

各種薬剤の大腸菌硝酸還元酵素に 及ぼす影響について

金沢大学医学部微生物学教室(主任 谷教授)

川 崎 浩

Hiroshi Kawasaki

(昭和29年12月6日受附)

第1章 緒 言

細菌の呼吸の酸素需要系路を好氣的呼吸系路と嫌氣的呼吸系路との二つに分けることが出来る。好氣的呼吸系路とは、Cytochrome 系等により直接空気中の遊離の酸素との呼吸をいい、嫌氣的呼吸系路とは、硝酸還元酵素系、硫酸還元酵素系、塩素酸還元酵素系の如く、無機物の酸素を取り、無機物を還元する呼吸系をいう。例えば硝酸塩を還元してその酸素を取り、亜硝酸塩を作る如くである。

好氣的呼吸系路については多くの研究者により究明されているので、著者は嫌氣的呼吸系路、特に一般細菌が持つ硝酸還元酵素系につき各種薬剤による影響を研究した。

硝酸還元酵素 Nitratase (以後 N. R. と略記す) については、1925年 Quastel¹⁾ が硝酸塩を亜硝酸塩に変える特異的酵素 N. R. の存在を明らかにし、その後多くの研究者により、その性質を研究されている。

山県^{2,3)} は大腸菌の自家消化により、dehydrogenase を持つ N. R. を精製し、その性質につ

き、作用 pH 7.5, 54°C 90分で死滅し、0°C で5日間保存出来ると述べている。

その阻害作用については、Quastel⁴⁾ は CN, CO で阻害されると述べ、山県^{2,3)} は CN, CO, Urethan, Toluol, ピロリン酸, モノヨード醋酸をあげ、Aubel⁵⁾ は Urethan, Octylalkohol を記し、佐藤⁶⁾ は CN, NaN₃, CO, モノヨード醋酸, Cystein, Cystin をあげ、江上・佐藤⁷⁾ は KClO₃ が代償性阻害をなすと述べ、Stickland⁸⁾ は O₂ は代償性阻害を行わないと述べている。

その促進作用については、山形^{2,3)} は Nilblau 及び Methyleneblau (以後 M. B. と略記す) は中間供与体として働くと述べ、Green⁹⁾ は Pyocyanin は中間供与体となり得るも Glutathion, Ascorbin 酸, Cytochrome C, 遊離の Flavin 等は中間供与体になり得ないと述べている。

以上の如く一部薬品の影響については研究されているが系統的研究は見られないので著者はいささか広く実験を行つた。

第2章 実験材料及び実験方法

第1節 実験材料

実験に使用した菌液は Escherichia coli (学生株) の24時間普通寒天平板培養を生理食塩水にて浮游し、遠沈法 (5,000 R.P.M. 30分) により3回生理食塩水にて洗滌後 24mgN/dl の濃度に生理食塩水にて稀釈

したる後使用した。

硝酸塩は M/170 硝酸ソーダを、基質としては 2% Glucose 水溶液を、緩衝液としては pH 7.0 の Sørensen 氏の磷酸緩衝液を使用した。

その他本実験に使用したる薬剤についてはその都度

述べることにする。

第2節 実験方法

各種濃度の試験薬剤 0.5ml ずつを夫々異なる小試験管に入れ、各試験管に基質 0.5ml、緩衝液 0.5ml、硝酸塩 0.5ml 及び菌液 1.0ml を加え、十分に振盪後、37°C の水浴中に1時間放置後その亜硝酸塩を定量した。この時試験薬品の入らない対照試験管の亜硝酸塩量を 100%として亜硝酸塩の産生%をもとめてその

値とした。

亜硝酸塩の定量は醋酸 1ml を加え、除蛋白後炭末にて色素を吸着し、濾紙にて濾過し、濾液 1ml に Gries-Ilsvay の試薬第 I 液及び第 II 液各 1ml を加え、紅色になつた度合を別に準備した標準の亜硝酸銀水溶液に同様試薬を加えたものの度合とネフロメーターにて比色定量した。

第3章 実験成績

第1節 金属イオンの影響

使用した金属イオンは Na^+ , Mg^{++} , Al^{+++} , K^+ , Ca^{++} , Mn^{++} , Fe^{++} , Co^{++} , Ni^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} , Sr^{++} , Ag^{++} , Cd^{++} , Ba^{++} , Hg^{++} , Pb^{++} , Bi^{++} , 及び陽イオンとして NH_4^+ の19種類で、すべて塩酸塩又は硫酸塩を使用した。これらの塩は蒸留水にて溶かしたものを使用し

た。

稀釈は終末濃度が 10^{-1}M より始め、10倍稀釈法により 10^{-8}M になる迄稀釈した。

実験成績は第1表に示す如くである(第1表参照)。表中 FID_{50} (50% Ferment inhibition dose) とあるは50%に阻害する点の稀釈 Mol 濃度の指数である。

第1表 金属イオンの Nitratase に及ぼす影響 (単位 NO_2 産生%)

金属イオン	薬 剤 の 稀 釈									FID_{50} (50% 阻害対数)
	10^{-1}M	10^{-2}M	10^{-3}M	10^{-4}M	10^{-5}M	10^{-6}M	10^{-7}M	10^{-8}M	$10^{-\infty}\text{M}$	
Na^+	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
Mg^{++}	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
Al^{+++}	0	98	100	100	100	100	100	100	100	-1.45
K^+	79	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.0 以下
Ca^{++}	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
Mn^{++}	62	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.0 以下
Fe^{++}	0	3	100	100	100	100	100	100	100	-2.28
Co^{++}	0	0	17	37	37	37	100	100	100	-6.26
Ni^{++}	19	22	39	65	92	100	100	100	100	-3.40
Cu^{++}	0	0	6	28	98	100	100	100	100	-4.38
Zn^{++}	0	0	9	40	100	100	100	100	100	-4.19
Sr^{++}	0	98	100	100	100	100	100	100	100	-1.45
Ag^{++}	0	24	64	97	100	100	100	100	100	-2.65
Cd^{++}	0	0	34	45	98	100	100	100	100	-4.15
Ba^{++}	20	21	98	100	100	100	100	100	100	-2.33
Hg^{++}	0	0	0	0	0	0	93	100	100	-6.52
Pb^{++}	0	30	100	100	100	100	100	100	100	-2.05
Bi^{++}	0	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.50
NH_4^+	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0

これを見るに、 Na^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , NH_4^+ は全く阻害作用なく、 K^+ , Mn^{++} は僅かに阻

害し、 Al^{+++} , Fe^{++} , Ni^{++} , Sr^{++} , Ag^{++} , Ba^{++} , Pb^{++} , Bi^{++} は中等度の阻害を、 Cu^{++} ,

Zn⁺⁺, Cd⁺⁺ は高度の阻害を, Co⁺⁺, Hg⁺⁺ は最高度の阻害をなす。

第2節 無機陰イオンの影響

使用した無機陰イオンは F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, ClO₃⁻, S⁻, SO₄²⁻, SO₃²⁻, S₂O₄²⁻, S₂O₃²⁻, PO₄³⁻, P₂O₇⁴⁻, CO₃²⁻, CN⁻, CNS⁻, B₄O₇²⁻, BO₃³⁻, WO₄²⁻, AsO₄³⁻, の19種を使用し, すべてナトリウム塩を使用した。

稀釈は前節同様の稀釈を行い 10⁻¹M より 10⁻⁸M に至る間を使用した。

実験成績は第2表に示す如くである。これを見るに, Cl⁻, SO₄²⁻ は阻害作用なく, PO₄³⁻, BO₃³⁻, WO₄²⁻ は僅かに阻害作用を有し, F⁻, Br⁻, I⁻, SO₃²⁻, S₂O₄²⁻, P₂O₇⁴⁻, CO₃²⁻, CNS⁻, B₄O₇²⁻, AsO₄³⁻ は中等度の阻害を, ClO₃⁻, S⁻, S₂O₃²⁻ は高度の阻害を, CN⁻ は最高度の阻害を有する。

第2表 無機陰イオンの Nitratase に及ぼす影響 (単位 NO₂ 産生%)

薬剤種類	薬 剤 の 稀 釈									FID ₅₀ % (50% 阻害対数)
	10 ⁻¹ M	10 ⁻² M	10 ⁻³ M	10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁸ M	10 ^{-∞} M	
F ⁻	0	2	84	100	100	100	100	100	100	-2.51
Cl ⁻	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
Br ⁻	39	64	80	100	100	100	100	100	100	-1.54
I ⁻	24	98	100	100	100	100	100	100	100	-1.20
ClO ₃ ⁻	0	0	0	48	100	100	100	100	100	-4.22
S ⁻	0	0	0	52	100	100	100	100	100	-3.99
SO ₄ ²⁻	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0
SO ₃ ²⁻	0	29	62	100	100	100	100	100	100	-2.60
S ₂ O ₄ ²⁻	0	14	80	100	100	100	100	100	100	-2.18
S ₂ O ₃ ²⁻	0	4	22	64	100	100	100	100	100	-3.85
PO ₄ ³⁻	90	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.0 以下
P ₂ O ₇ ⁴⁻	0	5	100	100	100	100	100	100	100	-2.24
CO ₃ ²⁻	0	56	100	100	100	100	100	100	100	-1.98
CN ⁻	0	0	0	0	2	86	100	100	100	-5.51
CNS ⁻	9	29	100	100	100	100	100	100	100	-2.30
B ₄ O ₇ ²⁻	40	45	52	100	100	100	100	100	100	-2.91
BO ₃ ³⁻	60	82	100	100	100	100	100	100	100	-1.0 以下
WO ₄ ²⁻	59	94	100	100	100	100	100	100	100	-1.0 以下
AsO ₄ ³⁻	27	80	100	100	100	100	100	100	100	-1.71

第3節 有機酸の影響

使用した有機酸は乳酸ソーダ (Lactate), 性葡萄糖ソーダ (Pyruvate), 醋酸ソーダ (Acetate), クエン酸ソーダ (Citrate), フマル酸ソーダ (Fumalate), マリク酸ソーダ (Malate), 琥珀酸ソーダ (Succinate), 蟻酸ソーダ (Formate), 酒石酸ソーダ, モノヨード醋酸, サルチル酸ソーダ, マロン酸ソーダを使用した。この際多くの有機酸は基質となり得るため, 2% Glucose 溶液の代りに基質として各有機酸の

1/10 M 溶液を使用したものを対照として使用した。

実験成績は第3表に示す如くである。これを見るに, Lactate, Pyruvate, Acetate 等 Krebs cycle 前の中間代謝有機酸塩及び Formate, Citrate は最高濃度で僅かに阻害する。サルチル酸ソーダ, マロン酸ソーダは中等度の阻害を, モノヨード醋酸は高度の阻害を行う。

Krebs cycle 系有機酸塩たる Citrate, Fumalate, Malate, Succinate 及び酒石酸ソーダは促

第3表 有機酸の Nitratase に及ぼす影響 ((単位 NO₂ 産生%)

有機酸種類	薬 剤 の 稀 釈							最高促進濃度	FID ₅₀ (50% 阻害対数)	M/10 薬剤を基質とした際の NO ₂ 産生%
	-1.0M 10	-2.0M 10	-3.0M 10	-4.0M 10	-5.0M 10	-6.0M 10	-∞ M 10			
乳酸ソーダ	87	100	100	100	100	100	100	なし	-1.0 以下	64
焦性葡萄糖ソーダ	—	79	100	100	100	100	100	なし	-1.82	62
酢酸ソーダ	54	94	100	100	100	100	100	なし	-1.0 以下	35
クエン酸ソーダ	85	186	112	100	100	100	100	-2.0	-1.0 以下	0
フマル酸ソーダ	—	110	100	100	100	100	100	-1.8	不明	32
マリク酸ソーダ	—	123	100	100	100	100	100	-1.8	不明	58
琥珀酸ソーダ	—	101	108	100	100	100	100	-2.4	不明	47
蟻酸ソーダ	54	100	100	100	100	100	100	なし	-1.0 以下	26
酒石酸ソーダ	112	108	100	100	100	100	100	-1.3	不明	32
マロン酸ソーダ	0	0	85	100	100	100	100	なし	-2.72	0
サルチル酸ソーダ	42	46	100	100	100	100	100	なし	-2.10	0
モノ・ヨード酢酸	0	0	9	35	82	100	100	なし	-4.33	0

註：—は実験せず。

進作用を有していた。

これらの有機酸の内 1/10 M 溶液が基質となり得なかつたのは Citrate, サルチル酸ソーダ, マロン酸ソーダ, モノヨード酢酸であつた。

第4節 有機溶剤の影響

使用したる有機溶剤は Methyl-alkohol, Aethyl-alkohol, Benthyl-alkohol, Buthyl-alkohol, Amyl-alkohol, Octhyl-alkohol, Xylol, Aethyl-

aether, Acetone, Chloroform, 四塩化エタン, 二硫化炭素, Toluol, Benzene の14種を使用した。

稀釈は倍々稀釈法により終末稀釈 10^{-0.8} より 10^{-4.4} 迄稀釈使用した。

その実験成績は第4表に示す如くである。

これを見るに Methyl-alkohol, Aethyl-alkohol, Buthyl-alkohol, Amyl-alkohol, Benthyl-

第4表 有機溶剤の Nitratase に及ぼす影響 (単位 NO₂ 産生%)

薬 剤 種 類	薬 剤 の 稀 釈														FID ₅₀ (50% 阻害対数)
	-0.8 10	-1.1 10	-1.4 10	-1.7 10	-2.0 10	-2.3 10	-2.6 10	-2.9 10	-3.2 10	-3.5 10	-3.8 10	-4.1 10	-4.4 10	-∞ 10	
メチル・アルコール	59	9	38	52	57	72	90	100	100	100	100	100	100	100	-1.57
エチル・アルコール	52	44	9	17	32	60	100	100	100	100	100	100	100	100	-2.22
ブチル・アルコール	0	0	0	10	30	46	66	87	100	100	100	100	100	100	-2.32
アミール・アルコール	48	18	2	22	54	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.98
ペンチル・アルコール	31	11	0	0	6	21	38	54	100	100	100	100	100	100	-2.64
オクチル・アルコール	28	33	11	8	8	8	10	16	20	36	69	100	100	100	-3.72
エチル・エーテル	0	0	2	67	97	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.62
アセトン	30	14	9	30	84	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.80
キシロール	52	15	5	5	27	75	100	100	100	100	100	100	100	100	-2.17
クロロホルム	32	37	7	0	0	0	90	100	100	100	100	100	100	100	-2.51
四塩化エタン	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22	82	100	100	-3.95
二硫化炭素	12	0	0	6	13	26	29	42	51	69	88	100	100	100	-3.19
トルオール	95	22	10	87	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-1.52
ペンゼン	18	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-0.97

alcohol, Xylol, Aethyl-aether, Acetone, Chloroform, Toluol, Benzene 等は中等度の阻害を, Octyl-alcohol, 四塩化エタン, 二硫化炭素は高度の阻害を行う。

第5節 Phenol 系物質の影響

Dinitrophenol (D.N.P. と略記す) 系物質は M.B. と共に解糖を促進する物質として知られている。しかるに M.B. は N.R. の作用を促進することが山形等の研究により明らかにされているので, D.N.P. 及びその類似薬剤が N.

R. の作用を促進するのではないかと考え実験を行った。

使用したる薬剤は 2・4-D.N.P., 2・5-D.N.P., 2・6-D.N.P., para-Nitrophenol, meta-Nitrophenol, para-Aminophenol, para-Amino-salicylate, Hydroquinone, Quinone, Phenol, Benzene の11種である。

稀釈は倍々稀釈法により終末稀釈 $10^{-2.8}$ より $10^{-5.2}$ 迄稀釈した。

実験成績は第5表に示す如くである。これを

第5表 Phenol 系物質の Nitratase に及ぼす影響 (単位 NO_2 産生%)

薬剤種類	構造式	薬剤の稀釈										最高促進濃度	FID ₅₀ (50% 阻害対数)
		$10^{-2.8}$ 10	$10^{-3.1}$ 10	$10^{-3.4}$ 10	$10^{-3.7}$ 10	$10^{-4.0}$ 10	$10^{-4.3}$ 10	$10^{-4.6}$ 10	$10^{-4.9}$ 10	$10^{-5.2}$ 10	$10^{-\infty}$ 10		
2,4-dinitrophenol		—	419	203	149	135	126	122	119	116	100	—3.1	不明
2,5-dinitrophenol		—	154	168	162	145	136	132	127	122	100	—3.4	不明
2,6-dinitrophenol		—	101	114	135	149	152	130	114	106	100	—4.3	不明
para-nitrophenol		102	108	162	112	108	105	101	100	100	100	—3.4	不明
meta-nitrophenol		32	41	53	68	82	103	127	132	103	100	—4.9	— 3.38
para-amino phenol		145	152	158	122	112	108	103	101	100	100	—3.4	不明
P.A.S.-Na *		2	28	56	61	66	80	100	100	100	100	なし	— 3.27
Hydroquinone		18	27	35	78	99	100	100	100	100	100	なし	— 3.59
Quinone		0	0	4	8	13	18	31	62	70	100	なし	— 4.77
Phenol		10	26	46	66	70	96	100	100	100	100	なし	— 3.43
Benzol		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	なし	— 0.97

* P.A.S.-Na.....Sodium para-amino-salicylate.

— は実験せず。

見るに, 2・4-D.N.P., 2・5-D.N.P., 2・6-D.N.P., para-Nitrophenol, meta-Nitrophenol,

para-Aminophenol 等は促進作用を有している。meta-Nitrophenol は高濃度で僅かの阻害作用を

有している。

しかるに para-Aminophenol の誘導体たる para-Aminosalicylate は促進作用なく、その他のものも同様促進作用を有していない。

meta-Nitrophenol, para-Aminosalicylate, Hydroquinone Phenol は中等度の阻害作用を有し、Quinone は高度の阻害作用を有していた。

第6節 消毒剤の影響

使用した消毒剤は昇汞、硝酸銀、炭酸ソー

ダ、クロールカルク、Aethyl-alkohol、フォルマリン、石灰酸、クレゾール、リゾール、マーゼニンの10種を使用した。

稀釈は10倍稀釈法により終末稀釈 $10^{-1.0}$ より $10^{-7.0}$ 迄使用した。

その成績は第6表に示す如くである。それを見るに硝酸銀、炭酸ソーダ、Aethyl-alkohol、石灰酸、クレゾール、リゾール、マーゼニンは中等度の阻害を、昇汞、クロール・カルク、フォ

第6表 消毒剤の Nitratase に及ぼす影響 (単位 NO_2 産生%)

消毒剤種類	薬 剤 の 稀 釈									FID ₅₀ (50% 阻害対数)
	10-1.0	10-2.0	10-3.0	10-4.0	10-5.0	10-6.0	10-7.0	10-8.0	10-∞	
昇 汞	0	0	0	0	0	0	0	100	100	— 7.50
硝 酸 銀	0	0	32	70	99	100	100	100	100	— 3.42
炭酸ソーダ	0	3	90	100	100	100	100	100	100	— 2.52
クロール・カルク	0	0	0	0	48	100	100	100	100	— 5.02
エチール・アルコール	48	34	100	100	100	100	100	100	100	— 2.22
フォルマリン	0	0	0	0	22	99	100	100	100	— 5.37
石 炭 酸	0	0	20	71	100	100	100	100	100	— 3.43
クレゾール	0	0	30	100	100	100	100	100	100	— 3.21
リゾール	0	0	90	100	100	100	100	100	100	— 2.56
マーゼニン	0	1	90	100	100	100	100	100	100	— 2.55

ルマリンは高度の阻害を示した。

第7節 化学療法剤の影響

使用した化学療法剤は Luzil (Sulfamin), Therapol (Sulfamin), Neo-Gerison (Sulfanyl-

第7表 化学療法剤の影響 (単位 NO_2 産生%)

薬 剤 種 類	薬 剤 の 稀 釈												FID ₅₀ (50%阻害対数)
	-2.1	-2.4	-2.7	-3.0	-3.3	-3.6	-3.9	-4.2	-4.5	-4.8	-5.1	-∞	
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Luzil	84	96	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100	— 2.1 以下
Therapol	81	90	97	99	100	100	100	100	100	100	100	100	— 2.1 以下
Neo-Gerison	84	86	88	95	100	104	119	123	123	119	113	100	— 2.1以下促進作用 *
Homo-Sulfamin	93	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	— 1.5 以下
Domiklin	—	—	—	—	119	111	100	100	100	100	100	100	不明 促進作用 *
Salzol	0	10	39	54	58	68	88	98	100	100	100	100	— 2.92
Athinon	—	—	—	—	74	83	90	96	99	100	100	100	不明
Sulfadiazine	—	—	—	—	67	75	82	88	92	96	100	100	不明
Sulfaguanidin	92	97	99	100	100	100	100	100	100	100	100	100	— 2.1 以下
Rontirin	41	49	58	69	84	96	98	100	100	100	100	100	— 2.43
P. A. S.	0	0	0	18	53	59	63	74	100	100	100	100	— 3.27

* 促進作用を有す。 — は実験せず。

acetylamid), Homo-Sulfamin (p-amino-methyl-benzol-sulfonamid), Domiklin (Diceptal A), Salzol (Su-fa-thiazol), Athinon (Sulfamethylthiazol), Sulfadiazine, Sulfaguanidin, Rontirin (p-amino-benzol-sulfonamid methan-sulfonate) の Sulfon 剤10種と P.A.S. (p-amino-sulicylate) を使用した。

稀釈は倍々稀釈法により終末稀釈 $10^{-2.1}$ より $10^{-5.1}$ 迄稀釈使用した。

実験成績は第7表に示す如くである。これを見るに Sulfon 剤すべては高濃度で僅かに阻害作用を示す。しかるに Diceptal A (Domiklin), Sulfanyl-acethylamid (Neo-Gerison) は僅かに促進作用を示した。

P.A.S. は中等度の阻害作用を示した。

第8節 抗生物質の影響

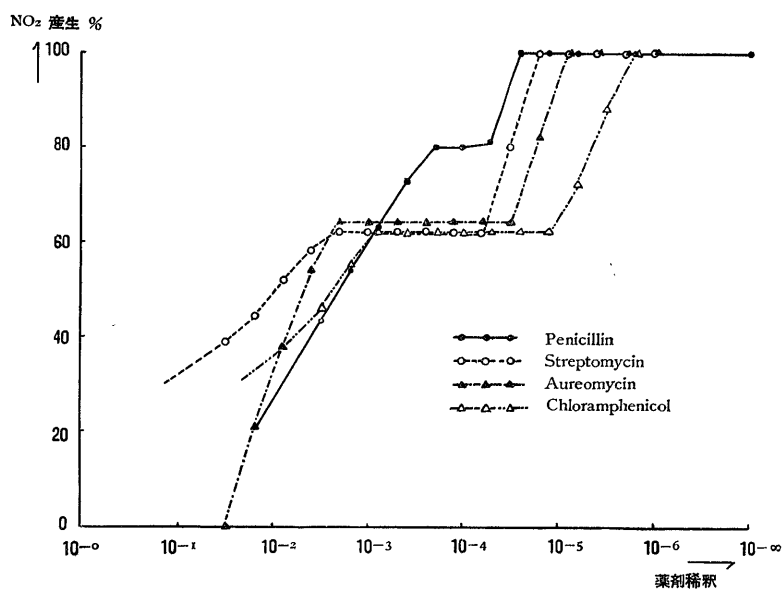
近年屢々抗生物質の呼吸系に及ぼす影響が研究され多くの報告が見られる。著者もこの観点よりこれらの抗生物質の影響について実験を行った。

実験に使用した抗生物質は Penicillin, Streptomycin, Aureomycin, Chloramphenicol の4種を使用した。

稀釈は倍々稀釈法により終末稀釈 $10^{-1.5}$ より $10^{-6.0}$ 迄稀釈した。

実験成績は第1図に示す如くである。これを見るに Penicillin は阻害作用最も弱く, Streptomycin, Aureomycin, Chloramphenicol の順に阻害作用が増強された。

第1図 抗生物質の Nitrase に及ぼす影響



第4章 考 按

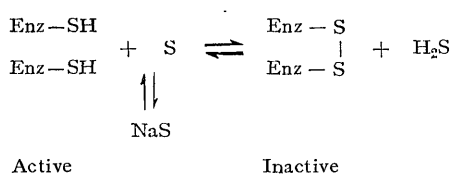
1) 先ずこの中金属イオンについて見るに Co, Cu, Zn, Cd, Hg 等重金属塩が阻害作用を有し, Cu, Zn, Cd, Hg 等は SH 酵素阻害金属として知られている。佐藤¹⁰等は N.R. が

SH 酵素阻害剤により阻害をうけるといつている点より考えるに, これら金属イオンもやはり SH 酵素系の阻害による阻害と考えられる。

しかるに Co は今日迄 SH 酵素系阻害剤とし

てのべられておらない点より又これが非常に高い阻害度を持つている点より考え、これが N.R. に特有に働くものか、又は N.R. 系の特異 SH 酵素系に働くものかは明らかではないが注目すべきことである。

2) 次いで無機陰イオンを見るに ClO_3^- , S, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CN 等が阻害作用を有している。 ClO_3^- については Quastel¹⁾ がクロール酸還元酵素が存在するといっている。又 Stephenson^{10, 11)} 等はクロール酸還元酵素は N.R. と別個の酵素であるとのべている。しかるに江上・佐藤⁷⁾ 等の研究により、N.R. とクロール酸還元酵素は同一であり、たがいに代償性阻害をなすといっている。この点より考えるとこのものも代償性阻害による阻害と考えられる。次いで CN については、Quastel⁴⁾、山県^{2, 3)}、Aubel⁵⁾、佐藤等はその特異的阻害をのべている。著者の実験においても特異的な阻害作用をなしている。 SO_3^{2-} についてはこれが強い還元剤であり、Cystein と同様であり、Cystein も又 N.R. の作用を阻害すると佐藤⁶⁾ はのべている点よりこれら還元剤が同一の機転のもとに阻害作用を有していると考えられる。S については硫化物特有の阻害であると考え。その作用機転は Libenson¹²⁾ 等が単体 S の作用により細菌の発育を阻害する機転についてのべていると同様な機転と考えられる。即ち SH 酵素と NaS より遊離した単体 S とが作用して次の如き反応が行われると考えられる。



以上の如くして SH 酵素系を不活化するため SH 酵素系阻害剤として作用するものと考えるのが正しいと考えられる。

$\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ については山県^{2, 3)} がその阻害作用を特異的に有すると述べているが、著者の実験には中程度の阻害作用を認めたのみである。これ

は実験方法の差違によるものと考えられる。

3) 次いで有機酸塩を見るに、Krebs cycle 前の Lactate, Pyruvate, Acetate 等は促進作用を有しておらないが、Krebs cycle 系の Malate, Fumalate, Citrate, Succinate 等は促進作用を有している。しかるにこれらの Krebs cycle 系の有機酸塩中 Citrate をのぞく Malate, Fumalate, Succinate は Glucose に代つて基質となり得るも、Citrate は基質となり得ないのである。これより考えると Krebs cycle 系のものが基質となり、これより生成される NO_2^- と Glucose より生成される NO_2^- とが加わつて促進作用を有するとすれば Lactate, Pyruvate, Acetate 等も基質となり得るのでこれらも促進作用を有するはずである。しかるに Citrate はそれ自身では基質となり得ないのであるから Citrate の促進作用を解明出来ない。次に考えられるのは Krebs cycle 系の不均衡により起るもので、これによるとすれば Krebs cycle 系物質を入れることによりすべて起り得るのである。Citrate の促進作用はこの観点より解明出来ると考えられる。しかし Krebs cycle 系の unbalance が Krebs cycle 系の回転を促進するのか、又は阻害して他系路が促進して来るのかは今後の研究によらねばならない。その他酒石酸ソーダの促進作用があるがその作用機序は不明である。

モノヨード醋酸については山県^{2, 3)}、佐藤⁶⁾ 等が特異的阻害作用をのべているが著者の実験においても高度の阻害作用を有していた。

4) 有機溶剤については Aubel⁵⁾ は Octyl-alkohol が特異的阻害作用を有しているとのべているが著者の実験もやはり同様の成績を得ている。二硫化炭素の阻害作用は NaS の阻害作用と同様遊離した単体 S による SH 酵素系の阻害と考えられる。その他四塩化エタンも高度の阻害作用を有するもその作用機序は不明である。又山形は Toluol の阻害をのべているが、著者の実験においては顕著なる作用が見られないのは実験方法の差違によるものと思われる。

5) Myerhof & Kiessling¹³⁾ は M.B. の解糖

促進作用をのべ、Massart & Vandendrissche¹⁴⁾ は D.N.P. 類の解糖促進作用をのべている。又山県^{2, 3)}等は M.B. は N.R. の作用を促進するとのべている。著者は山形等のいう N.R. の M.B. による促進は Myerhof & Kiessling のいう解糖作用の促進により起るのではないかと考え、Massart & Vandendrissche¹⁴⁾ のいう D.N.P. 類も又 N.R. の作用を促進せしめないかと考え実験を行つたのである。しかるに 2.4-D.N.P. の 10^{-3} 稀釈で4倍以上の促進作用をあらわし、その作用は 2.5-D.N.P., 2.6-D.N.P., para-Nitrophenol, meta-Nitrophenol, 及び para-Aminophenol においても見られた。しかるに para-Aminophenol の誘導体なるパラアミノ・サルチル酸ソーダは促進作用を有せず、かえつて阻害作用が見られた。その他 Quinone, Hydroquinone, Phenol, Benzol 等 Phenol 系物質は促進作用を有せず、Quinone ではかえつて高い阻害作用が見られた。これより考え、Phenol 系物質中 2 及び 4 の位置に Nitro 基又は Amino 基を有する Phenol 系物質のみが促進作用を有しているものと考えられる。又他の基が入るとその作用を失うものと考えられる。その作用機序は不明であり、今後の研究にまたねば

ならない。又 Quinone の阻害作用は還元剤として強い阻害作用を起すものと考えられる。

6) 消毒剤は一般にある程度の阻害作用を有している。その中昇汞は Hg の阻害と考えられ、クロールカルクは次亜塩素酸の阻害と考えられ、フォルマリンは Aldehyd 基が有害に作用するものと考えられる。消毒剤が殺菌的に働くのはこの N.R. の阻害によるのみではないことは勿論である。

7) 化学療法剤中 Sulfonamid 剤は一般に高濃度において僅かに阻害作用を有する。しかるにアセトズルファミン及び Diceptal A は僅かに促進作用を有しているが、その作用機序は不明である。P.A.S. は中等度の阻害作用を有しているが、これはサルチル酸の部分有害に働くものと考えられる。これらの薬品が N.R. を阻害することにより発育を抑制するとは考えられない。

8) 抗生物質は一般に阻害作用を有しており又これが殺菌作用と略々一致しており、Penicillin, Streptomycin, Aureomycin, Chloromphenicol の順に阻害作用が強くなる。しかしこの阻害作用のみで菌の発育を阻害するとは考えられない。

第5章 結

論

金属イオン19種、無機陰イオン19種、有機酸12種、有機溶剤14種、Phenol 系物質11種、消毒剤10種、化学療法剤11種、及び抗生物質4種、を使用し、E. coli (学生株) の Nitratase に及ぼす影響につき考察した。

1) Co, Cu, Zn, Cd, Hg 等の SH 酵素阻害金属、ClO₃, S₂O₃, CN, S 等の無機陰イオン、モノヨード醋酸、Octyl-alkohol, 四塩化エタン、二硫化炭素等の有機溶剤、昇汞、クロールカルク、フォルマリン等の消毒剤は、Nitratase の作用を阻害する。

2) Citrate, Fumarate, Malate, Succinate 等

Krebs cycle 系有機酸及び酒石酸、2.4-dinitrophenol, 2.5-dinitrophenol, 2.6-dinitrophenol, Para-nitrophenol, Meta-nitrophenol, Para-aminophenol 等 Phenol 系物質、Acetosulfamin, Diceptal A 等 Sulfonamid 剤は Nitratase の作用を促進する。

3) Citrate はそれ自体基質となり得ないが、促進作用があり、2.4 dinitrophenol は他に見られない顕著な促進作用を有していた。

終りに恩師谷教授の御教示と御校閲を深く感謝します。

支

- 1) Quastel, J. H., Stephenson, M. & Whetham, M. D. : Biochemic. J., 19. 304 (1925). 2) Yamagata, S. : Acta Phytochim., 10. 283 (1938). 3) Yamagata, S. : Acta Phytochim., 11. 145 (1939) 4) Quastel, J. H., : Nature, 130. 207 (1932). 5) Aubel, E. : Enzymol., 4. 51 (1937). 6) 佐藤了 : 酵素化学シンポジウム, 1. 34 (1949). 7) 江上不二夫・佐藤了 : 日本化学会誌, 68. 39 (昭26). 8) Stickland, L. H. : Biochemic. J., 25. 1543 (1931). 9) Green, D. E., Stickland, L. H. & Tarr,

献

- H. L. A. : Biochemic J., 28. 1812 (1934). 10) Needham, J., Green, D. E. : "Prespective in Biochemistry" p. 91 (1938). 11) Haldane, J. B. S. : "Enzymes", 1st edition, p. 190 (1930). 12) Libenson, L., Hadley, F. P., McIlroy, A. P., Wetzel, V. M., & Mellon, R. R. : J. inf. Dis., 93. 28 (1953). 13) Meyerhof, O. & Kiessling, W. : Biochem. Z., 267. 313 (1933). 14) Massart, E. L. & Vandendriessche, L. : Naturwissenschaft, 28. 781 (1940).