U.D.C. 576.851.48.095.3 : 577.153.3.025 : 613.28-099

191. 岩本多喜男, 飯田広夫: 細菌代謝産物のコリンエステラーゼ活性に及ぼす影響 (第2報*)

培地に各種炭水化物, アミノ酸を添加した場合の実験

Takio Iwamoto and Hiroo Iida: Effect of Microbial Metabolites on the Activity of Cholinesterase. II. Experiments in the Media added with Various Carbohydrates and Amino Acids.

(Hokkaido Institute of Public Health)

Escherichia coli was cultured at 37° for 48 hours in (1) peptone water added with 1% of one of 19 kinds of carbohydrate, (2) bouillon and (3) synthetic media each added with 1% of one of 16 kinds of amino acids. Turbidity of such culture media and the inhibition of serum cholinesterase activity by their filtrate were examined. It was thereby found that, in the case of (1), addition of salicin, dulcitol, sorbitol, inositol, and sucrose was found to effect inhibition, and in the case of (2), the inhibition was the strongest when tryptophan was added, followed by alanine, isoleucine, and phenylalanine in that order, while in (3), the inhibition was in the order of *l*-cystine, tryptophan, and isoleucine. Inhibition of cholinesterase activity by tryptophan was assumed to be due to tryptamine and indole formed by its decomposition by *Escherichia coli* but in the case of other substances, further detailed examinations are warranted.

(Received April 16, 1956)

各種細菌を各種培地に培養した場合に, その代謝産物が血清 ChE に対して阻害作用を示すことを知つたので, 今回はこれらの培地に更に各種の炭水化物およびアミノ酸を加えた場合に, 如何なる阻害を示すかを知るために, 炭水化物 19 種, アミノ酸 16 種をえらんで実験を試みた. 前報の実験ではブイヨン, ペプトン, 合成培地のうちブイヨンで培養した場合が最も高い ChE 阻害を示したが, 有機性窒素源としてアミノ酸を用いた実験は, どのアミノ酸が最も多く利用されかつその代謝産物が ChE を阻害するかということと, 炭水化物の添加により細菌の利用する炭素源としてどの炭水化物が最も代謝され, その代謝産物の ChE 阻害作用はどの程度であるかを知るために行つた.

実験方法 菌は前報の実験で ChE 阻害度の高かつた *Escherichia coli* をえらんだ. 炭水化物の添加はペプトン水 (前報の組成と同じ) に 1% の割合に, Table I に示した 19 種のものを加えた培地をつくり, これに *E. coli* を 37°, 48 hr 培養した. 培養濾液の ChE に対する阻害度の測定は前報の通りである.

アミノ酸は Table II に示した 16 種を用い, これを 1% の割合 (1% 不溶のものは飽和させた) に合成培地 (前報の組成と同じ) およびブイヨン (前報の組成と同じ) に加えた培地をつくり, これに *E. coli* を 37°, 48 hr 培養した. 以下の操作は前報の通りである. また同時に菌数の概略を知るために比色法で濁度をはかりその吸光度を示した (フィルター 530 mμ), フタダ光電比色計使用.

なおこれらの炭水化物およびアミノ酸は 1% の濃度で何れも血清 ChE を阻害しないことを確かめた.

実験結果 それぞれの結果は Table I, Table II に示した. これによつてみると, 炭水化物添加の場合は salicin, dulcitol, sorbitol, inositol, sucrose 等が高い ChE 阻害度を示したが, 他は対照 (蒸留水) とくらべて殆んど差がなかつた. また濁度は sorbitol, mannitol, glycerol, glucose が高い値を示したが, 濁度と ChE 阻害度との間に有意の関係があるとは思われなかつた.

アミノ酸添加の場合は培地によりかなりの差がみられた. 即ちブイヨンの場合は tryptophan が特に高い阻害度を示し, alanine, isoleucine, phenylalanine がこれにつづいたが, 合成培地の場合は *l*-cystine が最高を示し tryptophan がこれにつづき他は低値を示した.

Table I. Effects of Various Carbohydrates added to Peptone Medium on Cholinesterase

Carbohydrate	Turbidity	Cholinesterase inhibition (%)
Glucose	0.600	1.1
Maltose	0.495	2.2
Fructose	0.590	4.3

* 第 76 回日本薬学会年会 (1596) で発表.

Galactose	0.540	3.3
Rhamnose	0.472	0
Xylose	0.512	0
Lactose	0.460	0
Mannose	0.540	0
Arabinose	0.530	0
Raffinose	0.440	8.8
Trehalose	0.560	7.4
Sorbitol	0.630	11.9
Dulcitol	0.398	12.6
Mannitol	0.600	0
Inositol	0.405	10.5
Sucrose	0.472	10.2
Salicin	0.542	18.1
Dextrin	0.553	9.5
Glycerol	0.600	9.7
Aq. Dest.	0.397	8.1

Table II. Effect of Various Amino Acids added to the Media on Cholinesterase

Amino Acid	Bouillon Medium		Synthetic Medium	
	Turbidity	ChE inhibition (%)	Turbidity	ChE inhibition ¹⁾ (%)
Aspartic acid	0.740	9.8	0.415	0
<i>l</i> -Leucine	0.700	2.0	0.396	0
<i>l</i> -Cystine	0.762	0	0.420	12.5
<i>l</i> -Cysteine	0.600	0	0.250	4.5
<i>l</i> -Tryptophan	0.588	31.7	0.432	10.0
<i>l</i> -Arginine	0.725	0	0.470	1.0
<i>l</i> -Glutamic acid	0.580	0	0.370	6.3
<i>l</i> -Methionine	0.570	4.5	0.410	3.7
<i>l</i> -Isoleucine	0.762	11.2	0.435	8.2
<i>l</i> -Alanine	0.638	12.8	0.322	0
<i>dl</i> -Phenylalanine	0.495	10.8	0.355	0
<i>l</i> -Tyrosine	0.620	4.2	0.432	0
α -Aminobutyric acid	0.580	8.3	0.153	4.2
Asparagine	0.730	6.7	0.500	1.5
Histidine	0.510	0	0.422	2.0
Lysine	0.758	—	0.326	3.5
Aq. Dest.	0.730	0.5	0.332	0.3

培養後の培地の pH はブイオンでは 7.0, 合成培地では 5.4 であった.

考察及び結論 *Escherichia coli* の発育に必要な炭素源についての研究は den Dooren de Jong によつて広範になされているが, 著者らの実験でも発育のよいものはやはりこれらの利用可能な炭素源を添加した場合であつた. しかしこの発育状況とその代謝産物の ChE 阻害度との間には有意の関連はないと思われる結果を得た. 例えば発育良好な mannitol 添加の場合には ChE 阻害度が 0 であり, 発育の悪い dulcitol の場合に, かなり高い ChE 阻害度を示したことなどである.

炭水化物と細菌の代謝の関連については, なお炭水化物の分解により生成した酸と腸内細菌の関連について *in vivo* で論じられているが, 著者らの実験は *in vitro* であるので, 代謝産物の ChE 阻害の原因については今後の検討にまかたいと考える.

次にアミノ酸添加の場合であるが, 培地の如何を問わず tryptophan が高い ChE 阻害を示したことは, tryptophan が *E. coli* によつて分解されて生じた tryptamine や indole²⁾ によるものと考えられる.

1) M. Stephenson: 邦訳“細菌の代謝”(丸善) 185(1955).

2) E. Baldwin: 邦訳“動的生化学”(岩波書店) 257(1954).

合成培地においてはアミノ酸の添加により ChE 阻害度はさほど高くないが, *L*-cystine は tryptophan よりも高い阻害度を示した。

ブイオンにおいては tryptophan が特に高い阻害作用を示したが, その他 alanine, isoleucine 等もかなりの阻害を示した。これらの ChE 阻害作用の機構については明らかでないが, 細菌によるアミノ酸の分解を考えてみた。

即ちアミノ酸に対する脱アミノ及び脱カルボキシル作用は, それぞれの酵素によつておこり, 前者は中性またはアルカリ性の medium で, 後者は酸性の medium でおこることが知られている。従つてブイオンの場合は pH 7.0 であるから脱アミノ作用が, 合成培地では pH 5.4 であるから脱カルボキシル作用がおこつたことが考えられる。この際に生じた代謝産物としては前者では酸及びアンモニア, 後者ではアミンが考えられるから, これらが ChE 阻害作用をもつと思われるが, その詳細は今後の検討にまきたい。

この研究に当り御指導御鞭撻を頂いた中村所長に深謝の意を表し, また実験に協力された熊谷 満, 唐島田 隆多賀光彦の諸氏に感謝する。

北海道立衛生研究所

U.D.C. 577.153.3.025 : 576.851.48.095 : 613.28-099

192. 岩本多喜男, 安藤芳明, 井上勝弘: 細菌代謝産物のコリンエステラーゼ活性に及ぼす影響 (第3報*) イカを培地とした場合の実験

Takio Iwamoto, Yoshiaki Ando, and Katsuhiko Inoue: Effect of Microbial Metabolites on the Activity of Cholinesterase. III. Experiments in a Squid Medium.

(Hokkaido Institute of Public Health)

Homogenate, extract, and proteins of a squid were used as a medium for the culture of various bacteria and the changes in pH, amount of volatile basic nitrogen, trimethylamine-nitrogen, and degree of cholinesterase inhibition of each culture filtrate with passage of time were measured. It was thereby found that both the pH and basic nitrogen increased with passage of time, while trimethylamine-nitrogen and cholinesterase inhibition reached the maximum after 48 hours and decreased by 72 hours later. There were no cholinesterase inhibition or the presence of trimethylamine-nitrogen when squid protein was used as the medium, while these were extremely high when the squid homogenate and extract were used as the culture medium. Further, there was a significant relativity between these. The inhibition of cholinesterase activity by the culture filtrate using squids must be due to the trimethylamine formed by the bacterial reduction of trimethylamine oxide contained in the squid. Liberation of histamine was also measured in some of these culture media but the amount was extremely minute.

(Received April 16, 1956)

第1, 2報では各種の培地に各種細菌を培養した場合の培養液の血清 ChE に対する阻害作用をしらべ, 菌の種類, 培地の種類及び培養時間の差によつて ChE 阻害度に差があることを認めたが, この基礎的実験では ChE 阻害度の最も高いものでも tryptophan 添加ブイオン培地の場合における 31.7% であつて他はすべて 10~20% 程度の阻害度を示したにすぎない。

そこで今回は实际的に食中毒と関連のある食品のうち, 昭和30年の夏期に全国的に多発したイカ中毒の原因と思われるイカを対象とした実験を行つた。

著者らはイカを培地として各種の菌を培養した場合に, 発生する trimethylamine と ChE 阻害作用との関

* 第76回日本薬学会年会 (1956) で発表。