

赤痢菌ノ脫水素酵素ニ關スル研究

金澤醫科大學細菌學教室(主任谷教授)

大連療病院(院長森脇博士)

專攻生 藤 本 太 郎

Taro Huzimoto

(昭和19年9月30日受附)

緒 論

赤痢菌ノ通性嫌氣性生活ニ於テ酸化還元酵素作用ガソノ力源ノ代謝ノ根底ヲナスハ脫水素酵素⁽¹⁾ (2), 「チトクロムオキシダーゼ」⁽³⁾ 及ビ「カタラーゼ」⁽⁴⁾ ノ存在ガ示ス處デアル。

是等ノ確認サレタル酵素ニヨリソノ呼吸ハ

[基質—脫水素酵素]—中間水素運傳體(酵索性又ハ非酵索性觸媒劑)—「チトクロム」—酸素)

酸化酵素

ノ如ク基質ト酸素ヲ兩翼トシ、ソノ間ヲ脫水素酵素ト鐵觸媒系ニテ連絡スル系列ナラント推定スル事ガ出

來ル。

細菌ノ脫水素酵素ニ關スル研究ニハ Quastel 及ビソノ門下⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ ノ大腸菌ニ就テ行ツタ業績ガ存在スル。コノ研究ニヨリ細菌ノ脫水素酵素機序ガ闡明セラレ、代謝物質ノ酸化ハ水素原子ノ觸媒的移行ニ始マルトイフ Wieland 説⁽¹³⁾ ニ多大ノ支持ヲ與ヘタ。爾後各種細菌ノ脫水素酵素作用ガ報告セラレタガ赤痢菌ニ關シテハ Bvaun-Wördehoff⁽¹⁾, Kendall-Ishikawa⁽²⁾, 中込⁽¹⁴⁾ 等ノ報告ガ存在スルニ過ギナイ。

余ハ志賀並ニ異型赤痢菌脫水素酵素作用ニ就テ若干知見ヲ加ヘタルヲ以テ茲ニ報告スル。

第1章 脫水素酵素作用

實 驗 材 料

(1) Sørensen 氏緩衝液

PH. 7.4 ($\frac{M}{15}$ -Na₂HPO₄ 及ビ $\frac{M}{15}$ KH₂PO₄ ノ混合液) ヲ用フ。

(2) 基 質

榮養源ニ關スル有機物中「アルコール類17種, 含水炭素20種, 有機酸22種(膽汁酸ノ組成ハ明白デナイ), 蛋白質並ニ「アミノ酸25種, 「プリン誘導體其ノ他20種, 細菌發育因子11種, 合計115種類(總テ「メルク製品ヲ用フ)。ヲ選ビ再蒸溜水ヲ以テ $\frac{M}{15}$ 溶液ヲ作製ス。難溶或ハ不溶解性ノモノハ少量ノ「アラビヤゴム」ヲ以テ乳化ス。有機酸ハ5乃至10% NaOH 液ヲ以テ中和ス。10cc. 宛中試ニ分注シ, 100°C, 1時間3回, 特ニ「アルコール類, 含水炭素及ビ「ビタミン類ノ一部ハ「シヤムベラン L₃ 或ハ 100°C, 15分3回滅菌ヲ行ヒ, 作業中水室ニ保存ス。

(3) 水素受容質

實驗毎ニ鹽化亜鉛複鹽ヲ含有セザル「メルク製メチレン青1萬倍水溶液ヲ調製ス。本使用濃度ニ於テハ赤痢菌ニ對スル「メチレン青ノ殺菌力ハ認めラレナイ。(検査成績ハ省略ス)。

(4) 再蒸溜水

(5) 脫水素酵素溶液

供試菌ハ志賀菌(療病院393)及ビ異型菌(駒込BIII療病院402)ヲ用フ。18乃至20時間普通寒天培養ノ菌ヲ掻キ取り食鹽水ヲ以テ充分洗滌シ, 4000回轉, 1時間宛2回遠心沈澱ヲ行ツテ Eigendonator ヲ除キ, 濃度1cc. 8mg ノ食鹽水浮游菌液ヲ作製ス。本休止菌液ハ使用毎ニ作製シ脫水素酵素溶液トシテ實驗ニ供セリ。

實 驗 方 法

Thunberg 法變法ニ依ル。清淨小試ニ緩衝液(PH 7.381) 1.0cc. $\frac{M}{10}$ 基質 0.5cc. 「メチレン青溶液(1:

10000) 0.5cc., 再蒸溜水 0.5cc., 菌液 0.5cc. ノ順ニ混合シ, 振盪後迅速ニ溶解セル白色ワセリン」3cc. ヲ重層シ冷水ヲ用ヒテ冷却ス. 即時恒温層 (38°C) ニ移シ褪色時間ヲ觀察シタ. Thunberg 管⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ヲ用フル原法ハ本變法ニ比較スル時(試験成績ハ省略)還元度ハ稍速カナルモ多數ノ系列的檢査ニハ作業煩雜デアル.

第1節 水素寄與質

脱水素酵素ノ接觸ニヨリ基質ヨリ水素ヲ離脱スル物質ヲ水素寄與質ト稱ス. 實驗ニ供シタ 116 種ノ基質ニ

於ル赤痢菌ノ脱水素酵素作用ハ第1表ニ示スガ如ク, 志賀型ハ基質26種類ヲ, 異型ハ基質27種類ヲ使用シタガ, 基質脱水素酵素ハ菌型ニヨリ定性的ニハ勿論定量的ニモ差異ガ存在スル. 異型ハ「ソルビット」及ビ「マンニット」ノ如キ「ヘキシット」ヲ脱水素シ. 「トリプトファン」モ酸化ハ弱度ヲ認メラレル, 又「グリコーゼ」, 果糖及ビ「ラクトーゼ」ノ各々1分子結合ヨリナル「ラフィノーゼ」ヲ醱酵スル等, 異型ハ志賀型ニ比較シ呼吸態度ヲ異ニス.

脱水素酵素作用ガ糖分解能ニ有力ナル指標⁽¹⁴⁾ヲ與

第1表 基質脱水素酵素

分類	番號	M/10 基質	分子式	志賀型				異型								
				水素離脱時間				褪色完全開始								
				1/4	1/2	1	2	1/4	1/2	1	2					
アルコール類	1	グリセリン	C ₃ H ₈ OH	-	-	-	+	95	△	+	+	+	+	8	25	
	2	マンニット	C ₆ H ₁₄ O ₆	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	27	47	
	3	ソルビット	C ₆ H ₁₄ O ₆	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	25	60	
陰性	メチールアルコール, エチールアルコール, アリールアルコール, n-ブチールアルコール, イソブチールアルコール, アミールアルコール, n-プロピールアルコール, オクチールアルコール, セチールアルコール, イソアミールアルコール, エリスリット, アドニット, ズルチット, イソデジット															
	1	キシローゼ	C ₅ H ₁₀ O ₅	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	90	△
含水炭素	2	葡萄糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	40	50
	3	マンノーゼ	C ₆ H ₁₂ O ₆	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	60
	4	ガラクトーゼ	C ₆ H ₁₂ O ₆	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5	75
	5	果糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	25	49
	6	サツハローゼ	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	7	マルトーゼ	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	8	トレハローゼ(1%)	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ +2H ₂ O	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9	グリコーゲン(1%)	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	110	△
	10	ラフィノーゼ	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	51	70
	陰性	アラビノーゼ, ラムノーゼ, ラクトーゼ, メリビオーゼ, デキストリン, 溶性澱粉, イヌリン, ザアリチン, ストローゼ, アラビヤゴム														
有機酸	1	碳酸ソーダ	HCOONa+H ₂ O	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	8	12
	2	焦性葡萄糖酸	CH ₃ CO·COOH	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	55	63
	3	乳酸	CH ₃ CHOH·COOH	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	27	32
	4	乳酸ソーダ	CH ₃ CHOH·Na	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	35	45
	5	琥珀酸	HOOC-(CH ₂) ₂ -COOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	45
	6	膽汁酸(3%)	組成不明	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	28	△
陰性	碳酸ソーダ, 醋酸ソーダ, プロピオン酸, フマル酸, マレイン酸, 焦性粘液酸, マロン酸, 不活性林檎酸, n-酪酸, n-纈草酸, 酒石酸, l-酒石酸ソーダ, カブロン酸, チトロン酸ナトリウム, オレイン酸, ステアリン酸															

蛋白質及ビ アミノ酸	1	照内ペプトン(1%)		+	+	+	+	10	△	-	-	-		
	2	ウイツテペプトン(1%)		-	-	-	+	95	△	-	-	-		
	3	カルノペプトン(1%)		-	+	+	+	20	45	-	+	+	+	35 50
	4	酵母エキス(1%)		-	+	+	+	8	50	+	+	+	+	10 50
	5	卵蛋白(1%)		+	+	+	+	5	10	-	+	+	+	18 55
	6	トリプトファン	HO-C ₆ H ₄ CH ₂ ·CH(NH ₂)COOH		-	-	-	-			-	-	-	+
陰性	グリコール, グリコールナトリウム, アルファアラニン, グリン, ロイチン, アスパラギン, グルタミン酸ナトリウム, アスパラギンナトリウム, フェニール・アルファアラニン, アスパラギン酸, ベタイン, チロジン, タウリン, L-ヒスチジン, グリチールグルチン, イソロイチン, α-アルギニン, チスチン, 馬尿酸													
プリン誘導體其ノ他	1	カフェイン	C ₈ H ₁₂ O ₂ N ₄	-	-	+	+	55	△	-	-	+	+	60 △
	2	キサンチン	C ₅ H ₄ O ₂ N ₄	-	+	+	+	26	△	-	-	+	+	56 △
	3	イノシン酸	C ₁₀ H ₁₃ O ₆ N ₄ P	-	+	+	+	25	△	-	+	+	+	25 △
	4	アデニール酸	C ₁₀ H ₁₄ O ₇ N ₅ P	-	-	+	+	50	△	-	-	-	±	
	5	グアニン	C ₅ H ₅ ON ₅	-	+	+	+	20	△	-	+	+	+	20 △
	6	デウレチン	C ₇ H ₇ O ₂ N ₄ Na·C ₆ H ₄ (OH)COONa	-	-	-	-				-	+	+	+
陰性	尿酸, ウラチール, テオブロミン, イノシン, アラントイン, チミン, h-核酸ナトリウム, 胸腺核酸ナトリウム, チチジン, アデノシン, グアニール酸, ヒポキサンチン, アデニン, グアノシン													
發育因子	1	ビタミンB ₁	C ₁₂ H ₁₈ ON ₄ ScI ₂	-	-	+	+	55	△	-	-	-		
	2	L-アスコルビン酸	C ₆ H ₈ O ₆	+	+	+	+	8	20	-	-	-		
	3	パラアミノ安息香酸	C ₆ H ₄ NH ₂ ·COOH	-	+	+	+	30	△	-	+	+	+	30 △
陰性	ニコチン酸, ニコチン酸アミド(ピリジンβカルボン酸デエチールアミド), ラクトフラビン, ビタミンB ₆ , パントテイン酸, βアラニン, ラクトン(α-オキシ-β, β-デメチールブチロラクトン)													
對照	-													

備考 : △ハ24時間内ニ完全褪色 數字ハ單位ヲ分トス
 卍完全褪色, 卍強度褪色, 卍中等褪色, +褪色開始

第 2 表 脱水素酵素ト糖分解

	含水炭素	志賀	駒込 A	駒込 B I	駒込 B III	川瀬 衛研	中村 300	大原 衛研	シユミツツ 300	フレキシナ 駒込
脱水素酵素作用	マンニット	-	+	+	+	+	+	-	-	+
	アラビノーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	マルトーゼ	+	+	+	-	+	+	+	+	-
	ソルビット	-	+	+	+	+	+	-	-	+
	ラムノーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	キシローゼ	-	-	-	+	-	-	-	-	+
	ラクトーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サツハローゼ	+	+	-	-	-	+	+	-	-	

糖分解能 (二木法)	マンニツト	—	+	+	+	+	+	+	—	+
	アラビノーゼ	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	マルトーゼ	—	+	+	—	+	+	+	+	*+
	ソルビツト	—	—	—	—	+	—	—	+	—
	ラムノーゼ	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	キシローゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ラクトーゼ	—	—	—	—	—	—	*—	—	—
	サツハローゼ	—	—	—	—	—	—	*—	—	—

*: 10日間ノ觀察ニテ陽性トナル

ヘルト云フモ、モアルガ余等ノ實驗デハ第2表ニ示スガ如クソノ間ニ必ズシモ連關性ヲ求メル事ガ出來ナイ。唯志賀型並ニ「マンニツト非分解型ガ「マンニツト」ニ於テ特異性ヲ示シ得ルニ過ギナイ。

第2節 水素受容質

脱酸素酵素ニヨル代謝物質ノ酸化ハ水素受容質ノ存在ヲ必要トスル。Thunberg法ハ水素受容質トシテ「メチレン青ガ屢々用ヒラレル、即チ「メチレン青ノ持つ色ガ電子ノ自由性ニ基クタメ「メチレン青ハ遊離サレタル活性水素原子ヲ攝取シ「ロイコ化合物ニ變化スル。

第3表 水素受容質

番 號	M 10 基質 0.5 メチレン青 0.5 M 100 水素受容質 0.5 緩衝液 0.5 液 0.5	志 賀					異 型				
		硝酸 加里	硝酸 曹達	マ レン 酸	フ マル 酸	林 檜 酸	硝 酸 加 里	硝 酸 曹 達	マ レ ン 酸	フ マ ル 酸	林 檜 酸
1	乳 酸 ソ ー ダ	—	—	—	—	—	○	○	○	—	△
2	マ ル ト ー ゼ	○	○	△	—	△	—	—	—	—	—
3	果 糖	○	△	○	△	△	○	○	○	○	○
4	ガ ラ ク ト ー ゼ	○	○	—	○	△	○	○	○	○	○
5	蟻 酸 ソ ー ダ	△	○	—	—	—	—	—	—	—	—
6	ト レ ハ ロ ー ゼ (1%)	○	○	△	—	△	—	—	—	—	—
7	グ リ セ リ ン	—	—	—	—	—	○	○	△	○	○
8	マ ン ノ ー ゼ	△	△	—	—	—	—	△	—	—	—
9	葡 萄 糖	○	○	—	—	△	—	△	△	○	—
10	乳 酸	△	—	—	—	—	○	○	○	○	△
11	焦 性 葡 萄 酸	△	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	グ リ コ ー ゲ ン (1%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	サ ツ ハ ロ ー ゼ	△	△	—	△	△	—	—	—	—	—
14	琥 珀 酸	—	—	—	—	—	○	—	—	△	—
15	マ ン ニ ツ ト	—	—	—	—	—	○	○	△	○	○
16	ソ ル ビ ツ ト	—	—	—	—	—	○	○	○	○	○
17	ラ フ イ ノ ー ゼ	—	—	—	—	—	○	○	○	○	○
18	膽 汁 酸 (3%)	—	—	—	—	—	○	△	△	—	—
19	キ シ ロ ー ゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	ト リ プ ト フ ァ ン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	對 照 (溜水)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

成績判定(2時間): ○「メチレン青不褪色 △「メチレン青中等度褪色
—「メチレン青完全褪色

水素受容質トシテ A (「メチレン青」) 及ビ B ナル 2 物質ガ併存シ、B ナル物質ガ A ナル物質ヨリ水素受容質トシテ更ニ活性ナルトキハ A ハ青ニ留ルカ、或ハ $AH_2 + B \rightarrow A + BH_2$ トナリ脱色後色調ガ復活スル。斯ル原理ノモトニ反應系ニ A (「メチレン青」) 並ニ B (赤痢菌ガ呼吸ニ用ヒウル硝酸鹽、不飽和有機酸) ナル 2 個ノ水素受容質ヲ用ヒソノ「メチレン青還元褪色度」ヲ検査スルニ第 3 表ニ示サガ如ク硝酸鹽類ガ最モヨキ水素受容體デアツタ。異型ニ於テハ志賀型ト異リ「マレイン酸」及ビ「フマル酸」等ノ不飽和有機酸ガ能動的デアル。

第 3 節 理學的 影響

(1) 酵素力減衰試験

菌液ヲ製後水室保存第 1, 3, 5, 7, 9, 11 及ビ 15 日ノ菌液ニ就テ酵素力減衰試験ヲ行フニ第 4 表ノ如キ結果ヲ得タ。(表略)。果糖、「マンニツト」、蟻酸ソーダ、「キシローゼ」及ビ膽汁酸ニ對スル作用ハ 3 日前後ニテ減衰比較的早キモノニ屬シ、琥珀酸及ビ「ソルビット」ハ 15 日ニ至ルモ變化ヲ見ナイ。

(2) 作用温度(第 5 表略)

37°C 及ビ脱水素酵素作用ニ最適トイフ 140°C⁽¹⁸⁾ニ就テ觀察スルニ 40°C ハ 37°C ニ比較シ稍好適ノ如キモノノ間著差ヲ認め得ナイ。發育温度圏内ニ於テ酵素作用ノ最適温度ハ 7—40°C デアル。又乳酸及ビ蟻酸脱水素酵素ハ共ニ高温並ニ低温ニ對シ抵抗強キヲ認メタ。

(3) 菌液 1 定温度(55°C, 40°C, 37°C, 15°C) 1 時間加温後ニ行ヘル酵素作用(異型 402)

各基質共ニ 55°C 及ビ 15°C ニ於テ著シキ酵素力ノ減衰ヲ見ル。40°C 及ビ 37°C ハ對照ニ比シ酵素作用ノ變化ハ見出シ得ナイガ、乳酸ソーダ、「マルトローゼ」、「ガラクトーゼ」、琥珀酸及ビ「グリコーゲン」ニ於テハ共ニ減衰ヲ示ス。蟻酸脱水素酵素ハ温度ニ對スル抵抗最モ強クシテ 70°C 1 時間後モ全く減弱ヲ見ナイ、80°C, 1 時間後ニ至リ減衰ガ認めラレタ。(實驗成績ハ省略)。

(4) 人工光線照射ノ影響其ノ他(第 6 表其ノ 1 及ビ 2, 略)。

志賀型並ニ異型ヲ通ジ(レントゲン)、「水銀石英燈」、「ソラックス」及ビ超短波照射共ニ對照ニ比較シソノ間差異ヲ認め得ナイガ、太陽燈、超音波及ビ凍結處置ハ菌型ニヨリ特異的デアツタ。即チ志賀型ニ於テハ太陽燈及ビ凍結ハ乳酸並ニ蟻酸脱水素酵素ヲ除ケバ爾餘ノ基質ニ對シ阻止的デアル。異型ニ於テハ對照ニ比較スルト稍阻止的ナルモ 志賀型ニ於ケルガ如ク強度デ無

イ。超音波ハ志賀型ニ於テハ蟻酸及ビ乳酸脱水素酵素ニ對シ比較的安定ナルモ異型ニ於テハ各基質共ソノ脱水素作用ガ全く阻害サレルノヲ知ル。

第 4 節 化學的 影響

(1) 水素「イオン」濃度ノ影響(第 7 表略)。

至適水素「イオン」濃度ハ PH. 7.4 デアル。脱水素酵素作用ハ酸性ヨリモ寧ろ「アルカリ性」ニ傾ク時阻止的ナルモ、「ラクトーゼ」、「トレハローゼ」及ビ「グリコールナトリウム」ハ中性ヨリモ寧ろ酸性ヲ至適トスル。又蟻酸並ニ乳酸脱水素酵素ハ PH⁽¹⁹⁾ノ影響ヲ受クル事極メテ小デアル。

(2) 消毒劑, 防腐劑並ニ麻醉劑(第 8 表)。

麻醉劑(無水ナルコチン)ハ志賀型ニ於テハ果糖, 「ガラクトーゼ」、「トレハローゼ」及ビ「グリセリン」、異型ニ於テハ乳酸、琥珀酸、「ソルビット」及ビ「ラフィノーゼ」ノ脱水素ニ對シ阻止的ニ働ク。過酸化水素ハ志賀型、異型共ニ酵素作用ニ對シ破壞的ニ働クモノノ如ク、酸素ガ水素受容質ナル時生成スル過酸化水素ハ酸化還元系ニ對シ有害デアル。「カルボール」、「ホルマリン」ハ共ニ多クノ基質ニ於ケル酵素作用ニ對シ破壞的ナルモノノ如クデアルガ併シ志賀型ニ於テハ「カルボール」ハ乳酸ソーダ、「ホルマリン」ハ蟻酸、異型ニ於テハ共ニ蟻酸及ビ乳酸ソーダニ於テ酵素作用ノ存續ヲ許ス。「アルコール類」ハ志賀型ニ於テハ「ガラクトーゼ」、「グルコーゼ」及ビ「グリコーゲン」ノ酸化ニ對シ、又異型ニ於テハ乳酸ソーダ、果糖、「ガラクトーゼ」、「グリセリン」、「マンノーゼ」、「マンニツト」、「ソルビット」ノ酸化ニ對シ阻止的デアル。「オクチールアルコール」ハ志賀、異型ヲ通ジ爾餘ノ「アルコール類」ヨリソノ酵素作用ニ及ボス影響ハ稍特異的デアル。

(3) 無機鹽類(第 9 表其ノ 1 及ビ 2 略)。

「チアソ」及ビ「ヒドロキシールアミン」ニヨリ干渉ヲ受クル酵素⁽²⁰⁾ハ Warburg ノ「オキシダーゼ」ニ屬スルモノデアルガ、赤痢菌脱水素酵素ハ是等ニヨツテ阻害サレナイ。僅カニ志賀型ニ於テハ果糖及ビ「ガラクトーゼ」ノ酸化ガ、異型ニ於テハ「ガラクトーゼ」、「ソルビット」、蟻酸ソーダ及ビ「ラフィノーゼ」脱水素ガ阻止サレル。赤血鹵鹽ニヨツテ志賀型、異型ヲ通ジ酵素作用ガ全く破壞サレルノヲ認メタ。亞硝酸鹽類ガ細菌ノ發育ニ有毒ニ働ク事ハ知ラレテ居ルガ⁽²⁰⁾、脱水素酵素ニ對スル阻止作用ハ微動作用體類ノソレニ比較スレバ強度デナイ。又志賀型ノ「マルトローゼ」ニ對スル酸化作用ヲ增強スル。

第 8 表 消毒劑防腐劑並ニ麻醉劑ノ影響 (志賀型 393 異型 402)

番 號	M 10 基質 0.5 メチレン青 0.5 緩衝液 0.5 添加物 0.5 菌液 0.5	志賀型							異型								
		2.5% カル ボール	2.5% ホル マリン	3% 過 酸化 水素	0.5% ア ン ヒ ド リ ド	M 10 メル チ ール ア	M 10 エル チ ール ア	M 10 オク チ ール ル	對 照 (緩 衝 液 0.5)	2.5% カル ボール	2.5% ホル マリン	3% 過 酸化 水素	0.5% ア ン ヒ ド リ ド	M 10 メル チ ール ア	M 10 エル チ ール ア	M 10 オク チ ール ル	對 照 (緩 衝 液 0.5)
1	乳酸ソーダ	40	△	△	50	54	54	35	35	△	△	△	55	68	57	45	45
2	マルトゼ	△	△	△	29	29	29	29	31								
3	果糖	△	△	△	117	70	90	50	66	△	△	△	56	77	52	37	49
4	ガラクトゼ	△	△	△	△	△	△	75	82	△	△	△	80	88	80	62	75
5	蟻酸ソーダ	25	40	△	△	19	20	20	20	40	36	△	10	10	12	13	12
6	トレハローゼ(1%)	△	△	△	19	48	48	56	56	△	△	△	△	△	△	△	△
7	グリセリン	△	△	△	△	120	110	△	△	△	△	△	47	40	65	23	25
8	マンノーゼ	△	△	△	119	50	51	32	32	△	△	△	87	92	87	85	60
9	葡萄糖	△	△	△	50	82	92	58	56	△	△	△	72	72	72	75	50
10	乳酸	35	△	△	102	25	19	16	16	76	△	△	58	47	47	29	32
11	焦性葡萄糖酸	△	△	△	30	82	109	44	63								
12	グリコーゲン(1%)	△	△	△	84	88	115	60	70	△	△	△	75	80	105	100	70
13	サツハローゼ	△	△	△	92	△	△	△	△								
14	琥珀酸									△	△	△	80	113	85	40	45
15	マンニツト									△	△	△	54	52	54	39	47
16	ソルビツト									△	△	△	115	105	115	70	60
17	ラフィノーゼ									△	△	△	25	25	25	25	20
18	膽汁酸(3%)									△	△	△	△	△	△	△	△
19	キシローゼ									△	△	△	△	△	△	△	△
20	トリプトファン									△	△	△	△	△	△	△	△
21	對照(溜水)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

備考：數字ハ褪色完了時間(分) △ハ24時間以内ニ褪色完了

重金属ニ見ル微動作用ハ「スルフアピリジン加寒天平板上ニ見ル赤痢菌ノ發育阻止ト近似ノ點ガ存在スル如ク見エルノデ重金属鹽類ノ稀薄溶液ヲ用ヒ脱水素酵素ニ對スル影響ヲ觀察シタ。志賀型、異型ヲ通ジ共ニ硫酸銅及ピ硫酸ニツケル」ハ酵素毒デアル。ソノ阻害作用ハ Co⁺⁺, Ni⁺⁺, Zn⁺⁺, Mn⁺⁺, Fe⁺⁺ ノ順ニ認メ得ルモ Sn⁺⁺ ハ「マルトゼ」、果糖、「マンノーゼ」、乳酸、琥珀酸ノ酸化ニ於テ却ツテ促進的デアル。是等重金属イオン」ハ志賀型、異型ニ對シ大體同様ニ作用スル。

(4) 毒素(第10表)

志賀赤痢菌體外毒素⁽²¹⁾(致死量,「マウス」i. v. 0.01% 0.1cc.)ノ阻害作用ハ對照ニ比較シ稍々顯著デアル。之ニ反シ體内毒素⁽²²⁾(致死量,「マウス」i. v. 0.1% 1cc.)ノ反應系ヘノ添加ハ或基質ニ對シテ撰擇

的ニ脱水素作用ヲ賦活スルヲ認メタ。即チ「ポリサツカリツド」ニ屬スル體内毒素ソレ自身ガ基質トナリ得ルコトモ或ハ考ヘ得ラレル。又動物ノ新陳代謝毒デアル蛇毒(致死量,「マウス」i. v. 0.01% 1cc.), 河豚毒「ヘパトキシン」(致死量,「マウス」i. v. 0.1% 1cc.) 及ビ蠍毒「ブホタリンプロミツド」(致死量,「マウス」i. v. 0.04% 1cc.)ノ脱水素酵素ニ對スル影響ハ共ニ對照ヨリモ明カニ阻止的デアル。

(5) 免疫血清(第11表略)。

免疫血清ハ志賀型並ニ異型ヲ通ジ阻止的デアル。就中志賀型血清ハ志賀型ニ於テ「トレハローゼ」、「グリセリン」、「ガラクトゼ」ニ對シ、駒込 B 血清ハ異型ニ於テ「ガラクトゼ」、「トレハローゼ」、「ラフィノーゼ」、膽汁酸、「キシローゼ」、「トリプトファン」ノ

第10表 毒素ノ影響 (志賀型 393)
(異型 402)

番 號	M 10 基質 0.5 メチレン青 0.5 緩衝液 0.5 添加物 0.5 菌液 0.5	志 賀 型						異 型					
		0.05%	0.5%	0.05%	0.25%	0.2%	對照 (緩衝液 0.5)	0.05%	0.5%	0.05%	0.25%	0.2%	對照 (緩衝液 0.5)
		體 外 毒 素	體 内 毒 素	蛇 毒	河 豚 毒	蟾 酥 毒		體 外 毒 素	體 内 毒 素	蛇 毒	河 豚 毒	蟾 酥 毒	
1	乳酸ソーダ	85	45	80	95	90	35	80	25	84	108	80	45
2	マルトゼ	60	38	60	40	60	31						
3	果糖	110	65	120	88	100	66	120	35	60	60	120	49
4	ガラクトゼ	120	75	120	80	66	82	120	43	68	65	120	75
5	蟻酸ソーダ	25	25	30	60	△	20	60	35	60	50	60	12
6	トレハローゼ(1%)	△	25	△	△	60	56	△	35	120	△	△	△
7	グリセリン	60	30	110	60	55	△	68	25	40	68	65	25
8	マンノゼ	60	17	110	60	59	32	71	30	103	40	84	60
9	葡萄糖	63	20	100	50	60	56	△	34	60	48	120	50
10	乳酸	△	28	△	△	△	16	△	△	△	△	△	32
11	焦性葡萄糖	△	25	△	70	△	63	△	32	△	△	△	70
12	グリコーゲン(1%)	△	60	△	△	△	72	△	△	△	△	△	△
13	サツハローゼ	△	30	△	90	△	△						
14	琥珀酸							△	△	△	△	△	45
15	マンニツト							120	28	120	95	120	47
16	ソルビツト							△	34	△	60	△	60
17	ラフィノーゼ							△	35	△	△	△	20
18	キシローゼ							△	25	60	48	△	△
19	トリプトファン							△	60	△	△	△	△
20	對照(溜水)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

備考： 體外毒素ハ志賀型393體外毒素 體內毒素ハ異型402體內毒素

酸化ニ對シ阻止作用ガ強度ニ認メラレタ。駒込B血清ガ同名菌吸收血清ヨリモ阻止的デアルベク考ヘ得ルガ、血清中ノ Eigen donor ノ存否及ビ酵素ニヨル抗體ノ產生等ノ影響モ考ヘラレル故ソノ間満足スベキ結果ハ求メラレナカツタ。免疫血清ノ脱水素酵素ニ對スル阻止作用ハ重金屬ニ比較スル時ハ遙ニ弱イ。

(6) 化學療法劑

「スルファミン誘導體ノ脱水素酵素ニ及ボス影響ハ第12表ニ示サガ如ク、三者間ニハ相違ハ存在セナイガ、志賀型ニ於ケル「トレハローゼ」、「ガラクトーゼ」、異型ニ於ケル「トレハローゼ」ノ酸化ニ干涉スル。然シナガラ對照菌液ニ比較スルニ「スルファピリヂン」加菌液48時間作用後ノ酵素系障害程度ト「スルファピリヂン」及ビ「パラアミノ安息香酸加菌液48時間作用後ノ「パラアミノ安息香酸」ノ「スルファピリヂン」ニ對スル

拮抗作用ガ明カニ認メラレタ。

(7) 發育促進物質 (23)

發育因子加合成培地ニ於ケル赤痢菌ノ發育態度ハ第13表其ノ1及ビ2ニ一括スル如ク「ニコチン酸及ビ「パラアミノ安息香酸ヲ除ケバ必ズシモ對照ニ比較シ發育促進的デ無イ。「ニコチン酸アミド」ノ發育助長作用(24)ハ認メラレナイガコレハ使用シタ「ニコチン酸アミド」ノ種類及ビ基礎培地ノ差異ニ依ルモノデアル。是等發育因子ノ赤痢菌ノ呼吸作用ニ及ボス影響ハ各基質ニ對シ種々ノ差異ガアツテ單純ナルモノデナイ、限ラレタ紙面ニ於テ是ヲ説明スルコトハ困難デアル。「ニコチン酸ハ「ニコチン酸アミド」(「ピリヂン-β-カルボン酸デエチールアミド」)ヨリモ酵素作用ヲ活性化スル傾キ強キモ志賀型ハ「ガラクトーゼ」、「フルクトーゼ」、「グリセリン」、異型ハ「マンニツト」及ビ「トレハロー

第12表 化學療法劑ノ影響 (志賀型 393) (異型 402)

番 號	M 10 基質 0.5 メチレン青 0.5 緩衝液 0.5 添加物 0.5 菌液 0.5	志賀型					異型					對 照 (緩衝液 0.5)	
		0.005% スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン	0.005% ニゲン スルフアミン		
1	乳酸ソーダ	37	40	42	93	60	35	52	61	57	120	60	45
2	マルトゼ	22	22	22	115	110	31						
3	果糖	93	105	83	—	110	66	50	52	63	—	—	49
4	ガラクトゼ	106	△	95	—	110	82	72	75	65	—	—	75
5	蟻酸ソーダ	22	22	22	120	60	20	9	9	7	—	—	12
6	トレハローゼ(1%)	△	△	△	—	—	56	△	△	△	—	—	△
7	グリセリン	△	△	△	91	60	△	35	32	30	120	90	25
8	マンノーゼ	36	57	42	—	120	32	73	80	80	—	—	60
9	葡萄糖	52	62	52	—	—	56	65	60	60	—	85	50
10	乳酸	18	20	20	—	—	16	37	34	40	99	66	32
11	焦性葡萄糖	80	98	72	—	—	63						
12	グリコーゲン(1%)	70	72	65	—	—	72	75	80	88	—	—	70
13	サツハローゼ	△	△	△	—	—	△						
14	琥珀酸							52	56	56	—	—	45
15	マンニツト							57	54	53	—	—	47
16	ソルビツト							90	78	100	—	—	60
17	ラフィノーゼ							35	70	120	—	—	20
18	キシロゼ							△	△	△	—	—	△
19	トリプトファン							△	△	△	—	—	△
20	對照(溜水)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

ゼ」ニ於テ阻止的態度ガ存在スル。「ビタミンB₁ハ「マルトゼ」ニ對シ僅カニ促進的デア。此等發育因子加合成培地ニ於ケル赤痢菌ノ發育ニ關スル小實驗ニ於

テハ脱水素酵素ニ及ボス發育因子ノ作用ト平行スルモノデナカツタガ是ダケノ實驗デハ結論ヲ出スコトハ出來ナイ。

第2章 脱水素酵素ト「カタラーゼ」ノ相關性

第1節 水素寄與質加培地ニ

見ル「カタラーゼ」ノ消長

水素寄與質加培地ニ志賀菌ヲ繼代培養スル時、「カタラーゼ」ヲ含有セザル志賀型ハ「カタラーゼ」ヲ含有スル異型ニ比較シ定量的検査ニ於テ「カタラーゼ」ハ如何ナル消長ヲ示スカヲ觀察シタ。

實驗方法

菌液(1cc. 0.5mg) 0.5cc., 過酸化水素(3%過酸

化水素ヲ 5.67g 秤ニ 1ノ蒸溜水ニ溶解ス) 0.6cc. 入レ過酸化水素ヲ以テ倍數稀釋ヲ行フ。振盪後2時間孵卵器ニ放置シ、全列ニ10%硫酸溶液3乃至4滴及ビ $\frac{N}{100}$ KMnO₄ 溶液($\frac{N}{10}$ 礮酸ニテ修正) 0.5cc. 加ヘ、振盪後室溫放置2乃至3分後成績ヲ判定シタ。

實驗成績

志賀型ハ水素寄與質ヨリ化成スル過酸化水素ガ對照培地ニ比較シ過剩トナリ、「カタラーゼ」存在セザルタ

メ過酸化水素ニヨル KMnO_4 溶液ノ脱色が對照培地發育ノ菌液ヨリ強度ナルベキデアル、又異型ニ於テモ志賀型ト同様水素寄與質加培地ニ繼代培養スル時普通培地ニ於ケルヨリ過酸化水素ノ化成ガ増加スル筈デアル、然シナガラ志賀型ト異リ「カタラーゼ」ガ存在スルタメソノ一部ハ分解セラレ、ソノ一部ハ殘存スベク考ヘラレル、從ツテ定量的ニハ矢張り KMnO_4 ノ脱色が強度デアル筈デアル。實驗成績ハ第14表(略)ニ示スガ如ク志賀型 393 ニ於テハ供試培地ハ對照ニ比較シ KMnO_4 ノ脱色稍強キモ志賀 522 及ビ 532 ハ反對デアル。異型 402 ニ於テハ供試培地ハ對照ニ比較シ KMnO_4 ノ脱色強ク、且ツ稀釋倍數ノ進ムト共ニ對照トハ逆ニ KMnO_4 ノ脱色が強度デアツタ。

第2節 水素寄與質加培地ニ見ル

好氣性竝ニ嫌氣性發育態度

赤痢菌ノ如キ通性嫌氣性菌ヲ酸素ノ存在スル培地ト酸素ノ存在セナシ培地ニ培養スル時ソノ新陳代謝上差異⁽²⁵⁾ヲ生ズル事ハ知ラレテ居ル。コノ事實ハ脫水素酵素作用ト密接ナル關聯ガ存在スルヲ示シ、好氣性培養ニ於テ酸素ハ屢々水素受容質ノ役割ヲナシ最初ノ生産物トシテ過酸化水素ガ出來「カタラーゼ」ノ活躍トナル。志賀型ハ「カタラーゼ」ヲ含有セザルタメ嫌氣性培養ニ於テハ過酸化水素ノ生成無キタメカ好氣性培養ヨリソノ發育旺盛デアラベキナリ。異型ハ好氣性培養ニ於テハ「カタラーゼ」存在スルタメ過酸化水素ノ生成ト同時ニ「カタラーゼ」ノ活躍⁽²⁶⁾トナリ酸素ガ再ビ呼吸機作ニ關與⁽²⁷⁾スル。又嫌氣性培養ハ過酸化水素ノ生成無キタメ「カタラーゼ」ノ活躍ヲ必要トセナイ、本質

驗ニ於テ各種水素寄與質加培地ニ於ケル志賀型竝ニ異型ノ好氣性竝ニ嫌氣性發育ガ脫水素酵素ト「カタラーゼ」ノ相關性ト如何ナル關係ニアルカヲ試驗シタ。

實驗方法

供試菌ヲ平板ニ塗抹シ、好氣性竝ニ嫌氣性培養ヲ行ヒ20時間後ニ觀察シタ。嫌氣性培養法ハ硝子製鐘内ニ培養用平板ト共ニ Rjimsdijk 標示藥ヲ裝置ス。水銀マンメーターヲ通ジテ水流ポンプニ接續セシメ容器ノ氣壓ヲ 20mm. 前後ニ至ラシム。

實驗成績

(第15表略)。志賀型ノ發育ハ「マルトーゼ」、「グルコーゼ」、乳酸ソーダ」加培地ニ於テハ對照ト異ル事ナク、兩培養共ニ聚落數及ビ聚落ノ大キサニ差異ヲ認め得ナイ。琥珀酸、「マンニツト」、「ラフィノーゼ」、肝臟寒天、「パラアミノ安息香酸加培地」ハ好氣性ハ嫌氣性ニ比較シ聚落ノ大キサ遙カニ小サク、且ツ聚落發生ヲ僅カニ認め得ルニ過ギナイ。異型ハ焦性葡萄糖、「グルコーゼ」、「マンノーゼ」及ビ乳酸ソーダ」ニ於テ對照ト異ル處ヲ認め得ナイガ「マルトーゼ」、琥珀酸、「マンニツト」、「ラフィノーゼ」、「グリセリン」、蟻酸ソーダ」及ビ肝臟エキス」ハ好氣性ヨリモ嫌氣性ノ方が發育態度旺盛デアル。

又「パラアミノ安息香酸」ハ好氣性培養ニ於テ發育促進的デアル、即チ「パラアミノ安息香酸」ハ赤痢菌ニ於テハ水素受容質トシテノ價値ヲ有セザルヲ併セ考ヘル時ソノ作用機轉ハ脫水素酵素以外ノ代謝系ヲ賦活スルモノノ如クデアル。

第3章 總括及ビ考按

赤痢菌脫水素酵素ニヨリ酸化サレル基質ハ含水炭素、多價アルコール」及ビ有機酸、就中脂肪酸ニ屬スル炭素源化合物ニシテ窒素源ニ屬スルモノニハ「ペプトン」、「アルブミン」竝ニ 2, 3 ノ「ブリン誘導體」ガ存在スル。葡萄糖ニ關聯ヲ有スル基質(葡萄糖、「マンノーゼ」、果糖)ハ群特異性ヲ有スル葡萄糖脫水素酵素ノ作用ヲ受ケル様ニ考ヘラレル。志賀型、異型ヲ通ジ蟻酸竝ニ「グリセリン」脫水素酵素ガ高度ニ含有セラレル事ハ蟻酸竝ニ「グリセリン」ガ六炭糖中間代謝産物デアコトヲ併セ考ヘ及ブ時脫水素酵素ガ「エネルギー」ヲ得ルタメノ六炭糖代謝ノ中心ヲナスモノト考ヘ得ル。「ブリン誘導體」ニ屬スル基質20種ノ大多數ノモノハ赤痢菌

脫水素酵素ニヨリ酸化分解ヲ受ケ無イ。コノコトハ赤痢菌ノ核酸代謝ガアマリ旺盛デナイト云フコトヲ示スモノデアル。

脫水素酵素ニ對スル「レントゲン線」及ビ赤外線ノ阻害作用ハ顯著デナイ。凍結ハ「コロイド」粒子ノ重合融解ノタメ全體的ニ粒子ノ表面積ガ大トナリ酵素作用ガ増大スト考ヘ得ルガ反對ノ結果ヲ得タ。異型ニ於テハ紫外線ノ阻害作用ガ認めラレナイ、又超音波ノ各基質ニ對スル阻害作用ハ特異的デアル。

多過酸化水素、「カルボール」及ビ「ホルマリン」ハ共ニ赤痢菌脫水素酵素ニ呼吸停止的ニ働ク。「チアソ加里」、「ヒドロキシルアミン」及ビ「ナルコチン」ハ 1,

2ノ基質ヲ除ケバ干渉ハ認メラレ無イ、コレハ脫水素酵素ガ構成要素トシテ鐵ヲ必要トセナイカラデアル。重金屬ノ原形質ニ及ボス有毒作用ハ酵素ニヨル觸媒系ヲ阻止スルタメト考ヘラレテ居ル。然シナガラ是等鹽類ハ一定ノ稀釋濃度ニ達スルト細菌ノ發育ガ促進サレル。是等無機鹽類ハ使用シタ濃度ニ於テハ脫水素酵素作用ガ阻害サレルノヲ認メタ。

酸化還元酵素ニ屬スル脫水素酵素ニ於テ「コエンチーム」ト「アポエンチーム」ハ鹽類様緩結合状態ニ存在スルト考ヘラル、又 Euler ノ研究ニヨルト脫水素酵素ノ多クハ「コエンチーム I」ニ屬シ、ソノ少數ノモノハ「コエンチーム II」ニ屬ストイフ。共ニソノ構造分子中ニ「ニコチン酸アミド」ヲ活性團トシテ含有スル。合

成培地ニ見ル「ニコチン酸竝ニ「ニコチン酸アミド」ノ赤痢菌發育促進現象、脫水素酵素コエンチーム」ノ化學構造ノ想定トソノ「ニコチン酸アミド」ノ水素運搬性⁽²⁶⁾及ビ赤痢菌ニ對スル「スルフアピリヂン」ノ化學療法的價値等「ピリヂン化合物ヲメグル關係ハ諸種ノ要約ニ左右セラレテ明白デナイガ、赤痢菌ノ應用物質代謝上注目スベキモノガ存在スル。

赤痢菌ハ好氣性生活ニ於テハ嫌氣性生活ノ場合ヨリ生活態度ガ複雑ナル、又嫌氣性生活ニ於テハ過酸化水素ノ生成ガ少ク、尙「カタラーゼ」生産能力ハ培地ノ組成如何ニヨリ消長ヲ見ザルタメ一般ニ嫌氣性培養ガ好氣性培養ヨリモ發育態度旺盛デアル。

結 論

(1) 志賀型竝ニ異型赤痢菌ニ就テ脫水素酵素作用ヲ Thunberg 法變法ニ從ヒ觀察シタ。有機物 115 種類中志賀型ハ 26 種ヲ、異型ハ 27 種ヲ基質トシテ脫水素スル。ソノ大多數ノ基質ハ含水炭素、多價アルコール及ビ有機酸ニ屬スル炭素源物質デアル。赤痢菌ノ場合水素受容質トシテハ有機酸ニ屬スル不飽和化合物ヨリ硝酸鹽類ガ適スル様デアル。

(2) 氷室保存休止菌液ノ酵素力減衰ハ基質ニヨリ相違ハ存在スルモ作製後 1 週間ニ於テハ變化ヲ見ナイ。又酵素作用至適溫度ハ 37°C 乃至 40°C ニシテ高温ガ低温ヨリ更ニ阻止的デアル。紫外線ハ有色光線ニ比較シ酵素作用阻害的デアル。超音波ハ志賀型ヨリモ異型ニ於テ脫水素酵素作用ヲ阻害スル。

(3) 脫水素酵素作用至適水素「イオン」濃度ハ PII 7.4 ニシテ、酸性ヨリモ「アルカリ性」傾ク時酵素作用ノ阻止ガ強クナル。殺菌防腐劑、重金屬鹽類竝ニ單價免疫血清ハ志賀型竝ニ異型ヲ通ジ共ニ酵素阻害作用強シ。動物分泌毒素ニハ酵素作用ヲ阻害スル傾向ガ多少認メラレル様デアル、赤痢菌體內毒素ハ水素離脱作用

促進的デアル。「スルフアピリヂン」ノ赤痢菌脫水素酵素作用阻止ハ微動作用ヲ呈スル重金屬鹽類ヨリ遙カニ弱イ、又赤痢菌發育因子「パラアミノ安息香酸及ビ化學療法劑「スルフアピリヂン」ノ作用機構ハ脫水素酵素以外ノ好氣性呼吸ニ關與スル酵素系ニ干渉スルモノデアル。細菌發育因子加合成培地ニ於ケル赤痢菌ノ發育態度竝ニ是等因子ノ脫水素酵素ニ對スル影響ヲ觀察シタ。

(4) 水素寄與質加寒天培地ニ於ケル「カタラーゼ」ノ定量的消長ハ認メ得ナイ。該培地ニ見ル赤痢菌ノ發育ハ好氣性ヨリモ嫌氣性培養ニ於テ旺盛デアル。

擱筆スルニ臨ミ校閱竝ニ指導ノ勞ヲ賜ツタ恩師友友次教授及ビ病院長森脇襄治博士ニ對シ謝意ヲ捧グ。余ヲシテ細菌化學ニ就テ興味ヲ興ヘラレ、且ツ種々御教示ヲ賜ツタ大連醫院醫化學科主任牧野聖博士ニ深甚ナル謝意ヲ表ス。本作業實施ニ當リ絶大ナル援助ヲ給リタル大連衛生研究所長安東洪次博士ニ深甚ナル謝意ヲ捧グ。

文 獻

- 1) Braun u. Wördehoff: Zbl. Bacter. I. Orig. 128 (1933): 50. 2) Kendall a. Ishikawa: J. Infect. Dis. 44 (1929): 282. 3) Stephenson: Bacterial metabolism (1939):

- 4) M'Leod a. Gordon: Exp. Med. 26 (1923): 326. 5) Quastel a. Whetham: Biochem. J. 18 (1924): 519. 6) Quastel a. Whetham: Biochem. J. 19 (1925): 520, 645, 652. 7)

Stickland : Biochem. J. 23 (1929) : 1187.
 8) Quastel a. Stephenson : Biochem. J. 19 (1925) : 660. 9) Quastel : Biochem. J. 20 (1926) : 166. 10) Quastel a. Wooldrige : Biochem. J. 21 (1927) : 1224. 11) Stephenson : Biochem. J. 22 (1928) : 605. 12) Quastel a. Wooldrige : Biochem. J. 22 (1928) : 689. 13) Wieland : Erg. d. Physiol. 20 (1922) : 477. 14) 中込 : 實驗醫學. 19 (昭和10) : 248, 265. 15) Löfler u. Rigler : Zbl. Bact. 1. Orig. 99 (1926) : 1. 16) Oppenheimer : Die Fermente und ihre Wirkungen. Bd. II. (1939) : 17) Abderhalden : Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. IV. (1936) : 18) 米澤 : 東京醫事新誌. 3063 (昭和12) : 19) Warburg : Biochem. Z. 136 (1923) : 266. 20)

Quastel a. Wooldrige : Biochem. J. 21 (1927) : 148. 21) 前田 : 細菌學雜誌. 561 (昭和17) : 512. 22) 藤本 : 體性. 28 (昭和16) : 639. 23) Koser a. Sanders : Bacter. Rev. II. (1938). 24) Koser, Dorfman a. Saunders : Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 38 (1938) : 311. 25) 黒田 : 愛知醫學會雜誌. 35 (昭和3) : 26) Stern : Ann. Rev. of Biochem. (1941) : 27) Thurlow : Biochem. J. 19 (1925) : 175. 28) Warburg, Christian u. Griese : Biochem. Z. 282 (1935) : 157.

爾餘ノ参考文献 :

1) 安東 : 比色的水素イオン濃度測定法. (大正15) : 2) ユルムセル : 生體酸化還元. (田宮外3氏譯). (昭和17). 3) 大谷 : 實驗酵素化學. (昭和14).