

109.

余のゲラチナーゼ證明方法
フォルモゲラチンメトードに就て

山中 太木

ゲラチンが約 25°C 内外に於て液化し、血温に於て固形を保ち得ざること、培養基に製する上にも、また酵素研究の上にも不便である。なかにもゲラチン消化酵素產生の有無判定に當つては、22°C に於て長期間培養觀察するか、あるひは 37°C に培養後、冷蔵庫に入れ乃至起寒劑中に入れ、容易に凝固するや否やを檢し、對照ゲラチンとの間の差違を以て判定するか、いづれにしても完全な方法と稱することはできない。幸に Sørensen¹⁾ のこれに關する考案があり、即ち血温培養液化ゲラチンにフォルマリンを添加し、その凝固性の失却を以てペプトン消化の證明とすと言ふに於て、質地應用上大なる利便を齎したものと云ひ得る。

余の創意になるアルブミノイドたるゲラチンのフォルモアルデヒード凝固性を利用する手段は、あたかも Sørensen の考案と軌を一にするに拘らず、これが方法に於て全く對蹠的關係にあることを述べたい。即ち Sørensen が消化後の判定にフォルマリンを利用しゐるに反し、余は凝固後の消化現象を檢せんとするものである。

由來フォルマリンが酵素を障碍することは克く知られてゐるが、余の實驗上細菌ゲラチナーゼは 5% フォルマリン水中に於て、37°C、2 時間、3% フォルマリン水中に於て同じく 37°C、24 時間に互つて大なる影響を蒙らない。従つて余のフォルモゲラチン製出に要する微量フォルマリンの作用の如きは問題とするにたらない。余のフォルモゲラチン製出方法はつぎの如きものである。

まづ滅菌中試験管に 10 倍稀釋フォルマリン水(局方) 0.1 cc (ca 4 gtt) を採り、5% ゲラチン(加熱溶融、國光印ゲラチンを用ふるをよしとする) 水溶液 5 cc を冷却せぬ内に急ぎ注加し、泡沫の生じないやうにして注意

1) Sorensen, S.: *Biochem. Zeitschr.* 7, 45, 1908.

して混じ、直ちに高層に、あるひは斜面にあるひは、平板に作つて數時間靜置する。これは時を経るに従ひ漸次凝固し、弾力性の大きい澄明な培養基を手にすることができる。これが余のフォルモゲラチン培養基である。

この gel 化は一定度まで時間の経過と共に増強し、また混和時温度高き程よく行はれ、さらに一定度まで pH 値の増加に従つて強化する傾向がある。例へば pH 2.0 乃至 5.0 以下では上記處方量を以てしては血温固形性を保持し得ない。この場合は大量のフォルマリンとゲラチン量とを必要とする。依つて余は苛性ソーダ液を用ゐてゲラチン水溶液の pH を 7.0 乃至 8.0 に修正して製し、一夜放置して翌日供試してゐる。

フォルモゲラチンには凡ゆる細菌の發育を來さない。従つて特に滅菌の必要を見ない。これに反し酵素液乃至酵素包含物、例へば菌體などをこの高層、斜面、平板面などに塗抹し、37°C 乃至 50°C に於て觀察すれば、數分乃至數時間で明瞭な消化作用の出現を看取し得る。その間各種要約を考慮し、物理的作用、化學的作用の及ぼす影響を數學的に檢知することができる。かくて定性的試験も、定量的試験もフォルモゲラチン液化量または消化殘存量の測定によつて容易に正確に檢定し得る。

ゲラチンの化學構造が不明な現在に於て、フォルモゲラチンとゲラチンとの化學的本態から見て、フォルモゲラチン液化酵素を以て直ちにゲラチナーゼと同視することを得ないが、一般ゲラチナーゼ産生菌である脾脱疽菌、馬鈴薯菌、枯草菌、根狀菌、綠膿菌、靈菌、コレラ菌、水弧菌、腸詰毒菌、鳴疽菌、悪性水腫菌、ウェルヒ菌、葡萄狀球菌の一部に於て、いづれも著明な消化現象を確認すると共に、牛流産菌、マルタ熱菌、豚流産菌、ペスト菌、豚敗血症菌、兔敗血症菌、馬敗血症菌、馬鼻疽菌、肺炎桿菌、チフス菌、バラチフス A 及び B 菌、豚コレラ菌、ゲルトネル菌、鼠チフス菌、デフテリー菌、四聯球菌、八聯球菌、腸球菌等に於ては、いづれも全然消化酵素の存在を否定し得たので、これが本態をゲラチナーゼとして考慮して謬りなしと思惟する。

由來細菌のゲラチン液化進行の型式に於て Crateriform, Napiform, Infundibuliform, Saccateform, Stratiform などを區別した性状の價値は全然否定し得ずとするも、これは酵素學的本態に立脚した型式といふよりも、寧ろ細菌發育傾向過程の隨伴的表現型式と見做すべきものと思ふ。ゲラチナーゼの有無判定こそ重要視すべきものである。そして脾脱疽菌、馬鈴薯菌などに於てそれぞれ細かい菌型別相違でゲラチナーゼ

の差違が著しい事實、あるひはコレラ菌に就て本酵素の培養時間的消長の動搖が甚しい所見などこそ、從來の消化型式と對比して興味ある問題である。

なほ供試後殘存するフォルモゲラチンの洗滌は困難であり、滅菌目的で加熱すれば愈々固化凝縮するの不利がある。これには1-2%以上の濃厚苛性カリ液を注加浸漬して加温し凝結を防ぐ用意を必要とする。

最後に余のフォルモゲラチンメトードはゲラチナーゼ證明方法として簡易、正確、迅速、加ふるに經濟的にも推奨するにたる。就中、由來最も困難とせられたゲラチンを以てする高温環境にあつて液化状態を明瞭に看取し得るの利を高調し、酵素作用研究領域に於ける未知の事實の把握手段として本方法の普及を期待するものである。

[詳細は大阪高等醫學專門學校雜誌に於て發表する]

(受附：昭和17年4月8日)