

## 腸チフス菌 S, R 型変異に関する研究

## 第三編

## 腸チフス菌の S 型→R 型解離に及ぼす核酸の影響

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村上栄教授)

広瀬 温

〔昭和 31 年 10 月 7 日受稿〕

## 緒言

細菌を人工培地で継代保存する場合に次第に R 型変異を起して弱毒化する事は周知の事実である。此の R 型化阻止の為に第一編の諸言に述べた如く従来多くの研究が行われて来ているが未だ確実に有効な方法はない様に思われる。著者は第一編及び第二編に於て腸チフス菌々体より抽出した核酸その他の物質が同菌の R 型→S 型変異にかなり著明な影響を及ぼすことを明にした。而して核酸の如き容易に抽出し得る物質で、而も微量で S 型→R 型変異を阻止する事が出来るならば細菌保存上極めて意義の大きい事が考えられる。そこで著者は本編に於て Sal. 57 S 及び新しく分離した中川株から抽出した核酸を培地に添加し、Sal. 57 S 及び 58 S を継代して S 型菌から解離する R 型菌の出現率を対照のそれと比較し核酸の S 型→R 型解離に及ぼす影響を追求した。ここにその成績を報告し大方諸賢の

御批判を乞う次第である。

## 第一章 実験材料及び方法

供試菌としては Sal. 57 S 及び 58 S の二株を使用し、核酸は Sal. 57 S 及び中川株から抽出したものをを用いた。抽出方法は第一編に記載した通りである。此の核酸を培地に 10 $\gamma$ /cc の割に添加した。

各菌の継代には次の二法を用いた。

普通の種継ぎ様式で即ち核酸を添加した高層寒天に穿刺培養を行い、20 日間隔で 10 代継代し、此の継代は元の穿刺線に沿つて穿刺する事によつて次代に移殖した。その間継代のつど平板培養 (核酸を含まず) を行つて集落を観察し、S 型及び R 型の出現率を検べた。

核酸を添加した培地に平板培養を行い 3 日間隔で 20 代継代して同様に S 型及び R 型の出現率を検べた。尚継代の時 S 型集落 5 個から釣菌し混和した後次代に培養した。

第 1 表 核酸添加高層寒天継代培養成績

抽出菌別核酸	培養菌株	継代数									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sal. 57 S	Sal. 57 S	1.3	0.8	0.1	0	0	0.1	0.1	0	0	0
	58 S	1.5	0.5	0.2	0.1	0.1	0	0	0	0	0
中川株	" 57 S	0.5	0.9	1.0	0.5	0.1	0.7	0	0	0	0
	58 S	1.0	0.7	0.3	0.1	0	0	0	0	0	0
対照	" 57 S	2.5	6.2	2.8	1.7	4.1	2.3	5.3	2.5	6.0	3.1
	58 S	3.0	3.5	2.0	4.3	1.8	2.5	1.3	1.7	3.5	3.4

註…数字は R/S を % で表わしたものである。

## 第二章 実験成績

## 1. 核酸添加高層寒天培地穿刺による継代培養成績

実験成績は表1に示す如く対照に比較すると第1代に於て既に R/S の%はかなり低くなっているが, Sal. 57S から抽出した核酸でみると Sal. 57S は 8 代から, 又 58S は 6 代から R 型菌の出現はなくなり, 中川株か

らの核酸では夫々 7 代及び 5 代から R 型菌の出現は認められなくなっている。

2. 核酸添加平板寒天培地による継代成績。実験成績は表 2 に示す如く, 対照に比し R/S の%はやはり第 1 代から著明に減じ抽出菌別にみると Sal. 57S からの核酸では Sal. 57S は 5 代迄, 58S は 3 代迄, 又中川株からのものでは夫々 6 代及び 3 代迄しか R 型菌の出現はなく以後は全く S 型菌のみになっている。

第 2 表 核酸添加平板継代培養成績

抽出菌別 粗核酸	培養菌株	継 代 数																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Sal. 57S	Sal. 57S	1.5	0.5	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	58S	1.7	0.9	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
中川株 S	57S	2.0	0.3	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	58S	1.0	1.5	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
対 照	57S	3.5	2.1	1.0	2.6	0.5	0.2	0.1	0.3	0.1	0.2	0	0	0.1	0.1	0.1	0	0	0.2	0.3	0.1
	58S	4.2	3.2	1.5	1.1	1.0	0.7	0.5	0.1	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0	0.2	0.1	0

註…数字は R/S を%で表わしたものである。

## 第三章 総 括

以上著者は腸チフス菌から抽出した核酸の微量を培地に添加する事により同菌 S 型を継代培養しても長期間, 即ち実験 1 では 200 日間, 又実験 2 に於ても 60 日間, 同菌からの R 型解離を阻止し得たのみでなく, 返つて S 型菌のみの出現をみる様になつた。細菌保存上 S 型→R 型解離は実に多くの研究者を苦しめて来た問題であり, 腸チフス菌に関してはその R 型化を防ぐ為培地に消毒薬<sup>5)</sup>を添加したり, 或は培地の pH, 肉汁, 更には寒天濃度の影響を追究せるもの<sup>2)13)14)16)</sup>等色々の研究発表が行われて来た。著者は腸チフス菌々体より容易に抽出し得る核酸の微量 (10 $\gamma$ /cc) を培地に添加する事により Sal. 57S 及び 58S の長期保存培養上その R 型化阻止に極めて有効である事を知つた。この事は今後の細菌

研究上非常に意義ある事と信ずる。

## 結 語

Sal. 57S 及び中川株から抽出した核酸の微量 (10 $\gamma$ /cc) を培地に添加し Sal. 57S 及び 58S を継代培養して次の結果を得た。

1. 核酸添加高層寒天培地に両菌を 20 日間隔で継代培養し 10 代迄観察したが両菌共 4~6 代以後は R 型菌の出現はなく S 型菌のみとなつた。

2. 核酸添加平板培地に 3 日間隔で両菌を継代培養し 20 代迄観察したが両菌共 3~6 代以後は R 型菌の出現は完全に見られなくなつた。

稿を終るに臨み恩師村上栄教授の終始御懇篤なる御指導並に御校閲を深謝する。

## 参 考 文 献

- 1) Arkwright : J. Path. and Bact. **24**, 36 (1921)
- 2) 永見 . 衛生学伝染病学雑誌, **22**, 5 (1927)
- 3) 永見 . 医事新聞, 1249 (1929)
- 4) 田原 . 日本微生物学会雑誌, **21**, 10 (1927)
- 5) 杉野 : 細菌学雑誌, 400 (1932)
- 6) 杉野 : 熊本医学会雑誌, **7**, 9 (1932)
- 7) 佐藤 : 愛知医学会雑誌, **39**, 12 (1932)
- 8) 赤須 : 衛生学伝染病学雑誌, **22**, 9-10 (1933)
- 9) 早川 : 実験医学雑誌, **19**, 4 (1935)
- 10) 黒屋 : 細菌学雑誌, 473 (1935)
- 11) 鈴木 . 台湾医学会雑誌, **34**, 9 (1935)
- 12) 豊住 : 台湾医学会雑誌, **35**, 7 (1936)
- 13) Koser and Styron . J. inf. Dis. **47**, 443, 453 (1930)
- 14) Dienst . J. Bact. **26**, 489 (1933)
- 15) 栃木 : 実験医学雑誌, **27**, 54 (1943)
- 16) 染谷 : 衛生学伝染病学雑誌, **27**, 423 (1931)
- 17) Leuchs u. Plochmann: Zbt, Bakt, **104**, 349 (1927)
- 18) Braun u. Bake : Zbt. Bakt. **116**, 462 (1930)
- 19) 小林他 : 細菌学雑誌, **419**, 1 (1931)
- 20) 日下 : 大阪医事新誌, **7**, 662 (1936)
- 21) 進藤 : 第10回聯合微生物学会記録 (1936)
- 22) 福見, 佐藤他 . 実験医学, **23**, 1717 (1940)
- 23) 大久保 : 細菌学雑誌, 406 (1929)
- 24) 奥山 : 日本伝染病学雑誌, **6**, 668 (1932)
- 25) 佐々木, 長野 : 児科雑誌, **353**, 1755 (1929)
- 26) Roelcke u. Bertain . Ztschr. Hyg. **122**, 295 (1940)
- 27) 太田, 福田 : 長崎医学会雑誌, **19**, 585 (1941)
- 28) Avery and Macleod etc. : J. Exp. Med. **79**, 137 (1944)
- 29) McCarty, M. : J. Clin. Inv. **23**, 942 (1944)
- 30) McCarty, M. and Avery, O.T. . J. Exp. Med. **83**, 2 (1946)
- 31) McCarty, M. . J. Gen. Physiol. **29**, 123 (1946)
- 32) 米村, 飯塚 : 日新医学, **39**, 11 (1952)
- 33) 伊藤, 岡見他 : J. Jap. Med. **1**, 3 (1948)
- 34) 添田 : 医学通信, **416**, 4 (1954)
- 35) 佐藤, 氷室 : 日本細菌学雑誌, **8**, 8 (1953)
- 36) 大林 : 日本医科大学雑誌, **20**, 3 (1953)
- 37) 田中 : 慶応医学, **29**, 4 (1952)
- 38) 南本, 市川 : 日本細菌学雑誌, **8**, 特別号 (1953)
- 39) Avery, O.T. and Heiderberger, M. : J. Exp. Med. **38**, 81 (1923)
- 40) Boivin, A. et Meserobeann, L. : Rev. d'Immunol. **1**, 553 (1935)
- 41) 林 : 医学と生物学, **27**, 6 (1953)
- 42) 林, 西村 : 最新医学, **9**, 6 (1954)
- 43) 林, 西村他 . 最新医学, **9**, 6 (1954)
- 44) 林, 西村, 上田他 . 最新医学, **9**, 7 (1954)
- 45) 林, 牧野 : 最新医学, **9**, 7 (1954)
- 46) 市川, 片田他 : 水曜会記事, **3**, 4 (1952)
- 47) 原田 : 医学と生物学, **29**, 3 (1953)
- 48) Chan-Bronner, C. E. : Zent. Bact. Orig. **86**, 196 (1921)
- 49) Johnson and Rettger. . J. Bact. **43**, 103 (1942)
- 50) 鷹取 : 日本細菌学雑誌, **7**, 3 (1952)
- 51) 平野, 本田 . 医学と生物学, **24**, 5 (1952)
- 52) 富田 : 齒科医学, **15**, 1 (1952)
- 53) 片桐 : 日本医学雑誌, **12**, 7 (1953)
- 54) 新沢 . 日本細菌学雑誌, **9**, 2 (1954)
- 55) Sevag, M.G. : Biochem. Z. **273**, 419 (1934)
- 56) Sevag, M.G. and Smolen, J. . J. of Biol. Chem. Vol. **140**, 833 (1941)
- 57) Sevag, M.G., Lackmann, D.B. and Smolen, J. . J. of Biol. Chem. Vol. **124**, 425 (1938)
- 58) Chargaff and Zamenhof . J. of Biol. Chem. Vol. **173**, 327 (1948)
- 59) 田口 . 第61回岡山医学会総会 (1941)
- 60) 金久 : 岡山医学会雑誌, **65**巻, 11号 (1953)
- 61) Juilianelle und Wieghard : J. of exp. Med. Bd. **62**, (1935)
- 62) 細谷 : 東京医事新誌, 3083号 (1938)
- 63) 三島 : 未発表.
- 64) Stephenson and Yudkin . Biochem. J. **30**, 506 (1936)
- 65) Stephenson, Yudkin and Cole : Biochem. J. **31**, 1311 (1937)
- 66) Spiegelmann : J. Gener. Physiol. **31**, 27 (1947)
- 67) 須田 . 自然, Vol. **5**, No. 6, 32 (1950)
- 68) 須田 : 自然, Vol. **6**, No. 7, 18 (1950)
- 69) 須田 . 酵素化学シンポジウム, 第3集, 52

- (1950)
- 70) 尾田, 竹田: 生化学, 22, 256 (1950)
- 71) 田口: 第462回岡山医学会例会 (1949)
- 72) 田口: 第3回日本細菌学会中四国総会 (1949)
- 73) 金久: 岡山医学会雑誌, 63巻, 236 (1951)
- 74) Neufeld and Levinthal: Z. Immunitätsforsch., 1928, 55, 324.
- 75) Dawson and Sia: J. Exp. Med., 1931, 54, 681.

---

Department of Bacteriology, Okayama University Medical School

STUDIES ON THE VARIATION OF R→S TYPE OF  
SALMONELLA TYPHI

Report 3

By

Atsushi Hirose

Studies on the effect of unrefined Nucleic acid causing the variation of Typhoid bacillus turning to the rough type from the smooth type.

In order to study such variation, subculture was made of Salmonellas 57 S and 58 S on nutrient agars adding the unrefined Nucleic acid at the rate of 107/cc. The following is the brief summary of the results.

1) Culturing them on agar deeps every 20 days, the appearance of the rough type of Salmonellas 57 S and 58 S were seen till 7th and 5th culture on these media adding unrefined Nucleic acid extracted from Salmonella 57 S, and then on the agar deeps adding the one extracted from Salmonella typhi Nakagawai the appearance of the rough type of Salmonellas 57 S and 58 S were seen till 6th and 4th culture, and after that the rough type was not seen at all.

2) Culturing them on agar plates every 3 days, the appearance of the rough type of Salmonellas 57 S and 58 S were seen till 5th and 3rd culture on these media adding unrefined Nucleic acid extracted from Salmonella 57 S, and then on the media adding the one extracted from Salmonella typhi Nakagawai the appearance of the rough type of Salmonellas 57 S and 58 S were seen till 6th and 3rd culture, and after that the rough type was not seen at all.

---