細菌の電子顕微鏡的研究

馬鈴薯菌の芽胞に就て

俵 壽 太 郎

岡山大学医学部細菌学教室 (主任 村上栄教授)

〔受付: 2月17日 1954年〕

緒 言

芽胞を形成する細菌の多くは桿状菌に属し、桿状の発育型菌体の老熟とともに、其の一部に光屈折度の高い円形乃至楕円形の芽胞を形成する。此の芽胞は適当な発育条件下では再び発芽して発育型菌体となり、常法で分裂増殖して又芽胞が形成される。

而して芽胞の生物学的役割に就ては、其の形成は増殖の型式ではなく、発育型はたゞ1個の芽胞を作り、芽胞は夫々に発芽してたゞ1個の発育型となるのみで、其の過程に依つては明らかに数の増加はあり得ない。又芽胞は物理的・化学的要因に対する抵抗性が強いところから、悪環境に対する順応形態だと意義づける人が多い。然し発育型菌体の繁殖に好適な培養条件に於ても芽胞の形成される事実からして、むしろ正常な生活環の一環をなすものとの考えを最近もつている人もあるようだ。いずれにしても芽胞の生命は数年乃至数10年に渡つて存続し得るといわれている。

次に形態学的には等質な原形質の濃縮したものとみなされてきたのであるが、Robinow (1953)¹⁾の研究に依り芽胞の中に主として被膜の周辺に近く Feulgen 陽性の核様構造を記載するようになっていく。

最近電子顕微鏡的に芽胞の研究を Knaysi (1945)²⁾が行つて以来、内外の研究者に依り数種の菌に就て研究が行われているが、未だ不明の点が多い。

兎に角、細菌の芽胞に関しては生化学的にも物理的にも興味ある現象が色々あり、アメリカに於ける細菌芽胞に就てのシンポジウムの内容 (1952)³⁾に依つても未解決の問題は実に多い。

そこで広く芽胞に関する研究をするべく、著者は既に破傷風菌の芽胞形成過程に就て発表 (1953)⁴⁾したが、今回は馬鈴薯菌に就て実験を行い、芽胞の形成過程、形態及び発芽過程に就て種々の事項を知ることが出来たので報告する次第である。

実験方法及び結果

教室保存の馬鈴薯菌の普通寒天培養を行い、培養時間の経過に伴う芽胞の変化を電子顕微鏡的に観察した。試料作製に際しては其の操作中に試料が蒙るであろう影響を極力少くする為、遠心沈澱法に依る滅菌生理的食塩水での洗滌操作は3,000 r.p.m. 20分間で2回行つたに過ぎないが、勿論一層の正確を期する為、洗滌しない其の儘のものに就ても直接検して対照とした。使用電子顕微鏡は日立製作所製HU-6型、電子電流100 μ A, Shadowing したものは全て Cr-Shadowing で直接撮影倍率は5,000倍、撮採した写真は全て10,000倍のものである。

其の結果培養時間の浅い幼若型菌体は、やはり電子線不透過性物質で充満されて居り数本の鞭毛を見る。此の時期では単時間に間断なき成長及び分裂増殖を繰返す為、一連の長い連鎖を作るが之は馬鈴薯菌の特徴と考えられる。かゝる長い連鎖をなした各菌体にも培養時間の進行に伴い其の内部に透過性部分を生じて来て一部に甚だ不透過性の強い芽胞を形成する。

此の芽胞は、透過性となつた陳旧菌体部の融解に依つて裸出することもあり (写真1)、或いは稀に菌体間に永く残つて其所から更に発芽することもあり、又恰も陳旧菌体部から脱出する如く見られる場合もある (写真2) 然しこれは試料を作製する際、乾燥すること或いは其の操作中に物理的作用の幾分加わることに依つて見られるのであるかも知れない。

いずれにしても芽胞は菌体内に形成された後に遊離した個々のものとなる。新生されたばかりの芽胞 (写真3)

TAWARA Jutaro: The Electronmicroscopic Studies of Bacteria (II) on the Spores of *Bacillus mesentericus*: Department of Bacteriology of Medical Faculty, Okayama University. : — Jap. J. of Bact. 9(5), 319-321, 1954.

は、全体が電子線不透過性であり、形は桿状型で大きさは、長さが $1.2\sim 1.4\mu$ 、幅が $0.7\sim 0.8\mu$ と測定されるが、此の形態及び大きさは光学顕微鏡的に見たものより一層正確なものではなからうか。

斯の如き新生芽胞開始に際して、其の周辺部に薄い透明なる膜様部を認める。芽胞と陳旧菌体部とを比較したもの（写真4）の中にも既に該部の認められるものがある。該膜様部は、遠心沈澱法で集めた芽胞のみの培養を試るとよく判る。即ち芽胞の発芽は時間的に見て甚だ早く（数分以内には開始される）、先ず芽胞から電子線不透過性の内容が脱出し、該膜様部は其のあとに、透過性にして皺のある脱け殻として残る。内容が脱出しつゝあるもの（写真5）及び脱出後の被膜（写真6）を見て判る如く、其の方法は一概的に言えず、被膜の一部に内容脱出口と見られる破損部が認められるが、芽胞の側部にあることもあり極部のこともある。更に発芽が進めば脱出内容部の一部に突起を認め（写真7）、これが次第に伸長して（写真8, 9）一個の発育型菌体となり再び分裂を繰返えして長い連鎖をなすが、此の発芽原芽胞は相当長期間、電子線不透過性を示したまま附着しているようである。又芽胞から発芽して生じた幼若菌体部は常に電子線不透過性物質で充満されていることは、菌体中に芽胞が形成されていく時とは全く逆の関係にある結果を得た。

結 語

余は馬鈴薯菌に就て芽胞形成、形態及び其の発芽過程を、培養時間を追つて電子顕微鏡的に観察して次の事を知った。

即ち菌体内で完成された芽胞は其の殆どのものが、透過性となった菌体から何らかの方法で裸出するようであり、時に或は永く菌体中に存することもある。そして芽胞全体は甚だ強い不透過性を示し、形は対称性の桿状形で幅は $0.7\sim 0.8\mu$ 、長さは $1.2\sim 1.4\mu$ である。発芽に際しては、先ず不透過性の内容が透過性で皺のある脱け殻被膜を残して脱出し、しかる後に其の脱出内容の一部からやはり不透過性の突起を出し、1箇の菌体に迄成長していく。此の発芽形式は、形は変わらずに発育型となる所謂直接発芽に属する。又此の芽胞から発芽するに伴つて生じてくる新生菌体は常に不透過性物質で充満されて

いるのであるが、此の事は芽胞が形成されるに伴つて菌体中の不透過性物質が、其の部位に濃縮移動して行く事実（破傷風菌の場合にも見られる事であるが）と対照して甚だ興味があり、此の物質が菌体に必要な成分であることを想像させると考える。

尙芽胞の発芽過程に於て、写真5及び6に示す被膜は培養菌集落中には常に見られ、染色標本では一様に色素で染まつた成熟芽胞の中に混じて、輪廓のみ染まつて内容の染まらぬ芽胞として可成り多く見られる。これは培養中に既に成熟完了した芽胞が更に発芽して其の後に内容のない不染色性の脱け殻として残したものと混じていることを意味するもので、馬鈴薯菌に於ける芽胞は、あながち生活環境の悪化のみに依つて生ずるものとは考えられないし、又其の発芽に要する時間の甚だ短時間であることも示している。故に此の事を知る為にも写真3に示す如く既に完成され、母細胞から自由になった成熟芽胞のみを集めて後、発芽試験を行つて検討する必要がある。

次に芽胞の内部構造を知る為、光学顕微鏡的によく行われる稀塩酸液処理、苛性曹達液処理等を行つたが悉べて陰性に終つた。

Dubos (1952)⁵⁾に見る如く N/HCl 処理に依る芽胞で其の側面に存する突出部を核であるとして示している馬鈴薯菌芽胞の電子顕微鏡写真は、丁度写真7に示す無処理発芽初期の像の如くであり、かゝる程度の薬品処理に依り変化を起させるよりも、今後行う積りである超薄切片法に依る内部構造の観察を行つて検討する必要があると考え、此所では一応疑問に思つている。

稿を終るに臨み絶えず御指導を賜つた村上榮教授に心から深謝致します。又電子顕微鏡写真で協力して下さつた黒田宗昌、林信男の両君にも厚く謝意を表します。

文 献

- 1) C. F. Robinow: J. Bact. 65, 378~382, 1953
- 2) Knaysi, G.: J. Bact. 49, 473~491, 1945.
- 3) Williams et al.: Bact. Rev. 16, 89, 1952.
- 4) 俵壽太郎: 日本細菌学雑誌, 8, 301~302, 1953
- 5) R.J. Dubos: 細菌細胞 (川喜田愛郎訳) 349~352 1952.