培地成分中に含まれる *Shigella sonnei* の 変異を促進する物質について

細 谷 省 吾 伊 藤 齊 内 田 元 清

東京大学伝染病研究所

平 田 義 正

名古屋大学理学部

〔受付： 7 月 10 日・1957 年〕

緒 言

細菌の S→R 変異は Arkwright¹⁾ の志賀赤痢菌及び Flexner 菌の smooth form 並に rough form の発見に始まりその後多くの研究業績がなされ種々な変異形式の中で最も普通に見られる重要なものである。この様な発育相の変遷は当初、集落及び細胞の形態の変化、菌浮游の自発凝集性の発現並びに菌力の低下によつて認められたものであるが (Arkwright, 1920, 1921, 1924^{1), 2)} 現在では通常特異性多糖体抗原の喪失という観点から規定されている。即ち S→R 変異に伴つて菌体の多糖体分割の一部又は全部が消失し、菌力低下を来し、抗原構造が變つて来るのであるが之等の現象は培養基成分と密接な関係があると見られている (Davis and Dubos³⁾)。S→R 変異に伴う菌体成分並に毒性の変化に関しても Boivin⁴⁾, Ivanovics⁵⁾, 黒屋, 佐藤, 氷室⁶⁻⁸⁾ 等によつて研究されている。一方 S 型より R 型への変異の促進については種々の業績があり Pepton 又は肉汁の濃度の影響¹⁰⁻¹²⁾, 培地の pH の影響^{11), 13)}, 寒天濃度の影響¹⁴⁾ などの報告がある。

S→R 変異の一現象として集落の変異を起す細菌の中で *Sh. sonnei* (大原, 箕田菌) は代表的なものとして諸家の実験対象となつているが本菌について同門の栃木が 1942 年培地中に所謂変異促進物質とも称すべき物質の存在する事を発見し、培地に使用した Pepton 並に馬肉水浸液の両者に多分に含まれている事を報告した¹²⁾。我々は此の現象 (以下集落変異と呼ぶ) に興味を持ち更に追試を試みようと思い、教室において日常使用している普通ブイヨン及び普通寒天培地の主要な窒素源であるカップ (魚肉) エキスに着目し此の中に含有されている集落変異促進性を有する劃分の精製を試みその化学的性状を追究し次の結果を得たので報告する。

実 験

(1) 菌株並に基礎培地の選択

この実験に使用した *Sh. sonnei* は S 型で都立荏原病院で患者から分離した 2~3 代目の永井, 青山, 入江, 酒本, 畠山, 安達の諸株である。又凝集反応に使用した因子血清としては S 型菌によつて免疫された家兎血清を P 型菌で完全に吸収したもの、又 R 型血清は完全な R 型菌で免疫された家兎血清を S 型菌で吸収したものである。実験に用いた基礎培地としては表 2 に示す無蛋白培地である。尚 Casamino Acids としては当研究室で内田の製造になるもの、及び細谷の指導による八洲化学製品の両者を使用した。この培地を平板として上記各菌株の 37°C 24~48 時間培養を継代したが常に S 型を保持し、予備凝集反応により R 型被凝集性が認められないので本培地を基礎培地として爾後魚肉エキスより変異促進物質の精製を行ふに当つては各精製段階において試料を本培地に添加し滅菌後被検菌を塗抹培養して試料の変異促進能力の有無を検べ生じた集落の形態的变化判定の基準とし併せて S 及び R 血清に対する被凝集性の変化を参考とした。次に実験に使用した S 型菌の選択には単個菌培養法を用いた。即ち第 1 回の実験には P de Fonbrune の Micromanipulator を用い、前記液状基礎培地 (基礎培地より寒天を除いたもの) に浮遊させ中村敬三氏の単個菌フィルム培地培養法の術式に従い基礎培地によるフィ

HOSOYA Seigo, ITO Hitoshi, UCHIDA Motokiyo and HIRATA Yoshimasa: Studies on a variation-stimulating substance for *Shigella sonnei* contained in culture medium. The Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo. Chemical Institute, Faculty of Science, Nagoya University. —Jap. J. of Bact., 12 (9), 713-719, 1957.

ルム培地上に37°C24時間培養により1個の菌より1個のS型の集落を得、S、R両因子血清によつて試験的凝集反応を行つてS型因子血清のみに凝集する事を確めてからこの菌を実験に供した。第2回以後の実験においてはGoebel, Baker, Periman が1949年 Sh. sonnei の抗原変異に関する実験に用いた dilution method¹⁶⁾を用いた。即ち平板培地上37°C12~24時間培養により發育したS型集落より Casamino acids 液状培地 5 ml に継代し37°C18時間培養すると平等な濁濁を來して發育する。之と同じ培地で階段的に稀釈すると殆んど常時 10⁸ 倍稀釈菌液 0.1ml 中に1個の菌が存在している。この事は各稀釈度の菌液を平板上に流し培養して集落の数を計算して確認した。上記10⁷, 10⁸, 10⁹ 倍各稀釈液各 0.1ml 宛を Casamino acids 液状培地 5 ml 宛分注した各10本の試験管に加へ37°C18時間培養すると 10⁷ 倍稀釈菌液を加えたものは全部發育を示し、10⁸ 倍稀釈菌液を加えたものは10本全部發育を見ない。中間の10⁹ 倍稀釈菌液を加えたものは10本中数本に發育を示す。

この数本は何れも多くの場合1個の菌より増殖したも

第 1 表

のと考える。之を滅菌生理的食塩水で適当に稀釈してその 0.1~0.2 ml を平板培地上に流す事により公平な条件下に何枚かの平板培地の培養結果を比較する事が出来た。この操作を経て最後に培養發育した菌の集落は完全に Smooth form で凝集原性にも変化はなかつた。

(2) カツオエキスより変異促進性部分の精製

物質の精製には先ず第1段階として第1表に示された過程に従つて進めた。即ち変異促進物質 (以下物質と略称する) が透析性のある事、活性炭末に吸着される事、及びメタノールに溶解する等の事を実験の結果知り得たのでこれらの諸性質を利用して精製を行つた。

先ずカツオエキスを蒸留水に加温溶解しこれを牛腸膜に分注し Toluene を重層、蒸留水に対し、氷室内にて加圧透析を行う。24時間毎に外液を更新、外液に着色物質の移行を見なくなる迄透析を行う。外液は合併し活性炭末を加え攪拌、液中の着色物質を完全に吸着し、濾液が無色透明になる迄炭末を加えるが本実験に使用した「白さぎ」印炭末では5%の添加で充分であつた。炭末添加攪拌後 Nutzsche にて吸引濾過すると濾液は無色透明になる。此濾液を減圧濃縮すると微黄色シラップ状になるが変異速進性はなく、Paperchromatography により各種アミノ酸の存在を認めた。Bial 反応は陰性であつた。

吸着炭末は3回水洗後大型 Soxhlet 連続抽出器を用いメタノールにより抽出を行い、メタノールを減圧溜去すると茶褐色飴状物が得られる。之を乾涸して後デシケータ内塩化カルシウム上に減圧下に一夜静置する。此のものは変異促進性があり Molische 反応陽性、Ninhydrin 反応陽性、Dische 反応陰性、Bial 反応陽性を示す。

一方透析内液は褐色不透明液として残るが之を減圧濃縮乾涸すると比較的粘稠性のない黒褐色固体を得たがこのものは変異速進性を認めず Bial 反応は陰性であつた。

(3) 変異促進物質添加培地上に發育した菌の性状

上記の精製法によつて得られた試料を前記基礎培地に 1 mg/ml→10mg/ml の割合に加え滅菌後平板培地にし、之に単個菌培養法により得られたS型菌の1個の集落よりの菌の生理的食塩水浮游液を作り、之を各種、各濃度に添加された平板培地並に对照として基礎培地(平板)に同時に塗抹し37°C18~24時間培養すると集落の形成を見るが对照の平板上では原集落と同じく小円形隆起透明平滑無構造な Smooth form を保持し、血清学的にもS型血清のみに凝集を示すが、之に対して物質1mgを添加した場合には既に原集落よりも大きい不正形辺縁鋸齒状扁平透明な集落を生じ血清学的にもS型、R型両血清に対し

凝集を示すに至る。培地中の物質の濃度を 2 mg/ml, 5 mg/ml, 10mg/ml と増量すると之に比例して集落の大きさも増大し、使用した菌株によつて相違が認められるが著しい場合は 5~10mg/ml 添加した例では原集落と全く異なる数倍乃至十数倍の大きさの扁平不透明アメーバ状の巨大集落を生じた。また単個菌培養法により一定濃度に物質の添加を行つた場合、培地上に生じた集落は外見上殆んど同じ形状であつて Smooth form と rough form の混在は見られなかつたが何れの場合にも集落の肉眼的変化は敏感な態度を示すのに較べ、抗原的变化は R 型血清のみならず S 型血清にも被凝集性を示すに止つた。その他第 2 表に示すように Millon 反応、硫酸銅反応、Trypaflavin 反応、偶発的凝集性等 S 型と R 型との鑑別に用いる諸反応は何れも劇然とした変化は認められなかつた。

(4) イオン交換樹脂による物質の精製

前記(2)の操作によつて精製した試料をイオン交換樹脂を用いて選択的に吸着せしめて精製しようとする試みは予備実験によつて大体次の事を知つた。即ち物質は陰イオン交換樹脂に吸着され、陽イオン交換樹脂には吸着されない。陰イオン交換樹脂には Amberlite IR 4 B, Amberlite IRA 400 及び 410 (強塩基) を、又陽イオン交換樹脂には IRC 50 を使用し此の両者を組合せて試料中に含まれる不活性の共存物を除去して物質の精製を

第 2 表 変異促進物質添加培地上
発育 *Sh. sonnei* の性状

培地中物質量	10 %	5 %	2 %	1 %	Kontrol (0)
発 育	++	++	++	++	+
集落の性状
Millon 反応	±	±	±	±	±
硫酸銅反応	+	+	+	+	+
Trypaflavin 反応	+	+	+	+	±
Bouillon 培養	沈 澱 性	沈 澱 性	微分沈澱性	微分沈澱性	微分沈澱性
自発凝集性	±	—	—	—	—
S 血清凝集性	+	+	+	+	+
R 血清凝集性	+	+	+	+	—

基礎培地組成

Casamino Acids	1%
KH ₂ PO ₄	0.2%
Na ₂ HPO ₄	0.2%
NaCl	0.5%
Nicotinic acid amide	0.001%
Agar Agar	3%
pH 7.2	

行つた。即ち第 3 表に示した様に(2)の操作によつて精製した試料約 2.0 g を蒸留水 40ml に加温溶解し、之を予め苛性ソーダで前処理した Resin IR 410, 0.9×100 cm の column に 15~20g tt/min の速度で通過させると物質は column の上部に黒褐色の幅の広い帯をなして吸着され通過液は無色透明で Bial 反応陰性、Ninhydrin 反応陽性で之を pH 7.0 に修正した後減圧濃縮乾涸して培地に添加し培養を試みたが 10mg/ml の濃度に添加した培地においても rough form の集落の形成を見なかつた。一方 Resin は多量の蒸留水で水洗した後 1.0% NaCl 溶液を 1400ml 通過させると物質は殆んど溶出される。此の溶出液は Bial 反応陽性、Ninhydrin 反応陽性である之を pH 7.0 に修正した後減圧濃縮乾涸し培地に添加培養を試みると 1 mg/ml の濃度に加えた場合でも rough form の集落のみを生じた。

次いで之を蒸留水 40ml に再溶解し予め塩酸溶液で前処理した陽イオン交換樹脂 IRC 50 (H 型) の 0.9×30 cm の column に 15~20g tt/min の速度で通過させると column の上部に幅の狭い褐色の帯を生じるのみで着色物質は殆んど通過してしまつた。樹脂は蒸留水 30ml で洗ふと洗液は Bial 反応及び Ninhydrin 反応陽性を示し、之は通過液に合併する。樹脂に更に 1.0% 苛性ソーダ溶液 150ml を通過させることにより上層の着色帯は漸次下降し溶出させられるに至る。この溶出液を pH 7.0 に修正し減圧濃縮乾涸してメタノールに溶解、不溶の無機塩を濾別する事 3 回繰返し、Bial 反応を検すると(±)であり、之を培地中に 10mg/ml の割合に加えて培養を行つたが rough form の集落は生じなかつた。一方通過液は微黄色透明で Bial 反応及び Ninhydrin 反応陽性でこれを pH 7.0 に修正し、減圧濃縮乾涸すると褐色鉛状の固体が得られ、これを培地に添加培養を試みると 1 mg/ml の濃度で rough form の集落を生じる。この褐色鉛状の Bial 反応、Ninhydrin 反応、Molische 反応夫々陽性、Dische 反応陰性の物質を更に第 3 表の終りに示すように少量のメタノールに溶解し、少量のアセトンを加えて放置すると白色の結晶状のものが析出した。この結晶状のものが或いは所望の物質ではないかと億測したが分析の結果タウリンであることがわかり、又不活性であることも培養により確認した。

(5) Äthylenglykol-monoäthyläther による精製

この物質はメタノールに易溶、エタノールに可溶、ブタノールに幾分可溶、アセトン、氷醋酸、エーテルに難溶であるが Äthylenglykol-monoäthyläther に可溶性であるのでこれを溶媒として精製を試み、第 4 表に示す過程

第3表 Resin による精製

で行った。即ち(2)の精製法を終えた試料約50mgをメタノール 1 ml に溶解これに Äthylenglykol-monoäthyläther (以下 Ä-g-m-ä と略記) を5 ml 加へて攪拌すると黄白色不溶性沈澱を生じる。

この沈澱は目皿ロートで吸引濾別し更にメタノール1, Ä-g-m-ä 5の混合溶媒で3回洗滌し洗液は濾液に合併しこれを減圧濃縮にて約 1/3 量位迄濃縮すると漸次黄白色の沈澱をじる。此の沈澱は傾瀉により上清と分け、Ä-

第4表 Äthylenglykol-monoäthyläther を solvent とした精製

g-m-ä で洗滌し洗液は上清に合併した。この上清部は Bial 反応陽性を示した。これを Aluminiumoxide (nach Brockmann, Merk) 約 4 ml, 7×0.9 cm の Columne にて Chromatography を試みると着色は Columne 全体に一樣に拡る, 次いで Ä-g-m-ä, 次にメタノールで分別溶出を試み, Fr.1~Fr.5 に区分し, 夫々をその儘 3~4 日間室温に放置すると器底に微量の粗結晶が析出したが之等は変異促進性を認めなかつた。然し夫々の上清は減圧濃縮乾涸して培養実験を行つたところ Fr.1~Fr.4 迄は何れも 5 mg/ml の割合に加へると rough form の集落を生じ, R型及び S型両因子血清に何れも凝集を示した。

(6) 物質の化学的性状

精製過程において示されたように本物質は活性炭末に吸着される。メタノールに易溶性, エタノール, Äthylenglykol-monoäthyläther 等に可溶性, ブタノールに幾分可溶性を示し, 透析性がある点から比較的低分子のものと推定出来るが, 同時に生物学的活性と平行して Bial 反応, Ninhydrin 反応は常に陽性である事が示された。尚 Molisch 反応陽性, Dische 反応陰性である。又有

機磷の含有は精製過程によつて異なりイオン交換樹脂による過程においては AmberiteIRA 410 に吸着した物質 1.0%, 食塩水で溶出した部分にては Fiske-Subbarow 法による分析値は 1.5 r/10ml 即ち 0.15% であつたが Amberite IRC 50 を通過させた後では 0.1% であつた。

次に Ä-g-m-ä による精製物質についてアミノ酸及び糖の Paperchromatography を行つた結果は第 5, 6 表の如くであつた。即ちアミノ酸の Paperchromatography には溶媒として Butanol: 醋酸: 水 = 4: 1: 1 を, 又濾紙は東洋濾紙クロマトグラフィー用のもの

第 5 表 Äthylen-glykol-monoäthyl-äther に
より精製した活性物質の Paperchromatography による糖分析

Solvent Formic acid (80%) 5ml
n-Butanol 60ml
water 5ml
→
→refluxing (water-bath 上) 1hr 後更に 30ml
の水を加え冷却しつゝ振る。24hr 後下層を
除き使用する

第 6 表 Äthylen-glykol-monoäthyl-äther に
よる精製物質の Paperchromatography
による定性分析

		F ₁ -F ₂	F ₃	F ₄	F ₅
sugar	glucosamin	+	+	+	
	glucose	+	-	-	
	Ribose	+	+	+	
	Rf 0.29?	+	-	-	
amino-acid	Leucine	-	-	+	-
	Valine	-	-	+	±
	Tryptophane	-	-	-	+
	Proline	-	-	-	+
	glutamic acid	-	-	+	+
	Rf 0.68?	-	-	+	+
	Rf 0.75?	-	-	+	+

を使用し, 上昇法を行つたが (2) の過程を経て精製せられた物質は Leucine, Valine, Tryptophane, Proline, Glutamic acid 及び不明の Rf 0.68 及び 0.75 を示す 7 種のアミノ酸の存在を知つた。更に一方この物質を (5) の Ä-g-m-ä により精製した Fr. 1 ~ Fr. 2 及び Fr. 3 には上記アミノ酸の存在を認めず, Fr. 4 において Leucine, Glutamic acid 及び Rf 0.68, 0.75 のものを, 又 Fr. 5 においては Leucine を除く上記の総てのアミノ酸の存在を認めた, これらのことより遊離のアミノ酸の存在は必ずしも生物学的活性とは関係のないことが示される。

糖の定性には溶媒として次のものを使用した。即ち Formic acid (80%) 5 ml, Butanol 60 ml, 水 5 ml 混液を水浴上で加温 1 時間後更に 30 ml の水を加え冷却し乍ら振盪し, 24 時間後下層を除き, 上層部を使用するに Fr. 1 ~ 4迄 Glucosamin の反応しか出なかつたが各 Fraction を 5 N-H₂SO₄ で 100°C 72 時間加水分解すると次のような物質の存在を示すスポットが現れた。即ち Fr. 1 ~ 2 では Glucosamin, Glucose, Ribose 及び Rf 0.29 の不明物質を, Fr. 3 では Glucosamin 及び Ribose を, Fr. 4 では Glucosamin 及び Ribose を定性し得た。従つて生物学的活性を示す部分に Glucosamin 及び Ribose の存在を知つた。

(7) 物質の加熱, 酸及びアルカリに対する安定性

本物質の水溶液は pH 2.0 以下及び pH 10.0 以上にて安定であつて変異促進能力には何等の変化も見られない。次に精製 (2) の過程にて得られた試料 3.0 g に 10% HCl 5 ml を加え 100°C にて 5 時間加熱後 NaOH で中和, 減圧濃縮乾涸し, メタノール及び 2 回塩を除去した後, 培地に添加培養実験を行つた処原試料では 1 mg/ml の濃度にて rough form の集落を生じ, R 型血清にも凝集を示したが, 加水分解後の試料は 10 mg/ml の濃度に加へても Smooth form の集落のみを生じ又 S 型血清のみに凝集を示した。

(8) Sh. sonnei 以外の菌に対する変異促進性

Sh. sonnei 以外に E. coli の新鮮分離株, 赤痢菌 2 a (駒込 B III) 山田株, 菊池株, 及び 2 bPR 10307B 株, 百日咳菌 I 型菌田中, III 型菌 (春日博士より分与のもの) に対する本物質の作用は第 7 表の如くて, 即ち E. coli 及び赤痢菌 2 a, 2 b の諸菌株においては Sh. sonnei の実験に使用したのと同様の基礎培地を用い第 1 表の精製法により作られた試料を 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2 mg/ml の各濃度に添加した平板培地を作り, 各菌株の基礎培地上 37°C 18 時間培養の smooth form の集落の菌を塗抹し, 37°C 18 時間培養後判定した処, E. coli では rough form

第7表 数種の細菌の S→R 変異に及ぼす影響

菌 株	使用培地	添加量	判 定
E. coli	Casamino acids 無蛋白培地	2~10 mg/ml	変異集落生ぜず
赤痢菌 2 a. 山田株	同 上	同 上	2 mg/ml 添加 変異集落生ず
赤痢菌 2 a. 菊池株	同 上	同 上	同 上
赤痢菌 2 b. PR 10307 B	同 上	同 上	変異集落生ぜず
百日咳菌 I 型菌 田中株	Bordet -Gengou 培 地	5 mg/ml	L S 凝集 (+) O 凝集 (-)
百日咳菌 III 型菌 (春日氏より分与)	同 上	同 上	L S 凝集 (-) O 凝集 (+) 変異集落生ぜず

の集落を生じなかったが、赤痢菌 2 a 山田株及び菊池株は何れも 2 mg/ml の濃度においても rough form の集落を生じた。赤痢菌 2 bPR 10307 B 株にては 10mg/ml の濃度に添加した培地においても rough form の集落は見られなかった。又百日咳菌 I 型菌田中株並に III 型菌は Bordet-Gengou 平板培地上に上述と同様の試料を約 5 mg/ml の濃度に添加 37°C 3 日間培養観察したが I 型菌は I 型菌の性状を具えた集落を生じ、L, S 因子血清に対する凝集反応上の変化も認めなかった。又 III 型菌も同様 III 型菌の性状を具えた集落で III 型因子血清に対する凝集反応性を保持していた。

総括並びに考察

1) Sh. sonnei の S 型新鮮分離菌を Casamino acids を窒素源とする無蛋白固型平板培地に継代培養しても S→R 変異は見られず依然 S 型菌の性状を保持する。

2) 普通ブイヨン中に窒素源として加えられているカツオエキス中に Sh. sonnei の S→R 変異を促進する物質の存在することを知り、その化学的性状を追究し乍ら之等の諸性質を利用して精製を試みた。即ちこの物質は活性炭に吸着され、メタノールに易溶、透析性を有するから、カツオエキスを先ず加圧透析により物質を外液に移行後活性炭に吸着し、メタノール抽出することによって本物質を得ることが出来た。又此の物質は陰イオン交換樹脂に吸着され陽イオン交換樹脂には吸着せられない、従つて Amberlite IRA 410 に吸着させ食塩水で溶出し、陰イオン交換樹脂に吸着されない不活性部分を除去し、更に Amberlite IRC 50 を通過させて陽イオン交換樹脂に吸着する不純物を除く事により精製の歩を進めることが出来た。又他方本物質が Äthylenglykol-mon oäthyl-äther に可溶性であるためこれを溶媒として活性

アルミナによるクロマトグラフィーを行い分別溶出を行つた、しかし各分別部に夫々変異促進性を認め分別溶出の効果は揚げ得なかつたが各分別部分の化学的性状を知るに役立った。

3) この物質の Sh. sonnei に対する変異促進性を見るために使用される菌は単個菌培養法を用い、判定には集落の肉眼的変化並に S, R 両因子血清に対する試験的凝集反応により決定した。即ち精製過程に従つて生じた試料について S→R 変異促進的傾向があるか否かは夫々所定の濃度に添加し培養する事により判定を行つた。本物質の添加により肉眼的な集落の形状の変化は迅速で一代にて完全な rough の集落を形成しこの集落の菌は R 因子血清に対して凝集反応を現す性質を獲得するが一方において S 因子血清によつても凝集を示し、又 Millon 反応、硫酸銅反応、Trypaflavin 反応、自発凝集性においては余り判然とした変化は示されない。

4) 本物質の化学的追究を行つて定性的に Bial 反応による Pentose の存在を知り得た。又 Ninhydrin 反応陽性、Molisch 反応陽性、Dische 反察陰性、又 Paper chromatography により Ribose, Glucosamin の存在を知つた。即ち此の物質は Ribose を含む比較的低分子の物質であろうと推察される。

5) 本物質は熱、酸性及びアルカリ性に対し比較的安定であるが 10% HCl にて 5 時間加水分解するとその変異促進性は消失する。即ちアミノ酸又は糖として単一なものが此の作用に与つてゐるのではない事を知つた。

6) 本物質は赤痢菌 2 a (駒区 B III) 2 株に同様に変異促進的に作用するが、赤痢菌 2 b I 株及び E. coli I 株、百日咳菌 I 型菌並同 III 型菌には変異速進作用を認めなかつた。

細菌の S→R 変異の本態については微生物化学的にも充分解明されていない、之等に関与する因子は多種であろうという事は先人の業績から推測されるがその因子の一つとして培地成分中の変異促進物質の存在を確かめその化学的性状の一部を追究したが将来 S→R 変異を繞る基礎的或いは實際的な研究を進める上に多少貢献する事が出来れば幸である。

終りに臨み本研究を進めるに當つて多大の御援助を戴いた名古屋大学理学部平田研究室の各位及び大橋氏。東京大学伝染病研究所第 1 細菌研究部の各位、菌株の分与を戴いた東京都立荏原病院の皆様へ深甚の謝意を捧げます。

尙本論文の大意は昭和 30 年 3 月 24 日伝染病研究所講堂にて開催せられた細谷教授退官記念伝研、予研學術

集談会において発表した。

文 献

- 1) Arkwright: J. Path. & Bact. 23, 358, 1920.
- 2) Arkwright: J. Path. & Bact. 24, 36, 1921.
- 3) Arkwright: Brit. J. Exp. Path. 5, 23, 1924.
- 4) Davis & Dubos: J. Exp. Med. 86, 215, 1947
- 5) Boivin: Rev. d. Immunol. 1, 553, 1935.
- 6) Ivanovics: Z. Immunit.forsch. 87, 310, 1936
- 7) 黒屋, 押尾, 胡: 上海科研報, 9, 1, 1939.
- 8) 黒屋, 小泉: 東北医誌, 26, 1, 昭15, 1940.
- 9) 黒屋, 小泉: 東北医誌, 29, 231, 昭16. 1941.
- 0) 佐藤, 氷室: 日細誌, 8, 8, 835, 1953.
- 11) Dienst: J. Bact. 26, 489, 1933.
- 12) Koser & Styron: J. Inf. Dis. 47, 443, 453. 1930.
- 13) 朽木: 実験医学雑誌, 26, 443, 昭17, 1942.
- 14) 朽木: 実験医学雑誌, 27, 54, 昭18, 1943.
- 15) 染谷: 衛生伝染病学会誌, 27, 423, 昭6, 1931.
- 16) 中沢: 日細誌, 7, 2, 1952.
- 17) 中村: 自然, 8(5), 54, 1953. 8(6), 62, 1953.
- 18) Baker, Gaebel, Periman: J. Exp. Med. 89, 325, 1949.
- 19) Fiske & Subborow: J. Biol. Chem., 66, 375, 1925. 81, 629, 1929.