

溶連菌に於ける物質代謝，就中 Streptolysin S 産生に対する糖類の無関係性に就いて

第 2 篇

Streptolysin S 産生に於ける物質代謝—特に瓦斯代謝—に就いて*

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

梅 崎 伸

（受付：昭和31年4月21日）

緒 言

細谷，江上¹⁾²⁾³⁾，Bernheimer⁴⁾⁵⁾等は細菌培養に伴う培地成分の消長と代謝終末産物を観察し，核酸効果が溶連菌の物質代謝と密接な関係を有していることを報告している。前篇では溶連菌の各種基質に於ける瓦斯代謝に就いて述べ

たので，本篇では Streptolysin S (“S”)産生を中心に，その際の瓦斯代謝及び各種必要因子の意義につき検討してみた。以下その成績に就いて報告する。

実 験 方 法

1) 菌株，菌液調製，検圧法等は前篇に同じ。
2) 溶血試験：岡本，伊藤⁶⁾⁷⁾⁸⁾の術式に拠つた。即ち，所要数試験管を試験管立に架列，0.85%生理的食塩水1ml宛を分注す。乾燥重量10mg/2.5mlの溶連菌浮游液を検圧観測終了後，直ちに遠心，その上澄1mlを第1試験管に加え，順次2倍通減稀釈を行つたもの

に対し，1%家兎赤血球浮游液（脱纖維血液を0.85%生理的食塩水を以て4回洗滌したもの）1ml宛を加え，振盪混和し，温槽（37°C）に入れ1時間及び2時間後に夫々溶血の有無，強度を検し，更に22時間氷室に放置，最終判定を行つた。

実 験 成 績

核酸効果と呼吸の関係につき検索した成績は次の如くであつた。

1) 基質添加なき場合（対照実験）：菌は内部呼吸のみで（前篇 Fig. 8,9）その際の溶血価は1:2.5に過ぎない（Table 2,6）。
2) 核酸を基質とした場合：最終濃度1%に加えた核酸は明かに溶血毒増産を惹起し，

Table 1 及び Table 6 の如く溶血価は1:1,280を示し，この際の酸素消費は120分間に約70~80cmm で内部呼吸より明かに増加している。而して核酸と同時にKCN ($2 \times 10^{-2}M$)， NaN_3 ($5 \times 10^{-3}M$)，NaF ($1.5 \times 10^{-2}M$)，チニトロフェノール ($5 \times 10^{-5}M$)，モノ沃度醋酸 ($4 \times 10^{-5}M$) を添加した結果は，Table 1,2

*本論文の要旨は昭和30年10月，第9回日本細菌学会北陸地方支部集會に於て発表した。

及び Fig. 1, 2 に示す如くで、葡萄糖代謝では呼吸を阻止した之等物質（第1篇参照）は、核酸代謝の酸素消費量には殆んど影響を与えないが、“S”産生を $\frac{1}{4}$ ～ $\frac{1}{8}$ に阻害した。

3) 葡萄糖、マルトース及びグルコサミンを基質とした場合：何れも最終濃度0.2%に加えると、120分間の酸素消費量は葡萄糖、マルトース及びグルコサミン基質添加時夫々180cmm, 260cmm 及び 90cmm で、その際の溶血価は夫々1:5, 1:10, 及び1:2.5で対照(1:2.5)に比し大差がなかつた。(Table 3, 4, 5 & Fig. 3, 4, 5), (Table 6)

4) 核酸と含水炭素の混合基質の場合：

a) 核酸と葡萄糖の混合基質時：核酸の最終濃度1%, 葡萄糖の最終濃度0.2%になる如く混合添加した場合、120分間の酸素消費量は250cmm で同濃度の核酸単独及び葡萄糖単独添加時の夫々の酸素消費70cmm及び180cmmより多量で、両者の代数和に略々一致した。(Table 3 & Fig. 3) かくの如く混合基質では呼吸が増加するにも拘らず、Table 6に見る如く溶血価は1:1,280に留り、核酸単独基質時と同価を示している。この成績は葡萄糖添加による呼吸量の増加と核酸効果とは直接関係無きことを示し、核酸の“S”増産現象に関して重要な知見を加えたものと云えよう。

(b) 核酸とマルトースの混合基質時：核酸及びマルトースを夫々最終濃度1%及び0.2%になるよう混合添加すると、酸素消費量は310cmm で同濃度の核酸及びマルトース単独添加時の60cmm及び250cmmの代数和に略々一致する如き増量を示した。一方溶血価は核酸及びマルトース単独基質時夫々1:1,280及び1:10で、混合基質時は1:2,560を示した。然し乍らマルトース添加による呼吸量の増加が明かに核酸効果に直接影響したと結論されるような成績ではなかつた。(Table 4, 6) (Fig. 4)

(c) 核酸とグルコサミンの混合基質時：核酸及びグルコサミンを夫々最終濃度1%及び0.2%になるよう混合添加すると酸素消費量は120

分で120cmm で同濃度のグルコサミン及び核酸単独添加時の夫々90cmm及び60cmmに比し増加したが、一方溶血価は、グルコサミン及び核酸単独基質時夫々、1:2.5及び1:1,280で、混合基質時1:640を示した。(Table 5, 6) (Fig. 5)

以上3種の含水炭素と核酸の混合基質に於ける呼吸と“S”産生に関する成績から、含水炭素は直接に核酸効果に関与するものとは見做されない。

5) 溶連菌の呼吸と“S”産生の時間的追跡：Warburg 検圧法により呼吸測定の途次、逐次的に生菌数及び溶血価を検して酸素消費量との相関性を求めた。即ち、検圧開始期(0分)、20分、40分、80分及び120分後に菌浮游液を採り出し、直ちに0°Cに冷却“S”産生を中絶させ、之等の試料を型の如く処理し、溶血試験を行った成績は Table 7 に示した。

基質として葡萄糖、マルトース及びグルコサミンを0.2%, 核酸を1%に加えた。

溶連菌は核酸を加えることにより、迅速に“S”産生に向い、核酸単独基質では、0分1:20, 20分で既に1:160, 40分で1:640, 80分で1:1,280弱, 120分で1:1,280となり、大体時間に比例した。

核酸に糖類を追加すると40分で既に最高値に近い溶血価を示したが、核酸にグルコサミンを追加すると“S”産生は逆に遅延した。一方、之等基質添加時の呼吸曲線(酸素消費)及び生菌数の推移は既に述べた成績と同一であつた。

6) Mg⁺⁺の核酸効果並びに菌の呼吸に及ぼす影響：Mg⁺⁺の存在が核酸効果に対し問題視⁵⁾されているので検討した。最終濃度0.06%MgSO₄ 0.2%含水炭素、1%核酸を次の如く組合せてMg⁺⁺の影響を検討した。その結果、(i)〔菌液+MgSO₄〕は無影響。(ii)〔菌液+核酸+MgSO₄〕は呼吸を僅かに(約20cmm)増加し、溶血価には無影響。(iii)〔菌液+葡萄糖又はマルトース+MgSO₄〕は無影響。(iv)〔菌液+葡萄糖+核酸+MgSO₄〕は無影響。(v)〔菌液

+マルトース+核酸+MgSO₄]は酸素消費量は無影響で，溶血価はMg⁺⁺の存在で1:2,560から1:5,120と一管増強した。

Mg⁺⁺のこの関係は前述のマルトースの“S”産生に対する態度と酷似している事も興味深い (Table 8, 9 & Fig. 6, 7)

7) “S”産生に及ぼす検圧操作の影響：通性嫌気性菌たる溶連菌を振盪して絶えず空気に接触せしめることは“S”産生に当然影響を及ぼすと見られ¹⁾⁴⁾⁵⁾，実測の結果はTable 10に見る如く，非振盪の場合に比し，僅かに最終稀釈試験管に於いて溶血度の減弱を認めたに過ぎなかつた。

8) 嫌気的条件下での“S”産生と瓦斯代謝の関係：前篇の含水炭素の項で述べた如く，嫌気の瓦斯代謝は好気の瓦斯代謝に比し著しく低い。即ち Xco₂ (120分)は葡萄糖，マルトース，

グルコサミン及び核酸を基質とした時，夫々54cmm, 40cmm, 120cmm及び27cmmで溶血価は夫々，1:25, 1:10, 1:25, 1:1,280を示し，対照としての核酸を好氣的に操作して得た溶血価1:2,560に比し $\frac{1}{2}$ になつていた。又，[核酸+含水炭素]の混合基質に就いて嫌氣的瓦斯代謝を見た所，[核酸+葡萄糖]，[核酸+マルトース]では発生ガスは葡萄糖，マルトース夫々単独基質時の約2倍に増大していたが，[核酸+グルコサミン]では夫々単独基質時と大差なかつた。

溶血価は核酸単独添加時に比し，[核酸+葡萄糖]では $\frac{1}{2}$ に低下，[核酸+マルトース]では逆に4倍に増強し，[核酸+グルコサミン]の場合には $\frac{1}{4}$ であつた。(Table 11, 12 & Fig. 8及び前篇 Table 11, Fig. 12)

総括並びに考按

溶血毒の化学的並びに免疫学的性状に関しては既に Weld⁹⁾¹⁰⁾，McLeod¹¹⁾，Neil and Mallory¹²⁾，Todd¹³⁾等幾多の研究があつたが1939年岡本教授¹⁴⁾が血清や酵母抽出液を使用せず酵母核酸をブイヨンに加えることにより，著しい溶血毒産生増強を示すことを発見して以来，Streptolysin Sの研究は伊藤⁶⁾⁸⁾，細谷・江上¹⁾²⁾³⁾，Bernheimer⁴⁾⁵⁾¹⁵⁾，等により新分野が開拓され，一大飛躍を遂げるに至つた。而して私は溶連菌の各種基質に於ける呼吸と“S”産生との関係を観察した結果，多少先人と異つた事実を得た。要約するに，溶連菌の内部呼吸は微少であり，その溶血毒産生力も弱い，之に核酸を加えると著しい“S”産生増強を認め，その際，酸素消費の増加が認められた。しかし，酵素阻害剤を同時に加えても，酸素消費には殆んど影響なくて，“S”産生の抑制が認められた。又，核酸に葡萄糖，マルトース及びグルコサミンを夫々追加した基質では，核酸単独基質時に比し，大量の酸素消費を示すが，“S”産生

量は略々同じであつて，含水炭素単独基質時の酸素消費量と“S”産生との関係を併せ考えると，瓦斯代謝と“S”産生との間に平行的な関係は認め難く，菌が含水炭素を基質として瓦斯代謝を行い，エネルギーを得ているが，核酸効果の機転に直接利用されるのではないと推察されるのである。然し，Bernheimer⁴⁾⁵⁾は核酸単独では岡本等⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾の認めた如き著しい核酸効果はなく，含水炭素が必要であることを特にグルコサミンの代謝産物の検討より強調している。若しBernheimerの云う如く含水炭素が直接“S”産生のエネルギー源となるのならば，[核酸+含水炭素]の混合基質時は核酸単独の場合に比し，かなり“S”産生が増強されねばならないが，私の成績は之を否定している。

又，酵素阻害剤の含水炭素代謝，核酸代謝及び核酸効果に対する態度から，呼吸機構の阻害を直ちに“S”産生阻害に直結し得ず，“S”産生機構は，菌の炭水化物代謝及び核酸代謝によるエネルギー獲得とは別箇な現象と想定されるの

である。

細谷等¹⁶⁾は著明量の“S”が含水炭素の検出されない条件で現出することから、“S”産生機構として核酸に対する溶連菌生菌体中の酵素作用を推定している。

マルトースが多少“S”産生を増強し、Mg⁺⁺が呼吸には殆んど無影響で、核酸効果をやや助成するのは、酵素作用に何らかの影響を及ぼすと考えるのが妥当と思われる。因に伊藤⁸⁾も“S”産生不可欠因子としてのマルトースを否定する見解を既に公にしている。

核酸が“S”産生増強作用を示すことに就いては、“S”がポリヌクレオチドである⁷⁾ことから、その間の機序が討議に上るのは当然であ

る。重合か、触媒としてか、或は分解、再合成されるかは、本実験では明かに出来ないが、その転換には何らかのエネルギー授受があるに違いなく、好氣的呼吸エネルギーとは別箇なエネルギー供給経路である嫌氣的含水炭素代謝が考慮検討されたが、核酸効果との間には、好氣的の場合と同様に密接な関連性がないという成績となつた。

これ等の成績で“S”産生機構に対する推断を下すことは控えるとして、溶連菌の瓦斯代謝の面から、核酸と含水炭素の役割の間に一線を劃することが出来、今後の研究に一步を進めたものと思ふ次第である。

結 論

私は静止溶連菌S株浮游液を使用して、各種基質、特に含水炭素及び核酸の代謝を検圧法にて検索し、同時に溶血試験により“S”産生を測定し、次の成績を得た。

- 1) 溶連菌の内部呼吸は僅少で、“S”産生は微量である。
- 2) 核酸添加により、溶連菌は呼吸を増し、“S”産生増強を示し、KCN, NaN₃, チニトロフェノール等で核酸効果は抑制されるが、その際の酸素消費は抑制されない。
- 3) 含水炭素基質時の酸素消費は著明であるが、“S”産生は殆んど助成されない。
- 4) 核酸に含水炭素を加えた混合基質では、核酸単独基質に比し酸素消費は増加したが“S”

産生は増強されなかつた。

5) マルトース及びMg⁺⁺は夫々“S”産生を若干助成する。

6) 核酸効果は嫌氣的条件下でも著明であるが、好氣的条件の場合に比し、幾分劣る。この場合、含水炭素添加により、瓦斯代謝は増加するが、特に“S”産生を増強することはない。

之を要するに、含水炭素添加は溶連菌の呼吸を増大するが、それにより得たエネルギーは、核酸効果とは無関係である。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導を賜つた岡本教授並びに西田助教授に対し、深甚なる謝意を表す。

文 献

- 1) 細谷省吾, 他 : 基礎と臨床, 1(6), 205, 1948.
- 2) 同 上 : 同 上, 3(4), 102, 1949.
- 3) Hosoya, S. et al. : Jap. J. Med., 20 (11), 25, 1949.
- 4) Bernheimer, A. W. : J. Exp. Med., 88, 149, 1948.
- 5) Bernheimer, A. W. : *ibid.*, 90, 373, 1949.
- 6) Okamoto, H. Kyoda, S. und Ito, R. : Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacol. 14, 99, 1941.
- 7) 岡本

- 8) Ito, R. et al. : Jap. Med. J., 1, 253, 1948.
- 9) Weld, J. T. : J. Exp. Med., 59, 83, 1934.
- 10) Weld, J. T. : *ibid.*, 61, 473, 1935.
- 11) Chammon, H. A. and McLeod, J. W. : J. Path. and Bact., 32, 283, 1929.
- 12) Neil, J. M. and Mallory, T. B. : J. Exp. Med., 44, 241, 1926.
- 13) Todd, E. W. : J. Exp.

Med., 55, 267, 1932. 14) Okamoto, H. :
 Jap. J. Med. Sci., IV. Pharmacol., 12, 167,
 1940. 15) Bernheimer, A. W. : J. Exp.

Med., 92, 129, 1950. 16) Hosoya, S. et
 al. : Jap. J. Exp. Med., 20, 25, 1949.

Table 1 The influence of various enzyme inhibitors upon
 "Nucleic acid effect" (Shaking by Warburg's
 apparatus)

Hemolysis test, in which 0.85% NaCl solution was used as
 the diluent (Reading taken after 24 hours).

The final concentration of substrates added was as follows :

Nucleic acid 1%, Carbohydrate 0.2%, KCN $2 \times 10^{-2}M$,

NaN_3 $5 \times 10^{-5}M$, NaF $1.5 \times 10^{-2}M$, $HgCl_2$ $3 \times 10^{-6}M$,

Dinitrophenol $5 \times 10^{-5}M$ and ICH_2COOH $4 \times 10^{-5}M$.

Substrates added	Dilution of Supernatant													
	2.5	5	10	20	40	80	160	320	640	1,280	2,560	5,120	10,240	
Control	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	-	-	-	-
Nucleic acid + KCN	###	###	###	###	###	###	###	+	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + NaN_3	###	###	###	###	###	###	+	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + NaF	###	###	###	###	###	###	##	++	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Dinitrophenol	###	###	###	###	###	###	###	##	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + CH_2ICOOH	###	###	###	###	###	###	###	±	-	-	-	-	-	-

1 ml of washed red blood cell suspension was added to 1 ml of the diluted supernatant obtained from the mixture of hemolytic cocci suspension and substrates.

indicates complete hemolysis; ##, ++, +, ± indicate partial hemolysis; - indicates no hemolysis.

Table 2 Influence of various inhibitors upon gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in nucleic acid

Reading taken after (min.)	Oxygen up-take X ₀₂ cmm					
	Control	KCN	NaN ₃	NaF	Dinitrophenol	Moniodo-acetic acid
20	20.9	18.1	33.8	23.4	13.8	19.9
40	32.3	25.0	48.1	35.1	34.2	37.0
60	42.2	36.2	55.2	43.4	46.1	48.9
80	52.5	48.3	59.5	49.3	53.7	55.0
100	60.6	53.5	65.7	53.7	61.2	60.0
120	67.5	60.4	71.4	54.9	67.5	66.0

* : The final concentration of substrates is such as Table 1.

Fig. 1 Influence of various inhibitors upon gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in the presences of nucleic acid (I)

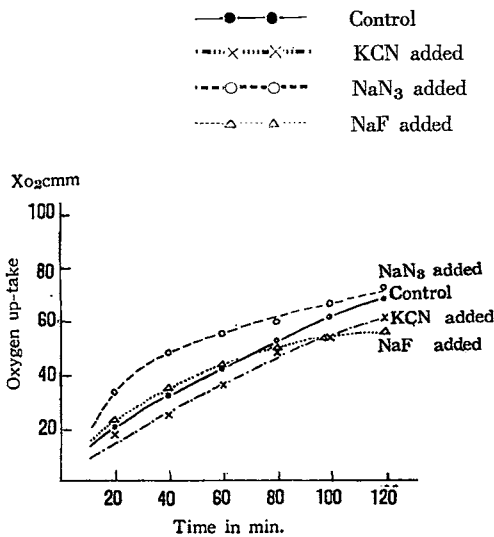


Fig. 2 Influence of various inhibitors upon gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in nucleic acid (II)

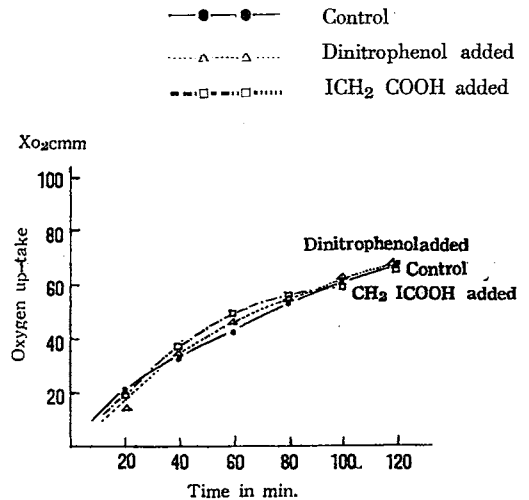


Table 3 Respiration of *Str. haemolyticus* in mixed substrate I. (Nucleic acid+Glucose)

The final concentration of substrates added was as follows : Nucleic acid.....1%
Glucose0.2%

Substrates added Reading taken after (min.)	Oxygen up-take X _{O₂} cmm		
	Nucleic acid	Glucose	Nucleic acid + Glucose
20	13.2	41.2	47.3
40	30.5	83.0	137.0
60	44.2	118.1	187.0
80	56.0	146.0	228.2
100	63.9	166.0	244.5
120	69.9	180.8	250.6

Fig. 3 Respiration of *Str. haemolyticus* in mixed substrate I. (Nucleic acid+Glucose)

The final concentration of substrates added was as follows : Nucleic acid.....1%,
Glucose0.2%.

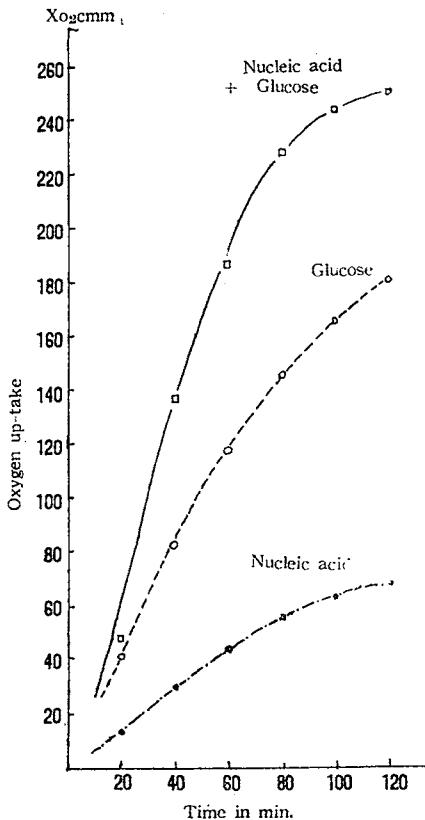


Table 4 Respiration of *Str. haemolyticus* in mixed substrate II. (Nucleic acid+Maltose)

The final concentration of substrates added was as follows : Nucleic acid.....1%
Maltose0.2%

Substrates added Reading taken after (min.)	Oxygen up-take X _{O₂} cmm		
	Nucleic acid	Maltose	Nucleic acid + Maltose
20	18.8	58.6	65.7
40	34.3	118.8	139.6
60	41.6	158.8	205.6
80	46.3	203.3	258.4
100	49.9	234.2	291.6
120	53.5	254.4	313.8

Fig. 4 Respiration of *Str. haemolyticus* in mixed substrate II. (Nucleic acid+Maltose)

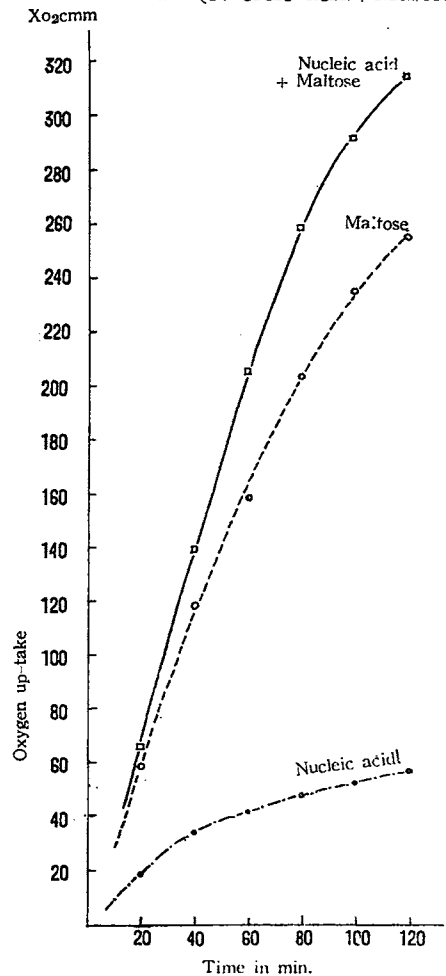


Table 5 Respiration of *Str. haemolyticus* in mixed substrate III. (Nucleic acid+Glucosamine)

The final concentration of substrates added was as follows : Nucleic acid 1%
Glucosamine.....0.2%

Substrates added Reading taken after (min.)	Oxygen up-take X _{O₂} cmm		
	Nucleic acid	Glucosamine	Nucleic acid + Glucosamine
20	15.0	9.7	18.7
40	29.3	23.5	37.3
60	42.6	38.4	58.0
80	49.6	56.0	77.9
100	54.8	69.4	98.2
120	59.5	87.8	118.0

Fig. 5 Respiration of *Str. haemolyticus* in mixed substrate III. (Nucleic acid+Glucosamine)

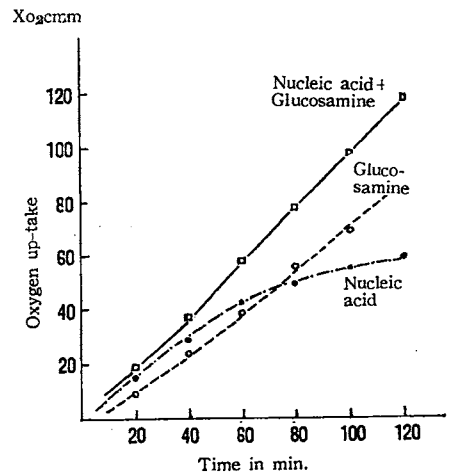


Table 6 Effects of nucleic acid and carbohydrates upon Streptolysin S production of *Str. haemolyticus* (Saking by Warburg's apparatus)

Substrate added	Dilution of supernatant												
	1: 2.5	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	1: 5,120	1: 10,240
Control	###	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	++	-
Glucose	###	##	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	###	##	##	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucosamine	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Glucose	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	+	-
Nucleic acid + Maltose	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	-
Nucleic acid + Glucosamine	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###	##	++	-

Final concentration of substrates added was as follows :

Nucleic acid..... 1%
Carbohydrates0.2%

indicates complete hemolysis;
##, ++, +, ± indicate partial hemolysis;
- indicates no hemolysis.

Table 7 Relation of Streptolysin S production of *Str. haemolyticus* to various interval of manometric process
The final concentration of substrates added was as follows :
Nucleic acid 1%, Carbohydrates 0.2%.

Substrates added	Dilution of supernatant	Time in min.	Dilution of supernatant													
			1: 2.5	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	1: 5,120		
Control	120	120	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid	0	120	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
	40	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-	-
	80	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-
	120	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
Glucose	120	120	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Glucose	40	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-
	80	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	-
	120	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-
Maltose	120	120	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Maltose	40	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-
	80	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	-	-
	120	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-
Glucosamine	20	120	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Glucosamine	40	120	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-
	120	120	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-

Table 8 Influence of Mg⁺⁺ upon gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in various substrate (under aerobic condition)
The final concentration of substrates added was as follows :
MgSO 40.06%, Carbohydrates 0.2%, Nucleic acid 1%.

Reading taken after (min.)	Substrates added	Oxygen up-take X ₀₂ cmm									
		Nucleic acid	MgSO ₄	Nucleic acid + MgSO ₄	Glucose	Nucleic acid + Glucose	Nucleic acid + Glucose + MgSO ₄	Maltose	Maltose + MgSO ₄	Nucleic acid + Maltose	Nucleic acid + Maltose + MgSO ₄
20		10.3	0.9	13.6	41.0	51.4	48.6	70.0	74.3	71.2	72.2
40		24.1	1.7	29.7	84.6	103.4	102.4	137.0	141.8	164.0	163.5
60		36.7	2.2	45.0	123.5	141.9	142.9	198.9	204.4	243.3	238.3
80		46.9	2.7	57.8	147.1	172.1	172.2	258.1	253.2	306.1	294.7
100		53.3	3.2	66.5	163.5	200.7	202.0	294.2	287.4	345.0	334.1
120		59.2	5.2	76.6	170.5	225.5	227.4	322.7	312.3	376.7	366.4

Fig. 6 Influence of $MgSO_4$ upon gas-exchange of *Str. haemolyticus* in various substrates

I. (under aerobic condition)

The final concentration of substrates added : $MgSO_4$ 0.06%, Nucleic acid 1%, Glucose 0.2%.

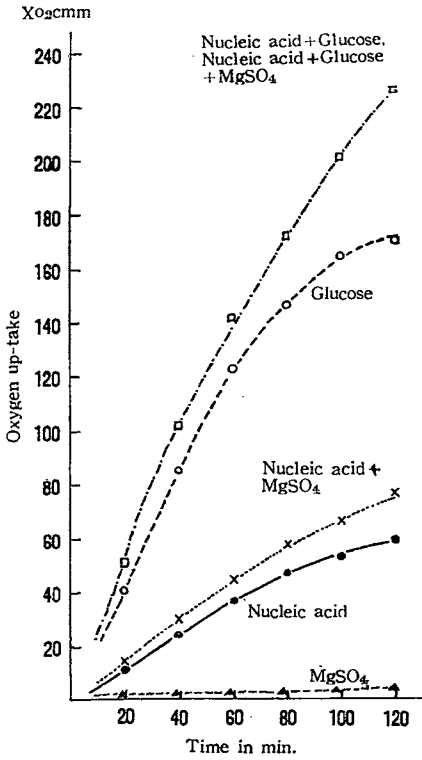


Fig. 7 Influence of $MgSO_4$ upon gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in various substrates

II. (under aerobic condition)

The final concentration of substrates added : $MgSO_4$ 0.06%, Nuclec acid 1%, Maltose 0.2%.

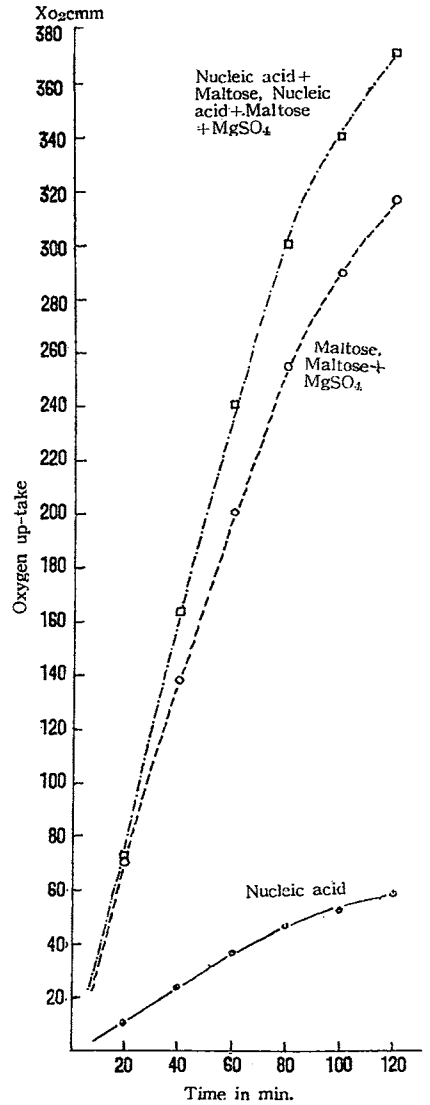


Table 9 Effect of Mg⁺⁺ upon Streptolysin S production of *Str. haemolyticus* in various substrates (shaking by Warburg's apparatus)

Substrates added*	Dilution of supernatant												
	1: 2.5	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	1: 5,120	1: 10,240
Control	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MgSO ₄	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		-	-
Nucleic acid + MgSO ₄	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		-	-
Nucleic acid + Glucose	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		+	-
Nucleic acid + Glucose + MgSO ₄	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		+	-
Maltose + MgSO ₄	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Maltose	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		+	-
Nucleic acid + Maltose + MgSO ₄	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		+	-

*The final concentration of substrates added was as follows :
MgSO₄ 0.06%, Nucleic acid 1%, Carbohydrates 0.2%.

Table 10 Influence of manometric procedure upon Streptolysin S production of *Str. haemolyticus* in nucleic acid
The final concentration of nucleic acid added was 1%.

Methods	Dilution of supernatant												
	1: 2.5	1: 5	1: 10	1: 20	1: 40	1: 80	1: 160	1: 320	1: 640	1: 1,280	1: 2,560	1: 5,120	
Control (without shaking)	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		+	-
Shaked by Warburg's apparatus	###	###	###	###	###	###	###	###	###	###		+	-

Table 11 Gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in the mixture of nucleic acid and carbohydrate under anaerobic condition

Substrates tested* Reading taken after (min.)	Carbon dioxide given off Xco ₂ cmm			
	Nucleic acid	Nucleic acid + Glucose	Nucleic acid + Maltose	Nucleic acid + Glucosamine
20	19.3	38.5	31.1	29.4
40	20.2	64.0	47.1	27.2
60	23.2	88.8	62.2	29.9
80	23.2	92.0	73.4	30.2
100	25.8	94.1	82.5	29.6
120	27.3	93.5	91.9	31.4

*The final concentration of substrates added was as follows :
Nucleic acid 1%, Carbohydrates 0.2%.

Fig. 8 Gas-exchanges of *Str. haemolyticus* in mixture of nucleic acid and carbohydrate under anaerobic condition

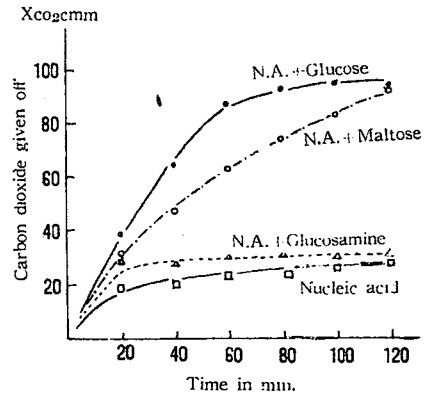


Table 12 Effect of nucleic acid and carbohydrates on Streptolysin S production of *Str. haemolyticus* under anaerobic condition (shaking by Warburg's apparatus)

Substrates added*	Dilution of supernatant												
	2.5	5	10	20	40	80	160	320	640	1,280	2,560	5,120	10,240
Nucleic acid (under aerobic condition)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-
Nucleic acid	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-
Glucose	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucosamine	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nucleic acid + Glucose	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
Nucleic acid + Maltose	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-
Nucleic acid + Glucosamine	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	-	-	-

*The final concentration of substrates added was as follows :
Nucleic acid 1%, Carbohydrates 0.2%.