

EDTA の細菌に対する影響に関する研究

第 2 編

EDTA 加培養基に発育せる細菌の酵素的性状に就いて

岡山大学医学部微生物学教室（指導：村上 栄教授）

茎 田 芳 明

〔昭和 34 年 8 月 11 日受稿〕

目 次

I. 緒 言	3. 基質酸化能に対する金属イオン EDTA 添加の影響
II. 実験材料及び実験方法	4. 基質酸化能に対する阻害剤の影響
III. 実験成績	IV. 総括及び考按
1. グルコース添加培地に於ける発育度	V. 結 論
2. 一般酵素活性の比較実験	

I. 緒 言

細菌の物質代謝がその発育条件により大きく左右される事は言を俟たない。人工培養に際して添加される糖質、脂質、アミノ酸等を変化せしめたる場合の酵素系の差異は広く研究がなされている所である。

一方二価金属イオンに関してそれが細菌の物質代謝に大きな意義を有する事は酵素化学的に考えても明らかな事であり、静止菌の酵素作用と二価金属イオンとの関係は当教室においても広範な追求がなされている³⁾⁵⁾⁶⁾。生物作用に大なる意義を有する二価金属イオンが減少した培地に発育した菌において、その酵素的性状が異なるであろう事も充分考えられ、この方面の報告も幾多存する。特に減鉄培地に発育したデフテリー菌においてはH伝達系がチトクローム系よりフラビン系へ変化する事が八木¹⁾により報告されている。当教室においても戸部²⁾等の減鉄培地発育の赤痢菌及びブドウ球菌においてグルコース代謝に著明な変化が生ずる事を報告している。

著者は前編において二価金属イオンとキレート化合物を生ずる EDTA を培地に添加して細菌の発育に対する影響を追求し、更に高力価 EDTA 加培地に発育し得る菌を得た。本編においてはこの EDTA 菌が正常菌との間に如何なる酵素的性状の差異を有するかについて検討した。

II. 実験材料及び実験方法

供試菌・Sal. 57S の教室保存株で常法により数代継代培養を行なつて純化を計つたものを使用した。

菌培養法：正常菌は常法に従い作成した普通寒天培地を用い、EDTA 菌は第 1 編の如くして得られた耐性菌を EDTA 加寒天培地（終濃度 9/1000 mol）に培養した。いずれの培地も pH は 8.0 に調整した。

菌浮游液の調整：上記培地、37°C、18 時間培養の菌を集菌し生理的塩水にて 2 回洗滌し、M/50 磷酸緩衝液に浮游させ、光電比色計（島津製、A, K, A5D）にて Light stopping effect により測定して菌量を決定した。

呼吸量測定：Warburg 検圧計を用い常法に従つた⁷⁾。又 CO₂ 発生は pH 7.2 の関係上呼吸測定後に ³NH₂SO₄ を入れる追出し法を用いた。

基質、金属イオン、阻害剤：いずれも市販品を用いた。基質は pH 7.2 に修整し、Mg⁺⁺ イオンは硫酸マグネシウムを、Fe⁺⁺ イオンは硫酸第一鉄を用い、Fe⁺⁺→Fe⁺⁺⁺ を考慮して使用の都度新しく調整した。又 KCN もその性質上その都度新しく調整して用いた。

glucose の定量：3.5 dinitro salicylic acid による比色法によつた⁸⁾。

pyruvate の定量：2.4 dinitrophenyl-hydrazine を用いる比色法によつた⁹⁾。

lactate の定量：濃硫酸 p-hydroxydiphenyl を

用いる比色法によつた¹⁰⁾。

III. 実験成績

1) グルコース添加培地における発育度

ペプトン水における正常菌, EDTA 菌の発育度及びこれに EDTA 添加の影響は第 1 編において既に論じた所であるが, 更にペプトン水にグルコース添加を行なつた場合の発育度の変化を観察し, 結果は表 1 の如くであつた。

表 1 正常菌及び EDTA 菌の発育と glucose 添加との関係 Sal. 57S

glucose		—	—	+	+
EDTA		—	+	—	+
好気性培養	正 常 菌	1.14 (8.08)	0.3 (7.3)	1.09 (5.3)	0.1 (6.6)
	EDTA 菌	0.98 (8.05)	0.6 (7.3)	1.14 (4.75)	0.21 (6.7)
嫌気性培養	正 常 菌	0.25 (7.4)	0 (7.3)	1.12 (4.7)	0 (6.7)
	EDTA 菌	0.23 (7.4)	0.06 (7.2)	1.12 (4.7)	0.50 (6.3)

基礎培地: Peptone 水 (pH 8.0)

glucose: M/50 終濃度

EDTA: 3 M/1000

incubate: 24 hr

(嫌気性培養は試験管にて流動パラフィンを重層し真空ポンプにて15分吸引した後 incubate す)

先づ好気性培養であるが無添加の場合の発育量は EDTA 菌は正常菌に比して僅かに劣るが, これに EDTA 添加を行なつた場合は逆に EDTA 菌の発育の方が大となり, 第 1 編と同様の成績を得た。ペプトン水+グルコースの場合は EDTA 無添加にては著差は認められないが, EDTA を添加した場合は著明な差を見出した。

次に嫌気性培養の場合もペプトン水のみの場合には好気性培養と略同様の傾向を得たが, グルコースを添加し更に EDTA 添加を行なつた場合は正常菌が発育 0 に対して EDTA 菌は 0.5 と著明な差異を見出した。

2) 一般酵素活性の比較実験

実験を進めるに当り各種基質に対する酸素消費量の比較を行なつた。成績は表 2 に示す如くである。

glucose を基質とした場合 EDTA 菌は正常菌に

表 2 正常菌及び EDTA 菌の各基質酸化能 (O₂ uptake μ l)

基 質	正 常 菌	EDTA 菌
glucose	135	180
gluconate	14	22
ribose	55	81
pyruvate	61	30
lactate	140	172
α -ketoglutarate	41	35
succinate	30	25
malate	32	37

反応液: M/50 phosphate Buffer pH 7.2
(0.9% NaCl 加)

菌量: 5 mg/cup

基質: M/100 (終濃度)

incubate: 1.5 hr

比して O₂ 消費量が著明に増大している。又 gluconate, ribose を基質とした場合にも O₂ 消費が増大している。しかし pyruvate を基質とした場合は EDTA 菌は正常菌の約半量の O₂ 消費を示している。TCA cycle 上のもものでは α -ketoglutarate, succinate, malate を用いて実験を行なつたが, いづれも正常菌の方が優つている結果を得た。

次に glucose, pyruvate, ribose, gluconate を基質とした場合の酸化能を詳しく追求するため RQ 及び基質, 生成物の定量を行なつて表 3 の如き成績を得た。

表 3 各種基質に対する RQ 及び基質消費, 生成物定量値 (単位は μ M)

		VO ₂	VCO ₂	RQ	基質消費	Pyruvate 生成	Lactate 生成
正 常 菌	glucose	6.0	4.2	0.7	3.2	1.6	0.5
	pyruvate	3.0	4.5	1.5	4.1	/	0.3
	ribose	1.4	0.9	0.7	/	0.5	0.1
	gluconate	0.5	0.6	1.2	/	1.0	0.3
E D T A 菌	glucose	9.4	6.4	0.68	5.8	4.6	0.5
	pyruvate	2.5	2.5	1.0	3.5	/	0.7
	ribose	1.8	1.6	0.92	/	0.3	0.3
	gluconate	1.0	1.1	1.1	/	2.4	0

反応液: M/50 phosphate buffer pH 7.2
(0.9% NaCl 加)

菌量: 5 mg/cup

基質: M/100 終濃度

incubate: 1.5 hr

glucose を基質とした場合 VO_2 は EDTA 菌が大であり, RQ には著差は見出し得なかつた. 基質消費は EDTA 菌において優り, pyruvate 生成は EDTA 菌が大であつた. 即ち正常菌は glucose 消費 $3.2 \mu M$ に対して pyruvate 生成 $1.6 \mu M$ となるに対して EDTA 菌では glucose 消費 $5.8 \mu M$ に対して pyruvate $4.6 \mu M$ であつた. pyruvate を基質とした場合は RQ は正常菌が 1.5 に対して EDTA 菌は 1.0 と低く基質消費も正常菌の方が大であつた. ribose, gluconate を基質とした場合は EDTA 菌が VO_2 は優つているが RQ は差異がなく, pyruvate 生成は gluconate を基質とした場合 EDTA 菌が大であつた.

著者の実験は EDTA が Mg^{++} イオンとキレート化合物を生成するに当つては pH 8.0 で生成量が大であるために培養基の pH を 8.0 として菌を发育させたが, その後の代謝系観察時 pH を 7.2 及び 8.0 を選んで各基質に対する酸化能を比較した (表 4).

表 4 各種基質酸化能に対する呼吸時 pH の影響 (単位 μM)

pH	基質	—	glucose.	gluconate	ribose	pyruvate	acetate
7.2	正常菌	0.3	7.9	0.5	0.8	7.3	0.9
	E 菌	0.4	10.9	1.1	2.3	5.5	0.8
8.0	正常菌	0.3	8.2	0.4	2.1	5.5	1.2
	E 菌	0.3	8.1	0.9	2.7	8.1	1.2

反応液 M/50 phosphate buffer
(0.9% NaCl 加)

基質: M/100 (終濃度)

菌量: 5 mg/cup incubate: 1.5 hr

その結果では反応液 pH 7.2 の場合 glucose に存した差異が pH 8.0 では無くなり, pyruvate では逆に EDTA 菌の方が大であつた. gluconate, ribose においては pH 7.2 も pH 8.0 も略同様の関係を得た.

3) 基質酸化能に対する金属イオン, EDTA 添加の影響

正常菌及び EDTA 菌の glucose, pyruvate 酸化能測定に当つて Mg^{++} , Fe^{++} , Mn^{++} イオン添加の影響を検討した (表 5).

添加効果の最も大なるものは Mg^{++} イオンであり, 正常菌においては Mg^{++} イオン添加により

表 5 ブドウ糖酸化に対する金属イオン添加の影響 (単位 μM)

		VO_2	glucose 消費	pyruvate 生成	lactate 生成	acetate 生成
正常菌	glucose	9.4	6.5	1.0	0.9	1.0
	" + Mg^{++}	15.4	6.8	0.3	0.6	0.7
	" + Fe^{++}	10.0	6.0	0.8	0.5	0.7
	" + Mn^{++}	11.0	5.5	0.2	0.5	0.8
EDTA 菌	glucose	10.3	8.5	2.3	1.7	1.9
	" + Mg^{++}	14.8	8.4	1.3	1.5	1.5
	" + Fe^{++}	9.0	8.0	1.8	1.4	1.7
	" + Mn^{++}	10.2	7.9	1.2	1.6	1.5

反応液: M/50 phosphate buffer
(0.9% NaCl 加)

菌量: 5 mg/cup

基質: M/100 (終濃度)

incubate: 1.5 hr

VO_2 は著明に増大し, 又 pyruvate 蓄積の点から見ると減少している. これに対し EDTA 菌においては VO_2 の増大は幾分見られるが, 正常菌における程大ではない. 又 Pyruvate の蓄積も減少しているが正常菌の場合よりは劣つている. 次に Fe^{++} , Mn^{++} イオン添加は正常菌では僅かに VO_2 は増大するが, Mg^{++} イオン添加の場合程著明ではなく. pyruvate の蓄積もやや減少を示している程度であるが, EDTA 菌においては Fe^{++} , Mn^{++} イオン添加で VO_2 は増大する事なく変らないか, 減少する傾向を見せており, pyruvate 蓄積は僅かに減少する

表 6 Pyruvate 酸化に対する金属イオン添加の影響 (単位 μM)

		O_2 消費	pyruvate 消費	lactate 生成
正常菌	pyruvate	4.7	3	0.7
	" + Mg^{++}	10.9	5	0.5
	" + Fe^{++}	11.0	6	0.5
	" + Mn^{++}	10.5	8	0.6
EDTA 菌	pyruvate	3.3	4	1.4
	" + Mg^{++}	5.6	4	1.4
	" + Fe^{++}	3.5	6	0.8
	" + Mn	3.4	3	1.1

反応液: M/50 phosphate buffer
(0.9% NaCl 加)

菌量: 5 mg/cup

基質: M/100 (終濃度)

incubate: 1.5 hr

成績を得ている。

次に pyruvate を基質とした場合の金属イオン添加の影響であるが、正常菌においてはいつれの金属イオン添加も VO_2 , pyruvate 消費が著明に増大する結果を得た。これに対し EDTA 菌では Mg^{++} 添加による促進はいつれの面においても正常菌程著明ではなかつた。又 Fe^{++} Mn^{++} は正常菌に於いては著明な促進を示すが、EDTA 菌に於いては全く促進は見られなかつた (表 6)。

次に EDTA 添加の影響を観察した。glucose を基質とした場合正常菌では VO_2 が減少し、RQ もやや低下し、pyruvate の生成もやや増加した。EDTA 菌においては VO_2 はやや増加した。EDTA 菌においては VO_2 はやや減少するが正常菌に比して抑制率は小であり、RQ はやや増大する傾向にあり、pyruvate 生成は逆に抑制される。尚 glucose 消費と pyruvate 生成の割合を見ると、EDTA を正常菌に作用せしめると、glucose $1.2 \mu M$ に対して pyruvate $1.9 \mu M$ とモル数において後者が大であり、EDTA 菌の場合は glucose $3.7 \mu M$ に対して pyruvate $3.3 \mu M$ と後者が小であつた。次に pyruvate を基質とした場合は正常菌では VO_2 , RQ, 基質消費共に低下するが、EDTA 菌においては VO_2 , RQ においてやや増大する傾向を認めた (表 7)。

表 7 glucose, pyruvate 酸化に対する EDTA 添加の影響 (単位 μM)

		VO_2	VCO_2	RQ	基質消費	pyruvate 生成
正 常 菌	glucose	3.0	2.1	0.7	1.6	1.2
	" + EDTA	1.7	1.0	0.59	1.2	1.9
	pyruvate	1.5	2.25	1.5	5.2	—
	" + EDTA	0.9	1.1	1.2	3.1	—
E D T A 菌	glucose	4.4	2.7	0.61	4.1	3.9
	" + EDTA	3.9	2.7	0.69	3.7	3.3
	pyruvate	1.2	1.2	1.0	4.0	—
	" + EDTA	1.5	1.8	1.2	4.1	—

反応液: M/50 phosphate buffer
(0.9% NaCl 加)

菌量: 5 mg/cup

基質: M/100 (終濃度)

incubate: 1.5 hr

以上は正常菌, EDTA 菌の呼吸時における金属イオン添加及び EDTA 添加の影響であるが、更にこれ等を用いて前処置を行なつた場合を検討した。

即ち次の組成溶液中で 2 時間緩徐な振盪を行ないつ incubate を行なう。

peptone	20 mg
glucose	240 mg
M/50 phosphate buffer	100 cc

Mg^{++} 又は EDTA 添加は上記溶液に M/500 (終濃度) とした。incubate 後遠沈して M/50 phosphate buffer にて 1 回洗滌を行ない均一浮游液を作製後供試した (表 8)。

表 8 Mg^{++} EDTA による前処置の効果 (単位 μM)

		glucose				pyruvate			
		VO_2	VCO_2	RQ	glucose 消費	VO_2	VCO_2	RQ	pyruvate 消費
正 常 菌	—	8.9	8.8	1.0	5.5	6.5	9.2	1.4	2.3
	Mg^{++}	12.3	14.5	1.2	6.3	9.7	11.4	1.2	4.5
	EDTA	5.3	4.5	0.85	5.5	1.4	1.1	0.8	0.8
E D T A 菌	—	8.5	8.7	1.0	11.0	5.4	5.9	1.1	2.1
	Mg^{++}	10.5	11.5	1.1	7.0	8.0	10.2	1.3	4.2
	EDTA	5.3	4.2	0.8	8.3	2.6	2.7	1.0	1.4

反応液: M/50 phosphate buffer
(0.9% NaCl 加)

菌量: 5 mg/cup

基質: M/100 終濃度

incubate: 1.5 hr

呼吸時 glucose を基質とした場合 Mg^{++} で前処置を行なうと、正常菌は酸化能が著明に増大し、EDTA 菌も正常菌には及ばないが増大する。EDTA による前処置では正常菌, EDTA 菌共に同程度の抑制を受けた。次に pyruvate を基質とした場合は Mg^{++} による前処置では正常菌, EDTA 菌共に同程度の増大を認めたが、EDTA による前処置では正常菌は約 1/5 に抑制されたが EDTA 菌は約 1/2 に抑制を受けた。

4) 基質酸化能に対する阻害剤の影響

次に glucose 酸化における量的関係に arsenite, D. N. P. 及び KCN の影響を見ると、表 9 の如くであつた (表 9)。

arsenite を添加した 場合正常菌では VO_2 は著明に減少し RQ も 0.42 と低下し、又 glucose 消費 2.1 に対して pyruvate 生成は 3.8 と約倍量の蓄積を認めた。EDTA 菌においても VO_2 , RQ 共に減少するが glucose 消費 3.0 に対して pyruvate

表9 glucose, pyruvate 酸化に対する阻害剤の影響 (単位 μM)

		VO_2	VCO_2	RQ	glucose 消費	pyruvate 生成
正常菌	glucose	3.0	2.1	0.70	1.6	0.7
	" + DNP	3.0	1.9	0.63	2.0	2.4
	" + KCN	1.3	0.7	0.52	0.8	1.0
	" + arsenite	1.7		0.42	2.1	3.8
EDTA 菌	glucose	4.4	2.7	0.61	2.9	2.6
	" + DNP	4.1	2.6	0.60	1.8	3.0
	" + KCN	1.7	0.9	0.50	1.3	1.1
	" + arsenite	2.4		0.42	3.0	3.2

反応液: M/50 phosphate buffer
(0.9% NaCl 加)

基質: M/100 (終濃度)

菌量: 5 mg/cup

incubate: 1.5 hr

生成は 3.2 と略同量であつた。

DNP の阻害効果は正常菌においては現われず glucose 消費, pyruvate 生成が僅かに増加する。EDTA 菌においては, VO_2 がやや減少する成績を得, この場合の特長として glucose 消費に対する pyruvate の生成が特異的に増大した成績を得た。

KCN の作用は正常菌, EDTA 菌共に VO_2 , RQ の減少を促すが, 両菌間における特異的な差異は見出し得なかつた。

VI. 総括及び考按

著者は第1編において培養基に EDTA 添加を行なつて培養を行なうと, EDTA 存在に対して耐性上昇を示して来る事を Sal. 57S 及び Stah aureus について試みた。この中 Sal. 57S を供試菌として EDTA 耐性菌が正常菌との間に如何なる酵素的変化を惹起しているかについて第2編にて検討を加えた。

Sal. 57S においては普通寒天培養基で EDTA 9/1000 mol (終濃度) 添加に發育し得るようになって来るが, これは二・三代後よりは正常菌が対照培地に發育するのと比較して量的になんら遜色を認めなくなり, 又速度においても殆んど変化を認めなくなつて来るが, このように馴化された菌 (EDTA 菌と呼称) を実験に使用した。

正常菌と EDTA 菌をペプトン水に培養せしめ, 更にこれに glucose を添加した場合は EDTA

菌の發育が正常菌に比して著明に良好である事が判明した。この点より見ると, glucose の代謝に EDTA の存在が問題となり, 更に EDTA 菌は糖質代謝に変化があるものと考えられる。

正常菌, EDTA 菌の各基質酸化能を比較すると, EDTA 菌は glucose 基質の場合は O_2 消費が大であり, pyruvate 基質の場合は小であつた。これ等の差異を更に深く追求する意味で RQ, 基質消費, 生成物の量的関係を調べたその結果では glucose を基質とした場合と正常菌では glucose 消費 $3.2 \mu\text{M}$ に対して pyruvate の蓄積は $1.6 \mu\text{M}$ (sal. 57S では E, M 系を通つて代謝され glucose 1M より pyruvate 2M を生ずる) と大部分が pyruvate より先へ進み, VO_2 は $6.0 \mu\text{M}$ となつてゐる。これに対して EDTA 菌においては基質消費が $5.8 \mu\text{M}$ と大きく, pyruvate の生成も $4.6 \mu\text{M}$ とかなり大量であるが, VO_2 は $9.4 \mu\text{M}$ となつてゐる。これ等の関係を比較すると, glucose $\rightarrow$ pyruvate に至る間に根本的な差異があるように想像される。

更にこれ等に阻害剤を用いた実験成績で検討する。arsenite は pyruvate 以下の完全酸化を特異的にブロックする報告にもとづいて実験した結果, 正常菌では glucose 消費 $2.1 \mu\text{M}$ に対して pyruvate の生成は $3.8 \mu\text{M}$ と2倍量に近く, EDTA 菌においては glucose 消費 $3.0 \mu\text{M}$ に対して pyruvate は $3.2 \mu\text{M}$ と略同モルであつた。更に E, M 系を阻害せず W, D 系を特異的に阻害すると云われる DNP を用いた実験では, VO_2 において正常菌では阻害は認められないが, EDTA 菌では阻害を受ける。又 EDTA 菌は ribose, gluconate の酸化能が正常菌に比し優る点より考えて, 正常菌は glucose 酸化に当つては E, M 系を通り, EDTA 菌は W, D 系に強く傾いた代謝系を通るのではないかと推論される。

更に金属イオン添加の影響において正常菌は強い代謝昂進を認めるが, EDTA 菌はこれに比しわずかに劣つてゐるが, しかしこれは pyruvate 以下の代謝系の昂進が関与すると考えられ, 又 EDTA 菌については, VO_2 , glucose 消費, pyruvate 生成の量的関係より E, M 系がやや抬頭して来る事が推定される。

pyruvate 以下の代謝系では, glucose を基質とした場合の pyruvate の蓄積量の比較, 又 pyruvate を基質とした場合の酸化能より, EDTA 菌においては pyruvate 以下の酸化が不完全になつてゐる。これに金属イオンを添加した場合は正常菌において

は著明に昇進を認めるが、EDTA 菌においては Mg^{++} の添加によつては僅かであり、 Fe^{++} 、 Mg^{++} イオンでは促進されない点より、pyruvate 以下の代謝系が量的に劣っているか、又別の経路の発生も考えられるが、著者の実験範囲内においては確め得なかつた。

以上の如き代謝系の差異が存するが、これ等が短時間の incubate 処置によつて如何に変わつて来るかも追求した。この場合は EDTA 菌は Mg^{++} イオンで前処置すると、glucose の E, M 系による代謝の割合が増える傾向を認めた。又 EDTA による前処置では W, D 系による代謝が更に増強される如き成績を得た。pyruvate 以下の代謝系においては EDTA 菌は Mg^{++} イオンで前処置を受けると、正常菌と差が認められなくなり、短時間で正常代謝を獲得しうるものの如くであり、又逆に正常菌は EDTA による前処置で強く抑制されるが、これは短時間で酵素系の変化を惹起するものか、又は松浦の報告によると、pyruvate の完全酸化に金属イオンが大量必要とされているが、前処置によつて金属イオンが失われて、これによる差異であるのかのいづれかと考えられる。更にデフテリー菌では減鉄培地に発育した菌は H 伝達がチトクローム系よりフラビン系に変化する事が知られているが、EDTA 菌においては正常菌との間に KCN による阻害効果は

差異が見られず、H 伝達系には変化は起つていないものと考えられる。

V. 結 論

Sal. 57S を供試菌として EDTA 添加普通寒天培地に発育した EDTA 耐性菌の酵素的性状を正常菌と比較し次の結果を得た。

1) glucose 酸化に於いて正常菌は大部分 Embden-Meyenhof 系を辿るが、EDTA 菌においては Embden-Meyerhof 系は残存するが多くの Warburg-Dickens 系を経るようである。

2) pyruvate 以下の酸化は EDTA 菌においてはかなり抑制されている。

3) これ等酵素的変化は短時間の incubate によつてかなり速やかに正常に復する。

4) H 伝達系の変換は起らないものと考えられる。

稿を終るに際し御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜つた恩師村上教授に深甚なる謝意を表し、又御助言を頂いた金政講師及び実験面で援助を頂いた森淳子君に感謝致します。

文 献

- 1) 八木, 三橋, 小島: 酵素化学シンポジウム, 9, 59 (1954)
- 2) 平野, 飯田: 第31回日本細菌学会総会講演 (1958)
- 3) 戸部: 岡山医学会雑誌, 70, 756 (1958)
- 4) 上野: キレート滴定法 (1956)
- 5) 赤沢: 岡山医学雑誌, 66, 1009 (1954)
- 6) 松浦: 岡山医学会雑誌, 68, 723 (1956)
- 7) Umbreit, W. W.: Manometric Techniques and Tissue metabolism.
- 9) 標準生化学実験 (1953) 18.
- 9) 標準生化学実験 (1953) 36.
- 10) 標準生化学実験 (1953) 35.

Studies on Influence of Edta to Bacteria

Part II Enzymatic Properties of Bacteria Grown on
EDTA Added Media

By

Yoshiaki KUKIDA

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director : Prof. Sakae MURAKAMI)

Using Sal. 57 S, the author carried out the investigation on the enzymatic properties of EDTA resistant bacteria grown on EDTA added nutrient agar media in comparison to normal Sal. 57 S. The following results were obtained

1) On oxidatinn of glucose, the normal bacteria oxidized it mostly through the EMBDEN-MEYERHOF pathway. But in the EDTA resistant bacteria the oxidaition pathway was supposedly via WARBURG-DICKENS shunt, While there were evidence of passing through the EMBDEN-MEYERHOR pathway to some extent.

2) Further oxidation beyond pyrvate stage was strongly inhibited in EDTA resiseant bacteria.

3) The enzymatic change mentioned above was easily restored to the normal by the shrot time incubation of the organism.

4) It was postulated no change occured in the hydrogen transfer system.
