

2種細菌の代謝に於ける相互作用に就て

第 1 編

呼 吸 に 於 け る 相 互 作 用

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上 教授)
岡山大学医学部歯科学教室 (指導: 前今川教授)
岡山大学医学部歯科学教室 (指導: 渡辺教授)

横 原 兼 久

〔昭和 32 年 3 月 25 日受稿〕

目 次

緒 言	
第 1 章 実験材料及び実験方法	
第 2 章 実験成績	
第 1 節 各種基質に於ける呼吸に就いて	
1) 酸素消費	
2) RQ	
第 2 節 呼吸に及ぼす阻害剤の影響に就いて	
	1) 各種阻害剤の酸素消費に及ぼす影響
	2) 阻害剤 NaN_3 を用いた場合 RQ に及ぼす影響
	第 3 章 総括及び考按
	結 論
	文 献

緒 言

我々が日常屢々臨床上遭遇する処の混合感染及び二次感染に於て種々なる経過をたどる事は、病原細菌の相互作用による病原力の減少或は増大によつて大きく支配されるであろう事は想像される。

培養基上に於ける細菌の相互作用に就ては、古くより研究され其の報告も数多く見られる。

拮抗作用に於ては、大腸菌とエロゲーネス菌に就て Winslow and Kohen (1918 b)¹⁾、大腸菌と赤痢菌に就て Stickelbroch (1929)²⁾、朴 (1935)³⁾、Frederich and Levine (1947)⁴⁾、大腸菌と炭素菌に就て Gundel and Kliewe (1932)⁵⁾、Isabolinski and Sobolewa (1934)⁶⁾、大腸菌、葡萄球菌と *Leishmania donovani* に就て篠川 (1941)⁷⁾、エロゲーネス菌と炭素菌に就て Gundel (1927)⁸⁾、エロゲーネス菌とチフス菌に就て Iwanovics (1931)⁹⁾、Wynne and Williams (1945)¹⁰⁾、エロゲーネス菌と乳酸桿菌及び黄色葡萄球菌に就て Whiti and

Hill (1949)¹¹⁾、下水菌と乳酸桿菌、大腸菌、黄色葡萄球菌に就て片山 (1954)¹²⁾、溶連菌及び緑連菌とチフテリア菌に就て Besta and Kuhn (1934)¹³⁾、Weighman and Holz (1940)¹⁴⁾、Thompson (1946)¹⁵⁾、園山 (1951)¹⁶⁾、堀田 (1951)¹⁷⁾等の報告がある。

次で協力作用に於ては Speakman and Phillips (1924)¹⁸⁾ は乳酸生成に就て、細菌の共生に於ける興味ある例を見出した。Holman and Meekison (1926)¹⁹⁾ は葡萄球菌並びに連鎖球菌と腸内細菌を用い、単独ではなし得ない解糖瓦斯発生を混合培養では可能なる事を示した。又 Burrows (1942)²⁰⁾ も種々の細菌を用いこの現象を説明し、混合感染に於ける病原細菌の菌力の変化は他の細菌の共生により変化する事を述べている。更に Lipman and Teakle (1925)²¹⁾ もクロレラ及びアゾトバクターの共生に就て述べ、又豆科植物に於ても古くより共生的窒素固定に関する報告があるが、物質代謝の面より見たる相互作用に関する報告は甚だ少いので私は大腸菌、

エロゲーネス菌，並に葡萄球菌を用い代謝に於ける相互作用を追究するために，先づ手掛りとして呼吸の測定を行つた所見るべき実験成績を得たので茲に報告する。

第1章 実験材料及び実験方法

供試菌： 教室保存の大腸菌 (communis)，エロゲーネス菌，白色葡萄球菌，黄色葡萄球菌の普通寒天平板培地に 37°C 18時間培養し，集菌した後 M/50 磷酸緩衝液 (pH 7.2, 0.85%食塩加) で 2回遠心洗滌し，同緩衝液に浮游させ大腸菌及びエロゲーネス菌は全量 10 mg，白色及び黄色葡萄球菌は全量 30 mg の濃度のものを供試静止菌とした。

基質： glucose, pyruvate, acetate, formate を用い終末濃度 1/100 Mになる様 1/50 M 磷酸緩衝液にて溶解し，酸性のものは NaOH で pH の修正を行つた。

阻害剤： KCN 10⁻³M, NaN₃ 10⁻²M, DNP 10⁻³M になる様に蒸留水にて溶解し用いた。呼吸の測定には Warburg 検圧計を用い，Umbreit²²⁾ の手技に従い測定した。即ち前記菌液 2 cc，基質 0.25 cc，阻害剤 0.25 cc を用い，全量が 3.0 cc となる様蒸留水で補正して実験した。酸素消費量の測定に際しては常に endogenous respiration を測定し，この値を差引いた値を測定値とした。

測定温度 37.5°C，測定時間 60分，pH 7.2，マノメーター並に容器気相は空気，毎分約80回の水平振盪を与え呼吸量を測定した。尚菌量は常にブルフリッヒ比色計を使用して一定とし，毎回実験に於ける菌量による実験誤差を防ぐ様につとめた。

第2章 実験成績

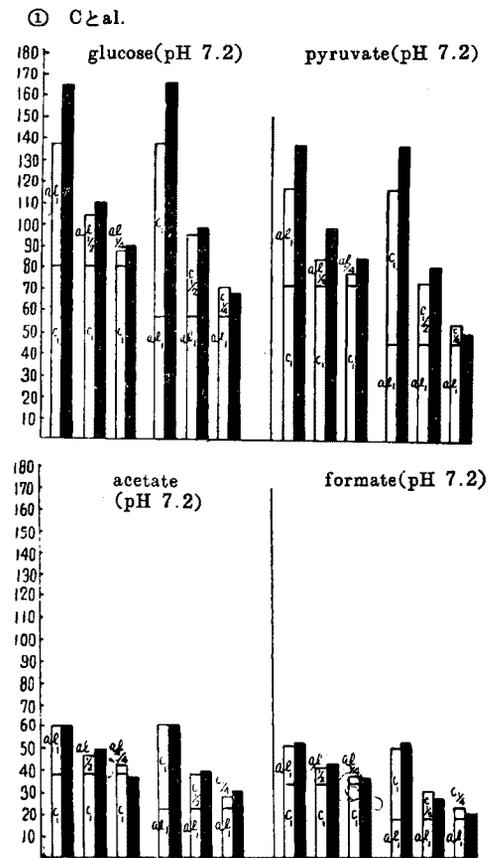
第1節 各種基質に於ける呼吸に就て

1) 酸素消費： 基質に glucose, pyruvate, acetate, formate を用い酸素消費を測定し，各菌の相互作用を追究した。その成績は第1図に示す通りである。

菌液……2.0 ml { C₁ A₁ 10 mg { C₁/2 A₁/2 左
 { a₁ a₁ 30 mg { a₁/2 a₁/2 更
 記濃度の 2 倍稀釈したもの { C₁/4 A₁/4 更に 2
 { a₁/4 a₁/4 倍稀釈したもの
 基質……glucose, pyruvate, acetate, formate.
 各々 0.25 ml 終濃度 M/300
 磷酸緩衝液 0.75 ml を加え全量 3.0 ml とする
 37.5°C, 1 hr., pH 7.2

□ 各菌单独の場合に於ける酸素消費量 (μl)
 ■ 両菌を同時に作用させた場合に於ける酸素消費量 (μl)

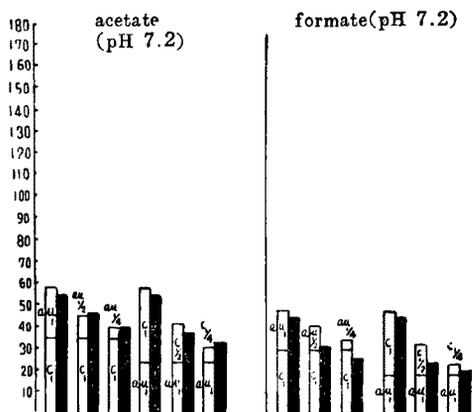
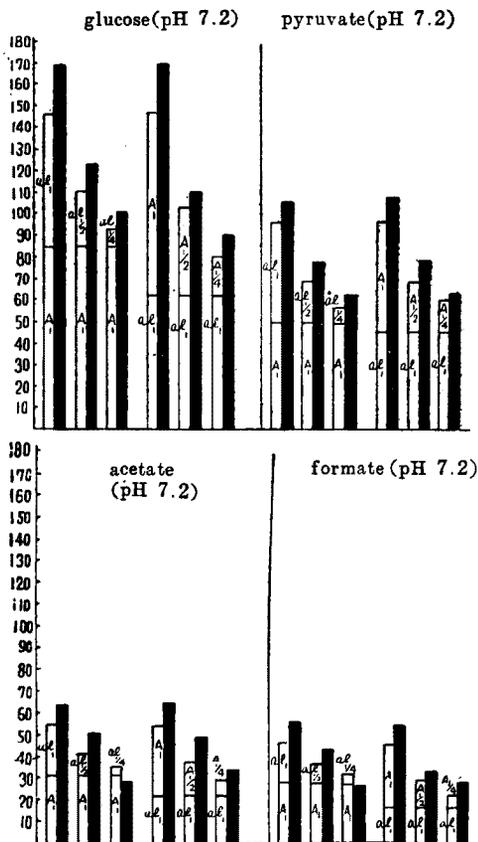
第 1 図



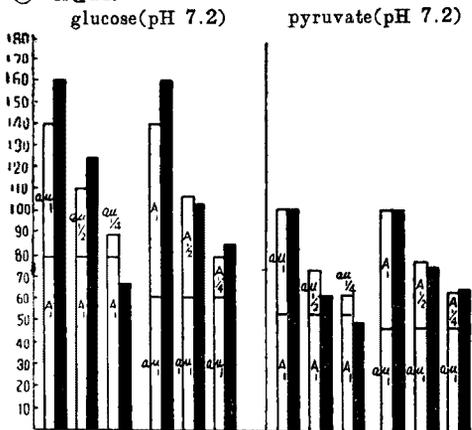
① C と a₁ の組合せに於て，基質 glucose, pyruvate では C₁ 及び a₁ を同時に作用させた場合は，各菌单独の酸素消費量を相加した場合より 28~20 μl の増加を示したが，何れか一方の静止菌液の濃度を稀釈した場合は，両者の差は殆んど認められなかつた。基質 acetate, formate では酸素消費量も非常に少なく両者の差も認められなかつた。

② A と a₁ の組合せに於ても略々前者と同様な傾向を示すも、基質 glucose の場合のみ酸素消費量も多く A₁ 及び a₁ を同時に作用させた場合は、各菌単独の酸素消費量を相加した場合より約 22 μl の増加を示し、基質 pyruvate, acetate, formate では見るべき

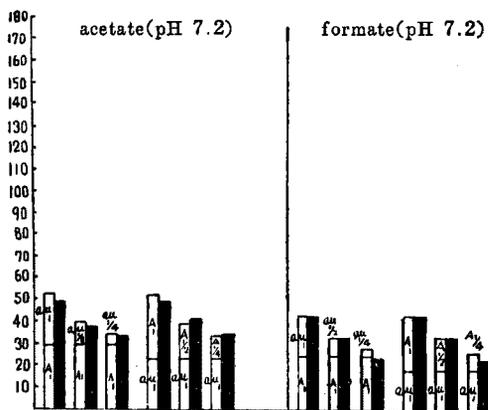
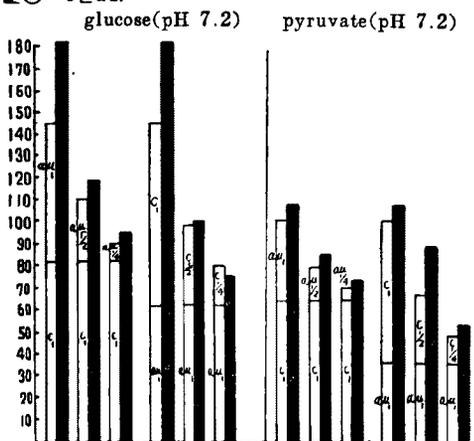
② A と a₁.



④ A と a_u.



③ C と a_u.



結果を得なかつた。

③ C と a_u の組合せに於ては、基質 glucose の場合のみ C₁ 及び a_u を同時に作用させた場合は、各菌単独の酸素消費量を相加した場合より約 38 μl の増加を示した。基質 pyruvate では酸素消費は稍々低下し acetate, formate では更に低下を示し、各菌単独の場合も両菌を同時に作用させた場合もその差は

殆んど認められなかつた

④ A と au の組合せに於ても前者と同様の傾向を示し, A₁ 及び au₁ を同時に作用させた場合は, 各菌単独の酸素消費量を相加した場合より約 20 μ l の増加を示した.

2) RQ: O₂-消費の実験に於て, 基質 glucose の場合が最も大きくかつ各菌によ

る相互作用のある事が解つたので, glucose を基質とし Warburg の直接法により RQ を測定すると同時に pyruvate, acetoin の定量を夫々 Freedman-Haugen²³⁾ 並びに Westerfeld²⁴⁾ の方法に従い行つた. その成績は第 1 表に示す通りである.

第 1 表

	O ₂ -uptake (μ M)	CO ₂ -evolute (μ M)	RQ	acetoin-produced
C	3.6	2.6	0.7	+
al	2.5	1.1	0.4	-
C·al	7.4	6.5	0.9	##

	O ₂ -uptake (μ M)	CO ₂ -evolute (μ M)	RQ	acetoin-produced
A	3.7	2.0	0.5	+
al	2.8	1.2	0.4	-
A·al	7.5	6.1	0.8	##

	O ₂ -uptake (μ M)	CO ₂ -evolute (μ M)	RQ	acetoin-produced
C	3.8	2.4	0.6	+
au	3.0	3.0	1.0	##
C·au	8.4	6.6	0.8	+

	O ₂ -uptake (μ M)	CO ₂ -evolute (μ M)	RQ	acetoin-produced
A	3.5	2.2	0.6	+
au	2.7	2.7	1.1	##
A·au	7.9	7.8	1.0	##

菌液……………2.0 ml (湿菌量 C, A 10 mg
 al, au 30 mg)
 基質……………0.25 ml (glucose 終濃度 M/300)
 磷酸緩衝液 0.75 ml を加え全量 3.0ml とする.
 37.5°C, 1 hr. pH 7.2.

C と al に於ける RQ は各菌単独の場合に比し, 両菌を同時に作用させた場合にはより上昇が見られ, acetoin の生成も同様の傾向が認められた. なお pyruvate の生成は何れの場合にも認められなかつた.

A と al に於ては RQ, acetoin 及び pyruvate の生成に於ても, 前者の場合と同様の傾向が認められた.

C と au に於ける RQ は両菌を同時に作用させた場合稍々低下の傾向を示し, acetoin 及び pyruvate の生成に於ても, au 単独の場合より減少が認められた.

A と au に於ては RQ 及び acetoin, pyruvate 生成に於ても両菌に於ける相互作用は認められなかつた.

第 2 節 呼吸に及ぼす阻害剤の影響

1) 各種阻害剤の酸素消費に及ぼす影響

基質に glucose を用いた場合 C と al, A と al, C と au の各組合せに於て, RQ 及び acetoin 生成の上に相互作用が認められたので, 阻害剤: KCN, DNP, NaN₃ の添加が呼吸に及ぼす影響を実験した. その成績は第 2 表に示す通りである.

阻害剤 KCN を用いた場合単独では酸素消

第 2 表

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	KCN
C	3.6	1.2
al	2.5	2.2
C·al	7.4	3.3

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	KCN
C	3.8	1.2
au	2.2	3.7
C·au	8.4	5.0

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	NaN ₃
C	3.7	5.0
al	2.5	3.3
C·al	7.8	9.6

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	NaN ₃
C	3.7	5.7
au	2.3	1.9
C·au	7.9	7.8

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	DNP
C	3.8	4.3
al	2.5	3.1
C·al	7.6	8.7

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	DNP
C	3.8	4.7
au	2.3	1.8
C·au	7.2	7.1

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	KCN
A	3.7	1.0
al	2.5	2.4
A·al	7.5	3.4

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	KCN
A	3.5	1.0
au	2.2	3.7
A·au	7.9	4.6

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	NaN ₃
A	3.5	5.0
al	2.8	3.5
A·al	7.5	9.4

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	NaN ₃
A	3.6	6.4
au	2.2	1.6
A·au	7.8	8.0

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	DNP
A	3.8	4.8
al	2.6	3.4
A·al	7.6	8.6

	O ₂ -Consump. (μ M)	
	CONTROL	DNP
A	3.6	4.9
au	2.4	1.9
A·au	7.9	7.4

菌液……………2.0 ml (湿菌量^{C, A} 10 mg
^{al, au} 30 mg)
 基質……………0.25 ml (glucose 終濃度 M/300)
 阻害剤……………0.25 ml (KCN, DNP ……終濃度 10⁻³M)
 (NaN₃ ……終濃度 10⁻²M)
 磷酸緩衝液 0.75ml を加え全量 3.0ml とする。
 37.5°C, 1 hr. pH 7.2.

費はC, Aに於て高度に抑制され対照の略々 $\frac{1}{3}$ の数値を示したが, alは殆んど影響なく, auは寧ろ促進される傾向にある。各組合せに於て両菌を同時に作用させた場合は, 酸素消費量は対照の略々 $\frac{1}{2}$ となり各菌単独に於ける酸素消費量を相加したものに略々等しく, 全く相互作用は認められなかつた。

阻害剤 NaN_3 を用いた場合酸素消費はC, Aに於ては KCN の場合と異り促進され, 対照より2~2.5 μM の増加を示し al も稍々促進の傾向にあり, au は稍々抑制の傾向にあつた。阻害剤と共に両菌を同時に作用さ

せた場合は, Cとalに於ては酸素消費は対照より1.8 M促進され, 又各菌単独に於ける酸素消費量を相加したものより1.3Mの促進を示している。Aとalに於ても前者と略々同様の傾向が認められるも, Cとau並びにAとauでは, 両菌を同時に作用させた場合対照よりは稍々酸素消費は促進されるが, 各菌単独に於ける酸素消費量を相加したものと略々等しく, 相互作用は認められなかつた。

阻害剤 DNP を用いた場合その結果は略々 NaN_3 の場合と同様な傾向を示すが, 前者より稍々作用が弱い様であつた。

第 3 表

	CONTROL			NaN_3		
	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ
C	3.5	2.6	0.7	5.0	3.3	0.7
al	2.5	1.1	0.4	3.3	1.6	0.5
C·al	7.4	6.5	0.9	9.6	8.5	0.8

	CONTROL			NaN_3		
	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ
A	3.7	2.0	0.5	4.9	2.4	0.5
al	2.8	1.2	0.4	3.6	1.6	0.4
A·al	7.5	6.1	0.8	9.3	6.3	0.7

	CONTROL			NaN_3		
	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ
C	3.8	2.4	0.6	5.7	3.9	0.7
au	2.4	2.3	1.0	1.9	1.2	0.7
C·au	8.4	6.6	0.8	7.8	5.0	0.6

	CONTROL			NaN_3		
	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ	O ₂ -uptake (μM)	CO ₂ -evolute (μM)	RQ
A	2.1	2.2	0.6	6.4	4.6	0.7
au	2.3	2.3	1.1	1.6	1.0	0.7
A·au	7.8	7.8	1.0	7.9	6.0	0.7

菌液……………2.0 ml (湿菌量 C, A 10 mg
 al, au 30 mg)
 基質……………0.25 ml (glucose 終濃度 M/300)
 阻害剤……………0.25 ml (NaN_3 終濃度 10^{-2}M)
 磷酸緩衝液 0.5 ml を加え全量 3.0 ml とする。
 37.5°C, 1 hr. pH 7.2

2) 阻害剤 NaN_3 を用いた場合 RQ に及ぼす影響

前回の実験により阻害剤 NaN_3 を用いた場合に於て相互作用が顕著である事が判つたので、之を用い前回と同様 Warburg の直接法により RQ を測定した。その成績は第3表に示す通りである。

C と al, A と al の組合せに於ては、阻害剤 NaN_3 を用いた場合も対照と同様の傾向を示し、各菌单独の場合より両菌を同時に作用させた場合は、RQ は上昇の傾向を示した。

C と al の組合せでは対照の場合と同様、両菌を同時に作用させた場合は RQ は低下の傾向を示した。

A と au の組合せでは対照の場合と同様、相互作用は認められなかつた。対照に比較し RQ は全般的に稍々低下の傾向を示した。

総括及び考案

大腸菌(C), エロゲーネス菌(A), 白色葡萄球菌(al), 黄色葡萄球菌(au)とこの各組合せに就き、物質代謝の面より2種細菌の相互作用を追究する意図から基質として glucose, pyruvate, acetate, formate を用い、 O_2 消費, CO_2 発生, 更に acetoin 生成に及ぼす各菌の相互作用を検べ、又酵素阻害剤の影響を検べた。

一般に各菌共 glucose の場合が酸素消費量が最も著しく、pyruvate はこの次ぎ、acetate, formate では glucose の場合の $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ であり、更に glucose 基質の場合は、両菌を同時に作用させた場合の酸素消費量が、各菌单独の場合の酸素消費量の相加より、促進される傾向が見られ之らは細菌の協力作用により、糖分解が促進されるものと考えられる。そして2種細菌の相互作用が最もよく発現されるのは、glucose を基質にした時である事が判つたので、次に基質に glucose を用い RQ の測定を行つた所、C と al 及び A と al では、各菌单独の場合に比較し、同時に2種の細菌を作用させた場合は RQ は上昇し、C と au では逆に各菌单独の場合より

RQ は低下した。A と au では RQ は各菌单独の場合も、2種の細菌を同時に作用させた場合も、変化が認められなかつた。更に之等細菌による glucose の分解産物である acetoin の生成に於ける相互作用を見るに、RQ の場合に於けると同様の傾向にある事が解つた。即ち RQ の上昇或は低下に伴い、acetoin の生成も促進或は抑制の傾向にあつた。 CO_2 発生と acetoin の生成との関係に就ては、Miekelson and Werkman (1938)²⁵⁾, Silverman and Werkman (1941)²⁶⁾, Green et al. (1942)²⁷⁾, Stotz et al. (1944)²⁸⁾, Krampitz (1948)²⁹⁾, Dolin and Gunsalus (1951)³⁰⁾, Juni (1950, 1952)³¹⁾, Watt and Werkman (1951)³²⁾, Gale (1953)³³⁾, Greenberg (1954)³⁴⁾, 赤堀 (1951)³⁵⁾, 山村 (1953)³⁶⁾, 片桐 (1954)³⁷⁾ 等が述べている通り、acetoin 生成に於ては必ず CO_2 の発生があり、之により酵素活性が解ると報告している。之は glucose の分解により生じた中間生成物である pyruvate の2分子が縮合して、1 mol の acetoin と 2 mol の CO_2 を発生するためであろうと考えられており、前述の acetoin 生成と CO_2 の発生が平行するという事実とよく符合している。

次に2種細菌の glucose を基質とした場合の酸素消費に於ける相互作用に対する阻害剤の影響を見るに、KCN 添加では相互作用は消失するが、DNP 添加、 NaN_3 添加では酸素消費促進作用は拡大され、特に NaN_3 添加では、C と al, A と al の組合せに於ける両菌の協力作用は顕著であつた。 NaN_3 の作用点に関しては、朝比奈等 (1954)³⁸⁾, 奥貫等 (1954)³⁹⁾ は大腸菌では glucose を基質とした酸素消費が促進されると述べているが、著者の実験に於ても C, A, al では促進が見られ、au では抑制された。 NaN_3 の作用機序に就ては不明の点も多いが、之を用い RQ に及ぼす影響をしらべた所、対照に比較し僅かながら低下の傾向が見られた。而して NaN_3 の存在に於ても、 NaN_3 不添加の場合と同様、C と al 及び A と al では、各菌单独の時より RQ は上昇し相互作用が見

られ、Cとauでは僅かながら低下の傾向が見られたが、Aとauでは相互作用は認められなかつた。又 NaN_3 の存在下に於ける acetoin 生成を見ると、各菌単独の場合及び両菌同時に作用させた場合の何れに於ても、 NaN_3 により阻止され acetoin 生成は認められなかつた。この事實は、阻害剤 NaN_3 無添加の場合は pyruvate 以下の分解径路として、T. C. A. Cycle により完全酸化される径路と、acetoin に至る径路などが存在するが、 NaN_3 添加の場合は完全酸化及び acetoin に至る径路は抑制され pyruvate で止まり、その蓄積が起るものと考えられ、その結果 NaN_3 添加による RQ の低下を来すものと想像される。

結 論

大腸菌と白色葡萄球菌、エロゲーネス菌と白色葡萄球菌、大腸菌と黄色葡萄球菌、エロゲーネス菌と黄色葡萄球菌の4組を用い酸素消費量、RQ及びacetoinの生成の測定を行った所、次に示す様な結論を得た。

- 1) 基質 glucose に於て最も酸素消費が促進され、相互作用のある事が解つた。
- 2) 基質 glucose を用い RQ の測定を行った所、大腸菌と白色葡萄球菌及びエロゲーネス菌と白色葡萄球菌の組合せでは、各菌単独の場合より両菌を同時に作用させた場合は上昇し促進的であり、大腸菌と黄色葡萄球菌の組合せでは、RQ は稍々低下の傾向を示し抑制的であつた。同時に acetoin の生成を測定した所、大腸菌と白色葡萄球菌及びエロゲーネス菌と白色葡萄球菌では RQ の場合と同様両菌を同時に作用させた時は促進的であ

り、大腸菌及び黄色葡萄球菌では抑制的であつた。エロゲーネス菌と黄色葡萄球菌では相互作用は認められなかつた。

3) 阻害剤 KCN, NaN_3 , DNP を用い酸素消費量の測定を行った所、KCN では著明な抑制、 NaN_3 , DNP では促進の傾向にあり、特に NaN_3 では呼吸促進作用が拡大され、大腸菌と白色葡萄球菌及びエロゲーネス菌と白色葡萄球菌に於て酸素消費の促進が見られ、相互作用が顕著であつた。

4) 阻害剤 NaN_3 を添加に於ける RQ を測定した所、2) の場合と同様な結果を得たが稍々 RQ は低下の傾向にあつた。

5) acetoin 生成に於ける相互作用は NaN_3 不添加の場合は RQ の場合と同様の傾向を示し、大腸菌と白色葡萄球菌、エロゲーネス菌と白色葡萄球菌の組合せでは、両菌を同時に作用させた場合 acetoin 生成は顕著にして促進的であり、大腸菌と黄色葡萄球菌では抑制的であつた。エロゲーネス菌と黄色葡萄球菌では相互作用は認められなかつた。 NaN_3 添加の場合は acetoin の生成は阻止され何れの場合も見られなかつた。従つて NaN_3 不添加の場合に見られる pyruvate→acetoin の径路が添加の場合は抑制されるため、acetoin は生成されず pyruvate の蓄積が見られるものと推定される。

本論文の要旨は1956年6月第470回岡山医学会並びに第4回日本口腔科学会中国四国地方部会に於て報告した。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師村上教授、今川教授、渡辺教授並びに多大の御助言を戴いた微生物学教室松浦先生に深甚の謝意を表します。

文

- 1) Winslow, C. E. A. & Kohen, B.: 1918 b. J. Inf. Dis., 23, 82.
- 2) Stickelbroch, H.: 1929. Dissertation, Tier-aertzlichehochschule, Berlin.
- 3) 朴 容 来: 1935. 千葉医学会雑誌, 13, 2121, 2299, 2381.
- 4) Frederich, P. & Levine, M.: 1947. J. Bact.,

献

- 54, 785.
- 5) Gundel, M. & Kliewe, H.: 1932. Zentr. Bakt. Parasittenk., I, Orig., 124, 519.
- 6) Isabolinski, M. P. & Sobolewa, R. M.: 1934. Zentr. Bakt. Parasittenk., I, Orig., 133, 107.
- 7) 篠川 至: 1941. 北越医学会雑誌, 56, 1310.

- 8) Gundel, M.: 1927. Zentr. Bakt. Parasitenk., I, Orig., 104, 463.
 - 9) Ivanovics, G.: 1931. Zentr. Bakt. Parasitenk., I, Orig., 120, 47.
 - 10) Wynne, E. S. & Williams, O. B.: 1945. J. Bact., 49, 629.
 - 11) Whiti, B. T. & Hill, J. J.: 1949. J. Dent. Res., 3, 272.
 - 12) 片山 豊: 1954. 日本細菌学雑誌, 9, 2, 119; 3, 187.
 - 13) Besta, B. & Kuhn, H.: 1934—1935. Z. Hyg. Infektionsk., 116, 520.
 - 14) Weighman, F. & Holzl, H.: 1940. Z. Hyg. Infektionsk., 122, 673.
 - 15) Thompson, R. & Shibuya, M.: 1946. J. Bact., 51, 671.
 - 16) 國山 昇: 1951. 新潟医学会雑誌, 65, 270.
 - 17) 堀田忠義: 1951. 新潟医学会雑誌, 65, 674.
 - 18) Speakman, & Phillips, 1924. J. Bact., 9, 183.
 - 19) Holman, W. L. & Meekison, D. M.: 1926. J. Inf. Dis., 39, 145.
 - 20) Burrows, W.: 1949. Jordan-Burrows Textbook of Bacteriology., 15th edition, 164.
 - 21) Lipman, C. B. & Teakle, L. J. H.: 1925. J. Gen. Physiol., 7, 509.
 - 22) Umbreit, W. W. et al.: 1950. Manometric Techniques & Tissue Metabolism. Burgess Publishing Co., Minneapolis.
 - 23) Friedeman, T. E. & Haugen, G. E.: 1943. J. Biol. Chem., 147, 415.
 - 24) Westerfeld, W. W.: 1945. J. Biol. Chem., 161, 495.
 - 25) Miekelson, M. & Werkman, C. H.: 1938. J. Bact., 36, 67.
 - 26) Silverman, M. & Werkman, C. H.: 1941. J. Biol. Chem., 138, 35.
 - 27) Green, D. E., et al. 1942. J. Biol. Chem., 145, 69.
 - 28) Stotz, et al.: 1944. J. Biol. Chem., 152, 41.
 - 29) Krampitz, L. O.: 1948. Arch. Biochem., 17, 81.
 - 30) Dolin, M. I. & Gunsalus, I. C.: 1951. J. Bact., 62, 199.
 - 31) Juni, E.: 1952. J. Biol. Chem., 195, 715.
 - 32) Watt, D. & Werkman, C. M.: 1951. Arch. Biochem. Biophys., 31, 383.
 - 33) Gale, E. F.: 1953. The Chemical Activities of Bacteria., 3rd edition.
 - 34) Greenberg, D. M.: 1954. Chemical Pathways of Metabolism., 1, 38.
 - 35) 赤堀等: 1951. ビタミン, 4, 5, 387. 1954. ビタミン, 3, 4~5, 229.
 - 36) 山村等: 1953. 酵素化学シンポジウム, 8, 101.
 - 37) 片桐: 1954. 生化学, 25, 457.
 - 38) 朝比奈等: 1954. 酵素化学シンポジウム, 9, 74.
 - 39) 奥貫等: 1954. 酵素化学シンポジウム, 9, 79.
-

Studies on the Interaction in the Metabolism of Two Species of Bacteria

Part One: Interaction in O₂-Consumption

By

Kanehisa Yokohara

Dept. of Bacteriology (Director : Prof. S. Murakami)

Dept. of Dental Surgery (Director : Prof. Y. Imagawa)
Y. Watanabe)

Okayama University Medical School

The present experiment has been conducted with a view to study the interaction of two species of bacteria from the metabolic aspects ; and as a preliminary, O₂-consumption and RQ have been measured :

Bacteria used : *E. coli communis*, *A. aerogenes*, *Staphylococcus albus*, and *Staphylococcus aureus*.

Substrates : glucose, pyruvate, acetate, and formate.

Inhibitory agents : KCN, DNP and NaN₃.

1. Since the O₂-consumption in the case of the substrate glucose, is accelerated most markedly, it signifies that there is an interaction.

2. The RQ in the case of the substrate glucose has shown a greater increase when two combinations of *E. coli* and *Staph. albus* and that of *A. aerogenes* and *Staph. albus* are made to act at the same time than in the cases of individual bacterium made to act separately; while the RQ in the combination of *E. coli* with *Staph. aureus* has rather tended to decrease, and moreover, its acetoin production has been found to proceed in parallel with the value of RQ.

3. In the case of the inhibitory agent KCN, a marked inhibition of the O₂-consumption has been revealed, while in the cases of NaN₃ and DNP, an acceleration. Especially in the case of NaN₃ an acceleration of O₂-consumption has been found ; and in the combination of *E. coli* and *Staph. albus* with *A. aerogenes* and *Staph. albus*, the O₂-consumption has been accelerated and its interaction striking.

4. In the case of an addition of the inhibitory agent NaN₃, RQ has been found to give a rather similar result as that in article 2, though with a slight lowering tendency.

5. In the case without NaN₃, the interaction in the acetoin production presents a similar tendency as that revealed in the case of RQ. With the addition of NaN₃, the acetoin production has been inhibited.

Therefore, it seems that due to an inhibition of the pyruvate to acetoin pathway by NaN₃, no acetoin production can be observed while an accumulation of pyruvate is to be expected.
