kai, T. & Iseki, S.: Gunma J. Med. Sci. 2, 235, 1953. 4) 植竹・中川・水島・秋葉: 日本細菌学雑誌 9, 682, 1954. 5) 植竹: 日新医学 24, 214, 1955. 6) 中川(武): 日本細菌学雑誌 10, 363, 1955. 7) Uetake, H., Nakagawa, T. & Akiba, T.: J. Bacteriol. 69, 571, 1955. 8) 中川(武)・土屋: 札幌医学雑誌 7, 321, 1955. 9) Seligmann, E. & Saphra, I.: J. Immunol. 54, 275, 1946. 10) Saphra, I. & Seligmann, E.: J. Bacteriol. 54, 270, 1947. 11) 内田: 札幌医学雑誌 (印刷中). 12) 小島・八田: 食物中毒菌 1941. 13) Edwards, P. R. & Bruner, D. W.: Serological Identifi-

cation of Salmonella Culture 1942. 14) Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae 1951. 15) 伝研学友会: 細菌学実習提要 1951. 16) Jones, D. & Krueger, A. P.: J. Gen. Physiol. 34, 347, 1950. 17) 内田・中川(昭)・甲斐: 札幌医学雑誌 9, 268, 1956. 18) 植竹・小原: 日本細菌学雑誌 5, 164, 1950. 19) 小原: 札幌医学雑誌 1, 68, 1950. 20) 植竹等: 日本細菌学雑誌 7, 415, 1952. 21) 中川(武): 札幌医学雑誌 4, 386, 1953. 22) 中川(武)・土屋・水島・植竹: 日本細菌学雑誌 11, 51, 1956. 23) 水島: 札幌医学雑誌 9, 81, 1956. 24) 内田: Virus (投稿中)

E₂ 群, E₃ 群サルモネラの産生する ε¹⁵ phages の血清学的研究

(サルモネラにおける抗原の人工変換 XVI)

土 屋 厚*

ATSUSHI TSUCHIYA: SEROLOGICAL COMPARISON OF
DIFFERENT STRAINS OF PHAGE PRODUCED BY
GROUP E₂ AND E₃ SALMONELLA

[受稿 12月16日 1956]

E₂ 群菌株: *S. newington*, *S. selandia*, *S. new brunswick*, *S. cambridge*, *S. kinshasa*, E₃ 群菌株: *S. canoga*, *S. illinois*, *S. thomasville* より得た ε¹⁵ phages 相互の間には中和試験上, 差は認められなかった。

No serological difference was noticed in neutralization test between or among different strains of phage which were obtained from *S. newington*, *S. selandia*, *S. new brunswick*, *S. cambridge* and *S. kinshasa* of group E₂, and *S. canoga*, *S. illinois* and *S. thomasville* of group E₃.

先に植竹等¹⁾, 中川²⁾, 土屋³⁾, 秋葉⁴⁾⁷⁾⁸⁾は E₂ 群, E₃ 群 (旧 E₂ 群) の *Salmonella* が総て溶原性であり, 産生する Phage ε¹⁵ は E₁ 群或は E₄ 群の菌に感染を起し, 細胞を溶原化すると共に 3.10→3.15, 或は(1), 3.10. (9)→3.15., 1, 3, 19→1, 3, 15. 19の0抗

原変換を起すことを報告した。又 E₁ 群のは総て ε¹⁵ に感受性のあることも報告された。

其所で当然 E₂ 群, E₃ 群に属する各 *Salmonella* が産生する phage ε¹⁵ 相互の異同が問題になつてくる。著者はこれらの phage 相互の比較実験を行つたが, 本報では血清学的性状の比較実験研究について報告する。

実験方法及び材料

1) 使用菌株; E₁ 群, *S. anatum* 293, E₂ 群, *S. newington* C₂, *S. selandia* 7482, *S. new-brunswick* 5411, *S. cambridge*, *S. kinshasa*, E₃ 群, *S. canoga*, *S. illinois*, *S. thomasville*.

以上9株はすべて国際標準菌株で, F. Kauffman から日本腸内細菌委員会に送られたもので, そこから分与を受けたものである。E₁ 群菌株の *S. anatum* 293を指示菌株とし且 phage ε¹⁵ はすべて *S. anatum*

*札幌医科大学微生物学教室

293 を増殖させて得たものを用いた。これは宿主依存性変異を考慮に入れたからである。

2) phage 株

上記の E_2 群5株, E_3 群3株計8株の生理食塩水浮游液をつくり, 37°C 48時間おいた後これより寒天重層法^{9) 10)}により溶菌斑をつくらせ, 孤立溶菌斑からの分離を3~4回繰返して単離し, 更にこれを *S. anatum* を宿主として5~6代通過して, 溶菌斑数 $10^9/\text{ml}$ 前後まで増強し, chamberland L_3 を用いて濾過したものを使用した。

3) 抗 phage 血清^{9) 10)}

上記8株夫々の phage 浮游液を家兎静脈内に 5cc 週2回間隔で1~2ヵ月間接種し, 免疫後採血抗 phage 血清を作製した。抗 phage 血清は 56°C 30分間加熱不活性化し, 氷室に保存した。此の際マーズニン・グリセリンの添加は行はなつた。

4) 中和試験法⁹⁾

各抗 phage 血清を broth で倍数稀釈して80倍より10240倍までの稀釈血清をつくり, 夫々0.5 ml づゝ小試験管に分注し, 各稀釈抗 phage 血清に $2 \times 10^8 \sim 4 \times 10^8/\text{ml}$ 力価に稀釈した phage 液 0.5 ml を加へ 37°C に2時間保ち, 寒天重層法⁹⁾により溶菌斑数の算定を行つて抗 phage 血清の中和能をしらべた。対照としては免疫血清のかほりに broth を用いた。成績の判定は完全中和点並に50%中和点を求めて行つた。

成 績

TABLE I Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum against ϵ^{15} obtained from *S. newington*

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
<i>S. newington</i>	—	±	+	+	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. selandia</i>	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. new-brunswick</i>	—	±	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. cambridge</i>	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. kinshasa</i>	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. canoga</i>	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. illinois</i>	—	±	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. thomasville</i>	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++

+++ : Number of plaques more than 2/3 of those on control plate

++ : Number of plaques between 2/3 and 1/3 of the control

+: " " less than 1/3 of the control

± : Several plaques or less

各抗 phage 血清と各 phage 株との交叉中和試験を行い, 各 phage 間の血清学的関連性に就てしらべた。実験結果は第1表より第9表迄に示す如くである。完全中和点は第1表より第8表迄に示してある。

S. newington より得た ϵ^{15} phage に対する抗血清による中和は第1表に示す如く, 8株の phage は80倍血清稀釈ですべて中和されて居る。*S. selandia* から得た ϵ^{15} phage に対する抗血清については第2表に示す如く7株は160倍血清稀釈中和され, *S. canoga* から得た ϵ^{15} だけが80倍稀釈で中和されている。以下 *S. new-brunswick*(第3表), *S. cambridge*(第4表), *S. kinshasa* (第5表) *S. canoga* (第6表), *S. illinois* (第7表), *S. thomasville* (第8表) 夫々から得た ϵ^{15} phage に対する抗血清による中和も, 上記 *S. newington*, *S. selandia* から得た ϵ^{15} 抗血清の場合とほぼ同様に大体160倍或は80倍血清稀釈で互に交叉的に中和しあうことが知られた。この関係を1表にまとめたのが第9表である。又50%中和点を算出してまとめたのが第10表であつて, すべての ϵ^{15} phage が互にほぼ同程度の血清稀釈で50%中和され, たまに少し差のあるのが見られるがそれでも試験管1本位の差で, 2本とは違はないことが認められる。即ち完全中和点と比較しても, 50%中和点と比較しても, phage 株の間には差が認められなかつたことになる。

TABLE II Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum
against ϵ^{15} obtained from S. selandia

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
S. newington	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	+++
S. selandia	—	—	±	+	++	++	+++	+++	+++
S. new-brunswick	—	—	+	++	++	+++	+++	+++	+++
S. cambridge	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. kinshasa	—	—	±	+	++	++	+++	+++	+++
S. canoga	—	±	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. illinois	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. thomasville	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++

Notes are the same as in Table I

TABLE III Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum
against ϵ^{15} obtained from S. new-brunswick

serum dilution ϵ^{15} obt-ained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
S. newington	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. selandia	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. new-brunswick	—	—	±	+	+	++	+++	+++	+++
S. cambridge	—	—	±	+	++	++	+++	+++	+++
S. kinshasa	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. canoga	—	±	+	++	++	+++	+++	+++	+++
S. illinois	—	—	±	+	+	++	++	+++	+++
S. thomasville	—	—	±	+	+	++	+++	+++	+++

Notes are the same as in Table I

TABLE IV Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum
against ϵ^{16} obtained from S. cambridge

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
S. newington	—	—	±	+	++	+++	+++	+++	+++
S. selandia	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. new-brimswick	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. cambridge	—	—	±	+	+	++	+++	+++	+++
S. kinshasa	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. canoga	—	±	±	+	+	++	+++	+++	+++
S. illinois	—	—	±	+	+	++	+++	+++	+++
S. thomasville	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++

Notes are the same asin Table I

TABLE V Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum against ϵ^{15} obtained from *S. kinshasa*

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
<i>S. newington</i>	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. selandia</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. new-brunswick</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. cambridge</i>	—	—	±	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. kinshasa</i>	—	—	±	+	+	++	+++	+++	+++
<i>S. canoga</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. illinois</i>	—	—	±	+	+	++	+++	+++	+++
<i>S. thomasville</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++

Notes are the same in Table I

TABLE VI Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum against ϵ^{15} obtained from *S. canoga*

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
<i>S. newington</i>	—	±	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. selandia</i>	—	+	+	++	++	++	+++	+++	+++
<i>S. new-brunswick</i>	—	±	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. cambridge</i>	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. kinshasa</i>	—	±	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. canoga</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. illinois</i>	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. thomasville</i>	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++

Notes are the same as in Table I

TABLE VII Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum against ϵ^{15} obtained from *S. illinois*

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
<i>S. newington</i>	—	±	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. selandia</i>	—	±	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. new-brunswick</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. cambridge</i>	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. kinshasa</i>	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. canoga</i>	—	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++
<i>S. illinois</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>S. thomasville</i>	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++

Notes are the same as in Table I

TABLE VIII Neutralization of different phage ϵ^{15} strains by antiserum
gainst ϵ^{15} obtained from S. thomasville

serum dilution ϵ^{15} obtained from	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	control
S. newington	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. selandia	—	±	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. new-brunswick	—	—	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. cambridge	—	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
S. kinshasa	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. canoga	—	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
S. illinois	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++
S. thomasville	—	—	+	+	++	+++	+++	+++	+++

Notes are the same as in Table I

TABLE IX Cross neutralization among different strains of phage ϵ^{15}

serum phage	S. newing.	S. sel.	S. newbr.	S. camb.	S. kins.	S. cano.	S. ill.	S. thom.
S. newington	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	80 ×	160 ×
S. selandia	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	80 ×	80 ×
S. new-brunswick	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	160 ×	160 ×
S. cambridge	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	80 ×	80 ×
S. kinshasa	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	80 ×	160 ×
S. canoga	80 ×	80 ×	80 ×	80 ×	160 ×	160 ×	80 ×	80 ×
S. illinois	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	160 ×	160 ×
S. thomasville	80 ×	160 ×	160 ×	160 ×	160 ×	80 ×	160 ×	160 ×

Figures indicate highest serum dilution at which no plaque appeared.

TABLE X Cross neutralization among different strains of phages ϵ^{15}

Serum Phage	S. newington	S. selandia	S. new-brunswick	S. cambridge	S. kinshasa	S. canoga	S. illinois	S. thomasville
S. newington	7.12	7.06	7.19	6.41	7.20	6.29	7.45	7.41
S. selandia	7.16	7.45	7.41	7.36	7.61	6.06	7.23	7.14
S. new-brunswick	7.32	7.19	7.18	7.35	7.45	6.89	7.52	7.25
S. cambridge	7.62	7.34	7.54	7.84	7.55	6.51	7.12	7.18
S. kinshasa	7.23	7.79	6.62	7.30	7.85	6.83	7.80	7.05
S. canoga	7.08	7.10	6.72	7.77	7.39	7.19	6.97	7.01
S. illinois	7.06	7.67	7.98	7.85	7.59	6.36	7.48	7.17
S. thomasville	7.35	7.52	7.81	7.16	7.53	6.32	7.46	7.32

Figures indicate exponents of log N of $10 \times 2N$, indicating serum dilutions at which 50 per cent of phage particles were neutralized.

総括並びに考察

phage の分類には 1) 血清学的性状, 2) 粒子の大きさ及び形態, 3) 溶菌斑の性状, 4) 宿主域, 5) 不活性化因子に対する感受性, 6) 相互干渉性等が比較判断の基準になるとされているが, 血清学的特異性は最も重要な性質の 1 つである。

処で ϵ^{15} phage については, 交叉中和試験の成績からみると, 完全中和と比較しても, 50% 中和点と比較しても 8 株の ϵ^{15} phage 相互の間には差は認められなかったことになる。たゞ時に試験管 1 本位の差の見られた場合がある。特に *S. canoga* から得た ϵ^{15} は他の株と交叉中和上, 試験管 1 本位づつの相互のずれが, *S. selandia* *S. newbrunswick*, *S. cambridge*, *S. illinois*, *S. thomasville* からの ϵ^{15} で見られ, *S. newington*, *S. kinshasa* からの ϵ^{15} との比較では一方的に試験管 1 本のずれが見られた。このような試験管 1 本の差に意義をもたせられるかどうかは, これだけの実験からは判定を下すことは出来ない。試験管 1 本位の差異でも吸収試験を行うことはつきり差異の認められることもあるとは, 細菌の抗原分析ではよく見られる処であるし, インフルエンザウイルスでも実際に観察されて居る。而も 50% 中和点での比較ではその差ももつとはつきりしない。従つて著者の研究で発表し得るのは, 交叉中和試験上でははつきりした差異を認められないと云うことになる。

又 phage には補体結合反応で証明出来る他の抗原 — protein — のあることが知られて居るが, これは将来の問題である。

尚 E_2 群, E_3 群 phage の他の性状については次報以下に詳述する予定であるが, 他の性状も極めてよく類似している点から考へるとこれらの ϵ^{15} 株は同一若くは少くも殆んど同一と考へられる。

結 論

E_2 群菌株 *S. newington*, *S. selandia*, *S. newbrunswick*, *S. cambridge*, *S. kinshasa*, E_3 群菌株 *S. canoga* *S. illinois*, *S. thomasville* より得た ϵ^{15} phage 相互の間には 中和試験上差は認められなかった。

文 献

- 1) 植竹・中川・秋葉・水島：日本細菌学雑誌 **9**, 682 (1954)
- 2) 植竹：日新医学 **24**, 214 (1955)
- 3) Uetake H., Nakagawa T. and Akiba T.: *J. Bact.* **69**, 571. (1955)
- 4) 中川(武)：日本細菌学雑誌, **10**, 363 (1955)
- 5) 中川(武)・土屋：札幌医学雑誌, **7**, 321, (1955)
- 6) 秋葉：札幌医学雑誌, **7**, 76, (1955)
- 7) 秋葉：日本細菌学雑誌, **10**, 765, (1955)
- 8) 秋葉：日本細菌学雑誌, **10**, 883, (1955)
- 9) 伝研学会：細菌学実習提要, (1951)
- 10) Adams, M. H.: *Methods in Med. Research* **2**, 1 (1950)