Proteus morganii のヒスチジン脱炭酸酵素

田 中 定 平

名古屋大学医学部細菌学教室 (指導 小笠原一夫教授)

[受付: 5月26日・1958年]

ある種の細菌属は、それぞれの至適条件下において、適応的にアミノ酸を脱炭酸して対応するアミンを生ずる酵素作用 (amino acid decarboxylase 以下 A. A. D. と略) を獲得する。一般式を次に示す。

アミン検索の歴史はさておいて、細菌の A. A. D. の分布状態、並びに本酵素の性質の究明には Gale 一門¹⁾ による業績が挙げられる。

最近に至つては小笠原²⁾ による疫痢発症機転における細菌形成アミンの病態生理的意義についての研究、食中毒の機構説明の一つとして千葉腐敗研³⁾、北海道衛研⁴⁾ によるアミン中毒説等が挙げられる。最近千葉腐敗研、相磯氏等の報告によれば⁵⁾、Proteus morganii の培養過程において、培地液性が酸性よりアルカリ性に斜いても、該菌が酸性下に適応酵素を獲得しているならば、なお基質ヒスチジンより対応アミンであるヒスタミンを形成する活性を保有していることを培養濾液中のヒスタミンの存在より推定し、Proteus morganii のヒスタミン脱炭酸反応の特殊性を指摘した。

細菌の A. A. D. 産生 pH は 5.0~8.5 に互ることは已にあきらかである¹⁾。しかし所謂 growing culture の実験と異り、washed cell suspension では、高度の酵素活性の発現には反応環境が酸性下にあることが要求されている。

そこで私は Proteus morganii の washed cell suspension を用い、アルカリ性側における histidine decarboxylase 活性を主体として再検討を加えたので、こゝに其の結果を報告する。

実 験

供試菌株:

供試菌 Proteus morganii は名大病院入院中の患者糞便より分離、同定した矢橋株⁶⁾、並に千葉腐敗研相磯教授の御好意により分与を受けた A Y 株を用いた。

(1) 供試菌の一つである矢橋株の半合成培地⁷⁾ (histidine 1%, KH₂PO₄ 0.1%, (NH₄)₂SO₄ 0.2%, NaCl 0.2% Yeast extract 0.05%, glucose 2.0, または 0.1 か 0% pH 6.0) による growing culture の実験において終末 pH 5.0 より 7.2 に至る範囲に互つて各培養濾液よりヒスタミンを証明できた。

しかしその終末 pH 6.0~6.5 において最高活性を示した。同一条件における E. coli communis では終末 pH 4.4~6.6 に互りヒスタミンを確認した。

ペーパークロマトグラムによるヒスチジンとヒスタミンの確認:

展開液 ルチジン 1, コリジン 1, 水飽和
発色 0.2% ニンヒドリンブタノール溶液

ヒスチジン Rf: 0.15

ヒスタミン Rf: 0.3

(II) 菌浮游液によるヒスチジン脱炭酸反応。

矢橋株を基質ヒスチジン 100 mg % 加ブドウ糖ペプトン水 (pH 6.5) に 37°C, 16 時間培養し、遠心集菌、水で洗滌後、蒸留水菌浮游液を作成し酵素液とした。これを 1 ml 宛、基質ヒスチジン 2.0% 加磷酸塩緩衝液 (pH 3.0~7.2) 4 ml に加え 37°C において振盪作用し、一定時間毎に作用液の一定量を採取、ペーパーに展開し、ヒスタミン産生 pH を求めた。その結果 pH 4.0~7.2 に互つて産生活性を有することを認めた。なお E. coli communis における結果は、既知の如く pH 3.0~4.0 において活性を示した。

TANAKA Sadahei: The histidine decarboxylase of Proteus morganii. Department of Bacteriology Nagoya University School of Medicine — Jap. J. of Bact., 13(11): 1000-1001, 1958.

(Ⅲ) ワールブルグ検圧計による脱炭酸反応の測定。

矢橋株を前述の基質加基礎培地⁷⁾(ヒスチジン 30 γ per ml) に培養, 型の如く菌浮游液を作成, 磷酸塩緩衝液 (pH 4.0 ~ 7.2), 基質ヒスチジン濃度 1×10^{-2} M を用い, X_{CO_2} を求めた。

pH 4.0 においては反応は進行しなかったが, pH 5.0 6.0, 7.2, において認められ, 且つその活性は pH 6.0 において最も高かった。

すなわち, 矢橋株菌浮游液を用いたこの実験結果より弱アルカリ性 (pH 7.2) においても histidine decarboxylase 活性がみられることを確認した。更に AY 株の同一形式の追試実験により pH 8.0 においても, 作用後 3 時間より著明にヒスタミンの産生を, ペーパー上に認め, その活性は酸性側より, むしろアルカリ性側に, より高度に観察された。

表 1 阻害剤の作用態度よりみた *Proteus morganii* の酵素活性

阻 害 剤	終末濃度	起始 pH	histamine spot	
			好氣的	嫌氣的
AgNO ₃	1×10^{-4} M	7.4	(—)	(±)
CuSO ₄	1×10^{-4} M	7.2	(—)	(—)
CO(NH ₂) ₂	1×10^{-2} M	8.2	(±)	(±)
CH ₃ JCOOH	1×10^{-3} M	7.4	(—)	(—)
NaF	1×10^{-2} M	7.2	(+)	(±)
EDTA	1×10^{-3} M	7.0	(+)	(—)
Pyruvate	1×10^{-2} M	7.4	(+)	(—)
NH ₂ OH	1×10^{-3} M	7.4	(—)	(—)
Control		7.4	(+)	(±)

(Ⅳ) アルカリ性側におけるアミノ酸の酵素による分解を考え時には, 先ず, 脱アミノ作用の活性化が予測

される。そこで既知の amino acid decarboxylase の阻害剤, deaminase の阻害剤を使用し, AY 株を供試菌として好氣的, 嫌氣的にこれら阻害剤に対する態度を pH 5.0 ~ 8.0 に互り検討した。アルカリ性側における結果を記せば表 1 の如くなる。

この際好氣的, 嫌氣的の両条件における反応生成物はヒスタミン以外の ニンヒドリン陽性物質を認め得なかった。

考 察

Proteus morganii が酸性性においてのみならずアルカリ性側においてもヒスチジン脱炭酸酵素活性を示すことが確認されたが, 阻害剤に対する態度より観察すれば, アルカリ性側においても酸性下におけると全く同じ反応条件で脱炭酸反応は進捗した。すなわち, 硝酸銀, ヒドロキシルアミン, 焦性ブドウ酸, E.D.T.A. 等に対する既知 amino acid decarboxylase との同一態度からも顕らかな様に, *Proteus morganii* の持つ特異な histidine decarboxylase の 1 反応形式と見做すのが妥当であろう。この報告では述べなかったが, 他の私の実験 (未発表) によれば, *Proteus morganii* 浮游液によるグルタミン酸の脱炭酸能は, histidine decarboxylase とは至適 pH 領域に関して異なることが判った。この詳細は目下なお研究中である。

総 括

Proteus morganii のヒスチジン, 脱炭酸酵素作用を菌浮游液を用いて検討したところ, その脱炭酸酵素活性の pH は 4.0 ~ 8.0 にわたることが認められた。

終りに菌株を分与された千葉腐敗研究所相磯教授に感謝すると共に, 御指導, 御校閲を賜った小笠原教授に感謝し, 併せて御助言に接した加藤延夫博士に謝意を表する。

文 献

- 1) Gale E. F.: Advances in Enzymology, 6; 1, 1946.
- 2) Ogasawara, K.: Advances in study of ekiri in Japan, 丸善, p. 43, 1955.
- 3) 相磯, 柳沢: 日本医事新報, 1625, 1955.
- 4) 相磯, 柳沢: 医学と生物学, 3: 35, 1955.
- 5) 岩本, 飯田: J. Pharm. Soc. Japan, 7: 76, 1957.
- 6) 岩本, 飯田: J. Pharm. Soc. Japan, 8: 77, 1957.
- 7) 相磯, 豊浦他: 日細誌, 12: 10, 1955.
- 8) 成田, 加藤: Chemotherapy, 2: 5, 1957.