

アミド化合物の放線状菌胞子造成に対する 促進作用に就いて

Accelerating Effect of Amide Compounds on the Sporulation in *Streptomyces* Cultures

今井 百里江子 (Morieko Imai)

Botanical Laboratory, Faculty of Science,
Ochanomizu University, Tokyo

Summary

Experiments were made on sporulating effect of various media on *Streptomyces* strains. The results obtained are as follows.

1. Sporulating agency of asparagine, contained in medium, for example, in the Krainsky medium can be replaced by adding 0.05-0.1% urea in place of asparagine. But when the test organisms were inoculated on these media repeatedly, the rate of growth reduced gradually.

2. On the question whether there are any correlation between conditions for mycelial formation and those for sporulation, various experiments were made. It is proved that the spore formation delays under the condition that fungal growth is to be accelerated, on the contrary, the sporulation occurs vigorously under the condition that fungal growth is to be prevented. For example, by adding peptone which is generally believed as nitrogenous compound beneficial for growth, sporulation occurs only meagre. Consequently, the fact that the sporulation is accelerated by amides seems to be dependent on the results that amides is but unfavourable nitrogen sources.

3. When sucrose was added as carbon sources, extract of sprouted soy beans can be used instead of asparagine medium.

4. Sporulating effect may be obtained by using the human urine instead of urea and in this case the concentration of urine which contains 0.05-0.1% urea is suitable.

緒 言

著者は大槻教授と共に8年前より糸状菌及び放線状菌を自然物から分離培養し、それらと病原菌の間に起る拮抗現象を検し、進んで抗生物質の抽出を試みて来た。これらの研究に於て我々の出会つた困難の一つは、移植あるいは大量培養の際の大量播種に使用すべき原培養の微弱な菌糸体造成能と、同じく微弱な胞子造成能とであつた。この性質のために有望な抗生物質の産生が明かであるかにかかわらず、それ以上研究を進める事が不可能となることがしばしば起る。

ペニンリン生産菌の優良株にもこの困難があつたが、それにもましてしばしばは出会したのは放線状菌の培養に於けるそれであつた。なお分離初期に於ては強勢であり、菌糸体、孢子両造成能が大であるにもかかわらず、培地上に移植の代を重ねる中、徐々にあるいは急に弱勢となり、大量孢子採取を不可能にする事はもちろん時に次代の移植にも事欠くに至る場合がしばしばあつた。

これに対して、従来取られた方策は次の2つである。

1. 自然物、例えば土壌中に戻して強勢を図る。あるいは土壌中に貯えて弱性を阻止する。
2. 特定の化合物を添加して強勢化、あるいは孢子造成能促進を図る。

本報告に於ては、上記の2の場合に関し、主として放線状菌の孢子造成能に対するアミド化合物の作用に就いて行つた実験結果を述べる。

米粒その他穀粒をそのまま天然培地として使用して孢子造成促進を図る⁽¹⁾ことと共に、アミドを添加して同目的達成を図ることが行われている。即ち、升本⁽²⁾はアスパラギンを使用し、柳下・梅沢⁽³⁾もその事実を認めている。

著者等⁽⁴⁾は、尿素もまたアミドなる故、これがアスパラギンの代用をなし得べき事に想到し、尿素添加実験を行つて、同じ効果を認めた。同事実は後に秦等⁽⁵⁾によつても確められた。しかし、これ等の実験は簡単であつて、なお多数の実験の余地を残している。

本報告に於ける実験は次の3項に分たれる。

1. アスパラギン、尿素を窒素源とする培地に於ける放線状菌の孢子造成。これは *Streptomyces griseus* にはすでに試験したが、こゝでは他の菌株にも試験を及ぼした。
2. 放線状菌菌体の発育と孢子造成の関連。
3. アミドを含む自然物の添加による放線状菌の孢子造成。(a), 大豆もやし。(b), 人尿。

以下順次、実験方法、実施、及び結果について記述する。

実験方法

全実験を通じて培養は試験管内で行つた。試験管にそれぞれ 10cc の培地を分注し、冷却して斜面となし。これに同じく斜面培養より孢子を取つて接種し 30°C に 9~25日間培養した。観察は肉眼をもつて発育及び孢子造成に就いて行つた。発育・孢子造成の程度は次の記号で表わした。

- 卍 発育が最良で孢子造成が培地の全面に起る。
- 卍 良好。
- 卍 前者よりやゝ劣る。
- 卍 貧弱。
- 十 僅少。
- 一 全くなきもの。

実験は正確を期して、少くとも2回行い、観察は同一人が行つた。供試菌株は *Streptomyces griseus* B3 (ストレプトマイシン生産菌アメリカ株) 及び当研究室にて分離せる放線状菌である。F1001 号株はその中の Streptothricin 類似物質を産生する菌株で *Streptomyces aureus* Waksman and Curtius と同定されている⁽⁶⁾。F15, F18, F29, F30, F40 はすべて孢子造成能の微弱なもので、従来移植に困難を伴つた菌株である。

次に使用した基礎培地の種類とその組成を示す。pH はすべて 7.0 に修正する。

1. 麦芽培地：通常の方法で作製したもの。ただし麦芽粉は 3% とし、水に混じ糖化する。寒天は麦芽汁 1l に対して 15g を添加する。

2. Czapek-Dox 培地：

NaNO ₃	3g
K ₂ HPO ₄	1g
KCl	0.5g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.05g
葡萄糖	40g
寒天	20g
蒸溜水	1l

3. 改変 Brook-Wick 培地：

葡萄糖	10g
ポリペプトン	10g
NaCl	5g
K ₂ HPO ₄	1g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.5g
CaCO ₃	3.5g
寒天	20g
蒸溜水	1l

4. 葡萄糖—ブイオン培地：

葡萄糖	10g
極東肉エキス	10g
ポリペプトン	5g
NaCl	5g
寒天	20g
蒸溜水	1l

5. アスパラギン培地 (Krainsky 培地)：

アスパラギン	0.5g
K ₂ HPO ₄	0.5g
葡萄糖	10g
寒天	15g
蒸溜水	1l

6. 尿素培地：上記第 5 培地のアスパラギンの代りに同量の尿素を加える。

7. Waksman 合成培地：

澱粉	1g
K ₂ HPO ₄	1g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1g
NaCl	1g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2g
Na ₂ CO ₃	3g
寒天	15g
蒸溜水	1l

7. Waksman 天然培地：上記第 4 培地の牛肉エキスを 5g とせるもの。

実験 1. アスパラギン、尿素を窒素源とする培地に於ける胞子造成。

尿素を窒素源とする培地上に *Streptomyces griseus* を培養せる実験に就いてはすでに報じたが⁽⁴⁾、こゝでは更に F1001 号株に及ぼし、*Streptomyces griseus* に就いては、もう一度種々の培地を用いてこれを確めた。前記の如くして、普通の固体培地及びアミド添加固体培地を造り、F1001 号株及び *Streptomyces griseus* B3 を胞子接種した。

実験結果は第 1 表及び第 2 表に掲げる。

F1001 号株では放線状菌培養培地である改変 Brook-Wick、葡萄糖—ブイオン培地には発育はよいが胞子造成は極めて悪い。カビ用培地である Czapek-Dox 培地は胞子造成が佳良であつて、尿素培地はほぼこれに匹敵する。アスパラギン培地はやゝ良好で、麦芽培地が最良である。尿素培地に於ける含有尿素量 (0.1% と 0.05%) による差異はそれほど顕著にない。また全体を通じて、胞子造成の開始時期は区々である。麦芽培地では接種後 2 日目で起り 4 日目に白色から桃色に変わる。アミド添加培地はだいたい接種翌日より始まるが発育が悪く、胞子の量も以後はそれほど増さない。アスパラギン培地の方が尿素培地よ

第 1 表 各種培地及びアミド培地上の孢子造成 (F1001号)

培地種類	培養日数(日)							
	1	2	3	4	5	6	7	13
麦 芽 培 地	—	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
Czapek-Dox 培 地	—	+	++	++	++	++	++	++
改変 Brook-Wick 培地	—	+	+	+	+	+	+	+
葡萄糖・ブイヨン培地	—	+	+	+	++	++	++	++
尿素培地(尿素 0.1%)	+	+	++	++	++	++	++	++
尿素培地(尿素0.05%)	—	+	++	++	+++	+++	+++	+++
アスパラギン培地 (アスパラギン0.1%)	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
アスパラギン培地 (アスパラギン0.05%)	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++

第 2 表 アミド培地及びアミド添加培地上の孢子造成 (*Streptomyces griseus* B3)

培 地 種 類	培養日数(日)						
	2	3	4	5	7	10	25
麦 芽 培 地	—	—	—	+	+	++	++
アスパラギン培地 (アスパラギン 0.1%)	—	—	+	++	++	++	++
アスパラギン培地 (アスパラギン 0.05%)	—	—	—	+	+	+	++~++
尿 素 培 地 (尿素 0.1%)	—	+	+	++	++	++	++
尿 素 培 地 (尿素0.05%)	—	—	—	+	+	++~+++	+++~+++
麦 芽 培 地 (アスパラギン 0.1%添加)	—	—	—	+	+	++	++
麦 芽 培 地 (アスパラギン 0.05%添加)	—	—	—	+	+	+	++
麦 芽 培 地 (尿素 0.1%添加)	—	+	+	+++	+++	+++	+++
麦 芽 培 地 (尿素 0.05%添加)	—	—	—	—	—~+	—	—

り発育の点ではやゝまさる。

Streptomyces griseus B3 では、アミド培地と麦芽培地とに於ける孢子造成を比較すると、尿素量 0.1%の尿素培地と、尿素 0.1%添加麦芽培地に於いて、孢子造成が速かに起り、かつ最も多い。次はアスパラギン量 0.1%のアスパラギン培地が良好である。菌糸体造成は F1001 号株と同様に麦芽培地系統の方が良好である。

以上の結果を通観すると、アスパラギンに限らず尿素にも孢子造成作用の存する事がわかる。したがって、工業的な大量培養にはアスパラギンの如き高価な薬品の使用を避け、安価な尿素をもつて代えることが有利である。麦芽培地に尿素 0.1%を添加する事は孢子造成培地として有効な 1 処方例である。

実験 2. 放線状菌菌体の発育と孢子造成との関連。

高等植物の生殖作用は生活条件が不良となるときしばしば促進され、反対に生活条件が良好に過ぎると栄養体のみ充実し生殖作用が弱まる。同様の現象が放線状菌の孢子造成と

発育との間にも存在する事が予想される。

糸状菌等の培養に於ける我々の経験によれば、アスパラギン、尿素の如きアミドは窒素源となり得るが発育には良好なものではない。それよりもペプトン、肉エキスの如きアミノ酸の複合体とみるべきものの方がはるかに良好な窒素源である。しかし、孢子造成にはアミド化合物を用いる事が有利であつた。また他面、前記実験より明らかな如くある程度の栄養体造成が行われなければ孢子造成が始まらない。こゝに於いて、最も望ましいのは栄養条件が十分でしかも孢子造成の豊富な培地である。それ故、我々は栄養体造成のためにペプトンを加え、孢子造成のためにアミドを加えて両効果の現われる事を図つた。実験は次の如き培地を用いて行つた。

第3表 窒素源の組成

窒素源 培地種類	ペプトン	アスパラギン 或は尿素
1	1%	0
2	0.8%	0.02%
3	0.5%	0.05%
4	0.3%	0.07%
5	0	0.1%

培地組成: 葡 萄 糖 10g
 NaCl 5g
 MgSO₄ · 7H₂O 0.5g
 FeSO₄ · 7H₂O 0.01g
 窒素源 (第3表)
 寒 天 15g
 蒸 溜 水 1l

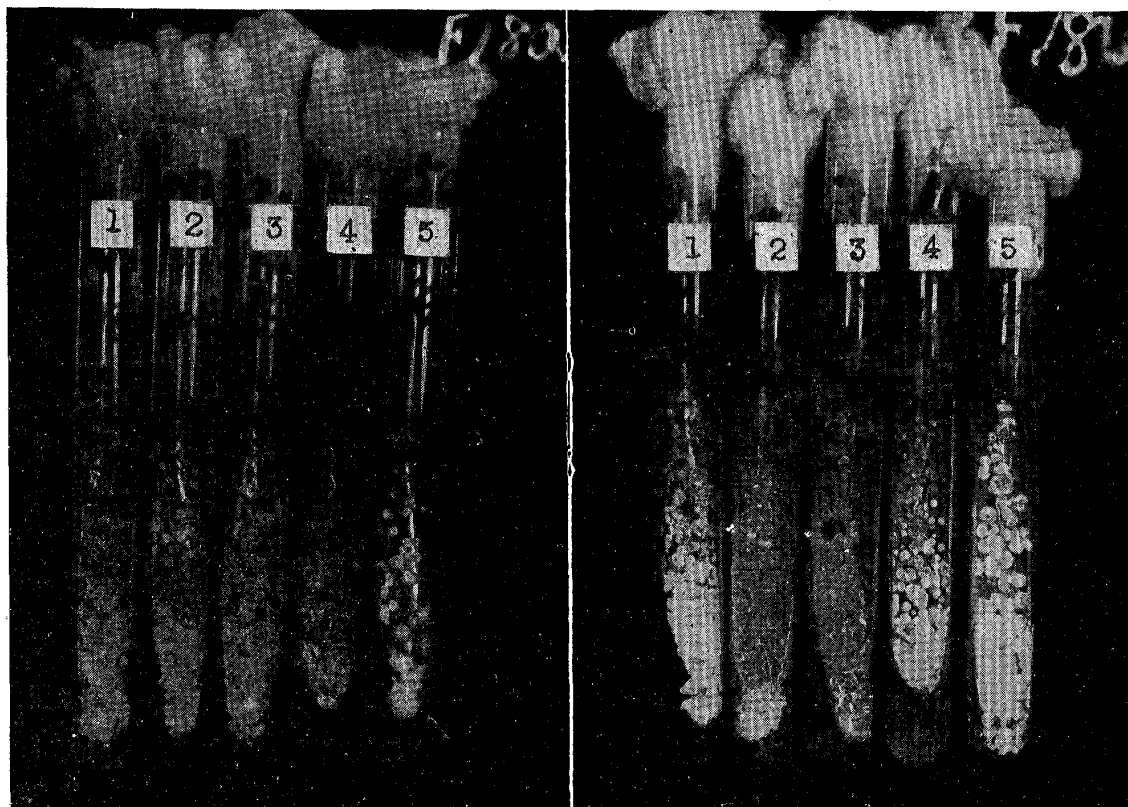
供試菌としては *Streptomyces griseus* B3 F1001, F10, F18, F29, F30, F41 の7種を選んだ。実験結果のうち主なるものを第1

図, 第4表に示す。

第1図 発育と孢子造成との関係を示す (F 18 号株)

ペプトン—アスパラギン

ペプトン—尿 素



第 4 表 菌糸体の発育と孢子造成

アミド	培養日数(日)		1		2		3		5		10		18		
	菌株	培地	発育・孢子造成		発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	
			発育	孢子造成											
ア ス パ ラ ギ ン	St.griseus B3	1	+	-	卅	-	卍	-	卍	-	卍	-	卍	-	
		2	+	-	卅	-	卍	-	卍	-	卍	-	卍	-	
		3	+	-	卅	-	卍	-	卍	-	卍	+	卍	+	
		4	+	-	卅	-	卍	+	卍	卅	卅	卅	卅	卍	卍
		5	+	-	+	+	卅	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	F 1001号株	1	卅	-	卅	-	卍	-	卍	+	卍	+	卍	卅	卅
		2	卅	-	卅	-	卍	-	卍	+	卍	+	卍	卅	卅
		3	卅	-	卅	-	卅	-	卅	+	卅	+	卅	卅	卅
		4	+	-	卅	-	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	卅	卍	卍
	F 18 号株	1	-	-	+	-	卍	-	卍	卅	卅	卍	卍	卍	卍
		2	-	-	+	-	卍	-	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		3	-	-	+	-	卍	-~+	卍	+	卍	+	卍	卍	卍
		4	-	-	+	+	卅	-	卅	+	卅	+	卅	卍	+
		5	-	-	+	-	+	-	+	卍	+	卍	+	卍	卍
尿 素	St.griseus B3	1	+	-	卅	-	卍~卍	-~+	卍	卅~卍	卍	卅~卍	卍	卅~卍	
		2	+	-	卅	-	卍~卍	-~+	卍	卅~卍	卍	卅~卍	卍	卅~卍	
		3	+	-	卅	-	卍~卍	-~+	卍	卅~卍	卍	卍	卍	卍	
		4	+	+	卅	卍	卍~卍	卍~卍	卍	卍~卍	卍	卍~卍	卍	卍	
		5	+	-~卅	卅~卍	卅~卍	卍~卍	卍	卍~卍	卍	卍~卍	卍	卍	卍	
	F 1001号株	1	卅	-	卍	-	卍	卅	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		2	卅	-	卍	-	卍	卅	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		3	卅	-	卅	-	卍	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		4	卅	-	卅	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		5	+	卅	卅	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	F 18 号株	1	-	-	+	-	卍	卅	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		2	-	-	+	-	卍	-	卍	+	卍	+	卍	卍	卍
		3	-	-	+	-	卍	-	卍	-	卍	-	卍	卍	-~+
		4	-	-	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
		5	-	-	-	-	+	+	+	卍	卍	卍	卍	卍	卍

第1図の如く、発育は培地1より培地5へうつるにしたがい、即ちペプトンの濃度の減少に伴つて衰える。孢子造成は培地1と培地5に於ては良好であり、その中間に於ては劣る。第4表からは次の結果が得られた。培地1(ペプトン1%)と培地2(ペプトン0.8%及びアミド0.02%)に於ては、発育は最も良好であつた。ペプトン量の減少は発育を悪からしめる。これに反して、孢子造成はペプトンを含まぬ培地(培地5)に於て最も豊富であり、ペプトン量の増加につれて減少する。この傾向は、アスパラギン、尿素を通じて同様に見られ、F18に於ては特につきり認められた。

以上の結果、予期の如く、栄養体の造成と孢子造成には相反する関係が存する。放線状

菌の如き下等植物にも高等植物の栄養と生殖との間の関係に類する事実がみられる。

実験 3. アミドを含む自然物の添加による孢子造成.

実験 1 及び 2 の結果から、我々はアミド添加が孢子造成を促進する等の結論を得た。次に我々はアミドを含む天然物をそのまま添加する事が孢子造成に如何なる結果を与えるかを知り、またこのような天然物の利用によつて孢子造成促進の目的を達し得れば、研究上幾多の利便を得る故、その条件を知ろうとした。天然物はアミド以外に種々な物質を夾雑し、菌の発育にも複雑な作用を与える。いちがいには、孢子造成を促進することは予期し難い点は予め考慮した。アスパラギンを含む天然物としては大豆もやしを使用した。大豆種子を水に浸して 1 日放置し、これを湿つた鋸屑中に播き、室温で 10~15 日間、28~30C° の定温器中では 3~8 日間おく。根が約 7cm に達した時に抜き取り、種皮を除き 3 種の浸出液を造る。もやし全体、子葉部分、胚軸幼根部分の 3 つにわけ、前 2 者は粉碎し、炭酸カルシウムを加え、高压釜で加熱 (15 ポンド, 15 分間) し、始め布で濾し、次に遠心沈澱し炭酸カルシウムを除き上層を浸出液として用いる。後者は粉碎後、等量の水を加えて濾過し加熱する。加熱後、遠心沈澱し上層を浸出液として用いる。浸出液の pH, 還元性, アスパラギン含有量を測定する。還元性は Bertrand の法により還元糖量に換算して示し、アスパラギン含有量は Kjeldahl の法によりアムモニヤ態窒素とし、これから算定する。結果を第 5 表に示す。

第 5 表 大豆もやし浸出液中のアスパラギン量

浸 出 液		浸 出 部 分				
		もやし全体	子葉	胚軸・幼根		
a	pH	5.6				
	* 還元性 %					
	アスパラギン量 g				0.44	
b	pH	5.6	5.6	6.0		
	* 還元性 %				0.52	0.79
	アスパラギン量 g				0.88	3.52
c	pH	5.4	5.4	6.0		
	* 還元性 %				0	0.48
	アスパラギン量 g				0.36	0.39

* 葡萄糖量にしてあらはす

なお使用に際してはアスパラギン含有量を 0.05%~0.1% に稀釈する。

また尿素を含む天然物としては人尿を使用した。用いた人尿は成人男子のもので、尿素含有量はウレアーゼを用い尿素を炭酸アムモニウムに化せしめ、アルカリを加えて遊離したアムモニヤを Folin の法により測定し、これより尿素量に換算する。ウレアーゼは市販の黒大豆より製したものをを用いた。使用した人尿中の尿素は、それぞれ 0.67%, 0.75%, 1.45% であつた。実験に際しては 0.05%~0.1% に稀釈して用いる。

(a) 大豆もやし浸出液の使用結果を次に述べる。F1001 号株に於ける培地組成及び孢子造成の結果を第 6, 7 表に示す。

第 6 表の如く、孢子造成はアスパラギンを添加した麦芽培地に於て最良であり、麦芽培地がこれに次いだ。第 3 位は尿素・アスパラギン培地であり、予期に反して、大豆もやし

第6表 大豆もやし浸出液培地上の孢子造成(1) (F1001号株)

培地種類	培養日数(日)					
	1	2	3	4	16	12
麦芽培地	—	卅	卅	卅	卅	卅
麦芽培地 (アスパラギン 0.1%添加)	—	卅	卅	卅	卅	卅
麦芽培地 (アスパラギン0.05%添加)	—	卅	卅	卅	卅	卅
尿素培地 (尿素 0.1%)	—	卅	卅	卅	卅	卅
尿素培地 (尿素 0.05%)	—	+	+	卅	卅	卅
アスパラギン培地 (アスパラギン 0.1%)	—	卅	卅	卅	卅	卅
アスパラギン培地 (アスパラギン0.05%)	—	卅	卅	卅	卅	卅
*大豆もやし浸出液培地 (アスパラギン 0.1%含有)	—	—~+	+	+	+	卅
*大豆もやし浸出液培地 (アスパラギン0.05%含有)	—	—	—	+~±	+	+
†大豆もやし浸出液培地 (アスパラギン 0.1%含有)	—	+	+	+	+	+
†大豆もやし浸出液培地 (アスパラギン0.05%含有)	—	+	+	+	+	+

* 浸出液そのままを使用, †浸出液は煮沸濾過後使用. なお浸出液は第5表(a)を使用

第7表 大豆もやし浸出液培地上の孢子造成(2) (F1001号株)

培地種類	培養日数(日)				
	1	2	3	5	10
麦芽培地	卅	卅	卅	卅	卅
麦芽培地 (アスパラギン 0.1%添加)	+	卅	卅	卅	卅
麦芽培地 (アスパラギン0.05%添加)	卅	卅	卅	卅	卅
*大豆もやし全体浸出液培地 (アスパラギン 0.1%含有)	—	—~+	+	+	+
*大豆もやし全体浸出液培地 (アスパラギン0.05%含有)	—	—~+	+	+	卅
*同上 (煮沸濾過せるもの) (アスパラギン 0.1%含有)	—	—~+	—~+	—~+	+
*同上 (" ") (アスパラギン0.05%含有)	—	—~+	—~+	—~+	+
†胚軸・幼根浸出液培地 (蔗糖添加アスパラギン 0.1%含有)	—	卅	卅	卅	卅
†同上 (蔗糖添加アスパラギン0.05%含有)	—	—~+	卅	卅	卅
†子葉浸出液培地 (蔗糖添加アスパラギン 0.1%含有)	—	卅	卅	卅	卅
†同上 (蔗糖添加アスパラギン0.05%含有)	—	卅	卅	卅	卅

* 第5表浸出(a)液を使用. †同(b)を使用.

浸出液培地に於いては発育が非常に悪く, その結果として孢子造成も僅少であつた. これは使用した浸出液中にほとんど炭素源がないためである事がわかつたので(還元性ほとんどなし)これを補うために, 蔗糖を3%に達するまで添加して再び実験を行つた(第7表).

今回は糖添加浸出液培地に於ける発育は麦芽培地のそれに匹敵した。糖を添加せぬ浸出液培地に於いては前回と同様発育不良であつた。孢子造成は麦芽培地及びアスパラギン添加麦芽培地に於いて顕著であり、糖を添加せる子葉浸出液培地がこれについて良好である。3位は糖を添加せる胚軸・幼根浸出液培地であり、糖を含まない浸出液培地は最下位となつた。

以上、2回にわたる実験結果により、F1001号株の場合は、孢子造成に対しては麦芽培地系統が最良であるが、糖を添加して炭素源の必要量を満せば、もやし浸出液を培地に用いる事が有利である事が判つた。

Streptomyces griseus B3 を用いた同様の実験の結果を第8表に示す。

第8表 大豆もやし浸出液培地上の孢子造成 (*Streptomyces griseus* B3)

培養日数(日)	培養日数(日)							
	1	2	4	6	7	8	10	
培地種類								
麦芽培地	—	+	+	+	+	+	+	+
麦芽培地(アスパラギン 0.1%添加)	—	+	+	+	+	+	+	+
麦芽培地(アスパラギン0.05%添加)	—	+	+	+	+	+	+	+
*大豆もやし全体浸出液培地(蔗糖添加・アスパラギン0.1%含有)	+	+	+	+	+	+	+	+
*同 上 (蔗糖添加・アスパラギン0.01%含有)	—	+	+	+	+	+	+	+
*胚軸・幼根浸出液培地(蔗糖添加・アスパラギン 0.01%含有)	—	+	+	+	+	+	+	+
*同 上 (蔗糖添加・アスパラギン0.01%含有)	—	+	+	+	+	+	+	+
*子葉浸出液培地(蔗糖添加・アスパラギン 0.1%含有)	+	+	+	+	+	+	+	+
*同 上 (蔗糖添加・アスパラギン0.05%含有)	—	+	+	+	+	+	+	+

* 第5表浸出液(C)を使用。

第8表に示された如く、孢子造成に就いては、子葉浸出液培地(0.1%アスパラギン含有)が、もやし全体浸出液培地(0.1%アスパラギン含有)と共に最良である。次に胚軸・幼根浸出液培地(0.1%アスパラギン含有)が良く、残りの3種の浸出液培地(0.1%アスパラギン含有)がこれにつゞき、麦芽培地は最下位となつた。菌糸体の発育に就いては浸出液培地はすべて好適であり他の麦芽培地系統に優つていた。

(b) 次に人尿使用の結果をのべる。

供試菌は *Streptomyces griseus* B3, 培地組成及び、菌体発育、孢子造成に就いては第9表に示す。

第9表より次の結果を得た。即ち、Czapek-Dox 培地と、尿素を含有する同培地に於いては発育は悪く、したがつて孢子造成も思わしくない。これに反して、Czapek-Dox 培地に人尿を配すれば発育、孢子造成は共に良好となる。最高孢子造成は培養後3日にして得られた。次に葡萄糖1%を含む培地系統に於いては、発育、孢子造成共に Czapek-Dox 培地系統に優つた。尿素、人尿の他に更に K_2HPO_4 を 0.05% を加える時は、最も良い結果が得られた。人尿の添加はこのように良い結果をもたらしたが、培養初期に於いては胞

第 9 表 人尿培地上の発育と胞子造成 (*Streptomyces griseus* B3)

培地種類	培養日数(日)		2		3		5		7		9	
	発育	胞子造成	発育	胞子造成	発育	胞子造成	発育	胞子造成	発育	胞子造成	発育	胞子造成
1 Czapek-Dox 培地	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
2 尿素 0.1% 添加培地	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
3 尿素 0.05% 添加培地	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
4 人尿 (0.1% 尿素含有) 添加培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 人尿 (0.05% 尿素含有) 添加培地	+	+	++~+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 葡萄糖・尿素(0.1%)培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7 葡萄糖・尿素(0.05%)培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8 K ₂ HPO ₄ 添加 6 培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9 K ₂ HPO ₄ 添加 7 培地	+	+	+	+	++~+	+	+	+	+	+	+	+
10 葡萄糖・人尿 (0.1% 尿素含有)・K ₂ HOP ₄ 添加培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11 葡萄糖・人尿 (0.05% 尿素含有)・K ₂ HOP ₄ 添加培地	+	+	+	+	+	++~+	+	+	+	+	+	+
12 蔗糖・尿素 (0.1%) 培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13 蔗糖・尿素 (0.05%) 培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14 K ₂ HOP ₄ 添加 12 培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15 K ₂ HOP ₄ 添加 13 培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16 蔗糖・人尿 (0.1% 尿素含有) 培地	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17 蔗糖・人尿 (0.05% 尿素含有) 培地	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+
18 K ₂ HOP ₄ 添加 16 培地	+	+	++~+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19 K ₂ HOP ₄ 添加 17 培地	+	+	+	+	++~+	++~+	+	+	+	+	+	+

2~5: Czapek-Dox 培地に更に尿素・人尿を添加せる培地

6~11: 葡萄糖は 1% とする

12~19: 蔗糖は 3% とする

子造成は幾分貧弱であつた。葡萄糖のかはりに蔗糖 3% を用いた 8 種の培地に於いては、K₂HPO₄, 0.05% の添加が充分な発育と胞子造成に対して必要であつた。

以上、3 系統の培地を通じて、人尿を尿素的の代用として用いる事の可能性が証明された。なお、人尿は発育をむしろ阻害するといわれているので、次の実験を試みた。

ストレプトマイシン産生菌の培養には、Waksman 合成培地、同天然培地が推奨されているので、これ等を Czapek-Dox 培地と共に用い、これに人尿、尿素を添加して、人尿の阻害作用を試験した。

培地組成及び実験結果を第 10 表に示す。

第 10 表より明らかな如く、3 系統の培地間に於ける発育には相当の開きがみられるが

第 10 表 人尿培地上の発育と孢子造成 (*Streptomyces griseus* B3)

培地種類	培養日数(日)		1		2		3		6		8		12		16	
	発育・孢子造成	発育・孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成	発育	孢子造成
1 Czapek-Dox 培地	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
2 尿素 0.1% 添加培地	-~+	-	+~+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 尿素 0.05% 添加培地	-~+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 人尿 (0.1% 尿素含有) 添加培地	-~+	-	+	-~+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 人尿 (0.05% 尿素含有) 添加培地	-~+	-	+	-~+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 Waksman 合成培地	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
7 尿素 0.1% 添加培地	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
8 尿素 0.05% 添加培地	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
9 人尿 (0.5% 尿素含有) 添加培地	-	-	-~+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 人尿 (0.05% 尿素含有) 添加培地	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11 Waksman 天然培地	+	-	+++~++++	++++	++++	++++	++++	++++	以下すべて3日に同じ							
12 尿素 0.1% 添加培地	+~+	+~+	+++	+++	+++	+++	+++									
13 尿素 0.05% 添加培地	+	+	+++	+++	+++	+++	+++									
14 人尿 (0.1% 尿素含有) 添加培地	+	+~+	+++	+++~++++	++++	++++	++++									
15 人尿 (0.05% 尿素含有) 添加培地	+~+	+~+	+++~++++	+++~++++	++++	++++	++++									

1~5: Czapek-Dox 培地及びその改変培地 6~10: Waksman 培地及びその改変培地
 11~15: Waksman 天然培地及びその改変培地

各系統に於いては、人尿を添加した場合は、対照としてのアミドを含まぬ培地よりも発育孢子造成共に良好である。したがって、人尿はこの程度に稀釋して使用すれば阻害作用はみられない事がわかった。

この研究の当初より問題の提示と変らぬ御指導と激励を賜つた本学教授大槻虎男博士に深甚なる感謝を捧げる。

文 献

- (1) 大槻虎男・今井百里江子: 1947 ペニシリン 1 (6): 342-347.
- (2) 升本修三: 1943 広島文理科大学理科紀要, 5 (5): 97-15.
- (3) 柳下弘毅・梅沢濱夫: 1948 J. Antibiotics, 3 (B): 10-15.
- (4) 大槻虎男・今井百里江子: 1951 J. Antibiotics, 4 (10): 636-640.
- (5) 秦 藤樹・松前昭広, 大木夏男: 1952 J. Antibiotics, 5 (11): 615-621.
- (6) 大槻虎男・今井百里江子: 1952 お茶の水女子大学自然科学報告, 3; 79-92.

(Received Oct. 15, 1953)