

細菌의 糖脂質에 關한 研究

第一報 細菌에 있어서의 糖脂質의 分布

金 教 昌

忠北大學 農化學科

(1974년 4월 10일 수리)

Studies on Glycolipids in Bacteria

Part I Occurrence of Glycolipids in Various Bacteria

Kyo-Chang Kim

Dept. of Agrochemistry, Chung Buk College

(Received April 10, 1974)

Summary

The 23 representative bacteria were studied for the glucosamine contents which represent the glycolipid content of the cell wall. The distribution of glycolipid in various bacteria was examined and the relationship between the glycolipid contents and the Gram stain was elucidated. The results were as follows:

1. The contents of glucosamine in the glycolipid of Gram negative and variable bacterial cell wall were large ranging from the least 0.04 μg of *Proteus vulgaris* to the largest 2.48 μg of *Aerobacter aerogenes*. The Gram positive bacteria and only those Gram positive among Bacilli contained less than 0.02 μg of glucosamine contents. The least glucosamine containing Gram positive bacteria were *Corynebacterium sepedonicum* and *Staphylococcus aureus*. It could generally be said that the Gram negative and variable bacteria contain the higher content of glucosamine in the cell wall than the positives.

2. The bacteria were better stained by the Gram solution after the extraction of glycolipid from the cell wall than those without extraction.

3. The four infrared spectra of glycolipids obtained from *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus circulans*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Salmonella typhirurium* showed all the similar characteristics. All showed the existence of groups; OH, C-O, C-O-C, CH_2+CH_3 , amide band, fatty acid ester band and ester carbonyl bond.

一. 緒 論

細胞의 最外殼을 構成하는 生體膜의 出現은 地球上에 生命의 出現에 必須인 것이며 다시 生物進

化에 있어서 膜機能의 分化와 그 重要性을 生覺할 때 그에 關한 研究의 意義는 大端히 크다고 生覺된다.

1935年 Danielli⁽¹⁾가 生體膜의 一般의 model 을 提

唱한 이래에 생체膜에 對한 研究가 本格的으로 始作되었는데 近來에 와서 特히 電子顯微鏡 技術이 發達됨으로서 生體膜의 形態學의 研究⁽²⁾와 이것의 構造가 所謂 單位膜構造로 된것이 發見⁽³⁾되고 이들을 單離하고 生化學的으로 研究를 하게 되어 그 構造와 機能이 詳細하게 밝혀져 가고 있다.

生體膜은 根本的으로는 蛋白質과 脂質이 主成分이며 内外의 水層에 對한 隔壁의 役割을 하며 膜에 쌓인 内部에는 獨自의 機能이 營爲되도록 閉鎖的 環境을 만든다. 細菌細胞膜의 研究에는 膜이 容易하게 採取되는 Gram 陽性的 細菌이 主로 쓰여진다. 이것은 그의 細胞膜이 容易하게 lysozyme에 依하여 溶解되기 때문이다. 勿論 Gram 陰性菌은 溶解되지 않는다.

細菌 및 高等生物의 生體膜을 比較하면 하나의 큰 差異가 있다. 細菌細胞質膜은 未分化狀態에 있는 것이 그 特徵이다. 即 細胞質內에 細胞質膜의 陷入에 依하여 이루어진 mesosome 以外에는 膜構造를 나타내는 것이 없는 것이 다르다. 細菌細胞壁은 細菌에 一定한 形態와 機械的 強度를주는 袋狀의 構造體인데 그밖에 여러가지 抗原性, 免疫原性에 關連되어 있는 것으로 알려졌다. 細胞壁에 機械的 強度를 주는 것의 本體는 murein이라 불리는 mucopeptide에 起因하는데 그 基本的 構造는 거의 같으나 菌의 種類에 따라서 약간 다르다.⁽⁴⁾ Gram 陽性菌에서는 이 mucopeptide層이 細胞膜의 主成分이라고 生覺되며 別다른 構造가 없는 것으로 보이나 Gram 陰性菌의 細胞壁은 보다 複雜한 構造를 하고 있다. 即 Gram 陰性菌에서는 細胞壁에 相當하는 곳이 4層으로 나누어져 있는 것이 觀察되는데⁽⁵⁾ 밖갈쪽의 3層은 細胞質膜과같이 보이며 lipoprotein이라고 생각된다.

그리고 이들 各層의 單位膜 構造의 사이에는 mucopeptide, lipopolysaccharide, 蛋白質顆粒으로 되어있으며 그中 lipopolysaccharide의 一部는 細胞의 最表層에 나와 있다고 생각된다.^{(6) (7)}

이들 세균의 lipopolysaccharide는 아주 적은량으로(0.001~10 μ g) 顯著한 生物學的 作用을 나타낸다. 例컨데 lipopolysaccharide를 動物에 注射하며는 發熱 또는 體溫降下, 血行障害, 白血球減少 등의 現象이 보이는 것이 알려졌다.⁽⁸⁾ 그러나 이들 lipopolysaccharide의 化學構造는 勿論 生合成 機械에 關하여 研究가 進行된 것은 最近의 일이다.

lipopolysaccharide O 抗原, core 部分, 그리고 glucosamine에 脂肪酸이 ester結合 및 amide結合

을 하고 있는 所謂 lipid A로 構成되어 있는 것이 알려졌는데^(9,10) *Salmonella*의 lipopolysaccharide는 거의 完全한 構造로서 그림 1과 같은 것으로 밝혀졌다.⁽⁹⁾ lipopolysaccharide가 一般的으로 Gram 陰性菌에 含有되어 있는 것이 特徵이나, 特히 腸內細菌群에 있는 lipopolysaccharide는 菌體表面抗體(O抗原)의 免疫學的 特性을 갖고 있어 이 特性이 細菌群에 同定에 利用되기도 하며 이것이 內毒素의 하나로 生覺되어 옛부터 細菌學者에게 注目되었다. lipopolysaccharide의 構成成分인 lipid A를 包含하는 糖脂質에 關한 研究도 많다. 즉 Kasei^(10,11) 등의 *E. coli*의 lipid 劃分의 內毒素에 關한 研究, Burton⁽¹²⁾ 등의 lipopolysaccharide의 lipid A成分의 特性研究, Clarke⁽¹³⁾ 등의 *Pseudomonas aeruginosa*의 cell wall의 糖脂質에 關한 研究, Adams^(14,15) 등의 *Neisseria perflava*, *Serratia marcescens*의 糖脂質에 關한 研究, Westphal⁽¹⁶⁾ 등의 *Salmonella* Re mutant의 糖脂質에 關한 연구, Alaopovic⁽¹⁷⁾ 등의 *Serratia marcescens*의 糖脂

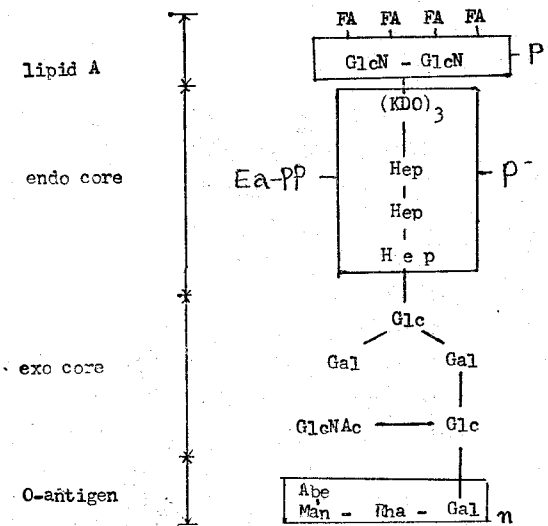


Fig. 1. Chemical structure of lipopolysaccharide in *Salmonella typhurium*.⁽⁹⁾

- FA: Fatty acid, GlcN: Glucosamine
- KDO: 2-Keto-3-deoxyoctonic acid
- Hep: L-glycero-D-manno heptose
- Ea: Ethanolamine P: Phosphoric acid
- Glc: Glucose Gal: Galactose
- GlcNAc: N-acetyl glucosamine
- Abe: Abecose, Man: Mannose
- Rha: Rhamnose

質 관한 연구 Strominger⁽¹⁸⁾ 등의 *Staphylococcus aureus*의 cell wall에 관한 연구등이 있을 뿐 아니라, Suzuki⁽¹⁹⁾ 등의 *E. coli* 및 *Shigella flexneri*의 lipid A 등에 관한 연구등이 있다. 著者도 *Selenomonas ruminantium*의 lipid A의 構造를 밝힌바 있다.⁽²⁰⁾

著者는 代表的인 Gram 陽性菌 및 Gram 陰性菌의 細胞壁에서 分離되는 glucosamine을 定量하여 糖脂質의 分布樣相을 검토하였다. 그러나 至今까지 研究된 것은 斷片的인 것으로 Gram 陰性菌에서는 共通의으로 lipopolysaccharide의 存在가 알려졌으나 Gram 陽性菌에 있어서는 없는것으로 認定되고 이에 對한 研究는 거이 이루어진 바 없다. 이에 著者는 이 點을 더욱 徹底하게 그리고 綜合의으로 究明하고자 多數의 代表的인 Gram 陰性菌 및 Gram 陽性菌도 包含시켜 그들 細胞壁에서 分離되는 糖脂質의 細菌間分布相을 研究한바 좀더 明白한 事實을 알게 되었으므로 이에 報告하는 바이다.

二. 實驗方法

1. 使用菌株

細菌의 細胞膜에 糖脂質의 分布를 알기 爲하여 使用한 다음 菌株는 日本 東北大學農學部 應用微生物 研究室에 保管되어 있는 表 1의 菌株를 使用하였다.

2. 培養方法

B. subtilis, *B. circulans*, *B. brevis*, *B. mascerans*, *B. alvei*, *B. polymyxa*, *B. cereus*, *B. natto*, *B. megaterium*, *B. mesentericus*, *B. anthracis*, *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhirurium*, *Proteus vulgaris*, *Corynebacterium sepedonicum*, *Staphylococcus aureus*에 對하여 polypepton 1%, meat

Table 1. Microorganisms used for the Examination of Glycolipids

Genus	Species	Genus	Species
<i>Rhodospirillum</i>	<i>rubrum</i>	<i>Bacillus</i>	<i>natto</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>fluorescens</i>	<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	<i>Bacillus</i>	<i>megaterium</i>
<i>Aerobacter</i>	<i>aerogenes</i>	<i>Bacillus</i>	<i>mesentericus</i>
<i>Salmonella</i>	<i>typhirurium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>anthracis</i>
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	<i>Selenomonas</i>	<i>ruminantium</i>
<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>mesenteroides</i>
<i>Bacillus</i>	<i>brevis</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>sepedonicum</i>
<i>Bacillus</i>	<i>mascerans</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>alvei</i>	<i>Azotobacter</i>	<i>vinelandii</i>
<i>Bacillus</i>	<i>polymyxa</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>freudenreichii</i>
<i>Bacillus</i>	<i>cereus</i>		

Table 2. Composition of Medium used for Growing *Selenomonas ruminantium*(21)

Constituents	Lactate medium ⁽²¹⁾	Glucose medium ⁽²²⁾	Constituents	Lactate medium ⁽²¹⁾	Glucose medium ⁽²²⁾
Trypticase	4 g	—	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.01	0.01
Yeast extract	4 g	4 g	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.01	0.01
n-Valerate	—	0.038	CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.026	0.026
Glucose	—	10	Resazurine	—	trace
Na-lactate (50%)	50 ml	—	Biotin	0.2mg	—
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.8	1.8	Na ₂ CO ₃	6	6
KH ₂ PO ₄	1.8	1.8	Cysteine	1.5	1.5
NaCl	1.8	1.8			

extract 1%, NaCl 0.5% 培地를 pH 6.8로 調節한 것에 各菌株를 接種하여 30°C에서 10~20時間 振盪培養⁽²¹⁾하였다.

Selenomonas ruminantium 은 表 2의 乳酸培地 및 glucose 培地에서 嫌氣의으로 培養⁽²²⁾하였다.

Propionibacterium freudenreichii 는 表 3의 培地로 30°C에서 嫌氣의으로 N₂-gas(100%) 下에서 20時間 靜置 培養하였다.

R. rubrum 은 30°C, 30時間, 光線照射下, 嫌氣條件(5% CO₂, 95% N₂-gas)으로 表 4의 培地에서 Bose의 方法⁽²³⁾으로 培養하였다.

Table 3. Composition of Medium used for Growing *Propionibacterium freudenreichii*

Glucose	1 %
Yeast extract	0.5
Polypepton	0.5
Meat extract	0.5
Sodium acetate	0.5
NaCl	0.25
Distilled water	
pH	7

Table 4. Composition of Medium used for Growing *Rhodospirillum rubrum*

Polypepton	0.5 %
Yeast extract	0.5
L-Na-glutamate	0.4
DL-Malate	0.35
KH ₂ PO ₄	0.00015
K ₂ HPO ₄	0.00018
Distilled water	
pH	6.8-7

Leu. mesenteroides 는 30°C에서 20時間 嫌氣條件(5% CO₂, 95% N₂-gas)으로 yeast extract 1%, glucose 1%, polypepton 1%, sodium acetate 0.5%, pH6.8에서 培養하였고, *Azotobacter vinelandii*

Table 5. Composition of Burk's medium

K ₂ HPO ₄	0.64g	Na ₂ MoO ₄	2.5mg
KH ₂ PO ₄	0.16	FeSO ₄	15 mg
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.20	pH	7.3
CaSO ₄ ·2H ₂ O	0.05	H ₂ O	1l
Sucrose	20		

는 表 5의 Burk's medium⁽²⁴⁾을 사용하여 30°C에서 振盪培養하였다.

各 培養菌體는 遠心分離機를 使用하여 集菌하고 물로 2回 洗滌하여 冷藏庫에서 一晝夜 凍結시킨 다음 實驗에 使用하였다.

3. 分析方法

(1) 糖脂質의 抽出 및 精製⁽²⁵⁾

遠心分離하여 一晝夜冷凍시킨 菌體에 ethanol: ether(3:1)을 넣어 10分間씩 3回 抽出하여 遠心分離를 하고 chloroform: methanol(1:3)로 3回 抽出하는 操作을 反復함으로서 磷脂質을 除去하였다. 磷脂質을 除去한 菌體를 5% trichloroacetic acid(TCA)로 90°C에서 15分間 處理하고 遠心分離하여 TCA 溶解部分을 分離除去하였다. 이 殘渣를 물로 2回 洗滌하고 還流裝置를 하여 80°C에서 1時間 chloroform: methanol(1:3)로 糖脂質을 抽出하였다. 이 抽出液을 菌體에서 遠心分離하고 그 上澄液을 減壓濃縮하여 이 濃縮液에서 chloroform: methanol(8:2)로 抽出한 液을 眞空濃縮시킨 다음 分析用試料로 使用하였다.

(2) 赤外線分析方法

分析用試料를 chloroform: methanol: water(65:25:4)를 使用하여 thin layer chromatography(T.L.C)로 展開시킨 다음 該當 Band를 採取하여 完全히 乾燥시킨 다음 KBr를 섞어 tablet를 만들어서 赤外線分析機(IR-E型, 日本分光工業會社製)로 分析하였다.

(3) Glucosamine의 定量⁽²⁶⁾

分析用 試料를 硬質試驗管에 넣어 4N-HCl을 加한 다음 密封하여 100°C에서 10時間 分解시킨 다음 P₂O₅와 KOH를 넣은 desiccator에 密封試驗管의 上部를 開封하여 넣고 desiccator를 眞空으로한 다음 放置하여 乾燥하는 同時에 HCl을 除去하였다. 分解된 試料를 共栓試驗管에 取하여 1.25N Na₂CO₃溶液에 4%가 되게 acetylacetone을 녹인 용액 2ml를 넣고 마개를 하여 90°C에서 1時間 加熱한후 ethanol 16ml와 p-dimethylaminobenzaldehyde 1.6g을 30ml의 ethanol과 30ml HCl에 녹인 p-dimethylaminobenzaldehyde 시약 2ml을 加하여 나타나는 赤色을 日立 FPW 比色計로 530nm에서 吸光度를 測定하여 定量하였다.

4. Gram 染色⁽²⁷⁾

各 供試細菌을 培養하여 對數末期에 이르렀을 때

培養菌體를 常法에 따라 Gram 染色을 하고 顯微鏡으로 觀察하였고 糖脂質을 抽出하고 난 菌體에 對하여도 이와같은 方法으로 染色檢鏡하였다.

三. 結果 및 考察

各種 供試細菌을 各 培養條件에 따라 培養하여 糖脂質을 除去하고 TCA 로 處理하여 chloroform : methanol 混合液으로 抽出溶解되는 部分을 精製한 後 實驗한 結果는 다음과 같다.

1. 糖脂質의 存在

精製된 糖脂質試料를 HCl로 分解시킨 다음 Elson-

Morgan 法⁽²⁶⁾에 依하여 glucosamine 을 分析한 結果와 Gram stain 結果를 綜合하면 表 6 과 같다. 表 6 에서 보는바와 같이 Gram 陰性菌인 *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhirurium*, *Selenomonas ruminantium*, *Azotobacter vinelandii* 등에는 糖脂質이 다같이 相當量 含有되어 있으며 *Bacillus* 屬中 Gram 陰性菌과 Gram 染色이 變하는 variety 에도 含有되어 있다. 그러나 *Bacillus* 屬中 positive 菌에는 trace 로 들어 있다.

Corynebacterium sepedonicum 과 *Staphylococcus*

Table 6. Occurrence of Glucosamine of Glycolipid in Various Bacteria and the Results of their Gram stain.

Family	Genus	Species	Cultural condition	Gram stain	Occurrence of glucosamine
Anthiorhodaceae	<i>Rhodospirillum</i>	<i>rubrum</i>	An	-	+
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>fluorescens</i>	A	-	+
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	A	-	+
		<i>Aerobacter</i>	A	-	+
		<i>Salmonella</i>	A	-	+
		<i>typhirurium</i>	A	-	+
		<i>Proteus</i>	A	-	+
Spirillaceae	<i>Selenomonas</i>	<i>ruminantium</i>	An	-	+
Azotobacteraceae	<i>Azotobacter</i>	<i>vinelandii</i>	A	-	+
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	A	-	+
		<i>brevis</i>	A	var.	+
		<i>mascerans</i>	A	var.	+
		<i>alvei</i>	A	var.	+
		<i>polymyxa</i>	A	var.	+
		<i>cereus</i>	A	var.	+
		<i>natto</i>	A	+	trace
		<i>subtilis</i>	A	+	trace
		<i>megaterium</i>	A	+	trace
		<i>mesentericus</i>	A	+	trace
		<i>anthracis</i>	A	+	trace
		<i>mesenteroides</i>	A	+	trace
		Lactobacillaceae	<i>Leuconostoc</i>	<i>mesenteroides</i>	A
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	<i>sepedonicum</i>	A	+	trace
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	A	+	trace
Propionibacteria	<i>Propionibacterium</i>	<i>freudenreichii</i>	An	+	trace

A : Aerobic culture

An : Anaerobic culture

Var. : variety

aureus 에는 거의 存在치 않았다. 이와같이 Gram positive 菌에는 극히 적게 들어있고 同一한 Genus 에 屬하면서도 Gram positive 菌에는 거의 糖脂質의 含量이 없는 것으로 나타났다.

2. 糖脂質의 含量과 Gram 染色

精製된 糖脂質을 HCl 로 分解하여 acetylacetone 溶液과 p-dimethylamino benzaldehyde 로 處理하여

發色시켜 530nm 에서 吸光度를 測定하여 glucosamine 을 定量한 結果를 乾燥菌體에 對한 含量으로 表示하면 表7 과 같다.

表7 에서 보는 바와 같이 *Aerobacter aerogenes* 가 glucosamine 의 含量이 가장 많으며 一般的으로

Gram 陰性菌에 많이 存在하며 이는 一般的으로 Gram 陰性菌에 lipopolysaccharide 가 存在한다는 報告⁽²⁸⁾와 一치한다.

또한 Gram 染色이 變하는 variety 에도 상당히 存在하는 것을 알았다.

Table 7. Glucosamine Content of Glycolipid in Several Bacteria and the Results of their Gram stain.

Bacterial strains		Gram stain	Glucosamine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ dry weight of cells)
<i>Aerobacter</i>	<i>aerogenes</i>	—	2.48
<i>Selenomonas</i>	<i>ruminantium</i>	—	
Lactate	energy source		1.22
Glucose	energy source		0.92
<i>Bacillus</i>	<i>circulans</i>	—	0.72
<i>Rhodospirillum</i>	<i>rubrum</i>	—	0.65
<i>Bacillus</i>	<i>brevis</i>	var.	0.56
<i>Bacillus</i>	<i>mascerans</i>	var.	0.23
<i>Bacillus</i>	<i>alvei</i>	var.	0.16
<i>Bacillus</i>	<i>polymyxa</i>	var.	0.12
<i>Bacillus</i>	<i>cereus</i>	var.	0.11
<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	—	0.07
<i>Salmonella</i>	<i>typhirurium</i>	—	0.06
<i>Pseudomonas</i>	<i>fluorescens</i>	—	0.06
<i>Azotobacter</i>	<i>vinelandii</i>	—	0.04
<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	—	0.04
<i>Bacillus</i>	<i>natto</i>	+	0.02
<i>Propionibacterium</i>	<i>freudenreichii</i>	+	0.02
<i>Bacillus</i>	<i>subtilis</i>	+	0.02
<i>Bacillus</i>	<i>megaterium</i>	+	0.02
<i>Bacillus</i>	<i>mesentericus</i>	+	0.02
<i>Bacillus</i>	<i>anthracis</i>	+	0.02
<i>Leuconostoc</i>	<i>mesenteroides</i>	+	0.01
<i>Corynebacterium</i>	<i>sepedonicum</i>	+	0.004
<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	+	0.003

Var. : variety

Gram 陰性菌에 lipopolysaccharide 가 多量 存在하며 Gram 染色이 되지 않는 것은 lipopolysaccharide 가 Gram 染色과 關係가 있는 것으로 推測되어 興味있는 結果라고 生覺된다.

한편 Gram 陰性菌에서 가장 含量이 많은 것은 *Aerobacter aerogenes* 가 2.84 μg 이며 Gram 陽性菌에서 가장 含量이 적은 것으로 *Staphylococcus aureus* 및 *Corynebacterium sepedonicum* 이 0.003 μg 의 적은 含量을 나타냈다.

이와같이 Gram 陰性菌 및 Gram 陽性菌間에는 一般的으로 含量에 差異가 明確히 나타나는 것을 알

았다.

Gram 陰性菌의 細胞壁의 電子顯微鏡寫眞에 依한 構造研究 結果^(29,30)에 依하면 外層은 一見 lipo protein 膜과 비슷한 三層 構造로 되어있고 그 外側의 最表層에는 lipopolysaccharide 의 一部가 觀察되었다.

Gram 陰性菌에 糖脂質이 細胞壁外部에 存在한다는 것과 Gram 染色과의 關係를 알기 爲하여 著者는 糖脂質을 抽出하기 前과 抽出後의 Gram 染色을 施行한 結果 糖脂質을 除去한 다음에 Gram 染色을 한 것이 糖脂質을 抽出하기 前보다 確實히 染

색이 더 잘 되었음을 觀察하였다. 이것으로 著者が 推測한바 Gram 陰性科 糖脂質의 存在와의 密接한 相關關係가 明白하게 있음을 알았다. 이것은 Basu⁽³¹⁾가 脂質이 Gram 染色과 關係있다는 結果와 一致한다.

3. 赤外線分析 結果

糖脂質의 含量에서 가장 많은 것과 比較的 적은 것 중에서 代表的인 2 菌株씩 選擇하여 그 細菌에서 얻은 精製된 糖脂質에 KBr 를 섞어 만든 tablet 에 對하여 赤外線分析機로 分析한 結果는 그림 2 및 3과 같다.

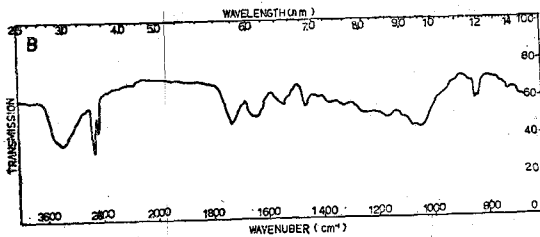
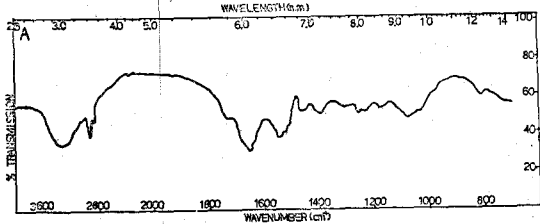


Fig. 2. Infrared Absorption Spectra of Glycolipid of *Aerobacter aerogenes* (A) and *Bacillus circulans* (B)

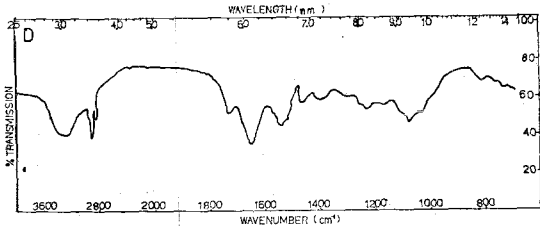
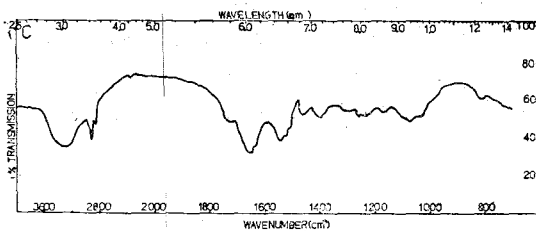


Fig. 3. Infrared Absorption Spectra of Glycolipid of *Salmonella typhirurium* (C) and *Pseudomonas fluorescens* (D)

이 結果를 보면 4개의 菌株에서 얻어진 spectra 는 糖脂質의 含量에는 關係없이 大體로 거의 비슷한 結果를 나타내고 있다. 即 OH-group 에 該當하는 3,300~3,400cm⁻¹에서 吸收를 나타내고 C-O, C-O-C 에 該當하는 1,150cm⁻¹의 吸收를 나타냈다. 그리고 CH₂+CH₃ 에 該當하는 1,465cm⁻¹와 1,380cm⁻¹의 吸收가 있고 1,640cm⁻¹, 1,540cm⁻¹, 그리고 730cm⁻¹의 amide band 에 該當하는 吸收가 特性的으로 나타나 있다.

이밖에 1,170cm⁻¹에서 C-O 脂肪酸 ester 結合을 볼 수 있고 또한 1,735cm⁻¹에서 ester carbonyl band 가 나타났으며 β-glucosidic 結合이 840cm⁻¹에서 吸收를 보이고 있다.

以上の 結果는 이들 菌도 *E. coli*, *Selenomonas ruminantium* 에서 얻은 糖脂質의 赤外線分析 結果와 같은 特性을 나타내고 있어 現在까지 研究된 Gram 陰性菌에는 거의 같은 構造를 가진 糖脂質이 存在하는 것을 알 수 있다.

四. 摘 要

23種의 代表的인 細菌에 對하여 glucosamine 含量을 測定하여 糖脂質의 分布를 調査하고 糖脂質의 含量과 Gram 染色과의 相關關係를 究明한바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Gram 陰性菌 및 variable 菌은 그 菌體 糖脂質中 glucosamine 含量이 最少 *Proteus vulgaris* 의 0.04μg 에서부터 最高 *Aerobacter aerogenes* 의 2.48μg 의 範圍로 分布되어 있었다. Gram positive 菌 및 *Bacillus* 屬中の Gram 陽性菌은 全部 0.02μg 以下の 含量을 갖고 있었다. Gram 陽性인 *Corynebacterium sepeidonicum* 및 *Staphylococcus aureus* 는 特히 glucosamine 含量이 最少였다. 이들보다 Gram 陰性菌은 陽性菌과 明確히 區別할 수 있을만큼 glucosamine 含量이 많았다.

2. Gram 染色은 糖脂質 抽出前보다 抽出後가 染色이 더 잘되는 傾向이었다.

3. *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus circulans*, *Pseudomonas fluorescens* 및 *Salmonella typhirurium* 의 4 菌株에서 얻은 糖脂質의 赤外線 spectra 는 大體로 같았으며 다 OH-group C-O, C-O-C, CH₂-CH₃, amide 結合, 脂肪酸 ester 結合, ester carbonyl 結合의 存在를 確認하였다.

引用文献

1. Danielli, J.F. and Davson, H.A.: *J. Cellular Comp. Physiol.*, **5**, 495 (1935)
2. Sjöstrand, F.S. and Rhodin J.: *Exper. Cell Res.*, **4**, 426 (1953)
3. Robertson, J.D.: *The Unit Membrane.*, In *Electron Microscopy in Anatomy*, Arnold Ltd., London (1961)
4. Ghysen, J.M., *Bacterial Rev.*, **32**, 425 (1968)
5. Claus, G.W. and Roth, L.E.: *J. Cell Biol.*, **20**, 217 (1964)
6. Birdsell, D.C. and Cota-Robles, E.H.: *J. Bacteriol.*, **93**, 427 (1967)
7. Weiner, M., Higuchi J., Osborn, M.J. and Horecker, B.L.: *Ann., N.Y. Acad. Sci.*, **133**, 391 (1966)
8. Gilbert, R.D.: *Physiol. Rev.*, **40**, 245 (1960)
9. Romeo, D., Girard, A. and Rothfield, L.: *J. Mol. Biol.*, **53**, 475 (1970)
10. Kasai, N. and Yamano, A.: *J. Exp. Med.* **34**, 329 (1964)
11. Kasai, N.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **133**, 486 (1966)
12. Alice, J., Burton and Carter, H.E.: *Biochemistry*, **3**, 411 (1964)
13. Clarko, K., Gray, G.W. and Reaveley, D.A.: *Biochem. J.*, **105**, 749 (1967)
14. Adams, G.A., Kates, M., Shaw, D.H. and Yaguchi, M.: *Can. J. Biochem.*, **46**, 1175 (1968)
15. Adams, G.A. and Prem. Pal Singh: *Can. J. Biochem.*, **48**, 55 (1970)
16. Gmeiner, J., Lüderitz, O. and Westphal, O.: *Europ. J. Biochem.*, **7**, 370 (1969)
17. Alaupovic, P., Olson, A.C. and Tsag, J.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **133**, 546 (1966)
18. Strominger, T.L., Park, J.T. and Thompson, R.E.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 3263 (1959)
19. Suzuki, O. and Strominger, J.L.: *J. Biol. Chem.* **235**, 2768 (1960)
20. Kamio, Y., Kim, K.C. and Takahasi, H.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 2425 (1972)
21. Kamio, Y., Kanegasaki, S. and Takahasi, H.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **15**, 439 (1969)
22. Kanegasaki, S. and Takahasi, H.: *J. Bact.*, **93**, 456 (1967)
23. Bose, S.K., Gest, in H.: In *Bacterial Photosynthesis*, The antioch press, Ohio, 501(1963)
24. Newton, W.J., Wilson, P. W., and Burris, R.H.: *J. Biol. Chem.*, **204**, 445 (1953)
25. Kamio, Y., Kim, K.C. and Takahasi, H.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 2195 (1972)
26. Elson, L.A., Morgan, W.T.J.: *Biochem. J.*, **27**, 1824 (1933)
27. Harrigan, W.: *Laboratory method in Microbiology*, Academic press, 8 (1966)
28. 舟橋三郎, 原一郎, 山川民夫編: *脂質 I*, 共立出版社 p.339 (1970)
29. Cheng, K.J. and Costerton, J.W.: *J. Bact.*, **116**, 426 (1973)
30. Fletcher, M. and Floodgete, G.D.: *J. Gen. Microbiol.* **74**, 325 (1973)
31. Basu, P.S. and Biswas, B.B.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **15**, 365 (1969)
32. Costerton, J.W., Igram, J.M. and Cheng. K.J.: *Bacterial Rev.* **38**, 87 (1974)