

# 核酸による溶血性連鎖状球菌の溶血毒 増産現象に関する研究

第 XIV 報：単純化メジウムにおける静菌状態  
溶連菌の Streptolysin S 産出実験

金沢大学医学部薬理学教室(主任 岡本教授)

山田 治郎 左エ門

(昭和31年2月16日受附)

On the Simplified Media for the Production  
of Streptolysin S by the Resting Cocci

Jirozaemon Yamada

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,  
Kanazawa University, Japan

(Director : Prof. Dr. Hajime Okamoto)

岡本教授<sup>1)</sup>によつて「溶連菌 溶血毒素 Streptolysin S が培地にリボ核酸を加えて菌を培養すると驚異的撰択的に増産せられる」ことが発見せられたのは1939年のことであるが、その後間もなく細谷(1948~49年)<sup>2)</sup>, Bernheimer(1949年)<sup>3)</sup>, 伊藤(1948年)<sup>4)</sup>等によつてリボ核酸を加えたリンゲル液又は磷酸緩衝リンゲル液に洗滌した溶連菌を懸濁せしめただけでも Streptolysin S の多量産出が起ることが立証せられて、ここに核酸による溶連菌の Streptolysin S 増産現象(即ち核酸効果)の証明が甚だ簡易なものとなつて来た。

所で今回私が静菌状態溶連菌による核酸効果の発現に関し、その試験メジウムの組成を如何

なる程度まで単純化し得るかについての系統的  
研究に着手した所以は、

1) Streptolysin S の生成機転に対し生化学的  
方面からの検索を行うにしても、亦

2) 最近正印<sup>5)</sup>によつて発見された「Ag-塩  
による Streptolysin S の耐熱化現象」を利用し  
て、Ag-Streptolysin-S-Complex の分離試験を  
遂行するに当つても

組成の可及的単純化されたメジウムを使用する  
方が有利且つ合理的であると思つたからである。

以下順次現在まで得られた成績を記載することとする。

## I. 1%核酸加磷酸緩衝リンゲル液をメジウムとする静菌状態溶 連菌の Streptolysin S 産出についての予備実験

先ず伊藤等<sup>4)</sup>の方法に準じ、溶連菌生菌体の  
1%核酸加磷酸緩衝リンゲル液(pH 7.2)にお  
ける Streptolysin S〔以下 St-S と略記〕産出の

時間的關係如何についての予備実験を行つた。

### 実験方法

1) 10%核酸原液：

酵母核酸曹達“Merck” 2g を蒸留水 20cc に溶解した後、10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  水溶液で中性としたもの〔以下これを單に核酸原液と記す〕。

## 2) 菌株 :

教室保存の *Streptococcus haemolyticus* “S-株” (マウスに対する最少致死量=1:100 Mill., 0.5cc i.p.) を使用。

## 3) メジウム調製用液 :

a) Phosphate-buffered solution, pH7.2 (M/15  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2-3 分 + M/15  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 7-8 分)

〔以下 P-液と略記す〕

b) Ringer 液 (NaCl 0.85%, KCl 0.02%,  $\text{CaCl}_2$  0.02%,  $\text{NaHCO}_3$  0.01%) 〔以下 R-液と略記す〕を夫々別に用意する。而して

c) 磷酸緩衝 Ringer 液 (pH 7.2) 〔以下これを P-R-液とも略記〕は P-液 1分に対し R-液 4分を加えて調製す。

## 4) 濃厚菌浮游液の調製 :

溶連菌を普通ブイオン (pH 7.5) 200cc に移植,  $37^\circ\text{C}$  に 20 時間培養したものを遠心沈澱に附し, 管底の菌体に対し P-液 (pH 7.2) の 1 回 50cc 宛をもつてする洗滌操作を 3 回施す。ここに得た生菌体の沈澱を P-液 7.2cc (伊藤等の原法では P-R-液 20cc) に浮游せしめる。

## 5) 実験方式 :

a-列 : 中試験管に先ず濃厚菌浮游液 0.36cc, 次いで R-液 1.44cc をいれ, 最後に核酸原液 0.2cc を加えたもの \* (即ち全量 2cc) の 5 本と,

b-列 : 同時に対照として中試験管に先ず濃厚菌浮游液 0.36cc, 次いで R-液 1.44cc をいれ, 最後に蒸留水 0.2cc を加えたものの 5 本を用意する。斯くして a 及び b の 兩列をよく振盪した後,  $37^\circ\text{C}$  の孵卵器中に納め, 15分, 30分, 1時間, 2時間及び 4 時間と逐時的に兩列より同時に 1 本宛の試験管を取り出して, 夫々の遠心 (4,000 r.p.m., 10') 上

清液について溶血試験を行う。

## 6) 溶血試験 :

当教室において従来慣用の方法<sup>1), 4)</sup>による。即ち型の如く 0.85% 食塩水をもつてした被検上清液の倍数稀釈液各 1cc に対し 1% 家兔赤血球浮游液 (脱線維血球を 3 回食塩水で洗滌したもの) 1cc 宛を加え, 振盪した後,  $37^\circ\text{C}$  の孵卵器中に納める。而して血液を混和してより 2 時間目に一旦成績を読み, 更に 22 時間入室 ( $10^\circ\text{C}$ ) に静置せしめたものについて溶血の有無・強弱如何を確かめ, その成績を記入する。

## 実験成績

### 第 I 表提示の成績では

1) 溶連菌生菌体を單に P-R-液に浮游せしめた場合は St-S の産出は極めて僅微であつて,  $37^\circ\text{C}$ , 2~4 時間の静置でも遠心上清液が高々 1:5 の稀釈度迄しか溶血作用を呈しないに対し,

2) 1% 核酸加 P-R-液に浮游せしめた場合には St-S が迅速且つ高度に産出され,  $37^\circ\text{C}$ , 15 分で既に上清液が 1:1,000 液まで溶血作用を呈するに至り, 30 分後では 1:2,000 液まで, 1~2 時間後では 1:5,000 液までと時間の経過と共に溶血値の上昇を来す, しかし 4 時間後では溶血値の上昇がないこと,

3)  $37^\circ\text{C}$ , 4 時間の静置でも pH (7.2) には異変がないこと

の所見に注目すべきであろう。

このように 1% 核酸加 P-R-液をメジウムとした静菌状態溶連菌による St-S 産出実験では,  $37^\circ\text{C}$ , 1~2 時間の静置で遠心上清液の溶血値が最高を示すことを確かめたので, 孵卵器中の静置時間を 2 時間として以後の各考査実験を進めることとした。

## II. 1%核酸加 P-R-液メジウムにおける各成分の除去実験

P-R-液における各成分 (即ち NaCl, KCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  及び  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) が

\* 伊藤<sup>4)</sup>等が先ず P-液 1分と R-液 4分よりなる P-R-液 (pH 7.2) を調製して行つた〔菌の P-R-液による浮游液 1cc+P-R-液 0.8cc+核酸原液 0.2cc〕方式の St-S 産出実験と今回のように P-液と R-液とを夫々別個に使用して行つた〔菌の P-液による浮游液 0.36cc+R-液 1.44cc+核酸原液 0.2cc〕方式の St-S 産出実験液とでは, メジウムにおける菌量, P-液と R-液との量比 (1:4), 核酸濃度 (1%), pH (7.2) 等の諸関係は結局同一である。

果して核酸効果の発現に必須不可欠のものであるか。本項においては1%核酸加 P-R-液をメジウムとする 静菌状態溶連菌による St-S の産出実験を基準として、このメジウムから各成分を順次除去することが核酸効果の発現に如何に反映するかについての考査を行つた。

### 実験方法

#### 1) 濃厚菌浮游液の調製 :

前項実験におけると同様にして P-液を以て 菌浮游液を調製す。

#### 2) メジウム調製用液 :

次の6種類の溶液を用意す。

i) Ringer 液 (NaCl 0.85%, KCl 0.02%, CaCl<sub>2</sub> 0.02%, NaHCO<sub>3</sub> 0.01%) 即ち R-液,

ii) NaCl 欠除 Ringer 液 (KCl 0.02%, CaCl<sub>2</sub> 0.02%, NaHCO<sub>3</sub> 0.01%),

iii) NaCl 及び KCl 欠除 Ringer 液 (CaCl<sub>2</sub> 0.02%, NaHCO<sub>3</sub> 0.01%),

iv) NaCl, KCl 及び CaCl<sub>2</sub> 欠除 Ringer 液 (即ち NaHCO<sub>3</sub> 0.01%),

v) Ringer 液の組成成分を全部除去したもの、即ち単なる蒸溜水,

vi) M/15 磷酸緩衝液 (pH 7.2) 即ち P-液。

#### 3) 実験方式 :

次の6種の試験メジウム、即ち

a) [菌浮游液 0.36cc + R-液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc] (基準実験),

b) [菌浮游液 0.36cc + NaCl 欠除 R-液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc],

c) [菌浮游液 0.36cc + NaCl 及び KCl 欠除 R-液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc],

d) [菌浮游液 0.36cc + NaCl, KCl 及び CaCl<sub>2</sub> 欠除 R-液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc],

e) [菌浮游液 0.36cc + 蒸溜水 1.44cc + 核酸原

液 0.2cc],

f) [菌浮游液 0.36cc を遠心して上清液たる P-液を除去した生菌体沈渣 + 蒸溜水 1.8cc + 核酸原液 0.2cc]

を夫々調製し、全管を同時に 37°C に翻置、2時間後夫々の遠心上清液について溶血試験を行つた。なお爾後の各実験においては被験上清液が基準実験の上清液と同一稀釈度まで溶血作用を呈した場合を以て核酸効果の発現が顕著であるとなし、これを [卅] を以て示し、以下夫々の程度に応じて [卅], [卅], [卅] と順次づけて表示することとした。

### 実験成績

第II表はその成績を展示したものであるが、ここに

1) Ringer 液の各成分を順次除去した (b), (c), (d) 及び (e) の何れのメジウムでも核酸効果が P-R-液をメジウムとした基準実験 (a) におけるよりも、幾分強くさえ現われているような所があることから NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub> 及び NaHCO<sub>3</sub> 等の Ringer 液成分の存否は核酸効果の発現には殆んど影響する所がないことを知り得べく、他方

2) R-液並びに P-液の全成分を除去した単なる 1%核酸ソーダ水溶液をメジウムとした (f) 実験では核酸効果が明らかに劣つて現われていることから、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 及び Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> の Buffer 成分の存在することが核酸効果の発現上相当好条件を与えるものであることが察知出来るよう。

とに角本項の実験で NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub> 等の Cl<sup>-</sup> の無い核酸加メジウムを使用しても、静菌状態溶連菌による St-S 産出実験を効果的に行い得ることが確かめられた訳である。

### III. 糖類によつて等張化した Cl<sup>-</sup> 非含有のメジウムにおける核酸効果の実験

Cl<sup>-</sup> の無い単なる核酸加 P-液中でも静菌状態溶連菌によつて St-S の顕著なる増産を期待し得ることは、前項実験で明らかとなつた。しかし今このメジウムは NaCl を欠くために低張であることに想到するならば、ここには当然低張

液なるが故に菌の膨化、崩壊が起ることが考えられる。

かくては折角 Cl<sup>-</sup> 非含有の核酸加メジウムで St-S を増産させても、この上清液には菌体成分、就中蛋白質等 St-S 以外の夾雑物が混入し

て来るという不利がある訳である。

即ち本項では Cl<sup>-</sup>非含有のメジウムに対し、その等張化を図るに糖類を以てした場合、核酸効果の発現関係係して如何についての検討を行った。

#### 〔A〕 Glucose による等張化実験

##### 実験方法

1) P-液による濃厚菌浮游液は前項と同様にして調製した。

2) メジウム調製用液：

i) R-液、

ii) Glucose を 5.1% に加えた 0.01% NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 [即ち 5.1% Glucose 加 NaHCO<sub>3</sub> (0.01%) 液]、

iii) 5.1% Glucose 水溶液。

3) 実験方式：

次の 3 種の試験メジウム、即ち

a) [菌浮游液 0.36cc + R-液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc] (基準実験)、

b) [菌浮游液 0.36cc + 5.1% Glucose 加 NaHCO<sub>3</sub> (0.01%) 液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc]、

c) [菌浮游液 0.36cc + 5.1% Glucose 水溶液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc]

を夫々調製し、37°C、2 時間静置、夫々の遠心上清液について溶血試験を行った。

##### 実験成績

第 III 表に明らかなように Glucose 等張の NaHCO<sub>3</sub> (0.01%) - P-液 (b) 中でも、亦 Glucose 等張の P-液 (c) 中でも核酸効果が基準たる P-R-液におけると全く同程度に発現する。

なおこの実験に附随して行つた吟味考査で、

1) Glucose による等張化メジウムでの核酸効果実験では — P-R-基準メジウムにおけると異なり (第 III 表参照) — メジウムの酸性化

(pH 5.4-5.6) が起るのであるが、この程度の pH 変化は殆んど悪影響を及ぼさないこと (第 IV 表参照)、

2) 5.1% Glucose 加 Cl<sup>-</sup>非含有メジウムにおける静菌状態溶連菌による St-S 産出実験でも亦、P-R-基準メジウムにおけると同様 37°C に静置すること 1~2 時間で上清液の溶血値が最高に達すること (第 V 表参照)、

3) Glucose をその等張濃度たる 5% 以上に加えることは却つて不利であること (第 VI 表参照)

等の事項をも確め得た。

#### 〔B〕 各種糖類による等張化実験

Glucose 以外の糖類によつて等張化した場合如何。この問題に解答を与えるべく、各種糖類と Inositol 並びに Glycol 等 14 種について夫々を〔A〕実験の第 III 表 (b) におけると同様方式のもとに、等張濃度\* に加えた場合の核酸効果の比較実験を行った。

- |                |                |
|----------------|----------------|
| 1) D-Glucose   | 2) D-Fructose  |
| 3) D-Mannose   | 4) D-Galactose |
| 5) Glucosamine | 6) L-Arabinose |
| 7) L-Rhamnose  | 8) D-Xylose    |
| 9) Maltose     | 10) Saccharose |
| 11) Trehalose  | 12) Lactose    |
| 13) Inositol   | 14) Glycol     |

即ち第 VII 表提示の成績では

1) Fructose, Galactose, Maltose による\*\*等張化では Glucose によつて等張化した場合と同程度の核酸効果の発現を期待し得るが、

2) その他の糖類では核酸効果の発現が左程顕著ならず、就中 Glucosamine, Xylose による

\* これら非電解質では夫々の 1 瓦分子に 0.3 を乗じて得た g 量を蒸留水 1 l に溶解せしめたものを以て等張液とした。

\*\* Maltose 及び Glucosamine について、その 0.01~7% 濃度の影響を試験した実験では Maltose たる Glucosamine たるを問わず、これが存在で核酸効果の発現が特別促進されたというような成績は得られなかつた。さきに Bernheimer<sup>6)</sup> は核酸加合成培地に溶連菌を接種して 37°C に培養するという方式の実験で Peptone の少量附加が St-S 産出を増強せしめ、又 Maltose 並びに Glucosamine の微量を以てよく Peptone に代置し得ると報告したが、この Bernheimer の培養実験におけるこれら糖類の意義は恐らく菌が増殖するための養素として利用された点にあるものならんか。

等張化では却つて劣弱な成績しか得られないという所見に特に注目すべきである。

即ちこれによつて核酸効果の実験においてそのメジウムの等張化を図る場合、何れの糖を以てしてもよいという訳ではなく、糖の種類如何によつては核酸効果の発現が却つて抑圧される場合のあることが知られよう。

#### IV. 等張 $\text{KNO}_3$ 水溶液における核酸効果の実験

Ribo-核酸 (精製 Streptolysin S でも同様) の  $\text{Ag}^+$  に対する非イオン化能は RNA-Na 1mg 対  $\text{Ag}$  1.6mg の量的関係 (即ち 1:1,000 RNA-Na 水溶液 10cc に対し N/10  $\text{AgNO}_3$  0.15cc) であり、これが Ag-RNA-Complex の生成に基くものであること、及び精製 Streptolysin S ではこの量的関係の Ag-塩の附加で完全なる耐熱化が起ることは、正印<sup>9)</sup>、山本(泰)<sup>7)</sup>、清水<sup>8)</sup> によつて実証せられた所である。

而も今  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  及び  $\text{NaHCO}_3$  等が何れも  $\text{Ag}^+$  と不溶性の沈澱 (磷酸銀、炭酸銀) を化成する物質であり、又溶連菌の Glucose 利用による  $\text{CO}_2$  の発生も無視し得ないことに想到するならば、これら成分を含有する敍上の P-液、 $\text{NaHCO}_3$  (0.01%) -P-液或いは 5.1% Glucose 加  $\text{NaHCO}_3$  (0.01%) -P-液をメジウムとする核酸効果の実験方式は何れも Streptolysin S を Ag-Complex の状態において分離精製することを目的とする場合には好適であり得ないことが推知されよう。即ち私は核酸以外に Ag-塩を消費する成分の無いメジウムありや否やについて考査を進めた所、等張  $\text{KNO}_3$  (或いは等張  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) 水溶液を以てよく P-R-基準メジウムに代置し得ることを確め得た。

##### 実験方法

###### 1) 菌浮游液の調製 :

溶連菌の普通ブイオン20時間培養液 100cc を振盪した後、遠心管 2 本に 50cc 宛分注し、次の 2 種類の菌浮游液を調製す。

###### a) P-R-液による菌浮游液 :

菌培養液 50cc を遠心沈澱に附し、管底の生菌体

因に〔菌の P-液による浮游液 0.36cc + 等張被検糖 -  $\text{NaHCO}_3$  (0.01%) 水溶液 1.44cc + 蒸溜水 0.2cc〕方式 (即ち核酸を加えない等張メジウム) の実験では第 VIII 表提示のように等張化に用いた糖の種類如何に拘らず上清液は 1:5 ~ 1:10 までしか溶血作用を呈しなかつた。

に対し 1 回 50cc 宛の P-R-液を以てする洗滌操作を 2 回施す。ここに得た生菌体沈澱を 5cc の P-R-液に浮遊せしめる。

###### b) 1.5% $\text{KNO}_3$ 水溶液による菌浮游液 :

菌培養液 50cc を遠心沈澱に附し、管底の生菌体に対し 1 回 50cc 宛の等張  $\text{KNO}_3$  (1.5%) 水を以てする洗滌操作を 2 回施す。ここに得た生菌体沈澱を 5cc の等張  $\text{KNO}_3$  水に浮遊せしめる。

##### 2) 実験方式 :

(A) [1.5%  $\text{KNO}_3$  水溶液による菌浮游液 1cc + 1.5%  $\text{KNO}_3$  水溶液 0.8cc + 核酸原液 0.2cc],

(A') [1.5%  $\text{KNO}_3$  水溶液による菌浮游液 1cc + 1.5%  $\text{KNO}_3$  水溶液 0.8cc + 蒸溜水 0.2cc] (即ち (A) に対する対照),

(B) [P-R-液による菌浮游液 1cc + P-R-液 0.8cc + 核酸原液 0.2cc] (基準実験),

(B') [P-R-液による菌浮游液 1cc + P-R-液 0.8cc + 蒸溜水 0.2cc] (即ち (B) に対する対照)。

これら 4 つのメジウムを 37°C に 2 時間置いた後、夫々の遠心上清液について溶血試験を行う。

##### 実験成績

第 IX 表提示の実験成績においては先ず等張  $\text{KNO}_3$  水溶液をメジウムとした核酸効果の実験 (A) では、その上清液が P-R-液をメジウムとした核酸効果の実験 (B) における上清液と同様、1:5,000 の稀釈度まで溶血作用を呈していることが注目される。

而してこの (A) 実験における成績が核酸効果の発現の結果であつて、 $\text{KNO}_3$  の影響によるものでないことはその対照たる核酸非含有の単なる等張  $\text{KNO}_3$  水溶液をメジウムとした (A') 実験の上清液が僅々 1:5 の稀釈度までしか溶血作

用を呈していないことに徴して明白である。又 (A') 及び (B') の兩対照実験においてその上清液が同等の溶血値 (1:5) を示していることから、 $\text{KNO}_3$  自体は赤血球に対しても溶連菌に対しても無害性であることが知られよう。

因に  $\text{KNO}_3$  に代るに  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (2.6%) を以てした実験でも成績は同様であつた。

恐らくこの 1% 核酸加等張  $\text{KNO}_3$  (或いは  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) 溶液をメジウムとする 静菌状態溶連菌による St-S 産出実験の方式は、このメジウムが

1)  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$  を始めとして、 $\text{PO}_4^{--}$

$^{--}$ ,  $\text{CO}_2^{--}$  等凡そ核酸以外に  $\text{Ag}^+$  と結合する物質は一切含有しないこと、

2) 等張であること、及び

3) 核酸効果の発現が顕著であること

の三条件を具備している点で、 $\text{Ag}$ -塩による St-S の耐熱化現象に基く  $\text{Ag-St-S-Complex}$  の分離試験を行うことには、叙上各項に記載した何れの方式——尤もこれらはその組成の單純且つ明確なことから St-S の生成機序に対し生化学的方面からの考査を行う場合には利便であろうが——によるよりも好適であろうか。

## V. 結

本研究では核酸加メジウムにおける 静菌状態溶連菌による Streptolysin S の増産現象 (即ち核酸効果) の発現に関し、その試験メジウムにおける組成を如何なる程度迄單純化し得るかに ついての系統的検索が行われた。即ち

1) 先ず洗滌した溶連菌を 1% 核酸加磷酸緩衝リンゲル液、pH 7.2、に懸濁せしめた場合の核酸効果の発現度を基準として、このメジウム組成の順次的除去を行つた実験では、

a)  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$  及び  $\text{NaHCO}_3$  等のリンゲル液の成分を凡て除去しても核酸効果は基準メジウムにおけると同様顕著に発現するが、

b) しかし同時に 磷酸緩衝液の成分たる  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  及び  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  をも除去することは不利である

という結果が得られた。

2) 次いで、1% 核酸加  $\text{NaHCO}_3$  (0.01%) -磷酸緩衝液中では核酸効果は顕著に発現するが、このメジウムは低張である所から糖類によつてその等張化を図ることの実験が行われた。その成績を要約せば、

a) Glucose, Fructose, Galactose, Maltose を

## 論

以てする等張化は支障ないが、

b) しかし Arabinose, Rhamnose, Xylose, Saccharose, Trehalose, Lactose, Mannose, Glucosamine, Inositol 及び Glycol 等による等張化では核酸効果の発現が却つて抑圧される。

3) 最後に  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  は何れも  $\text{Ag}$ -塩と結合して不溶性沈澱を化成する所から、 $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{--}$  及び  $\text{CO}_2^{--}$  等の如き  $\text{Ag}$ -塩を消費する成分の無いメジウムありや否やの問題に対して考査の歩を進めて、等張  $\text{KNO}_3$  或いは  $\text{K}_2\text{SO}_4$  水溶液が好適であることを見出した。そして 1% 核酸加  $\text{KNO}_3$  (1.5%) 或いは  $\text{K}_2\text{SO}_4$  (2.6%) 水溶液は

a) 核酸以外に  $\text{Ag}^+$  と結合する物質は一切含有しないこと、

b) 等張であること、及び

c) 洗滌した溶連菌生菌体によつて Streptolysin S の増産を期待し得ること

の三条件の具備している点から、Streptolysin S を  $\text{Ag-Complex}$  の状態で分離せんとする実験に使用して最有利であろうとの見解に達した。



第 II 表 核酸効果の発現に及ぼす磷酸緩衝リソゲル液 (メジウム) における各成分の除去の影響

メジウム番号	1%核酸加メジウムの組成	37°C, 2時間静置後の上清液の pH	上 清 液 の 稀 釈 倍 数											備 考					
			2	5	10	20	50	100	200	500	1,000	2,000	5,000	10,000	20,000	P-R-メジウムより除去された成分	核酸程度効果発現		
(a) (基準)	NaCl KCl CaCl <sub>2</sub> NaHCO <sub>3</sub> Buffer	7.2	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	0	[###]
(b)	KCl CaCl <sub>2</sub> NaHCO <sub>3</sub> Buffer	7.1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	-NaCl	[###]
(c)	CaCl <sub>2</sub> NaHCO <sub>3</sub> Buffer	7.2	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	-NaCl -KCl	[###]
(d)	NaHCO <sub>3</sub> Buffer	7.2	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	-NaCl -KCl -CaCl <sub>2</sub>	[###]
(e)	Buffer	7.2	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	-NaCl -KCl -CaCl <sub>2</sub> -NaHCO <sub>3</sub>	[###]
(f)	0	7.1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	-NaCl -KCl -CaCl <sub>2</sub> -NaHCO <sub>3</sub> -Buffer	[###]

Buffer = M/15 [KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>], pH 7.2

第 III 表 Cl<sup>-</sup>非含有メジウムの Glucose による等張化実験

メジウム番号	1%核酸加メジウムの組成 (PH)	37°C, 2時間静置後の上清液の pH	上 清 液 の 稀 釈 倍 数											核酸程度効果発現の					
			2	5	10	20	50	100	200	500	1,000	2,000	5,000		10,000				
(a) (基準)	NaCl 0.85% KCl 0.02% CaCl <sub>2</sub> 0.02% NaHCO <sub>3</sub> 0.01% Buffer (7.2)	7.2	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	[###]



第 VI 表 Cl-非含有メジウム における Glucose 濃度と核酸効果の関係

1%核酸加 NaHCO <sub>3</sub> (0.01%)- P-液 メジウム における Glucose の濃度	上 清 液 の 稀 釈 倍 数										
	10	20	50	100	200	500	1,000	2,000	5,000	10,000	20,000
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
7 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
6 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
5 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
4 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
3 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
1 %	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍

第 VII 表 各種糖類によつて等張化したCl-非含有のメジウムにおける核酸効果の試験

実験方式	糖の種類及びその濃度 (%)	上 清 液 の 稀 釈 倍 数											核 酸 効 果 発 現 の 度	
		10	20	50	100	200	500	1,000	2,000	5,000	10,000			
【菌のP-液による浮游液 0.36cc + 等張被験糖-NaHCO <sub>3</sub> (0.01%) 水溶液 1.44cc + 核酸原液 0.2cc】	D-Glucose (5.1%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	D-Fructose (5.1%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	D-Mannose (5.1%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	D-Galactose (5.1%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Glucosamine (5.6%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	L-Arabinose (4.5%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	L-Rhamnose (4.5%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	D-Xylose (4.5%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Maltose (9.0%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Saccharose (9.0%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Trehalose (9.0%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Lactose (9.0%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Inositol (5.1%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	Glycol (1.86%)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
基 準 P-R-液 メジウム	0	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	

第 VIII 表 各種糖類によつて等張化した Cl<sup>-</sup>非含有のメジウムにおける  
 静菌状態溶連菌の Streptolysin S 産出実験

メジウム(核酸を加えず)		上清液の希釈倍数								
実験方式	糖の種類及びその濃度 (%)	2	5	10	20	50	100	200	500	
		1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	
〔菌のP-液による浮遊液 0.36cc + 等張被検糖-NaHCO <sub>3</sub> 0.2cc〕 + 蒸留水 1.44cc	D-Glucose (5.1%)	##	++	+	-	-	-	-	-	
	D-Fructose (5.1%)	##	++	+	-	-	-	-	-	
	D-Mannose (5.1%)	##	++	±	-	-	-	-	-	
	D-Galactose (5.1%)	##	++	+	-	-	-	-	-	
	Glucosamine (5.8%)	##	##	+	-	-	-	-	-	
	L-Arabinose (4.5%)	##	++	+	-	-	-	-	-	
	L-Rhamnose (4.5%)	##	++	+	-	-	-	-	-	
	D-Xylose (4.5%)	##	-	-	-	-	-	-	-	
	Maltose (9.0%)	##	++	+	-	-	-	-	-	
	Saccharose (9.0%)	++	+	±	-	-	-	-	-	
	Trehalose (9.0%)	##	++	±	-	-	-	-	-	
	Lactose (9.1%)	+	-	-	-	-	-	-	-	
	Inositol (5.1%)	##	++	±	-	-	-	-	-	
Glycol (1.86%)	++	+	-	-	-	-	-	-		
P-液による菌浮遊液 0.36cc + R-液 1.44cc + 蒸留水 0.2cc	0	+	±	-	-	-	-	-		

第 IX 表 等張 KNO<sub>3</sub> 水溶液における核酸効果の実験

実験番号	メジウムの種類	上清液の希釈倍数												
		5	10	20	50	100	200	500	1,000	2,000	5,000	10,000	20,000	
		1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1	1 : 1
(A)	1.5%KNO <sub>3</sub> 水溶液による菌浮遊液 1cc + 1.5%KNO <sub>3</sub> 水溶液 0.8cc + 10%核酸原液 0.2cc	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##	##

(A')	1.5%KNO <sub>3</sub> 水溶液による菌浮游液 1cc + 1.5%KNO <sub>3</sub> 水溶液 0.8cc + 蒸溜水 0.2cc	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
(B) (基準)	P-R-液による菌浮游液 1cc + P-R-液 0.8cc + 10%核酸原液 0.2cc	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-	-
(B')	P-R-液による菌浮游液 1cc + P-R-液 0.8cc + 蒸溜水 0.2cc	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-