ達シ、再ビ減少シ PH 4.4 ニ至ル迄沈澱ヲ認ムルモ、PH 4.6 ヨリ PH 6.0 迄ハ全く沈澱ヲ生ゼズ。

次ニ上述遠心沈澱後ノ上清ニ、三鹽化醋酸ヲ附加セル場合 PH 2.8 ヨリ PH 4.3 迄ハ沈渣ナク沈澱完全ナルコトヲ示シ、他ノ PH 域ニ於テハ表ノ如ク相當量ノ沈渣ヲ生ズ。

以上ノ如ク Sauton 氏培地使用ノ場合ハ、PH 2.8 ヨリ PH 4.0 迄相當量沈澱シ、最高沈澱量ハ PH 3.8 ナリキ。

4) Sucrose-Glukose 培地

人型 F 株 60 日培養濾液ニツキ實驗セリ。實驗時ノ PH 7.5 ニテ、第 13 表ノ如シ。

即チ、標準液 8 ccニ培養濾液 1 ccヲ附加セル後氷室ニ一晝夜靜置シタル後遠心沈澱シタルニ PH 2.2 ヨリ PH 2.6 迄(+)ニシテ、ソレヨリ、減量シ、PH 3.6 ニ至リ再ビ(+)トナリ、PH 4.2 ヨリ沈澱量増加シ PH 4.6 ー於テ最高値ニ達シ、ソレヨリ次第ニ減量ス。

上述實驗ニ於ケル遠心沈澱後ノ上清ニ、三鹽化醋酸ヲ附加セル場合、沈澱管内ノ沈渣ヲ比較スルニ PH 2.2 ヨリ PH 3.6 迄ハ、沈渣極メテ微

量ニシテ、PH 3.8 ヨリ PH 5.4 ニ至ル間ハ、沈渣ヲ全ク認メズ。PH 5.6 ヨリ PH 6.0 迄ハ再ビ極メテ少量沈澱ス。

即チ以上ノ實驗ニヨリ、Sucrose-Glukose 培地ヲ使用スル場合、水可溶性「ツベルクロブロテイン」ハ PH 4.6 ニ於テ、沈澱量最高ナルコトヲ知レリ。

第 13 表 培地(6) PH 7.5 Sucrose-Glukose 培地ニ於ケル水可溶性「ツベルクロブロテイン」ト水素「イオン」濃度

試験管番號	標準液ノ PH	水可溶性「ツベルクロブロテイン」沈澱狀況	
		標準液 8 cc + 濾液 1 cc 附加後ノ沈澱狀況	遠心後ノ上清 2 cc + 三鹽化醋酸 2 cc 附加後、沈澱管内ノ沈渣
1	2.2	+	•
2	2.4	+	•

3	2.6	+	」
4	2.8	+	•
5	3.0	+	•
6	3.2	+	•
7	3.4	+	•
8	3.6	+	•
9	3.8	+	—
10	4.0	+	—
11	4.2	++	—
12	4.4	++	—
13	4.6	++	—
14	4.8	++	—
15	5.0	++	—
16	5.2	+	—
17	5.4	+	—
18	5.6	++	」
19	5.8	++	」
20	6.0	+	」

總括竝ニ考按

以上ノ實驗成績ニヨリ、次ノ事ヲ知レリ。即チ Glycerol ナ含有セル Long 氏培地ハ結核菌發育培地トシテ、菌發育量ノ點ヨリ甚ダ優秀ナルコト。サレド、「ツベルクロブロテイン」沈澱量ノ點ヨリ比較スルニ、Glycerol ナ含有セザル Glukose-Maltose (5 對 1) 培地ハ Long 氏培地及ビ Sauton 氏培地ヲ凌駕ス。

他方、「ツベルクリン」皮内反應強度ヨリ比較スルニ、Sauton 氏培地最モ反應力強ク、同一培地ニ於テハ、PH「アルカリ」側ナルモノ程、皮内反應力強ク且ツ、「ツベルクロブロテイン」沈澱量モ之ト相竝行ス。

培地ノ終末水素「イオン」濃度ノ「ツベルクロブロテイン」產生一及ス影響トシテハ「アルカリ」側ナル程、產生能大ナルガ如シ。

斯クノ如ク、第一實驗ニヨリ合成培地内ニ於ケル「ツベルクリン」產生能ハ、「ツベルクリン」ガ結核菌ノ新陳代謝産物ナリトセバ、或ル程度迄結核菌ノ發育量ト平行スベキモノナルコトハ勿論ナレドモ、培地成分ヲ變更スル場合ニハ必ズシモ、平行スルモノアラズ。例ヘバ Glukose-

Maltose 培地ノ如シ。サレド如何ニシテ斯カル差異ヲ生ズルモノナルカヲ闡明スルハ極メテ困難ナル問題ナリ。

培地ノ終末水素「イオン」濃度ヲ「アルカリ」側ニナスコトノミニヨリテ、「ツベルクリン」產生能ヲ大ニナシ得レドモ、單一之ノミニヨリテ、説明スルコト能ハズ、Glukose 若シクハ Maltose ノ如キ糖類ハ「グリセリン」代用物トシテ、結核菌ノ新陳代謝ニ關與シ、「ツベルクリン」產生ヲ促進スル作用アルニアラズヤトモ思惟セラル。

更ニ無蛋白培地内ノ「ツベルクロブロテイン」沈澱ト「ツベルクリン」皮内反應強度トノ關係ニ就キテハ第 6、7、8 表ノ如ク、大體ニ於テ、竝行スル場合多キモ、竝行セザル場合モアリ、後者ノ場合ハ極メテ解ニ苦ム點ナリ。

次ニ水可溶性「ツベルクロブロテイン」沈澱域ニ關シテハ、第 10 表ヨリ第 13 表迄記載セルガ如クニ、最大沈澱量ニ必要ナル水素「イオン」濃度ハ、Long 氏培地ニテハ PH 3.8 Glukose-Maltose 培地ニ在リテハ PH 2.8、Sauton 氏培地

ニ於テハ PH 3.8、Sucrose-Glukose 培地ハ PH 4.6 一シテ、各培地一ヨリテ、水素「イオン」濃

度ヲ異ニス。サレバ培地ノ異ナルニ從ヒ、其ノ最高沈澱域ヲ測定スルコトヲ必要トス。

## 結 論

(1) 結核菌ノ發育量ト「ツベルクリン」產生量トハ每常平行スルモノニアラス。例ヘバ、「グリセリン」不含、Glukose-Maltose 培地ハ「グリセリン」含有 Long 氏培地ヨリ發育遙カニ尠ケレドモ其ノ「ツベルクリン」產生能ハ大ナリ。

(2) 同一培地内ニ於テ結核菌ノ培養途中ニ於テ PH ヲ移動セシムルトキハ、其ノ終末水素「イオン」濃度「アルカリ」側ナルモノホド、「ツベルクロプロテイン」沈澱量大ナリ。

(3) Glukose 若クハ Maltose ノ如キ糖類ハ結核菌培地成分中ノ「グリセリン」代用物トシテ「ツベルクリン」產生ヲ促スモノノ如シ。

(4) 人工培地内ノ「ツベルクロプロテイン」沈澱量ト「ツベルクリン」皮内反應トハ、大體並行ス

ルモノナルモ、並行セザルモノモアリ。

(5) 各種人工培地ニ於ケル、水可溶性「ツベルクロプロテイン」ヲ最大限ニ沈澱セシムルニ必要ナル水素「イオン」濃度ハ PH 2.8 ヨリ PH 4.6 迄ニシテ、培地成分ノ異ナルト共ニ、沈澱量並ニ至適水素「イオン」濃度モ變化スルモノナリ。

(6) 上記「ツベルクロプロテイン」ノ最高沈澱ニ必要ナル至適水素「イオン」濃度ヲ決定スルコトハ所謂「ツベルクロプロテイン」ノ分離及ヒ精製ニ際シ、必要缺ク可カラザル事ナリ。

稿ヲ終ルニ臨ミ、恩師戸田教授ノ御懇篤ナル御指導並ニ御校閲ヲ謹謝ス。

## Bibliography.

1) Henley, R. R., Dextrose in synthetic media for the tubercle bacillus. Amer. Rev. Tuberc. 1929, 19, 660-663. 2) Henley, R. R., A glycerol-free medium for the tubercle bacillus, Amer. Rev. Tuberc., 1935, 32, 724. 3) Henley, E. R., and Leduc, P. W., Ammonia malate as a source fo nitrogen for tubercle bacilli in cultures. Amer. Rev. Tuberc., 1930, 22, 568. 4) White, W. C., Introduction to Supplement, Purified Protein Derivative. Amer. Rev. Tuberc., 1934, 30, 707. 5) Wong, S. and Weinzirl, J., An inexpensive synthetic medium for growing Mycobacterium tuberculosis. Amer. Rev. Tuberc., 1936, 33, 577. 6) Seibert, F. B., The chemical composition of the active principle of tuberculin. XI. An improved and simplified method for making a standard undenatured tuberculin of any desired strength and a method of chemical assay. Jour. Biol. Chem., 1928, 78, 345. 7) Seibert, F. B., The isolation and properties of

the purified protein derivative of tuberculin. Amer. Rev. Tuberc., 1934, 30, 713. 8) Wong, S. C., The relation between the growth of Mycobacterium tuberculosis aud the yield of tuberculin on Synthetic media. Jour. Bact. 1937, 33, 451. 9) Long, E. R., and Seibert, F. B., The chemical composition of the active principle of tuberculin. I. A non-protein medium suitable for the production of tuberculin in large quantity. Amer. Rev. Tuberc., 1926, 13, 393. 10) Gabbe, E., Über das Flockungsoptimum der durch Essigsäure fällbaren Substanz des Tuberculins. Biochem. Ztschr., 1923, 141, 523. 11) Long, E. R., and Seibert, Florence, B., The chemical Composition of the active Principle of tuberculin. II. Precipitation with acetic acid and other acids, Amer. Rev. Tuberc., 1926, 13, 398. 12) Hanan, E.B., and Ericks, W. P., Precipitation of water soluble tuberculoprotein by hydrogen-ion concentration. Amer. Rev. Tuberc., 1937, 36, 244.

## 附圖說明

人型結核菌 F 株 50 日培養濾液中ノ Tuberculoprotein 沈澱量ヲ示スモノナリ(別表、第 3 表記載)圖ニ於テ左ヨリ説明スルニ

(9) 烏濁沈澱管内ノ沈澱狀況ニシテ Sucrose-Glukose Medium ヲ使用シ培養濾液 2 ccニ、三鹽化醋酸溶液 2 ccヲ附加セル場合ヲ示ス。沈澱量ハ 3.2 ナリ。

以下第 3 表ノ如クニシテ

(S)「味ノ素」加培地ノ場合。沈澱量 8.5

(4) Glukose-Maltose Medium. 沈澱量 7.6

(2) Glukose-Sucrose Medium. 沈澱量 4.7

(7) Sauton's Medium. 沈澱量 6.0

(3) Long's Medium. 沈澱量 6.8 ヲ示スモノナリ。

人型結核菌 F 株 50 日培養濾液中ノ  
Tuberculo-protein 沈澱量

