

アミラーゼ生産菌のバクテリオファージ及びデオキシリボヌクレアーゼに関する研究(第4報)

渡部, 健治
九州大学農学部

<https://doi.org/10.15017/21529>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 18 (2), pp.147-151, 1960-12. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

アミラーゼ生産菌のバクテリオファージ及び
デオキシリボヌクレアーゼに
関する研究（第4報）

B. subtilis var. *amyloliquefaciens* Fukumoto-K49
ファージの電子顕微鏡写真

渡 辺 健 治

Studies on the bacteriophage and desoxyribonuclease of a
B. subtilis strain producing amylase (Part 4)

The electron-microphotograph of a bacteriophage active
against *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens*
Fukumoto-K49

Kenji Watanabe

緒 言

バクテリオファージは最初その機能について発見され、濾過性因子と言う抽象的名称の下に長く取り扱われていたが、1930年代に超遠心分離機がファージの分離精製に採用され、電子顕微鏡でその形態が確認され、生物学的性質の本体が粒子である事が明かにされてからファージ研究の本質的に新しい展開が始つた。*E. coli* の T 系ファージを始めとして、今日迄に電子顕微鏡でとらえられたファージの大部分は、直径 40~100 m μ の頭部と長さ 120~200 m μ の尾部をもつおたまじやくし状のものと、その尾部を欠く六角乃至球状の形態のものとのである。枯草菌について S. Fukuda¹⁾ は *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* ファージを精製してその電子顕微鏡写真を取り、頭部は直径 96 m μ の球形であるが尾部は非常に長く 408 m μ 、幅 10 m μ のものである事を報告している。著者は工業的なアミラーゼ生産菌である *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* Fukumoto-K49 に親和性のあるファージを超遠心分離機を用いる分別遠心で精製し、その電子顕微鏡写真をとる事が出来たが、これは形態的に今迄知られているファージとは勿論、Fukuda のそれとも相違する新しい形態のファージである事を認めた。

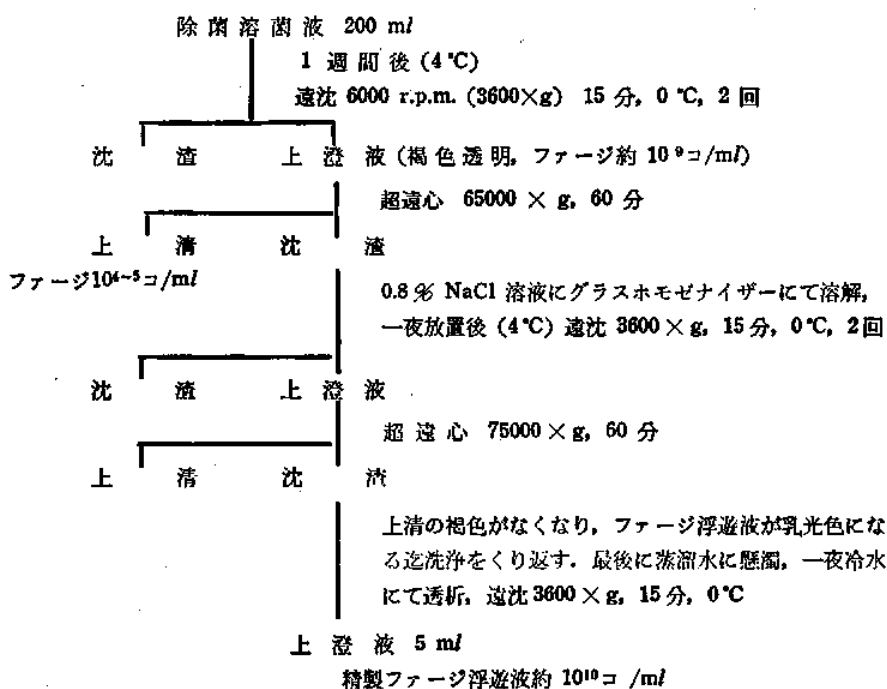
実験方法並びに観察結果

1. 超遠心分離機によるファージの精製

宿主菌である *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* Fukumoto-K49²⁾ を前報⁴⁾ 同様に、大豆粕浸出液を主成分とする中性培地 (MI 培地と呼称) で一夜 30°C で振盪培養後、この

菌体培養液浮遊液 20 ml をさらに新鮮培地 200 ml に添加し 2 時間培養を続ける。この状態の宿主菌培養に除菌したファージ液 (約 10^9 コ/ml) 5 ml を加え、 30°C で 20 時間培養を続けファージの増殖を行なう。かくして約 10^{10} コ/ml に増強されたファージ溶菌液を冷凍遠心分離 (5000 r.p.m., 10 分) と、 $56^\circ\text{C} \times 1$ 時間の加熱をくり返して除菌後、再び綿栓した殺菌コルベンに入れ約 1 週間冷蔵庫 (4°C) に保存する。この溶菌液を第一表に示すような低速遠心 (久保田 6 L 型冷却遠心機)、超速心 (日立 40 P 型分離用超速心機) を併用する分別遠心によつてファージの精製を行なつた。なお各区分のファージ濃度は前報⁴⁾と同じ平面培養法によりプラークを計数した。

第 1 表. 分別遠心によるファージの純化.



2. ファージ粒子の電子顕微鏡的観察

殺菌水に浮遊させた精製ファージをセロイジン膜 (メルク Celloidin, 1.5% 醋酸アミル溶液) をはつた電子顕微鏡試料支持用メッシュにのせ、 60°C 以下で乾燥させ、クロームシャドウィングをした後電子顕微鏡 (日本電子光学 JEM-5C 型) で観察した (第 1 図)。本ファージは単一分散して存在し、2, 3 個が結合しているものはみられなかつた。その形態はいわゆる頭部と尾部をもつ典型的なファージ粒子であるが、今迄知られた多くのファージと異り頭部は円板を積み重ねたような円筒状のものである。大きさは頭部が直径約 (以下同じく概算値) $50 \text{ m}\mu$ 、長さ $120 \text{ m}\mu$ の円筒状、尾部は長さ $250 \text{ m}\mu$ 、幅 $15 \text{ m}\mu$ の鞭毛状で大きさから言えば今迄に電子顕微鏡で観察されたファージの中ではやや大き

Summary

A bacteriophage specific to *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* Fukumoto-K49 was examined under the electron microscope.

Phage preparation photographed was isolated from the culture lysate and centrifuged at 65000~75000×g for 60 min. and 3600×g for 15 min. differentially to concentrate and purify them. After the final concentration the phage suspension was pipetted onto celloidin membrane and shadowed with Chromium. According to the electron microscopic observation, the shape and size of this phage is not the same as those reported in the literature. It has a cylindrical head, about 50 m μ in diameter, 120 m μ in length, and this head is attached to a flagellumlike tail about 15 m μ wide and 250 m μ long. It was also observed that after the latent period the infected host cell was strongly ruptured and the proliferated new phages were liberated from the bursting cell.