バクテリオファージの血清学的研究

第 II 報

長野 泰一 竹内 祥

東京大学傳染病研究所第四研究部 (部長 長野泰一)

[受付: 7 月 2 日, 1952 年]

第 I 報に続いて次の実験を行つた。

II. 不活性ファージによる活性ファージの中和の促進

1) 紫外線不活化ファージによる活性ファージの中和の促進

紫外線不活化ファージで尙お免疫原性のあるものは抗体を吸収できるはずである。紫外線不活化ファージによる抗体吸収をみるために、我々は新鮮ファージ液 (粒子数 10^5) と免疫血清 (50 倍稀釈液) と、8 分間, 30 分間, 60 分間紫外線照射ファージ液 (粒子数 10^9) とを等量混合し、対照には不活性ファージ液の代りにブイオンを加え、 37°C 7 時間置いた後、菌と混合して寒天培地に塗つた所、不活性ファージ液を加えたものでは対照よりも孔の数が少かつた。(第 6 表)

第 6 表 紫外線不活性ファージの中和促進作用

紫外線照射分數	8	30	60
ファージ數	205	193	115
対照ファージ數	550		

第 7 表 紫外線不活性ファージの中和促進作用

接 觸 時 間	0	2	4	6	8	10
免疫血清 + 生ファージ液 + 紫外線不活性ファージ液 ブイオン	10×598	269	224	74	69	35
	10×614	1120	655	289	195	120
生ファージ液	136		142	139	124	107

即ちこの実験条件では不活性ファージによる抗体吸収はみられないで、むしろ中和反應が促進されたような結果となつた。この成績は寒天培地に塗る際に不活性ファージと活性ファージとの間に干渉が起つたことによるのではない。何故なら使用した不活性ファージと活性ファージとの混合液は活性ファージだけの場合と同じだけの

孔をつくることが分つているからである。

不活性ファージは免疫血清の力價を高からしめるのであるか、それとも單に反應の進行を速かならしめるだけなのか、之をみるために混合液を 10 時間までしらべた。(第 7 表)

表に示すように不活性ファージを加えた方が孔数が少く、これは 8 時間及び 10 時間 (この頃になるとファージの自然減弱がみられる) になつても変わらない。即ち單に中和反應を促進するだけではない。たゞし本報告では中和促進作用と呼ぶことにする。

更にこのような作用は、紫外線を 30 秒間照射して部分的に不活化したファージにはあるが、2 秒間照射したものにはないことが分つた。

2) 紫外線不活化ファージの中和反應促進作用の機序

紫外線不活化ファージが中和を促進するのは、活性ファージに作用するのか、抗体に作用するのか、或は又活性ファージと抗体との結合物に作用するのかをみるために次の実験を行つた。即ち紫外線 (30 分間) 不活化ファージと活性ファージと免疫血清との三者を種々に組合せ

て、第 1 試験管から第 5 試験管までの混合液を作り、 37°C に置き種々な時間にその生残ファージをしらべた。(第 8 表)

NAGANO, Yasuichi & TAKEUCHI, Shō: Serological studies on the bacteriophage. The Institute for Infectious Diseases, The University of Tokyo. —Jap. J. of Bact., 8(1): 23–25, 1953.

第8表 免疫血清、生ファージ及び紫外線不活性ファージの相互関係

接 觸 時 間		0	2	4
試 験 管 番 號	1. 免疫血清+紫外線不活性ファージ液(37° 1時間)+生ファージ液	10×237	177	70
	2. 生ファージ液+紫外線不活性ファージ液(37° 1時間)+免疫血清	10×153	60	20
	3. 免疫血清+生ファージ液(37° 1時間)+紫外線不活性ファージ液	10×10	40	18
	4. 免疫血清+生ファージ液+紫外線不活性ファージ液	10×145	61	20
	5. 免疫血清+生ファージ液+ブイオン	10×149	144	58

第9表 生ファージ、抗体結合物に及ぼす紫外線不活性ファージの中和促進作用

生ファージ、免疫血清接觸時間	1	2	4	6
生ファージ、免疫血清 + { 紫外線不活性ファージ ブイオン	99	87	81	47
	610	428	325	269
中和促進率	16%	20%	23%	17%

第10表 紫外線不活性 Cs ファージの T₂ ファージ中和試験に及ぼす影響

接 觸 時 間	2	4	6
T ₂ + T ₂ 免疫血清 { 紫外線不活性 Cs (Dにて増殖) 紫外線不活性 Cs (Bにて増殖) ブイオン	10×513	10×115	367
	10×481	10×106	334
	10×506	10×102	351

結果は、不活性ファージは活性ファージには作用しないし(第2試験管)活性ファージ粒子のいくつかは抗体とすでに結合した時期に不活性ファージを加えても中和は促進され得る(第3試験管)。不活性ファージが活性ファージを加える前に抗体と接触していると、中和の程度は明らかに低くなっている(第1試験管)。これは抗体の吸収によるのだと思われる。不活性ファージが中和を促進するのは、それが遊離抗体に作用するの否かを決定するのは難しい。

不活性ファージが活性ファージと抗体との結合物ができ上った後に加えられた場合にも、尚お中和を促進することができるか否かをみるために次の実験を行った。活性ファージと免疫血清との混合液を作り、種々な時間37°C に2時間置いてから後に菌液と混合して寒天培地に塗りファージ数をしらべた。対照は不活性ファージ液の代りにブイオンを加えた。(第9表)

結果は、6時間置いた後に不活性ファージを加えた場合の促進の割合は時間を置かないで直ぐ加えた場合のそれと殆んど同じだった。6時間後には活性ファージと抗体との結合は殆んど完結している。というのは6時間後に混合液を塗った場合と8時間後に塗った場合の孔数は大差ないからである。

3) 中和促進作用の特異性

T₂ ファージは Cs 抗体によつて中和されず、Cs ファージは T₂ 抗体によつて中和されないことが証明されたので、Cs ファージを不活化したものが T₂ ファージのその抗体による中和を促進するか否かを前と同様な方法でみた。T₂ ファージは大腸菌B株と共に培養して得たものである。結果は Cs ファージは T₂ ファージの中和を促進しなかつた。(第10表)

大腸菌B株は Cs ファージにも感受性があるから、B株で増殖させた Cs ファージを作った。その Cs ファージを紫外線照射し、それが T₂ ファージの中和を促進する作用があるか否かをみたが促進効果は認められなかつた。(第10表)

不活性 Cs ファージは血清学的に無縁な T₂ ファージの中和を促進しないし、又菌体成分は促進作用に無関係なことが判つた。更に T₂ 不活性ファージは Cs ファージの中和を促進しないことが判つた。

4) 物理、化学的物質の中和促進作用に及ぼす影響

上述の如く 100°C 10分間加熱すればファージの免疫原性は失われる。中和促進作用についてみると 100°C 10分間、120°C 20分間加熱しても作用は失われなかつ

第 11 表 100°C 10 分間加熱不活性ファージの中和促進作用

接 觸 時 間	0	2	4	6
免疫血清+生ファージ液+ 加熱不活性ファージ液 ブイヨン	10×310	132	92	40
	10×310	381	274	135

第 12 表 120°C 20 分間加熱不活性ファージの中和促進作用

接 触 時 間	0	2	4	6
免疫血清ト生ファージ液＋ 				

第 13 表 N/10 NaOH, HCl 加 100°C 2 時間加熱不活性ファージの中和促進作用

接 觸 時 間		0	2	4
免疫血清+生ファージ液+	NaOH 不活性ファージ液	10×590	357	107
	HCl 不活性ファージ液	10×574	846	457
	ブイヨン	10×564	782	428

た。(第 11. 12 表)

次に酸とアルカリの作用をみた。ファージ液に HCl 或は NaOH を N/10 になるように加え、100°C 2 時間加熱した後 pH を 7.2 に修正し、このように処置したファージに促進作用があるか否かをしらべた。結果は N/10 NaOH で処置したファージには促進作用がみられ

たが、N/10 HCl で処置したものには作用はみられなかった。(第 10 表)

更に NaOH の濃度を高めて同様実験を行つた N/5 NaOH で処置すると作用はみられなくなつた。

総括, 結論, 文献は第 III 報に一括して述べる。