

## II. 合霉素对痢疾杆菌含碳化合物代谢的影响

关于氯霉素的作用机制,许多学者进行了不少工作。它对于细菌蛋白质合成具有抑制作用这一方面获得比较一致的结果<sup>[1—9]</sup>。并已于一些研究工作中作为蛋白质合成的抑制剂应用<sup>[10]</sup>。但是它对于含碳化合物代谢方面的影响,只有一些学者,进行了一些工作,如 Smith 氏<sup>[11]</sup>研究了对磷酸化的影响。Kushner 氏<sup>[12]</sup>研究了对三羧酸循环的影响,近年来 Коротаев 氏<sup>[13—14]</sup>又观察了对丙酮酸代谢的影响,而且有些结果,亦不一致。因而我们对于合霉素对痢疾杆菌的菌体多糖含量、糖的利用、上清中丙酮酸与乳酸含量的变化,以及醛缩合酶和一些脱氢酶的活性等的影响,进行了比较观察。

### 一、实验材料与方法

菌种:与报告 I<sup>[9]</sup>相同。

抗菌素:与报告 I 相同。

培养基:以内膏—酵母膏培养基(成分与报告 I 相同)供菌成分,上清成分以及酶活性的测定。应用营养琼脂作为测定细菌呼吸之用。

菌体及上清的制备:与报告 I 相同<sup>[9]</sup>。

无细胞酶液的制备:与报告 I 相同<sup>[9]</sup>。

合霉素对呼吸的影响:应用 Warburg 氏技术<sup>[15]</sup>用 0.05M 葡萄糖做基质。

化学测定:总氮测定应用凯氏(Kjeldahl)微量定氮法<sup>[16]</sup>;多糖以蒽酮法<sup>[17]</sup>测定;丙酮酸应用 Friedman 氏法<sup>[18]</sup>测定;乳酸应用 Barber 氏法<sup>[19]</sup>测定;还原糖应用 Schaffer-Hartmann-Somogyi 氏法<sup>[20]</sup>测定;醛缩合酶以 Freidum 法<sup>[21]</sup>测定;脱氢酶的活性应用 T T C (Triphenyl tetrazolium-chloridium) 法<sup>[22—24]</sup>测定。

### 二、实验结果

合霉素对于痢疾杆菌菌体及上清中的含碳化合物的影响:为了研究合霉素对含碳化合物代谢的影响,我们选择了菌体多糖以及上清中的还原糖、丙酮酸和乳酸作为观察对象,观察加入合霉素后它们含量的变化,结果列于表 1。

表 1: 合霉素对菌体及上清中含碳化合物的影响。

菌 株 号	合 霉 素 量 (微克/毫升)	菌 体	上 清		
		多 糖 (微克)	还 原 糖 (毫克)	丙 酮 酸 (微克)	乳 酸 (微克)
培 养 基	—	—	0.208	16.19	15.9
26558	—	568	0.160	18.78	27.0
	0.8	750	0.157	21.26	31.5
28401	—	467	0.166	23.75	36.4
	100	560	0.173	18.21	50.4

註: 1. 菌体多糖含量按每毫克菌体总氮計算。

2. 上清中成分的含量按每毫克上清总氮計算。

从表 1 可以看出, 菌体多糖于加入合霉素后含量增加。而上清中还原糖无论是敏感菌株或耐药菌株于加药后与不加药者无显著的区别。丙酮酸的含量均较原来培养基者为多; 在敏感菌株加合霉素后含量较未加药者为多, 而耐药菌株加入合霉素后含量较未加药者为少; 乳酸的含量均较原来培养基者为少; 从减少的情况来看, 在敏感菌株加药与否没有显著区别, 而耐药菌株加药以后含量减少的程度较未加合霉素者为少。

合霉素对有关糖代谢的几种酶的活性的影响: 我們为了研究对有关糖代谢的酶的活性的影响, 选择了醛缩合酶、乳酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶等进行了观察, 其结果见表 2。

表 2: 合霉素对有关糖代谢的几种酶的活性的影响。

菌 株 号	合 霉 素 量 (微克/毫升)	醛 缩 合 酶 (二羟丙酮毫克数)	乳 酸 脱 氢 酶 (Formazan 微克数)	丙 酮 酸 脱 氢 酶 (Formazan 微克数)
26558	—	3.42	56.07	42.06
	2	4.56	40.48	34.26
28401	—	7.86	44.12	35.29
	400	2.67	40.40	31.31

註: 醛缩合酶的活性以产生的二羟丙酮毫克数表示(按每毫克酶液蛋白质計算)。

乳酸脱氢酶与丙酮酸脱氢酶的活性以生成的 Formazan 的微克数表示(按每毫克菌体蛋白质計算)

从表 2 可以知道, 合霉素对脱氢酶具有抑制作用; 而对于醛缩合酶在敏感菌体有加强作用, 在耐药菌株则有抑制作用。

合霉素对葡萄糖氧化的影响: 应用 Warburg 氏技术观察合霉素对痢疾杆菌氧化葡萄糖的能力的影响, 结果见表 3。

表 3: 合霉素对葡萄糖氧化的影响

菌株号	合 霉 素 量 (微克/毫升)	耗 氧 量 (微 升)				QO <sub>2</sub> (N)
		30分钟	60分钟	90分钟	120分钟	
26558	—	157.10	340.92	494.41	584.45	759.04
	500	194.21	430.90	643.31	764.69	993.12
28401	—	149.74	333.77	488.08	615.53	854.92
	500	185.47	357.62	537.99	683.05	948.69

註: QO<sub>2</sub>(N)表示每毫克菌体总氮每小时所消耗的氧气的微升数。

由表 3 的材料看来, 无论在敏感菌株或耐药菌株加入合霉素后葡萄糖的耗氧量均增加, 因而合霉素对于痢疾杆菌氧化葡萄糖的能力有刺激作用。

### 三、讨 论

合霉素对葡萄糖的氧化无抑制作用, 并呈轻度刺激作用。Gale 等氏<sup>[3]</sup>报告氯霉素不影响细菌对葡萄糖的发酵以及呼吸。Smith 氏<sup>[11]</sup>亦发现氯霉素不抑制细菌的呼吸。我们的实验结果也证明这一点。

菌体多糖在加合霉素后含量增多, 然而上清中还原糖的含量在加入合霉素或不加合霉素后没有显著变化。因而菌体多糖在加药后含量的增加可能由于细菌繁殖受到抑制, 使多糖在菌体中发生积聚。

上清中丙酮酸量在敏感菌株加药后增加, 同时醛缩合酶的活性亦增强, 而且加药后丙酮酸脱氢酶的活性减弱。因此, 丙酮酸的含量增加是由于醛缩合酶的活性增强, 促使已糖变为丙酮酸; 同时由于丙酮酸脱氢酶活性降低, 因而丙酮酸的消耗量减少。在耐药菌株加入合霉素的上清中丙酮酸的含量减少, 同时醛缩合酶的活性显著减弱; 因此, 丙酮酸的含量减少可能由于丙酮酸的形成受到抑制所致。

此外我们亦曾用 TTC 技术测定对醋酸钠、枸橼酸钠、琥珀酸钠、苹果酸等的脱氢作用, 但均未见有脱氢作用。这一点与潘士芬等氏<sup>[25]</sup>的结果不相同, 可能所用菌株及方法不同所致。对丙酮酸和乳酸的脱氢作用在加入合霉素后均受抑制; 同时耐药菌株的丙酮酸脱氢酶和乳酸脱氢酶的活性均较敏感菌株为低。Padron 等氏<sup>[26]</sup>亦曾报告耐氯霉素的葡萄球菌对丙酮酸的氧化能力丧失。此外 Короткий 氏<sup>[13—14]</sup>亦发现氯霉素抑制丙酮酸的同化作用。因此可以认为合霉素对于丙酮酸代谢有一定的影响。

至于上清中乳酸的含量于细菌生长后有显著的减少; 可能由于转变成其他中间代谢物, 如丙酮酸等, 而为细菌所利用。

### 摘 要

1. 本文对从临床分离所得的对合霉素耐药及敏感的福氏痢疾杆菌 II a 型各一株的糖代

謝, 以及合霉素对它的影响, 进行了初步的比較研究。

2. 加入合霉素后, 无论敏感或耐药菌株的菌体多糖均有增多现象。

3. 敏感菌株丙酮酸的含量于加入合霉素以后发现增加, 而在耐药菌株则含量减少; 表明这两个菌株的代謝是不同的。

4. 合霉素对于痢疾杆菌对葡萄糖的氧化有輕度刺激作用。

5. 丙酮酸及乳酸的脫氢作用于加入合霉素后均稍降低。

## 参 考 文 献

- [1] Gale, E. F. & Paine, T. F. Biochem. J. 47: X X VI, 1950
- [2] Idem. ibrd. 48:298, 1951
- [3] Gale, E. F. & Folkes, J. P.: ibid. 53:493, 1953
- [4] Wisseman, C. L., Jr.; et al. Bact. Proc. 94, 1952
- [5] Wisseman, C. L., Jr.; et al. J. Bact. 67:662, 1954
- [6] Maxwell, R. E. & Nickel, V. S. Antib & Chemo. 4:289, 1954
- [7] Bernlohr, R. W. & Webster, G. C. J. Bact. 76:233, 1958
- [8] Harrington, M. G. J. Gen. Microbiol. 18:767, 1958
- [9] 陈知本: 合霉素作用机制的研究 I. 合霉素对痢疾杆菌含氮、磷化合物代謝的影响
- [10] Prestidge, L. S. & Pardee, A. B.: J. Bact. 74:48, 1957
- [11] Smith, G. N., et al. J. Bact. 58:803, 1949
- [12] Kushner, D. G.: Arch Biochem. 58:332, 1955
- [13] Коротяев, А. И. Микробиол. 28:697, 1959
- [14] Коротяев, А. И. Микробиол. 28:851, 1959
- [15] Umbreit, W. W. Manometric techniques and related method for study of tissue metabolism
- [16] Ma, T. S. & Zuazaza, J., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 14:280, 1942
- [17] Gany, N. D., et al.: J. Bact. 73:632, 1957
- [18] Friedman, T. E. Methods in Enzymol. Vol III. P 414, 1957
- [19] Barker, S. B. & Summerson, W. H.: J. Biol. Chem. 138:535, 1943
- [20] Somogyi, M.: J. Biol Chem. 70:599, 1926
- [21] Friedman, M. M. & Lapan, B.: J. Lab & Clin. Med. 51:745, 1958
- [22] Smith, F. E.: Science. 113:751, 1951
- [23] Kun, E., Abood, L. G. Science 109:144, 1949
- [24] Hugo, W. B.: J. Appl. Bact. 17:31, 1954
- [25] Pan, S. F.; et al.: J. Bact. 73:402, 1957
- [26] Padron, J. L.; et al. Proc. Soc. Expt. Biol. & Med. 87:477, 1954