

赤痢菌の Dehydrogenase について

秋田県衛生研究所

児 玉 栄 一 郎

茂 木 武 雄

(I) い と ぐ ち

前回私共が赤痢菌について P-benzoquinone 反応を検討した際、併せて還元により脱色の起る 2,6-dichlorophenyl indophenol という青色の色素を試験に供した。周知のごとくこの色素は水、またはエタノールに溶けて青色を呈するのであるが、還元を受けるとロイコ型となって脱色されることはメチレン青と同様である。

最近秋田県下各地に於て分離せられた赤痢菌21株についてこの 2,6-dichlorophenyl-indophenol 反応を試みたところ、10mg % サルファ剤耐性赤痢菌である Sh. flex. 2a の1株と、100mg % 耐性である 2b1 株に脱色の起ることを認めた。この場合対照株として予研から分譲を受けた中村菌種伝研株では褪色乃至脱色の起ることがなかったのである。

次に私共は該色素の脱力を来たした Sh. flex. 2a の3株をとり、菌浮遊液を作製し、70°C 30分間加熱した後にインドフェール反応を試みたところ3株とも陰性を示した。

この事実から該色素の脱色、すなわち還元は酵素性であるまいかと思われたので今回の実験を行った。

元来この色素は鉍酸に対してばかりではなく、有機酸に遭っても赤変し、また ATP を加えても赤変するのであるが、しかし脱色は起らない。

次にまた食塩磷酸緩衝液中で少量のアミノ酸添加では色彩の変化が起らないが、供試18種のアミノ酸のうちシステイン cysteine のみが脱色を招く。

同様の脱色はビタミンCでも、またBAL (1,3-dimercaptopropanol)でも起るので、赤痢菌の場合、還元因子が赤痢菌自体にあるのか、或はまた菌浮遊液の液自体にあるのか、この点を解決すべく、次の諸実験を行っ

た。

(II) 実 験 方 法 と 成 績

(イ) 赤痢菌を生理的食塩水に浮遊せしめ、室温放置30分間、その後1分間3,500回転、30分間遠心沈澱し、その上清液について dichloro indophenol 反応を行ったところ陰性であった。しかしこの場合、上清液を捨て、更に生理的食塩水でもって3回洗滌した後赤痢菌菌体をとって反応を試みたところ、色素の脱色が起った。

(ロ) 青酸の影響

還元因子が酵素であるとすれば、青酸の影響を蒙り、従って色彩反応が陰性に終る場合がある筈である。

それでPH 7.4 で等張の磷酸食塩緩衝液を溶媒として kcl の 0.05M、0.01M、0.005M、0.001M液を作製して赤痢菌を浮遊せしめ、室温で30分後 indophenol 反応を試みたところ、色調に変化なく、陰性の成績であった。

(ハ) ATP並びに L-Lipoic acid の影響

次に還元因子に酵素と仮定して、酵素ならばこれに賦活的に働くと思われる ATP 及び L-Lipoic acid の影響を試験した。

すなわち菌浮遊液に対してATPを0.25mg/ml、L-Lipoic acid を0.50mg/mlとなるべき分量のものをそれぞれ加えても対照と甲乙がなかった。これは色素の還元作用にはATPも、また L-Lipoic acid も助酵素としての作用が関係しないことを示すものであると思われる。

但し青酸による機能失活の恢復試験に於て、青酸加里の濃度が0.005Mである場合にATPの0.25mg/ml L-Lipoic acid の0.50mg/mlの程度で一部機能の恢復が見られた。

第 3 表 助 酵 素 を 必 要 と す る 脱 水 素 酵 素

	酵	素	助	酵	素
1	Alcohol	dehydrogenase	DPN		
2	Aldehyde	"	"		TPN
3	B-Hydroxy butyric	"	"		
4	B-Hydroxyacyl-CoA	"	"		
5	Polyol	"	"		
6	Inositol	"	"		

7	ウシ肝glucose	"	"	または	"
8	Malic	"	"		
9	l-Malic enzyme	"	"	,	"
10	Lactic	"	"		
11	Glucose-6-phosphate	"	"	,	"
12	Gluconic acid-6-phosphate	"	"		"
13	Iso-citric	"	"	,	"
14	L-Glycerophosphate	"	"		
15	Glycerin	"	"		
16	Glutamic	"	"	または	"
17	Triosephosphate	"	"		
18	D-Glyceric	"	"		
19	Formic	"	"	または	○
20	L-Ketoglutaric	"	"		
21	Pyruvic	"	"		
22	Dithiolactone c	"	"		
23	Butylene glycol	"	"		
24	Choline	"	"		
25	Betaine aldehyde	"	"		
26	L-Histidinol	"	"		
27	B-Hydroxysterol	"	"		
28	Formaldehyde	"	"	,	GSH

生体酸化の中間水素伝達体

A	Old yellow enzyme	
B	合成黄色酵素	
C	New yellow enzyme	
D	Diaphorase	F A D
E	Cytochrome C reductase	(TPN, DPN)

その他の酸化還元酵素

1	Formic dehydrogenase	
2	Succinic "	
3	Hydrogenase	
4	Amine oxidase	分子状水素の利用
5	Lipoxidase	酸化的脱アミノ化
6	Fattyacids "	

(Ⅲ) 考按並びに結論

以上のような実験の結果から私共はこの還元作用を有つものはある種の還元酵素であろうと推定した。

現在基質から水素を奪い、この水素を他へ与える酵素 Dehydrogenase には30数種も知られているが、このうち基質の質の面から考え、また一方助酵素(主としてD PN, TPN, GSH, FAD)を必要としない点から考えると、私共の場合は同じく Dehydrogenase であっても

formic dehydrogenaseではないかと思われる。

Formic dehydrogenase とすると、本酵素は動物や植物の組織以外に、組菌菌体(大腸菌、結核菌、Aerobacter aerogenes、Aerobacillus polymixa、Staphylococci、Bacillus formicus、etc)に見出だされており、また succinic dehydrogenase とすると、本酵素は動物植物、酵母、細菌などの組織中に広く分布し、Tricarboxylic acid cycle を回転させる酵素の1つとして生体

内終末呼吸系に必須の役割を演じているものであるが、私共は未だ Spectro-photo meter や Warburg 検圧器による試験を行わず、また Cytochrome C などの影響も見えておらず、また水素気流中の実験など行っておらないのであるから何れとも決定し難い。今後これらの諸点を追究するつもりである。

なお私共の実験は赤痢菌の24時間培養のものについて行った成績であるが、48時間培養のものでは酵素の老化乃至不活化が起るらしく、結果が明晰を欠くことがあることを追記しておく。

文献 略