バクテリオファージによる細菌の変異

1. 赤痢菌における一般生物学的性状及び抗原構造の変異

城谷 勝光 大井手 誠一 志波 慶一

長崎大学医学部細菌学教室 (主任 青木教授)

[受付: 8月1日 1956年]

近時細菌変異の分野に大きな変革がもたらされつつある。その先鞭となつた有名な Griffith (1928) の肺炎双球菌の型転換に関する研究であろうこの変異は他型菌から抽出されたDNAの転移による型転移現象 (transformation) (Avery et al., 1944; McCarty, 1946) である。その後薬剤耐性の変異も同様な機作によつて起り得ることが確められ、Vourek (1948) はその作用因子を sensitizer とよんだ。

最近に至り Zinder and Lederberg (1952) はDNA以外の因子によると思われる転移現象を報じた。これは transduction (Stocker et al., 1953; Lederberg et al., 1953; Baron et al., 1953; 井関等, 1953; 中川等, 1951) といわれ、この場合転移因子は Temperate phage によつて菌体から遊離される一種の濾過性因子であり、本因子は Transformation の場合と異りDNAで不活化されないという。

Temperate phage は菌体内では所謂 Prophage の型で存在していて、この Prophage と宿主菌の増殖機構の間には密接な関連性が存在することは諸家の等しく認めるところであろう。例えば芽胞形成菌の Prophage は遊離ファージよりはるかに高い温度に耐え得るという den Dooren de Long (1931) の報告の如く Prophage とその宿主菌は物質代謝の限界を越えて、細胞の遺伝的構造に及ぶ密接な結びつきを暗示している。Prophage がひとたび細胞内に侵入して、そこに溶原性状態が成立すると、Prophage は菌体原型質と平行的に合成されて増殖し、あたかも細胞の一成分の如く行動すると推測されている。

以上の Temperate phage に関する概念が前述の Transduction 説に導入され、生物学的性状から抗原構造、更には毒力に及ぶ広汎な性状変異がこれによつて説明されている。Freeman (1951) の溶原化によるジフテリア菌の毒力変異に関する報告は Parson et al.

(1951) 及び Groman (1953) の追認を得て、大いに注目されたが、この研究は特に高率に溶原株を包含する Salmonella について行われている。

しかしこれらの報告においては、例えば中川 (1955 a, 1955 b) の報文にもみられる通り、変異の成立にファージが重要な役割を演じていることは明らかであるが、ファージそのものに基くとは確証はなく、精製ファージによる変異の誘導は現在なお成功されていない。植竹等 (1950) は吸収血清加培地培養における抗原変異の成立に吸収に用いた菌体成分が関係するのではないかと述べているが、ファージによる誘導変異にもそのファージ液に必然的に含まれる代謝産物乃至菌体成分の役割を除外することは極めて困難と考えられる。従つて、この場合の変異を Griffith の transformation や Zinder and Lederberg の transduction と区別して夫々独立した現象と解することは妥当でないと思われる。

ファージに感染するという事象そのものによる代謝機構、ひいては菌体成分の変革が予想され、ファージによる遺伝子 (gene) の伝達に基く transduction とお互にその方向を異にすることはあり得ないであろうか。変異の場となるファージ液にはそのファージの母株の種々なる成分が含まれていて、そこに生じられる変異の様相を益々複雑にするであろう。

以上の観点から我々は temperate phage によつて donor strain に惹起される変異が常に recipient strain の性状に向うという従来の報告にいささか疑問をいだき。我々が従来供試して来た溶原性赤痢菌を用いて、先づ実験の糸口を得るための比較的単純な方法による広範

JOYA Katsumitsu, OOIDE Seichi and SHIBA Keiichi: Bacterial Variations Induced by Bacteriophage I. Biochemical and Antigenic Changes in Dysentery Bacilli. Department of Bacteriology, Nagasaki University School of Medicine — Jap. J. of Bact., 11 (11), 1007-1012, 1956.

細な実験を行い、これによつて得られた重要な知見について逐次詳細な検討が加えられつつある。

実験材料と方法

培地、菌株及びファージ： 培地は 0.2%葡萄糖ブイオンを用い、ファージ液としては既報（城谷等，1954）の S 9 菌を上記ブイオンに 37°C，20乃至22時間培養し、その L₈ 濾液（S 9 ファージ）を用いた。供試した菌株は本ファージに感受性の標準株 3a と 3b 菌の 2 株（何れも教室保存）で実験中 S 型の維持に留意した。

溶原化の方法： 上記のファージ液を同一組成の培地で 2 倍に希釈したものに 3a 及び 3b 菌を各別に 3 代累代培養して、最後にこれを平板に分離した。発生した集落の中から S 型集落をひろい、ファージ感受性を検し、夫々 15 個のファージ耐性株を選び出した。

なお対照として H 1，H 2 及び F の 3 株を用いた。前 2 者はファージ液を夫々 60°C 30 分及び 120°C 60 分加熱してファージを不活化し、これをブイオンで 2 倍に希釈したものに 3b 菌を上記同様 3 代累代培養して得た不活性ファージ液通過菌で、F は S 9 と同一型の 2b 型標準株非溶原性の培養濾液に上記同様 3 代累代培養して得た菌である。何れの場合も最後に平板に分離し、各々 20 個の集落につき、S，R の鑑別を行い定型的 S 型と思われるもの各 5 を純培養して供試した。但し何れも同一性状を示したのでその中の各 1 株の成績のみを記載する。

溶原性の検査： 上述のファージ液累代培養によつて得られたファージ耐性の 30 株が溶原性を獲得したか否かは次の方法によつた。lysogenic strain と carrier strain の鑑別には抗ファージ血清による中和が利用される（Lwoff, 1953）ことがあり、Freeman 等は抗ファージ血清加ブイオン中で 5 代継代して、その後をファージを放出するか否かを確かめている。しかしいかに高力価の抗ファージ血清を用いても完全中和は達成されないことが判っている（城谷，1954）ので、我々は強いて Freeman 等の方法を採らなかつた。即ち被検菌のブイオン培養をブイオンで 3 回洗滌し、最後の沈澱菌体のブイオン培養中のファージの存否を次の 2 つの方法で検した。（1）そのブイオン培養液 0.1 ml を 3a 及び 3b 菌のブイオン培養液 0.4 ml と共に平板にまいて溶菌斑発生の有無を観察し、同時に（2）同じブイオン培養液と 3a 又は 3b 菌をブイオンに同時に接種し、37°C 24 時間培養後、その培養液の遠心上清中のファージの有無を（1）の方法で検した。

性状検査法：（1）インドール反応——Kovacs 法によ

る。（2）ゲラチン液化——高層ゲラチン培地に穿刺して 37°C 7 日間培養し、その間毎日 1 回取り出して流水で冷却して検した。（3）H₂S 産生——高層醋酸鉛寒天に穿刺培養する方法による。（4）カタラーゼ定量法——被検菌の生理的食塩水による 0.5 mg/ml の菌液を生理的食塩水で倍数希釈し、その 0.5 ml 宛を 1 列の小試験管に入れ、これに過酸化水素水 0.5 ml が N/1000 過マンガン酸カリ 1 ml を完全に脱色する様に希釈した過酸化水素水を菌液と等量に加えて 37°C 2 時間放置した後、各試験管に 10% 硫酸水 1 滴、N/1000 過マンガン酸カリ液 1 ml を加えて振盪した。成績は完全脱色（－）、微紅色（＋）、淡紅色（＋＋）及び深紅色を（＋＋＋）とした。

実験成績

一般性状の変異：成績は第 1 表に要約される。S 9 ファージ耐性株としては 3a 由来株では A 1，A 3，A 4，A 5 及び A 15 の 5 株，3b 由来株では B 3，B 11，B 12，B 13，B 14 及び B 15 の 6 株が用いられた。これらの耐性株の中には溶原化されてファージを放出するに至つたもの（A 4，A 5，A 15，，B 3，B 13 及び B 15 の 6 株）とファージを放出せず、単に耐性化されたもの（A 1，A 3，B 11，B 12 及び B 14 の 5 株）の 2 種類が含まれている。これらの 11 の変異株及び対照の 3 株についてインドール反応，ゲラチン液化，硫化水素産生，反応，Voges-Proskauer 反応，Methyl-red ウレアーゼ産生及び硝酸塩還元の諸反応を検した。これらの性状の中でインドール反応と Methyl-red 反応の 2 つの性状に変異が認められた。インドール反応の変異は 3b 由来株にのみ認められ、6 株中 5 株が陽性となり、3a 菌と同一性状になつている。又 Methyl-red 反応は 3a 由来株と 3b 由来株の両者において変異し、本作用陽性の 3a 菌から得られた 5 株中の 3 株が陰性となり、本作用陰性の 3b に由来する 6 株の中 3 株が陽性になつている。

対照においては、この様な変異は認められず、特に S 9 菌と同一型の 2b 型標準株（非溶原性）の培養濾液もこの様な変異を惹起しないので、S 9 菌培養濾液中の変異誘発因子は生きたファージと考えるのが至当と思われる。赤痢菌においては硫化水素産生、ゲラチン液化、V P 及び尿素分解は一般に陰性、硝酸塩還元作用は全て陽性とされ、MR 反応とインドール産生、特に後者は菌株により不定とされており、今回の実験でも従来不定とされている MR とインドールに変異が認められた。しかしその変異の方向はファージの母株である S 9 菌の性状とは無関係であつた。即ち S 9 株はインドール反応陰性

であるが、陽性の 3a 菌からは陰性変異株は発生せず、陰性の 3b 菌から陽性変異菌株が極めて高率に発生して

第 1 表 一般性状

菌株	ファージの放出		S9 ファージ感受性	インドール	ガラチン	硫化水素	V ・ P	M ・ R	ウレアーゼ	硝酸塩還元
	3a	3b								
S9	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	+
3a	—	—	+++	+	—	—	—	+	—	+
A1	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+
A3	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+
A4	+++	+++	—	+	—	—	—	—	—	+
A5	+++	+++	—	+	—	—	—	—	—	+
A15	++	+	—	+	—	—	—	+	—	+
3b	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	+
B3	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	+
B11	—	—	—	+	—	—	—	±	—	+
B12	—	—	—	+	—	—	—	±	—	+
B13	+++	+	—	+	—	—	—	+	—	+
B14	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+
B15	+++	+++	—	+	—	—	—	+	—	+
H1	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	+
H2	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	+
F	—	—	+++	—	—	—	—	—	—	+

備考：ファージ放出及びファージ感受性の欄

+++……全面溶菌

+++……1000以上の溶菌斑形成

++……100 " "

+……100 未満の " "

第 2 表 糖 分 解

糖 類				S9	3a	A1	A3	A4	A5	A15	3b	B3	B11	B12	B13	B14	B15	H1	H2	F
グ	ル	コ	—	ゼ	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
ラ	ク	ト	—	ゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
マ	ン	ニ	ッ	ト	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
マ	ル	ト	—	ゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
キ	シ	ロ	—	ゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ア	ラ	ビ	ノ	—	ゼ	++	+++	+++	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+
ソ	ル	ビ	ッ	ト	+++	+++	++	+++	++	+	+++	—	—	+++	+++	++	+++	—	—	—
サ	ッ	カ	ロ	—	ゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ズ	ル	チ	ッ	ト	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ラ	ム	ノ	—	ゼ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

備考：+++……12時間で分解

++……24時間で分解

+48……時間で分解

いる。MR反応においては陽性の原株から陰性変異株が、陰性の原株から陽性変異株が何れも約50%の頻度に発生している。

糖分解：第2表記載の分類上重要な10種の糖を用い、バージュコー培地に培養して、12、24及び48時間目に結果を観察した。赤痢菌の群分類に最も重要な役割をもつ糖はマンニットであり、B群にはマンニット非分解の変異株が自然界で屢々分離報告されている。本実験の主眼はこの性状の変異にあつたが、S9、3a及び3b菌は何れも強陽性で、非分解変異株は見出されなかつた。

変異が認められたのはソルビットとアラビノーズで、特に前者において著明であつた。即ちソルビット分解陰性の3b菌から陽性変異株が高率（6株中5株）に発生した。又3a菌はアラビノーズを48時間目にようやく分解したが、ソルビット分解陽性の変異株にアラビノーズ分解も強くなり、全株（5株）がこの糖を12時間で分解するに至つた。対照においてはこのような変異は認められないので、これもインドール反応や硝酸塩還元のそれと同様に活性のファージによつて惹起されたものと解される。又この糖分解の変異の方向はS9菌と逆の性状からS9菌の性状へと誘導される様に見える。しかしこれについては更に検討を要する。

カタラーゼ作用：第3表に定量試験の結果が示されている。3a由来株においてはA5を除き原株と殆んど差がなく、3b、由来株にある程度の増強傾向が認められる。前記諸性状に変異が認められなかつたB3にはカタラーゼ作用にも変化が認められず、B12及びB15において相当著明に増強している。しかし対照にもこの程度の変化が起り、特にファージを含まない培地濾液への累代培養（F株）で著しい増強を来しているのて、この変

第 3 表 カタラーゼ

菌 株	菌 液 稀 釈 倍 数										対 照
	1	2	4	8	16	32	64	128	256		
S 9	+	++	++	++	+	-	-	-	-	-	
3 a	-	+	++	+	+	+	-	-	-	-	
A 1	+	++	++	+	+	-	-	-	-	-	
A 3	+	++	++	++	+	-	-	-	-	-	
A 4	++	+++	+	+	+	-	-	-	-	-	
A 5	+	++	++	++	++	+	+	-	-	-	
A15	+	++	++	+	+	-	-	-	-	-	
3 b	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
B 3	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	
B11	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-	
B12	+	+	++	++	+	+	-	-	-	-	
B13	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	
B14	+	+	++	+	-	-	-	-	-	-	
B15	+	++	++	+	+	-	-	-	-	-	
H 1	+	++	++	++	+	+	-	-	-	-	
H 2	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	
F	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	

備考: ++.....深紅 ++.....淡紅 +.....微紅

化を直ちにファージの作用に帰することは出来ない。

抗原構造： 北里研究所製の因子血清を用い、取敢えずためし凝集反応を実施した。因子血清は供試菌 2b, 3a 及び 3b の構成因子に限定し、第 4 表に示される様に、型血清としてⅡ及びⅢ、群血清として 4, 6 及び 7 の合計 5 種類を用いた。ファージ耐性菌の分離に当つては常に S 型集落の選択に留意したことは前述の通りである。それにもかゝらず、得られたファージ耐性菌の集落は平滑透明ながら辺縁稍不正円形で、A 4 及び B14 以

外の 9 株は明瞭な熱凝集を示した。従つてこの 9 株は多少の R 化傾向を帯びていると思われたので、目下、完全な S 型の分離に努めつゝあり、これを用うる詳細な抗原分析の結果は別報にまとめたいと考えている。

対照の H 1 及び H 2 の反応に認められる様に、生ファージを含まない培養濾液通過によつてもⅠ相からⅡ相への所謂欠損変異が起つて型抗原の喪失が認められ、生理的食塩水菌液は加熱により著明な凝集を起すものが多かったので、定量凝集反応、特に加熱菌を抗原とするそれは一部を除き更に検討中である。ためし凝集反応は特に自発凝集に注意して実施した事は勿論であるが、この場合は肉眼で認め得る凝集塊を作る菌株はなく、5 株において疑陽性程度の自発凝集が認められたにすぎない。

2b 型の S 9 株、3a 及び 3b 菌はいずれも抗原を完全に具備するか、3a 及び 3b から得られたファージ耐性変異株には全株に明らかな抗原変異が認められる。自発凝集を示す 5 株を除外して述べると A 4 及び A 5 はⅢを消失し、A 1 もⅢを殆んど消失している。群抗原も消失するケースが多く、A 4 は完全に失い、A 1 では 6, 7 共疑陽性程度であり、A 5 では 7 が不明瞭になつた。しかして抗原消失の程度が最も強く、固有の抗原因子全てを消失した A 4 はⅡを獲得している。3b 由来株にもほぼ同様な変異が認められるが、この場合は更に群抗原の獲得がみられた。即ち B11 と B14 が 7 を獲得し、殊に後者は更にⅡを獲得して完全に 2b 型に変異している。

以上の通り完全な S 型と考えられてよい A 4 と B14 の 2 株において、前者は群抗原を欠き、両者ともⅡ抗原を獲得して 2b 型に近くなり、特に B14 は群抗原 7 を獲得して donor strain S 9 に全く一致するに至っている。

溶原性獲得と変異との関係： 3a 由来株には MR と抗原構造に変異が認められたが、その中で溶原性を獲得した A 4, A 5 及び A15 の 3 株のみにおいて M. R. が陰

第 4 表 抗 原 構 造

因 子 血 清		2 b 型	原 株 3 a (III, 6, 7)						原 株 3 b (III, 4, 6)						原 株 3b (III, 4, 6)			
		S9	3 a	A1	A3	A4	A5	A15	3b	B3	B11	B12	B13	B14	B15	H1	H2	F
型 血 清	II	++	—	—	—	+	—	+	—	±	—	±	+	+	+	—	—	—
	III	—	++	±	±	—	—	±	+	±	—	±	±	—	+	—	—	+
群 血 清	4	—	—	—	—	—	—	±	+	±	±	±	+	—	+	+	+	±
	6	—	+	±	±	—	+	±	+	±	±	±	+	—	+	+	+	+
	7	+	+	±	±	—	±	±	—	±	+	±	—	+	+	—	—	—
食 塩 水		—	—	—	±	—	—	±	—	±	—	±	—	—	±	—	—	—

性化し、ファージを放出するに至らなかった A 1 と A 4 にはこの様な変異は起っていない。しかし抗原構造の変異はこれらの 5 株全部に起っていて、この場合は溶原性獲得は必須の条件ではないと解される。更に明瞭且つ広汎な変異が認められた 3 b 由来株についても同様なことがいえるが、この場合は更に次の点が注目をひく。即ち溶原性を獲得した B 3 に全く変異が起っていないことである。

以上の事実から生ファージの作用を受けさえすれば溶原性の獲得と否とにかかわらず、そのファージに感受性の菌株は種々程度の変異を起し得るもので、しかもそれは同時に 2 つ以上の性状に亘ることがあるといえる。供試菌は肉眼的には S 型でありながら、軽度の自発凝集性が認められ、これらの菌株は一応抗原変異の観察から除外されたが、この様な R 傾向は溶原性の獲得及びその他の性状変異と全く無関係であった。

総 括

赤痢菌 2b 型の S 9 株が放出する所謂 temperate phage を用い、このファージに感受性の赤痢菌標準株 3 a 及び 3 b 菌を耐性化乃至溶原化して種々の生物学的性状と抗原構造の変異を観察した。ファージ液への 3 代累代培養によつてファージ耐性株 11 株を得たが、その中で溶原性を獲得していたのは約半数の 6 株であつた。被検性状の中、インドール反応、M. R. 反応、アラビノース並にソルビットの分解及び抗原構造に明瞭な変異が認められたが、これらの変異の発生は溶原性の獲得とは相伴なわなかつた。即ち B 11, B 12 及び B 14 の如く、溶原化されていなくても以上の諸性状に明らかな変異を来した。この場合ファージは遺伝因子の運搬者として働いたのか、それとも単に淘汰因子として作用したのか明らかでなく、従来の文献にもこの点に異論が見受けられる。

Stocker et al (1953) も抗原変異株必ずしも溶原性獲得株とは限らずといひ、井関等 (1953) は遺伝物質の運搬は、吸着はするが増殖を許さない様な菌に対しても行われると述べている。中川 (1955) は抗原変異株は悉く溶原化されているが、S M 耐性変異株では必ずしも然らずといひ、S M 耐性変異を Lederberg の所謂 transduction に該当するものとして、この 2 つの変異を区別している。Anderson (1944) も T 系ファージと大腸菌を用いた実験において、ファージ耐性株 (非溶原性) に栄養要求性の変異を観察している。又 B 3 の如く溶原化して極めて多量のファージを放出するに至つた菌株でも全く変異を示さない例もあり、かかる株菌の特殊性も今後検

討を要する問題であろう。

Baron et al. (1953) のチフス菌と Vi ファージを用いた実験によると 1 つの細胞にはキシローゼ分解性か streptomycin 耐性か何れか 1 つだけが誘導され、井関等 (1953) の Salmonella を用いた実験も栄養要求型、マルトーゼ分解陰性の S. anatum が S. newington の temperate phage に感染して抗原の変換を起すと同時に、この抗原変異株の 1 部のものに原栄養型か、streptomycin 耐性か、マルトーゼ分解性の何れか 1 つが誘導されたという。以下の記載によると transduction では抗原変異がその根幹をなし、これに伴つて種々の生物学的性状の何れかに変異が現われると解される。

我々の実験では実験条件の差異に基づくとも思われるが、同時に 2 つ以上の性状に変異が認められた。抗原変異においても多くの文献では 1 つの細胞には 1 つの因子のみが誘導されると述べられていて、中川 (1955a) の Salmonella を用いた最近の実験で、O 抗原 10 と 15 の 2 つの因子が同時に誘導されることが観察されているに過ぎない。今回の実験では集落個々について検査されていないので断言は出来ないが、赤痢菌においては型及び群抗原に亘つて 2 つ以上の因子に変異が起る様に思われる。

なお変異の方向は抗原構造や生物学的性状及び毒力等のファージによる変異に関する上記諸家の報文によると、そのファージの doner strain の性状に誘導されている。しかして変異出現の頻度は抗原構造では約 5% (中川, 1955a) といわれ、その他の性状では遙かに低率で、Stocker (1953) や Lederberg et al., (1953) が変異細胞の分離には特別な選択手段を要すると述べていて、大体 10 万乃至 100 万分の 1 と考えられている様である。我々の実験で抗原構造は別として生物学的性状に所謂定向性変異が認められなかつたのは特別な選択操作をとらなかつたためとも思推される。何れにせよ自然的に近いこの様な実施条件下に得られる変異の方向は定向性であるのはむしろ稀であると考えられる。

文 献

- 1) Anderson, E. H.: Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 30, 397, 1944.
- 2) Avery, O. T., McLeod, C. M., and McCarty, M.: J. Exp. Med., 79, 137, 1944.
- 3) Baron, L. S., Formal, S. B., and Spilman, W.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 83, 292, 1953.
- 4) den Dooren de Long, L. E.: Zbl. Bakt., I. Orig., 120, 1, 1931.
- 5) Freeman, V. T.: J. Bact., 61, 675, 1951.

- 6) Freeman, V. T., and Morse, I. U.: J. Bact., 63, 407, 1952.
- 7) Griffith, F.: J. Hyg., 27, 113, 1928.
- 8) Groman, N. B.: Science, 117, 297, 1953.
- 9) 井関尙榮, 酒井達夫: 医学と生物学, 8, 1932, 1953.
- 10) 城谷勝光: 日細菌誌, 9, 1009, 1954.
- 11) 城谷勝光, 林薫, 松永文江: 日細菌誌, 9, 295, 1654.
- 12) Leder- berg, J., and Edwards, P. R.: J. Imm., 71, 232, 1953.
- 13) Lwoff, A.: Bact. Rev., 17, 269, 1953.
- 14) Mc Carty, M., and Avery, O. T.: J. Exp. Med, 83, 89: 97, 1946.
- 15) 中川武彌: 北海道医誌, 28, 13, 1951.
- 16) 中川武彌: (a) 日細菌誌, 10, 363, 1955.
- 17) 中川武彌: (b) 日細菌誌, 10, 553, 1955.
- 18) Parson, E. I., and Frobisher, M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 78, 746, 1951.
- 19) Stocker, B. A. D., Zinder, N. D., and Lederberg, J.: J. Gen. Microbiol., 9, 410, 1953.
- 20) 植竹久雄, 小原堯: 日細菌誌, 5, 164, 1950.
- 21) Voureka, A.: Lancet, 1, 62, 1948.
- 22) Zinder, N. D., and Lederberg, J.: J. Bact., 64, 679, 1952.