

ますが室温や唾液分泌速度などによって分泌唾液の温度の変化はないでしょうか。

③ Na^+ と Cl^- の分泌の解離を論ずる際、pH の変化もありますから HCO_3^- を同時に測定されるとより明確な情報が得られるのではないのでしょうか。

回答 玉川恭子 (口腔生理)

① Na , K , Cl については、濃度ではなく、分泌された唾液の中に含まれる量で、比較については今後の参考にさせていただきます。

② pH は温度に影響されるが、実験では、pH 測定用

の電極がかなり口腔に近いので、その温度差は少ないと考える。pH と測定温度の同時記録は今後行う予定でいます。

③ HCO_3^- に関して御指摘ありがとうございます。

質問 奥山富三 (口腔病理)

① 男女差、年齢差はありましたか。

② 唾液中のプロテイン量はどのようですか。

回答 玉川恭子 (口腔生理)

① 現在、被験者 1 名ですので、比較はしてません。

② プロテインの測定はしていません。

4. Partially defined medium 及び Chemically defined medium における *S. mutans* AL7-1 株の溶菌酵素産生について

鎌口有秀, 馬場久衛, 金森啓子,
田中かえで, 秋貞泰輔 (口腔細菌)

(目的) 演者らはヒト歯垢由来 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) の産生する溶菌酵素 (LE) を Trypticase soy broth を含む市販のいわゆる organic medium を用いて粗酵素を抽出し、その精製を種々試みてきたが、複雑な培地成分や他の生成物の影響のため純化が非常に困難であった。そこで organic medium に代わる簡単な既知成分を含む種々の化学合成培地を作製し、これによる LE 産生条件を検討した。

(方法) 溶菌酵素産生菌 *S. mutans* AL7-1 は全て 37°C で嫌氣的に培養した。BHI broth で 16h 培養後の菌体を PBS で洗浄後、その 1ml を種々の化学合成培地に接種し培養した。この培養液から経時的にその 10ml を採取し、菌の発育を OD540nm で測定した。ついで、遠心分離後、上澄の pH を測定し凍結乾燥した。この凍結乾燥物に M/15 リン酸 buffer (pH6.9) 5ml を加え溶解し、その 2ml に *S. mutans* E49 加熱死菌液 (OD540nm: 1.0) を 1ml 加え、37°C, 2h 反応後、熱失活酵素液に *S. mutans* E49 死菌液を加えた対照との OD 差 (Δ OD540nm) を溶菌酵素活性とした。

(結果) 最初に casamino 酸を用いた partially defined medium を用いて菌の発育と活性との関係を調べた結果、菌の高い発育を得るには比較的高濃度の glucose, vitamine 類, cysteine, Na_2CO_3 が必要で、産生された酵素の安定化のためにリン酸塩, CH_3COONa , Na_2CO_3 を添加して pH を弱酸性に保つ必要があった。casamino 酸をアミノ酸に置きかえた完全合成培地では cysteine

又は cystine が必須あり、phenylalanine は菌の増殖を速めるために必要であった。これらの結果を基とし、vitamine 類, Na_2CO_3 , CH_3COONa , 無機塩, リン酸塩, glucose に種々のアミノ酸を加えた完全合成培地を作製し、organic medium と比較検討したところ、約 1.5 倍高い溶菌活性が得られた。今後、これらの知見を基とし LE の純化を検討するつもりである。

質問 田隈泰信 (口腔生化)

① 溶菌酵素の失活原因は pH の低下によるものだけでしょうか。

② buffer の濃度をもっと上げた場合はどうでしょうか。

回答 鎌口有秀 (口腔細菌)

① 増殖に伴い培地に産生される種々の物質により、失活することも考えられる。特に、LTA 等は可能性が大きいと思う。

② Phosphate buffer 濃度を高くすると、高濃度の glucose よりの乳酸を中和できるが、0.1 mol 以上になると *S. mutans* の発育が悪くなるため、あまり高濃度では使用できない。

質問 高野一雄 (解剖 I)

AL7 の 1 として分類又は名称がつけられた意味は？。

回答 馬場久衛 (口腔細菌)

Streptococcus mutans AL7-1 菌の由来は、実験名よりとったものです。