なつたばかりの時には replicate されにくい、或は失われ易いと言うことがあるのかも知れない。

テンプレートファージの中には感染後、ファージをもたぬ細胞の分離を強くおこすもの (ϵ^{15} や P22) と、余りおこさぬもの (P2)²⁶⁾とがあると云われているが、この ϵ^{34} は、細胞の核数が複数であると言う性質と m.o.i. とから考えると、かなり速かにプロファージとなり、分離をあまりおこさぬファージと考えられる。これは ϵ^{15} と異なる点であつて、将来 ϵ^{15} とは別の利用面を約束させるものであろう。

結 論

S. anatum (ϵ^{15}) が ϵ^{34} ファージの感染をうけると、感染細胞から ϵ^{34} をもたぬ子孫細胞が分離されて出ることが立証された。この分離は *S. anatum* が ϵ^{15} ファージの感染をうけた場合よりづつと少く、 ϵ^{34} の方が ϵ^{15} より速かにプロファージになることを暗示している。

文 献

- 1) 井関, 酒井: 医学と生物学 **28**, 77, 1953
- 2) 植竹; 日新医学, **42**, 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, 1955a
- 7) 秋葉: 日本細菌学雑誌, **10**, 765, 1955b
- 8) 秋葉: 日本細菌学雑誌 **10**, 883, 1955c
- 9) 永井, 中川, 甲斐, 土屋: 札幌医学雑誌 **10**, 51, 1956
- 10) Uetake, H.: Proc. Internat. Genetics Symposia, Tokyo, 645, 1956
- 11) 植竹: 日新医学, **44**, 66, 1957
- 12) 土屋: ウイルス, **7**, 51, 1957
- 13) 土屋: ウイルス, **8**, 291, 1958a
- 14) 土屋: ウイルス, **8**, 468, 1958b
- 15) Uetake, H., Luria, S.E. and Burrous, J.W.: Virology, **5**, 68, 1958
- 16) 原田: ウイルス, **6**, 285, 1956a
- 17) 原田: ウイルス, **6**, 300, 1956b
- 18) 中川(昭): 日本細菌学雑誌, **12**, 47, 1957a
- 19) 中川(昭): 日本細菌学雑誌, **12**, 107, 1957b
- 20) 中川(昭): 日本細菌学雑誌, 投稿中
- 21) Uetake, H. and Uchida, T.: in press
- 22) Uetake, H.: Virology, **7**, 253, 1959
- 23) Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae 1954
- 24) Pampane, E.J.: J. Hyg, **33**, 402, 1933
- 25) Lederberg, J. and Lederberg, E.M.: J. Bact., **63**, 399, 1952
- 26) Bertani, G.: Lysogeny. In Advances in Virus Research, **5**, 151, 1958

ϵ^{34} ファージ系における溶原化過程の分析 (II)*

ファージ感染細胞における O 抗原 34 の出現

萩 原 新**

SHIN HAGIWARA: ANALYSIS OF THE PROCESS OF LYSOGENIZATION IN PHAGE ϵ^{34} SYSTEM (II)

〔受稿 6月19日 1959〕

前報¹⁾において A(ϵ^{15}) が ϵ^{34} ファージの感染をうけた場合、 ϵ^{34} 感染細胞から ϵ^{34} をもたぬ子孫細胞の分離されてくる状態を分析し、併せて ϵ^{34} は比較的速かにプロファージになると考えられることを報告した。

処で ϵ^{15} ファージの場合には、感染後非常に速かに新抗原 15 が出現すること、 ϵ^{34} ファージに対するレセプ

ターも出現すること、 ϵ^{15} が増殖型のファージとしてふえつゝある時、云いかえれば細胞は溶菌の運命にある時も、溶菌前に O 抗原 15 を形成することが明かにされた (Uetake et al, 1958)²⁾。

この ϵ^{15} による上述の現象は一般現象であろうか？この点を明かにするため、著者は ϵ^{34} により類似の現象が見られるか否かをしらべた。

* 本研究には文部省科学研究費の補助をうけた (植竹)

** 札幌医科大学微生物学教室 (主任 植竹久雄教授)

実験材料及方法

使用菌株, 因子血清の作製法等はすべて前報¹⁾に同じ。

使用ファージ: 前報に記した $\epsilon^{34}c$ の外にテンペレートファージ $\epsilon^{34}c$ のビルレント突然変異株 $\epsilon^{34}v_0$, $\epsilon^{34}vir$, 又 *S. thomasville* から得られたテンペレートファージ $\epsilon^{34}_{341}c_3$, $\epsilon^{34}_{341}t$ 夫々のビルレント突然変異株 $\epsilon^{34}_{341}c_3v$, $\epsilon^{34}_{341}tv$, *S. illinois* から得られた $\epsilon^{34}_{111}c$, $\epsilon^{34}_{111}t$ 夫々のビルレント突然変異株 $\epsilon^{34}_{111}cv$, $\epsilon^{34}_{111}cvm$, $\epsilon^{34}_{111}tv$ も用いた。

ファージ感染細胞からの凝集原の作り方: ファージ液 (約 10^9 lytic particles/ml) と対数増殖期 $A(\epsilon^{15})$ 培養 (約 2×10^8 /ml) とを等量に混じ, 適當の時間間隔で一部をとり, $100^\circ C$ 2分間沸湯中で加熱殺菌, 遠心

沈澱後, 沈澱菌体を $1/4$ 量の 0.2% 食塩水に再浮遊させたものを凝集原として用いた。

凝集反応術式は大体前報¹⁾と同じ。但非常に凝集の弱い場合には顕微鏡下で暗視野照射法或は懸滴標本検査法によつて観察を行つた。

実験成績

$A(\epsilon^{15})$ の対数増殖期ブイヨン培養 (約 2×10^8 cells/ml) とテンペレートファージ ϵ^{34} (約 10^9 lytic particles/ml) とを等量に混じ 3, 5, 8, 10, 20, 30分後に 4 ml 宛とり出し, $100^\circ C$ 加熱殺菌して凝集原をつくり, 抗15因子血清, 抗34因子血清による凝集反応をしらべた。

第1表に示す様にファージ感染後数分でO抗原34が出現し, 時間と共に抗34因子血清との凝集が強くな

Table 1. Agglutination Reactions of Cells of Strain $A(\epsilon^{15})$ infected with Phage ϵ^{34}

Antigen	Time after infection (min)	Serum anti-15					Serum anti-34							Saline control
		1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	
Cells A(ϵ^{15}) infected with ϵ^{34}	3						(-)	(-)						-
	5						(+)	(±)						-
	8						+	+						-
	10	≡	≡	+	±	-	+	+						-
	20	≡	≡	+	±	-		+	+	-	-			-
	30	≡	≡	+	±	-		≡	≡	+	-			-
Cells A(ϵ^{15}) uninfected		≡	≡	+	+	-	-	-	-	-	-			-
Cells A(ϵ^{15} , ϵ^{34})		≡	≡	+	+	-		≡	≡	≡	+	±	-	-

(): Results by microscopic examination

り, 溶菌直前 (感染後30分) にはかなり強い凝集を示す様になるが, それでも対照の $A(\epsilon^{15}, \epsilon^{34})$ の程度には達しなかつた。

抗15因子血清による凝集は終始ほとんど対照と同じ程度を示した。

この実験で, ϵ^{34} の感染をうけた $A(\epsilon^{15})$ 上に速かにO抗原34が形成出現することが明かになつた。

処で ϵ^{34} の感染をうけた細胞の中, 60~70%は溶菌を起す。とすると, 溶菌をおこすべき運命にある細胞でもO抗原34が形成されているのではないかと言うことが予想される。これを確めるには, テンペレートファージの代りにビルレントファージを用いばよい。この目的で著者は最初 $\epsilon^{34}vir$ を用いて実験を行つた。処が第2表最上段に示す様に全く抗原34の出現が認め

られなかつた。実験は数回繰返されたが全く同じ成績であつた。 ϵ^{15} ファージではビルレント突然変異株 $\epsilon^{15}vir$ の感染でも, 溶菌を起すべき菌にO抗原15が形成される (Uetake et al, 1958)²⁾。とすると ϵ^{34} では事情が少し異なるのであろうか?

種々考え, 調査した結果気付いたことは, $\epsilon^{34}vir$ が $\epsilon^{34}c \rightarrow \epsilon^{34}v_0 \rightarrow \epsilon^{34}vir$ と2段のステップをふんで分離されたと言うファージ株の経歴であつた。即ちテンペレート $\epsilon^{34}c$ からビルレントの $\epsilon^{34}v_0$ が先づ分離され, 次いで $\epsilon^{34}v_0$ から更に分離されたのである (植竹が分離)。すると34抗原形成能の消失は第2のステップの時の変異に基づくのかも知れないし, もしそうなら $\epsilon^{34}v_0$ を用いば34抗原は形成されるかも知れないと云うことに想到した。

Table 2. Agglutination Reactions of A(ϵ^{15}) infected with Virulent Mutants of Phage ϵ^{34}

Antigen	Time after infection (min)	Serum anti-34						Saline control
		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	
$\epsilon^{34}\text{vir}$	10	—	—	—	—	—	—	—
	20	—	—	—	—	—	—	—
	30	—	—	—	—	—	—	—
$\epsilon^{34}\text{v}_0$	10	—	—	—	—	—	—	—
	20	+	+	+	±	—	—	—
	30	++	++	+	+	—	—	—
$\epsilon^{34}_{341}\text{tv}$	10	++	++	+	±	—	—	—
	20	+++	+++	++	+	±	—	—
	30	+++	+++	+++	++	+	—	—
$\epsilon^{34}_{111}\text{tv}$	10	+	+	+	±	—	—	—
	20	++	++	+	+	+	—	—
	30	+++	+++	++	++	+	±	—
$\epsilon^{34}_{341}\text{c3v}$	10	—	—	—	—	—	—	—
	20	—	+	+	—	—	—	—
	30	—	++	+	+	+	±	—
$\epsilon^{34}_{111}\text{cv}$	10	—	—	—	—	—	—	—
	20	+	+	+	+	—	—	—
	30	++	++	+	+	+	—	—
$\epsilon^{34}_{111}\text{cvm}$	10	—	+	+	+	—	—	—
	20	—	++	+	+	±	—	—
	30	—	+++	+++	++	+	—	—
86M		—	+++	+++	+++	++	±	—

86M: *S. newbrunswick* lysogenized with ϵ^{34} (see Nakagawa, 1957)

$\epsilon^{34}\text{v}_0$ を用いた実験結果は第2表第2段に示す様に、予想通り抗原34の形成が証明されることゝなつた。

然しこゝまでくると、テンプレートからビルレントへの変異と、抗原34形成誘導能力の変異とは関係がない夫々独立の事象であると言うことを更に確めておきたくなつた。幸い同僚の中川(昭)が ϵ^{34} の突然変異株を数株もつていたので³⁾、夫々のビルレント突然変異株を譲りうけ、同様の実験を行つてみた。その結果を括めたものが第2表の残りの部分であつて、何れの株でもO抗原34が形成されることが知られる。感染10分後の成績では抗原34の証明されたものと、されぬものがあつたが、どの程度の意義をもたせられるかは、この実験だけでは明かでない。

総 括 考 按

以上の実験で、A¹⁵ が ϵ^{34} ファージの感染をうけると、30分以内に新に抗原34が形成されることが、更にビルレントファージの感染をうけて溶菌をおこす運命にある菌でも、同様に抗原34が形成されることが明かにされた。

溶菌をおこす筈の細胞では、ファージは増殖型

vegetative の状態にあり、プロファージ状態ではない筈である。云いかえれば、抗原34の形成にはファージ DNA がプロファージになることを必要としないことになる。感染数分で34抗原が証明されるようになることは、ファージ DNA は菌細胞内に侵入すると直にその活性をはたかせると言うことを示すものである。 ϵ^{15} の感染をうけた *S. anatum* における抗原15の形成 (Uetake et al, 1958)²⁾、T2 ファージの感染をうけた *E. coli* における hydroxymethyl-deoxycytidylic acid 合成酵素の形成 (Flaks and Cohen, 1957)⁴⁾、接合した *E. coli* における β -galactosidase の形成 (Pardee) 何れもファージ感染をうけた細胞に速かに新しい形質 (ファージがその形成に与る) が出現すると言う類似の現象である。又転換反応 (Transformation reaction) でも転換因子 DNA にさらされた細胞が、分裂前に薬剤耐性の性質を示す例があると言う (Goodgal 談)。

ビルレントファージでも感染細胞に抗原34を形成させると言うことは更に、テンプレートからビルレントへの変異と抗原変換誘導能力の変異とが別個の、独立のものであることを示すものである。

ファージ感染細胞の抗34因子血清による凝集は、感染30分後にはほぼ頂点に達するが、それでも、完成された溶原菌 A(ϵ^{15} , ϵ^{34})の凝集程度には及ばなかつた。 ϵ^{15} の感染をうけた *S. anatum* は、抗15因子血清で、A(ϵ^{15})とほぼ同程度に凝集する様になる。この差異は恐らく ϵ^{34} 及其の変異株の感染の場合には、潜伏期が短いので、30分以内で検査が行われたのに、 ϵ^{15} の感染では約60分まで検査が行えると言うところに由来するものであろう。時間が短いため、それ以上の抗原の発達を待つことが出来ないことになる。

溶菌に進みつゝある細胞に抗原34が形成されることは上述した。では溶原化に進みつゝある細胞ではどうであろうか？ 本報に記述した実験だけでは、この問題に対して直接強い発言の出来るデータは含まれていない。次の第3報でこの問題を明かにするつもりである。

ビルレントファージの中で ϵ^{34} vir だけは、感染細胞に抗原34を形成させなかつたが、これは実験の項でものべた様に、テンベレートファージ $\epsilon^{34}c \rightarrow \epsilon^{34}v_0 \rightarrow \epsilon^{34}$ vir

と二段階で分離されたものであり、且 $\epsilon^{34}v_0$ には抗原変換能力が保持されていることと合せ考えて、テンベレート→ビルレント→ビルレント、抗原変換能消失、と言う変異過程で生じたものと考えられる。

結 論

S. anatum (ϵ^{15}) はテンベレートファージ ϵ^{34} 又はそのビルレント突然変異株の感染をうけると、30分以内に抗原34を形成する。抗原34の形成は溶菌に進む運命にある細胞（ファージは増殖型としてふえつゝある細胞）でも行われる。

テンベレートからビルレントへの変異と、抗原変換能の変異とは互に独立の事象である。

文 献

- 1) 萩原：ウイルス（投稿中）
- 2) Uetake, H., Luria, S. E. and Burrous, J. W.: *Virology*, 5, 68 (1958)
- 3) 中川(昭)：日本細菌学雑誌(投稿中)
- 4) Flaks, J. and Cohen, S.S.: *Biochim. Biophys. Acta*, 25, 667 (1957)

日本脳炎ウイルスの2株の間に存在する 免疫学的差異について

小 林 一 郎*

ICHIRO KOBAYASHI: ON THE IMMUNOLOGICAL DIFFERENCES
RECOGNIZED BETWEEN TWO STRAINS OF JAPANESE B
ENCEPHALITIS VIRUS.

〔受稿 6月17日 1959〕

ま え が き

日本脳炎ウイルスは先ず1934年、林¹⁾によつて始めて猿で分離に成功し、次いで1935年日本学術振興会第三小委員会（稲田竜吉委員長）の各委員を始め、谷口等、川村等、笠原等数多くの人々によりマウスを用いて分離された。その後日本脳炎ウイルス株は永い間免疫学的に同一²⁾のものと考えられていた。しかし1954年に至り Hale 等³⁾はマレーに於いて分離した日本脳

炎ウイルス株の間に古典的な中山株と共通な抗原の他に別個の抗原を有する株のあることを報告した。我が国でも1959年緒方⁴⁾は日本脳炎ワクチンの力価試験について研究中検定基準に準じ中山株で免疫したマウスを、1949年に分離された G-1 株で攻撃すると殆ど防禦能を示さないことを見出し、G-1 株と中山株との間に免疫学的の差があることを示唆した。著者はこれ等2株の間の免疫学的関係をより明かにすべく、感染防禦試験のみならず、中和試験、補体結合反応及び血球凝

* 国立予防衛生研究所