

## 大腸菌浮遊液のコハク酸脱水素酵素に対する二三の 界面活性剤の作用

堤, 将和  
九州大学農学部食品衛生化学教室

尾山, 勇一  
九州大学農学部食品衛生化学教室

須田, 邦夫  
九州大学農学部食品衛生化学教室

渡辺, 忠雄  
九州大学農学部食品衛生化学教室

<https://doi.org/10.15017/22274>

---

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 35 (3/4), pp.89-95, 1981-07. 九州大学農学部  
バージョン :  
権利関係 :

## 大腸菌浮遊液のコハク酸脱水素酵素に対する 二三の界面活性剤の作用

堤 将和・尾山 勇一  
須田 郁夫・渡辺 忠雄

九州大学農学部食品衛生化学教室  
(1981年1月26日受理)

### Action of Some Detergents on Succinate Dehydrogenase of *E. coli in vivo*

MASAKAZU TSUTSUMI, YUICHI OYAMA, IKUO SUDA  
and TADAO WATANABE

Laboratory of Food Hygienic Chemistry, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University 46-09, Fukuoka 812

大腸菌をはじめとするグラム陰性細菌の細胞膜は外側より外膜、ペプチドグリカン層、細胞質膜の3構造からなっている。この中で外膜はグラム陰性細菌に特有な膜であり、その内側にあるペプチドグリカン層に密着している。また外部と直接接していることから、ある種の薬剤に対する作用障壁となつていることが知られている (Nikaido, 1976; Payne and Gilvarg, 1968; Robbie and Wilson, 1969)。

一方著者らはこれまで縮合リン酸塩や食塩が界面活性剤の一種であるコール酸塩の共存下で強力な抗菌作用を示すことを見出し、この作用機作の解明を試み、若干の知見を得ることができた (堤ら, 1976, 1977, 1978)。しかしまだ詳細な作用機作についてはほとんど解明されていない。したがって本研究では抗菌作用発現の一方の担い手である界面活性剤に注目し、大腸菌の細胞膜に対する界面活性剤の作用を検討した。すなわち細胞質膜の結合酵素として知られているコハク酸脱水素酵素 (SDH) を指標酵素として、基質の外膜—ペプチドグリカン層 (外膜層) 透過に対する界面活性剤の作用を検討した。その結果二三の興味ある知見が得られたので報告する。

#### 実験材料および方法

##### 1. 供試菌

大腸菌 (*E. coli* JE 1011) は東大応微研の松橋通生教授より分譲を受けた。

##### 2. 界面活性剤ならびに一般試薬

特記した以外の試薬はすべて市販特級品か一級品を用いた。

##### 3. 培地ならびに培養

培地は1%肉エキスブイヨン培地を用いた (培地組成: エールリッヒ肉エキス (極東製薬工業KK) 10g, ポリペプトン (大五栄養化学KK) 10g, 食塩 1g, 蒸留水 1l, pH 7)。前培養はこの培地 10ml に斜面培養より一白金耳をとつて接種し、30°Cで20時間振とう培養した。前培養液は 660nm の吸光度 ( $OD_{660}$ ) が0.3になるように滅菌水を加え、これを菌液とした。本培養は同培地 8ml に菌液 2ml を加え、30°Cで対数期中期 ( $OD_{660}=0.3$ ) に達するまで振とう培養した。

##### 4. 大腸菌浮遊液の調製

対数期中期に達した菌を 3,000 r. p. m. で20分間遠心分離して集菌し、0.1M リン酸緩衝液 (pH 7) で洗浄した後再び同緩衝液にけん濁して大腸菌浮遊液を調製した。なお菌浮遊液の調製法を変更した場合はその都度記載した。

##### 5. 二価性架橋試薬による外膜層の修飾

二価性架橋試薬としてジメチルスベロイミデート (DMS; 半井化学KK, 特級品) を用い、Palva and Randall (1976, 1978) の方法にしたがって外膜層の修飾を行った。

##### 6. 膜面分の調製

Mutoh *et al.* (1978) の方法にしたがって膜画分 (エンベロープ画分) を調製し、これを 4 と同様にリン酸緩衝液にけん濁して用いた。

### 7. SDH の活性測定法

水素受容体として赤血塩を用い、400nm の吸光度の減少 ( $\Delta E_{400}$ ) を測定する Slater and Bonnen (1952) の方法を若干改変して SDH 活性を測定した。すなわち 0.5M コハク酸ナトリウム 1.5ml, 0.15M 青酸カリウム 0.5ml, 0.1M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 1ml, 10mM 赤血塩 1ml, 蒸留水 0.5ml を順次加えた後大腸菌浮遊液あるいは膜画分 0.5ml を加え、30°C で反応を開始した。一定時間後 1N 塩酸 1ml を加えて反応を停止した後エタノール 6ml を加えて攪拌後 10,000 r. p. m. で 20 分間遠心分離を行って沈澱を除き、上清の  $OD_{400}$  を測定した。SDH 活性に対する界面活性剤の影響を測定する場合は、蒸留水のかわりに界面活性剤を加えて同様に処理した。なお反応停止に塩酸を加えた際沈澱が生じたが、この沈澱に赤血塩は全く吸着しないことを確認した。SDH 活性は蛋白質 1mg 当たりの赤血塩の還元量 ( $OD_{400}$  の減少値) に  $10^3$  を乗じて示した。なお大腸菌浮遊液ならびに膜画分の蛋白質量は Lowry *et al.* (1951) の方法で定量した。

## 実験結果

### 1. SDH 活性に対する各種界面活性剤の影響

生体膜の研究において汎用されている界面活性剤の中から数種を選び、大腸菌浮遊液の SDH に対する影響を検討した。

Fig. 1 から明らかなように、SDH 活性はコール酸ナトリウム (SC) の添加により著しい活性の増加を示した。グリセロールモノカプレート ( $MC_{10}$ ) や Brij 58, Triton X-100 も活性の増加を示したが、N-ラウロイルザルコシンナトリウムやラウリル硫酸ナトリウム、Tween 20 は逆に阻害した。デオキシコール酸ナトリウム (DOC) の影響はほとんどみられなかった。

本報においてはこれらのうち著者らの研究と関連ある界面活性剤 (SC, DOC,  $MC_{10}$ ) について実験を行った。

### 2. 界面活性剤の濃度の影響

SDH 活性に対する界面活性剤の濃度の影響を検討した。

SC の場合 SDH 活性は 0.2% 以上で、 $MC_{10}$  の場合は 0.1% 以上で活性の増加がみられた。DOC の場

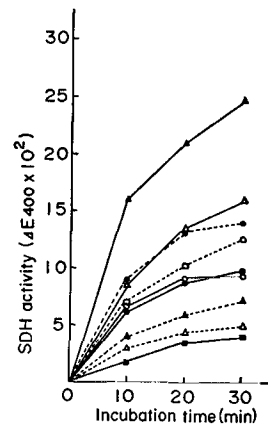


Fig. 1. Effects of detergents on SDH activity of *E. coli* in vivo. ●—● control, ○—○ 0.5% deoxycholate (DOC), ▲—▲ 0.5% cholate (SC), △—△ 1% glycerol monocaprte ( $MC_{10}$ ), ■—■ 0.5% sodium dodecylsulfate, ●...● 0.5% Triton X-100, ○...○ 0.5% Brij 58, ▲...▲ 0.5% Tween 20, △...△ 0.5% sodium lauroyl sarcosinate. The abbreviation of detergents was shown in parentheses.

Table 1. Effects of different concentrations of detergents on SDH activity of *E. coli* in vivo. The ratios of SDH activity are shown in parentheses.

Detergent	SDH activity
Control	9.5(100)
Na-cholate	0.2% 16.5(174)
	0.4% 24.0(253)
	0.8% 24.5(258)
	1.0% 25.0(263)
Na-deoxycholate	0.2% 12.0(126)
	0.4% 10.0(105)
	0.6% 9.5(100)
	1.0% 9.0(95)
Glycerol monocaprte	0.1% 13.5(142)
	0.2% 14.0(147)
	0.5% 14.0(147)

合は 0.2% で僅かに活性の増加がみられたが、1% ではやや阻害する傾向を示した。

### 3. 膜画分の SDH 活性に対する界面活性剤の影響

本菌から調製した膜画分の SDH 活性に対する SC, DOC,  $MC_{10}$  の影響を検討した。

菌浮遊液の場合と異なり、膜画分の SDH 活性は上記界面活性剤によつて著しく阻害された (Table 1, Fig. 2)。これらの結果から、菌浮遊液の SDH の界面活性剤による活性の増加はみかけ上の活性化、すなわち界面活性剤による基質の外膜層透過促進による活性の増加であろうと思われる。したがつて以下の実験

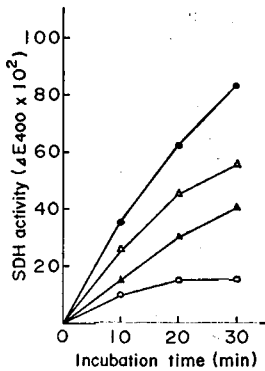


Fig. 2. Effects of detergents on SDH activity of the cell envelope prepared from *E. coli*. The cell envelope was prepared by the method of Mutoh *et al.* (1978) and SDH activity was measured in the presence of the following detergents: ●—● control, ○—○ 1% DOC, △—△ 1% MC<sub>10</sub>, ▲—▲ 1% SC. For abbreviations, see Fig. 1.

は、外膜層の性状の変化が SDH 活性発見にどのように影響するかを明らかにする目的で行われた。

#### 4. 界面活性剤含有培地で増殖した菌の SDH 活性

界面活性剤含有培地で増殖した菌の膜は正常菌の膜とは性状が異なるため、基質の透過性に違いがみられるかもしれない。したがってこのような菌を使って SDH 活性を測定した。

培地 7 ml に菌液 2 ml を加え、終濃度として SC は 1%, DOC と MC<sub>10</sub> は 0.1% になるように界面活性剤 1 ml を加え、常法にしたがって対数期中期まで培養し、集菌、洗浄後リン酸緩衝液にけん濁して菌浮遊液を調製した。この界面活性剤の濃度において本菌の増殖は対照区と変わらなかった。なお酵素活性測定時には界面活性剤を添加しなかった。

界面活性剤含有培地で増殖した菌の SDH 活性は、界面活性剤を含まない対照培地で増殖した菌の SDH 活性よりも高い値を示した (Table 2)。

#### 5. 培養温度の異なる菌の SDH 活性ならびにこれらの菌に対する界面活性剤の影響

同一菌株でも培養温度を変えて培養すると、リン脂質の脂肪酸組成に変化がみられる。この変化は膜の物質透過に影響する (Deenen, 1971)。したがって培養温度の異なる菌の SDH 活性ならびにこれらの菌に対する界面活性剤の影響を検討した。菌は 20°C, 30°C, 40°C で対数期中期まで培養後集菌、洗浄し、これまでと同じ方法で菌浮遊液を調製した。

Fig. 3 の結果から明らかなように、菌の SDH 活

Table 2. *In vivo* SDH activity of *E. coli* cultured in detergent-containing medium. The ratios of SDH activity are shown in parentheses.

Detergent	SDH activity
Control	9.5(100)
1% Na-cholate	29.5(305)
0.1% Na-deoxycholate	12.5(132)
0.1% Glycerol monocrate	22.0(232)

性は 20°C 培養菌で最も高く、30°C 培養菌、40°C 培養菌と高温培養になるにしたがって低下した。一方 SC, MC<sub>10</sub> による SDH 活性の増加の程度をそれぞれの対照区を基準にして算出すると、活性の増加は高温培養菌程高くなる傾向を示した。DOC の場合、20°C 培養菌に対しては SDH 活性を阻害したが、40°C 培養菌に対しては逆に活性の増加がみられた。これらの結果は外膜の性状の変化、おそらくリン脂質の脂肪酸組成の変化が基質の膜透過性に影響を与えていることを示唆する。

#### 6. EDTA による前処理の影響

大腸菌のリポ多糖体 (LPS) はある種の物質の透過障壁として作用することが知られている (Nikaido, 1976)。一方 EDTA は本菌の LPS を一部遊離させ、物質の膜透過を促進させる (竜口ら, 1979)。したがって本菌を EDTA で前処理し、SDH 活性を測定した。

菌は対数期中期まで培養後集菌、洗浄し、1 mM EDTA-0.1 M リン酸緩衝液にけん濁後 30°C で 30 分間処理した。この処理法で全 LPS の 30~50% が遊離するといわれている (Leive, 1965; Voll, 1970)。処理後の菌体はリン酸緩衝液で洗浄し、常法にしたがって菌浮遊液を調製し、SDH を測定した。

Table 3 から明らかなように、本菌の SDH 活性は EDTA による前処理で変化しなかった。すなわち本菌の LPS は基質の外膜層透過に密接に関与していないものと思われる。

#### 7. DMS 処理された菌の SDH 活性ならびにこの菌に対する界面活性剤の影響

外膜層の基質透過に際し LPS 以外のどのような成分が関与しているかを明らかにする手掛かりとして、DMS を用いて外膜成分の修飾を試みた。

Fig. 4 の (A), (B) に示されたように、DMS によって修飾された菌 (Control 3) の SDH 活性は対照の菌 (Control 2) の SDH 活性にくらべ低い値を示した。すなわち DMS 処理に用いられたトリエ

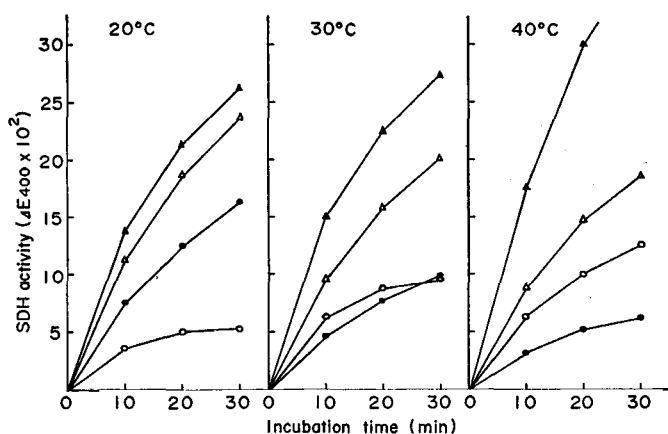


Fig. 3. Effects of growth temperatures on SDH activity of *E. coli* in vivo. The SDH activity was measured in the presence of the following detergents: ●—● control, ○—○ 1% DOC, △—△ 1% MC<sub>10</sub>, ▲—▲ 1% SC. For abbreviations, see Fig. 1.

Table 3. Effects of detergents on SDH activity of *E. coli* pretreated with EDTA. The ratios of SDH activity are shown in parentheses.

Detergent	SDH activity	
	Normal cells	EDTA-treated cells
Control	9.5 (100)	9.5 (100)
1% Na-cholate	25.1 (264)	25.0 (263)
1% Na-deoxycholate	9.2 (97)	9.0 (95)
0.1% Glycerol monooxide	13.6 (143)	13.4 (141)

タノールアミン塩酸緩衝液 (pH 8.5) は菌の SDH 活性をやや高めるが、DMS 処理によつて SDH 活性は低下することを示す。なお無処理の菌 (Control 1) の SDH 活性は DOC で阻害され (A), DMS 処理された菌 (Control 3) の SDH 活性は DOC で更に強く阻害された。一方無処理菌の SDH 活性は SC, MC<sub>10</sub> で活性化されたが、DMS 処理された菌の SDH 活性は SC, MC<sub>10</sub> で著しく阻害された (B), なお DMS は蛋白質の架橋試薬として知られていることから、本実験における DMS は外膜蛋白質に対する作用であろうと思われる。

## 考 察

著者らはこれまで食品衛生学の立場から、より安全で効果的な食品保存法の開発を目指し、いくつかの試案を提出した (渡辺ら, 1977, 1979)。その一例として人の胆汁酸の主成分であるコール酸と食品改良剤として広く使用されている縮合リネン酸塩の組み合わせにより、広い抗菌スペクトルが得られることを明らかにし、食品保存料としての応用も試みた (堤ら, 1976, 1977)。しかしこれらの物質の組み合わせによる抗菌

作用機作についてはまだ十分解明されていない。したがつて本研究ではこれまでの研究に基づき、界面活性剤として SC, DOC, MC<sub>10</sub> の 3 種を選び、大腸菌に対する作用を検討した。この際細胞膜結合酵素である SDH を指標酵素として、上記界面活性剤の外膜層に対する作用機作の解明を試みた。すなわち SDH 活性は基質や水素受容体が外膜層を透過し、細胞質膜の SDH と反応することにより測定されることから、基質や水素受容体の外膜層透過が酵素反応促進の重要な要因となる。したがつて若し界面活性剤の作用により SDH 活性に変化がみられるならば、それは界面活性剤による外膜層の変化か、あるいは SDH に対する直接の作用のいずれかであろうと考えられる。一方基質や水素受容体の外膜層透過は培養条件を変えて膜の性状を変化させることにより、あるいは、外膜の化学修飾によつて変化するかも知れない。このような推察に基づいて本実験を行った。

本報告の結果から明らかのように、菌浮遊液の SDH 活性は SC や MC<sub>10</sub> により著しい活性の増加を示したが、DOC では僅かに差がみられるにすぎなかつた。一方本菌から調製された膜画分の SDH 活性

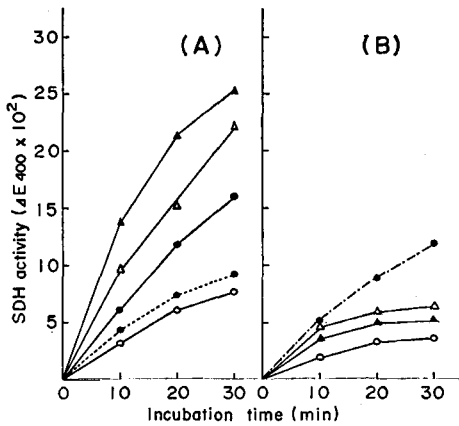


Fig. 4. Effects of detergents on the cells cross-linked with dimethylsuberimidate. (A): Control, (B): Test. The cells of control 1, control 2, and control 3, were treated with phosphate buffer (pH 7), triethanolamine-HCl (pH 8.5) and triethanolamine-HCl (pH 8.5) plus dimethylsuberimidate, respectively. The effects of detergent on SDH activity were determined using the cells of control 1(A) and control 3 (B). ●---● control 1, ○—○ 1% DOC, ●—● control 2, ▲—▲ 1% SC, ●---● control 3, △—△ 0.1% MC<sub>10</sub>. For abbreviations, see Fig. 1.

は、菌浮遊液の場合と同濃度の界面活性剤により阻害された。このことから界面活性剤は菌の外膜層に作用して、外膜層の基質透過性に変化を与え、みかけ上 SDH 活性が変化したものと考えられる。なおこれらの界面活性剤は大腸菌のスフェロプラストを溶解するが、健全な菌体に作用させても菌は死滅せず、正常な溶存酸素の取り込みを示すこと (堤ら, 1978), また SC は健全な大腸菌の細胞壁を通過することができないという報告 (Burman *et al.*, 1972) などからこの考えは支持される。

本菌の外膜層は SDH のみかけ上の活性化に密接に関連していると考えられるので、培養条件などを変えて外膜の性状を変え、SDH 活性におよぼす界面活性剤の影響を測定した。まず界面活性剤含有培地で増殖した菌の SDH 活性を測定したところ、程度の差はあるがいずれも対照区の菌よりも高い活性を示した。すなわち界面活性剤含有培地で増殖した菌は基質などの外膜層透過が容易になっていることを示唆する。なお未発表の結果であるが、SC 含有培地で増殖した大腸菌は食塩などの無機塩の添加により溶菌することから、界面活性剤含有培地で増殖した菌の外膜層は物質の膜透過に対する障壁としての作用にも影響を与えて

いるものと思われる。

菌体膜、特にリン脂質の脂肪酸組成は培養温度によって変わり、この変化によって膜の透過性も違ってくる。本研究においても低温 (20°C), 中温 (30°C), 高温 (40°C) で培養した菌の SDH 活性ならびに界面活性剤の影響を検討した。その結果、対照の菌において SDH 活性は低温培養菌で最も高く、高温培養になるにしたがって低下した。また SC や MC<sub>10</sub> はどの培養温度で培養した菌の SDH 活性をも増加させたが、活性増加の程度は高温培養程高かった。一方 DOC は低温培養菌に対しては SDH 活性を阻害し、高温培養菌では逆に活性を促進した。このように低温あるいは高温で培養した菌の SDH 活性の違い、あるいは界面活性剤に対する反応の違いは両菌の外膜、とくにリン脂質の脂肪酸組成の違い、ひいては外膜の界面活性剤に対する親和性の違いに起因するものと考えられる。

以上の結果から、界面活性剤による SDH の活性促進あるいは阻害は本菌の外膜層の基質透過性の違いによるものと推察された。しかし上記界面活性剤が外膜層のどのような成分と反応するのか、についてはふれなかつた。著者らはこれらの現象が外膜層のいかなる成分に依存するのかを明らかにするために、まず EDTA 処理により LPS を遊離させた菌の SDH 活性を測定した。その結果菌の SDH 活性は LPS の遊離にもかかわらず同じであった。このことから本菌の LPS は基質の膜透過に対して直接関与していないものと推定した。

基質の膜透過に対する LPS の関与は小さいと思われるので、他の外膜成分である蛋白質に注目し、DMS による修飾を試みた。その結果 DMS 処理は SDH 活性を低下させると同時に、界面活性剤による SDH 活性阻害をも著しく増大した。本実験において、DMS が外膜蛋白質とのみ反応しているのか、については詳細な検討を行っていないが、本実験は Palva and Randall (1976, 1978) の方法にしたがって行ったことから、DMS が外膜蛋白質と反応していることは十分考えられる。

以上の結果から上記界面活性剤の作用点の一つは外膜蛋白質であろうと思われるが、その作用機作と基質の膜透過との関連については今のところ明らかではない。また膜脂質の性状変化は当然膜蛋白質の存在状態にも微妙に影響するものと思われる。今後はこれらの諸問題を含め詳細に検討しなければならない。

## 要 約

1. 大腸菌浮遊液の SDH 活性に対する界面活性剤の作用を検討した。SDH 活性は SC, MC<sub>10</sub>, Brij 58, Triton X-100 の添加で活性を増加したが, Tween 20, N-ラウロイルサルコシナトリウム, ラウリル硫酸ナトリウムでは逆に阻害された。
2. 大腸菌より調製した膜画分の SDH 活性は SC, DOC, MC<sub>10</sub> により阻害された。
3. SC, MC<sub>10</sub>, DOC を含む培地で増殖した菌の SDH 活性は, これらを含まない培地で増殖した菌の SDH 活性よりも高い値を示した。
4. 培養温度の異なる菌の SDH 活性を測定した。菌の SDH 活性は低温 (20°C) 培養菌で最も高く, 中温 (30°C), 高温 (40°C) 培養菌となるにしたがって低下した。しかし SC や MC<sub>10</sub> による SDH 活性の増加の程度は高温培養菌程高くなる傾向を示した。一方低温培養菌の SDH 活性は DOC によつて阻害されたが, 高温培養菌では逆に活性が高められた。
5. 本菌を EDTA によつて前処理して LPS を遊離させても, SDH 活性に変化はみられなかった。
6. DMS による外膜成分の修飾によつて SDH 活性は低下した。また DMS によつて修飾された菌の SDH 活性は SC, MC<sub>10</sub>, DOC によつて著しく阻害された。
7. 以上の結果から, 上記界面活性剤は細胞質膜に存在する SDH に直接作用するのではなく, むしろ外膜層に作用して外膜層の基質透過性に変化を与えるものと思われる。したがつて SDH 活性の変動は基質の外膜透過性に依存したものと考える。なお基質の外膜層透過に LPS の関与は認められなかったが, 外膜蛋白質と膜脂質の関与が示唆された。

## 文 献

- Burman, G. L., K. Nordström and G. D. Bloom 1972 Murein and the outer penetration barrier of *Escherichia coli* k-12, *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 112: 1364-1374
- Deenen, L. L. M. 1971 Chemistry of phospholipids in relation to biological membranes. *Pure and Applied Chemistry*, 25: 25-56
- Leive, L. 1965 Release of LPS by EDTA treatment of *E. coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 21: 290-296
- Lowry, H. O., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr and R. J. Randall 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275
- Mutoh, N., H. Furukawa and S. Mizushima 1978 Role of Lipopolysaccharide and outer membrane protein of *E. coli* k-12 in the receptor activity of bacteriophage T 4. *J. Bacteriol.*, 136: 693-699
- Nikaido, H. 1976 Outer membrane of *Salmonella typhimurium* transmembrane diffusion of some hydrophobic substances. *Biochem. Biophys. Acta*, 433: 118-132
- Palva, T. E. and L. L. Randall 1976 Nearest-neighbor analysis of *Escherichia coli* outer membrane proteins, using cleavable cross-links. *J. Bacteriol.*, 127: 1558-1560
- Palva, T. E. and L. L. Randall 1978 Arrangement of protein I in *Escherichia coli* outer membrane: Cross-linking study. *J. Bacteriol.*, 133: 279-286
- Payne, W. J. and C. Gilvarg 1968 Size restriction on peptide utilization in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 243: 6291-6299
- Robbie, P. J. and T. H. Wilson 1969 Transmembrane effects of  $\beta$ -galactosides of thio-methyl- $\beta$ -galactoside transport in *E. coli*. *Biochem. Biophys. Acta*, 173: 234-244
- Slater, C. E. and W. D. Bonnen 1952 The effect of fluoride on the succinic oxidase system. *Biochem. J.*, 52: 185-196
- 竜口和恵・瀬戸口とも子・山田次郎・渡辺忠雄 1979 トリアルキルスズ化合物の *Escherichia coli* JE 1011 ならびにその NS mutants に対する作用。農化, 53: 81-86
- 堤 将和・西村和代・安井紀久代・松岡麻男・渡辺忠雄 1976 二三の静菌作用物質に対するコール酸の共力作用。食衛誌, 17: 237-275
- 堤 将和・安井紀久代・一色賢司・渡辺忠雄 1977 縮合リン酸塩の食品保存効果 (第2報)。食衛誌, 18: 341-345
- 堤 将和・安井紀久代・松岡麻男・渡辺忠雄 1978 縮合リン酸塩の食品保存効果 (第3報)。食衛誌, 19: 190-194
- Voll, J. and L. Leive 1970 Release of LPS in *E. coli* resistant to the permeability increase induced by EDTA. *J. Biol. Chem.*, 245: 1108-1114
- 渡辺忠雄・平田行・堤 将和 1977  $1.67 > (\text{Na}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O})/\text{P}_2\text{O}_5 > 0$  の縮合リン酸ナトリウムとコール酸ナトリウムを併用する細菌類の静菌方法。日本特許第 858746 号
- 渡辺忠雄・堤 将和・一色賢司・平田行 1979 (A) ヘキサメタリン酸塩またはウルトラリン酸塩, 及び, (B) カプリン酸モノグリセライドまたはカプリル酸モノグリセライドを含有することからなる食品防腐剤。特公昭 54-32057

### Summary

The action of some detergents on succinate dehydrogenase of *E. coli* was investigated *in vivo*. The enzyme activity was activated by sodium cholate (SC), glycerol monocaprate (MC<sub>10</sub>), Brij 58 and Triton X-100 but inhibited by Tween 20, sodium lauroyl sarcosinate and sodium dodecyl sulfate. In sodium deoxycholate (DOC), the enzyme activity was slightly activated in the presence of 0.2% DOC but not activated in 1.0% DOC. The enzyme activity was also activated by pre-treating the cells with SC, DOC or MC<sub>10</sub>. On the contrary, the enzyme activity of the cell envelope prepared from the cells was strongly inhibited by these detergents.

The enzyme activity of the cells cultured in detergent medium containing SC, DOC or MC<sub>10</sub> was higher than that of the normal cells. The enzyme activity of the cells cultured at different temperatures was determined. The enzyme activity was the highest in the cells cultured at 20°C, followed by the cells cultured at 30°C and then at 40°C in order of decreasing activity. However, the activation of the enzyme by SC or MC<sub>10</sub> was higher in the cells cultured at high temperature than those cultured at low temperature. On the other hand, the enzyme activity of the cells cultured at 20°C was inhibited by DOC but was activated in case of the cells cultured at 40°C.

The enzyme activity was inhibited by cross-linking the outer membrane with dimethylsuberimidate; besides, the enzyme activity of the cells cross-linked was markedly inhibited by detergents.

These results suggest that these detergents do not directly act on the enzyme of the cells, but rather on the outer membrane-peptidoglycan layer and the permeability of the layer would alter as a result of the action. The variation of enzyme activity, *in vivo*, may be dependent on the permeability of the altered layer to the substrates.