

細菌の glucose 酸化に於ける鉄イオンの作用

第 2 編

減鉄培地発育菌の酵素的性状(1)

Sh. flexneri 2a について

岡山大学医学部微生物学教室(指導:村上 栄教授)

戸 部 清

〔昭和33年7月23日受稿〕

目 次

- | | |
|--|--|
| <p>I. 緒 言</p> <p>II. 実験材料及び実験方法</p> <p>III. 実験成績</p> <p>1. 各培地に於ける発育曲線, 並びにC源の酸化</p> <p>2. glucose をC源とした培地に発育した菌体の酵素的性状</p> | <p>3. gluconate をC源とした培地に発育した菌体の酵素的性状</p> <p>4. ribose をC源とした培地に発育した菌体の酵素的性状</p> <p>IV. 総括及び考案</p> <p>V. 結 言</p> |
|--|--|

I. 緒 言

前編では Sh. flexneri 2a, St. albus を供試菌としそれらの充分洗滌した菌体を用い, 各種基質の酸化に対する Fe^{++} , Fe^{+++} の作用を検討し, glucose 或は pyruvate の酸化に於ける分解産物の生成, 或は P^{32} を用いそれらを基質とした呼吸時に於ける代謝に対する Fe^{++} , Fe^{+++} の影響よりしてこれらイオンは glucose, pyruvate の酸化を促進し, 主として pyruvate を完全酸化に導く作用を有することが推定された。

而して Fe^{++} , Fe^{+++} は同様の効果を有するのであるが, 実際に作用するのは Fe^{++} であり, Fe^{+++} は Fe^{++} に還元されて後働くのではないかと考えられることを述べた。

本編に於ては glucose, gluconat, ribose を夫々C源とし, Fe^{++} と特異的に錯塩を形成する $\alpha\alpha'$ -dipyridyl を添加して Fe^{++} 量を減じた培地に発育した菌体が Fe^{++} を充分に含む対照培地発育菌に比し酵素的性状に如何なる変化を生じているかを検討した。

II. 実験材料及び実験方法

供試細菌: Sh. flexneri 2a の教室保存標準株。

菌培養法:

基礎培地組成

第一磷酸カリ	0.35 g
第二磷酸ソーダ	2.5
食塩	3.0
硫酸マグネシウム	0.02
ペプトン	10.0
酵母エキス	0.5
水	1.0 l
pH	7.2

上記組成の基礎培地にC源として glucose, gluconate, 或は ribose を 2g/l となるように加え, 更に $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 0.01 g/l を加えたもの, 及び $\alpha\alpha'$ -dipyridyl の代りに硫酸第一鉄 0.001 g/l を加えたものを培地とし, 夫々の培地に5代以上継代したものから接種し, 20時間 37°C で培養した菌体を用いた。

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) 2回遠沈洗滌し, 再び同一組成の緩衝液に浮游して使用した。菌量決定は光電比濁計によつた。

呼吸量測定: Warburg 検圧計を用い常法²⁾に従つた。

基質, 阻害剤: 何れも市販品を用い, 蒸留水にとかし, HCl 又は NaOH にて pH を修正した.

glucose の定量: 3, 5-dinitrosalicylic acid による比色法⁵⁾によつた.

pyruvate の定量: 2, 4-dinitrophenylhydrazine による比色法⁶⁾によつた.

lactate の定量: 濃硫酸, p-hydroxydiphenyl による比色法⁷⁾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 にて滴定した.

ribose の定量: orcin-HCl 反応¹⁰⁾によつた.

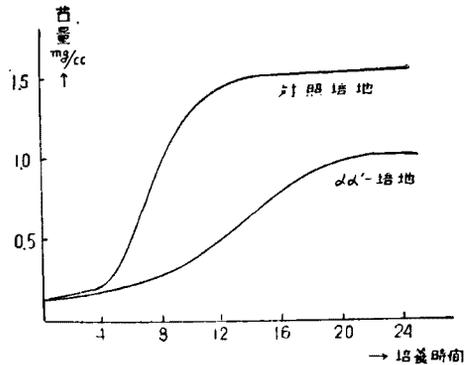
III. 実験成績

1. 各培地に於ける発育曲線, 並びに C 源の酸化本実験に先立ち, 「実験方法」の項に記した通りの組成の基礎培地に C 源として glucose, gluconate, ribose (各 2 g/l) を夫々に加え, 更に $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 0.01 g/l を加えたもの, 及び対照として $\alpha\alpha'$ -dipyridyl の代りに硫酸第一鉄 0.001 g/l を加えたものに菌を接種し, 4 時間毎に菌濃度を測定して発育曲線を作り, 又 20 時間目, 及び 48 時間目に一部をとり遠沈して上清中の C 源消失量, pyruvate, lactate, acetate 生成量, 及び pH の変化を測定した.

得られた発育曲線を C 源を glucose とした場合につき示すと第 1 図の通りであり, 対照培地では 4 ~ 5 時間目頃より log phase に入り 14 時間目頃より

stationary phase となるのに対し, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 加培地 ($\alpha\alpha'$ -培地と略) では発育は遅れ 8 時間目頃より log phase に入り, stationary phase に入るのは 18 時間目頃のものであり, 最高菌濃度も対照培地に比しかなり小であつた.

第 1 図 $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 添加, 及び無添加培地に於ける発育曲線 (glucose 加培地)



gluconate, ribose を C 源とした場合にも図示は省略したが同様の傾向であつた.

次に 20 時間目及び 48 時間目の遠沈上清中の C 源消失, 生成物の量的関係, 並びに pH の変化を見ると, glucose を C 源とした培地の場合は第 1 表に示す如く, pH は 20 時間目, 48 時間目に対照培地で夫々 5.6, 5.4 であり, $\alpha\alpha'$ -培地では夫々 6.0, 5.9

第 1 表 glucose 添加培地に発育中の glucose の分解

培地	定量値	始 pH	終 pH	glucose 消失	pyruvate 生成	lactate 生成	acetate 生成
				$\mu\text{M}/\text{cc}$	$\mu\text{M}/\text{cc}$	$\mu\text{M}/\text{cc}$	$\mu\text{M}/\text{cc}$
対 照	20 hr.	7.2	5.6	4.1	0.6	0.3	0.4
	48 hr.	7.2	5.4	7.0	1.3	0.8	0.6
$\alpha\alpha'$ 培地	20 hr.	7.2	6.0	3.1	1.0	0.5	0.7
	48 hr.	7.2	5.9	5.6	2.2	1.2	1.1

第 2 表 gluconate 添加培地に発育中の gluconate の分解

培地	定量値	始 pH	終 pH	pyruvate 生成	lactate 生成	acetate 生成
				$\mu\text{M}/\text{cc}$	$\mu\text{M}/\text{cc}$	$\mu\text{M}/\text{cc}$
対 照	24 hr.	7.2	6.0	0.5	0.3	0.4
	48 hr.	7.2	5.9	1.0	0.4	0.6
$\alpha\alpha'$ 培地	24 hr.	7.2	6.0	0.7	0.2	0.4
	48 hr.	7.2	5.7	1.4	0.7	0.7

第 3 表 ribose を C 源とした培地に発育中の菌の ribose 分解

培地	定量値	始 pH	終 pH	ribose 消失 μM/cc	pyruvate 生 成 μM/cc	lactate 生成 μM/cc	acetate 生成 μM/cc
対 照	24 hr.	7.2	6.2	2.4	0.2	0.1	0.2
	48 hr.	7.2	6.0	3.6	0.5	0.2	0.4
αα' 培地	24 hr.	7.2	6.2	1.8	0.2	0.2	0.1
	48 hr.	7.2	6.1	2.9	0.6	0.5	0.5

であつた。又 glucose 消失量は対照培地の方が大であるが、glucose 消失量に対する pyruvate, lactate, acetate の生成量の割合は何れも αα'-培地の方がはるかに大であつた。

gluconate を C 源とした培地については第 2 表に示した如く、pH は 20 時間目、48 時間目に対照培地では夫々 6.0, 5.9, αα'-培地では夫々 6.0, 5.7 であり、又 gluconate の定量は精度の高い方法がないため省略したが、pyruvate, lactate, acetate 生成量は αα'-培地の方が大であつた。

更に ribose を C 源とした培地では第 3 表の如く、pH は 20 時間目、48 時間目は対照培地では夫々 6.2, 6.0 であり、αα'-培地では夫々 6.2, 6.1 と大差がなかつた。然し ribose 消失量は対照培地の方が大であるのに対し、pyruvate, lactate, acetate 生成量は αα'-培地の方が大であり何れも glucose を C 源とした培地に於ける所見と同様の傾向であつた。

2. glucose を C 源とした培地に発育した菌体の酵素的性状

実験方法の項で記した通りの組成の、glucose を C 源とし、αα'-dipyridyl を添加した培地、及び αα'-dipyridyl の代りに Fe⁺⁺ を加えた培地に 20 時間培養した菌体 (夫々 αα'-菌、対照菌と略) の酵素的性状を比較した。即ち各菌を集菌後、洗滌してから緩衝液に浮遊せしめ glucose, gluconate, ribose, glycerol-P, pyruvate, lactate, acetate, succinate を夫々基質とした O₂ 消費量を測定したところ第 4 表の結果であつた。即ち、αα'-菌と対照菌では glucose 酸化能は大差ないが、pyruvate, lactate, succinate 酸化能は αα'-菌が著しく劣つていた。gluconate, ribose, acetate は両菌共酸化能が弱く endogenous respiration と大差なかつた。

αα'-菌及び対照菌の glucose 酸化に於ける量的関係と、これに対する DNP (1/3×10⁻³M), monoiodoacetate (1/3×10⁻³M), KCN (10⁻³M), arsenite (10⁻³M) の影響を見ると第 5 表に示す如く、glucose

第 4 表 glucose 培地 (αα'-dipyridyl 添加、無添加) 発育菌の各基質酸化能

	対 照 菌	αα'-菌
なし	39	27
glucose	159	138
gluconate	39	29
ribose	42	30
glycerol-P	61	47
pyruvate	106	32
lactate	124	56
acetate	39	28
succinate	96	44

菌液 (湿菌量 20 mg) 2.0 ml, 基質 (終濃度 M/100) 0.3 ml, 全量 3.0 ml とする。
pH 7.2, 37°C, 1 hr.

の酸化にともなう pyruvate の生成は対照菌では 4.0 μM の glucose 消費により 1.6 μM の pyruvate を生成するのに対し αα'-菌では 5.1 μM の glucose 消費により 3.6 μM の pyruvate 生成を見、対照菌に比し著しく大であつた。DNP 成は KCN を添加した場合の glucose 消費に対する pyruvate 生成の割合は対照菌、αα'-菌間に著差は認められず、monoiodoacetate の添加によつては何れの菌も glucose 酸化は著しく阻害され、pyruvate 生成も認められなかつた。又 arsenite 添加によつては両菌共 1M の glucose より 2M 近くの pyruvate が生成された。

而して Pyruvate の酸化はこれら阻害剤の添加により何れの菌に於ても著明に抑制された。

3. gluconate を C 源とした培地に発育した菌体の酵素的性状

前述の組成の基礎培地に C 源として gluconate を添加した αα'-培地、及び対照培地に発育した菌体 (何れも 20 時間培養) の酵素的性状を比較するた

第 5 表 glucose 培地発育菌の glucose 酸化に対する阻害剤の影響

菌	定 量 値 基質, 阻害剤	O ₂ 消費	CO ₂ 発生	RQ	基質消費	pyruvate 生成
		μM	μM		μM	μM
対 照	glucose	7.4	3.5	0.47	4.0	1.6
	— + DNP 1/3×10 ⁻³ M	6.8	2.7	0.40	4.1	7.6
	— + monoiodoacet 1/3×10 ⁻³ M	1.8	0.9	0.48	0.7	0
	— + KCN 10 ⁻³ M	1.9	0.8	0.42	0.9	1.3
	— + arsenite 10 ⁻³ M	3.6	1.5	0.41	2.7	5.0
	pyruvate	2.0	3.0	1.49	3.1	—
	— + DNP 1/3×10 ⁻³ M	0.3	0.4	1.43	0.3	—
	— + monoiodoacet 1/3×10 ⁻³ M	0.5	0.7	1.48	0.4	—
	— + KCN 10 ⁻³ M	0.3	0.5	1.50	0.4	—
	— + arsenite 10 ⁻³ M	0.2	0.3	1.50	0.2	—
αα' 菌	glucose	9.0	3.6	0.40	5.1	3.6
	— + DNP 1/3×10 ⁻³ M	8.7	3.4	0.39	5.2	8.7
	— + monoiodoacet 1/3×10 ⁻³ M	2.0	0.8	0.41	0.8	0
	— + KCN 10 ⁻³ M	1.8	0.7	0.39	0.8	1.3
	— + arsenite 10 ⁻³ M	4.9	1.9	0.38	3.6	6.1
	pyruvate	0.5	0.8	1.50	1.5	—
	— + DNP 1/3×10 ⁻³ M	0.2	0.3	1.48	0.2	—
	— + monoiodoacet 1/3×10 ⁻³ M	0.4	0.6	1.51	0.2	—
	— + KCN 10 ⁻³ M	0.3	0.5	1.50	0.3	—
	— + arsenite 10 ⁻³ M	0.2	0.3	1.50	0.2	—

菌液 (湿菌量 20 mg) 2.0 ml, 基質 (各終濃度 M/1000) 0.3 ml, 阻害剤 0.3 ml, 全量 3.0 ml とする, pH 7.2, 37°C, 1 hr.

め, 先づ両菌の各基質酸化能を O₂ 消費の面から見たところ第 6 表の通り, glucose 酸化能は両菌間に著差はないが, pyruvate, lactate succinate の酸

第 6 表 gluconate 培地 (αα'-dipyridyl 添加, 無添加) 発育菌の各基質酸化能

	対 照 菌	αα' 菌
なし	25	22
glucose	184	157
gluconate	61	126
ribose	26	24
glycero-P	49	36
pyruvate	98	32
lactate	103	54
acetate	25	23
succinate	81	54

菌液 (湿菌量 20 mg) 2.0 ml 基質 (各終濃度 M/100) 0.3 ml, 全量 3.0 ml とする, pH 7.2, 37°C, 1 hr.

化能は αα'-菌の方が著しく小であり, ribose, acetate は両菌共殆んど酸化しない。而して gluconate 酸化能の獲得は αα'-菌の方がはるかに大であるという結果が得られた。

次に gluconate の酸化様式が両菌で異なるか否かを見るため, gluconate 酸化に対する DNP, monoiodoacetate, KCN, arsenite の影響を検討したところ第 7 表に示す如くであつた。gluconate の定量は精度の高い方法が見当らなかつたので省略したのであるが, 対照菌では gluconate を基質として 7.7 μM の O₂ を消費して 0.3 μM の pyruvate を生成し, αα'-菌では 13.8 μM の O₂ 消費に対し 2.0 μM の pyruvate を生成した。RQ は対照菌の 1.13 に対し αα'-菌では 1.07 であつた。

DNP (10⁻³M), monoiodoacetate (1/3×10⁻³M) 添加によつては両菌共 O₂ 消費は著明に抑制され, 同時に pyruvate 生成も全く認められなくなつた。

KCN, arsenite 添加による O₂ 消費量の阻害率は両菌間に著差は見られず, O₂ 消費に対する

第 7 表 gluconate 培地発育菌の gluconate 酸化に対する阻害剤の影響

		O ₂ 消費 μM	CO ₂ 発生 μM	RQ	pyruvate 生成 μM
対 照	gluconate	7.7	8.7	1.13	0.3
	+ DNP	2.0	2.3	1.15	0
	+ moniodoacet	1.2	1.3	1.12	0
	+ KCN	1.8	2.0	1.09	0.6
	+ arsenite	4.0	4.4	1.09	0.9
αα' 菌	gluconate	13.8	14.6	1.07	2.2
	+ DNP	4.9	5.2	1.06	0
	+ moniodoacet	2.0	2.2	1.09	0
	+ KCN	4.2	4.6	1.10	1.0
	+ arsenite	8.9	9.6	1.08	1.9

菌液 (湿菌量 20 mg) 2.0 ml, 基質 (各終濃度 M/100) 0.3 ml, 阻害剤 0.3 ml, 全量 3.0 ml とする。
pH 7.2, 37°C,
1 hr. DNP : 1/3 × 10⁻³M, moniodoacetate : 1/3 × 10⁻³M, KCN : 10⁻³M, arsenite : 10⁻³M.

pyruvate 生成量の割合は何れの菌に於ても増大された。ただ gluconate よりの pyruvate 生成は glucose よりの生成に比し両菌共はるかに小であった。

4. ribose を C 源とした培地に発育した菌体の酵素的性状

前記同様の基礎培地に C 源として ribose を加え、更に αα'-dipyridyl 及び Fe⁺⁺ を夫々加えたものに発育した菌体 (αα'-菌, 対照菌) を用い、先づ各基質に於ける O₂ 消費量を測定した。

結果は第 8 表に示す如く、前述の glucose, gluconate を C 源とした場合と同様、glucose を基質とした O₂ 消費量は αα'-菌の方がむしろ大であるが pyruvate, succinate を基質とした O₂ 消費は αα'-

第 8 表 ribose 培地 (αα'-dipyridyl 添加, 無添加) 発育菌の各基質酸化能

	対 照 菌	αα' 菌
な し	20	24
glucose	152	179
gluconate	27	29
ribose	59	69
glycero-P	47	42
pyruvate	69	28
lactate	83	41
acetate	20	25
succinate	79	59

菌液 (湿菌量 20 mg) 2.0 ml, 基質 (各終濃度 M/100) 0.3 ml 全量 3.0 ml とする。
pH 7.2, 37°C, 1 hr.

第 9 表 ribose 培地発育菌の ribose 酸化に対する阻害剤の影響

		O ₂ 消費 μM	Co ₂ 発生 μm	RQ	ribose 消費 μM	pyruvate 生 成 μM
対照菌	ribose	2.7	2.6	0.07	2.1	0.1
	- + DNP 1/3 × 10 ⁻³ M	0.9	0.8	0.94	1.0	0
	- + moniodoacet 10 ⁻³ M	0.8	0.8	0.98	0.7	0
	- + KCN 10 ⁻³ M	0.9	0.8	0.94	0.8	0.3
	- + arsenite 10 ⁻³ M	1.2	1.1	0.93	1.4	0.0
αα' 菌	ribose	3.1	2.9	0.95	2.3	0.8
	- + DNP 1/3 × 10 ⁻³ M	1.0	0.9	0.93	1.1	0
	- + moniodoacet 10 ⁻³ M	0.8	0.8	0.97	0.7	0
	- + KCN 10 ⁻³ M	0.9	0.8	0.93	0.7	0.4
	- + arsenite 10 ⁻³ M	1.4	1.3	0.92	1.5	1.1

菌液 (湿菌量 20 mg) 2.0 ml, 基質 (各終濃度 M/100) 0.3 ml, 全量 3.0 ml とする。
pH 7.2, 37°C, 1 hr.

菌の方が著しく小であつた。

次に ribose 酸化に於ける量的関係に対する阻害剤の影響を両菌について比較すると第9表の如くであり、阻害剤無添加の場合には、対照菌では O₂ 消費 2.7 μM, ribose 消費 2.1 μM に対し 0.1 μM の pyruvate 生成を見、*αα'*-菌では O₂ 消費 3.1 μM, ribose 消費 2.3 μM に対し 0.8 μM の pyruvate を生成した。DNP, monoiodoacetate は両菌共 O₂ 消費, ribose 消費を著明に抑制し, pyruvate は全く生成されなくなつた。KCN は ribose 酸化をかなり阻害するが, pyruvate 生成の ribose 消費量に対する割合はむしろ増大した。arsenite は両菌共 O₂ 消費を50%以上阻害するが, pyruvate 生成は著明に増大された。

IV. 総括及び考案

Sh. flexneri 2a (B_{2a}) を供試菌として、C 源を glucose, gluconate 或は ribose とし、*αα'*-dipyridyl を加えて Fe⁺⁺ を減じた培地に發育した菌体が、*αα'*-dipyridyl 無添加の Fe⁺⁺ を含む培地に發育したものと酵素的性状が如何に変化しているかを検討した。

先づ glucose, gluconate 或は ribose を C 源とした培地に培養した菌の發育曲線を見ると、C 源の如何に拘わらず *αα'*-培地では対照培地に比し当然のことながら發育は不良であり、対照培地では 4~5 時間目頃より log phase となり 14 時間目頃より stationary phase となるのに対し、*αα'*-培地では發育曲線は徐々に上昇し 8 時間目頃より log phase に入り、18 時間目頃より stationary phase となる。而して發育 20 時間目及び 48 時間目に培地 pH の変化、培地 C 源の消費量、pyruvate, lactate, acetate の生成量を測定したところ、一般に pH の低下は対照菌の方がやや大であるが、これは菌の發育が良好なため C 源の分解が盛んであるためと考えられ、培地 C 源の消費量に対する pyruvate, lactate, acetate 生成量の比は *αα'*-培地の方が大である。これは培地中の Fe⁺⁺ の不足により pyruvate の酸化が不完全となる結果と考えられ、第1編で述べた如く静止菌の glucose 或は pyruvate の酸化が Fe⁺⁺ 欠乏状態では不完全となるということと符合する。

次に固形培地を用い、各 C 源培地培養の静止菌体の酵素的性状を、*αα'*-dipyridyl 添加及び無添加の場合にも比較した。

glucose, succinate, gluconate, ribose, glycerol-P, pyruvate, lactate, acetate を夫々基質とした O₂ 消費量を見ると、C 源の如何に拘わらず *αα'*-菌では pyruvate, lactate, succinate を基質とした O₂ 消費量が著しく小であり、pyruvate の TCA cycle による完全酸化に關与する酵素系の衰弱が予想され、このことは静止菌の glucose, gluconate, ribose の酸化にともなう pyruvate の蓄積量が *αα'*-菌では対照菌に比し著しく大なることから推定される。

なお gluconate を C 源とした培地では、*αα'*-菌は対照菌に比し gluconate 酸化能が著しく大であり、ribose を C 源とした培地では、*αα'*-菌は対照菌に比し ribose 酸化能が大である。これは減鉄培地に於ては完全酸化が困難であるためエネルギーを獲得するに必要上培地 C 源に対する適応が著しいのではなからうか。

以上の如く減鉄培地發育菌は pyruvate 以下の酸化が不完全となつてゐるが、glucose, gluconate, ribose 酸化に於ける pyruvate に至る迄の経路乃至は H 伝達系に変換が生じているか否かを見るため 2, 3 阻害剤の影響を検討した。

チフテリー菌¹⁾では減鉄培地に發育した菌は H 伝達がチトクローム系よりフラビン系へ変化することが知られているが、B_{2a} 菌では各 C 源培地培養菌、*αα'*-菌、対照菌間に KCN, monoiodoacetate の阻害効果に著差は見られないことから、チトクローム系よりフラビン系への H 伝達系に変換は起つていないと考えられる。

而して glucose を基質とした酸化に対する DNP, monoiodoacetate, KCN, arsenite の影響に変化が見られず、glucose→pyruvate 間の経路¹⁾の変換は認められない。又 gluconate, ribose の酸化に対してもこれら阻害剤の阻害率が *αα'*-菌、対照菌間に差異は認められず、gluconate, ribose の酸化経路にも変換は認められないようである。

V. 結 言

Sh. flexneri の教室保存標準株を供試菌とし、培地 C 源を glucose, gluconate, 或は ribose とし、*αα'*-dipyridyl を添加して Fe⁺⁺ 量を減じた培地、及び Fe⁺⁺ を充分含有する培地に静置培養 (18 時間) した菌体の酵素的性状を検討して次の結果を得た。

1. C 源の如何に拘らず減鉄培地發育菌では glucose 酸化に於ける pyruvate 以下の完全酸化に

関与する酵素活性が著明に低下する。

思われる。

2. 減鉄培地発育菌の glucose 酸化に於ける
glucose→pyruvate 間の経路は、含鉄培地発育菌の
それと変わらないようである。

(参考文献は第3編の末尾に記載)

3. 減鉄培地発育菌に於て、H 伝達系のチトク
ローム系よりフラビン系への変換は起らないものと

The Action of Iron Ions in Glucose Oxidation of Bacteria

Part 2. Enzymatic Properties of Bacteria Cultured in the Medium in which Iron Content is Reduced (1) Sh. Flexneri 2a

By

Kiyoshi TOBE

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

With *Sh. flexneri* 2a, the standard stocked in our laboratory, as the test bacteria, after examining enzymatic properties of bacteria cultured the medium of which Fe^{++} had been reduced by addition of *aa'*-dipyridyl and also in the medium containing sufficient Fe^{++} , and after examining metabolic properties of the bacteria, the author obtained the following results:

1. Irrespective of whichever carbon source is used, the enzymatic activity involved in the complete oxidation of pyruvate in the process of glucose oxidation is markedly lowered when the bacteria are cultured in the medium with reduced Fe^{++} .
 2. Oxidation pathway from glucose to pyruvate taken by the bacteria cultured in the medium with reduced iron content does not differ from that taken by the bacteria cultured in the medium containing sufficient Fe^{++} .
 3. Even in the case of the bacteria cultured in the medium with reduced Fe^{++} there occurs no conversion from cytochrome system of the H-transport system to flavine system.
-