
Encyclopedia of Science and Technology
McGraw-Hill·Kodansha

世界科学大事典

講談社

10 *Encyclopedia of Science and Technology*

世界科学大事典

発行 昭和52年 3 月20日 第1刷発行
昭和54年11月27日 第3刷発行
編集 講談社出版研究所
発行者 野間省一
発行所 株式会社講談社
所在地 東京都文京区音羽2-12-21 電話東京(03)945-1111(大代表)
郵便番号 112
振替 東京8-3930
製版・印刷 凸版印刷株式会社
製本 牧製本印刷株式会社
用紙 三菱製紙株式会社
表紙 東洋クロス株式会社

N. D. C. 403 502p. 31×22cm
©KODANSHA 1977 Printed in Japan
落丁本、乱丁本はおとりかえいたします。
3540-439600-2253 (0)

世界科学大事典

10

セイフーソン

McGRAW-HILL ENCYCLOPEDIA OF SCIENCE AND TECHNOLOGY Copyright©1971,
McGRAW-HILL YEARBOOK OF SCIENCE AND TECHNOLOGY Copyright©1971,
McGRAW-HILL YEARBOOK OF SCIENCE AND TECHNOLOGY Copyright©1972,
by McGraw-Hill Book Company Inc.
Japanese translation rights arranged through Charles E. Tuttle Co., Inc., Tokyo.

セイブ

生物学～セン類(綱)

生物学 せいぶつがく

〔Biology〕生命を研究対象とする自然科学の1分科。生物学は、生命のない物質に関する物理科学とは対照的に、生きものにかかわる科学である。生物学は、生物のあらゆる角度からの研究に関する幅広い知識であり、自然科学の方法によって研究することができる。この分野は非常に範囲が広いので、植物学と動物学という2つの主要な分野にわけられており、それらはさらに多くの特別な研究分野をもっている。生物学のすべての分野を完全に知りつくすことはできない。植物および動物の両方に関係する生物学の特殊な分科には分類学、形態学、発生学、生理学、細胞学、遺伝学、進化論、生態学が含まれる。生物学という言葉には、植物や動物の起源、成長、発生、構造、機能、進化、分布などに対する幅広い適用の原理が含まれている。→一般生理学；遺伝学；細胞学；植物；植物学；生態学；動物；動物学；発生学；微生物学；分類学

〔CHARLES B. CURTIN〕

生物学的製剤 せいぶつがくてきせいざい

〔Biologicals〕生物学的製剤とは、種々の感染症、あるいは生物が産生する毒素に対する免疫を誘発させるものである。生物学的製剤という言葉は、言葉そのものもっている意味以上に制限されて用いられ、感染症にかかって治ったヒトや生物が産生する毒素に何回も触れたヒトが自然に産生するのと同じ性質の免疫を与える免疫血清、抗毒素、ワクチン、トキシイドなどをいう。薬品の統制上の便宜のため、以前は、ヒトまたは動物に由来し、他の生物学的製剤と同じ方法で、安全性の試験が行われる治療剤は、免疫産生力のないものでも生物学的製剤とされていた。→免疫

免疫血清 生物学的製剤の主なもの1つで、動物およびヒトの免疫血清が含まれる。ヒトおよび動物は、種々の感染症(すべてではないが)の回復期に血しょう中に防御物質が認められるようになる。また毒素や死菌、ウイルスなどを注射したあとにも同様の物質が血しょう中に認められる。この防御物質は抗体と呼ばれ、血しょうのガンマグロブリン分画中に存在している。そして、この防御物質を作らせる原因となったものと抗原と同一のもの、あるいは非常に近いものとだけしか反応または中和しないという点で特異的である。すなわち、ジフテリア毒素に対する抗毒素は、ジフテリア毒素しか中和せず、破傷風毒素には作用しない。→血清

抗体をもっている動物の血清を、ヒトのある種の病気の治療や予防のために、筋肉内あるいは静脈内注射として用いる。このように前もってほかの動物で作った〈借りもの〉の抗体の注射を受動免疫といい、自分自身の体内で抗体を産生する能動免疫と区別している。受動免疫は即座に効果をもたらすという点で有利であるが、他の動物からとったタンパクは、ヒトからとったものでさえも、受容者の体内で比較的すみやかに分解されるので、

効果は一時的である。

〔種類〕 ウイルスや細菌を破壊する抗体を含んでいる血清を抗血清あるいは免疫血清という。細菌毒素を中和する抗体を含む血清を抗毒素という。毒ヘビや毒グモの毒を中和する抗体を含む血清を抗ヘビ毒抗体という。

受動免疫に用いる製剤は、免疫血清あるいはそのグロブリン分画で、製剤名には、治療する病気、中和する毒素、その血清をとった動物名、全血清かグロブリン分画かが示されている。例えば、百日ぜき免疫ウサギ血清、麻疹(はしか)免疫グロブリン(ヒト)、ジフテリア抗毒素グロブリン(ウマ)、破傷風免疫グロブリン(ヒト)、抗Rh₀(D)ヒトガンマグロブリンなどである。

〔製法〕 種々の免疫血清や抗毒素の一般的な作り方は、こまかい点が異なるだけである。免疫を産生させるための抗原として、ウイルス、細菌、毒素、赤血球、ヘビ毒などを少量ずつ増加しながら数回、ウマ、ウシ、ウサギ、ヒトに注射する。これらの抗原は注射する前に、薬品で前処置をして、感染力や毒力をなくしてから用いる。数か月以上にわたって動物に抗原を注射すると、その抗原に対する特異抗体がかなり多量産生される。血中の抗体濃度が高くなったとき、動物から採血して血清を分離する。この血清を化学的に分画して、アルブミンや他の非抗体部分を除き、抗体グロブリン濃度の高い分画をとる。この抗体グロブリンを酵素で消化させて、不要な成分を除去することがある。この抗体液をろ過滅菌し、また細菌で汚染されないように少量の防腐剤を加えておく。

〔規格〕 免疫血清またはグロブリン濃縮液の各ロットについて、無菌であること、発熱性不純物(発熱因子)がないこと、事故による毒物の混入がないことを検査する。さらに各血清について抗体濃度を測定する。免疫血清の力価の決定は、その種類によって方法が異なるけれども、マウスかモルモットを標準量の生菌あるいは毒素による致死作用から防ぐために必要な抗体量を測定することによってなされる。測定しようとする免疫血清またはグロブリンの防御量を、標準免疫血清または抗毒素の防御量と比較して、相対的力価を算出する。抗毒素の用量は単位で表示され、細菌やウイルスに対する免疫血清やグロブリンの用量はmlで表示されている。

〔副作用〕 予防や治療のために動物の免疫血清をヒトに注射すると、不都合なことが起る。免疫血清を注射されたヒトは、動物の血清タンパクそのものに対する特異抗体を生じ、その種の動物の血清タンパクに対してアレルギーの状態になる。したがって、同じ種の動物の血清を後日再び注射すると、何年もたったあとにでも致命的なアナフィラキシーショックを起すことがある。以前に血清を注射されたことのある患者には、血清を微量皮下に注射して過敏状態の有無を検査する。陽性の場合には、注射部位に即座にかゆみ、炎症、腫脹(はれ)が生ずる。→アナフィラキシー；過敏症

動物の免疫血清の注射によって起る急性でない第2の型の副作用は血清病といわれる。注射後、4～10日めこ

2 セイブツガクテクトクイセイ

ろに発熱，じんましん，ときには関節痛が生ずる。普通は致命的ではない。

多くのヒトは麻疹とポリオの抗体を，病気から回復したか，あるいは不顕性感染の結果としてもっている。したがって，任意に集めた正常なヒトの血清中には，これらの感染症を予防するか，あるいは軽減させるに十分な抗体が含まれている。このようなヒトの血清タンパクは，動物血清による受動免疫によって起るようなアレルギー性過敏症を起すことはほとんどない。さらに，酵素消化を行ったヒトグロブリンは安全で，静脈内注射ができる利点がある。

能動免疫用製剤 生物学的製剤のもう1つの大きな部類に属するものとして能動免疫用製剤がある。これには病気を起す毒素，ウイルス，細菌を投与しても安全であるように処理した製剤が含まれる。生体は自然の毒素または病原体と，それを人工的に処置したものとの区別をすることができず，これらの製剤を注射した場合も，自然に感染した場合と同じように免疫を生ずる。ワクチンは殺すかあるいは弱毒化した細菌またはウイルスの懸濁液，あるいは抽出液である。トキソイドは病気の原因となる細菌毒素を化学的に変化させたものである。能動免疫に用いる製剤には，免疫を生ずる病名と製剤の種類を表示してある。例えば，腸チフスワクチン，ジフテリアトキソイド，破傷風トキソイド，麻疹ワクチン，ムンプスワクチン，ポリオワクチンなどである。

〔抗原の修飾〕 ワクチンやトキソイドは毒性をなくしてしかも抗原性を失わないように作ることが重要である。痘瘡(痘)，麻疹，黄熱，ムンプス，ポリオなどのウイルス，および結核菌は弱毒化して用いられる。すなわち，これらの弱毒化微生物株は宿主体内でわずかに増殖するが，進行性の感染症や病気の症状を起さないように変化させたものである。このような微生物株で作ったワクチンを弱毒ワクチンという。そのほかのウイルスは少量のホルムアルデヒドを加えて完全に感染力をなくし，一方細菌はホルムアルデヒド，石炭酸，または水銀化合物(マーゾニン)で殺す。このように殺滅した微生物で作ったワクチンを死菌ワクチンという。腸チフスワクチン，百日ぜきワクチン，ポリオのソークワクチンなどは不活化ワクチンまたは死菌ワクチンである。多くの細菌毒素は少量のホルムアルデヒドを加えて37°Cに保温すると，無毒化される。このように変化した毒素はトキソイドと呼ばれ，毒素を中和する抗毒素産生能をもっている。実用的にはジフテリアトキソイドと破傷風トキソイドが最もよく使われている。

〔ワクチン〕 細菌ワクチンは一般的にみて，特別に選択した菌株を適当な培地中で培養して，菌を集め，生理食塩水に懸濁させ，殺菌剤を加えて37°Cで作用させ，完全に殺菌したものである。免疫抗原を精製するために細菌から抽出精製したり，化学的に分画したりすることがある。抗原の懸濁液または，精製抗原を生理食塩水で希釈して必要な力価とする。これらのワクチンは，無菌的であること，毒性がないこと，免疫力があることを検査したのちに使用する。

ウイルスは生きた細胞内で増殖するので，ふ化鶏卵，または生きた動物に接種するか，組織培養を行って検査する。卵液，動物の組織をすりつぶしたジュース液，組織培養液中にウイルスが含まれている。ホルムアルデヒドによって処置したのち，このウイルス液について，安全性，無菌性，力価を検査してから免疫用に使用する。ウイルスの生ワクチンは，種々の動物または組織培養で継代して弱毒化したウイルスで作る。これらは生きた細胞内で増殖する。安全性，細菌が混入していないこと，力価，偶発性発病因子がないことを検査したのち免疫用に使用する。ウイルスの生ワクチンは経口的に(ポリオのセービンワクチン)，あるいは注射(麻疹ワクチン)によって投与される。ウイルスの生ワクチンは軽症ながら感染症を引き起し，自然感染のあとで生ずるのと等しい持続性免疫を与える。

〔トキソイド〕 トキソイドに，ミョウバン，水酸化アルミニウム，またはリン酸アルミニウムを加えると，トキソイド分子を沈殿させ，懸濁液となる。これはもとのトキソイドよりも免疫効果がよく，より少量で同等以上の免疫を産生する。ミョウバン沈殿ジフテリアトキソイドは，普通のトキソイドよりも広く好んで用いられている。

多重免疫 同時に数種の病気にに対して免疫すると便利なので，いろいろな抗原を混合しておいて，2～3回分の注射を1回ですることができる。ミョウバンを加えた百日ぜきワクチン，ジフテリアトキソイド，破傷風トキソイドの混合製剤が乳児の免疫に広く用いられている。これに，ポリオワクチンの3つの型が加えられた。腸チフスワクチンと破傷風トキソイド，または麻疹と痘瘡ワクチンの組合せも用いられている。

いろいろな免疫抗原を混合して1回の投与ですませることは，用量をできるだけ少量にしなければならず，それぞれの抗原は互に適合するものでなければならぬため，複雑な問題がある。容量を減らし，免疫に寄与しない毒性の不純物を除くために，抗原の精製と濃縮に関して多くの研究がなされてきた。破傷風トキソイド，ジフテリアトキソイド，インフルエンザワクチンはよく精製されている。また種々の病原菌の抽出分画(百日ぜきおよびコレラワクチン)が現在免疫に用いられている。

獣医学上の利用 ヒトと同様に家畜や愛がん動物も病気の予防が必要であるので，多くの獣医用生物学的製剤がある。ワクチンやトキソイドが，ヒト用のものと同様の方法で作られている。

血液由来製剤 能動免疫や受動免疫のための製剤以外に，ヒトまたは動物に由来する2,3の製剤が生物学的製剤に入れられている。1つは，正常人の血しょうそのものまたは血しょうを材料にした製剤である。全血しょうと血清アルブミンは出血やショックの治療に用いられ，ほかの分画は血友病の治療や凝固作用のために用いられる。Rhマイナスの婦人に，分娩(産)時に抗Rh₀(D)ガンマグロブリンを投与すると，胎児のRh感作や胎児赤芽球症が阻止できる。これらの製剤は感染症に対する免疫を与えるものではないが，免疫血清と同様に，無菌性，安全性，発熱物質がないことを検査しなければならない。→血液型；胎児赤芽球症

診断薬 そのほかの生物学的製剤として感染症の診断に用いられる試薬がある。これには，病原菌やウイルスの血清学的型別や同定のための免疫血清，患者血清中の抗体を検出するための種々の診断用抗原がある。また，検査室で使用されるもの以外に，アレルギー性過敏症を調べるために細菌や真菌の抽出液が皮内注射用として用いられる。結核やブルセラ症などの場合，患者は原因菌のある成分に対して過敏性となる。このようなヒトの皮内に，対応する菌の抽出物を注射すると遅延型アレルギー性炎症が起るが，感染していないヒトには起らない。したがって，皮内反応は種々の病気の診断の助けとなる。→皮膚テスト

アレルギー製剤は，種々の植物性・動物性物質に対してアレルギーのあるヒトの診断，予防，治療に用いられる。これはアレルギーとなる物質(花粉，羽，毛，鱗屑等)を50%グリセリン液に懸濁させたものである。→免疫学 [LEE F. SCHUCHARDT]

生物学的特異性 せいぶつがくてきとくいせい

〔Biological specificity〕 生きている細胞はすべて，何百もの強い反応力のある化学物質をもっている。しかし，これらの物質の代謝や発育は無制限に起るのではなく，個体や種の特性を発揮させる，一定の様式に従って起る。このような特性を示す原理を生物学的特異性といい，生物学のあらゆる分野で多くの例をあげることができる。→細胞(生物学)

特異性はまず，化学的レベルで起る。最も重要な例

は、酵素と基質との間の構造上の適合性である。抗原と抗体の間でも、同様の特異的な反応が起る。また、卵と精子の受精や、花粉の受精の特異性も、まれに例外として雑種ができることがあるが、動物および植物の種に特有な性質を維持するうえで非常に重要である。化学的な決定因子のほかに、生殖の特異性は、動物や植物が、別の種とは交配できないようになっている解剖学的な特徴や、行動性によっても決る。→抗原抗体反応；酵素；種形成；受精

2つ以上の異なる種の間の関係は、正確に区別されている。寄生はその1例である。すなわち、若干の例外はあるが、ある病原性の微生物は、動物あるいは植物のいずれかに感染し、両方に感染することはない。さらに、動物または植物それぞれの中で、宿主特異性があり、ある微生物には1つの種、例えば、ヒトだけにしか寄生しない性質がある。ある種の寄生体、例えば、住血吸虫、マラリア原虫、コムギさび病の病原体は、生活環が完成されるためにはそれぞれ複数の特定の動物か昆虫(諳^ち)あるいは植物を宿主に選ぶ。1組のパートナーとして互に好都合な関係が成立していることもある。トルコイチジク、イトラン、ある種のラン科植物の受精には花粉を運ぶために特殊な昆虫を必要とする。地衣類植物にみられる藻類および真菌類との関係もてだらめに起っているのではない。→寄生虫学；コムギ；住血吸虫症；地衣類；マラリア

[HENRY P. TREFFERS]

生物群集 せいぶつぐんしゅう ⇨ バイオーム

生物圏 せいぶつけん

[Biosphere] 地球上の生命体が存在する領域のことで、大気圏、水圏、岩石圏という分類と多少違い、生物が生息する地球の外側の空間をすべて含んでいる。すなわち、大気圏の下部、最大深度10,863 mにおよぶ水圏全体、土壌および深さ2 kmまでの岩石圏(ある種の細菌が石油堆積物中に存在する)からなりたっている。生物圏という言葉は、地球上の生物体の全量を表すのに用いられたこともあるが、この使用法は不適當である。生物圏という概念は、ラマルク(J. B. Lamarck)によって導入され、その後1875年にシュース(E. Suess)によって定義された。人類の地質学的活動範囲が大きいことから、現代の生物圏は、しばしば人類圏(anthroposphere)あるいは人智圏(noosphere)ともいわれている。→岩石圏；水圏；生物圏の地球化学；大気

[JOHN R. VALLENTYNE]

生物検定 せいぶつけんてい

[Bioassay] 動物、植物、あるいは微生物を利用した物質の定量法。すなわち、被検物質が制限された条件のもとでこれらの生物に生育上どんな影響を及ぼすかを調べることによって、その物質を定量する方法である。この方法によって定量できる物質はビタミン、アミノ酸のような生育を促進する物質あるいは生育に必要な物質、またはペニシリンのように細菌の増殖を阻止する物質である。この方法はビタミン、アミノ酸、痕跡(諳^{せき})物質などの定量に応用され、動物や微生物の栄養要求性の研究に発展をもたらした。このような研究によって、微生物の栄養要求性は高等動物に似ていることがわかった。

この項目では、生物検定の原理すなわち、微生物を利用したビタミン、アミノ酸、抗生物質の定量法、消毒薬の検定法、動物を用いた生物検定法、および自動分析装置を用いた方法について述べる。

原理 どんな生物が用いられる場合でも、その原理は同じである。これに用いる生物の基本飼料、あるいは微生物の基礎培地には、生育に必要なすべての要素の中から定量しようとする1つの物質だけを除外したものをを用いる。このように限定された条件のもとで、加えられ

た生育因子の量に応じて、その生物は生育する。既知の純粋な物質でつくった標準曲線と比較することによって、未知の物質を定量することができる。生育の程度を測定する方法は、分析の種類によって異なる。動物の場合は、体重の増加を測定する。微生物の増殖の程度を知るには、濁度、乾燥菌量、菌体窒素量、あるいは細菌数を測る直接的な方法と、二酸化炭素や酸などの代謝産物を測定する間接的な方法がある。

微生物を用いる定量法

生物検定として、以前は動物が用いられていたが、1936~45年に得られた微生物の栄養に関する知識の進歩によって、天然物質の中のビタミンやアミノ酸の定量に微生物が用いられるようになった。この方法は正確、迅速、かつ便利で、粗製の材料中に痕跡量存在しているビタミン、あるいはビタミン様物質の存在を検出したり、追跡したりするのに非常に感受性がよい。これらの物質の多く(ニコチン酸、パントテン酸、パンテテイン、イノシトール、ビオチン、ビリドキサル、ビリドキサミン)は、その後動物にとって重要な物質であることがわかった。微生物によるホール酸とビタミンB₁₂の定量法が開発され、これらのビタミンの分離に役立った。微生物を用いる定量法は、今日もなお個々のビタミンの測定に用いられる迅速で特異的な方法である。微生物を用いる方法は、動物を用いる方法よりも多くの利点がある。すなわち、時間、手数、材料が少なく済み、費用もかからず、さらにより正確である。1つの不利な点は、微生物を用いて定量する場合には、ビタミンは自然界では結合型として存在しているが、それから抽出しなければならないことである。十分に根拠のない場合もあるが、動物は結合型を完全に利用できると一般に考えられている。しかしこの方法によって、今までに知られていなかった数種の結合型のビタミン、例えば、パンテテイン、ホリニン酸、ビリドキサミンリン酸などの検出、分離、定量が可能になった。→ビタミン

ビタミンの定量 微生物は、アスコルビン酸以外の水溶性ビタミンのうちどれを必要とするかがわかっている。ビタミンの定量には、種々の酵母や乳酸菌が広く用いられている。乳酸菌は、乳酸桿(𪛗)菌属 *Lactobacillus*、レンサ球菌属 *Streptococcus*、ペディオコックス属 *Pediococcus*、あるいはロイコノストック属 *Leuconostoc* に属する種であり、ビタミンとアミノ酸の定量に他の微生物よりもよく用いられている。種々の変法が発表されているけれども、方法論はすべて同様である。ここではニコチン酸(ニアシン)の定量法を一般的な方法として記載する。他のビタミンの定量法については表1に記載する。

1. ニコチン酸の抽出物をつくるためには、ホモゲナイズした試料を正確に秤量(諳^{ていりょう})し、抽出液1 ml中に1μgのニコチン酸が含まれるように1N-H₂SO₄を加えて、15分間オートクレーブにかける。この混合物を冷却してpHを6.8とし、ニコチン酸の含量が0.1~0.2 μg/mlとなるように希釈して、ろ過する。

2. 定量に用いる微生物はラクトバチルス・アラビノーズ *Lactobacillus arabinosus* 8014で、毎月1回培地(1%酵母エキス、0.25%グルコース、1.5%寒天を含む)に穿刺(諳^{せんし})培養して継代する。

3. 基礎培地については表2を参照のこと。

4. 接種菌は定量を行う前日に準備する。穿刺培養してある保存株を、試験管1本当たり1 μgのニコチン酸を含む10 mlの基礎培地に移植し、37°Cで16~24時間培養する。遠心分離して菌体を滅菌水で洗浄したのち、10 mlの滅菌水あるいは生理食塩水に懸濁させる。この液1滴を各定量用試験管に加える。

5. 定量は18 mm×150 mmの試験管で行う。1列の試験管に新しく調製したニコチン酸標準液(0.1 μg/ml)を、0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 ml入れる。同様に、1の方法でつくった定量すべき検体の抽出液を、ニコチン酸量が0.025~0.45 μgとなるように試験管に入れる。加える抽出液の

4 セイブツケンテイ

表1 水溶性ビタミン類の代表的な定量法

ビタミン	試験菌	文献*
p-アミノ安息香酸	アカバシカビ(変異株) <i>Neurospora crassa</i>	468
ビオチン	ラクトバチルス・アラビノース <i>Lactobacillus arabinosus</i>	393
	サッカロミセス・セレビシエ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	428~429
コリン	アカバシカビ(変異株)	464~465
ホール酸	カセイ菌 <i>L. casei</i>	404~405
	糞(土)便レンサ球菌 <i>Streptococcus faecalis</i>	401~404
イノシトール	サッカロミセス・カルスベルゲンシス <i>S. carlsbergensis</i>	445
リボ酸	乳酸桿(乳)菌 <i>L. lactis</i>	↑
ニコチン酸	ラクトバチルス・アラビノース	364~369
パントテン酸	ラクトバチルス・アラビノース	385
リボフラビン	カセイ菌	340~354
チアミン	ラクトバチルス・フェルメンティ <i>L. fermenti</i>	376
	サッカロミセス・セレビシエ	452~457
ビタミンB ₆		
ピリドキシン+		
ピリドキサミン		
+ピリドキ		
サル	サッカロミセス・カルスベルゲンシス	438
ピリドキサミン		
+ピリドキ		
サル	糞便レンサ球菌	412~413
ピリドキサル	カセイ菌	411~412
ビタミンB ₁₂	ラクトバチルス・ライヒマニ <i>L. leichmannii</i>	*

* (Vitamin Methods, 1950)

† (J. Biol. Chem., 1951)

* (The Pharmacopoeia of the United States, 1955)

量は5 ml以下でなければならない。すべての試験管が5 mlとなるように蒸留水を加え、次に、2倍の濃度につくった基礎培地を各試験管に5 ml加える。綿栓(栓)あるいはキャップをし、15ポンドの圧力で10~15分間オートクレーブにかけ、冷却後、各試験管に菌液1滴を接種し、37°Cで24時間培養する。その後、光電比色計で濁度を測定する。増殖した培地の濁度は、色による光の吸収が最小である560 mμ以上で測定するのがよい。比色計の読みには、前もってつくった濁度と乾燥菌量との換算表を用いる。細菌の濃厚な懸濁液の希釈列の光学的濃度(OD)を測定し、その液の一定量を乾燥させて秤量することによって曲線がつくられる。それぞれの希釈において、乾燥菌量に相当するODの読みから、望む曲線が得られる。増殖程度を濁度で測定する代りに、培養時間を72時間に延長して、生じた酸を0.1N-NaOHで直接滴定してもよい。

6. 結果を算定するためのニコチン酸の標準曲線は、濁度(光学的濃度あるいは乾燥菌量)を図表に描くか、あ

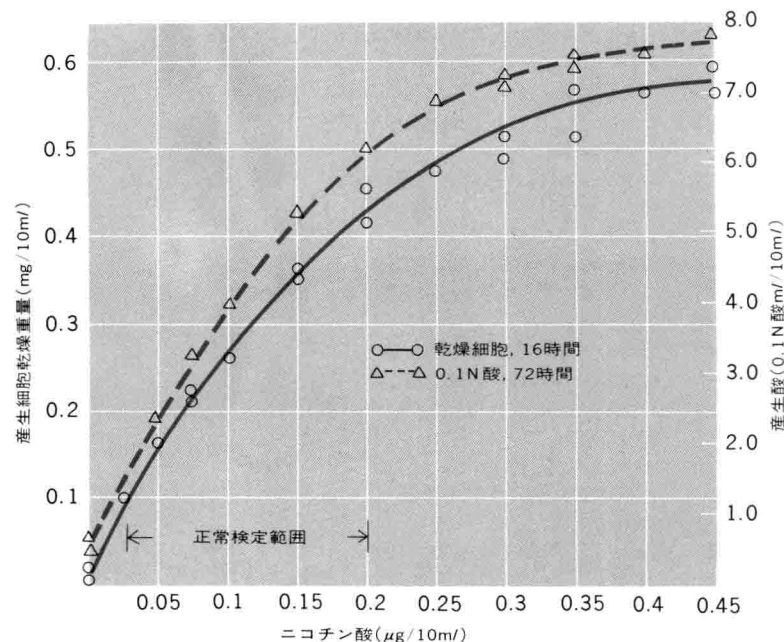


Fig. 1 ニコチン酸濃度とラクトバチルス・アラビノース *Lactobacillus arabinosus* の増殖および酸産生との関係

表2 ラクトバチルス・アラビノースによるニコチン酸の定量用基礎培地

成分	2倍濃度培地100ml当りの量
ビタミンを含まない酸加水	
分解したカゼイン	1.0g
グルコース	2.0g
酢酸ナトリウム	1.2g
L-シスチン	0.02g
L-トリプトファン	0.02g
アデニン	2.0mg
グアニン	2.0mg
ウラシル	2.0mg
リボフラビン	40μg
チアミン塩酸塩	20μg
パントテン酸カルシウム	20μg
ピリドキシン	20μg
ビオチン	0.08μg
無機塩類*	
A 溶液	1.0ml
B 溶液	1.0ml
pH補正	6.8

* A溶液 25gK₂HPO₄, 25gKH₂PO₄, 水を加えて250mlとする
B溶液 10gMgSO₄·7H₂O, 0.5gNaCl, 0.5gFeSO₄·7H₂O, 0.5gMnSO₄·H₂O, 水を加えて250mlとする。

るいはニコチン酸の各濃度の標準液の滴定値からつくる。試料中のニコチン酸の含量は、標準曲線から決定する。曲線が急に上昇する部分の値だけを用いるべきである。これらの条件のもとで得られた典型的な標準曲線をFig. 1に示す。

微生物を用いる方法の精密度は、普通±10%である。しかし、この変動は操作上のもので、増殖性自体の再現性によるものではない。よい条件のもとでは、再現性は±3%よりもよい。同じ試料の定量データを信頼して比較できるような別な方法によるデータはない。それゆえ、1つの定量法を評価する際、研究者は一定の試験物質を加えて、その回収率を調べたり、分析値の再現性を調べることによって立証している。一般に必須(?)栄養物質の定量は、増殖を促進するだけの物質の定量よりも正確である。→ニアシン

アミノ酸の定量 この方法には、個々のアミノ酸に対して特異的な栄養要求性をもっている微生物を使用する。1種の微生物が、数種のアミノ酸の定量に用いられることもある。→アミノ酸

アミノ酸の定量に用いる基礎培地は、ニコチン酸に用いるものに似ているが(表2)、ビタミンの完全な組合せと、加水分解したカゼインの代りに純粋なアミノ酸の混合物(定量すべき1つを除き)を含んでいる。操作はニコチン酸の場合とまったく同じで、それぞれのアミノ酸の検量曲線も同様にしてつくる。

個々のアミノ酸の定量に用いる微生物は表3に示す。標準曲線をつくるためには、純粋のL-アミノ酸を用いなければならない。わずかの例外はあるが、D-アミノ酸は定量微生物に不活性である。標準曲線をつくるのに必要なアミノ酸の濃度を表4に示す。

ある種の微生物は、ペプチドを利用する。そして、分析値は定量条件、使用菌によって左右され、そのアミノ酸組成から予期される値よりも活性が大きかったり、あるいは小さかったり、また等しいこともある。ゆえに、一般にタンパク質を定量する前に完全に加水分解しなければならない。タンパク質の完全な加水分解に必要な最小時間は、実験的に決めることができるが、一般的な方法は次のとおりである。細かくして秤量した試料を試験管に入れ、40倍量の3N-HClを加え、減圧にして密封する。15ポンドの圧力で5~10時間オートクレーブにかけ、冷却後中和する。トリプトファン、チロシンおよび他のアミノ酸も、少量の場合は酸加水分解によって破壊されるので、これを避けるためには改良法を用いなければならない。

抗生物質の定量 抗生物質の定量は、感受性のある微生物の増殖抑制を調べることによって行われる。この方

表3 アミノ酸の定量に用いられる細菌

菌名と菌株番号(ATCC)	分析目的
ラクトバチルス・アラビノース <i>Lactobacillus arabinosus</i> 8014	グルタミン酸, ロイシン, イソロイシン, バリン, フェニルアラニン, トリプトファン
ラクトバチルス・デルブリュッキ <i>L. delbrückii</i> 9595	フェニルアラニン, チロシン, セリン
ロイコノストック・シトロボーラム <i>Leuconostoc citrovorum</i> 8081	アラニンと他のほとんどのアミノ酸
ロイコノストック・メゼンテロイデス <i>L. mesenteroides</i> 8042	アラニン以外のすべてのアミノ酸
糞便レンサ球菌 <i>S. faecalis</i> 8043	グルタミン酸, ヒスチジン, リシン, アルギニン, ロイシン, イソロイシン, バリン, メチオニン, トレオニン, トリプトファン

(Methods in Enzymology, 1957)

表4 標準曲線の作成のために適当なアミノ酸濃度

アミノ酸 (L-型)	検定範囲 ($\mu\text{g/ml}$)	アミノ酸 (L-型)	検定範囲 ($\mu\text{g/ml}$)
アラニン	0~25	リシン	0~20
アルギニン	0~20	メチオニン	0~5
アスパラギン酸	0~20	フェニルアラニン	0~5
シスチン	0~5	プロリン	0~10
グルタミン酸	0~25	セリン	0~10
グリシン	0~15	トレオニン	0~10
ヒスチジン	0~5	トリプトファン	0~2
イソロイシン	0~15	チロシン	0~10
ロイシン	0~15	バリン	0~15

(Methods in Enzymology, 1957)

法は製造用原料の検定、市販の製品の力価検定、抗生物質を投与されているヒトの体液中の抗生物質の定量、微生物の培養液およびその他の物質からの新抗生物質の検出などに利用されている。定量に使用する微生物は、被検抗生物質に感受性があること、安定であること(感受性や相の変化が起らないこと)、培養が容易であることが重要で、さらに病原性がないことが望まれる。方法はその目的によって選択される。

〔希釈法〕 被検物質を数段階に希釈して液体培地に加える。そのまま数時間以上培養すると、無菌的操作が完全であったかがわかる。試験管に微生物を接種し、培養後、微生物の増殖、あるいは容易に観察できる他の機能を抑える最小濃度または1/2に減少する濃度を計算する。

固形培地を使用する場合(寒天培地に塗抹⁵⁾する方法)は、種々の濃度の抗生物質を含む寒天平板培地の表面に数種の細菌を線状に塗抹する。この方法は希釈法よりも不正確であるが、どんな細菌が阻止されるのか、その抗生物質によってどの程度阻止されるのか(抗菌スペクトル)を知るのに迅速な方法として利用されている。

〔拡散法〕 カップ法かディスク法が水平拡散法としてよく行われる。寒天平板培地の表面に菌液を塗抹して、37°Cで少し乾燥させる。ガラス、陶器またはステンレススチール製の円筒状カップを4~5個立て、その中へ検査しようとする抗生物質の液を入れる。このカップの代りに、ろ紙ディスクを用いても、あるいは液を入れるくぼみをつくってもよい。この平板培地を適当な時間培養する(ペニシリンの場合は37°Cで12~16時間)、薬剤が拡散した範囲では細菌が増殖せず、はっきりした阻止円が現れる。この阻止円の直径を測定し、標準液によって生じる阻止円の直径と比較する。

〔濁度測定法〕 この方法では、段階的に反応がわかるので、効くか効かないかをみる希釈法とは異なる。種々の濃度の抗生物質を含んでいる液体培地中の細菌の増殖を光電比色計で測定し、各濃度の抗生物質含量での検流計の読みから標準曲線をつくる。同じ条件のもとで、同時に被検溶液の濁度測定を行い、標準曲線と比較して計算する。

〔体液中の抗生物質の定量〕 この場合は少し難点がある。含まれている抗生物質は低濃度で、しかも採取できる体液量は限られているので、感度の高い方法で行わねばならず、ある場合には微量測定法で行われる。さらに

表5 フェノール係数法に必要な細菌のフェノール抵抗性*

細菌	希釈	5分	10分	15分
腸チフス菌 <i>Salmonella typhosa</i>	1:90	+	+	+
黄色ブドウ球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	1:60	+	+	+
	1:70	+	+	+

*—:増殖せず, +:増殖。

正常体液中に存在している成分によって、抗生物質が破壊されたり、あるいは力価が変えられたりすることもある。また検査に用いる微生物の増殖が、血液や血清中の成分によって促進されたり抑制されたりすることがある。一般に、次の方法によってこれらの難点を切抜けることができる。

(1)感受性のある微生物を選ぶ。体液成分によって増殖に影響をうけるような微生物は避けること。(2)微量法を行う場合に用いる微生物は、希釈されていない体液中で増殖できるものであること。(3)妨害物質から抗生物質を抽出すること。

これらの方法の精度は操作者の熟練度にかかっている。その精度は、分析値の再現性を調べることによって確認できる。

[BEVERLY M. GUIRARD/ESMOND E. SNELL]

〔消毒剤の検定〕 消毒剤の検定には2つの目的がある。1つは、ある製品の殺菌力をフェノールのような標準品と比較して表示するためのもので、もう1つは予期する殺菌効果をもたらすための濃度を決定するためのものである。すべての殺菌力試験があらゆる型の消毒剤に適用できるとは限らない。消毒剤の化学的な性質のほか、その作用機構と使用目的によって検査法が決定される。検査条件はできるだけ実際に使用するときの条件に近づけなければならないことはもちろんである。

アメリカやその他の国では、長年にわたって、さまざまな消毒剤の検定方法が勧められている。アメリカでは消毒剤の販売は連邦法規によって取締られているので、次に説明する公的に実施されている方法を参照してもらいたい。

〔フェノール係数〕 水と混和できる消毒剤で、フェノールと類似の作用機構で殺菌作用をするものは、フェノール係数を測定する。検査に用いる細菌は、表5に示すような一定の強さの腸チフス菌 *Salmonella typhosa* あるいは黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* であるが、緑膿(緑)菌 *Pseudomonas aeruginosa* を用いてもよい。

腸チフス菌のフェノール係数は、10分間で殺菌作用が現れる消毒剤の最大希釈倍数を、同じく10分間で殺菌作用が現れるフェノールの最大希釈倍数で割って求められる。表6に1例を示す。

原則として、一般に用いられる消毒剤は、腸チフス菌に対する5%のフェノールの殺菌作用に相当する濃度で使用しなければならない。フェノール係数を20倍して得た数字が消毒剤1単位容を溶かすべき水の量である。しかし、この手段はこの溶液の殺菌力が用量希釈法(use-dilution method)によって確認されたときしか効果がない。

〔用量希釈法〕 この方法は、細菌の汚染度を減らすため

表6 フェノール係数法の試験例*

消毒剤	希釈	継代培養†		
		5分	10分	15分
消毒剤X*	1:100	—	—	—
	1:125	+	—	—
	1:150	+	—	—
	1:175	+	+	—
	1:200	+	+	+
フェノール	1:90	+	—	—
	1:100	+	+	+

*試験菌、腸チフス菌。

†—：増殖せず，+：増殖。

*消毒剤Xのフェノール係数=150/90=1.6。

に前もって洗浄していないような表面を消毒するための薬剤を検定するためのものである。検査に用いる細菌は豚コレラ菌 *Salmonella choleraesuis* と黄色ブドウ球菌である。フェノール係数の場合は、細菌を懸濁液の状態に消毒剤と作用させるが、この方法ではステンレススチールの円筒に細菌をつけて、それに消毒剤を作用させる。検査菌には緑膿菌を用いてもよい。

ある消毒剤の濃度が、腸チフス菌を用いたフェノール係数による計算で20倍になったとすれば、これは豚コレラ菌を用いた用量希釈法では殺菌力はなく、殺菌力をもたせるにはもっと高濃度にする必要があり、実際にその濃度で使用しなければならない。さらに、病院など、化膿菌の存在している場所で消毒剤を使用する場合には、用量希釈法でブドウ球菌を用いて算出した濃度にすべきである。

〔抗真菌剤の検定〕 ヒトまたは動物に病原性のある真菌を殺すために用いる薬剤の検定法である。検査菌にはフェノールに対して所定の抵抗力をもつ趾間白癬(とくわんは)菌 *Trichophyton interdigitale* を用いる。検査法はフェノール係数法に類似している。

〔抗芽胞剤の検定〕 消毒とは、存在している病原菌を殺し、病原菌による汚染を去除すること、と定義されているが、細菌の芽胞は消毒剤に対して抵抗力が強いので、この要求は芽胞を生じる細菌には求められない。芽胞を殺す作用が要求される場合は、芽胞形成菌であるクロストリジウム・スポロゲネス *Clostridium sporogenes*、破傷風菌 *C. tetani*、炭疽(ぢん)菌 *Bacillus anthracis* などの芽胞を用いて検定する。芽胞の抵抗力は一定の煮沸した塩酸に室温でさらして検査する。この塩酸に対して、少なくとも5分間の耐性がなくてはならないが、中には30分以上耐性があるものもある。抗芽胞剤を検定する場合、一定時間薬剤と芽胞を接触させたのち、培地に移して培養し、増殖の有無によって芽胞の生存を知る。

〔有効塩素法〕 有効塩素殺菌当量濃度法は、特に前もっ

て洗浄した表面を殺菌するために用いる消毒剤を検定するためのものである。この場合、一定量の各希釈濃度の消毒剤に10倍量の細菌(腸チフス菌または黄色ブドウ球菌)を接種したのち、培地に移植し、増殖の有無によって消毒剤の殺菌力を知る。

このほか、種々の使用目的に応じて多くの検定法が勧められており、実施されている。

[EMIL G. KLARMANN/SEYMOUR S. BLOCK]

動物を用いる定量

抗生物質、ビタミン、アミノ酸、増殖促進剤、殺菌剤、消毒剤、防腐剤、抗真菌剤などの生物検定には、細菌、酵母、カビ、および他の植物が用いられているが、増加しつつある多くの重要な物質の検定には動物も広く用いられている。使用動物はマウス、ラット、ハムスター、モルモットからサル、イヌ、ネコ、ブタ、ウシなどである。限定された意味では、普通は動物と考えられていないが、鳥類、カエル、爬虫(はつ)類、昆虫(こん)なども用いられる。動物による検定は、微生物の毒性を比較するために用いられる。

技術 動物を用いる検定法は、特に医薬品の効力と安全性の試験、家庭や工場で用いられるヒトに危険性のある薬品の有害性の試験に用いられる。動物に対する薬物の作用を研究する医科学を薬理学といい、毒作用を研究するものを毒物学という。→毒物学；薬理学

この種の試験には、1匹の動物をそのまま用いない場合もある。特に薬理学では、種々の定量に動物から摘出した組織を用いる。この場合は、この組織片または臓器を必要な温度、酸素、栄養素を与える溶液に浸して、必要時間生きた状態で保っておかねばならない。ウイルス学では、腎臓その他の臓器や上皮組織からとった生きた細胞の浮遊液を用いる新しい技術が開発された。がんの研究では、ヒトまたは動物からとったがん細胞を、長期間生きたまま増殖し続ける状態で保存している。

できるならば、もっと正確で時間のかからない物理的・化学的分析法の方が、複雑な動物学的定量法よりも好まれるが、多くの医薬品や生理学的活性物質の品質を管理するためには、動物の示す反応によってしかその真の作用を測定することはできない。この方法は特に、ホルモン、ワクチン、トキシソイド、抗毒素、免疫血清などの治療用製剤の効力検定に用いられている。さらに生物検定は、試験動物の示す反応がヒトの示す反応に近いことが必要である。特に毒性試験では、感受性のある動物以外に代用できるものがない。

だいたいにおいて、動物試験はかなり簡単であり、定量しようとする物質による作用の観察と測定ができるように考えられている。例えば、強心剤ジギタリスは一定量をハトの静脈内に注射し、何回の注射で心臓が停止するのか、その強さによって検定する。何羽かのハトから得た結果と、標準品による結果とを比較し、統計学的方法によって力価を計算する。同様に、ワクチンの検定の場合は、適当な動物にワクチンを注射したのち、数日あるいは数週間後に毒力のある微生物を投与して、免疫による抵抗力ができていのかどうかを検査する。このように、ワクチンの抗原性の強さを調べるために、動物の免疫産生能力を利用して検査する。

統計学 生物検定を行う場合、検査計画を立てるときも、観察結果から力価を計算するときも、統計学的方法を応用することが非常に重要である。この種の定量では、個々の動物にみられる反応に先天的な相違があるので、統計学的方法で処理することが絶対に必要である。生物検定の統計学的分析は、重要な研究分野の1つである。薬剤のヒトに対する臨床的作用を評価する場合にも、統計学を採用することが必要である。→実験；生物統計学；統計

[ELMER G. GERWE/HERBERT STOERK]

自動化法

1942年以来、ペニシリンの発見に続いて多数の抗生物質が分離された。それにつれて生物検定の必要性が増加

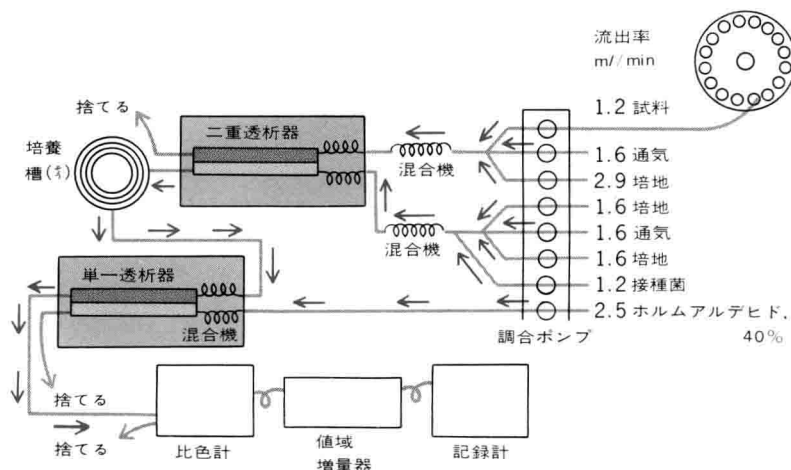


Fig. 2 自動化微生物学的検定法，比濁法図解 (Ann. N. Y. Acad. Sci., 1960)

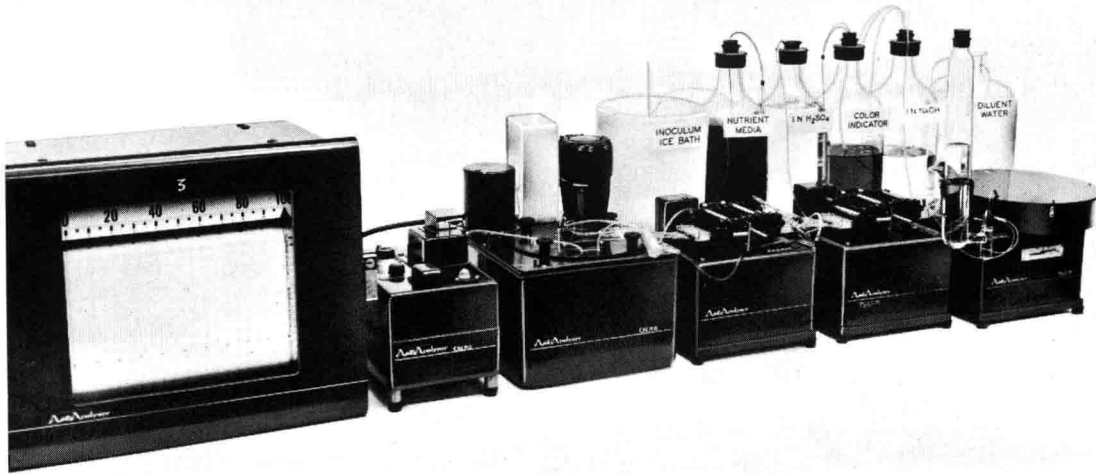


Fig. 3 比濁法装置 (Ann. N. Y. Acad. Sci., 1960)

し、16~24時間も時間のかかる従来の方法ではその要求を満たすことができなくなった。→抗生物質

測定装置 1957~58年に、微生物学的定量法を自動化する考えが提案され、その最初の試みとして、濁度測定法の自動化が実施された。接種菌と培地を調合して、十分な培養時間が保てる長さの培養コイルの中を通すようになっている。抗生物質の効力を知るために、細菌の増殖の程度を調べる。最初に用いられた装置は、Fig. 2に示されるものである。Fig. 3は2つの透析器と培養コイルで、恒温槽(3)から取出されている。基本装置は(1)検体と標準液の分配器、(2)検体、希釈液、培地、接種菌、ホルムアルデヒドなどの調合ポンプ、(3)検体を培地と接種菌の流れによく拡散するようにさせる透析器、(4)75 ft×0.125 in(内径)のポリエチレンチューブからなる培養コイル、(5)過剰の細菌増殖を抑えるためのホルムアルデヒドを加えるための透析器、(6)流れている液の濁度を測定する比色計、(7)記録計、(8)値域増量器である。

微生物学的定量法の自動化のために、多くの装置が考えられたが、自動分析機(auto analyzer)だけが用いられているので、それについて述べる。→細菌の増殖
【特徴】 自動化の長所は、正確であることと閉鎖形式で行えること以外に、流動的な流れによって培養結果を継続的に測定できる点である。被検物質を装置に入れると、あらゆる試験、培地、接種菌、希釈液、緩衝液は外界から隔離され、微生物の増殖にとって望ましい環境がつくられる。代謝によって生じた二酸化炭素や硫化水素のようなガスを集めて定量できる点も重要である。→ケモスタット

【生理学的助変数】 濁度測定法を自動化する際に直面した諸問題から、もっとすみやかに生じる現象、すなわち生理学的助変数を判定標準にすべきだという提案がなされた。その理由は、細菌を測定値に差が生じるくらいにまで十分増殖させるには時間がかかるが、細菌を不利な培地に入れたら、生理学的助変数はただちに变化するからである。特定の助変数を定量指数として選ぶためには、次の条件が満たされねばならない。(1)選ばれた助変数の分析法があることと、(2)少量の変化でも測定し得る感度があることである。最もよく使われる細菌の1つである大腸菌*Escherichia coli*は多量の二酸化炭素を生じるので、このガスが自動定量の最初の生理学的助変数として選ばれた。抑制された条件と抑制されない条件のもとで産生される二酸化炭素を定量することによって、生物検定が行われた。

微生物学的定量法の自動化は、二酸化炭素の定量だけに限られていない。算定できる他の生理学的助変数には次のものがある。グルコース消費量、産生されるすべての酸の量、乳酸産生量、硫化水素産生量、リボ核酸、デ

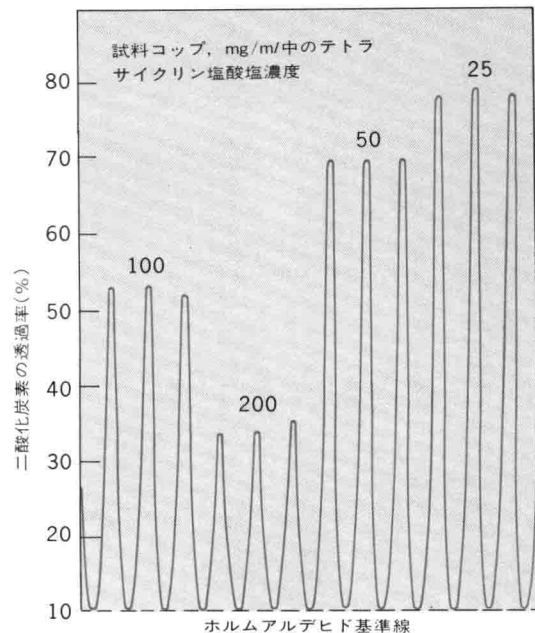


Fig. 4 二酸化炭素の定量によるテトラサイクリン塩酸塩に対する大腸菌の反応、および試料間へのホルムアルデヒド注入の効果(Automated microbiological analyses for tetracycline and polyenes, Ann. N. Y. Acad. Sci., 1962)

オキシリボ核酸の量、硝酸塩の亜硝酸への還元量、脱窒素作用によるガス産生量、硫酸塩還元量、アンモニウム塩またはリン酸化合物の消費量、ビタミン、アミノ酸その他の物質の利用量などである。

試料の扱い方 1つ1つの試料を分析する場合に、注意すべきことがある。1つの試料と次の試料との分析の間は、微生物の代謝活性を完全に止めなければならない。その間の代謝活性を止めなければ、各試料間の区別がはっきりせず、1つの試料の生じる反応が別の試料の反応と重なり合って相互作用を及ぼすことになる。この停止を完全にするために、試料間に呼吸阻害剤を注入する。これに最もよく用いられるものはホルムアルデヒドで、使用する微生物の種類と接種菌量(平均 10^7 /ml)にしたがって、4~10%のホルムアルデヒド溶液を加える。Fig. 4は、各濃度のテトラサイクリン塩酸塩に対する大腸菌の反応と、各試料間へのホルムアルデヒド注入の効果を示している。図のように、ホルムアルデヒド注入によって二酸化炭素呼吸は完全に停止し、濃度は0となる。

効率 表7に自動分析法、光電比色法、および寒天拡散法の効率の比較を示しているが、自動分析は手動技

術よりもはるかに正確である。自動分析法は光電比色法の2倍、寒天拡散法の3倍の効率がある。自動分析法の利点の1つはスピードである。たいいていの操作は1時間以内に結果が出るが、手動法では数時間かかる。表8に手動法と自動法についての主な因子が比較されている。1日7時間の操業であるが、1試料についての記録すべき反応の種類(1~4)、標準液や盲検の数にしたがって、1日に30~170個の検体を分析することができる。

自動分析法と光電比色法、寒天拡散法との平均相関は種々の実験から1.005となる。

自動化による生物検定は広範囲の物質(抗生物質、抗菌剤その他)に応用されているが、次にそのいくつかを示す。

テラマイシン	ピリジチオン塩酸塩
テトラサイクリン	ペルナマイシン
ネオマイシン	チオストレプトン
ベニシリン	ポリミキシン
リンコマイシン	アンピシリン
チロシン(tylosin)	7-クロル-6-ジメチルテトラサイクリン
ストレプトマイシン	5-ヒドロキシテトラサイクリン
チロマイシン	アンフォテリシンAとB
オキシテトラサイクリン	スタフィロマイシン
バシトラシン	クロラムフェニコール
フマチン	6-ジメチルクロルテトラサイクリン

コリスチン

自動分析法の精度は、同じ試料についての既知の値との比較から、信頼限界(confidence limit CL)が95%で

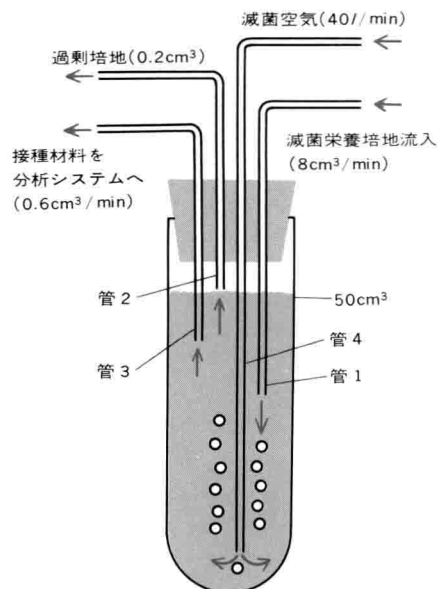


Fig. 5 ケモスタット連続細菌培養器

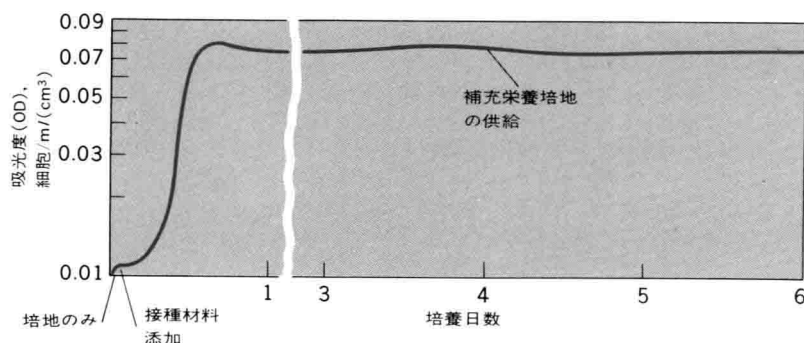


Fig. 6 培地の出入と通気を一定にし、一定の世代時間を維持したときの定常状態の生育

表7 手動法に対する自動化法の効率

方法	反応/day/ヒト(平均)*	5%標準偏差に必要な反応数	比効率%
自動分析法	240	2	100
光電比色法	360	6	50
寒天拡散法	480	12	33

*試料調製および計算を含まず。
(Ann. N. Y. Acad. Sci., 1962)

表8 ペニシリンの生物検定に関する手動法と自動化法の比較

因子	最小	最大	平均
手動法			
完全な試験に必要な時間(hr)	12	36	24
全手動法操作に必要な技術者数	2	3	
検定試料数	20	40	
技術者時間数	32	108	72
自動化法			
完全な試験に必要な時間(min)	20	60	40
全操作に必要な技術者数	1		
1人の技術者が8時間でできる検定試料数	32	38	
技術者時間数	8		

ある。差の平均は $\pm 3 \sim \pm 5\%$ である。

接種菌の調製 毎日のデータに変化を生じる最大の原因は、接種菌液とその調製法である。使用できる菌液には2種類ある。1つは大量の菌浮遊液をつくって必要な濃度に調製し、 -20°C で凍結しておく方法で、この場合は菌液が安定しているで、毎日ほぼ同一の接種量にすることができる。この方法でつくった菌液は約2か月間安定である。もう1つの菌液は、新鮮な細菌を持続的に増殖させてつくるものである。この方法はFig. 5のような栓(栓)に4本の管のついた50 cm³の滅菌培養器で行う。1の管から滅菌した培地を一定の速度(A)で持続的に送込む。2の管で容量(B)が例えば50 cm³になるように高さを調整する。2の管での容量の調節と1の管からの培地注入量によって、容器内での培養時間あるいは滞留時間(dwell time DT)が調節でき、望む細菌数になるように増殖させることができる。DTは $B/A = DT$ で表され、この例では 62.5 分必要なことになる。すなわち $50 \text{ cm}^3 / (0.8 \text{ cm}^3/\text{min}) = 62.5 \text{ min}$ 。

細菌の平均世代時間は20分であるので、この場合は3.125倍の細菌を増殖させることになる。死菌や古い菌は過剰の培地とともに2の管からたえず除去されている。3の管から生物検定に必要な量を取り出す。この場合培地を注入する速さよりも低い速度で取出す。すなわち1分間に0.6 cm³を取り出す。4の管から1分間に40 lの無菌空気を送込むことによって、通気と攪拌(攪拌)を行う。

最初に細菌を接種したのち、容器内の培地の高さよりも上になるように 37°C の恒温槽に浸す。約4~6時間で増殖が安定し、一定した接種菌液が得られる。培地注入量を調節することによって、種々の細菌の増殖サイクルにDTを合せ、菌数を一定に保つことができる。Fig. 6は、この方法によっていかに一定の菌数を保つことができるかを示している。

対照および標準 最も正確な結果を得るためには、濃度の異なる2, 3の試料と標準液を対照として定量することが望ましい。さらに、増殖阻止をまったく起さない滅菌蒸留水を盲検として加える必要がある。標準液と試料の値をこの盲検値と比較する。標準液と試料の最高値のパーセントの相違を阻止パーセントとして表すことができる。4チャンネルが2つ並んだ装置を用い、電磁ソレノイド切換弁が4セットついた試料採取器から試料を入れる。各チャンネルによって、試料の一定希釈が行われる。3つの異なった濃度の標準液用に3つのチャンネルを用い、盲検としての滅菌蒸留水用に1つのチャンネルを用いる。ホルムアルデヒドは、試料には試料採取器か

ら、標準液と盲検には切換弁から注入する。4つのチャンネルをそれぞれFig. 7のような恒温槽に入れる。この中には1チャンネルに2個ずつ計8個のコイルがはいっている。比色計には8個のフロー・セルがあり、光電比色計回路からの4つの出力が、4つのペンのついた記録計へと流れる。4つの流れは同時に進むように合わされており、残りのもう4つはこれより30~60秒遅れて流される。Fig. 8にデータを仕上げる過程を示す。4つのピークが入力されたとき、そのタイミングと調整理論によって走査サイクルが始動する。次に走査器が各電圧量をアナログ・デジタル変換器に接続させる。それによって、それぞれの値が数値で示されると、対応する保持回路の荷電を放電する。チャンネル確認番号は走査器の番号を使うことができる。トランスレータとインターフェイス回路がデータを適当な符号や型で表して、テープパンチまたはプリンタに適用できるようにする。そして、チャンネル番号と濃度がプリントされるようになっている。

同時操作によって、同じ検体についてのいくつかの写しを得られるので、精度がずっと高くなる。いくつかの検体、標準液、盲検を同時に分析できるので、微生物が最もよく基質を利用できる条件を決定することができる。1日のうちのいつでも、8つのチャンネル全部に等価の試料を流し、各チャンネルの相対的な成績を確認することができる。

この方法では、1時間に20検体(160反応)、あるいは23時間に460検体(3,680の反応)を扱うことができる。

抗寄生虫剤の検定 微生物を用いる生物検定についていろいろと論じてきたが、この種の細菌しか用いることができないと結論すべきではない。1966年以来、この型の方法が抗寄生虫剤の研究に応用され、新しい、より効力のある抗マラリア剤への適用が探求されている。これはマラリア原虫の新種が現れたベトナム戦争によって動機づけられたのである。→マラリア

無数の抗マラリア剤をスクリーニングテストするには、今までの方法ではあまりにも時間がかかりすぎる。抗マラリア剤の生物検定と、作用機構の研究の自動化は、基本的には微生物を用いる方法と類似している。Fig. 9にこの分析のための図式を示す。ゲッシ(齧歯)類住血胞子虫*Plasmodium berghei*をあらかじめ感染させた白色ラットまたはマウスの血液を接種菌液とする。

ラットの寄生虫血症が50%に達したときに、各動物の血液を5%クエン酸ナトリウム液の中へ集める。血液を遠心分離し、数回洗浄して血漿(漿液)を完全に除去する。洗浄した赤血球を1:2または1:3の割合でクレブス緩衝液に浮遊させる。マグネチックスターラーで攪拌しながら血球を一樣な浮遊状態に保つ。原虫の寄生した赤血球と薬剤を同時に定量器に流す。基質(グルコース、リン酸化化合物など)を同時に加え、恒温槽につける。培養時間を十分にし、薬剤が原虫代謝活性を抑制する作用を十分に発揮させる。代謝活性が抑制されると、グルコースその他の基質の利用が減少し、正常な代謝作用、例えば、グルコースの利用と代謝、乳酸の代謝、ピルビン酸の代謝、アミノ酸の代謝、二酸化炭素呼吸、リン酸の代謝などが低下する。

恒温槽から出すとき、感染した血球と薬剤を含む液を1つ以上の透析器に送る。透析された液の中の測定すべき生理学的助変数を調べるために、液を数個の分析チャンネルに分配し、代謝活性の変化を測定する。最初この方法は、接種に用いる原虫の正常な代謝反応を調べるために、薬剤を加えないで、また保温した場合としない場合の条件のもとで実施された。

原則として、この方法によると、ある基質の濃度によって原虫の代謝活性がわかる。原虫の代謝機能にある基質が必要な場合、阻止剤が存在しないときには原虫が基質を利用するので、基質の量が最小になる。反対に代謝が阻止剤によって妨害されると、多量の基質が残っている。このように、適当な基質と適当な分析助変数を選ぶことによって、原虫の代謝に及ぼす薬剤の作用を、また代謝産物から原虫の生理作用を知ることができ、薬剤の作用機構を確認することができる。このことは、薬剤をスクリーニングするうえで有利な点である。

この方法は鞭毛(毛)虫類、アメーバ類、孢子虫類、絨毛虫類、吸管類にも応用できる。再循環法にすることによって、多細胞生物にも応用できる可能性がある。すなわち、多細胞寄生虫を恒温槽につけて、灌流(流)液中の代謝産物を定量する方法である。

同様にエールリッヒの腹水がん細胞やヒーラ細胞を用いて、抗がん剤のスクリーニングテストを考案することもできる。

生物検定の自動化は、多数の検体の分析ができるようになるだけでなく、薬剤の作用機構の情報も得ることが

生物検定

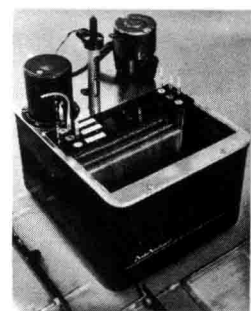
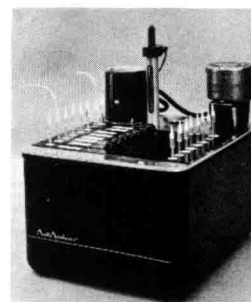


Fig. 7 2種の多コイル培養槽

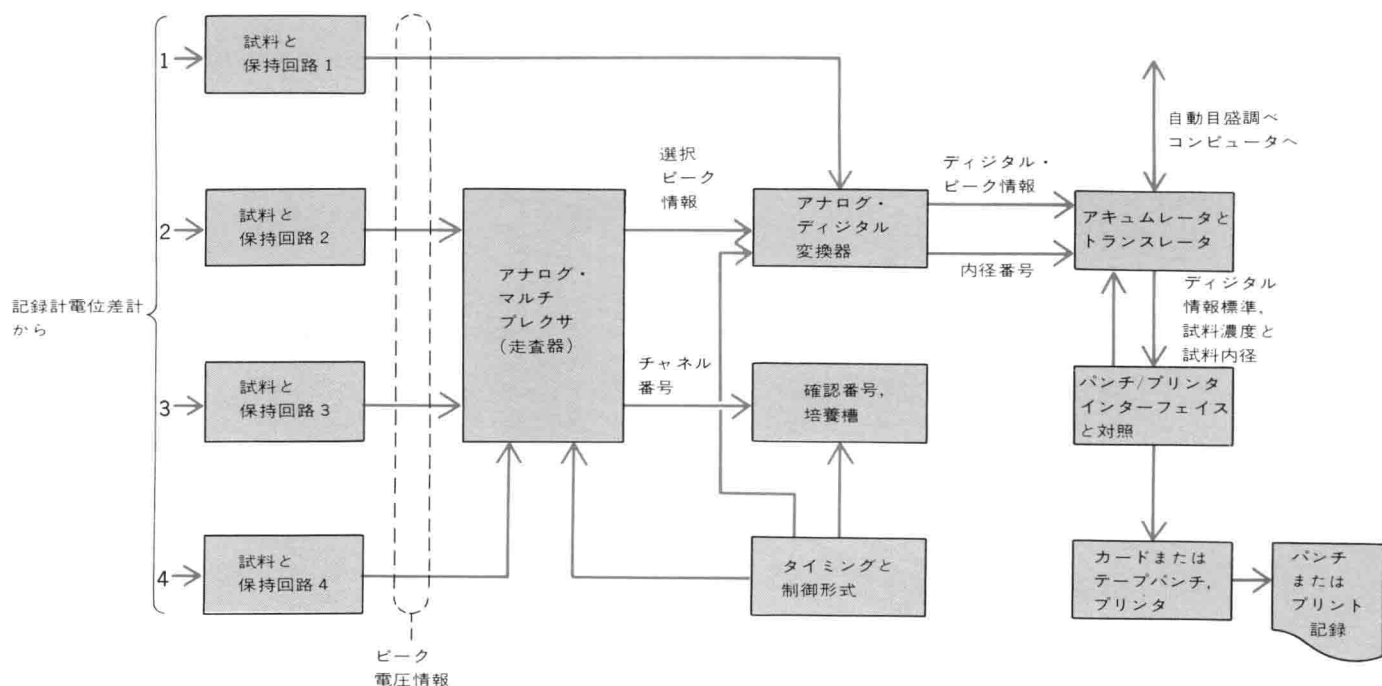


Fig. 8 検定試料分析のデータ処理工程

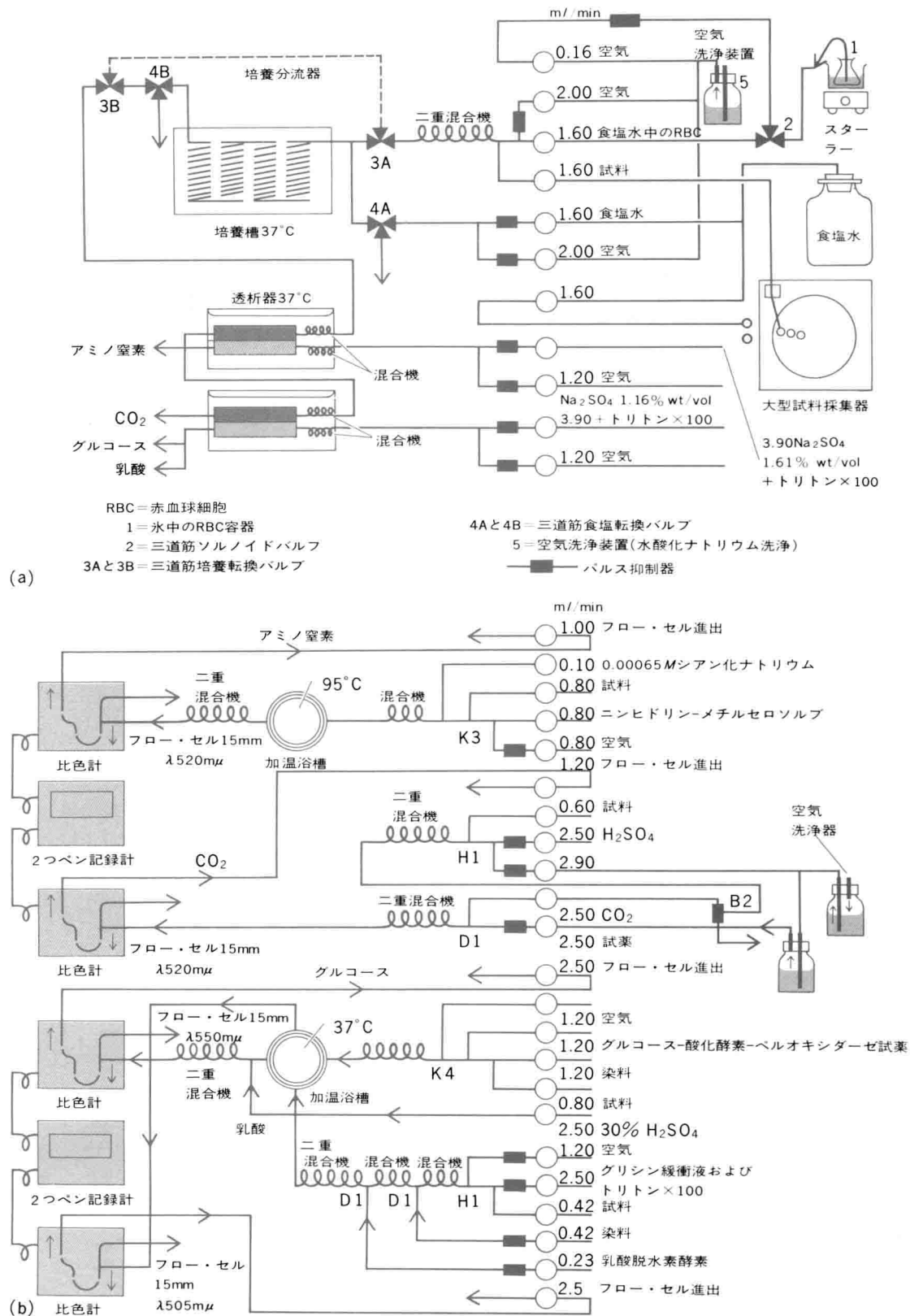


Fig. 9 抗寄生虫剤のスクリーニングテスト (a)試料採取と培養の段階、(b)分析の段階。

できるので、新薬の開発にも役立つであろう。

[ANDRES FERRARI]

生物圏の地球化学 せいぶつけんのちきゅうかがく

[Biosphere, geochemistry of] 生物圏という言葉は、ある時期における地球上の生物全体を示す。生物地球化学(biogeochemistry)とは、生物圏の発生の歴史を取扱うものである。この項目では、初めに原始生物圏の発

生、および原始生物の出現以来地質時代を通じて起ってきたと考えられる、生物圏の化学的進化の問題について簡単に説明する。次に、現在における生物圏の化学的特性およびその他の特徴、さらに地下深所に埋められている生物残査(34)の分離過程について簡単に述べる。

大気圏、水圏、岩石圏および生物圏の間には、化学的な相互作用がある。生物圏は、地殻内部の炭素圏と呼ばれ、生命をもたない有機物と特に密接に関係している。つまり、この炭素圏は有機地球化学の対象となってい

る。生物圏とその環境との間の相互作用のほとんどは、第1近似では可逆的性格をもつ。

生物の体内に入ってくる化学元素は、代謝作用の際あるいは死滅後に生物圏から排出され、その後は再び別の生物体内に取込まれる。このプロセスを生物地球化学的サイクルという。ある場合には、有機物質の一部が地殻中深く埋められてしまい、生物学的サイクルから除外されることもある。

地球化学的プロセスにおける生物の重要性は、19世紀にラマルク(J. B. Lamarck)、リービッヒ(J. Liebig)、シュース(E. Suess)らによって注目されたが、生物地球化学的データが系統的知識体系として集積されるようになったのは、20世紀の初めになってからである。最初に広範な研究を行ったのはソ連のベルナドスキー(V. I. Vernadsky, 1863~1945)で、彼はこの分野の創設者といわれている。

このほか、この領域における指導者としては、ソ連のビノグラドフ(A. P. Vinogradov)、フランスの両ベルトラン(G. BertrandとD. Bertrand)、アメリカのクラーク(F. W. Clarke)、ハッチンソン(G. E. Hutchinson)などがあげられる。

生物圏の形成 星、星間空間あるいはより小さな天体のスペクトルは、宇宙には CH_4 、 CO 、 CO_2 、 NH_3 、 H_2O といった簡単な気体がかんり存在することを示している。上記の気体が電離線の放射や放電によって縮合し、アミノ酸などを含む複雑な有機物分子を形成することを示す実験も、数多く行われている。このような形成条件は、1つの天体が凝集してゆく過程において起るものと推定される。したがって、凝集しつつある天体上では、生物が出現する前にまず非生物起源の炭素化合物ができることが考えられる。このような炭素化合物の存在に関する宇宙化学的・地質学的証拠を簡単に示す。

0.3~4.0%の炭素(これは有機化合物の約2倍量に相当する)を含む、およそ30個の炭素質のいん石が得られている。一般に認められている理論によれば、こういったいん石は、小惑星程度の大きさの天体が凝集する際に形成されるが、そこにおける条件は、生物起源以前の炭素化合物が生成するには十分でも、生物が出現するには不安定かつ乾燥しすぎていると考えられる。

この炭素化合物が非生物起源であるという特性は、次の証拠によって支持される。すなわち、(1)不整分子を含むすべての生物起源の物質に特徴的な旋光性をもたない。(2)大部分の生物起源物質は、奇数個の炭素鎖が優勢であるが、パラフィンやその他の炭化水素は、このような傾向を示さない。(3) $\text{C}_{12}/\text{C}_{13}$ の比が初生炭素の値とそれほど違わない。(4)この炭素化合物は5%に達する有機性塩素を含むが、地球生物学的生体中には極めてわずかししか含まれていない。

地球の地質環境において、生命の出現以前から保存されてきたと考えられる、いくつかの有機物質があげられる。つまり、それらは地球内部からの物質が縮合したものである。例えば、南アフリカのトランスバール地方に見られる32億年前のフィグツリー層(Fig-tree formation)の不透水性チャート中に、微量のアミノ酸が検出された。この地層は、生命発生以前に堆積したと考えられる。また、多くの有機酸とウラン、トリウムに富んだ無機成分を含むサコライト(thucholite)と呼ばれるピチュメン状物質が、もっぱら火成岩を横切っているベグマタイトの岩脈に見いだされている。この場合の有機物は、岩脈を形成した高温の蒸気や溶液によって地下深層部から運ばれてきたものと考えられる。周囲には有機性の堆積物は存在しないので、周辺から有機物が蒸留したとは考えられない。同じような考え方は、カリブ海、ハワイ、アイスランドなどにある、いくつかの活動中の噴気口で微量(1~2 ppm)のアミノ酸が検出されたことについても適用される。

以上のような証拠は、いん石の発生源上あるいは地球上に生物起源以前の炭素化合物が存在していたことを実

証するものではないが、かなり強力な指標となるものである。

生物圏の進化 原始生物の時代から今日の生物圏にいたるまでの進化過程において、どのような化学的变化が起ったかについては、ほとんどわかっていない。先カンブリア紀の初期において、還元大気中にはもっぱら従属栄養性の生物が存在していたと推定される。しかし、3価の鉄が磁鉄鉱($\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$)の形で存在したという事実は、このような著しく還元性のある大気を仮定するのに不都合のように思われる。おそらく、先カンブリア紀後期における海水中での光合成生物の進化によって、大量の酸素が大気中に放出されたために、いろいろな元素のサイクルが根本的に変わってしまったのであろう。この傾向はさらに続き、古生代、特に石炭紀において陸地の光合成植物を増大させた。それ以来、生物圏の化学組成や地球化学的サイクルには、根本的な変化は起っていないようである。

生物物質 生物は、代謝に要するエネルギー源と液体状の水がある環境なら、どこにでも存在する。ある種の生物だけが優先的に繁殖できるような極端な条件については、表1に示した。

生物は、地球化学的活性に関する基本的な違いによって2つのタイプに分けられる。すなわち、(1)クロロフィルを含み、可視光線のエネルギーを利用して、エネルギーに富む有機化合物を合成する生物(色素をもった藻類、光合成細菌、高等植物)と(2)光合成機能をもたない生物(ウイルス、非光合成細菌、菌類、動物)である。クロロフィルをもたない生物は、呼吸作用によって有機物、あるいは場合によっては無機物の形の食料を酸化することによって、代謝に必要なエネルギーを獲得する。

生物圏のいろいろな部分で、それぞれかなり明確に分離することのできる生物群が認められる。例えば、天然水中のプランクトン群集、サンゴ礁、ミズゴケ湿地、モミの森、ステップなどである。生物群集と非生物的環境との間ではエネルギーと物質の交換が行われるので、この系をしばしば1つの単位として取扱い、これを生態系(ecosystem)と呼んでいる。この生態系の大きさは、小さな水たまりから生物圏全体にまでおよぶ。生態系を通るエネルギーは一連の栄養段階(食物連鎖の段階)を通過すると思われる。このような栄養段階として、光合成植物、草食動物および分解微生物、1次肉食動物、高次肉食動物といったものがある。定常状態においては、1つの栄養段階によるエネルギー生産の速度は、それに続く栄養段階のエネルギー利用速度より必ず大きくなければならない。このことは、定常状態系に熱力学第2法則を適用した場合と一致する。すなわち、生物圏全体をみたときに、緑色植物はそのバイオマス(biomass)および代謝量の点において、消費生物より重要な地球化学的位置を占める。しかし、100 m以上の深さの水中および数m以上の深さの土壌中には光がとどかないため、この地点では光合成植物は永続的に生存することができない。このような領域で行われる生化学的活動は、すべて動物や非光合成微生物によるものである。こういった状況は、生物圏のもっと外側の部分にも存在する。→食物連鎖

生物の大きさは、ウイルスの 10^{-6} cmからセコイアSe-

表1 生物が天然で繁殖することが知られている条件

項目	最低	最高
温度	-7°C(塩湖中のピラミドモナス)	95°C(温泉中の藍藻類)
静水圧	測定なし	1070atm(深海生物)
pH	1.7(ケイソウヒメナリア)	12.0(ケニアの湖水中の藍藻類)
酸化電位(E_h)	-0.35V(海底堆積物細菌)	0.83V(好気性生物)
塩分量	雨水などの低濃度の水	220‰(好塩細菌とアルテミアサリーナ)

quoiaの木の 10^4 cmにまでおよぶ。ある1つの分類群内では、単位組織重量当りの呼吸速度は、体重の3分の2乗に比例して増加する傾向がある。しかし、分類群によっては、その変動がずっと大きくなることもある。この一般則には多くの例外もあるが、全体としては大きな個体に比べて小さな個体ほど呼吸速度が大きく、したがって、よりすみやかに生長する傾向がある。例えば、最適生長条件においてウイルスの群集は、数分間でその重量が倍になり、細菌は1時間たらずで倍に、小動物は数日あるいは数週間、さらに大形動物は数か月から数年でその体重が倍になる。結果として、小さな個体はその現存生物量から考えられるよりも、地球化学的により活性である。

生物圏における生物体の全量については、正確に測定されていないが、そのオーダーは $n \times 10^{17}$ gと推定される(n は小さな整数)。これは地表面 1 cm^2 当り20 nmgに相当する。全生物圏で年々光合成によって固定される二酸化炭素の量は、およそ 7×10^{16} gの炭素に相当する。真の値は、この値の半分以下でも2倍以上でもないであろう。さらにこれは、実際に地表に達する可視光線エネルギーの0.1%を利用してに相当する。海洋中の植物による光合成は、生物圏の全光合成量の少なくとも3分の2に達する。陸上で光合成量が最も大きいのは森林で、次に耕地、草原、砂ばくの順である。→光合成；生態学；生態系；生物生産力

生物物質の影響 生物体内では酵素作用によって、低温でも多くの化学反応が起る。主な例として、光合成および窒素固定細菌と硝化細菌の結合作用による分子状窒素からの硝酸形成があげられる。

生物圏中の生物は、その質量が大気圏、水圏、岩石圏の質量に比べてずっと小さいにもかかわらず、地球化学的には著しい影響をもたらす。例えば陸上植物は、土壌侵食の速度を左右し、根を通して各種の元素を土壌深部から表層まで運び、また二酸化炭素やキレート剤として作用する多価有機化合物などを放出することによって、ある種の岩石や鉱物の分解を速めることが知られている。さらに、土壌や水中堆積物のpH、酸化電位 E_h 、組成といった物理的・化学的特性は、微生物活動の影響を受ける。

植物や動物の体内におけるある元素の濃度は、周囲よりも数十万倍も高くなることもある。1つの著しい例は、ホヤ類によるバナジウムの濃縮である。ある種のホヤでは、バナジウム濃度が体重の0.01%(海水中のバナジウム含量は0.0000002%)にも達する。また、海底に堆積している大量の有孔虫軟泥や放線虫軟泥は、それぞれ CaCO_3 や SiO_2 の堆積に重要な役割を果している。生物圏におけるこのような活動や生物の存在に関する証拠は、サンゴ礁石灰岩のような不燃性生物岩(無機性礫性石灰岩)や油母頁岩(燧岩)、石炭、石油のような可燃性生物岩(有機堆積物)によって示される。→海底堆積物；石炭；石油の起源

先カンブリア紀の微生物化石の発見という直接的証拠のほかに、いろいろの間接的な地球化学的証拠から、生物圏は約20億年、あるいはその2倍も古い時代から存在していたことが示される。生物進化の結果として、生物種の数とその種類は、時代ごとに変化してきた。また生物が新しい環境に進出したり、生物の力によって新しい環境ができてきた。生物圏における生物有機体の重要性については、海洋全体の量(1.4×10^{24} g)に相当する水が光合成植物によって分解されるのに、1,000万年しかかからないことを考えれば容易に理解することができる。大気中に酸素が存在することは、地球を火星を除く他の惑星と区別している特性であり、そのほとんどは、生物圏における炭素サイクルのバランスが欠如しているために起る光合成によってつくられたものである。地球の歴史が始って以来、光合成によって緑色植物中に取込まれた炭素量はおよそ 10^{26} gで、この量は地球の重量の50万分の1に相当する。この炭素のうちの約 10^{21} gが、

石炭、石油、頁岩中に化石有機物として存在しているものと推定される。

生物圏に人類(*Homo sapiens*)が出現するに伴い、開墾、貯水、道路建設、化石燃料の燃焼、鉱業といったような活動が行われ、またそれに付随して生物種の消滅と移動が起り、直接、間接に地球化学的变化が起っている。生物圏の中でも人間の活動による変化が著しい部分に対しては、特に人類圏(anthroposphere)あるいは人智圏(noo-sphere)という言葉が用いられている。

核兵器実験や原子炉における原子核分裂の結果、新しい生物地球化学的問題が起っている。つまり、核爆発によるフォールアウト(降下物)や低レベルの原子炉廃棄物中に存在する放射性核種が生物によって濃縮され、その濃縮係数がしばしば環境中の10万倍になることがある。一般に生物中に濃縮されやすい放射性核種は、環境中ではある制限濃度以下で存在する元素であり、それが生物体内に徐々に蓄積されてゆく。例えば、ハンフォード原子力発電所の下流のコロンビア川(アメリカ)に生息する植物プラントンやある種の脊椎(魚)動物中には、かなりの ^{32}P が濃縮されている。

生物体の化学組成 一般的にいえば、生物体は、半透膜によって囲まれ、かつ環境と分離されている複雑なコロイド系として考えられる。また、酵素によって制御されるフィードバック機構を有し、これによって全システムを維持し、再生産する。生物、あるいはかつて生物であったものを非生物と区別する1つの特徴は、生物体が表示分子の非対称性である。すなわち、ある種の左右像(enantiomorph)だけが優先的に存在するというのである。例えば、D-グルコースはグルコースの唯一の光学異性体であり、またタンパク質中ではすべてのアミノ酸がL系列のものである。化学合成において得られるのは普通、ラセミ体(D-とL-異性体の等量混合物)である。→アミノ酸；グルコース

〔生物体の元素〕 天然には存在しない、あるいは存在しても極めてまれであるテクネチウム、プロメシウム、アスタチン、フランシウムおよび超ウラン元素を除いて、生物体の組織中に入る可能性のある元素は88種類である。その中で71種は同定されているが、ニオブ、ジルコニウム、タンタルについては疑問があり、さらに確認する必要がある。生物体中にまだ検出されていない元素としては、大気中から入る可能性のある4つの希ガス(ヘリウム、ネオン、クリプトン、キセノン)、白金族(ルテニウム、ロジウム、パラジウム、オスミウム、イリジウム、白金)および原子番号49~91の間にある7種の元素(インジウム、テルル、ハフニウム、レニウム、ポロニウム、アクチニウム、プロトアクチニウム)があげられる。しかし、同定されていない元素でも、原形質中に入った含まれていないとはいきれない。

主要生物元素である水素、炭素、窒素および酸素は、骨以外の組織部分の96~99%(重量)を構成している。これらの元素は、原形質分子の4つの主要物質群、すなわち、水(O89.4重量%とH10.6重量%)・タンパク質(C51.3%, O22.4%, N17.8%, H6.9%)・炭化水素(O49.4%, C44.4%, H6.2%)および脂質(C69.0%, O17.9%, H10.0%)を構成している。原子の数についてみたとき、生物体中の存在量は、水素>酸素>炭素>窒素の順に減少する。骨格、すなわち生体支持構造は、セルロース、リグニン、キチンおよび硬タンパク質のような有機化合物、あるいは炭酸カルシウム、ケイ酸、リン酸カルシウムのような無機化合物からなる。

〔元素の濃度〕 詳しく研究されている元素の、陸上植物中における平均重量百分率組成を表2に示す。生物体中の微量元素の生理学的な重要性は、その濃度では表現できない。例えば各必須元素の相対濃度は、10万あるいはそれ以上の係数で変動する。まだ機能のわかっていない特定の元素も、ごく少量存在する。例えばウシの肝臓細胞は、わずか23個のラジウム原子を含む。また原生生物のユーグレナ・グラチリス*Euglena gracilis*は、細胞当たりわ