



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について : II. 口腔常在細菌が保有する酸化還元酵素について
Author(s)	菊池, 裕子
Citation	歯科基礎医学会雑誌, 29(3), 363-370
Issue Date	1987-06
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/30109
Type	journal article
File Information	shika29-3.pdf



口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について

II. 口腔常在細菌が保有する酸化還元酵素について

菊 池 裕 子

北海道大学歯学部口腔細菌学講座（指導：鈴木武教授）

〔受付：昭和62年3月10日〕

Studies on the growth of oral indigenous bacteria and their oxidoreductase activities

II. Oxidoreductase activities

Hiroko E. Kikuchi

Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Hokkaido University

Nishi 7 chome, Kita 13 jo, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido, 060

(Chief: Prof. Takeshi Suzuki)

[Accepted for publication: March 10, 1987]

Key words: Oxidoreductase / oral / indigenous / bacteria / biological-protection

Abstract: In a preceding study, an index was given for bacteria with intermediate tolerances for oxygen which could express their aerobic to anaerobic potentials in a quantitative manner.

The purpose of this paper is to examine to what extent changes in that index might relate with the oxidoreductase activities in those oral indigenous bacteria under different oxygen conditions. The oxidoreductases studied in bacteria grown under aerobic and anaerobic conditions include NADH peroxidase, peroxidase, superoxide dismutase (SOD), and catalase. Isoczyme of SOD was also studied in some bacteria using disc polyacrylamide electrophoresis.

It is suggested that NADH peroxidase and superoxide dismutase (SOD) play a dominative role in the grown of oral indigenous bacteria under several oxygen concentrations.

緒 言

口腔微生物叢，特にプラーク中の微生物叢の形成および成熟には，微生物間の共生，拮抗，および宿主の抵抗力，栄養の摂取などが関係する^{1,2)}。それらの因子のうちでも，特に酸素の供給が微生物叢の形成に第1義的な影響を与えるものと考えられる。

前報においては，口腔常在細菌の増殖に及ぼす酸素の影響を定量化する方法を考案し，得られた指標が各群において明らかに異なることを報告し

た³⁾。

本報では，培養中の細菌について，その増殖に及ぼす酸素の影響と，細菌自体が持つ酸化還元酵素の質的，または量的な差との関連を検討した。そのため，異なる酸素条件下で培養した口腔常在細菌の保有する各種の酸化還元酵素の分布，活性，およびアイソザイムの存在などについて測定を行った。

材料と方法

1) 使用細菌

口腔常在細菌として，以下の細菌を実験に用

いた。

すなわち, *Neisseria mucosa* S-11^{*4)}, *N. subflava* YN-1^{*4)}, *Staphylococcus aureus* 209 P⁴⁾, *Streptococcus salivarius* S-6^{*4)}, *Str. mitior* S-8^{*4)}, *Str. sanguis* ATCC 10557⁵⁾, *Str. sanguis* S-9^{*5)}, *Str. sanguis* NS-7^{*5)}, *Str. mutans* Ingbritt⁶⁾, *Str. mutans* 1089^{**7)}, *Str. mutans* MT 703⁸⁾, *Str. mutans* Pk 1⁹⁾, *Str. mutans* OMZ 175¹⁰⁾, *Str. mutans* B 13¹¹⁾, *Str. faecalis* ATCC 19433¹²⁾, *Str. faecalis* ATCC 9756¹²⁾, *Str. pyogenes* IID 689^{13,14)}, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356¹⁵⁾, *Veillonella alcalescens* ATCC 17748¹⁶⁾, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827¹⁷⁾, *Fusobacterium nucleatum* IID 891¹⁸⁾である。

対照菌種として *Escherichia coli* K 12¹⁹⁾, *E. coli* K 67¹⁹⁾, *E. coli* B/r²⁰⁾, *Proteus vulgaris* IID 874²¹⁾, *Salmonella enteritidis* IID 604²²⁾, *Micrococcus luteus* NCTC 2665^{23,24)}, *Pseudomonas aeruginosa* S-2^{*4)}を用いた。

2) 培養法

実験には、嫌気性菌用培地である GAM ブイオン培地(日水製薬, 東京)を用いた。

細菌は、一菌株について好気振盪と静置の2条件で、37°C で1~2日間培養した。振盪培養は、定温振盪機(Gyrotory incubator shaker G24; New Brunswick Scientific Co., Inc., USA)を用いて150rpmで行った。

3) 洗滌菌体および菌体破碎抽出液の調製

a) 洗滌菌体の調製

培養液を遠心沈殿して(8,000g, 10分間)菌体を集め、この菌体を0.05M リン酸緩衝液(pH 7.0)を用いて3回遠心洗滌した後、可及的に少量の緩衝液中に浮遊させた。この濃厚菌液の濃度は、この一部を比濁すること、および乾燥菌量を測定することにより求めた。

b) 菌体破碎抽出液の調製

洗滌菌体を湿菌量 0.5g/ml となるように0.01M リン酸緩衝液(pH 7.0)で調製し、これらを菌体浮遊液とした。この浮遊液中の細胞を、超音

波破碎機(Tomy UR-200; 富永, 東京)を用いて20kHz, 80W で3分間作用させ破碎した。これを冷却遠心分離機(RC-5; Sorvall, USA)を用いて12,000g, 60分間遠心し、上清を得た。この上清を上記緩衝液中で36時間透析し、菌体破碎抽出液を調製した。

4) 酵素活性の検出と定量

酵素活性は、培養期間1~2日後の定常期に測定し、最低3回の測定の平均を取った。酵素活性の検出には、点滴分析法および活性染色法を用い、定量分析には分光光度計(Hitachi Model 200-20; 日立, 東京)を用いて25°C で測定した。

a) 全 NADH 酸化活性の定量

全 NADH 酸化活性は、Dolin²⁵⁾の方法に従い、NADH と過酸化水素を含む反応液中に菌体破碎上清を加え、NADH の減少の割合を340nm の吸光度の減少より測定した。

Dolin はこの方法を部分精製標品の測定についてのみ、適用しているが、本研究では、Uesugi と Yajima²⁶⁾に従い、本方法を菌体破碎抽出液の測定について適用した。この場合、*Lactobacillus* では、全 NADH 酸化のうち、約7.5%が oxidation によるものであり、残りが peroxidation によることが Mizushima と Kitahara により報告されている²⁷⁾。従って、使用菌株によって oxidation と peroxidation の比率が異なる可能性はあるが、全 NADH 酸化活性の簡便な定量法として十分適用可能であると思われる。

b) スーパーオキシド・ディスムターゼ(SOD) 活性の定量法

SOD 活性は Beauchamp および Fridovich の方法²⁸⁾に従い、xanthine-xanthine oxidase 系による nitroblue tetrazolium (NBT) の還元を SOD が阻害する現象を560nm の吸光度の減少により測定した。

c) SOD のアイソザイムの検出法

SOD のアイソザイムの検出は、Davis, および Ornstein の方法²⁹⁾に従ってディスク電気泳動を実施した後、Beauchamp, および Fridovich の方法³⁰⁾による活性染色法に従って実施した。

d) カタラーゼ活性の定量法

カタラーゼ活性は、Beers と Sizer の方法³¹⁾

* 北海道大学歯学部口腔細菌学講座分離株

** 愛知学院大学歯学部口腔微生物学講座分離株

に従い、過酸化水素の消費率を 240nm の吸光度の減少から測定した。

カタラーゼ活性の測定法に関し、過マンガン酸カリウム (K_2MnO_4) による滴定法³¹⁾と過酸化水素の 240nm 吸光度測定法³²⁾とを比較検討した。その結果、市販の精製カタラーゼでは、両方法によって同じ活性値が得られたが、菌体破碎抽出液では、過マンガン酸カリウム法による滴定の終点が求められなかった。また、測定試料中に 240nm 近傍の吸収のないこと、測定がより簡便であることなど、吸光度測定法の方がより適していると考えられた。

e) カタラーゼ (過酸化水素分解) 活性の検出法

GAM 寒天平板発生集落、および菌体破碎抽出液中のカタラーゼ活性は Cowan の方法⁴⁾に従い、過酸化水素の分解による発泡より検出した。

f) 細菌の産生する過酸化水素の検出法

GAM 寒天平板発生集落を大気中に放置し、その集落を硫化水素によって黒変させた酢酸鉛紙に接触させ、退色の有無より検出した³³⁾。

5) タンパク質量の測定法

タンパク質量は Lowry の方法³⁴⁾に従い、Folin-Ciocalteu 試薬を用いて測定した。

結果と考察

全 NADH 酸化活性

全 NADH 酸化の活性を各菌種について測定比較した結果を Table 1 に示す。

本実験結果から、好気性菌の方が嫌気性菌より、全 NADH 酸化活性が強いことが示唆される。この点は、腸管内の obligate anaerobes, 28菌株が嫌気条件下で示す全 NADH 酸化活性について Uesugi と Yajima²⁶⁾が調べた結果と同じ傾向を示している。

また、本実験で、好気振盪培養と静置培養の2条件下に全 NADH 酸化活性を比較した結果は、全 NADH 酸化活性が酸素により誘導されることを明らかにしている。

スーパーオキシド・ディスムターゼ (SOD) 活性

SOD 生成に対する酸素の誘導効果について調べた結果を Table 2 に示す。Obligate aerobes の SOD 活性については、静置培養での増殖が認められなかったため、酸素による誘導効果を判定することができなかった。Facultative anaerobes である *E. coli* K 12では、酸素による誘導効果により SOD 活性は1.8倍に、*Staph. aureus* 209 P では1.5倍に増加した。Aerotolerant anaerobes お

Table 1 NADH oxidation activity in bacteria

Strain	NADH peroxidase activity (U/mg of protein)	
	Shaking in air.	Not shaking.
Obligate aerobes		
<i>M. subflava</i> S-1	0.2	N.G. ^{a)}
<i>Ps. aeruginosa</i> S-2	0.1	N.G.
Facultative anaerobes		
<i>E. coli</i> K 12	0.6	N.D. ^{b)}
Aerotolerant anaerobes		
<i>Str. faecalis</i> ATCC 9756	113	N.D.
<i>Str. mutans</i> Pk 1	26.5	N.D.
<i>Str. faecalis</i> ATCC 19433	0.2	0.4
<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356	N.D.	0.1
<i>Str. mitior</i> S-8	N.D.	0.2

^{a)} No growth is abbreviated as N.G.

^{b)} No detection is abbreviated as N.D.

Table 2 Superoxide dismutase (SOD) activity in bacteria

Strain	SOD activity (U/mg of protein)	
	Shaking in air.	Not shaking.
Obligate aerobes		
<i>M. luteus</i> NCTC 2665 ^{a)}	0.8	N.G. ^{b)}
<i>N. subflava</i> N-1	1.0	N.G.
<i>N. subflava</i> S-1	0.2	N.G.
<i>Ps. aeruginosa</i> S-2	0.6	N.G.
Facultative anaerobes		
<i>E. coli</i> K 12	10.3	5.7
<i>Staph. aureus</i> 209 P	5.7	3.8
Aerotolerant anaerobes		
<i>Str. salivarius</i> TS-S	14.9	N..D ^{c)}
<i>Str. salivarius</i> HTS-1	7.7	N.D.
<i>Str. salivarius</i> EFS-2	9.6	N.D.
<i>Str. salivarius</i> MNS	18.9	3.9
<i>Str. pyogenes</i> IID 689	1.7	1.0
<i>Str. sanguis</i> S-9	0.7	0.6
<i>Str. mutans</i> 1089	0.5	1.1
<i>Str. faecalis</i> 19433	2.3	11.2
<i>Str. salivarius</i> S-6	N.D.	0.7
<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356	N.D.	0.2
<i>Str. mitior</i> S-8	N.D.	0.2
Obligate anaerobes		
<i>V. alcalescens</i> ATCC 17748	24.3	0.2
<i>Prop. acnes</i> ATCC 11827	N.G.	1.6
<i>F. nucleatum</i> IID 891	N.G.	N.D.

^{a)} Culture medium for this strain is an enriched medium, M. broth.

^{b)} No growth is abbreviated as N.G..

^{c)} No detection is abbreviated as N.D..

よび obligate anaerobes のいくつかの株もまた、SOD 活性を示した。

また、aerotolerant anaerobes については、酸素による SOD 生成能の誘導効果に関して 3 群に分けられることが示された。すなわち、i) 誘導効果の著しい群、ii) 誘導効果の認められない群、iii) 酸素の存在により SOD 生成の抑制される群の 3 群である。このことは極めて興味深い事実と思われる。

また、*V. alcalescens* ATCC 17748 は、従来 obligate anaerobes であるとされてきた³⁵⁻³⁷⁾にもかかわらず、酸素の存在により SOD が多量に誘導され、好気振盪培養した時の比活性が静置培養

した時の 122 倍にも達していた。このことは、熱海、上羽らの報告³⁸⁾とも一致し、極めて興味深い事実と思われる。

スーパーオキシサイド・ディスムターゼ (SOD) のアイソザイム

さらに、酸素に対する抵抗性は、細菌が保有する酸化還元酵素の種類だけではなく、個々の酸化還元酵素のアイソザイムの構成にも大きく依存すると考えられる。そのため、酸素の影響が最も微妙な aerotolerant anaerobes について SOD のアイソザイムの検出を行った。

Table 3 に示すごとく、*Streptococcus* の SOD は、1 種類のみであったが、*Str. mutans* Pk 1

Table 3 Localization of superoxide dismutase on polyacrylamide gel

Strain	Sp. act of SOD (U/mg of protein)	R _m				
		0-0.19	0.20 -0.39	0.40 -0.59	0.60 -0.79	0.80 -1.0
Obligate aerobes						
<i>N. subflava</i> N-1 ^{a)}	1.3				0.71	
Facultative anaerobes						
<i>E. coli</i> K 12*	6.5	0.07	0.38	0.51	0.72	
<i>Staph. aureus</i> 209 P*	22.7					0.97
Aerotolerant anaerobes						
<i>Str. mutans</i> Pk1	66.8					0.93, 0.98
<i>Str. mutans</i> Ingbritt	2.8					0.90
<i>Str. mutans</i> 1089	1.4					0.95
<i>Str. mutans</i> B 13	5.5					0.86
<i>Str. mutans</i> MT 703	6.1					0.88
<i>Str. mutans</i> OMZ 175	6.1					0.88
<i>Str. faecalis</i> ATCC 19433*	1.2					0.92
Obligate anaerobes						
<i>V. alcalescens</i> ATCC 17748	0.2				0.61	0.91
<i>Prop. acnes</i> ATCC 11827	1.6				0.65	

^{a)} Air shaking culture is described as *.

Table 4 Catalase activity in bacteria

Strain	Catalase activity (U/mg of protein)	
	Shaking in air.	Not shaking.
Obligate aerobes		
<i>M. luteus</i> NCTC 2665 ^{a)}	112	N.G. ^{b)}
<i>N. subflava</i> S-1	6.0	N.G.
<i>Ps. aeruginosa</i> S-2	405	N.G.
Facultative anaerobes		
<i>E. coli</i> K 12	0.2	N.D. ^{b)}
<i>Staph. aureus</i> 209 P	681	N.D.
Obligate anaerobes		
<i>V. alcalescens</i> ATCC 17748	38.1	102
<i>Prop. acnes</i> ATCC 11827	N.G.	10.0

^{a)} Culture medium for this strain is an enriched medium, M. broth.

^{b)} No growth is abbreviated as N.G..

^{c)} No detection is abbreviated as N.D..

は例外的に2本のバンドを有していることが認められた。既に報告した microaerophilic bacteria である *Campylobacter* 属の SOD³⁹⁾とは、大きく異ったアイソザイム構成を持つ点が注目される。

カタラーゼ活性

カタラーゼ活性は、本実験に使用した obligate

aerobes, facultative anaerobes の総ての細菌に存在することが認められた (Table 4)。

facultative anaerobes である *E. coli* K 12, および *Staph. aureus* 209 P について、それぞれの静置培養後に得られた洗滌菌体破碎抽出液は、共に定性的な検出によって発泡の存在が認められたが、定量法によっては検出されなかった。*E.*

coli K 12の好気振盪培養後の洗滌菌体の比活性は 0.2 U/mg of protein であった。一方, *Staph. aureus* 209 P の好気振盪培養後の洗滌菌体では, 比活性 680 U/mg of protein の値を示す菌体破碎抽出液が得られた。

酸素によるカタラーゼ活性の誘導効果は, facultative anaerobes において著明であった。

細菌による過酸化水素の発生

主に aerotolerant anaerobes について, 過酸化水素生成を調べた。その結果, *Str. pyogenes* IID 689, *L. acidophilus* ATCC 4356に生成が認められたのに対し, *Str. faecalis* ATCC 19433, *Str. mutans* BHT, *Str. mutans* 1089には生成が認められなかった。

これらの実験結果から, 以下の議論が可能である。すなわち, 従来の説によると, obligate anaerobes および facultative anaerobes では, 酸素存在下で細菌が増殖した場合, NADH, FAD などの作用により生体に有害なスーパーオキシド・アニオン ($O_2^{\cdot-}$) が生成する⁴⁰⁻⁴²⁾。次にスーパーオキシド・ディスムターゼ (SOD) の作用により, スーパーオキシド・アニオンから過酸化水素 (H_2O_2) が生成される^{43,44)}。過酸化水素は, さらにカタラーゼによって生体に無害な水 (H_2O) と酸素 (O_2) に分解される^{28,31)}。ゆえに, 細菌が酸素存在下で増殖するためには, 細菌はスーパーオキシド・ディスムターゼとカタラーゼを保有していなければならないと説明されている。²⁸⁾

しかし, 本実験の結果では, 口腔常在細菌の大多数を占める *Streptococcus*, *Lactobacillus* などの aerotolerant anaerobes は, カタラーゼを保有せず, SOD 活性の低いものもあった。また, これらの細菌は, 好氣的な条件下で強い NADH 酸化活性を示した。この実験結果は, 従来からの Fridovich²⁸⁾ の SOD 説だけでは説明できない。そのため, aerotolerant anaerobes が好氣的な条件下で増殖できる理由として, 細菌はカタラーゼの代りにペルオキシダーゼや NADH ペルオキシダーゼなどの NADH 酸化を起こす酵素を生成し, これによって蓄積した過酸化物を分解していることが考えられた。

結 語

1) スーパーオキシド・ディスムターゼ (SOD) の生成能は, 実験に使用した obligate aerobes, facultative anaerobes の総ての細菌と aerotolerant anaerobes の大部分の細菌において認められた。Obligate anaerobes では, *V. alcalescens* ATCC 17748, *Prop. acnes* ATCC 11827 に SOD 生成能が認められたが, *F. nucleatum* IID 891には認められなかった。

2) 酸素による SOD 生成能の誘導は, facultative anaerobes と aerotolerant anaerobes の一部, および *V. alcalescens* ATCC 17748に認められた。特に, *V. alcalescens* においては, 好気培養における比活性は 静置培養の比活性の 122 倍に達していた。

3) カタラーゼ (過酸化水素分解) 活性は, obligate aerobes, facultative anaerobes の総ての細菌に存在していた。aerotolerant anaerobes には, カタラーゼ活性は, まったく認められなかった。酸素によるカタラーゼ活性生成能の誘導は, facultative anaerobes において著明に認められた。

4) スーパーオキシド・ディスムターゼ (SOD) のアイソザイムは, *E. coli* K 12, *V. alcalescens* ATCC 17748, および *Campylobacter* 属においては, 複数に存在していた。aerotolerant anaerobes である *Str. mutans* Pk 1 では, Rm の近接した 2 種類のアイソザイムが認められたが, 本研究で用いた他の *Str. mutans* の菌株では, アイソザイムは認められなかった。

5) aerotolerant anaerobes では, 代謝の過程で過酸化物は, ペルオキシダーゼや NADH ペルオキシダーゼにより分解されており, カタラーゼによらないと推察された。

謝辞: 稿を終えるにあたり, 御指導と御校閲をいただきました北海道大学歯学部口腔細菌学講座, 鈴木武教授に心から感謝致します。

また, 御校閲と御鞭撻をいただきました北海道大学歯学部小児歯科学講座, 及川清教授, 予防歯科学講座, 谷宏教授に感謝致します。

抄録：前報では、酸素に対する増殖性より、口腔常在細菌を4群に区分できること、および各々の客観的判定法について述べた。今回は、各群に属する細菌28株を好気振盪培養、および静置培養し、各細菌より得られた酸化還元酵素の培地当りの生成量およびタンパク質当りの活性 (Sp. act) について比較した。

一般的に obligate aerobes ではカタラーゼ活性は強いが、全 NADH 酸化活性は弱く、スーパーオキシイド・ディスムターゼ (SOD) 活性は比較的中程度に持っていた。facultative anaerobes では、カタラーゼ活性は全 NADH 酸化活性と共に中程度であり、SOD 活性は強かった。aerotolerant anaerobes では、カタラーゼは生成しないが、NADH 酸化活性は最も強かった。SOD 活性は中程度であった。obligate anaerobes のうち、カタラーゼを持つ株は、静置培養でよくカタラーゼを生成した。また、*V. alcalescens* では、振盪培養の時、SOD を多量に生成した。

また、これらの細菌12株についてディスク電気泳動を行い、SOD 活性染色をした。*Str. mutans* Pk1, および *V. alcalescens* ATCC 17748 株では、2種類のアイソザイムが認められた。これらの結果から、aerotolerant anaerobes が好気的な条件でも増殖できる理由として、カタラーゼの代りにペルオキシダーゼや NADH ペルオキシダーゼを多量に生成し、これによって蓄積した過酸化物を分解していることが考えられた。

文 献

- Aranki, A., Syed, S. A., Kenney, E. B. and Freter, R.: Isolation of anaerobic bacteria from human gingiva and mouse cecum by means of a simplified glove box procedure. *Appl. Microbiol.* **17**: 568-576, 1969.
- Burnett, G. W., Scherp, H. W. and Schuster, G. S.: *Oral microbiology and infectious disease.*, 4th ed., pp. 76-80, Williams & Wilkins Company, Tronto, New York, 1976.
- 菊池裕子：口腔常在細菌の増殖性と酸化還元酵素について。I. 各種酸素濃度下における口腔常在細菌の増殖性。菌基礎誌 **27**: 1169-1177, 1985.
- Cowan, S. T.: *Manual for the identification of medical bacteria*, 2nd ed., Cambridge at the University Press, Cambridge, 1974.
- Washburn, M. R., White, J. C. and Niven, C. F. Jr.: *Streptococcus* S. B. E. Immunological characteristics. *J. Bacteriol.* **51**: 723-729, 1946.
- Krasse, B.: Human *Streptococci* and experimental caries in hamsters. *Arch. Oral Biol.* **11**: 429, 1966.
- 深津利雄, 日比栄子, 戸松功克, 伊豆 惇, 伊豆 康, 武井 盈: *Str. mutans* の検出, 一般性状, 核酸組成およびハムスター感染実験。愛院大歯誌 **9**: 24-31, 1971.
- Hamada, S. and Slade, H. D.: Purification and immunochemical characterization of type e polysaccharide antigen of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* **14**: 68-76, 1976.
- Gibbons, R. J., Berman, K. S., Koetherner, P. and Kapsimalis, B.: Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rate infected with capsuleforming *Streptococci* of human origin. *Arch. Oral Biol.* **11**: 549, 1966.
- Guggenheim, B.: *Streptococci* of dental plaques. *Caries Res.* **2**: 247, 1968.
- Edwardson, S.: Characteristics of caries inducing human *Streptococci* resembling *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.* **13**: 637, 1968.
- Whittenbury, R.: The differentiation of *Streptococcus faecalis* and *S. faecium*. *J. Gen. Microbiol.* **38**: 279, 1965.
- Sherman, J. M. and Niven, C. F. Jr. and Smiley, K. L.: *Streptococcus salivarius* and other non-hemolytic *Streptococci* of the human throat. *J. Bacteriol.* **45**: 249-263, 1943.
- Okamoto, H., Shoin, S. and Minami, M.: Experimental anti-cancer studies part XXX. Factors influencing the Streptolysin S forming ability of *Streptococci* having anti-cancer activity. *Japanese J. Exp. Med.* **36**: 161-174, 1966.
- Hansen, P. A. and Mocquot, G.: *Lactobacillus acidophilus* (Moro) comb. Nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **20**: 325-327, 1970.
- Rogasa, M.: The genus *Veillonella* IV. Serological groupings, and genus and species emendations. *J. Bacteriol.* **90**: 704-709, 1965.
- Moore, W. E. C. and Cato, E. P.: Validity of *Propionibacterium acnes* (gilchrist) douglas and gunter comb. nov. *J. Bacteriol.* **85**: 870-874, 1963.
- Knorri, M.: Über die fusispirillare symbiose, die Gattung *Fusobacterium* (K. B. Lehman) and *Spirillum sputigenum*, *Zbl. Bakt. I. Orig.* **87**: 536-545, 1922.

- 19) Lim, P. G. and Mateles, R. I. : Tryptophan and indole-excreting prototrophic mutant of *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 87 : 1051-1055, 1964.
- 20) Ginsberg, D. M. and Jagger, J. : Possible errors arising from the use of fritted-glass filters for bubbling of cell suspensions, especially in irradiation experiments. J. Bacteriol. 83 : 1361-1362, 1962.
- 21) Kladius, L. E., Zing, H. K. and Sutton, C. R. : Decarboxylation of neutral amino acids in *Proteus vulgaris*. J. Gen. Microbiol. 17 : 602-119, 1957.
- 22) Kauffman, F. and Edwards, P. R. : Classification and nomenclature of *Enterobacteriaceae*. Int. Bull. Bact. Nomencl. Taxon 2 : 2, 1952.
- 23) Fleming, A. : On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc. R. Soc. Lond [Biol] 93 : 306, 1922.
- 24) Locur, M., Pacova, Z. and Martinec, T. : Taxonomic status of *Micrococcus luteus* (Schroeter 1872) Cohn 1872, and designation of the neotype strain. Int. J. Syst. Bacteriol. 22 : 218-227, 1972.
- 25) Dolin, M. I. : The *Streptococcus faecalis* oxidases for reduced diphosphopyridine nucleotide. III. Isolation and properties of a flavin peroxide for reduced diphosphopyridine nucleotide. J. Biol. Chem. 225 : 557-567, 1957.
- 26) Uesugi, I. and Yajima, M. : Oxygen and strictly anaerobic intestinal bacteria. II. Oxygen metabolism in strictly anaerobic bacteria. Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie 18 : 593-601, 1978.
- 27) Mizushima, S. and Kitahara, K. : Purification and properties of DPNH peroxidase in *Lactobacillus casei*. J. Gen. Appl. Microbiol. 8 : 56-62, 1962.
- 28) McCord, J. M., Keel, B. B. Jr. and Fridovich, I. : An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: The physiological function of superoxide dismutase. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 68 : 1024-1027, 1971.
- 29) Davis, B. J. and Ornstein, L. : Disc electrophoresis. I. Background and theory. Ann. NY. Acad. Sci. 121 : 321-424, 1964.
- 30) Beauchamp, C. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase; Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Chem. 44 : 276-287, 1971.
- 31) von Euler, H. and Josephson, K. : Activity of horse-liver catalase. Ann. 452 : 158-165, 1927.
- 32) Beers, R. F. and Sizer, I. W. : A spectrophotometric method for measuring breakdown of hydrogen peroxide by catalase. J. Biol. Chem. 220 : 133-140, 1951.
- 33) A-Whatman International Company : pH indicator and test papers., Whatman publication 8251P : Whatman Ltd., Springfield Mill, Maidstone, Kent, ME14 2LE England, 1985.
- 34) Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. and Randal, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265-275, 1951.
- 35) Buchanan, R. E. and Gibbons, N. E. : Bergey's Manual of Determinating Bacteriology. pp. 490-592, The Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1974.
- 36) 小酒井望, 鈴木祥一郎編 : 嫌気性菌と嫌気性菌症, pp. 93-94, 医学書院, 1968.
- 37) Cowan, S. T. : Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, pp. 105-113, Cambridge University Press, 1974.
- 38) 熱海智子, 上羽隆夫 : 嫌気性菌 *Veillonella alcalescens* の増殖における酸素の影響. 齒基礎誌 26(補再) : 387, 1984.
- 39) Kikuchi, H. E. and Suzuki, T. : An electrophoretic analysis of superoxide dismutase in *Campylobacter* spp. J. Gen. Microbiol. 130 : 2791-2796, 1984.
- 40) Gottshalk, G. : Bacterial Metabolism, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1979.
- 41) Britton, L., Malinowski, D.P. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase oxygen metabolism in *Streptococcus faecalis* and comparisons with other organisms. J. Bacteriol. 134 : 229-236, 1978.
- 42) Carlsson, J., Iwami, Y. and Yamada, T. : Hydrogen peroxide excretion by oral *Streptococci* and effect of lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen-peroxide. Infect. Immun. 40 : 70-80, 1983.
- 43) Brock, T. D. : Biology of Micro-organisms, 2nd ed., 313-318, Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, Newjersey, 1974.
- 44) 浅田浩二 : 植物酵素・蛋白質研究法, スーパーオキシド・ディスムターゼ. (蛋白・核酸・酵素編), pp. 373-378, 共立出版, 東京, 1976.