

鶏卵含有培地内ニ於テ抗酸性菌ヲ變異セシムル 因子ニ關スル研究

(昭和 18 年 8 月 30 日受領)

東京慈惠會醫科大學細菌學教室(指導 寺田正中教授)

研 究 生 會 根 原 倭 夫

(本論文ノ要旨ハ第 17 回聯合微生物學會ニ於テ發表セリ)

目 次

第一章 緒 言

第二章 實驗材料及實驗方法

第三章 實驗成績

第一節 Petraghani 培地内水分ノ量的關係ニ關スル實驗成績

第二節 Petraghani 培地内各成分ノ分析の實驗成績

第三節 Petraghani 培地ノ加熱溫度並ニ時間的關係差ニ關スル實驗成績

第四節 余ノ考案セル一新培地ヲ以テセル實驗成績

第五節 無蛋白培地ニ生鶏卵ヲ添加セシメテノ實驗成績

第一項 卵白ヲ以テセル成績

第二項 卵黄ヲ以テセル成績

第六節 無蛋白培地ニ鶏卵ヲ添加シ加熱溫度並ニ時間的關係差ニ就テノ實驗成績

第一項 卵白ヲ以テセル成績

第二項 卵黄ヲ以テセル成績

第七節 新鮮鶏卵ノ卵白中蛋白質即チ Albumin

及 Globulin ヲ以テセル實驗成績

第一項 鶏卵中ノ蛋白質分層ニ就テ

一 Euglobulin ノ鹽析法

二 Pseudoglobulin ノ鹽析法

三 Albumin ノ鹽析法

第二項 Euglobulin, Pseudoglobulin 及

Albumin ヲ無蛋白培地ニ添加セシメテノ實驗成績

一 Euglobulin 加無蛋白培地ニ於ケル實驗成績

二 Pseudoglobulin 加無蛋白培地ニ於ケル實驗成績

三 Albumin 加無蛋白培地ニ於ケル實驗成績

第八節 生卵白ニヨリ變異セル抗酸性菌ノ還元性ノ有無ニ關スル實驗成績

第四章 總括並ニ考按

第五章 結 論

文 獻

第一章 緒 言

1882 年 R. Koch ニ依リ結核菌ノ發見ガ發表セラレ、結核菌ノ正常型ハ桿狀ヲ呈セル不變ノ抗酸性桿菌ナルコトハ Koch ガ結核菌發見ノ當初ニ於テ先ヅ提唱セルトコロナルガ、其後幾多諸

學者ノ研究ニ依リ、菌體ノ形態ガ往々ニシテ突然ニ或ハ人工的ニ種々ナル影響ニ依ツテ變化セラル、コトガ認めラレ、抗酸性菌ハ形態的ニ於テ定型のナル桿菌ノ他ニ極メテ多形態性ヲ示シ

即チ棍棒狀、顆粒狀、球菌狀、雙球菌様、短連鎖狀、纖肥、長短、無顆粒狀等千差萬別ノ形態的異形ヲ示シ、而シテ培養基ヨリ得タル染色標本ニ於テ認メラル、抗酸性菌ノ形態ハ之等凡ベテヲ含ムモノナルコトハ既ニ知ラル、所ナリ。余ハ Petraghani 培地ニ抗酸性菌ヲ培養スルニ當リ、Petraghani 培地ノ加熱溫度竝ニ其時間的關係差ニヨリ、抗酸性菌ノ球狀ニ異變スルヲ

屢々認メタルヲ以テ、Petraghani 培地ノ如何ナル因子ガ抗酸性菌ノ球狀變異ヲ誘發スルヤヲ分析的ニ追究シ、鶏卵中ノ生蛋白殊ニ卵白ガ其ノ主因ヲ爲スヲ確メ、之等主因ニツキ更ニ研究ヲ重ネ、卵白中ニ含有セラル、Albumin 及 Globulin (Euglobulin 及 Pseudoglobulin) ナルコトヲ認メ得タルヲ以テ、其成績ヲ茲ニ報告セントス。

第二章 實驗材料及實驗方法

本實驗ニ使用セシ菌株ハ Glyzerin-Agar 及 Petraghani 培地ニ培養セシ當教室保存ノ抗酸性菌ニシテ、即チ

結核菌

人型菌 川村、田中、山田、養丸。

牛型菌 No. 105. No. 2

鳥型菌 2 HT.

蛙型菌 F₂M-1

非病原性抗酸性菌

人癩系 木村 II. 關口

鼠癩系 No. 549. VII. 内田 D.

自然界 三土、No. 52. 牛便 No. 1. 口腔

等ナリ。

培養基ハ Petraghani 培地、余ノ考案セル一新培地及 Sauton, Lockemann 竝ニ Long ノ各無蛋白培地ヲ用ヒテ、上記ノ抗酸性菌ヲ培養シ又新鮮鶏卵ヨリ鹽析ニヨリ透析シ、取り出シタル Albumin 及 Pseudo 竝ニ Euglobulin ヲ以テ種々ナル方法ニヨリ實驗ヲ行ヘリ。(本實驗ニ使用セル藥品ハ殆ンド凡ベテ Merck 製品ヲ用ヒタリ)。

實驗方法ニ就テハ各實驗成績ノ項ニ於テ記セントス。然レドモ菌ノ形態的検査ハ之レガ各培養基ニ培養セシ後、毎日又ハ隔日ニ檢セルコトモアリタルガ、原則トシテハ培養後5日目、10日目、15日目及30日目ノ4回ニ Ziehl-Neelsen 氏染色法及 Gram 氏染色法ヲ以テ鏡檢セリ。

菌ノ大キサニ就テハ、球菌様及顆粒狀ノモノニツキ Zeiss ノ Mikrometer ヲ用ヒテ計測ヲ行ヘリ。

又以下挿入セル表中各培養基ニ於ケル發育程度ヲ次ノ如ク示セリ。

- 即チ、一 菌ノ死滅或ハ未發育ノモノ
 土 菌ガ發育セルモ、不良ナルモノ
 + 菌ノ發育普通ナルモノ
 卍 菌ノ發育良好ナルモノ
 卍 菌ノ發育極メテ良好ナルモノ

表中抗酸性菌ノ球狀又ハ顆粒狀ニ變ゼル程度ヲ次ノ如ク示セリ。

- 一 菌形態無變化ノモノ
 土 定型的桿菌ノ他ニ多形態性ノ菌ヲ極メテ少數含ムモノ
 土 定型的桿菌ノ他ニ多形態性ノ菌ヲ輕度ニ含ムモノ
 + 土ヨリ變化多キモノ
 卍 殆ンド球狀、顆粒狀ノモノ
 卍 全部球狀、顆粒狀ノモノ

表中抗酸性ニツイテハ

- 一 非抗酸性
 土 弱抗酸性
 + 土 抗酸性ト非抗酸性トガ兩存スルモノ
 + 抗酸性

ヲ以テ示セリ。

第三章 實驗成績

第一節 Petragrani 培地内水分ノ量的關係ニ關スル實驗成績

余ハ先ヅ Petragrani 培地内ノ水分ノ量的關係ニツキ抗酸性菌ノ球狀變異ニ如何ナル影響ヲ有スルヤヲ次ノ如ク實驗セリ。即チ Petragrani 培地成分ニ、ソノ 1/10, 1/5, 1/2 及等量ノ蒸溜水ヲ加ヘテ、所定ノ如ク血清凝固器内ニ斜面ニ納メ滅菌セリ。

其ノ成績ハ第 1 表ノ如クニシテ、即チ各種抗酸性菌ハ染色標本ニ於テ Petragrani 培地ニ於ケル形態ト殆ンド變化ナク抗酸性ニ富ミ、Gram 陽性、發育良好且 R 型ヲ示セリ。即チ水分ノ量的ニハ抗酸性菌ノ球狀變異ハ影響ナキモノ、如シ。

第 1 表

培地	菌形變化						染色		發育	
	-	±	±	+	++	+++	抗酸性	Gram	發育	RS 型
Petragrani		±					+	+	+++	R
P + 1/10 W		±					+	+	+++	R
P + 1/5 W		±					+	+	+++	R
P + 1/2 W		±					+	+	+++	R
P + Wasser		±					+	+	+++	R

第二節 Petragrani 培地内各成分ノ分析的實驗成績

Petragrani 培地ノ各成分即チ、新鮮鶏卵、新鮮牛乳、可溶性澱粉、Pepton、Glyzerin、4% Malachitgrün 等ニツキ分析的ニ第 2 表ノ如ク實驗セルニ、發育ハ Glyzerin ノ缺乏ニ於テ不良、又鶏卵ノ不足ニ於テモ不良ナルモ、兩者同時ノ缺乏最モ不良ナリ。逆ニ鶏卵及 Glyzerin ノ存在ハ發育

ヲ良好ナラシム。染色標本ニ於テハ何レノ場合ニモ抗酸性ヲ有シ Gram 陽性ナリ。顆粒狀、球狀ノ形態ノ變化ハ鶏卵ノ存在及 Glyzerin ノ存在ナキ場合ニ於テ輕度ノ變化ヲ來タセリ。尙牛乳、可溶性澱粉、Pepton 等ハ大ナル影響ヲ有セズ。ソノ成績第 2 表ノ如シ。

第 2 表

Petragrani 培地成分								菌形變化						染色		發育	
全卵	卵黃	牛乳	澱粉	「マプトン」	「グリセリ」	4%「マ・グ」	K	-	±	±	+	++	+++	抗酸性	グラム	發育	RS 型
-	-	+	+	+	+	+	±		±					+	+	++	R
-	-	-	+	+	+	+	±		±					+	+	+	R
-	-	-	-	+	+	+	±		±					+	+	±	R
-	-	-	-	-	+	+	±		±					+	+	±	R
+	-	-	-	-	+	+	±			±				+	+	±	R
+	-	+	+	+	+	+	±		±					+	+	+++	R

+	-	-	+	+	+	+	±		±					+	+	++	R
+	-	-	-	+	+	+	±		±					+	+	+	R
+	-	-	-	-	+	+	±		±					+	+	±	R
+	-	-	-	-	-	+	±			±				+	+	±	R
+	+	-	+	+	+	+	±		±					+	+	++	R
+	+	-	-	+	+	+	±		±					+	+	++	R
+	+	-	-	-	+	+	±		±					+	+	±	R
+	+	-	-	-	-	+	±			±				+	+	±	R
+	+	+	-	+	+	+	±		±					+	+	++	R
+	+	+	-	-	+	+	±		±					+	+	++	R
+	+	+	-	-	-	+	±			±				+	+	±	R
+	+	+	-	-	-	-	±			±				+	+	±	R
+	+	+	+	-	+	+	±		±					+	+	++	R
+	+	+	+	-	-	+	±			±				+	+	±	R
+	+	+	+	+	-	-	±			±				+	+	±	R
+	+	+	+	+	-	-	±			±				+	+	±	R
+	+	+	+	+	+	-	±		±					+	+	++	R

之レニ依ツテ鶏卵ノ存在及 Glyzerin ノ缺乏ガ 抗酸性菌ノ球狀變異ニ輕度ノ影響ヲ有スベキコトヲ略々認メ得タリ。

第三節 Petragrani 培地ノ加熱溫度並ニ時間ノ關係差ニツイテノ實驗成績

Petragrani 培地ノ加熱溫度並ニ時間ノ關係差ガ抗酸性菌ノ球狀變異ニ如何ナル程度ノ變化ヲ來タセルカヲ檢セルニ、培地ノ加熱溫度 60、70、80、90 及 100 度ノ各溫度ニ於テ、1 時間 1 回、2 回、3 回及 2 時間 1 回、2 回、3 回ト加熱セルモノニ定型ノ抗酸性菌ヲ培養シ、ソノ狀態ヲ見ルニ、發育ニ於テハ 80 度以上 1 時間 2 回以上加熱セルモノ發育極メテ良好ニシテ、80 度 1 時間及 80 度以下ノ各培地ニ於テハ發育普通又ハ稍々不良、特ニ 60 度ニ於テ 1 時間 1 回乃至 2 回加熱セルモノニテハ不良ナリキ。

染色上ニテハ何レモ抗酸性ニハ變化ナク Gram モ又陽性ナリキ。

菌形態ノ變化ニ於テハ 60 度 1 時間、2 回、3 回、2 時間 1 回ノ場合ハ球狀及顆粒狀ニ變化セルモノ輕度ナガラモアリタリ。70 度ニ於テハ 1 時間、2 時間、1 回、2 回、3 回ノ場合ニ定型ノ桿菌ノ他ニ多形態性ノ菌形ヲ認メタリ。其ノ成績第 3 表ノ如シ。

之レニヨリ Petragrani 培地ニ於テ低溫且短時間ニ熱ヲ加ヘタルモノニ球狀乃至顆粒狀ニ變化セルモノ多キヲ認メ得タリ。

第 3 表

溫 度	滅菌時間			菌 形 變 化						染 色		發 育		
	1 日	2 日	3 日	K	-	±	±	+	++	+++	抗 酸 性	「グ ラ ム」	發 育	RS 型
60°C	1			±			±	+			+	+	±	R
	1	1		±			±	+			+	+	±	R

	1	1	1	±			±				+	+	±	R
	2			±			±				+	+	±	R
	2	2		±			±				+	+	+	R
	2	2	2	±			±				+	+	+	R
70	1			±			±				+	+	+	R
	1	1		±			±				+	+	+	R
	1	1	1	±			±				+	+	+	R
	2			±			±				+	+	+	R
	2	2		±			±				+	+	+	R
	2	2	2	±			±				+	+	+	R
80	1			±			±				+	+	+	R
	1	1		±			±				+	+	±	R
	1	1	1	±			±				+	+	±	R
	2			±			±				+	+	±	R
	2	2		±			±				+	+	±	R
	2	2	2	±			±				+	+	±	R
90	1			±			±				+	+	±	R
	1	1		±			±				+	+	±	R
	1	1	1	±			±				+	+	±	R
	2			±			±				+	+	±	R
	2	2		±			±				+	+	±	R
	2	2	2	±			±				+	+	±	R
100	1			±			±				+	+	±	R
	1	1		±			±				+	+	±	R
	1	1	1	±			±				+	+	±	R
	2			±			±				+	+	±	R
	2	2		±			±				+	+	±	R
	2	2	2	±			±				+	+	±	R

第四節 余ノ考案セル一新培地ヲ以テセル實驗成績

コ、ニ於テ余ハ次ノ如キ新培地ヲ作り以テ實驗ヲ行ヘリ。

即チ Petraghani 培地ヨリ鶏卵成分ヲ除ケル他ノ成分ヲ滅菌シオキ、コレニ凝固ノ目的ヲ以テ寒天ヲ 8 乃至 10% ニ加ヘタルモノニ、卵白、卵黄ヲ新鮮鶏卵ヨリ無菌ニ取出シ、恰モ Blutagar ヲ作成スル場合ノ如ク、50 度ニ於テ加ヘ(之レ以後ノ實驗ニ於テ 60 度以下ニテ可ナルコトヲ認メタリ)。手早く充分ニ混和シ、斜面トセル培地ヲ作り、第 4 表ノ如ク各成分ヲ分析ニ檢討セルニ發育ニ於テハ卵白、卵黄及 Glycerin ノ缺乏ニ於テ不良ナルコトハ前實驗ニ於ケルト大體同様ナルモ、聚落ノ R S 型ニ關シテハ本來 R 型ナルモノガ卵白成分ヲ含有セルモノニ於

テハ純然タル S 型ニハナラザルモ smooth ニナル傾向ヲ多分ニ有セリ。

染色上ニ於テハ抗酸性ノ減退ヲ示スモ、非抗酸性ニハナリ得ズ。

コノ抗酸性ノ減退ト聚落ノ R S 型トノ關係ハ大體抗酸性ノ減退セル場合ニ聚落モ R 型ヨリ smooth ニナル傾向ヲ有ス。

Gram 染色上ニ於テハ變化ナク、陽性ナリキ。菌形態ノ變化ニ就テハ第 4 表ノ如ク Glycerin 及卵黄ニ大ナル影響ヲ有セズシテ、寧ロ成分中ノ卵白ガ大ナル影響ヲ有シ、殆ンド球狀ノモノカ、又ハソノ全部ガ球狀乃至顆粒狀ニ變化セリ。又之等球狀、顆粒狀ニ變化セルモノニ就キ發育ハ一般ニ良好ナラズシテ不良ナリ。

又抗酸性ノ減退ヲモ見ラレ。聚落モ smooth ニナル傾向ニ有ルヲ認メタリ。之レニヨリ、コノ新培地ニ於テハ Glycerin ノ存在及卵黄ノ存在ニハ大ナル影響ヲ有セズシテ

培地成分中ノ卵白、即チ熱ノ加ハザル生卵白が大ナル影響ヲ有シ、意義アルコトヲ知レリ。仍テ次ノ實驗ヲ施行セリ。

第 4 表

無熱新培地ノ成分						菌 形 變 化							染 色		發 育	
卵白	卵黄	牛乳	「グリセリ」	4%「マ・グ」	寒天	K	-	±	±	+	++	+++	抗酸性	「グラム」	發育	R.S 型
-	+	+	+	+	+	±		±					±	+	++	R ナレド smooth ニナル傾向アリ
-	-	+	+	+	+	±		±					+	+	++	R
-	-	-	+	+	+	±		±					+	+	+	R
-	-	-	-	+	+	±			±				+	+	±	R
-	-	-	-	-	+	±			±				+	+	±	R
+	-	+	+	+	+	±				+	++		±	+	+	R ナレド smooth ニナル傾向アリ
+	-	-	+	+	+	±					++		±	+	±	R
+	-	-	-	+	+	±					++	++	±	+	±	R
+	-	-	-	-	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	-	+	+	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	-	-	+	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	-	-	-	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	-	-	-	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	+	-	+	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	+	-	-	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	+	+	-	+	±					++	++	±	+	±	R
+	+	+	+	-	-	±					++	++	±	+	±	R
+	+	+	+	+	-	±					++	++	±	+	±	R
+	+	+	+	+	-	±					++	++	±	+	±	R

第五節 無蛋白培地ニ生鶏卵ヲ加ヘテ行ヘル實驗成績

余ハ次ノ如ク Sauton, Lockemann 及 Long ノ各無蛋白培地ニ鶏卵ヨリ無菌的ニ攝取セル生卵白及生卵黄ヲ加ヘテ實驗ヲ行ヒタリ。ソノ混合ノ比ハ無蛋白培地3ニ對シ生卵白及生卵黄1ノ割合ナリ。コ、ニ於テ生卵白及卵黄ヲ添加セシモノ又之レニ80度30分及1時間加熱セルモノニツキ實驗セルニ、

第一項 卵白ヲ以テセル成績

第5表ノ如ク Sauton, Lockemann 及 Long ノ各培地共ニ同様ナル成績ヲ得タリ。即チ發育ニ於テハ、無熱及80度30分ノモノニ於テ不良、80度1時間ノモノ良好ニシテ、染色ニ於テハ、何レモ Gram 陽性ニシテ變化ナク、抗酸性ニ就テハ無熱ノモノ稍々減退セルモノヲ含メリ。然シ80度ノモノニハ抗酸性ノ變化ヲ見ズ。菌形ハ無熱ノモノハ殆ンド全ク球狀又ハ顆粒狀ニ

第 5 表

培養基	溫度	時間(分)	菌形變化							染色發育			
			K	-	±	±	+	++	+++	抗酸性	グラム	發育	R.S 型
「サウトン」	0		±						+++	±	+	±	R
	60	60'	±						+++	±	+	±	R
	70	60'	±					++	±	+	+	R	
	80	30'	60'	±		±	±			+	+	30' 60' + ++	R
	90	60'	±		±					+	+	+++	R
	100	60'	±		±					+	+	+++	R
「ロツケマン」	0		±						+++	±	+	±	R
	60	60'	±						+++	±	+	±	R
	70	60'	±					++	±	+	+	R	
	80	30'	60'	±		±	±			+	+	30' 60' + ++	R
	90	60'	±		±					+	+	+++	R
	100	60'	±		±					+	+	+++	R
「ロシグ」	0		±						+++	±	+	±	R
	60	60'	±						+++	±	+	±	R
	70	60'	±					++	±	+	+	R	
	80	30'	60'	±		±	±			+	+	30' 60' + ++	R
	90	60'	±		±					+	+	+++	R
	100	60'	±		±					+	+	+++	R

第 6 表

培養基	溫度	時間(分)	菌形變化							染色		發育	
			K	-	±	±	+	++	+++	抗酸性	グラム	發育	R.S 型
「サウトン」	0		±			±	+			±	+	±	R
	60	60'	±			±				±		±	R
	70	60'	±			±				±	+	+	R
	80	30'	60'	±		±				±	+	30' 60' + ++	R
	90	60'	±		±					+	+	+++	R
	100	60'	±		±					+	+	+++	R
「ロツケマン」	0		±			±	+			±	+	±	R
	60	60'	±			±				±	+	±	R
	70	60'	±			±				±	+	+	R
	80	30'	60'	±		±				+	+	30' 60' + ++	R
	90	60'	±		±					+	+	+++	R
	100	60'	±		±					+	+	+++	R
「ロシグ」	0		±			±	+			±	+	±	R
	60	60'	±			±				±	+	±	R
	70	60'	±			±				±	+	+	R
	80	30'	60'	±		±				+	+	30' 60' + ++	R
	90	60'	±		±					+	+	+++	R
	100	60'	±		±					+	+	+++	R

ナルモ、80度30分、1時間ノモノニ於テハ定型の桿菌ノ他ニ極メテ少數ノ多形態性ノ菌ヲ有スルノミナリ。

第二項 卵黃ヲ以テセル成績

又生卵黃ヲ添加セル培地ニ於テハ、大體發育、

染色等卵白ノ場合ト近似ナレドモ、菌形ニ於テハソノ變化極メテ輕度ナリ。即チ第6表ニ於ケル如ク、無熱ノ場合ハ稍々相當ノ變化ヲ來タセルモ、80度30分、1時間ニテハ、多形態性ノ變化ハ輕度ナリ。

第六節 無蛋白培地ニ生鶏卵成分ヲ加ヘ加熱溫度竝ニ時間的關係差ニ就テノ實驗成績

第一項 卵白ヲ以テセル成績

第五節ニ於テ作りタル生卵白加無蛋白培地ヲ、無熱60、70、80、90及100度ノ各溫度ニ於テ1時間宛熱ヲ加ヘタルモノヲ以テ實驗セルニ、Sauton, Lockemann 及 Longノ各培地ニ於ケル成績ハ第5表ノ如ク、即チ、發育ニ於テハ、無熱及60度ノモノ不良ニシテ、70度稍々良、80度以上ノモノ良好ナリ。染色ニテハ、無熱及60度ハ抗酸性ノ減退セルモノヲ含有シ、70度ニ於テ遙カニ少ク、80度以上ニ於テハ非抗酸性

ノモノナシ。Gramハ何レモ陽性ニシテ變化ヲ認メズ。菌形ニ於テハ、無熱及60度ノモノ高度ナル球狀及顆粒狀ノ變化ヲ呈セルモ、70度ノモノニハ變化輕度、80度以上ニテハ定型の桿菌ノ他ニ極メテ少數ノ多形態性ノ菌ヲ有セリ。

第二項 卵黃ヲ以テセル成績

卵白同様ニ卵黃ニ於テ實驗セルニ、輕度ノ變化ヲ認メタルモ、卵白ノ如キ高度ナル變化ハナカリキ。即チ第6表ノ如シ。

第七節 新鮮鶏卵中ノ生卵白特ニ Globulin 及 Albumin ヲ以テセル實驗成績

以上各節ニ於ケル實驗ニ基キ、無熱竝ニ70度以下ノ卵白ガ大ナル意義ヲ有スル事實ニ依リ、生卵白中ノ蛋白質即チ Globulin 及 Albumin ヲ鹽析ニヨリ分層採取セシ Euglobulin, Pseudoglobulin 及 Albumin ヲ以テ實驗ヲ行ヘリ。

第一項 鶏卵中ノ蛋白質分層ニ就テ

本實驗ニ使用セル鶏卵ハ出來ル限り新鮮ナルモノヲ選ビ、次ノ如ク處理セリ。

成書ニヨレバ、卵白中ノ蛋白質ハ10乃至13%ヲ占メ、ソノ種別ハ Albumin, Globulin (Euglobulin, Pseudoglobulin), Mukoid 其他ニシテ、Ovomukoidノ量ハ蛋白質成分ノ1.5乃至1.2%ニ過ギス。

卵黃中ノ蛋白質ハ15.6乃至17.5%ニシテ、ソノ主成分ハ Ovovittelin ナリ。

本實驗ニ於テハ鶏卵ヨリ Ovoalbumin, Oviglobulin (Pseudoglobulin 及 Euglobulin) ヲ化學的ニ分離シテ供用セリ。

Ovovittelinハ所定ノ如ク處理セルモ、Vittelin溶液中ニハ尙 Lezithin 及脂肪等ヲ有スルニヨリ、成書ニ示スガ如ク、其等ヲ可及的ニ除去シテ精製セント試ミタルモ、精製特ハ容易ニ溶解性ニナス能ハザリシヲ以テ本實驗ニ之レヲ用ヒザリキ。

卵白ヨリ諸蛋白質ヲ鹽析スルニ當リテハ、卵白ヲ「ガーゼ」5枚ニテ濾過シ、2%滅菌食鹽水ニテ5倍ニ稀釋シ、充分攪拌シテ、次ノ如ク夫々鹽析ヲ行ヘリ。即チ

1 Euglobulinノ鹽析法

先ヅ100gノ卵白ヲ2%滅菌食鹽水ニテ5倍ニ稀釋シ、硫酸安門飽和溶液 (Merck製)ヲ半量ニ加ヘ、生ズル沈澱物 (Euglobulin)ヲ遠心沈澱シ、沈渣ヲ直チニ適量ノ滅菌生理的食鹽水ヲ加ヘテ溶解セシメ、「コロヂウム」膜囊中ニ入レ、流水中ニテ數日間透析シ、囊中ノ液ガ「アンモニア」反應及硫酸反應ヲ呈セザルニ至ラシメ、同時ニ蛋白質ノ現色反應 (Xanthoprotein 反應

並ニ Biuret 反應)ヲ行ヒ、滅菌蒸溜水ニテ 20 cc トナシ、雜菌試驗ヲ行ヒ之レヲ Euglobulin トセリ。

2 Pseudoglobulin ノ鹽析法

前記ノ如クシテ、Euglobulin ヲ作り、硫酸安門ヲ加ヘタル後沈澱物ノ生ゼルトキノ上清透明液ニ 1/3 量ノ硫酸安門飽和溶液ヲ加ヘテ半飽和ニ至ラシメ、生ズル沈澱物ヲ遠心沈澱シ、滅菌生理的食鹽水ヲ加ヘテ「コロヂウム」膜囊中ニ入レ、流水中ニ於テ數日間透析シ、囊中ノ液ガ Euglobulin 同様諸反應ヲ呈セザルニ至ラシメ、又蛋白反應ヲ檢シテ、滅菌蒸溜水ニテ 20cc トナシ、雜菌試驗ヲ行ヒ之レヲ Pseudoglobulin トシテ使用セリ。

3 Albumin ノ鹽析法

Albumin ハ前記ノ諸操作ニ於テ生ズル上清ニ醋酸飽和硫酸安門液ヲ加ヘテ濁ヲ生ゼシメ、沈澱物ヲ集メ、「コロヂウム」膜囊中ニ入レテ Globulin 同様ノ處置ヲ行ヒ、各反應ヲ呈セザルニ至ラシメ、コノ囊中ノ液ヲ滅菌蒸溜水ニテ 20 cc トナシ後雜菌試驗ヲ行ヒテ之レヲ Albumin トナセリ。

第二項 Albumin, Euglobulin 及 Pseudoglobulin ヲ無蛋白培地ニ

添加セシメテノ實驗成績

Sauton, Lockemann 及 Long ノ各無蛋白培地ニ以上ノ如ク透析セル Albumin, Euglobulin 及 Pseudoglobulin 液ヲ 3 對 2 ノ割合ニ混入シ各培地ヲ無熱(雜菌試驗ヲ行フ)並ニ 60、70、80、90 及 100 度ニ於テ 1 時間宛加熱シ、之ニ定型の抗酸性菌ヲ培養シ檢セルニ、Sauton, Lockemann 及 Long ノ各培地ニ於ケル成績ハ殆ンド同程度ナルヲ以テ一括シテ記セントス。即チ、

1 Euglobulin 加無蛋白培地ニ於ケル成績

發育ニ於テハ、無熱不良ニシテ、60 度 1 時間ノモノ稍々不良ナレドモ、70 度以上ノモノニ於テハ極メテ良好ニシテ R 型ヲ示セリ。染色ニ於テハ、何レモ抗酸性ヲ示セルモ、無熱及 60 度ノモノニテハ抗酸性ノ減退セルモノアリタリ。Gram ハ何レモ陽性ナリキ。菌形態の變化ニ於テハ無熱及 60 度ノモノ全ク球狀乃至顆粒狀ニ變化セリ。70 度ノモノニテハ定型の桿菌ノ他ニ輕度ノ球狀又ハ最小短桿菌アリタリ。80 度以上ノモノニテハ定型の桿菌ノ他ニ少數ナガラ多形態性ノモノヲ認メリ(第 7 表參照)。

第 7 表

Euglobulin 加培地	温 度	時 間	菌 形 變 化							染 色		發 育	
			K	—	±	±	+	++	+++	抗酸性	グラム	發 育	R. S 型
Sauton Lockemann Long	0		±						+++	±+	+	±	R
	60	1	±						+++	±+	+	+	R
	70	1	±			±				±+	+	+++	R
	80	1	±		±					+	+	+++	R
	90	1	±		±					+	+	+++	R
	100	1	±		±					+	+	+++	R

2 Pseudoglobulin 加無蛋白培地ニ於ケル成績

Pseudoglobulin ヲ添加セルモノニテハ、發育及染色共ニ大體 Euglobulin ト同様ナレドモ、菌形態的變化ノ程度ニ於テハ不良ニシテ、即チ

無熱及 60 度ノモノニテハ定型の桿菌ガ殆ンド球狀ノモノトナリ得ルモ、全部球狀トハナリ得ザリキ、70 度ノモノニテハ尙々變化輕度ナリ、80 度以上ノモノニテハ定型の桿菌ノ他ニ少數ノ多形態性ノモノヲ含ムノミナリ(第 8 表參照)。

第 8 表

Pseudoglob 加培地	温 時		菌 形 變 化							染 色		發 育	
	度	間	K	-	±	±	+	++	+++	抗 酸 性	グ ラ ム	發 育	R. S 型
Sauton Lockemann Long	0		±					++		±±	+	±	R
	60	1	±					++		±±	+	+++	R
	70	1	±			±				±±	+	+++	R
	80	1	±		±					+	+	+++	R
	90	1	±		±					+	+	+++	R
	100	1	±		±					+	+	+++	R

之ニ依ツテ Euglobulin 及 Pseudoglobulin ノ抗酸性菌々形態變化ニ及ボス影響ハ Euglobulin ガ遙カニ大ナルコトヲ認メタリ (第7. 第8表參照)。

3 Albumin 加無蛋白培地ニ於ケル成績 Albumin ヲ添加セル培地ニ於ケル發育及染色等ハ Euglobulin 及 Pseudoglobulin ト大體同程度ナレドモ、菌形態上ノ變化ハ無熱及60度

ノモノニ於テ高度ナル球狀乃至顆粒狀ヲ示シ、70度ニテハ定型的桿菌ノモノノ中ニ變化輕度ナル球狀及最小短桿菌ヲ認メ、又80度以上ノモノニ於テハ定型的桿菌ノ他ニ極メテ輕度ノ多形態性ノ菌ヲ認メ得タリ。

無熱及60度ニ於ケル菌變化ノ程度ハ Euglobulin ト殆ンド同程度ナリト認メリ (第9. 第7表參照)。

第 9 表

Albumin 加培地	温 時		菌 形 變 化							染 色		發 育	
	度	間	K	-	±	±	+	++	+++	抗 酸 性	グ ラ ム	發 育	R. S 型
Sauton Lockemann Long	0		±						+++	±±	+	±	R
	60	1	±						+++	±±	+	+	R
	70	1	±			±				±±	+	+	R
	80	1	±		±					+	+	+	R
	90	1	±		±					+	+	+	R
	100	1	±		±					+	+	+	R

之等ニヨリ、生卵白中ノ Euglobulin 及 Albumin ハ抗酸性菌ニ對シテ高度ナル球狀乃至顆粒狀變化ヲ起サシメ、又 Pseudoglobulin ハ前

2者ノ如ク高度ナル變化ハ起サバルト云ヘドモ中等度以上ノ變化ヲ起サシメ得ルモノト思考セリ。

第八節 生卵白ニヨリ變異セル抗酸性菌ノ還元性ノ有無ニ關スル實驗成績

生卵白中ノ蛋白質即チ Albumin 及 Globulin ニ依リ、抗酸性菌ガ定型的桿菌ヨリ球狀乃至顆粒狀ニ變異セルコトハ以上ノ實驗ニヨリ知り得タルモ、之等球狀乃至顆粒狀ニ變異セシ菌ガ、果シテ定型的抗酸性桿菌ニマデ還元シ得ルヤ否ヤニ就キ検討セント試ミ、次ノ如クセリ。即チ

球狀乃至顆粒狀ニナリタルモノヲ Petraghani, 無蛋白及 Glycerin-agar ノ各培地ニ夫々移植セルニ、何レノ培地ニモ直チニ發育旺盛トナルモノ、又ハ2乃至3代培養セザレバ發育旺盛ニナラザルモノ等アルモ、何レノ場合ニ於テモ、培養數代後ニハ發育旺盛トナリタリ。

尙形態的ニハ、移植後發育シ、球狀乃至顆粒狀ヨリ最小短桿菌又ハ定型の抗酸性桿菌ニ還元セルモノ及 4 乃至 5 世代培養セルニ於テ初メテ定型の抗酸性桿菌ニ還元セルモノ、又抗酸性ニ就テモ、發育及形態的ニ於ケル還元性ト平行シテ

弱及非抗酸性ヨリ抗酸性ニ還元セルヲ認メタリ。斯クテ分離培養ヲ行フ如ク常ニ抗酸性桿菌ノ發育シ來タルヲ認メタルヲ以テ、余ノ實驗ニ於ケル生卵白ニ依リ變異セル抗酸性菌ハ還元培養ノ可能ナルヲ信ゼントス。

第四章 總括竝ニ考按

余ハ鶏卵含有培地内ニ於テ如何ナル因子ガ屢々結核菌及所謂非病原性抗酸性菌ヲ球狀若クハ顆粒狀ニ變異セシムルカニ就キ實驗觀察シ、興味アル成績ヲ收メ得タリ。

即チ先ヅ Petraghani 培地内水分ノ量的關係ニツキ検討セシガ、殆ソド水分ハ影響ナキコトヲ認メ、次イデ Petraghani 培地ノ各成分ニツキ分析の實驗ヲ行ヒ、鶏卵成分ノ存在ト Glycerin ノ缺乏等ニ於テ極メテ輕度ナガラ抗酸性菌ノ多形態性ノ總ベテノ種類ヲ見出セリ。

即チ後者 Glycerin ノ缺乏ニ於テハ先進諸學者ガ研究發表セルガ如ク榮養不充分ナル培地 (Glycerin, 糖等ノ缺乏) ニ於テ非又ハ弱抗酸性ニ變異セルコトハ一致セルトコロナルモ、卵白、卵黄ノ存在ニ關シテハ不明ナルヲ以テ緒言ニ於ケルガ如ク、加熱溫度竝ニ時間的關係差ニ就キ實驗セルニ、第 3、第 4 表ノ如キ結果ヲ得、即チ熱ニ對シテ labil ナ或ル因子ガ特ニ卵白中ニ存在セルモノナラント推察シ、先ヅ無蛋白培地ヲ用ヒ、コレニ生卵白ヲ添加シ、熱及時間ニツキ檢セルニ無熱又ハ低溫ニ於テ高度ナル球狀乃至顆粒狀ニ變異セルヲ認メ得タリ。仍テ熱ニ對シテ labil ナル卵白因子ガソノ主要ナル成分ヲナスベキト考察セルヲ以テ、生卵白中ノ如何ナル蛋白質ガ原因ヲナスカ、更ニ追究シ、鹽析ニヨリ、卵白中ヨリ、Globulin 及 Albumin ヲ取り出シ實驗セルニ第 7、第 8 及第 9 表ニ於ケル成績ヲ得タリ。仍テ Albumin 及 Globulin ガソノ主因ヲナスモノナリト思考セリ。

尙生卵白中ノ Albumin 及 Globulin ニ依ツテ球狀、顆粒狀ニ變異セル菌ガ果シテ定型の抗酸性桿菌ニ還元シ得ルヤ否ヤニ就キ Petraghani,

Glycerin-agar 及無蛋白培地ニ夫々移植セルニ何レモ抗酸性桿菌ニ還元セルヲ認メタリ。

球狀乃至顆粒狀ニ變異セル菌ニツキ、ソノ發育ハ不良ニシテ、培養後第 7 乃至第 8 日目頃ヨリ發育シ、遅ル、モノニテハ第 15 日乃至第 20 日目以後ニ於テ不良ナル發育ヲナスモノアリ。概ネ第 10 日乃至第 15 日目ノモノ最モ多シ。聚落ニ於テモ本來 R 型ナルモノガ屢々 smooth ニナル傾向ヲ有シ、染色ニ於テハ Gram ハ何レノ場合モ陽性ヲ示セルガ、抗酸性ニ就テハ弱乃至非抗酸性ノ球狀乃至顆粒狀ノモノヲ一部混入セルヲ見タリ。

球狀ニ變異セル菌ノ大キサニ就テハ Zeiss ノ Mikrometer ヲ使用シテ計測セルニ、最モ大ナルモノハ直徑 2.0μ 、最モ小ナルハ 0.2μ 、ニシテ最モ多キハ、 0.4μ 、乃至 0.6μ 、ノモノナリ。又顆粒狀ノモノニ於テハ大體 1.0μ 、乃至 0.2μ 、又ハソレ以下ノ微小顆粒オモ認メタリ。

今培養基上ニ於テ證明セラレタル球狀結核菌ニ關スル文獻ヲ考察スルニ、ソノ數枚舉ニ違アラザルモ簡單ニスレバ大體次ノ如シ。

先ヅ、1910 年 Kumbarry ガ Glycerin 6.0、Aethylalkohol 3.0、Aq. 1.0、混合液ニ馬鈴薯片ヲ加ヘ、氷室ニ 24 時間放置セル後同液ヲ捨テ之レニ菌ヲ培養シ、第 3 代目ニ球狀ノ發育セルヲ認メタリ。Wherry (1913) ハ Glycerin ヲ含有セザル寒天培地ニ定型の結核菌ヲ培養シ非抗酸性球菌ノ發育ヲ發表セリ。又 Dostal (1916) 有馬、青山、太繩 (1920)、Reenstierna (1926)、Kirchner (1931) 等ハ「サボニン」添加培養基ニ於テ Granula ノ發育ヲ認メ、稅所 (1929) ハ鹽酸ヲ以テ、村田 (1929) ハ又結核菌ノ多形態性ヲ

Kahn (1928, 1929) ハ 球狀菌ノ發育ニツイテ、Panek (1930), Valtis (1930) ハ 濃過型ニツイテ、Calmette (1932) ハ Vitamin 加卵培地ニ於テ Granula ヲ證明シ、Schneider (1930) ハ Cardiajol, Caromin ヲ用ヒ、Kallós (1931) ハ Olivénöl ヲ用ヒテ、Møllgaard (1931), Pla (1931), Alexander (1934) 等ノ實驗又、長谷川 (1935) ハ Konvallamarin ヲ以テ、中川 (1935) ハ 膽汁酸加 Glycerin-Bouillon ヲ以テ、鴻上 (1936) ハ「アルカリ」卵黃蛋白培地ヲ以テ夫々非抗酸性球狀乃至顆粒狀ノ結核菌ヲ得タリ。

第五章 結 論

余ハ結核菌及所謂非病原性抗酸性菌ヲ使用シテ之等菌ガ鶏卵含有培地内ニ於テ球狀乃至顆粒狀ニ變異セル本質ヲ探究實驗シ、抗酸性菌ヲ變異セシムル主要ナル因子ハ生卵白中ノ蛋白質即チ熱ノ加ハザルカ若クハ 60 度乃至 70 度以下ノ熱ニ對シ labil ナ Euglobulin, Pseudoglobulin 及 Albumin ナルコトヲ確メ、鶏卵中ノ生蛋白及之レヨリ鹽析ニヨリ取り出シタル Englobulin・Pseudoglobulin 及 Albumin ヲ以テセル培地ニ於テノ抗酸性菌ノ發育、染色及形態ニ就イテハ

(1) 發育、不良ニシテ一般ニ培養後 10 日乃至 15 日目ニ肉眼ニ聚落ヲ形成スルモノ最モ多シ。聚落ニ於テハ、本來 R 型ナルモノガ屢々 smooth ニナル傾向ヲ有ス。

(2) 染色、Gram ハ何レノ場合ニ於テモ陽性ヲ示シ、抗酸性ニ就テハ全部非抗酸性ニナリタルモノハアラザルモ、弱又ハ非抗酸性ニナリタル

カ、ル時余ハ鶏卵中ノ生蛋白質即チ Euglobulin 及 Albumin ヲ以テ高度ノ變異又 Pseudoglobulin ヲ以テ Euglobulin 及 Albumin ニハ劣ルモ各々球狀乃至顆粒狀ノ菌ヲ得ル事ニ成功セリ。

仍テ殊ニ鶏卵ハ結核培地ニ最モ多く用ヒラレ、之等培地ノ加熱溫度ハ最モ重要ニシテ正確ヲ期スルニアラザレバ結核菌ノ發育ヲ障碍セラルルノミナラズ、球狀變化ヲ來タシ諸種ノ研究ニ不正確ヲ將來スルヲ以テ此ノ點充分ナル顧慮ヲ要ス。

モノヲ一部含有セルアリ。

(3) 形態、全クノ球狀乃至顆粒狀ニシテ、コノ大サハ Zeiss ノ Mikrometer ニテ計測セルニ球狀ノモノノ最大ハ 2.0μ 、最小ハ 0.2μ 、ニシテ最モ多キハ 0.4 乃至 0.6μ 、ノモノナリ。

又顆粒狀ノモノニ於テハ 1.0 乃至 0.2μ ナリキ。尙卵黃ヲ以テセル場合ニ於テモ生卵白ノ如キ高度ナル變化ハアラザルモ輕度ノ球狀乃至顆粒狀ノ變化ヲ認メタリ。

以上ノ如ク發育上ニ、染色上ニ又形態的ニ種々ナル變化ヲ來タセルヲ以テ鶏卵成分ヲ含有セル抗酸性菌用培地ニ於テハ充分ナル加熱溫度ヲ以テ製作セルヲ必要ト思考ス。

稿ヲ終ルニ臨ミ、終始御懇篤ナル御指導ト御校閲ヲ賜リタル恩師寺田教授ニ對シ衷心ヨリ感謝ノ意ヲ表シ、併セテ教室員各位ノ御援助ニ深甚ノ謝意ヲ表ス。

文 獻

- 1) Kumbarry, Zbl. f. Bakt. Ref. 48. 445. 1911.
- 2) Wherry, Zbl. f. Bakt. 70. 115. 1913.
- 3) Reenstierna, Zbl. f. d. ges. Tbc. Ref. 27. 509. 1927.
- 4) Kirchner, Beitr. z. kl. d. Tbc. 70. 385. 1928.
- 5) Kahn, Zbl. f. d. ges. Tbc. Ref. 31. 213. 1929. Zbl. f. Bakt. 128. 449. 1933.
- 6) Panek, Zbl. f. d. ges. Tbc. Ref. 33. 791. 1930.

- 7) Valtis, Zbl. f. d. ges. Tbc. Ref. 33. 321. 1930.
- 8) Calmette, Zbl. f. d. ges. Tbc. Ref. 37. 763. 1932.
- 9) Pla, Beitr. z. kl. d. Tbc. 77. 47. 1931.
- 10) Møllgaard, Beitr. z. kl. d. Tbc. 79. 513. 1931.
- 11) Alexander, Zbl. f. d. ges. Tbc. 41. 470. 1935.
- 12) 中川謙, 中川誠一, 結核. 13 卷. 3 號. 198 頁. 昭 10.
- 13) 鴻山光明, 結核. 14 卷.

- 1 號. 1 頁. 昭 11. 14) 占部薫, 福岡醫科大學雜誌. 29 卷. 2983 頁. 昭 11. 15) 鴻上慶治郎外 6 名, 結核. 15 卷. 1 號. 1 頁. 昭 12. 16) 小田切信男, 結核. 15 卷. 4 號. 321 頁. 昭 12. 17) 吉田長之, 結核. 16 卷. 10 號. 1263 頁. 昭 13. 18) Kolle-Waßermann's Handb. 3. Auf. Bd. V. 1928. 19) Kolle u. Hetsch, Die Experimentelle Bakteriologie. V. Auf. 20) 戸田忠雄, 戸田新細菌學. 昭 14. 21) 柿内三郎, 生化學提要. 昭 8. 22) 須藤憲三, 小醫化學實習. 昭 3. 23) 永山武美, 醫化學. 昭 12. 24) 田所哲太郎, 蛋白質化學概論. 增再版. 昭 14. 蛋白質化學總論. 昭 2. 蛋白質化學各論. 昭 6. 新編食品化學各論. 昭 11. 25) 岩井勝三郎, 醫學中央雜誌. 第 21 卷. 781 頁. 大正 12. 26) Hoppe-Seyler, Chemische Analyse. 1924.