

# 大腸菌ファージの実験的研究

## 第二編

### 血球核及び核様物に依る大腸菌ファージの増殖について

岡山大学医学部衛生学教室（主任 緒方教授）

専攻生 佐々木 峻

〔昭和29年4月8日受稿〕

## 目次

第1章 緒論及び文献の概要	菌斑計測
第2章 実験材料	第8項 家鶏の 56°C 一時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測
第1項 宿主細菌	第9項 家鶏の 60°C 一時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測
第2項 大腸菌ファージの分離及び純培養	第10項 家鶏の 80°C 一時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測
第3項 有核赤血球	第11項 家鶏の 100°C 一時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測
第4項 血球の核分離	第12項 家鶏の 120°C 一時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測
第5項 核及び核様物中に於ける核酸の存在	第13項 家鶏の血球核及び核様物に蒸溜水を加え 50°C 3日間重湯煎上にて加熱して添加せる大腸菌ファージの溶菌斑計測
第6項 細胞質に於けるミトコンドリアの存在	第14項 第四表シャーレ番号3のファージ稀釈液に家鶏の血球核及び核様物を添加せる大腸菌ファージの溶菌斑計測
第7項 核中に於ける核蛋白	第15項 家鶏血球核及び核様物の熱に対する態度
第3章 実験方法	第5章 考察
第1項 Schiff試薬の調整法とDNA核酸	バクテリオファージの生活環
第2項 大腸菌ファージの力価測定	第1項 吸着及び侵入
第4章 実験成績	第2項 増殖
第1項 大腸菌ファージの溶菌斑計測	第3項 溶菌現象
第2項 大腸菌濾液添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測	第6章 結論
第3項 大腸菌家兎免疫抗血清添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測	
第4項 第5項以降の実験の対照となる大腸菌ファージの溶菌斑計測	
第5項 家鶏の未処置の血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測	
第6項 亀の未処置の血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測	
第7項 家鶏の血球核及び核様物の濾液添加による大腸菌ファージの溶	

## 第1章 緒論及び文献の概要

1915年 Twort, 1917年 d'. Herelle<sup>1)</sup> によつて発見されたバクテリオファージは生細菌に感染してこれを死に至らしめ、それに依つて増殖を営む。

ウィールス粒子1箇の大きさは直径で $10^{-5}$  cm 以下、質量にして $10^{-16}$  g と云う微細なものであるから、その少数のものが只散在的に存在している丈では、たとえそれが特殊の生理的活性を持つていようと、恐らくそれ丈ではその作用は見逃されてしまつたであろうし、仮に電子顕微鏡の強力な郭大力がその像を捕え得たにしてもそのもの持つ意味を我々は理解する事が出来なかつたであろう。

然し今日に於ては電子顕微鏡の発達に依つてウィールスの活動力の増大は我々がはつきりとウィールス粒子と定義する特異性物質粒子の増殖である事を疑う余地はない。

この類推が正しかつた事は決定的に証明された。之を以てウィールス学の転換期であると説く論も敢えて過言ではないのである<sup>2)</sup>。

この類推にも拘らずウィールスの増殖のためには、生細胞の存在が必要である事実は宿主とは切り離された培養基上の病原細菌の純粋培養と云う事を金科玉条とする細菌学の方法から見ると両者の間に重大な溝を置くものである。然し一方から云えば、動植物学に幾多の実例を見出し得る寄生現象の類推を以てすれば寄生体はその生活環、特に自己再生の時期に於て特定の宿主の体内環境を必要とする事から見れば、増殖と云つても支障ないであろう。増殖とは単数であつた個体が結果として複数になると云う事である。一般に生物、特にその構成要素である細胞の増殖に當つては自体の成長と分裂との反復が行われる。

之を自己再生 (self-reproduction) と名付ける。

之に反して一つの母型がモデルとして与えられる事に依つて同じ形に成形されたものゝ多数が自体の成長、分裂によつてではなくて作り出されると云う増殖の場合がある。

結果は同じであつても、之は複製 (Replication) と呼ばれる可きであり、生殖は自体によつては行われぬ<sup>3)</sup>。

守山英雄はウィールスとは生きた原形質蛋白に働き、ある蛋白の一部分の分子に起きた変化はそれに隣接する他の分子に伝わり同様な変化が伝播性に行われる原形質蛋白の変性素と云う名称を提唱している<sup>4)</sup>。

ファージの増殖はファージが細菌に感染し、やがて菌体が崩壊して新生ファージが放出される迄の期間、即ち潜伏期に於て行われる。ウィールスが生細胞内で如何にして増殖するかは現在ウィールス学が解決す可き重要な課題であるが、依然として残された謎である。ウィールスの増殖のウィールス病学的輪廻を考える上には之に先だつ感染の成立と云う重要な段階を軽視する事は出来ない。

正常細胞へのウィールスの感染と云う点に於ては、電子顕微鏡が既に明瞭に捕えているウィールス粒子が完体として行動するものである事は云うまでもない。否むしろあのおたまじやくしの様な形態学的特徴は決定因子である DNA の担体として、又宿主細菌への附着と DNA をその内部へ送りこむための必要な部分をなしているものであるかも知れない。最近の遺伝学の生化学的進歩は遺伝子の決定する型の保存に際して核酸分子のつとめる自己形成の能力と云う問題に正面から立ち向う事になつた。核酸分子の大きさ複雑さに対しては有機化学が未だ力及ぼさざる感であるが、ともかく原子の集合から成る物質の単位粒子を研究の対象とする立場に於ては原子が増殖すると云う事が全くあり得ない以上、もはや自己再生と云う様な生物学的な対象の取扱方は存続し得ない事は云うまでもない。

特異性単位粒子の増殖とは既構成原子の並び替えか、而らざれば外部から集められる原子の新しい整列に依つて成就され、自己形成は特異性範型 (Pattern) の保存と云う形によつてなされる。

そしてこの特異の能力が核酸特に DNA の自己触媒的性格によるものであると解釈され

なければならぬ。

細胞内に於けるウィールスの増殖に於ては細胞固有の DNA とウィールスの DNA との間の酷似か、或は両者の競合が細胞の正常代謝系の切替を起すものであり、溶原株に於ては一時的に正常系との共存があるものと考えなければならぬ<sup>6)</sup>。フェージの増殖には培地中に酸化され易い物質の存在を必要とし、緩衝液中では増殖は見られない。

又寄主細菌の呼吸作用を阻止する事に依つてフェージの増殖は停止する。フェージの増殖に促進的効果をもたらす物質として挙げられるものは酵母の核酸、アデノシンモノリン酸、数種のアミノ酸、グルコース-6 リン酸、フォスフォグリセリン酸、等で抑制的物質としては 5 メチルトリプトファン、マスタードガス、メチオニンスルフォキシド、グラミチン、シアン化物、弗化物、ヨード醋酸、プロフラビン、スルファチアゾール、ストレプトマイシン等が数えられる。

私は先に大腸菌フェージの純化にペーパークロマトグラフを用いたが、此の度はフェージの増殖を高度にするため、宿主細菌の家兎免疫抗血清並びに宿主細菌濾液及び鶏並びに亀の血球核及び核様物を用い溶菌現象を試み興味ある成績を得たので報告し大方の御批判を仰ぎ度いと思う。

## 第2章 実験材料

### 第1項 宿主細菌

Kauffmann-Knipfischild-Vahlne の抗元構として No. 5 に相当する Coli-Strains を使用した。

### 第2項 大腸菌フェージの分離及純培養

鶏の糞便 10 gr. を 20 c.c. の水によく溶解し濾紙で濾過し、斯くして得た濾液を 60°C 30 分加熱殺菌しブイオンを同量加えた後、対応菌として Coli Strains を大量うえつけて 37°C で1夜培養する。翌日その1部をとり再び 60°C 30 分加熱して対応菌と共に培養する。この操作を更に 2~3 回繰り返せば雑菌は略完全に除去されると共にフェージが著し

く増殖して来る。

Seitz 濾過器で濾過し、その濾液を寒天重層法に依り Plaques Count を行いフェージの分離されたるを確認し独立した溶菌斑を白金耳でひつかけて対応菌と共にブイオン中に培養する事を数回繰返せばフェージの純培養液を得る事が出来る。この液を更に 60°C 30 分間加熱殺菌して 3000 回 30 分間遠心して菌体を沈澱させた上清液を seitz 濾過器で濾過した濾液をフェージ液として保存する<sup>6)</sup>。

このフェージ液を P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> と称す。

その力価は夫々 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-3</sup> であつた。

### 第3項 有核赤血球

有核赤血球としては主に家鶏赤血球を選び必要に応じ兩棲類の亀赤血球を使用した。

各種動物の中ラクダとラマを除く哺乳動物以外は悉く有核楕円形赤血球にして中央の核附近が凸形に突出一方が尖つた柳葉状、双方尖つた紡錘状のものもある<sup>7)</sup>。

### 第4項 血球核の分離

血球の核を分離する方法<sup>8)</sup>は生化学者の種々企てし所である。或る学者は血球を氷結して基質を破壊した上核を分離せんと試み、又或る学者は種々の稀塩酸ペプトン液中に浮遊せしめ、之を 37°C のふらん器中にて他を消化せしめて核を蒐集せんとし、又或る者はアルカリを種々なる割合の%に蒸溜水に溶解しアルカリと蒸溜水との共同作用に依り核の純粹なものを得ようと試みた。

又 Plosz は水及びエーテルを用いて核を集め之に附着せる血色素及び皮膜、其の他の部分を稀塩酸アルコール並びにエーテルを用いて分離し得べしと云い Plenge は分液漏斗の1箇或は2箇を用いて、この内に 3.0% の食塩水と血球を入れ攪拌する事数回行いたる後、アルコール及びエーテルを以て処置すれば得べしと報じている。又内藤<sup>9)</sup>は血球に 3 乃至 11 倍量の蒸溜水を加えよく振盪混和し原形質が蒸溜水によりて破壊せられ白色の核が一樣に浮遊するや、速に之に大量の生理食塩水を加えて軽く遠心沈澱し、上清を捨て更に数回遠心沈澱洗滌して純白な沈澱を得ると

報じている。

私は鶏及び亀の血液 2 c.c. をビーカー内に取りガラス玉にて脱繊維し、繊維素と血清を充分除きたる残余の血液成分に生理食塩水を加え、遠心沈澱数回にして殆んど血清の存在せざる血球浮游液を得た。最後の沈渣に 5 倍量の蒸溜水を加え、良く振盪混和し以下内藤の如く処置して得た純白なる沈渣を生理食塩水 5 c.c. に溶解し、完全に溶解せる溶液のみを実験に供した。之をギムザ染色するに濃染せる核及び周囲に淡染せる小円形粒子を証明す。

以下之を核及び核様物と称す。

核様物とは天野<sup>10)</sup>の云う核が抛出して失われて了うのでなく核基質の上に結合した好塩基性物質としての核酸乃至は核蛋白が遊離する意味での融解に基く好酸性蛋白より成る核残物の意味である。

#### 第5項 核及び核様物中に於ける核酸の存在。

江上<sup>11)</sup>等は核酸について次の如く記載している。即 1869 年 Miescher が始めて核酸と核蛋白を発見し 1871 年以来核酸は次第に多くの生物材料から抽出される様になり幾人かの化学者達の手に依つてその化学的性状も次第に明になった。核酸には窒素を含んだ塩基性の環状化合物とある種の糖と無機の磷酸がある事が分つた。吾々は現在栄養素として丈ではなく、生体を構成する有機物質としては、蛋白質、脂肪、炭水化物及び核酸の 4 つを主要グループとして数えあげねばならない。

核酸には細胞核に主として存在するデソキシペントースを持つた核酸 DNA と細胞基質に存在するペントースを持つた核酸 RNA がある。Caspersson らの研究によると細胞の基質にペントース核酸がたくさんある時は細胞の蛋白質合成活動は非常に活潑であると云う興味深い事実が明らかにされた。

こうして細胞質での蛋白質合成にはペントース型核酸が、核の遺伝子の蛋白質合成にはデソキシペントース核酸が主要な役割をする事が主張される様になつた。

斯くしてすべての自己増殖系には核酸が存在すると云う主張が生まれた。そこでこゝに核酸-蛋白質合成-自己増殖系-細胞の増殖と云う一貫した連絡がはつきりした。

#### 第6項 細胞質に於けるミトコンドリアの存在。

細胞質<sup>12)</sup>の中にも核酸と同じ様に生物学的意義を持つている幾つかの物質が存在する。それはミトコンドリア、ゴルジ装置、クロミディア、エルガストプラスム、及び色素体等である。ミトコンドリアを始めて観察したのは Altmann (1880~1890) だと云われている。

1930 年頃ミトコンドリアはリポイドと蛋白から成る事、及び細胞の酸素呼吸と深い関係がある様に信ぜられていた。結局ミトコンドリアは呼吸と蛋白合成の中心であると云う事、又ミトコンドリアの中で酵素である所の蛋白がリポイドに依つて固く結ばれている事が分つた。

ミトコンドリアも染色体も最近の研究では両者共細胞質内に於ける RNA の担い手であると云う点に於て共通性がある。

要するにミトコンドリアは 1940 年以来始めは等滲透圧の生理食塩水中で組織をすりつぶして遠心沈澱 (2000 回 30 分) に依つて不純な顆粒を得た。この顆粒は形態的にミトコンドリアと認定さる可き厳格な資格を持ち合わせていなかったが、ともかくチトクロム (血色素と同様に酸素と結合する組織酸化酵素) a, 及び b, チトクロム酸酵素, DOPA 酸化酵素, ATP<sup>13)</sup> (アデノシン三磷酸塩はアデニル酸に更に、2 箇の磷酸が結合した形のものでその結合の部分に高いエネルギーを含んでいる、いわば脂肪や、炭水化物、アミノ酸などの分解によつて生ずる自由エネルギーの「ためおき」の役割をする物質である。即ち之等の物質の分解と ATP 合成反応「アデニル酸に磷酸を付け加える作用」とが組み合わせられて化学エネルギーが熱エネルギーを仲介とする事なしに、うまくうけわたされるのである。核酸の合成にもこの様な形で ATP

が関係していると考えられる). 脱水酵素, 脂肪酸化酵素, アミノ酸化酵素等々の活性を多かれ少かれ持つている事が明になり, この結果は大型顆粒が不純なものであつても重大な意義を持つている. 尚江上は「核酸及び核蛋白質」にミトコンドリアが RNA を含んでいる事を報告している.

只ミトコンドリアが小さいもの程核酸含量の割合が大きくなつている.

Swanson and Arton (1950) に依ればミトコンドリア中には磷脂質 75%, コレステロール 4.4%, 中性脂肪其の他の脂肪 17% の割合に脂質を含んでいる. Kielly and Kielly (1951) は単離したミトコンドリアの ATP 分解酵素活性は単離後時間が経つにつれて増大すると報告した.

#### 第7項 核中に於ける核蛋白

江上<sup>(4)</sup>等は核中に於ける核蛋白について次の如く論じている. 即ち核に含まれている核酸の主要成分は DNA であるが, その外に RNA も含まれている. 核の成分として長い間プロタミン, 或はヒストンと呼ばれる塩基性蛋白が知られていた. 之等は何れも塩基性アミノ酸に富み, ことにプロタミンでは, そのアミノ酸の大部分がアルギニンである事が多い. 動物の核から DNA はプロタミン, 或はヒストンと塩類様に結合した形として, つまり核酸の酸性基が之等の蛋白の塩基性基と静電的に結合した形で抽出される.

又核にはプロタミンやヒストンの外にもつと複雑な水に溶解難い高分子の蛋白がある事が示された. この蛋白はかなり大量のトリプトファンを含む点でプロタミンやヒストンと区別される. Stedman はこの様な性質を持った蛋白を精子や多くの体細胞の核から分離して, クロモソミンと名付けた. 一方 Mirsky と Ris は多くの動物組織或は予め分離した核から静止核の染色体と考えられる様な形態を持つたヒモ状のものを分離してその中心軸にトリプトファンを含む蛋白質がある事を示した

核の酵素活性のうちしばしば仮定されてい

た色々のフォスフォターゼ活性は ATP フォスフォターゼを含めて非常に低い事, 只ヌクレオシドの代謝に関連のある, グアナーゼ, アデノシンデアミナーゼ, ヌクレオシドフォスフォリラーゼなどが特に核に多い事から核では核酸ないしヌクレオチド系の呼吸酵素の代謝が盛な事を予想している.

核それ自体は ATP のエネルギーを殆んど利用出来ない様にも見えるが, 之は然し, 細胞質に於ける酸化的燐酸結合に対して何の影響も持つていない事を意味するものだと云う事にはならない. 只此迄に知られた所では核に呼吸酵素が豊富に含まれていると云う証拠はないと云う事を注意して置かねばならないと云つている.

### 第3章 実験方法

#### 第1項 Schiff 試薬の調製法と DNA

天野は新鮮な孵化卵血液の写真に依つて生活細胞の核内の構造を観察し生活細胞の核は無構造であると云う Lepeschkin 等の考は賛成出来ず, 核膜面に或程度の核酸の濃化が行われている外に核内部にも数箇の濃化部の存在を認めている. 又紫外線顕微鏡によつて色素並びに胞体内好塩基性物質(天野の胞体核酸 RNA) 核質の三者が赤血球内紫外線吸収性物質であるが *urerythroblast* 乃至は *proerythroblast* の名で呼ばれる細胞の好塩基性はこの胞体核酸の存在によるものであり, 此の豊富な胞体核酸の存在は核自体の核酸による紫外線吸収能と全く匹敵するか, 或はそれを凌ぐ程の性質を示し, 単に紫外線顕微鏡所見よりすれば両者の核酸がカオスの如く原形質内に遍満せるかの観を与える. 尤も核内の核酸は胸腺核酸で Feulgen の核反応陽性であるが, 胞体内核酸は恐らく酵母核酸形式のものを主とし Feulgen 反応陰性と云う点で相違しているが, 細胞分裂の旺盛な此等細胞内で両者が別々に合成せられる筈はなく, 酵母核酸は核中に移つて胸腺核酸形式に変じ核の構成分となるものと推測している. 即核内核酸が核中から拡散し来つて胞体核酸の態

度に参加する事は否定出来ないとしても矢張り主なる要素は胞体核酸に負うものとせられなければならない。

天野は血球の好塩基性を支配する核酸の存在を Feulgen 反応に依り略指適し得るが Feulgen 反応陽性に現われるものは核のみでなく其の他にもあり要するに好塩基性組織部位の一部分が核酸反応を早するに過ぎないと注意している

Schiff<sup>16)</sup> 試薬調製については Coleman 氏法, Stowell 氏法, Lillie 氏法, Lillie 氏別法, 市川, 小倉氏法等がある。

Coleman 氏法とは塩基性フクシン 1 gr を沸水 200 c.c. に溶して濾過する。その後冷却させ異性重亜硫酸カリ ( $K_2S_2O_5$ ) 2 g 及び 1 N 塩酸 10 c.c. を加える。24 時間放置して脱色させる。その後活性炭 0.5 gr を加えて約 1 分間振盪する。濾紙で濾過すると濾液は無色透明となる。

市川<sup>19)</sup> は DNA は RNA と違って酸による加水分解に依つてそのプリンを遊離させ、チミン酸ポリヌクレオチドとなりデオキシリボースのアルデヒドが露出する。従つて DNA を薄い塩酸で加水分解して亜硫酸フクシンを働かせると紫赤色に着色する。

Feulgen 反応の特異性の問題は多くの人々により論議されている。

1. Semens (1940) は塩酸加水分解に依つて遊離するプリンが亜硫酸フクシンを発色させると云つている。

2. Barber, Price (1940) は之に反対しプリンの影響は塩基性の場合で酸性の場合は無関係である事を明にした。

3. Stedman (1943) は亜硫酸フクシンを発色させるものは DNA であるが発色は必ずしも DNA 許りでなくクロモソミンの染色反応であると主張した。

天野は Feulgen 反応なるものは Schiff のアルデヒド反応を其の儘組織化学に応用したものであると云つている。

アルデヒドに対する Feulgen 反応の特異性も色々調べられており、

1. Oster はオレイン酸, 桂皮酸は陽性を示しケトステロイドも区別が付かないと云つている。

2. Oster (1946) はアルデヒドに対する特異的なものを真性反応とし、他のカルボニール化合物は偽反応としている。

3. Oster, Mulinos (1944) によると前者の紫色は稀苛性ソーダで脱色し塩酸に依り補強出来るが後者の赤色は脱色後酸によつて強さを回復出来ないとしている。

## 第2項 大腸菌フェージの力価測定

その方法<sup>17)</sup>は適当に稀釈したフェージ液の一定量を菌と共に寒天平板にまいて独立した溶菌斑を作らせ、その数から原液中のフェージ粒子数を計算する。即ちフェージ液をブイオンで 10 倍階段稀釈し各稀釈液から一定量をとつて菌液で 5 倍にうすめる。その 0.5 ml を透明な寒天平板上に流す。その上に重湯煎の中で 45°C に保つてある 1% の半流動寒天 2 ml を流し平板を軽く廻してフェージ菌液と寒天とをよく混ぜて一面に拡げる。寒天平板は 10 ~ 15 分放置して重層した寒天がよく固まつてからふらん器の中で約 1 時間乾燥させた後に倒置して 37°C で培養し、翌日溶菌斑の数を算定する。

## 第4章 実験成績

### 第1項 大腸菌フェージの溶菌斑計測

大腸菌 Phage は P<sub>1</sub> を用いた。先づ P<sub>1</sub> を同量のブイオンで稀釈し、之を原液とし、ブイオンで以下 10 倍階段稀釈する。

この 0.1 c.c. を夫々菌液 0.4 c.c. に加え、五倍にうすめる。依つて最初の P<sub>1</sub> は 10 倍に稀釈せられ以下 10 倍階段稀釈となつている。

その 0.5 c.c. を透明な寒天平板上に流す。その上に重湯煎で予め 45°C に保つてある 1% の半流動寒天 2 c.c. を流し、平板を軽く廻してフェージ菌液と寒天とをよく混ぜて一面に拡げる。37°C に置く事一夜にして翌朝溶菌斑を測定する。その力価は第一表の如く 10<sup>-7</sup> である。

第1表・大腸菌フーージ(P<sub>1</sub>)の溶菌斑計測

シャーレ番号	フーージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	孤立型コロニー様無数
2	10 <sup>2</sup>	蚕蝕型コロニー様無数
3	10 <sup>3</sup>	小中斑 無数
4	10 <sup>4</sup>	小中斑 多数
5	10 <sup>5</sup>	小斑 70 中斑 12
6	10 <sup>6</sup>	" 30 " 3
7	10 <sup>7</sup>	" 3 " ナシ
8	10 <sup>8</sup>	無し
...	...	...
12	10 <sup>12</sup>	"

第2項 大腸菌濾液添加による大腸菌フーージの溶菌斑計測

大腸菌 Phage は P<sub>1</sub> を用いた。

大腸菌濾液としては大腸菌を数十代 1% 石炭酸加寒天培地で培養した所謂大腸菌 O 型菌のブイオン培養せるものを seitz 濾過器で濾過した濾液を使用した。

先づ P<sub>1</sub> 0.5 c.c. に大腸菌濾液 0.25 c.c. ブイオン 0.25 c.c. を加え P<sub>1</sub> を 2 倍稀釈し、之を原液として以下ブイオンで 10 倍階段稀釈し、菌液で夫々五倍にうすめる。故に最初の P<sub>1</sub> は 10 倍に稀釈せられ以下順次 10 倍階段稀釈されておる。以下第 1 項の如く溶菌斑を測定す。その力価は第二表の如く 10<sup>-7</sup> で対照と変化がない。

第2表 大腸菌フーージ(P<sub>1</sub>)の溶菌斑計測 (大腸菌濾液添加)

シャーレ番号	フーージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	孤立型コロニー様多数
2	10 <sup>2</sup>	孤立型及蚕蝕型コロニー多数
3	10 <sup>3</sup>	中小斑 無数
4	10 <sup>4</sup>	中斑 39 小斑 19
5	10 <sup>5</sup>	" 26 " 7
6	10 <sup>6</sup>	" 10 " 8
7	10 <sup>7</sup>	" 8 " 6
8	10 <sup>8</sup>	無し
9	10 <sup>9</sup>	"
10	10 <sup>10</sup>	"
11	10 <sup>11</sup>	"
12	10 <sup>12</sup>	"

第3項 大腸菌家兔免疫抗血清添加による大腸菌フーージの溶菌斑計測

大腸菌フーージは P<sub>1</sub> を用いた。大腸菌を家兔に型の如く免疫して得た抗血清を第 2 項の大腸菌濾液と同じ様に添加して溶菌斑を測定したるも、その力価は第三表の如く 10<sup>-7</sup> にして大腸菌 Phage の増殖に促進も認められず抑制も認められなかつた。

第3表 大腸菌フーージ(P<sub>1</sub>)の溶菌斑計測 (大腸菌家兔免疫抗血清添加)

シャーレ番号	フーージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	蚕蝕型コロニー様無数
2	10 <sup>2</sup>	孤立型コロニー様多数
3	10 <sup>3</sup>	大斑 5 中斑 6 小斑 51
4	10 <sup>4</sup>	" 3 " 4 " 36
5	10 <sup>5</sup>	" 1 " 5 " 25
6	10 <sup>6</sup>	" ナシ " 3 " 13
7	10 <sup>7</sup>	" ナシ " ナシ " 9
8	10 <sup>8</sup>	無し
9	10 <sup>9</sup>	"
10	10 <sup>10</sup>	"
11	10 <sup>11</sup>	"
12	10 <sup>12</sup>	"

第4項 第5項以降の実験の対照となる大腸菌 Phage の溶菌斑計測

大腸菌 Phage は以下 P<sub>2</sub> を使用する。成績は第四表に示す如く、その力価は 10<sup>-3</sup> である。

第4表 大腸菌フーージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測

シャーレ番号	フーージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	孤立型コロニー様多数
2	10 <sup>2</sup>	円形小斑 32
3	10 <sup>3</sup>	" 15
4	10 <sup>4</sup>	無し
5	10 <sup>5</sup>	"
...	...	...
25	10 <sup>25</sup>	"

第5項 家鶏の未処置の血球核及び核様物添加による大腸菌フーージの溶菌斑計測

家鶏の未処置の血球核及び核様物を第 2 項の如く稀釈し、溶菌現象を試みたる所第五表に示す如く 10<sup>-27</sup>迄溶菌した。2~3 回繰返し

実験するも矢張り同様な成績を得た。

第5表 大腸菌フェージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の末処置の血球核及び核様物添加)

シャーレ番号	フェージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	孤立型コロニー様無数
2	10 <sup>2</sup>	{ 半分コロニー様半分蚕蝕型コロニー様無数
3	10 <sup>3</sup>	小斑無数
4	10 <sup>4</sup>	上より少いが尙無数
5	10 <sup>5</sup>	円形小斑 多数
6	10 <sup>6</sup>	" 106
7	10 <sup>7</sup>	" 86
8	10 <sup>8</sup>	" 84
9	10 <sup>9</sup>	" 82
10	10 <sup>10</sup>	" 56
11	10 <sup>11</sup>	" 38
12	10 <sup>12</sup>	" 34
13	10 <sup>13</sup>	" 24
14	10 <sup>14</sup>	" 33
15	10 <sup>15</sup>	" 37
16	10 <sup>16</sup>	" 42
17	10 <sup>17</sup>	" 35
18	10 <sup>18</sup>	" 21
19	10 <sup>19</sup>	" 17
20	10 <sup>20</sup>	" 18
21	10 <sup>21</sup>	" 17
22	10 <sup>22</sup>	" 24
23	10 <sup>23</sup>	" 25
24	10 <sup>24</sup>	" 10
25	10 <sup>25</sup>	" 9
26	10 <sup>26</sup>	" 10
27	10 <sup>27</sup>	" 2
28	10 <sup>28</sup>	無し
29	10 <sup>29</sup>	"
30	10 <sup>30</sup>	"
31	10 <sup>31</sup>	"
32	10 <sup>32</sup>	"
33	10 <sup>33</sup>	"
34	10 <sup>34</sup>	"
35	10 <sup>35</sup>	"

第6項 亀の末処置の血球核及び核様物添加による大腸菌フェージの溶菌斑計測

第六表に示す如く第四項よりは各稀釈倍数共溶菌斑数少く、斑形も正並びに不正円形の小斑を認めた、之も大腸菌 Phage の増殖に

前者程ではないが比較的高度に促進的に働くものゝ様である。

第6表 大腸菌フェージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(亀の末処置の血球核及び核様物添加)

シャーレ番号	フェージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	正及不正円形の小斑 15
2	10 <sup>2</sup>	" 14
3	10 <sup>3</sup>	" 12
4	10 <sup>4</sup>	" 7
5	10 <sup>5</sup>	" 8
6	10 <sup>6</sup>	" 10
7	10 <sup>7</sup>	" 7
8	10 <sup>8</sup>	" 6
9	10 <sup>9</sup>	" 5
10	10 <sup>10</sup>	" 5
11	10 <sup>11</sup>	" 4
12	10 <sup>12</sup>	" 3
13	10 <sup>13</sup>	" 1
14	10 <sup>14</sup>	" 1
15	10 <sup>15</sup>	無し
16	10 <sup>16</sup>	"
17	10 <sup>17</sup>	"
18	10 <sup>18</sup>	"
19	10 <sup>19</sup>	"
20	10 <sup>20</sup>	"
21	10 <sup>21</sup>	"
22	10 <sup>22</sup>	"
23	10 <sup>23</sup>	"
24	10 <sup>24</sup>	"
25	10 <sup>25</sup>	"

第7項 家鶏の血球核及び核様物の濾液添加による大腸菌フェージの溶菌斑計測

家鶏の血球核及び核様物溶液とフイオンを同量加え、試験管にアスベストを入れたる自作の濾過器にて濾過し、之を原液としフイオンにて10倍階段稀釈し、之等を夫々菌液にて5倍に稀釈する。此所でも第七表に示す如く10<sup>-20</sup>迄溶菌し血球核及び核様物濾液にても Phage 増殖に促進的に働く事を認めた。

第8項 家鶏の 56°C 1時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌フェージの溶菌斑計測



第7表 大腸菌ファージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の血球核及び核様物の濾液  
添加)

シャーレ 番号	ファージ 稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	孤立型コロニー様無数
2	10 <sup>2</sup>	蚕蝕型コロニー様無数
3	10 <sup>3</sup>	“ “の中には完全斑あり
4	10 <sup>4</sup>	上記より形態や、大きくなる
5	10 <sup>5</sup>	円型小斑無数
6	10 <sup>6</sup>	大斑3小斑多数
7	10 <sup>7</sup>	“ 2 “ “
8	10 <sup>8</sup>	小斑 65
9	10 <sup>9</sup>	“ 45
10	10 <sup>10</sup>	“ 30
11	10 <sup>11</sup>	“ 23
12	10 <sup>12</sup>	“ 19
13	10 <sup>13</sup>	“ 13
14	10 <sup>14</sup>	“ 10
15	10 <sup>15</sup>	“ 7
16	10 <sup>16</sup>	“ 5
17	10 <sup>17</sup>	“ 5
18	10 <sup>18</sup>	“ 3
19	10 <sup>19</sup>	“ 2
20	10 <sup>20</sup>	“ 1
21	10 <sup>21</sup>	無し
22	10 <sup>22</sup>	“
23	10 <sup>23</sup>	“
24	10 <sup>24</sup>	“
25	10 <sup>25</sup>	“

第八表に示す如く核及び核様物を加熱せる場合10<sup>-9</sup>迄溶菌した。然し尚対照よりは発育促進的に働くものゝ様である。

**第9項** 家鶏の 60°C 1時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測

第九表に示す如く核及び核様物溶液を加熱する温度上昇するに連れ溶菌度は下降している。10<sup>-3</sup>迄溶菌している。

**第10項** 家鶏の 80°C 1時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測

第十表に示す如く10<sup>-6</sup>迄溶菌し、Phageの発育促進は次第に減少するを示してい

第8表 大腸菌ファージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の 56°C1時間加熱せる血球  
核及び核様物添加)

シャーレ 番号	ファージ 稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	全面溶菌して透明
2	10 <sup>2</sup>	{ 中央溶菌してや、透明周囲に蚕蝕型コロニー
3	10 <sup>3</sup>	{ 上記と大体同じ
4	10 <sup>4</sup>	正円形大斑4 長楕円形斑1
5	10 <sup>5</sup>	長楕円形斑1
6	10 <sup>6</sup>	特大斑2大斑4中斑2
7	10 <sup>7</sup>	中斑2
8	10 <sup>8</sup>	中央や、透明
9	10 <sup>9</sup>	不透明な暈のある小斑1
10	10 <sup>10</sup>	無し
11	10 <sup>11</sup>	“
12	10 <sup>12</sup>	“
13	10 <sup>13</sup>	“
14	10 <sup>14</sup>	“
15	10 <sup>15</sup>	“

第9表 大腸菌ファージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の 60°C1時間加熱せる血球  
核及び核様物添加)

シャーレ 番号	ファージ 稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	長楕円形斑1
2	10 <sup>2</sup>	狭細な長楕円形斑1
3	10 <sup>3</sup>	{ 中央に小斑1不透明な暈のある小斑1
4	10 <sup>4</sup>	{ 辺縁チグザグのある大斑1小斑1
5	10 <sup>5</sup>	不透明な暈のある大斑2
6	10 <sup>6</sup>	細長いチグザグの線様斑1
7	10 <sup>7</sup>	{ チグザグの不透明暈のある斑2
8	10 <sup>8</sup>	“ 1
9	10 <sup>9</sup>	無し
10	10 <sup>10</sup>	“
11	10 <sup>11</sup>	“
12	10 <sup>12</sup>	“
13	10 <sup>13</sup>	“
14	10 <sup>14</sup>	“
15	10 <sup>15</sup>	“

る。

**第11項** 家鶏の 100°C 1時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌ファージの溶菌斑計測

第10表 大腸菌フェージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の 80°C1 時間加熱せる血球核及び核様物添加)

シャーレ番号	フェージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	全面不透明で曇のある様な菌苔
2	10 <sup>2</sup>	極々微小斑 3
3	10 <sup>3</sup>	” 3
4	10 <sup>4</sup>	” 4
5	10 <sup>5</sup>	” 1
6	10 <sup>6</sup>	” 1
7	10 <sup>7</sup>	無し
8	10 <sup>8</sup>	”
9	10 <sup>9</sup>	”
10	10 <sup>10</sup>	”

第十一表に示す如く対照と比較して殆んど Phage の發育促進の効力を失つたものゝ様である。成績は第十一表の通りである。

第11表 大腸菌フェージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の 100°C1 時間加熱せる血球核及び核様物添加)

シャーレ番号	フェージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	細長い線様斑 1
2	10 <sup>2</sup>	上記より尙狭細なる線様斑 1
3	10 <sup>3</sup>	極々微小斑 1
4	10 <sup>4</sup>	” 1
5	10 <sup>5</sup>	” 1
6	10 <sup>6</sup>	無し
7	10 <sup>7</sup>	”
8	10 <sup>8</sup>	”
9	10 <sup>9</sup>	”
10	10 <sup>10</sup>	”

第12項 家鶏の 120°C 1 時間加熱せる血球核及び核様物添加による大腸菌フェージの溶菌斑計測

成績は第十二表に示す如く対照に比し全然 Phage の發育促進の効力を失つたものゝ様である。

第13項 家鶏の血球核及び核様物に蒸溜水を加え 50°C 3 日間重湯煎上にて加熱して添加せる大腸菌フェージの溶菌斑計測

第12表 大腸菌フェージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の 120°C1 時間加熱せる血球核及び核様物添加)

シャーレ番号	フェージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	チグザグの中斑 3
2	10 <sup>2</sup>	” 2
3	10 <sup>3</sup>	無し
4	10 <sup>4</sup>	”
5	10 <sup>5</sup>	”
6	10 <sup>6</sup>	”
7	10 <sup>7</sup>	”
8	10 <sup>8</sup>	”
9	10 <sup>9</sup>	”
10	10 <sup>10</sup>	”

実験成績は第十三表の如くで Phage の發育促進の効力は殆んどなきものゝ様である。

第13表 大腸菌フェージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(家鶏の血球核及び核様物に蒸溜水を加え 50°C3 日間加熱して添加)

シャーレ番号	フェージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>1</sup>	大斑 2 中斑 7 小斑 10
2	10 <sup>2</sup>	小中斑 15
3	10 <sup>3</sup>	小斑 9
4	10 <sup>4</sup>	” 3
5	10 <sup>5</sup>	” 2
6	10 <sup>6</sup>	無し
7	10 <sup>7</sup>	”
8	10 <sup>8</sup>	”
9	10 <sup>9</sup>	”
10	10 <sup>10</sup>	”

第14項 第四表シャーレ番号3のフェージ稀釈液に家鶏の血球核及び核様物を添加せる大腸菌フェージの溶菌斑計測

既にフェージの増殖率の低化した系に家鶏の血球核及び核様物を添加し大腸菌フェージの溶菌現象を試みたる所、再びフェージの増殖が旺盛となつた。その実験成績は第十四表の通りである。

第15項 家鶏血球核及び核様物の熱に対する態度

第14表 大腸菌ファージ(P<sub>2</sub>)の溶菌斑計測  
(第4表シャーレ番号3のファージ稀釈液に家鶏の血球核及び核様物を添加)

シャーレ番号	ファージ稀釈倍数	溶菌斑形態及斑数
1	10 <sup>3</sup>	孤立型コロニー様無数
2	10 <sup>4</sup>	” 及蚕蝕型コロニー様無数
3	10 <sup>5</sup>	小斑無数
4	10 <sup>6</sup>	上より少いが尙無数
5	10 <sup>7</sup>	円形小斑多数
6	10 <sup>8</sup>	” 120
7	10 <sup>9</sup>	” 103
8	10 <sup>10</sup>	” 93
9	10 <sup>11</sup>	” 76
10	10 <sup>12</sup>	” 53
11	10 <sup>13</sup>	” 34
12	10 <sup>14</sup>	” 15
13	10 <sup>15</sup>	” 7
14	10 <sup>16</sup>	” 8
15	10 <sup>17</sup>	” 3
16	10 <sup>18</sup>	” 1
17	10 <sup>19</sup>	無し
18	10 <sup>20</sup>	”
19	10 <sup>21</sup>	”
20	10 <sup>22</sup>	”

その成績は第十五表の通りで家鶏の血球核及び核様物は未処置の場合は濁濁しているが温度が上昇するにつれ透明の度を増して来る。尚之等はフォイルゲン反応何れも陽性であった。

第15表 家鶏血球核及び核様物の熱に対する態度

稀釈メチウム	加熱	濁濁度	Feulgen Reaktion (シフ試薬)
生理食水	未処置	濁濁	紫赤色 +
”	58°C 1時間	やゝ濁濁	赤紫色 +
”	60°C ”	やゝ透明	” +
”	80°C ”	”	” +
”	100°C ”	透明強し	” +
”	120°C ”	”	” +
蒸溜水	50°C 3日	”	” +

### 第5章 考 察

バクテリオファージの生活環

福見<sup>18)</sup>によればバクテリオファージの生活現象を分析し、それがどの様な基本形態をとっているかを解明したのは Delbrück と Lulia を中心とするバクテリオファージ研究グループであるとしている。彼等に依ればバクテリオファージはファージに特定な細菌体内で増殖する。バクテリオファージは先づその細菌の菌体表面に結合する。結合したバクテリオファージは次のステップとして細菌体に侵入する。細菌体内に入ったファージ粒子を中心にして一定の反応が菌体内に起り一定の期間後に細菌体は急に溶けて了つて中から成熟したファージがある数丈とび出して来る、斯くしてファージの生活環は了るとしている。

#### 第1項 ファージの吸着及び侵入。

バクテリオファージが寄生細菌体に拠つてその生活環を完成するためには、先づ何等かの方法に依つて細菌体にとりつかねばならない。

ファージの生活環は先づ細菌体への吸着に始まり侵入に移行しなければならない。

松井に依ればファージの吸着機序については、今猶充分には明かにされてはいないが、一般の見解に従えば吸着現象は細菌及びファージの浮游液内での衝突に依つて起るとしている。ファージと細菌との衝突が如何なる契機によつて不可逆的な結合をなすかと云う事は輒近最も興味ある論議の対象となつてはいるが、これに代る従来の見解を代表するものとして抗元抗体反応と類似の仮定・即ちファージ粒子の表面には Antiphage と結合する部分がある許りでなく、亦細菌の表面とも結合する部位があるとする所謂 Receptor spot theory が挙げられている。T. F. Anderson は Phage の吸着は酵素が関与する極めて複雑微妙な現象であるかも知れぬと云う事を明にした。彼はファージの吸着現象の協力因子として種々の Amino 酸について研究した結果、L-triptophan, フェニールアラニン, 2-ヨードチロシン, チロシン等が有効であり就中 L-triptophan が特に強力である事を明にした。

## 第2項 増 殖

ファージの増殖はファージが細菌に感染し、やがて菌体が崩壊して新生ファージが放出される迄の期間即ち潜伏期に於て行われる。

ウィールスが生細胞内で如何にして増殖するかは現在ウィールス学が解決す可き重要な課題であるが依然として残された謎である。

同様な事はファージの場合でも云える。

ファージの生成に際して寄主細菌並びに培地中の物質の運命については P<sup>32</sup>, C<sup>14</sup>, N<sup>15</sup> 等の同位元素の使用に依つて現に盛に研究されている。之等の研究によると培地中の諸物質は単に細菌の生活のために消費される許りでなく、亦ファージ形成の上にも大きな役割を演ずる事が明になつた。即ち彼等によると T<sub>2</sub> T<sub>4</sub> T<sub>6</sub> 中に含まれる燐の 70~80% は培地中の無機燐酸に由来するもので細菌体から得られるものは僅々 20~30% に過ぎない。而して寄主細菌がファージに燐の供給源として提供する主なものは DNA である。然しその形式は菌の DNA が何等かの特異性決定因子としてファージに与えられるのでなく、むしろその分解産物がファージ合成に利用されると考える方がよいらしい。

次にファージの窒素も燐の場合と同様、その供給源の大部分を培地に求め、寄主細菌体に仰ぐものは 11.6~38.8% に過ぎない。そしてファージの蛋白窒素の 6~27%, 核酸窒素の 17~43% が寄主菌体に由来したものである。

培地中のアミノ酸とファージの増殖との関係は Cohen, Fowler によつて詳細に研究されている。ファージの感染に依る寄主菌体の物質代謝の変化も既に詳細に行われている。

之によるとファージが感染すると今迄行われていた細菌の正常な合成反応は直ちにファージのそれに転換される。即ち T<sub>2</sub> の感染した大腸菌 B 株の蛋白質合成は感染直後に、又 DNA の合成は更に 7~10 分遅れて始まるがその後は溶菌が起る迄続けられその増加率は未感染の数倍に当る。ファージの感染を受けない細菌に於ては RNA 合成は DNA 合成

の約 3 倍であるが、感染した細菌の RNA 合成は停止する、この様にしてファージ感染菌の合成作用は凡そ 2 段階に互つて行われるものと見られる。

## 第3項 溶菌現象

寄主細菌体に吸着、侵入したファージは潜伏期間中に菌体内で増殖しやがて菌体が崩壊して新生ファージが放出されるに至つてその生活環を一応完成する。

私は大腸菌ファージの増殖を図るため宿主細菌の菌濾液、並びに宿主細菌家兎免疫抗血清及び家鶏並びに亀の血液から核を分離して之等を添加し溶菌現象を試みたが、前者に於てはファージ増殖は好結果を収めず、後者に於ては強度に発育促進的に働いたが以下之を考察して見よう。

ファージの感染しない大腸菌に於ては RNA 合成は DNA 合成の約 3 倍に相当するので、この大腸菌濾液の添加に於てファージ増殖に如何なる変化を及ぼすかを見たるも、対照に比し促進的に働いていなかった。

次に大腸菌を免疫して得た家兎免疫抗血清を添加して見ても、之亦ファージ増殖には何らの影響も及ぼさなかつた。

然るに家鶏並びに亀の血球より核を分離し生理食塩水に溶解したる溶液を添加するにファージの増殖は対照に比し著明に促進的効果を示した。私は鶏並びに亀より核を分離したるも純粹の核を得る事殆んど不可能にして若干血球基質の混入を認めない訳には行かない。

核を生理食塩水に浮游したる溶液の一滴をギムザ染色するに濃染せる核及びその周囲に点在する淡染せる小顆粒状物質を認めた。

この小顆粒状物質は核膜周辺及び血球基質に存在するミトコンドリアではないかと想像される。核には DNA の外 RNA も存在すると云われている。核及び核様物溶解液の Feulgen 反応を試みたるに陽性であつた。

私の得た核及び核様物中には DNA, RNA, ミトコンドリア、及びその他の蛋白が存在するものと思われる。而して之等は大腸菌ファージに対し夫々有機的に関連性を持つて発育

増殖を促したものと思われる。

大腸菌フェージが増殖するには必ず生きた大腸菌を必要とする。

T系フェージ感染の際大腸菌の菌体の核酸の分布にどのような変化が起るかを形態学的に、追究した研究も幾つかある。それによると先づ細菌の表面に DNA が現われ、ついで核が変化を受けて最後には菌体全部に DNA が行き渡ると云われる。之に反し先づ大腸菌の核の部分に最初の変化が起ると主張する者も居る。大腸菌の DNA の少くとも一部が感染の初期にフェージ DNA 合成の材料を供給する事は事実である。

然し溶原株のある系統では蛋白質の合成はするが、DNA を合成せず、形をなしたフェージを作らないまゝで溶菌すると云う事も知られている。この場合そこには確かに蛋白質の合成は起つていてこの蛋白質は Prophase とも呼ばれるが、DNA の合成は全く見られない。つまりこゝでは Prophase 蛋白の合成は菌の RNA 関与のもとに起つている可能性はあつても、フェージの DNA 関与はないと云える。蛋白質合成のカギは DNA ではなくむしろ RNA にあると見て見られぬ事はない。

結局一つの可能性はフェージの特異性決定要素は DNA 丈でなく、蛋白質部分にもあると云う点にももとめられぬ事はない。この際寄主の RNA がフェージ蛋白合成に果して必須の意味を持つものか DNA の合成がどのような機作で起きるかと云う様な問題は依然として残された未解決な問題である。

## 第6章 結 論

1. 大腸菌フェージの増殖を図るため大腸菌濾液、大腸菌家兔免疫抗血清、及び家鷄並びに亀の血球核及び核様物を夫々一定量加え、大腸菌フェージの溶菌斑を対象と比較して測定した。

2. 大腸菌濾液、大腸菌家兔免疫抗血清添加に於ては対照に比し大腸菌フェージの増殖には何等の影響もなかつた。

3. 家鷄並びに亀の血球核及び核様物添加に於ては著明な大腸菌フェージ増殖を認めた。特に家鷄に於ては著明であつた。

4. 家鷄核及び核様物溶液を濾過したものゝ添加に於ても増殖促進が認められた。

5. 家鷄核及び核様物を夫々 56°C, 60°C, 80°C, 100°C, 120°C 1時間加熱して添加し、大腸菌フェージの溶菌斑を測定したが 56°C に於ては尚増殖を認めたが加熱温度の上昇と共に漸次増殖促進の度を減じ 120°C 1時間加熱に於て略々完全にその効力を失うものゝ様である。

6. 血球核及び核様物のホイルゲン反応は非加熱、加熱のものに於ても何れも陽性であつた。

以上要約するに家鷄並びに亀の血球核及び核様物は、大腸菌フェージの發育、増殖の促進に大きな役割を演ずる様である。

擧筆に当り終始御懇篤なる御指導と御校閲を辱うせし緒方教授並びに終始御鞭撻を賜つた大田原教授に衷心感謝の意を表す。

本論文要旨は昭和 29 年第 64 回岡山医学会総会に於て発表した。

## 文 献

- 1) d'. Herelle The bacterio phage and its behavior, 1929.
- 2) 川喜田愛郎 濾過性病原体 学術院 1949.
- 3) 内海奮一郎: Virus vol. 2, No. 2, P. 76.
- 4) 守山英雄: ヴィールスの本態と生命の起源 日本医学会.
- 5) 内海奮一郎: Virus Vol. 2, No. 2, P. 79.
- 6) 細菌学実習提要: P. 445.
- 7) 河野井春雄: 動物の血液, 生物学集書 P. 38 河出書房.
- 8) 酒井美雄 血球殊に血球核に関する血清学的研究(第1報)岡山医学会雑誌第46年第5号(第532号)
- 9) 内藤: 日本微生物学雑誌 22 卷, 昭 3 年.
- 10) 天野重安 血液学の基礎(上) 血球の発生と機能.

- |  |  |
|--|--|
| 11) 江上不二夫, 紫谷篤弘 核酸 共立社.                        | 1953.  |
| 12) 佐藤七郎 生物科学 第5巻, 第1号, 1953,<br>学界展望 ミトコンドリア. | 16) 有機化学実習提要 昭. 10, P. 50.   |
| 13) 加藤勝治郎: 血液学研究法 南山堂 P. 114.                  | 17) 細菌学実習提要: 伝染病研究所学友会編 丸善<br>P. 446.                              |
| 14) 江上不二夫, 紫谷篤弘: 核酸 P. 168.                    | 18) 福見秀雄: 科学, Vol. 23, No. 8, 1953. ウィー<br>ルスの増殖と細胞の働き P. 398~403. |
| 15) 市川 収: 細胞化学(その理論と術式) 本田書店                   |  |

Dept. of Hygiene, Okayama University Medical School.  
(Director: Prof. Dr. M. Ogata)

The experimental study of Colibacteriophage  
Report II On the phage growth by nucleus &  
nuclear substance of blood corpuscle

By

K. Sasaki

In my method for the separation and purification of the colibacteriophage, I employed the chromatograph; but I examined the bacteriosolving phenomenon of the phage by using host bacteriofiltrate and rabbit antiserum for host bacterium, as well as, nucleus and nuclear substance of the blood corpuscle of cock and tortoise.

In the former I did not get a good result, but I found that the phage growth was accelerated in a high degree in the latter, and consequently this report was written.

First, I defibrinated the 2 cc. blood of cock and tortoise, and made the blood suspension by ordinary method and then centrifuged it; added distilled water to the blood corpuscle after the centrifugation, oscillated, mixed well, and demolished the protoplasm by distilled water.

As soon as the white nucleus is suspended uniformly, physiological salt water is added to it in a large quantity; dissolving the pure dregs which were obtained after several-times of centrifugation in 5 cc. salt water, I presented the same substance that was completely solved for experiment.

Then I dyed and microscoped it, and noticed thickly dyeing nucleus as well as a large number of fine granular substance dots around it.

The strength of colibacteriophage as contrast was  $10^{-3}$ , but it rose to  $10^{-27}$  when the nucleus and nuclear substance of cock was added to it so that it might be diluted same as the first.

Moreover, the strength of phage rose to  $10^{-20}$  in the filtrate of this nucleus and nuclear substance. In regard to nucleus and nuclear substance of tortoise, the strength of phage was not so strong as cock, but it rose to  $10^{-14}$ .

When I heated the nucleus and nuclear substance of cock blood corpuscle in the water bath, the degree of growth facility decreased together with the heat, and it seemed that the effect of growth facility is lost almost at 100—120°C. "The Feulgen Reaktion" of nucleus and nuclear substance of the blood was all positive, and it increased the degree of transparency together with the heat. It was discovered that DNA is contained in the nucleus of blood together with a little of RNA, and it is difficult to separate the pure nucleus from the blood, so it is considered apparently that the protoplasm has lost its way within it.

In a word, both the nucleus and the nuclear substance of the blood are considered that they play an important part in the growth of coli bacteriophage.