

Sh. dysenteriae の酵素的性状について

第 2 篇

catalase, peroxidase 作用

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上栄教授)

難 波 敏 夫

〔昭和33年11月17日受稿〕

目 次

- | | |
|---|--|
| I. 緒 言
II. 実験材料及び実験方法
III. 実験成績
1. 発育菌並びに静止菌の H_2O_2 産生の有無
2. 各菌 catalase 作用に対する pH の影響 | 3. 各菌の peroxidase 作用
4. 無 catalase 菌の H_2O_2 処理
IV. 総括及び考案
V. 結 言 |
|---|--|

I. 緒 言

細菌には catalase を有するものと、これを欠くものがある。而して catalase を欠くものうちでも肺炎菌¹⁾-³⁾ 或は連鎖球菌⁴⁾ の如く発育中或は糖類酸化中 H_2O_2 を蓄積するものがあり、このような菌は自から産生する H_2O_2 により障害を蒙り、培地中に血液その他 H_2O_2 処理を行うものを添加して置かねば発育が不完全となる。

これに対し赤痢菌の或るものは catalase を欠くにも拘らず、catalase を有する菌と全く同じ培地で盛んな発育を行い、又発育中或は糖類酸化中 H_2O_2 の蓄積を全く認められず、又人に於ても catalase を欠く無 catalase 患者が発見され¹²⁾⁻¹⁴⁾。細菌や動物等に於ける catalase の存在意義は不鮮明となった。

植物に於ては H_2O_2 処理は catalase よりは peroxidase が主役となると考えられて居り、又一方 catalase も条件によつては peroxidative に働くことが知られて居る¹⁴⁾。

本篇に於ては Sh. dysenteriae に属する赤痢菌の catalase 作用, peroxidase 作用を見、又 catalase を欠く菌の H_2O_2 添加の影響を検討した。

II. 実験材料及び実験方法

供試菌: Sh. dysenteriae A₁~A₇の各標準株。

生菌浮游液の調製: 培地より集めた菌体を M/50,

磷酸緩衝液 (0.85% NaCl 加, pH 7.2) を以つて2回遠沈洗滌後、同一組成の緩衝液に浮游せしめた。菌量は光電比濁計により濁度を測定し、あらかじめ作成した標準曲線より決定した。

H_2O_2 量の測定: 試料溶液 1.0ml に10% o-tolidine 氷醋酸溶液 0.1 ml, じやがいもより抽出したペルオキシターゼ液 0.1 ml を加え10分後の青色¹⁰⁾を比色計で測定し、+, -の符号を以つて示した。

glucose の定量: 前篇同様 3.5-dinitrosalicylic acid を用いる比色法によつた。

pyruvate の定量: 2.4-dinitrophenylhydrazine を用いる比色法によつた。

lactate の定量: 濃硫酸, 硫酸銅, p-hydroxydiphenyl を用いる比色法¹⁰⁾によつた。

acetate の定量: 試料溶液を水蒸気蒸溜し溜出液を M/100 NaOH を以て適定した。

hemoglobine 及びその酸化生成物の吸収曲線: ベツクマン自記式分光光度計により記録した。

catalase 活性の測定: warburg 検圧計を用い、容器の主室に菌液、側室に終濃度 M/200 の H_2O_2 を入れて測定し10分間の O_2 発生量を以て比較した。

peroxidase 活性の測定: Main & Shinn¹⁰⁾ の H_2O_2 定量法を逆に応用し、菌液 1.0 ml (湿菌量 3mg 含有) に o-tolidine 氷醋酸溶液 0.25ml, H_2O_2 0.25ml を加え室温に放置し、10分後の青色発色により比較し、+, -の符号を以て示した。

Ⅲ. 実験成績

1. 発育菌並びに静止菌の H₂O₂ 産生の有無

Sh. dysenterii に属する菌には catalase を有するものと、然らざるものが存在するが、これらの菌、特に catalase を有しないものが発育中、或は静止菌の糖類酸化の途次 H₂O₂ を蓄積するか否かを調べた。即ち先づ次の組成の培地及びこれに glucose (2g/1l)を加えた培地に各供試菌 A₁~A₇ を接種し24時間後に遠沈し、上清について H₂O₂ の定量を行った。

第二磷酸ソーダ	2.5 gr
第一磷酸カリ	0.35 //
硫酸マグネシウム	0.01 //

硫酸第一鉄	0.001 //
食塩	3.0 //
ペプトン	10.0 //
酵母エキス	0.5 //
水	1.0 l
pH	7.0

尚此の実験に於ては発育中、或は glucose 酸化途次に H₂O₂ を生成する事が知られている肺炎Ⅱ型 (PⅡと略)を比較の為併せ用いた。

結果は第7表に示す通りPⅡは著明な H₂O₂ の蓄積を認めるのに対し、catalase を有する A₂, A₆, A₇ は勿論の事、有しない A₁, A₃, A₄, A₅ に於ても全く此の定量法の範囲には H₂O₂ の蓄積を認めることは出来なかつた。

第1表 発育菌の H₂O₂ 蓄積

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇	PⅡ
培地 No.1 (pepton)	-	-	-	-	-	-	-	+
培地 No.2 (pepton-glucose)	-	-	-	-	-	-	-	+

培地組織：培地No.1：第2磷酸ソーダ 2.5g, 第1磷酸ソーダ 0.35g, 硫酸マグネシウム 0.01g, 硫酸第一鉄 0.001g, 食塩 3.0g, ペプトン 10.0g, 酵母エキス0.5g, 水 1.0l, pH 7.0

培地No.2：No.1にグルコース2.0gを加える。

培養時間：24 hr.

H₂O₂ 測定：Main & Shinn 法による青色発色の度により+-を以て示す。

第2表 静止菌の H₂O₂ 蓄積

基質	菌	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇	P ₂
基質なし		-	-	-	-	-	-	-	±
glucose		-	-	-	-	-	-	-	+
pepton		-	-	-	-	-	-	-	+

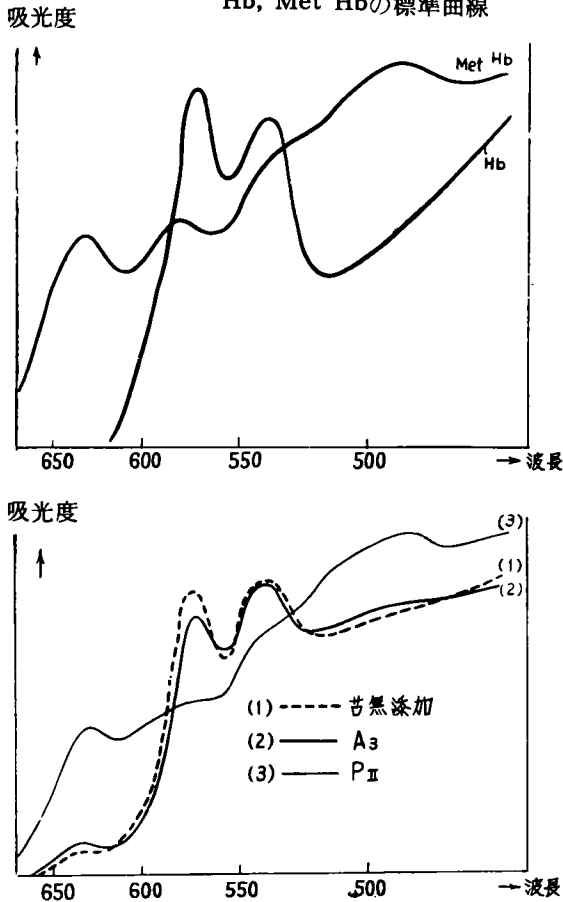
菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, 緩衝液 0.7ml, 基質 0.3ml, pH 7.0, 37°C, 1hr., glucose 終濃度 M/100, pepton 終濃度 1mg/cc H₂O₂ の測定：Main & Shinn 法により+, -を以て示す。

次に静止菌の H₂O₂ 生成の存否を見た。静止菌浮游液に glucose (M/100) 或は pepton (1mg/cc) を添加して1時間振盪した後の遠沈上清中の H₂O₂ を測定したが、第2表の如くPⅡでは glucose を基質とした場合には著明に、又 pepton を基質とした場合にも可成りの H₂O₂ 生成が認められたのに対し、A₁~A₇では全く H₂O₂ を認めることが出来なかつ

た。又肺炎菌ではこれを無カタラーゼ症患者血液を加えた培地に接種して培養するとその発生する H₂O₂ のため著明な methemoglobin (Met Hb) を生成することが知られているが、A₁~A₇ の供試菌についても此のような Met Hb の生成があるか否かを試みた。即ちペプトン水に脱線維した無カタラーゼ血液を 0.5%となるように加え A₁~A₇ 及び比較のためPⅡ

菌を接種し24時間後に遠沈してその上清につき、ベックマン自記分光光度計により吸収曲線を記録した所、第1図の如くであつてP IIでは明らかなMet Hbの吸収が見られるのに対し、A₃では菌無添加の対照と変わりなく、Hbは変化を蒙っていないことを知つた。

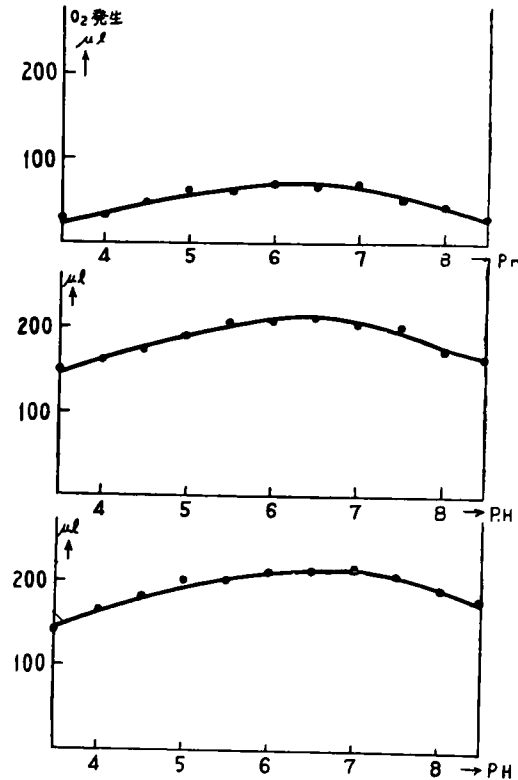
第1図 P₁, A₃による無カタラーゼ赤血球の変化 Hb, Met Hbの標準曲線



而して A₁~A₇ の他の菌でも図示は省略したが、A₃ と全く同様であつて H₂O₂ の蓄積はないものと思われる。

更に若し仮に A₁, A₃, A₄, A₅ などの無カタラーゼ菌に於て glucose 酸化途次一時的にせよ H₂O₂

第2図 菌の Catalase 作用に於けるPMの影響



主室：菌液 (湿菌量 1 mg) 2.0ml, 緩衝液 0.7ml
側室：H₂O₂ (終濃度 (M/200) 0.3ml)
37°C, 反応時間 10min.

第3表 glucose 酸化に伴う pyruvate, acetate の生成

定量値 μM		O ₂ 消費量	glucose 消費量	pyruvate 生成量	acetate 生成量
A ₃	glucose	16.2	12.1	2.1	0.6
	-+有 catalase 血球	17.1	12.4	2.8	0.7
	-+無 catalase 血球	17.0	12.4	2.6	0.8
P ₂	glucose	13.9	12.0	0	1.8
	-+有 catalase 血球	14.1	12.1	0.9	0.3
	-+無 catalase 血球	16.3	13.2	1.4	0.5

菌液 (湿菌量 20mg) 2.0ml, 血球液 (NaCl 加磷酸緩衝液に浮游) 0.3ml, glucose 0.3ml, 緩衝液を以て全量 3.0ml とする, 37°C, pH 7.0, 1hr.

glucose : 終濃度 M/100

血 球 : 終濃度 500倍稀釈

の生成があるものならば蓄積する pyruvate は H_2O_2 により非酵素的に酸化されて acetate となると考えられる。従つて各菌の pepton 或は glucose 酸化に於て H_2O_2 処理を行う有カタラーゼ赤血球（健康人）及び無カタラーゼ赤血球（無カタラーゼ症患者血球）を添加して置くと pyruvate 蓄積は増大し、acetate 蓄積は減少する筈である。

事実肺炎菌では此の様な事が既に認められているのであるが、catalase を欠く A_8 では第3表の如く全く認められなかつた。又他の菌 A_1 , A_4 , A_5 も表示は省略したが同様の結果であつた。

2. 各菌 catalase 作用に対する pH の影響

供試菌の中 catalase を有する A_2 , A_6 , A_7 について catalase 作用が pH により如何に影響を受けるかを見るため、菌浮游の pH を 4.5, 5.0, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0 として H_2O_2 （終濃度 M/300）を添加

し10分間に発生する O_2 量を測定した。結果は第2図に見られる通り、catalase 作用-pH 曲線は比較的ゆるやかな curve を描き pH 4~5 にてもかなりの catalase 作用を認め得るが、至適 pH は 7.0 附近にあり、且つ菌による差異は認められなかつた。

3. 各菌の peroxidase 作用

H_2O_2 処理に於て catalase に代り得ると考えられている peroxidase 作用を各菌について比較した。peroxidase 作用の測定は実験方法の項で述べた如く tolidine の氷醋酸溶液と H_2O_2 とを供試菌に加え発生する青色により判定する方法に依つたのであるが、ここでは tolidine 及び H_2O_2 の濃度を 2, 3 変え tolidine は終濃度 $10^{-2}M$, $10^{-3}M$, $10^{-4}M$, H_2O_2 も $10^{-2}M$, $10^{-3}M$, $10^{-4}M$ とし、菌濃度は何れも湿菌量 3 mg として行い、結果は第4表に一括して示した。

第4表 各菌の peroxidase 活性

反 応 系			A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇
菌 液	Tolidine	H ₂ O ₂							
3 mg	$10^{-2}M$	$10^{-2}M$	++	+	+++	++	++	±	±
〃	〃	$10^{-3}M$	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
〃	〃	$10^{-4}M$	++	+	+++	+	+	±	±
〃	$10^{-3}M$	$10^{-2}M$	+	+	++	+	+	±	±
〃	〃	$10^{-3}M$	++	++	+++	+	+	+++	+++
〃	〃	$10^{-4}M$	++	+	++	±	±	±	±
〃	$10^{-4}M$	$10^{-2}M$	±	±	±	±	±	+	+
〃	〃	$10^{-3}M$	±	+	±	±	±	+++	++
〃	〃	$10^{-4}M$	±	-	±	±	±	±	±

菌液（湿菌量 3 mg）1.0ml, o-tolidine氷醋酸溶液 0.25ml, H_2O_2 0.25ml,

反応時間 10min., 温度は室温.

これによると catalase を保有する菌と、然らざるものとの間には多少の相異が認められた。即ち一般に tolidine $10^{-2}M$ の場合が青色発色が最も顕著であり、且つ H_2O_2 は $10^{-3}M$ の場合が最も著しいが、catalase を多く保有する A_6 , A_7 では H_2O_2 を $10^{-2}M$ とすると peroxidase 作用は著明に低下するのに対し、catalase を欠く A_1 , A_3 , A_4 , A_5 では H_2O_2 の濃度に比較的影響されない。tolidine の濃度を $10^{-3}M$ とした場合にも同様の傾向がうかがわれた。tolidine $10^{-4}M$ の場合に於ては A_2 , A_6 , A_7 では特に H_2O_2 $10^{-3}M$ の場合尚青色発色が明らかに認められるのに対し、 A_1 , A_3 , A_4 , A_5 では殆んど認めることが出来なかつた。

4. 無 catalase 菌の H_2O_2 処理

A_1 , A_3 , A_4 , A_5 の各菌は前述の通り catalase を全く保有しないが、これらの菌に外部より加えた H_2O_2 に対しどの程度の濃度迄抵抗し得るかを O_2 消費量より検討した。即ち基質として glucose, succinate を選び、 $10^{-5}M$, $10^{-4}M$, $10^{-3}M$, $10^{-2}M$ の H_2O_2 を添加した場合、及び H_2O_2 無添加の対照の O_2 消費量を測定した所第5表に示す結果となつた。

各菌共 glucose を基質とした場合 $10^{-5}M$, $10^{-4}M$ の H_2O_2 では殆んど影響を受けないが、 $10^{-3}M$ では 60~70% の阻害を受け、 $10^{-2}M$ H_2O_2 では殆んど完全に O_2 消費は抑制された。

第 5 表 O₂ 消費に対する H₂O₂ 阻害作用
O₂ 消費量 μ l

	A ₁	A ₃	A ₄	A ₅
glucose	186	159	162	147
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻⁵ M	181	162	168	152
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻⁴ M	172	150	146	124
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻³ M	67	64	70	62
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻² M	19	24	22	14
succinate	164	127	156	107
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻⁵ M	171	130	154	103
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻⁴ M	152	119	141	92
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻³ M	39	47	40	32
" + H ₂ O ₂ 10 ⁻² M	14	19	27	19

菌液 (湿菌量 10mg) 2.0ml, 緩衝液 0.4ml,
基質 0.3ml, H₂O₂ 0.3ml 37°C, pH 7.0, 1hr.
基質濃度 M/100

succinate を基質とした場合にもほぼ同様の傾向であつたが, glucose の場合に比し阻害度はやや大のようであつた。

そこで菌液 (2.0ml) に glucose, succinate を基質として 0.5ml を添加し場合, 次に基質の代りに水を 0.5ml を加えた場合につき, 更に H₂O₂ 0.1ml (1 μ M) を加え振盪し, 15分後に再び同一濃度の H₂O₂ 0.1ml を追加し, このようにして15分毎に合計5回に亘り H₂O₂ を添加しながら振盪後遠沈上清中の H₂O₂ 残存量を測定した。

結果は第6表に示した如く, 各菌一様に glucose を基質とした場合には H₂O₂ は全く残存しないが,

succinate を基質とした場合にはわずかに H₂O₂ の残存が認められ, 基質なしの場合には加えた H₂O₂ の殆んど全部が残存することを認めた。

第6表 基質酸化途次に於ける H₂O₂ 処理

添加物質		H ₂ O ₂ 残量 μ M/cc			
		A ₁	A ₃	A ₄	A ₅
基質なし	+ H ₂ O ₂	1.2	1.1	1.3	1.4
glucose	+ H ₂ O ₂	0	0	0	0
succinate	+ H ₂ O ₂	0.7	0.4	0.5	0.3

菌液 (湿菌量 10mg) 2.0ml, 基質 0.5ml, H₂O₂ 0.1ml (1 μ M) を加えて振盪15分毎に H₂O₂ 0.1ml ずつ合計5回添加する。

37°C, pH 7.0,

菌液 { 15分 ↓H₂O₂ 15分 ↓H₂O₂ 15分 ↓H₂O₂ 15分 ↓H₂O₂ }
基質 { 15分 → 15分 → 15分 → 15分 → } 遠沈
H₂O₂

次に菌による glucose の酸化に伴う pyruvate, lactate, acetate の蓄積に対する H₂O₂ の影響を見た。即ち菌浮遊液に glucose (M/100) を加え H₂O₂ を上の実験と同様15分置きに5回 (合計 5 μ M) に分けて添加して行き最後に遠沈し, 上清中の glucose 消費 pyruvate, lactate, acetate 蓄積量を測定した。

結果は第7表に示した如く, 各菌共一般に H₂O₂ 添加により glucose 消費量は僅かに低下するに過ぎないが, pyruvate, lactate の蓄積は全く認められなかつた。然るに acetate 蓄積量の増大は見られた。

第7表 glucose 酸化に於ける量的関係に対する H₂O₂ 添加の影響

		μ M/cc	glucose 消費	pyruvate 蓄積	lactate 蓄積	acetate 蓄積
A ₁	glucose		3.4	1.2	0.4	0.2
	" + H ₂ O ₂		2.8	0	0	1.1
A ₃	glucose		3.3	1.7	0.3	0.4
	" + H ₂ O ₂		2.6	0	0	1.4
A ₄	glucose		3.1	0.9	0.1	0.3
	" + H ₂ O ₂		2.7	0	0	1.3
A ₅	glucose		3.4	1.1	0.5	0.3
	" + H ₂ O ₂		2.8	0	0	1.0

菌液 (湿菌量 10mg) 2.0ml, 基質 0.5ml, H₂O₂ 0.1ml (1 μ M) を加えて振盪,
15分毎に H₂O₂ 1ml ずつを合計5回添加する。
37°C, pH 7.0.

IV. 総括及び考案

catalase は細菌その他の物質代謝に於て発生する H_2O_2 を分解して H_2O による障害を除去する役目を持つとされている。従つて *catalase* を欠く、肺炎菌、連鎖球菌などは発育中或は静止菌の糖類酸化途次 H_2O_2 を蓄積すると考えられている。

Sh. dysenterii に属する菌には *catalase* を有するものと然らざるものがあるが、*catalase* を欠く菌、 A_1 , A_3 , A_4 , A_5 は肺炎菌などとは異り、発育中及び糖類酸化途次に H_2O_2 の蓄積が認められない。此の事から2つの事が考えられる。即ちこれらの菌では H_2O_2 を全く生成しないのか、或は一旦生成された H_2O_2 が *peroxidase* 作用又は非酵素的処理されて直ちに消失するからであろう。

これを確かめるために *catalase* 症患者血液を加えたペプトン水に菌を接種して Methemoglobin (Met Hb) の生成を調べた。対照として使用した肺炎II型 (P II) では hemoglobin (Hb) は発生する H_2O_2 の為、酸化されて Met Hb となるのに対し A_1 , A_3 , A_4 , A_5 では Met Hb 生成は全く認められない。又静止菌浮游液に glucose を加えて酸化を行わしめる際、無 *catalase* 赤血球を添加して置いても Met Hb の生成は起らず、更に glucose 酸化に伴う pyruvate, acetate 生成を測定した結果も肺炎菌の場合とは異り血球無添加の対照と変りはなかつた (第3表)。

これらの事より供試菌では H_2O_2 の発生はないか或は一旦 H_2O_2 の形とならず H_2O となる寸前に *peroxidase* の作用又は非酵素的に何らかの機構で処理されてしまう可能性が強いように考えられる。

次に供試菌 $A_1 \sim A_7$ の *catalase* 作用、*peroxidase* 作用を検する、*catalase* 作用を pH を種々変えて比較した所、 A_1 , A_3 , A_4 , A_5 は如何なる pH に於ても *catalase* 作用を示さず、 A_2 は僅かに A_6 , A_7 は著明に *catalase* を所有し、何れも7.0附近に至適 pH がある。又 *peroxidase* 作用を tolidine H_2O_2 の濃度を種々変えて青色発色を示標として比較した所、*catalase* を有する菌と然らざるものとの間に若干差異が認められる (第4表)。即ち A_2 , A_6 , A_7 などの *catalase* 保有菌には H_2O_2 濃度により *peroxidase* 作用に差異が見られ、 H_2O_2 濃度が大 ($10^{-2}M$) となると作用は著しく低下するのに対し *catalase* を有しない菌では低下が比較的少い。これは *catalase* H_2O_2 濃度が小なるときは *peroxidase* 的に作用する事が一般に知られているが、この事による

のではなからうか。

従つて以上の事より *catalase* を有する菌もこれを欠く菌も H_2O_2 濃度が小である場合には同様の態度をとるのではないかという推定も成立つと思われる。

peroxidase 作用は *catalase* 作用に比して反応速度がはるかに小であるから、若し大量 H_2O_2 が外部より菌に与えられたとき *catalase* を欠く菌は当然障害を受け易いと考えられる。そこで無 *catalase* 菌の H_2O_2 に対する抵抗力乃至、 H_2O_2 の処理について以下検討する。

glucose を基質とした O_2 消費に対する H_2O_2 の阻害作用より見ると、 A_1 , A_3 , A_4 , A_5 の無 *catalase* 菌は何れも $10^{-2}M$ 附近の H_2O_2 により酵素活性が障害され $3 \times 10^{-3}M$ 以下の濃度の H_2O_2 であれば、glucose 酸化の途次これを処置し消失せしめることが出来る。

而して菌の glucose 酸化途次 $\frac{1}{2} \times 10^{-3}M$ (終濃度) 程度の H_2O_2 も15分置に添加して行き、最後に遠沈上清中の H_2O_2 を測定すると、glucose 無添加の場合には加えた H_2O_2 は完全に残存するのに対し、glucose 添加の場合には全く消失して居り、且つ pyruvate, acetate の定量値よりして、恐らく glucose の酸化により生成した pyruvate 或はその他のものにより H_2O_2 が *peroxidase* 的に或は非酵素的に処理されるのではないかと推定される。

V. 結 言

Sh. dysenterii 1~7 に属する *catalase* を有する菌及びこれを欠く菌の *catalase* 作用、*peroxidase* 作用並びに代謝に於ける H_2O_2 添加の影響を検討し次の結果を得た。

1. *catalase* を有する菌は勿論、これを欠く菌でも発育中及び糖酸化中 H_2O_2 蓄積は全く認められない。
2. *catalase* を有する菌と、これを欠く菌とは *peroxidase* 活性— H_2O_2 濃度の関係を異にする。
3. *catalase* を欠く菌では基質として glucose を加えて置くと H_2O_2 を添加しても処理される。
4. *catalase* を欠く菌では H_2O_2 は全く生成されないか、或は瞬間的に生成されても代謝途次生成される pyruvate その他の被酸化性物質により直ちに処理されるものと考えられる。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師村上教授に深甚なる謝意を表すものであります。

参 考 文 献

- 1) 藤田・児玉：日本細菌学雑誌, 462, 555, (1934).
- 2) Sevag, M. G., Biochem. Z., 267, 211. 1933.
- 3) Bernheim, F. & Bernheim, M. L. C., J.Bact., 46, 225, 1943.
- 4) 河田：岡山医学会雑誌, 70巻, 3号, (1958).
- 5) Glick, V.: Methods of Biochemical Analysis, 1, 373, 1954.
- 6) Umbreit, W. W. et al: Manometric Techniques and Tissue Metabolism, (1949).
- 7) 佐竹：クロマトグラフ, 共立社, 91, (1952).
- 8) 標準生化学実験, 文江堂, 18, (1953).
- 9) 標準生化学実験, 文江堂, 36, (1953).
- 10) Main E. R. & Shinn, L. E., J. Biol. Chem., 128, 417, 1939.
- 11) 標準生化学実験, 文江堂, 35, (1953).
- 12) 高原・宮本：耳鼻咽喉科, 21, 53, (1946).
- 13) 高原：岡山医学会雑誌, 63, 1, (1954).
- 14) Keiln, D. & Hartree, E. F.: Biochem. J., 39, 945, 1945.

Enzymatic Properties of Shigella Dysenteriae Part 2. Catalase and Peroxidase Activities

Toshio NANBA

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

By studying the influences of H_2O_2 on the catalase and peroxidase actions and metabolisms of cells belonging to Sh. dysenteri 1-7, the author obtained the following results:

1. No evidence of H_2O_2 accumulation either by cells with catalase or those without catalase can at all be seen during the growth or glucose oxidation.
 2. In the relationship between the peroxidase activity and H_2O_2 concentration, the cells possessing catalase differs from without catalase.
 3. The addition of glucose even in the case of cells lacking catalase will enable to dispose of H_2O_2 .
 4. In the case of the cells possessing no catalase, it seems that H_2O_2 is not all produced in the course of the metabolism, or some H_2O_2 is produced momentarily but such H_2O_2 is immediately disposed of by pyruvate or other substances produced during the metabolism.
-