

耐性培地 (Kirchner 半流動培地) 内における Cycloserine の定量成績

CS の分解過程についての二、三の検討

前田 勝敏・野尾 健一・賀来 隆二

国立療養所豊福園

受付 昭和 41 年 2 月 19 日

QUANTITATIVE MEASUREMENT OF CYCLOSERINE IN RESISTANT MEDIUM (KIRCHNER SEMILIQUID MEDIUM)*

Some Studies on the Process of Chemical Disintegration

Katsutoshi MAEDA, Kenichi NOO and Ryuji KAKU

(Received for publication February 19, 1966)

CS (Cycloserine) in Kirchner semiliquid medium was quantitatively determined over 4 weeks in order to study the influence of several conditions on its disintegration. Furthermore, by using the disintegration products in this procedure, quantitative and qualitative analysis were made. Qualitative analysis of CS was carried out in accordance to Jones method. The results are as follows.

1. As a preliminary test, pH and concentration of CS aqueous solution were determined. It was seen that the more acid the solution becomes, the quicker the disintegration progresses, and that the more alkaline the solution, the stabler the disintegration.
2. In an ice chamber at 6°C, CS is almost stable at pH more than 6.64.
3. Then, the influence of high temperature was studied: CS solutions of pH 6.8 and pH 7.2 showed 16~24% of decrease in one hour in water at 80°C or by boiling.
4. CS in Kirchner semiliquid medium showed a considerable unstableness: decreased 38~44% in 4 weeks. Furthermore, an addition of 10% serum promoted its disintegration, showing 90~92% of decrease rate.
5. 10% serum was added to the CS resistant medium, boiled and 15 minutes later, CS showed an decrease of 14~13%. When CS was added to serum alone and boiled for 10 minutes, decrease in CS reached to 33~35%. Furthermore, CS was added to serum to cause a denaturation of protein by urea and then the decrease rate of CS was 32% 3 hours later and 42% 6 hours later. These results apparently indicate that this rapid decrease of CS in Kirchner resistant medium added with serum is due to the denaturation of serum protein.
6. Furthermore, the process of CS disintegration was followed, and it was seen that serine and hydroxyl amine are first disintegrated by hydrolysis. Also, it was shown that pyruvic acid was produced from serine. 4 weeks later, cysteine was observed in the medium, which was considered to have been produced by the binding of serine and SH radical which was liberated by serum protein denaturation. However, the cause of this rapid disintegration of CS by the addition of serum is not clarified.

As seen in the above, chemical study on Kirchner resistant medium of CS was conducted.

* From National Toyofuku Sanatorium, Matsubase-machi, Shimomashiki-gun, Kumamoto-ken, Japan.

A definite conclusion can not be obtained from the above data alone, since no observations were made on changes of the medium by the inoculation of tuberculous bacilli. There still remain many problems to be studied with regard to the determination of CS resistance.

緒 言

現在の結核治療において、CS が二次抗結核薬として重要な位置を占めていることはいうまでもない。しかしその作用機序、すなわちいかにして結核菌または結核症に作用するかについては、まだはつきりした結論は出ていないといえるのではなからうか。

CS の作用機序については、青木、溝畑、山本らの、一連の生化学的研究があり、また CS の結核菌に対する影響および耐性については、Cummings et al., R. Bömke らの研究、日本においては、CS 耐性検査研究グループの研究報告等があるが、CS の特異な副作用とも関連して、なお多くの問題点を残しているというのが事実であろう。われわれも昭和 35 年以来多数の症例に CS を投与して、耐性菌結核症に顕著な効果を認めているが、その作用機序または耐性出現については、なお不明の点が少なからず存することを感している。

青木 (1957 年) によれば、CS の酸分解物中に D(-) Serine とともに Hydroxylamine の生成を認めておるが、著者の見解によれば、Hydroxylamine は V. B₆ 酵素系の阻害剤ではあるが、CS の結核菌酵素阻害作用は、それによるものではなく、CS 自体あるいは他の分解産物であろうといっている。また耐性培地中の CS 濃度について化学的定量を行なったのは、Cummings et al. (1955) 山本ら (1963) であるが、37°C に保存して 2 週間後かなりの減少を認めることを報告している。山本らのごとく、培地中の急激な CS の減少が耐性測定に相当の影響があるのは当然と考えられる。しかしその点についてははつきりした結論は、まだ出されていないようである。

先般、二次抗結核薬の耐性基準が公布され CS の耐性基準を 20r と定められた。われわれは耐性培地中の CS の経日的変化と、その分解産物について二、三の検討を試み、その成績を昭和 38 年、第 19 回日本結核病学会九州地方会、および昭和 39 年、第 84 日本内科学会九州地方会に発表したが、山本らと同じくかなり急激な CS の減少、および二、三の興味ある所見を得て、CS 耐性の判定について、なお検討すべき疑問

があるのを感じているので、ここに一括報告して、諸家の批判を仰ぎたいと考えるものである。

実験の目的と方法

実験の目的は、耐性培地中の CS の濃度を経日的に測定すること、さらに青木らの成績を追試して、CS の分解産物を検索することであつた。なおこれに付随して、pH、温度等の条件についても観察した。実験材料として、Kirchner 半流動培地と小川培地を使用した。小川培地は除蛋白がどうしても完全になかつたので測定に困難を来たし、その使用を中止し、もつぱら Kirchner 培地を使用した。したがつて小川培地中の CS 測定は、今後の課題として残つている。CS 測定は M. M.

Fig. 1. Changes in Amount of CS at Different pH Concentrations of Phosphate Buffer Solution (37°C)

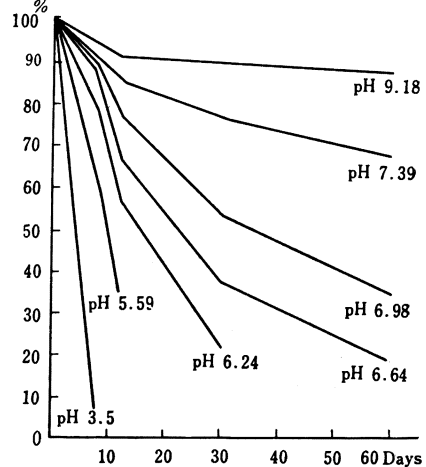


Table 1. Changes in Amount of CS at Different pH Concentrations Each pH (Temperature : 37°C) (r)

Time	pH	3.5	5.59	6.24	6.64	6.98	7.39	9.18
Before		137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5	137.5
12 hours		129.8	135.0	135.0	136.0	136.0	135.0	136.0
24 hours		119.0	130.0	135.0	136.0	137.5	137.5	135.0
48 hours		105.0	125.0	130.0	135.0	136.0	136.0	136.0
4 days		62.0	112.0	125.0	129.0	133.0	135.0	135.0
7 days		10.0	90.0	110.0	122.0	123.0	125.0	130.0
12 days		—	48.0	77.0	92.0	105.0	116.0	126.0
30 days		—	—	30.0	51.0	73.0	105.0	124.0
60 days		—	—	—	25.0	54.0	93.0	122.0

Cummings, 山本らと同じく, Jones 氏法によつた。したがつて本回の実験は, Kirchner 半流動培地中の CS の化学的定量であり, 直接結核菌を培養した培地の化学的变化ではないことをあらかじめお断りしておきたい。なお実験に使用した CS は塩之義製薬会社より提供されたアンプル入り粉末を, 使用の都度開封使用した。

実験成績

予備試験

培地内 CS の定量に先だち, 磷酸緩衝液の中の CS の pH 濃度, および温度の影響を観察した。表 1, 図 1 のごとく, 温度 37°C において, 各 pH の CS 溶液は, 酸性に傾くに従い早く減少し, アルカリ性に傾けば安定度を増加する。しかし pH 9.18 でも, 60 日間には, 11% の減少がみられた。

温度の影響は, 表 2 に示すごとく, 氷室内 (6°C) 内における, 各種 pH 濃度 CS 溶液を 9 日間測定した。pH 3.5 にては 22% 減, pH 5.59 にては 6% 減, pH 6.24

Table 2. Changes in Amount of CS at Different pH Concentrations in an Ice Box (6°C)
Amount of undiluted CS solution 137.5 mcg/ml

pH	Time			
	12 hours	46 hours	4 days	9 days
	mcg	mcg	mcg	mcg
3.5	135	128	121	108
5.59	135	133	131	127
6.24	136	133	135	133
6.64	136	134	138	135
6.98	136	135	135	135
7.39	136	136	136	135
9.18	137.5	136	136	135

Table 3. Stability of CS when Heated in Phosphate Buffer Solution

pH	CS concentration	Time(min.)						
		0	10	20	30	40	50	60
1) In case heated in water bath at 80°C								
7.2	50 mcg	49 (2%)	48 (4%)	48 (4%)	45 (10%)	45 (10%)	44 (12%)	42 (16%)
	100 mcg	100	98 (2%)	95 (5%)	93 (7%)	90 (10%)	87 (13%)	83 (17%)
6.8	50 mcg	49 (2%)	48 (4%)	47 (6%)	45 (10%)	43 (14%)	41 (18%)	39 (22%)
	100 mcg	100	98 (2%)	95 (5%)	91 (9%)	86 (14%)	80 (20%)	76 (24%)
2) In case boiled in water bath								
7.2	100 mcg				91 (9%)			80 (20%)
6.8	100 mcg				86 (14%)			77 (23%)

Fig. 2. Changes in Amount of CS in Kirchner Semiliquid Medium

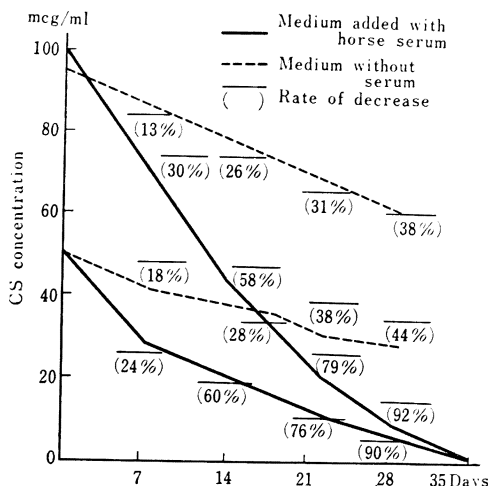


Table 4. Changes in Amount of CS in Kirchner Semi-liquid CS-resistant Medium (Temperature: 37°C)

	Amount of CS added	1 day	7 days	14 days	21 days	28 days	35 days
No serum added	100 γ	94.5	87	74	69	62	
	50 γ	49.5	41	36	31	28	
Serum added (10%)	100 γ	99	70	42	21	8	—
	50 γ	50	28	20	12	5	—

にて 2% 減, それ以上の濃度にては, ほとんど不変であつた。すなわち pH 濃度 6.64 以上, 温度 6°C の低温溶液中では, CS はほぼ安定であるといえよう。これは山本氏らの実験においても確認されている事実である。

次に高温の影響を検討した。表 3 に示すごとく, pH 6.8 および pH 7.2 の CS 溶液を 80°C の水浴中に 1 時間加熱した場合と, 100°C の水浴中に煮沸した場合を定量した。両者を通じて, pH 6.8 溶液の CS 減少率が多く, また 100°C のほうが 80°C の溶液より, CS の減少がやや多いが, pH 6.8 にては大差はない。しかし CS は高温にて, pH 6.8 以上の溶液中において, 不安定であるとはいえよう。

Kirchner 半流動培地における CS の測定

Routine の培養法として, われわれは規定のごとく, 10% の無菌馬血清を添加しているが, 今回の実験で,

われわれは Kirchner 培地に血清を添加しないものと、添加したものについて、それぞれ別個に CS の定量を行なった。その成績は図 2, 表 4 に示すごとくであった。

無血清培地における CS の減少量を基本量の % として現わせば、4 週後に 38~44% の減少となる。しかるに血清添加培地における減少率は、さらに急激であつて、4 週後において 90~92% の減少となり、5 週後にはほとんど証明できなくなる。

すなわち Kirchner 無血清培地の CS は、pH の補正を行ない、38°C の孵卵器に保存して、38~44% の減量を認める。これは、さきに予備実験として行なつた、pH 6.98 の CS の減量と大差はない。しかし 10% の血清添加により、CS は約 2 倍の速度で減量し、4 週後に 90~92%、5 週後には証明できなくなる。以上の事実はいかなる理由によるものであろうか。その説明には、2 つの要因に分けて考えたがよいと思われる。

(1) 無血清 Kirchner 培地中の CS 分解過程 (おそらく磷酸緩衝液中の CS 分解過程と類似のものであろうと考えられる)。

(2) 添加血清の CS 分解促進作用。あるいは(1)の過程と異なつた分解過程が起こるのか。

以上 2 つの疑問について、われわれの行なつた実験が、完全な回答を与えることはできないと考えるが、あるいはなんらかの示唆、あるいは研究方向の見通しは与えられるかも知れない。そういう意味で、われわれは以下の成績を述べてみたい。

1. Kirchner (無血清) 培地中の CS の分解について さきに引用したごとく、青木氏らの報告によれば、

Fig. 3. Changes in Amount of CS (100 gamma), Serine, and Pyruvic Acid, and Qualitative Change of Hydroxylamine in Kirchner Semi-liquid Media Added with 10 per cent Horse Serum

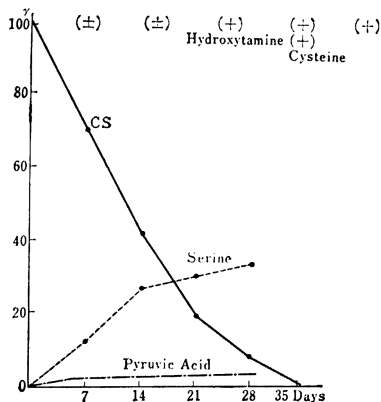


Table 5. Changes in Amount of CS, Serine, Pyruvic acid and Hydroxylamine in Kirchner Media Added with Serum (CS 100 γ resistant) (37°C)

	1st day	1st wk.	2nd wk.	3rd wk.	4th wk.	5th wk.
pH	6.8				6.62	
CS	100 γ	70	42	21	8	—
Serine	—	12	27	31	34	35
Pyruvic acid	—	1.1	1.6	2.3	2.6	
Hydroxylamine	—	(±)	(±)	(+)	(+)	

CS の酸分解物中に D (-) Serine とともに Hydroxylamine の生成を認めており、また山本氏らは、CS の水溶液または培地内に日数の経過とともに Hydroxylamine を証明し、さらに亜硝酸の成生を認めている。われわれも CS 加水分解産物である、Serine と Hydroxylamine、およびさらに Serine の水解産物と推定される、Pyruvic acid の存在を推定して、以上 3 物質の測定を行なつた。Serine の定量は Paper chromatograph により Nynhydrin 反応による発色法を利用し、濃度を測定し、Pyruvic acid は David Seligson 法により定量した。また Hydroxylamine は Salicylaldehyde による定性法によつた。その成績は図 3, 表 5 に示すごとくになつた。すなわち CS の減少とともに Serine の成生と上昇を認め、また Pyruvic acid の軽度の上昇を認めた。Hydroxylamine は第 1 週目より (±)、第 3 週目より確実に (+) の判定を得ることができた。また第 4 週目に Kassel & Brand 氏法により Cysteine の存在を確認した。その検査の理由については、後に第 2 項に述べる。培地の pH 濃度は、6.8 より 6.62 と多少酸性側に推移していた。以上成績を総括すれば、培地内の CS はかなり急速に分解して、Serine と Hydroxylamine を生成することは明らかである。Serine より Pyruvic acid への分解は、やや緩徐のようである。そのために Serine は、14 日までかなり急激に増加し、その後は緩やかに上昇して 4 週目にいたる。Serine の加水分解のさい、Pyruvic acid と同時に多分 NH_3 が生成されるであろうと推定されるが、これは測定しなかつた。山本氏らの証明した亜硝酸はその終末産物と解釈してよいのではなからうか。

2. 添加血清の CS 分解促進作用について
Kirchner 半流動培地に血清を添加すれば、CS の分解速度が約半分短縮されることは、われわれにとつて説明の非常に困難な事実であつた。pH 濃度の変化によるという推定からすれば、表 5 のごとく血清添加培地の pH の推移は、第 1 日 pH 6.8、4 週目 6.62 であるから、表 1 における pH 6.64、6.98 の CS 溶液の変化にほぼ相当するが、その CS 減少率 62.9%、46.9% と比

較しても、29.1~49.1%の差異が認められるので、単純にpHの変化のみをもつて説明はできないと考えられる。そこでわれわれは血清添加培地の滅菌操作または38°C 孵卵器内に長期間保存するというごとき、加熱による血清蛋白の変性現象に着目し、二、三の実験を試みた。

蛋白質変性の問題は非常に複雑であつて、なお未解決の問題点が少なくないようであるが、比較的低温にても徐々に変性は起こりうるし、紫外線、X線等の照射、あるいは物理的、化学的の種々の要因で変性が起こることは成書にも明らかである。蛋白の加熱による凝固のみが、変性の唯一の性質でないことも証明済みである。

そこでわれわれは血清添加 Kirchner 培地に 100°C の加熱を与え、CS の変化を定量した。表6は Kirchner 培地に CS 100γ と 10% 血清添加後、15 分間煮沸した後、CS を測定したものであるが、その減少率は 14~13% となつた。そのさい培地は血清凝固のため白色絮状の沈殿物を析出する。この場合考えられる CS の減量は、加熱による CS の加水分解と、凝固蛋白質への吸着現象であろう。対照として培地滅菌後、CS および無菌馬血清を添加したもの、すなわち Routine の耐性培地については、15 分ないし 30 分間はほとんど CS の減少を認めることはできない。すなわち経時的にはもつと徐々に分解していくものであろう。

次に馬血清のみに CS 100γ を添加して 10 分間煮沸し、蛋白質を凝固せしめ、濾過後の CS 量を測定したが、その成績は表7(a)のごとく、33~35% の減少を認めた。対照としてタンゲステン酸塩による除蛋白(これも熱変性に類似する不可逆性の沈殿であるが)によつては、CS に対する影響はほとんどみられない。次に馬血清の尿素変性による CS の減少を実験(b)として掲げたが、その減少率は3時間後 32%、6時間後 42~32%

Table 6. Changes in Amount of CS After Boiling (for 15 min.) in Kirchner's Semi-liquid Medium Added with CS and 10% Horse Serum

	CS content	After boiling	Rate of decrease
Experiment I	100 mcg	86 mcg	14%
Experiment II	100 mcg	87 mcg	13%
Experiment III	100 mcg	86 mcg	14%
Control: Medium to which CS & 10% serum were added after sterilization with out further heating			
	CS content	Value determined	Rate of decrease
Experiment I	100 mcg	98 mcg	—
Experiment II	100 mcg	102 mcg	—
Experiment III	100 mcg	98 mcg	—

となつた。とくに CS の濃度が高ければその分解率は高い。熱変性と尿素変性の主な相違は凝固の有無であるが、以上の事実より培地内の CS の減少には、単に蛋白凝固による吸着現象以外に化学的な分解過程の介在を推定せしむるようと思われる。

蛋白変性のさい、活性 SH 基を遊離することは、Hopkins あるいはその後 Mirsky, Anson らによつて詳細に研究されている。また鼠の肝臓切片を Serine の存在で、Homocysteine とともに孵卵器の中に入れておくと、Thiol 基転移により Homoserine と Cysteine を生ずる事実が報告されている。われわれの血清加 Kirchner 培地においても、4 週間目に Cysteine を証明することができた。すなわち CS の分解過程において、Serine と遊離 SH 基との結合により、Cysteine が生じることにはほぼ確実といえよう。しかしこの事実のみをもつて、CS 分解に対する血清の促進作用の全部を説明し

Table 7. a) Change in Amount of CS when it was Added to Horse Serum Alone and Boiled for 10 Minutes in Order to Solidify Protein

	Amount of CS added	Value determined	Rate of decrease
Experiment I	100mcg/ml	67mcg/ml	33%
Experiment II	100	65	35%
Experiment III	100	67	33%

Control: Denaturation of protein by tangstic acid

Experiment I	100mcg/ml	99mcg/ml	1%
--------------	-----------	----------	----

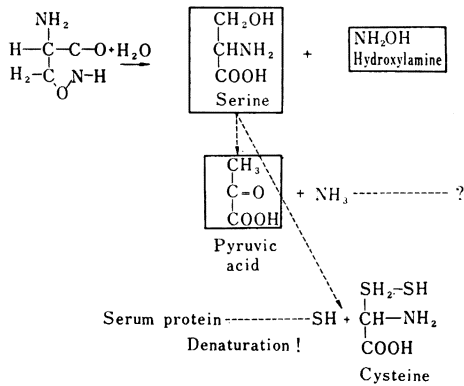
b) Change of CS Added to Horse Serum when Denatured with Urea (): Rate of decrease

Amount of CS added	3 hours later	6 hours later
100 mcg/ml	68 mcg (32%)	58 mcg (42%)
50 mcg/ml	34 mcg (32%)	34 mcg (32%)

Table 8. Quantitative Analysis of CS when it was Added to 1% Ogawa Medium (Neither solidified nor sterilized) and Subjected to Denaturation of Egg Albumin with Urea

	Amount of CS added (mcg/ml)	Amount of CS 3 hours later (Rate of decrease)	Amount of CS 6 hours later (Rate of decrease)
1	100	89 mcg (11%)	78 mcg (22%)
2	100	86 mcg (14%)	
3	100	84 mcg (16%)	
4	100	86 mcg (14%)	
5	50	45 mcg (10%)	
6	50	45 mcg (10%)	
7	50	43 mcg (10%)	
8	50	44 mcg (10%)	

Fig. 4. Diagram of Decomposition Process of CS



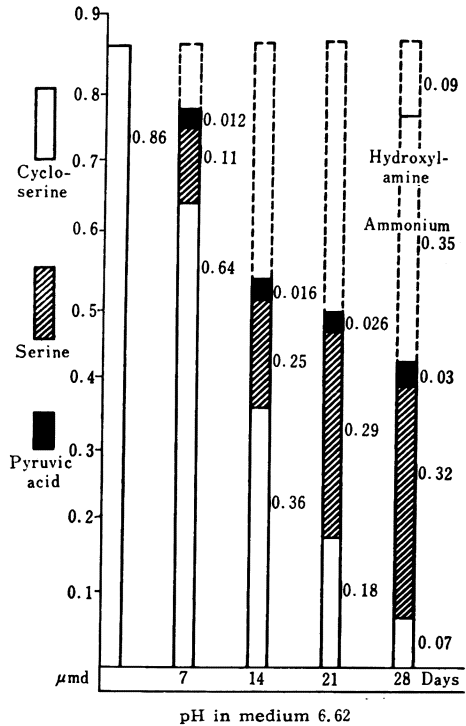
うるものとは考えられない。われわれはさらに1%小川培地について滅菌凝固を行なわれず、尿素変性を行ない、その後CSの定量を実施したものを表8にかかげた。ただ、われわれは滅菌凝固せしめた小川培地についての定量は行ないえなかつたので、ここで比較検討する訳にはいかないが、馬血清の尿素変性液に比較すれば減少率は少ないが、3時間後に10~16%、6時間後に22~24%の減少を認めている。以上われわれの実験の結果よりCSの分解過程を図式化すれば、図4のごとくなるであろうか。あるいはSerineよりPyruvic acidへの過程に、介在する他の過程があるかも知れないが、分子量の理論的推算よりすれば、図5のごときものになると考えられよう。第4週目において0.09 μmolが、Cysteineを含めて、われわれの測定にかからなかつた未知の分解産物か、あるいは測定誤差であろうと考えられる。

考 案

以上、実験成績について述べたが、耐性培地(Kirchner半流動培地)中のCSは決して安定ではなく、4週間のうちにかなり急速に分解すること、とくに血清添加によって、その分解速度が早められることが認められた。そしてその過程は、CSの加水分解によるものであり、まずSerineとHydroxylamineを生成し、さらにSerineよりPyruvic acidが生成することを認めえた。また、血清添加によりおそらくその蛋白変性の結果、遊離SH基と結合してSerineよりCysteineが生じることを証明した。ただわれわれは耐性培地を化学的素材として、その分解過程を追求したに止まるので、結核菌を接種した培地については、観察しておらず、したがってCS感受性菌、または耐性菌に対して、その分解過程がどんな影響を与えるかは不明である。ただ、従来発表されたCS耐性の測定をめぐる二、三の文献を検討考察して、今後の研究のメドにしたいと考える。

CSの菌発育阻止力に対するAlaninの拮抗作用につ

Fig. 5. Theoretically Estimated Value of Molecular Weights (μ mol.) for Decomposed Products of Cycloserine



いて、溝畑(1957)、R. Bönicke、B. P. Lisba(1963)、P. D. Hoeprich(1964)らの報告があるが、R. Bönickeによると、AlaninはCSの菌発育阻止力を低下せしめることを証明した。また著者らは培地に蕉性葡萄糖を加えると、CSの菌阻止力が抑制されることを知つた。同時に彼らは培地にAsparaginの代りにGlutamin säureを加えると蕉性葡萄糖と結合してAlaninが生ずることを証明している。同様にTison, F., Tacquet, A., Guillaume, J. et al. (1963)は、Löwenstein-Jensen培地に、蕉性葡萄糖を添加すると、CSの活性が失われることを報告している。これらの報告はCSの抗菌作用についての興味ある観察であるが、われわれの実験において、CSがそれ自体の抗菌力を阻止する、蕉性葡萄糖を自から生成する事実について、上述の報告と関連して誠に興味深い現象だと考える。ただわれわれの実験では、Alaninの検索を行なわなかつたので、ここに決定的な結論を出すことは差し控えたいが、今後検討に値すべき問題であろう。

以上のごとき、CSに対する拮抗作用物質について、Bönickeらは、Löwenstein-Jensen培地とHohn卵培地(Hohn IV)との、CSの阻止力を比較検討し、L. J.培地のCSの最低菌阻止量が、10~30 γ/mlであるのに対し、H培地にては100~250 γ/mlを要するといっている。その理由として、H培地に含有されるDL-Alanin

が比較的強い拮抗作用を有するからであろうとしている。なお著者らは CS の耐性上昇を両方の培地にて観察し、L. J. 培地にて 16 r より 125 r に上昇した菌を別に H 培地に培養し、250 r より 500 r に上昇したことを認めた。理論的には 250 r より 2,000 r に上昇すべきところであるのに、実際上の耐性上昇域が狭い理由として、H 培地の加熱凝縮のさい、行なわれる加水分解によって生成される Hydroxylamine の結核菌に対する毒性によるものであろうと推論している。彼らは L. J. 培地に Hydroxylamine を付加して、CS との Synergismus を証明した (Mycobac. phlei. SN 101, Mycobac. smegm. SN 2)。われわれの定性試験によつても、Hydroxylamine が培地内に生成するのは確かであるが、どれだけ量が産生され、したがつて結核菌に対してどれだけの毒性を発揮しうるものかは、実際に接種培地について観察しなければ確実にはいえないことであろう。

いずれにしても以上の実験事実および文献の検討より総合して、CS が培地内における分解過程を通じて、CS に対する Antagonistic な物質と、Synergistic な物質を生成し、接種結核菌に影響を与えらるであろうと推測しえられるのではなからうか。もちろん今後それらの点についての実験的裏づけが必要なことは、いうまでもないが、培地内の CS の菌阻止作用と解せられるものは、単に CS そのものの菌阻止力のみによるものではなく、CS の加水分解、あるいは添加血清の変性過程に生ずる各種分解産物の、結核菌に及ぼす影響の Total であると解釈するのが妥当ではなからうか。なおその点についての検討が、培地内における CS 耐性の問題のみでなく、生体内における作用機序解明のためにも必要であろうと考えられる。

結 論

以上、実験成績を要約すれば、

1) Kirchner 半流動培地における CS は、かなりの不安定性を示し、4 週間後には約 40% の減少率を示す。さらに血清を添加すると分解は促進され、90% の減少率

を示した。

2) 付加血清の CS 分解促進作用は、血清蛋白の変性に関係するのかも知れない。しかし 4 週間後に、培地内に Cysteine を証明したのみで、蛋白変性を確認することはできたが、より詳細な作用機序については、今後の研究にまかしたい。

3) CS の分解過程として、その加水分解により、まず Serine と Hydroxylamine が生じ、さらに Serine より Pyruvic acid を生成することを証明した。

以上の分解産物のほかに、なお未知の過程または物質が存在しているかも知れないが、それは今後の課題として、以上の成績、および文献を総合して、CS 耐性培地における菌発育阻止作用は、CS および加水分解の過程において生成した、上述の物質の影響力 (Antagonistic および Synergistic) の総合的な結果と解釈すべきではなからうか。今後さらに検討を試みたいと考えている。

付記：本実験に使用した CS の純末はすべて塩之義製薬より恵与されたものである。ここに付記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) 青木幸一：結核，32：418；32：544；32：605，1957.
- 2) 溝畑久夫：結核，33：274；33：329，1958.
- 3) Cummings, M. M., Patnode, R. A., Hudgins, P. C. : Antib. and Chemoth., 5: 198, 1955.
- 4) Bönicke, R., Lisboa, B. P., : Beitr. Klin. Tub., 126: 212, 1963.
- 5) Tison, F., Tacquet, A., Guillaume, J. et al.: Ann. Inst. Pasteur Lille., 14: 117, 1963.
- 6) サイクロセリン耐性検査研究グループ：最新医学，18：1644，1963.
- 7) Hopkins, F. G. : Biochem. J., 19: 787, 1925. nature, 126: 328, 1930.
- 8) Mirsky, M. L. & Anson, A. E. ; J. gen. Physiol., 18: 307, 1935 ; 19: 427, 1936.
- 9) Baldwin, E. : 動的生化学 (訳), 1959.
- 10) 赤堀・水島：蛋白質化学，第II巻，1954.