



Title	大腸菌B株の 60Co γ線照射による放射線耐性獲得の研究
Author(s)	青山, 喬
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 20(3), p. 505-520
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19123
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

大腸菌 B 株の ^{60}Co γ 線照射による放射線耐性獲得の研究

神戸医科大学放射線医学教室 (指導教授 橋本和之)

青 山 喬

(昭和35年3月4日受付)

目 次

I 結 言

II 実験方法及び実験成績

実験1 ^{60}Co γ 線照射による放射線耐性獲得菌株の作製

- 1) 実験材料, 方法及び成績
- 2) 小 括

実験2 BR strain の一般生物学的性状

- 1) 実験材料, 方法及び成績
- 2) 小 括

実験3 BR strain の形態

- 1) 実験材料, 方法及び成績
 - (1) 単染色標本所見
 - (2) 位相差顕微鏡像
 - (3) 電子顕微鏡像
- 2) 小 括

実験4 BR strain の成長曲線

- 1) 実験材料及び実験方法
- 2) 実験成績
 - (1) W-L 培地16時間前培養菌を用いた場合
 - (2) 普通寒天培地24時間前培養菌を用いた場合
- 3) 小 括

実験5 T系 Bacteriophage による実験

- 1) 実験材料及び方法
- 2) 実験成績
 - (1) T_2r^+ 増殖実験
 - (2) T_3 増殖実験
- 3) 小 括

III 総括並びに考按

IV 結 論

I 結 言

悪性腫瘍の電離放射線 (以後放射線と略す) 照射に対する耐性獲得の現象は, 臨床医学の分野

において, また動物の実験腫瘍を用いた照射実験において, 共にしばしば見られるところである¹⁾²⁾³⁾⁴⁾. 最初は放射線照射によく反応する悪性腫瘍も, やがて放射線に対する反応が減じてくると言う印象は, 実際, 我々が悪性腫瘍の放射線治療を行う際にもこれを経験する.

この現象に対し, Nice⁵⁾, Sturgis⁶⁾ は腫瘍外因子による説明を試みたが, 一方腫瘍細胞が細菌の薬剤耐性の如く遺伝的な意味での真の放射線に対する耐性, すなわち放射線耐性が存在すると言う仮定も考慮されてよいと考えられている.

Windholz²⁾ 並びに Conger⁷⁾ は, この放射線耐性を説明しうる可能性のある機転として次のものを提出した. (1) 最初の致死線量以下の照射が全細胞を殺さず, heterogenous population として初めより僅かに存在した resistant tumour cell が生存した場合. (2) 最初の照射が腫瘍細胞を resistant な方向の突然変異に誘導し, 更にそれが後照射で選択された場合. (3) 最初の照射が宿主の側にある種の変化を生ぜしめる (tumour bed change). それが腫瘍細胞に後照射時にあたかも resistant であるかの如き態度をとらせる場合 (effective radioresistance²⁶⁾). 彼等はこれ等三者の (1), すなわち腫瘍細胞中既に heterogenous に放射線に耐性を有する自然突然変異細胞が存在し, それが選択される場合の可能性を最も高く評価している. これは細菌の薬剤耐性発現機序として Demerec 等が説いたところ⁸⁾と同一概念と推察される.

実験腫瘍における放射線耐性の研究は今日までに相当な数にのぼるが, 成功例は少いようである. Schubert⁴⁾⁹⁾ は Ehrlich carcinoma での

成功例を報告したが、宮川¹⁰⁾、長瀬¹¹⁾、小祝¹²⁾、金田¹³⁾の吉田肉腫、Conger 等⁷⁾の Ehrlich carcinoma では不成功に終わっている。

正常の生物体あるいは組織に対する研究もなされている。すなわち、小線量反復前照射が、後の大線量一時照射時に放射線耐性を増強すると言う一連の研究がそれである¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾。これ等の研究では、山本²³⁾は耐性獲得は認められなかつたと報告しているが、他のいずれも耐性獲得は可移植腫瘍を用いる場合より著明な結果の報告である。教室の石田²⁴⁾は、Trautman の方法に従い、家兎睾丸に対してX線小線量反復前照射を行い、耐性の獲得を組織学的に立証した後、更に Warburg 検圧計を用いてそれ等組織では嫌気性解糖が主であると言う事実を見出した。しかし、遺伝的に耐性を獲得したかどうかを立証する為には、分裂の盛んな細菌を使用して実験を行う事が意義がある。

細菌で放射線耐性の証明を行つたものとしては、Witkin²⁷⁾²⁸⁾の非常に優れた、かつ、著明な業績をあげねばならない。彼女は大腸菌B株を用い、紫外線に耐性を有する変異株をえて、それがX線にも同時に耐性を示し、その性質は安定、かつ、遺伝する事を確認した。他に Weed 等²⁹⁾は少量の銅イオン存在下に大腸菌を培養、放射線耐性株をえた。Schabinski 等³⁰⁾は大腸菌に⁶⁰Co γ線照射を行つて抵抗性の相違を見た。しかし、Rubin³¹⁾の細菌に対するX線大量照射及び³²P β線照射、伊藤等³²⁾の *Trichomonas Vaginalis* 等への⁶⁰Co γ線照射で耐性を認めなかつたと言う報告もある。

放射線耐性は一方では立証され、他方では否定されているのが現状であると言つてよいのではなからうか。また、その真の耐性発現機序に至つては全く不明であつて、今後の研究が期待されている。もしも放射線耐性が実際に存在するならば、放射線障害の防禦機構の研究に新しい道を開き、また耐性を排除する事によつて悪性腫瘍の放射線療法をさらに前進せしめる等の少なからざる放射線医学への進歩に貢献するものと考えられる。著

者は大腸菌B株を用い、放射線耐性の存在を立証し、獲得状態並びにその機構も究明せんとして本実験を行つたのである。

なお、この論文では、放射線耐性とは、Radio-resistance の事である。少くともこの耐性の概念の中には、遺伝的にその形質が次の世代に伝えられて行くと言う事を包括している。元来生物は放射線に対して同一態度をとらず²⁵⁾、種、個体、器官、細胞の相違によつて放射感受性が異なり、また同一細胞集団の中にも感受性の差（不遺伝性の変異³³⁾⁴³⁾）が存在する事は衆知のところである。その表現が低放射感受性の場合もある。それと耐性とを區別して用いた。すなわち、Conger 等⁷⁾の言葉をかりると、“照射を受けたものが、同線量に対する退行の量を減ずるか、同じ退行あるいは滅菌に更に線量を増さねばならぬ場合に耐性を獲得したと言う”と定義される。著者もこの定義に従つて耐性と言う言葉を用いた。

II 実験方法及び実験成績

実験1 ⁶⁰Co γ線照射による耐性獲得菌株の作製

1) 実験材料、方法及び成績

供試菌：大阪大学微生物病研究所より分与された大腸菌B株を用いた。

培地：保存、平板培養には Difco nutrient agar を、⁶⁰Co γ線照射には Weed, Longfellow²⁹⁾に従つて、次の処方の合成培地を用いた。

Na ₂ HPO ₄	16.5 g
KH ₂ PO ₄	1.5 g
(NH) ₄ PO ₄	2.5 g
20% MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.0ml
1% CaCl ₂	1.0ml
1% FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.5ml

以上を蒸溜水1000mlに溶解し、pH 7.4に調節、使用時に3 mg/mlの濃度に葡萄糖を加えて使用した。（以後この培地を W-L 培地と記載）

⁶⁰Co γ線照射条件：装置は島津製 RT-2000型 ⁶⁰Co γ治療装置、線源試料間距離34cm、分レントゲン87.7r。

照射実験に使用した試験管は、内径9mm、厚さ

0.5mm, 深さ80mmの小試験管。

大腸菌B株の保存株より Difco普通寒天斜面に移植, 24時間培養後, その1白金耳を更に W-L 培地に移植し, 15時間前培養した後, この菌を使用した。

^{60}Co γ 線に対する耐性獲得菌株の作製には, 細菌学の領域におけるいわゆる“training method”³⁴⁾³⁵⁾に従った。

a) 第1次 ^{60}Co γ 線照射

前述の15時間前培養の菌液 0.1ml を W-L 培地 2ml を入れた小試験管に均等に浮遊させ, 全20本の中17本を照射実験に供し, 3本を対照とした。対照の1本は菌移植後ただちに37°Cで培養, 他の1本は ^{60}Co γ 線照射群の照射がすべて終了するのを待つて, 照射群と共に37°Cで培養を行った。なお, 対照の残りの1本は菌移植を行わない W-L 培地のみの試験管で, 汚染の判定に供した。

17本の菌を移植した試験管を一括して, ^{60}Co γ 線を照射, 30分毎に1本宛抜きとり, 室温に保存, 17本目, 照射開始後8時間30分(44,710r)の照射をもつて終了, この17本目の照射完了と共に全照射試験管を37°Cで培養した。

培養後48時間で, 照射群の1から4本目までの試験管及び対照中菌移植したもの2本に菌増殖を認め, 168時間後, 7本目に菌の増殖を認めた。その後は他のいずれの試験管にも菌増殖を認めなかった。それを普通寒天平板に移植, 大腸菌の集落である事を確認した上でさらに保存培地に移植した。

b) 第2次 ^{60}Co γ 線照射

第1次照射実験で生存した7本目の試験管の菌(18410r 照射に耐えた。これを実験の便宜上かりに a strain と名付けた)を一応 γ 線に比較的抵抗性を有する菌株と考え, この a strain に第1次照射と同様の方法により, 更に 21,040, 27,300, 31,560r の照射を行つた。対照には各線量に非照射原株2本を採つた。

その結果, 21,040 r に対しては a strain は照射した8本の試験管中1本を除きすべてに増殖

を認め, 27,300 r では8本中4本に菌の増殖を見た。31,560 r では増殖を見たものはなかった。対照では 21,040 r 照射に耐え, 菌の増殖を見たものが1本あつたが, 他はすべて増殖不可能であつた。

c) 第3次 ^{60}Co γ 線照射

第2次 ^{60}Co γ 線照射で 27,300 r に耐えた4本の a strain (これを b-1, -2, -3, -4 strain と表現する) に対し 27,300, 34,190, 42,080, 49,970 r を照射した。

照射の結果は, 27,300 r では b-1, b-2 が, 34,190 r では b-1, b-4 が増殖し, 42,080 r では増殖を見たものはなく, 49,970 r では b-1 のみが生存した。なお, 対照の中 27,300 r 照射に耐えたものが2本中1本存在したが, それ以外で増殖を見た試験管はなかった。

d) 第4次 ^{60}Co γ 線照射

第3次照射で 49,970 r に耐えた b-1 (c strain と表現する), 34,190r に耐えた b-4 (d strain と表現する) に今回は更に 52,600r を照射した。c, d strain とも2本宛照射に供した。

この 52,600 r 照射の結果は c strain の中1本に菌の増殖を見たのみであつた。

この菌株に対し, これ等の実験の再現性を確認するため, さらに4カ月後に 31,560, 42,080, 52,600 r の照射を行つたが, この菌株はどの線量にも耐えうる事を示し, 対照の非照射原株の生存はどの照射線量においても見られなかった。

e) 耐性菌株の安定性と耐 γ 線線量の限界の確認

4次にわたる ^{60}Co γ 線照射によつて 52,600 r に耐える菌株を分離したが, これはいちおう γ 線に対する耐性を有していると考えられる。この耐性菌株の安定性と耐 γ 線線量の限界を知るために, 1年5カ月後, 1年6カ月後の2回, 再び 38,400, 48,000, 57,000, 96,000 115,200 r の照射を行つた。この間に ^{60}Co γ 線発生装置の線源を取換え, 照射方法に若干の改良を加えたので, 線源試料間距離が23.5cmと短縮され, 分レントゲン 320r に増加した。他の照射条件, 方法に

変更はない。

この結果、耐性菌株は、1年5カ月後の照射では96,000 rまで耐え、1年6カ月後の照射では115,200 rにも耐える事を示した。対照として用いた非照射原株は38,400 rまでは増殖を認めたが、それ以上の線量には耐えない事が確認された。

2) 小括

(1) ^{60}Co γ 線耐性獲得菌株の分離

大腸菌B株に対し、いわゆる“training method”に従って ^{60}Co γ 線の第1次照射で18,410 rに耐えうる菌株を選び、さらにその中より第2次照射で27,300 rに耐えうる菌株をえた。それは第3次照射で49,970 rに耐えた。この菌株中にはさらに第4次照射の52,600 rに耐えうる菌株が存在する事を認めた。

(2) ^{60}Co γ 線耐性獲得菌株の安定性と命名

^{60}Co γ 線52,600 r照射に耐える菌株を選び出して、さらに1年6カ月後の115,200 r照射にも耐える事を確認した。よつて、この性質は安定なものであると考えた。この115,200 rの γ 線照射に耐え、しかも、1年6カ月間の継代にもその性質を変えない安定な菌株に対し、Escherichia Coli BR strainと名付けた。Escherichia Coli BR strain (以後BR strainと略す)の命名は、Witkinが得た紫外線並びにX線耐性大腸菌にB/rと名付けているに鑑み、またそれ等と γ 線耐性である点を區別するためにBR strainとしたのである。

(3) BR strainと原株の ^{60}Co γ 線照射に対する耐性の差

第1次照射では18,410 rにしか耐えなかつたものが、照射線量の増加に従つて耐性増強の程度も増す事は、細菌の毒物に対する耐性増強が毒物濃度に比例する³⁵⁾のとよく類似している。

この実験において、対照として用いた非 γ 線照射原株の中に一段階的に27,300, 38,400 rに耐えうる菌が出現した事は注目すべきであろう。しかし、この数回の照射実験で、以前に一度も γ 線に曝射された歴史をもたない原株には、それ以

上の線量に耐えたものは存在しない様である。

原株集団の ^{60}Co γ 線照射に対する耐性の限界は27,300乃至38,400rであるに対し、BR strainのそれは96,000乃至115,200 rで、約3倍の照射線量に耐えると考えられる。

実験2 BR strainの一般生物学的性状

実験1で原株の約3倍量の γ 線照射に耐えうる耐性株BR strainを分離した。この様に、新しい菌株を分離した時、それがいかなる菌であるかを決定する手続きとしての検査は、菌の形態、生物学的性状、培養所見、代謝、血清学的性状、抵抗、病原性等の検討であらう。そこで、BR strainについても、最も重要な変化が期待される生物学的性状の観察を先ず行つた。

1) 実験材料、方法及び成績

供試菌：実験1で作製したBR strainを用い対照として原株を選んだ。

実施方法：実施方法はすべて伝染病研究所学会編 細菌学実習提要³⁶⁾に従つた。要点は次の如くである。

a) 炭水化物の利用能

利用能を検した炭水化物は、単糖類：glucose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose, 二糖類：Saccharose, maltose, lactose, 多価アルコール類：adonitol, dulcitol, mannitol, sorbitol, inositol, 配糖体：Salicin。培地は変法Barsiekowの培地、たゞし指示薬として0.2% BTB溶液を用いた。黄色に変色すれば陽性、12日間培養するも変化のないものは陰性とした。

b) IMViC systemによる検索

Indol 産生：供試菌をペプトン水で培養し、Ehrlich-Böhmeの法により判定した。

Methyl red 試験及びVoges-Proskauerの反応：供試菌を葡萄糖磷酸塩ペプトン水培地に37°C 3日間培養し、前者は培養菌液と等量の10%苛性カリ液を加え一夜放置、蛍光を有する桃色を呈すれば陽性、後者はMethyl red 試薬にて赤色を呈すれば陽性と判定した。

Sodium citrate 試験 (Koser)：Sodium citrate 合成培地を用い、菌の増殖の有無により判定

した。

c) 尿素分解

Cheristensen の尿素培地を用いた。

d) 硫化水素の発生

Kligler の培地を用いた。せんし線にそつて黒変すれば陽性とした。

e) 運動性

位相差顕微鏡によつた。実験3参照。

f) 分離培地における性状

遠藤及び *Salmonella-Shigella* 寒天平板を用いた。

g) 普通寒天平板における性状

Difco nutrient agarの普通寒天平板を用いた。実験成績：

a) 炭水化物の利用能

BR strain と原株の間に炭水化物利用能の差異を期待したが、著者の行つた定性的試験における限り、両者の間に差異を認めなかつた。諸種炭水化物に対する両者の利用能は第1表の如くである。

b) IMViC system による検索

この試験は衆知の如く、大腸菌群を *Coli type* (*Escherichia*) と *Aerogenes type* (*Aerobacter*) 及びこれの中間に位する *Intermediate*

type に分類鑑別する際に用いられている。検索の結果は次の如くであつた。

Indol 産生は IMViC system の一つとして重視されているが、同時に tryptophan 分解を観察する事でもある。これについては、両者ともに陽性であつた。Methyl red 及び Voges-Proskauer の反応も両者ともに前者は陽性、後者は陰性で、Sodium citrate 試験も両者ともに陰性の成績を得た。

以上、IMViC systemによる検索の結果から、BR strain, 原株共に *E. Coli I* 型に属している事が確認された。

c) 尿素の分解

BR strain, 原株共に尿素の分解は認めなかつた。

d) 硫化水素の発生

本試験は Indole 産生と共に細菌のアミノ酸利用能を検するものである。菌が cystein 或いは cystine に対する利用能を有しておれば硫化水素が産生される。試験の結果は BR strain, 原株共に硫化水素の発生を認めなかつた。

e) 運動性

一般に大腸菌は peritrichous flagella をもち、運動性を有するものが多いと言われている³¹⁾。しかし、著者が位相差顕微鏡で観察した結果は、BR strain, 原株共に運動性を認めなかつた。

f) 分離培地における性状

遠藤寒天平板では BR strain も原株も赤色集落を作るが、発育は良好でない。*Salmonella-Shigella* 寒天平板では両者とも増殖を認めなかつた。

g) 普通寒天平板における性状

BR strain, 原株共に普通寒天平板における集落の性状は、一般に発育良好な、白色、湿潤、均等な集落で、周辺は微細な波状をあらわしてくる(培養24時間以後に明瞭)。

これは大腸菌集落として成書に記載されているところ³⁷⁾と大差がない。しかし、BR strain と原株の間には培養時間によつて微妙な nuance の相違が見られるように思われる。また継代を重ね

第1表 炭水化物の利用能

炭水化物	BR strain	原株
glucose	+ ¹	+ ¹
arabinose	+ ¹	+ ¹
galactose	+ ¹	+ ¹
rhamnose	+ ¹	+ ¹
xylose	+ ¹	+ ¹
lactose	+ ¹	+ ¹
maltose	+ ³	+ ³
saccharose	— ¹²	— ¹²
mannitol	+ ¹	+ ¹
sorbitol	+ ¹	+ ¹
dulcitol	+ ¹	+ ¹
adonitol	— ¹²	— ¹²
inositol	— ¹²	— ¹²
salicin	+ ¹	+ ¹

数字は培養日数をあらわす

第2表 炭水化物利用能以外の生物学的諸性状

性 状	BR strain	原 株
Indole 産生	+	+
Methyl red 試験	+	+
Voges-Proskauer 反応	—	—
Sodium Citrate 試験	—	—
尿 素	—	—
H ₂ S	—	—
運 動 性	—	—
遠 藤 寒 天 平 板	両者とも発育するが、良好ではない	
Sallmonella-Shigella 寒天	両者とも発育を認めない	
普 通 寒 天 平 板	集落の形態外観上の差異を認めない(?)	

ることの影響も無視できない。これらの点については更に追求せねばならないと考えている。

2) 小括

実験1で作製した BR strain に対し、一般細菌学的生物学的諸性状の検索を行い、原株との差異を比較検討した。

(1) BR strain と原株の間に、定性的な一般細菌学的生物学的諸性状の検索では、差異を認めなかった。しかし、両者の共通した性質としては、以下に記す如くである。

(2) 炭水化物に対しては、glucose をはじめ lactose 等広範囲の利用能を有していた。

(3) アミノ酸利用は tryptophan は可能であるが、cystein, cystine は不可能であつた。

(4) IMViC system による検索により、共に E. Coli I 型に属することが確認された。

(5) 尿素は両者共に分解しなかつた。

(6) 運動性は共に認められなかつた。

(7) 普通寒天平板上の集落は、E. Coli communisとして成書に記載された如くであつた。

実験3, BR strainの形態(主として電子顕微鏡による観察)

BR strain と原株の間に、一般生物学的性状についての差異は見られなかつた。形態的には、何等かの変化が認められるか否か。これが決定は興味のあるところである。よつて、次に形態的变化を追究した。

1) 実験材料、方法及び成績

写真1 原株の電子顕微鏡像(7,500倍)

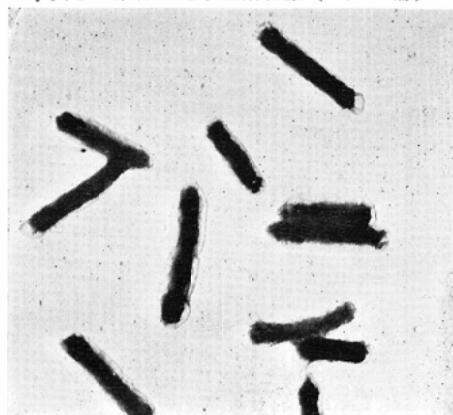
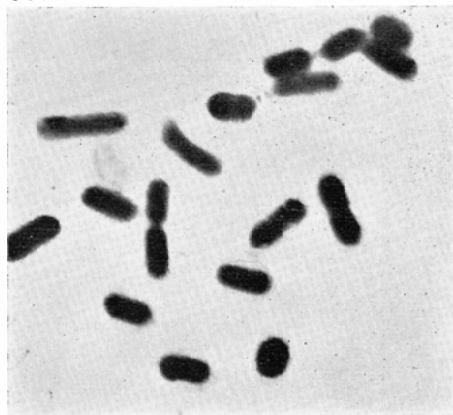


写真2 BR Strain 電子顕微鏡像(7,500倍)



供試菌: 実験1にて作製した BR strain, 対照として原株。単染色標本及び位相差顕微鏡による観察には、W-L 培地24時間培養のもの、電子顕微鏡による観察には普通寒天斜面24時間培養のもの

のを用いた。

(1) 単染色標本所見

Löffler メチレン青単染色標本。倍率 900倍、油浸鏡検。

BR strain, 原株は共に外形は杆状を呈し、菌体軸はほぼ直線、側面は平行で、両端はまるく、配列は個々に散在しているか、短い鎖状。染色性は一様であつた。両者の相異点は長さであつた。すなわち、BR strain は殆んど原株より短小であつた。また原株は一般に短い鎖状をなしているものが多いのに反し、BR strainは鎖状を呈するものが殆んど見られなかつた。

(2) 位相差顕微鏡像

倍率 900倍。油浸鏡検(対物レンズ千代田Dark Contrast Medium)。

これによると、細菌を生きた状態のまゝで観察しうる利点がある。運動性は実験2に記した如く認められなかつた。菌体の長さも単染色標本の観察結果より長短の差が顕著であるように思われた。BR strain は原株よりも短小で太く、また菌体の中間部にやゝ透明の部分が見られるように思われたが明瞭ではない。原株は長く、鎖状を呈するものが多いのは単染色標本の場合と同様であつた。また内部は全く均等であつた。

(3) 電子顕微鏡像

日立 HS-II 型, 50Kv, 直接倍率4,000 ~5,000倍, 引伸倍率3~5倍。蒸留水に供試菌を浮遊させ、均等な菌浮遊液をつくり、その一白金耳をとつてホルムバル膜をはつたシートメツシユにのせ、自然乾燥するのを待つて蒸着装置でクローム shadowing を行い、それを電子顕微鏡の観察に供した。

電子顕微鏡による観察結果も、BR strain は原株に比し短小であつた。peritrichous flagella は見られなかつた。これは、位相差顕微鏡で運動性の認められなかつた事を裏書きしている³⁷⁾と思われる。内部構造に関しては顕著な差異は見出されなかつた。(写真1及び写真2)電子顕微鏡による観察の場合、原株の鎖状を呈するものが殆んど見られなかつたが、これは途中の操作に原因

があつたのかもしれない。

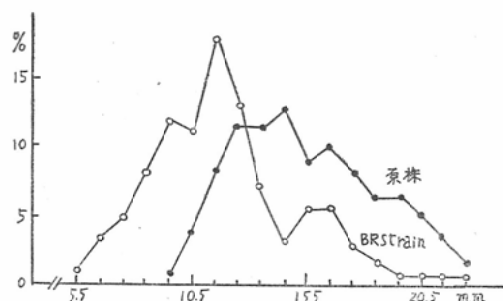
BR strainが原株に比し短小である事は前述の如くであるが、著者は更に推計学的にその事を確認した。

24時間前培養の菌を用い、無作為的に各標本(この場合標本はBR strain, 原株共に5個宛準備した)毎に引伸倍率を含めて10,000倍の電子顕微鏡写真を3葉づとり、その中の菌体の長さを計測、第3表の如き分布表を作成した。各級の中は1mm, 菌体が重つたり欠損等で計測不可能であ

第3表 菌株・長さの分布表

菌体の長さ (mm)	BR strain		原 株	
	度数	%	度数	%
5.0~5.9	1	0.8	—	—
6.0~6.9	4	3.2	—	—
7.0~7.9	6	4.8	—	—
8.0~8.9	10	8.0	—	—
9.0~9.9	15	12.0	1	0.7
10.0~10.9	14	11.2	6	3.9
11.0~11.9	22	17.6	13	8.3
12.0~12.9	16	12.8	18	11.5
13.0~13.9	9	7.2	18	11.5
14.0~14.9	4	3.2	20	12.8
15.0~15.9	7	5.6	14	9.0
16.0~16.9	7	5.6	16	10.0
17.0~17.9	4	3.2	13	8.3
18.0~18.9	2	1.6	10	6.4
19.0~19.9	1	0.8	10	6.4
20.0~20.9	1	0.8	8	5.1
21.0~21.9	1	0.8	6	3.9
22.0~22.9	1	0.8	3	1.9
計	125	100.0	156	100.0

第1図 菌体の長さの分布曲線



る以外はすべて計測した。

BR strain, 原株夫々の全計測菌数を 100 とし, 各級の観測度数を百分率で表わし, 分布曲線を画くと, 第1図の如くなる。

第3表, 第1図の如く, BR strain は, 最小の 5.5mm の級に含まれる菌体から最長の 22.5mm の級までの菌体を含むが, 分布曲線が 14.5mm を界として, 11.5mm の級を peak とする菌体の短小な群と 15.5~16.5mm の級を peak とする菌体の長い群に分ける事ができ, 大部分は前者に含まれる事が明らかである。

これに反し, 原株は 14.5mm を peak とする一峰型の曲線であつた。

このような細菌の長さ等の分布は一般に正規型をとるものと予想される。故に, 両者の分布の母集団の型が正規型であるかどうかを調べた場合, 第1図で示された如く短小なものと長いものとの二群にわかれるような BR strain の分布は当然正規型でないことが想像される。第4表及び第2図の如く, 最も簡単な方法である正規確率紙を用いて検定する³⁸⁾と, 原株の分布はほぼ正規型を示していると言えるが, BR strain の分布は 14.5 を界として直線の傾斜が異なり, 正規型とは言えない関係を得たのである。

次に両者菌体の長さの平均値の比較を行つた。前述のように BR strain の菌体の長さの分布は短いものが大部分を占めるとすれば, 平均値は当然原株より小となる。実際, 原株の平均は 16.1mm (実際の菌体の平均の長さは 1.6μ) に対して, BR strain のそれは 12.0mm (1.2μ) と小であつた。これが推計学的に見て有意と言えるかどうかを検したが, 第5表の如く 1% 以下の危険率で両者の平均値には有意の差があると言えた。

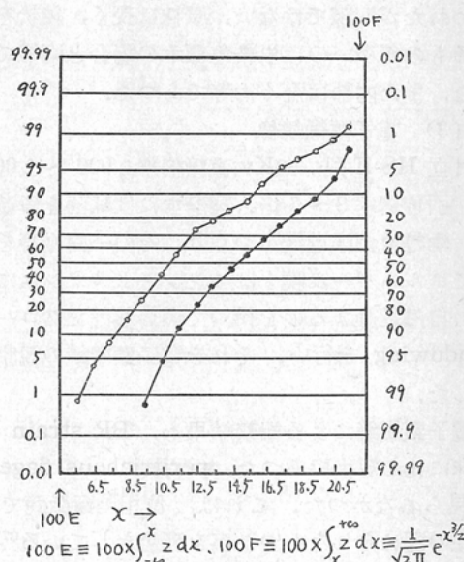
以上より, BR strain は菌体の長さから考察すると, 菌体の短い群と長い群に分かれ, しかも, 菌体の長い群がたとえ含まれていても, 平均値を原株と比較すれば明らかに短小である事から, 大部分は菌体の短い群に属していると概略的に言える成績をえた。

BR strain を第1図によつて 14.5mm を界とし

第4表 菌体・長さの分布における累積和の百分率

級	BR strain			原 株		
	度数	累積和	%	度数	累積和	%
5.5	1	1	0.8	—	—	—
6.5	4	5	4.0	—	—	—
7.5	6	11	8.8	—	—	—
8.5	10	21	16.8	—	—	—
9.5	15	36	28.8	1	1	0.6
10.5	14	50	40.0	6	7	4.5
11.5	22	72	57.6	13	20	12.8
12.5	16	88	70.4	18	38	24.4
13.5	9	97	77.6	18	56	35.9
14.5	4	101	80.8	20	76	48.7
16.5	7	108	86.4	14	90	57.7
16.5	7	115	92.0	16	106	67.9
17.5	4	119	95.2	13	119	76.3
18.5	2	121	96.8	10	129	82.7
19.5	1	122	97.6	10	139	89.1
20.5	1	123	98.4	8	147	94.2
21.5	1	124	99.2	6	153	98.1
22.5	1	125	100.0	3	156	100.0

第2図 菌体・長さの分布の正規確率紙による正規性の検定



短長二群にわけ (境界の級の度数は両群が共有するものとして2分する), 菌体の長い群の長さの平均 17.08mm と原株のそれとを比較すると, 第6表

第5表 BR strain, 原株の菌体・長さの平均値の検定

実験種類	資料数	自由度	平均	偏差平方和	ω^2	ω	$\frac{\bar{x}-\bar{y}}{\omega}$	t_s	自由度 279の t 0.01
原 株	156	155	16.12	1573.56					
BR strain	125	124	11.99	1343.25					
		279	4.13	2916.81	10.45	3.23	1.28	10.62	$2.58 < t < 2.62$

第6表 BR strain (長い群), 原株の菌体・長さの平均値の検定

実験種類	資料数	自由度	平均	偏差平方和	ω^2	ω	$\frac{\bar{x}-\bar{y}}{\omega}$	t_s	自由度 180の t 0.01
BR strain (長い群)	26	25	17.08	101.52					
原 株	156	155	16.12	1573.56					
		180	0.96	1675.08	9.31	3.05	0.31	1.44	$2.58 < t < 2.62$

$$\omega^2 = \frac{Sx_1^2 + Sx_2^2}{(N_1-1) + (N_2-1)},$$

Sx_1^2, Sx_2^2 : 偏差平方和

N_1, N_2 : 資料数

$\bar{x}, \bar{y}$: 平均

$$t_s = \frac{\bar{x}-\bar{y}}{\omega} \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}}$$

の如く、両者の平均値が等しいと言う仮説は否定できなかった。しかし、これをもつて、直ちに両者が同一母集団に属するとは断定できないが、逆方向の変異、原株の汚染等の可能性も存すると想像できる。

2) 小括

実験1で作製した BR strain に対し、単染色標本、位相差顕微鏡、電子顕微鏡による観察を行い原株と比較した。

(1) 単染色標本、位相差顕微鏡、電子顕微鏡いずれの観察によつても、BR strain は原株に比し短小であった。

(2) 電子顕微鏡写真で菌体の長さを計測し、その分布を調べると、BR strain は菌体の短い群と長い群に分けられた。しかし大部分は短い群に属していた。原株にはそのような点は観察されない。

(3) BR strain の菌体の長い群の長さの平均値と、原株のそれとを比較すると、推計学的に両者の平均値が等しいと言うことを否定できなかった。

(4) この実験の培養条件では、原株は一般に短鎖状を呈する傾向が見られたのに反し、BR strain では見られなかった。

(5) 両者共に運動性を有さず、peritrichous flagella も認められなかった。

実験4 BR strain の成長曲線

実験3において、BR strain は原株に比し短小である事を知った。菌体の長さが菌の成長の phase によつて異つてゐる事が知られている³⁹⁾から、このことは菌の成長の“ずれ”に起因したものであつたかもしれない。また定性的には一般生物学的性状に変化はなかつたものの、菌体の短小であることより見て、定量的な水準の変化の差が菌の成長(分裂速度等)に現われてくる可能性もある。殊に Witkin²⁷⁾²⁸⁾は細胞分裂と放射線耐性の関係を重視している。以上の如き理由から両者の成長曲線を比較観察した。

1) 実験材料及び実験方法

供試菌: 実験1にて作製した BR strain, 対照として原株。前培養は W-L 培地及び普通寒天斜面を用い、培養時間は16時間及び24時間。

培地及び培養法: W-L 培地, 37°C 静置培養.
菌数測定法: 平板培養法³⁶⁾によつた.

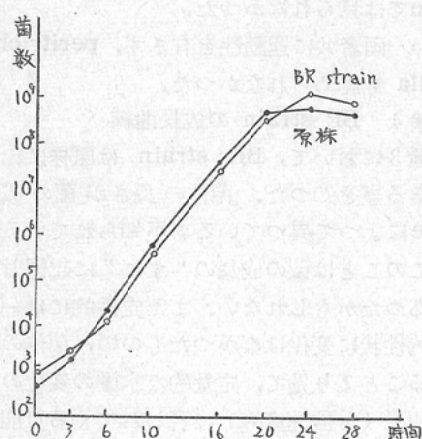
2) 実験成績

(1) W-L 培地16時間前培養菌を用いた場合
第7表, 第3図の如く, BR strain, 原株共にこの実験条件では明瞭な lag phase を認める事が出来なかつた. 強いて言うならば, 両者の成長曲線は培養開始後約3時間で lag から logarithmic

第7表 W-L 培地16時間前培養の場合の培養時間に対する菌数の変化

時 間	菌 数	
	原 株	BR strain
0	4.0×10^2	8.5×10^2
3	1.7×10^3	1.8×10^3
6	1.8×10^4	1.2×10^4
10	4.9×10^5	3.7×10^5
16	4.5×10^7	2.7×10^7
20	4.0×10^8	3.2×10^8
24	5.9×10^8	1.1×10^9
28	4.4×10^8	6.4×10^8

第3図 W-L 培地16時間前培養の場合の成長曲線



phase に入り, 両者同じ傾斜で約20時間で stationary phase に達することが観察されたと言えよう. また lag phase と考える時期では BR strain の方の菌数が多いにかゝらず, 4時間半頃より原株が逆に凌駕し, 以後 stationary phase までその状態が持続され, stationary phase に

達すると再び BR strain が多くなつたと言える.

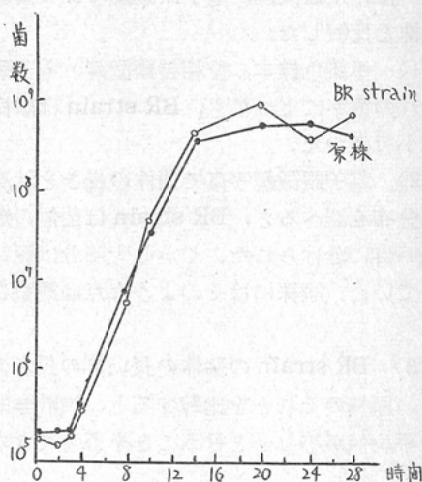
更に厳密に言うならば, 第3図の如く片対数方眼紙に培養時間に対して菌数をとると logarithmic phase は直線となり, それ以前の曲線部分はすべて lag phase と考えるから, 原株の lag phase は培養開始後約3時間, BR strain のそれは約6時間で, 3時間の“ずれ”が見られる. しかも, BR strain の lag phase の傾斜は原株よりゆるやかであつたと言えよう.

しかしながら, 前述の如くいずれも明瞭な lag phase として観察されていないから, このような

第8表 普通寒天培地24時間前培養の場合の培養時間に対する菌数の変化

時 間	菌 数	
	原 株	BR strain
0	2.0×10^5	1.9×10^5
2	2.1×10^5	1.4×10^5
3	1.9×10^5	1.9×10^5
4	2.6×10^5	2.5×10^5
8	6.0×10^6	5.4×10^6
10	2.7×10^7	4.8×10^7
14	3.0×10^8	3.6×10^8
20	5.0×10^8	7.2×10^8
24	4.6×10^8	3.5×10^8
28	3.6×10^8	5.8×10^8

第4図 普通寒天培地24時間培養の場合の成長曲線



断定的な結論を下すことは差控えねばならない。

(2) 普通寒天培地24時間前培養菌を用いた場合

この実験条件では、BR strain, 原株共に明瞭な lag phase を観察しえた。すなわち、第8表、第4図の如く、lag phase は両者共に培養開始より約3時間であつた。

この間、原株では菌数の増減が殆んど見られなかつたが、BR strain はいつたん僅かに減少を示した。しかし、これは測定誤差範囲を出ないものと思われる。logarithmic phase すなわち培養開始後約3時間より約14時間では、両者の間に傾斜等の差異を認めなかつた。

(1)の実験条件では logarithmic phase は約17時間であつたが、今回の実験条件では約11時間に短縮された。stationary phase において BR strain の菌数が原株のそれを僅かではあるが凌駕していたことは(1)と同様である。しかし、これも測定誤差範囲を出ないと考えられる。

3) 小括

実験1で作製した BR strain 及び原株の成長曲線を比較観察したが、著しい差異を認めなかつた。

(1) W-L 培地16時間前培養菌を用いた場合、両者共に明瞭な lag phase は観察されなかつたが、強いて言えば、原株は培養開始後約3時間の lag phase を経て logarithmic phase に入り、約20時間で stationary phase に達すが、BR strain はそれより3~4時間の遅れがあつた。logarithmic phase における傾斜等に差はなかつた。

(2) 普通寒天培地24時間前培養菌を用いた場合、両者共に lag phase は明確に観察された。また、共に lag phase は培養開始後約3時間まで、logarithmic phase は約14時間で終了、stationary phase に達した。phase の“ずれ”、logarithmic phase の傾斜等の差は観察されなかつた。

実験5 T系 Bacteriophage による実験

Bacteriophage (以後 phage と略す) は独立

して増殖することは不可能である。紫谷⁴⁰⁾は核酸をG系とM系に分類し、独立して自己増殖を営むには少くとも両系の核酸の存在が必要と考えた。故に phage の如く単純なる自己増殖系は他の自己増殖系(宿主)と共存せずには増殖することができないと言う。この紫谷の提出した仮説が原理的には理解しやすいと思われる。

この考え方を拡張すると、phage は自己増殖を可能にするその phage に適合した宿主細胞を要請すると言えよう。実際、1938年 Craigie, Yen⁴¹⁾ が *Salmonella typhi* の菌型決定に Vi-phage を用いて以来、菌型決定に phage が盛んに用いられるようになった。

これを逆に利用して、phage 宿主間の関係が既知である phage で、分離された変異株に対するその phage の感染態度を追求することによつて、その核酸系の変化を知ることができる。これが本実験を行う理由である。

1) 実験材料及び方法

供試菌：実験1にて作製した E. Coli BR strain, 対照として原株。

T系 phage：京都大学ウイルス研究所より提供された T₂r⁺, T₃ phage。

培地：phage 感染実験には pepton glucose medium を、Intective center の算出には pepton glucose agar 平板を用いた。

実験方法：Adams⁴²⁾の方法に従い、One-step 増殖実験を行つた。

phage の増殖は吸着、侵入、菌体内増殖、溶菌による新生 phage の放出の過程をとる。しかし通常の培養実験では菌と phage を混合してもすべての菌が感染を受けず、未感染菌はそのまゝ増殖し、第1次の溶菌により放出された新生 phage の感染を受ける。この過程を繰返すことにより全菌が溶菌されるのである。この反覆される過程を1回に限り行わせようとするのが One-step 増殖実験である。

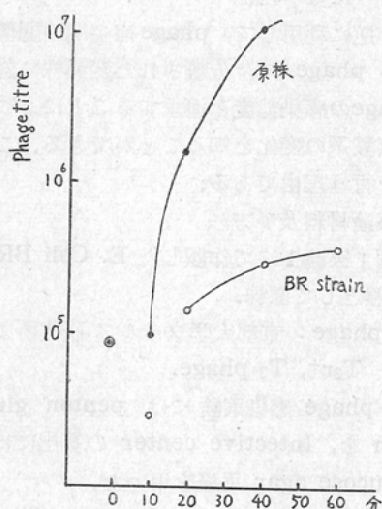
2) 実験成績

(1) T₂r⁺ (One-step) 増殖実験

One-step 増殖実験により、感染菌1個あたり

第9表 T_2r^+ (One-step) 増殖実験における phage titre の変化

宿主菌	時間 (分)	phage titre
	0	9.0×10^4
原 株	10	1.0×10^5
	20	1.6×10^6
	40	1.0×10^7
	60	$> 1.0 \times 10^7$
BR strain	10	3.0×10^4
	20	1.4×10^5
	40	2.8×10^5
	60	3.5×10^5

第5図 T_2r^+ (One-step) 増殖曲線

の新生 phage 放出数 Burst size を観察すると、第9表、第5図の如く BR strain, 原株共に T_2r^+ 増殖は起るが、両者の Burst size には差が認められた。すなわち、原株のそれは > 100 であつたに反し、BR strainでは3~4であつた。

(2) T_3 (One-step) 増殖実験

T_2r^+ において行つたと同様の観察を T_3 phage を用いて行つた。 T_3 の場合は T_2r^+ と異り、BR strain における増殖を認めなかつた。

3) 小括

実験1で作製した BR strain 及び原株に対して T 系 phage の One-step 増殖実験を行つた。

(1) BR strain は T_2r^+ に対し 原株と同様

sensitive であつたが、Burst size は小であつた。

(2) BR strain は、 T_3 phage に対して原株と異り resistant であつた。

III 総括並びに考括

大腸菌B株を用い、W-L 培地に前培養15時間行つた菌液 0.1ml を同培地 2 ml に浮遊させたものに、いわゆる“training method”に従つて ^{60}Co γ 線を照射し、第4次の照射で 52,600 r に耐える菌株を分離した。1年6カ月間継代したがその性質を変えず、原株の約3倍の線量である 115,200 r の照射にも耐えたので、著者はそれを E. Coli BR strain と名付け、形態学的、生物学的性状を観察した。

“training method”は細菌学の領域において、細菌の毒物に対する耐性をたかめる際にしばしば用いられた方法である。この場合の training とは生存菌をつぎつぎと濃度をたかめた毒物に曝すことで、これによつて細菌は原培養のそれと比較して非常に高い抵抗性を獲得した菌が分離される。これは薬剤を含まない培地に繰返し移植しても耐性を存続するので、遺伝的変化であると言われている。

γ 線耐性が薬剤耐性と同じ機転で発現すると断定は出来ないが、その過程の完了した結果のみを両者比較するとかなりの共通性があるように思われる。Spear⁴³⁾も最も弱いものが最初におかれ、最後に強いものがおかされる“個体変異”の理論から、放射線の照射効果が直ちに致死でない場合、細胞に適応の余裕を与え、この観点から放射線耐性を考えようとしている。しかし、これは放射線の強度が細菌の生存率に無関係であると言う報告⁴⁴⁾と一見矛盾するよう思われる。

耐性増加の原因がやはり突然変異であることを示唆する重要な観察も多く報告されている。

薬剤耐性において、薬物に曝された歴史を持たない集団中に少数ながら耐性菌の見出される場合があり³⁵⁾、これは薬剤耐性発現が突然変異によるものとする証拠の一つとされている。著者も γ 線曝射の歴史を持たない原株中に、一段階的に 27,300

r, 38,400 rに耐える菌の出現を観察した。しかし、更に大量の線量に一段階的に耐えた菌株は見られなかった。従つて一段階的照射による原株の最大耐線量はおよそ 38,400 r あたりではないであろうかと想像される。

Witkin²⁷⁾は Luria, Delbrück に従つて、遺伝学的に B/r の Origin は原株中に放射線耐性を有する自然突然変異がすでに存在しており、これが第1次の照射により選択されたものであることを証明した。悪性腫瘍の場合の自然突然変異の選択説は結言においてもすでにふれておいた。著者の実験そのものからは適応であるか、突然変異であるかいずれとも断定する決定的な証拠は出てこないが、BR strain が1年6カ月の間継代してもその性質を変えず安定である事は、Witkin 等も指摘する如く²⁸⁾、やはり突然変異を暗示する有力な証拠だと考えねばならない。

一般細菌学的・生物学的諸性状の検索を行つた結果は原株と BR strain の間に差異を見出さなかった。Weed 等²⁸⁾は少量の銅イオンを含んだ培地で大腸菌を培養し、原株と形態的に変化を生じている変異株をえて、これに Copper organism と名付けた。これは同時に放射線に耐性を有している。生物学的諸性状は一般大腸菌と殆んど変化がなかったが、ただ lactose を唯一の栄養源とした場合の生育は非常に悪く、培養中にこの変異株の特徴である microcolony は3%にまで減少したと言う。彼等の言う microcolony とは正常の $1/6 \sim 1/10$ である。著者の Barsikow の培地での観察では、定性的に lactose の利用能に差はなかった。BR strain 及び原株の集落は一般大腸菌のものとして成書に記載されているところと異ならないが、培養時間によつて微妙な nuance の相異があり、両者の差異に関して追求の余地はあるように思われる。

Löffler の単染色、位相差顕微鏡、電子顕微鏡像のいずれにおいても、BR strain は原株に比し短小であつた。しかし、電子顕微鏡により更に詳しく調べると、BR strain の集団は大部分を占める菌体の短い群と、僅かではあるが原株菌

体より長い群から成ることが見出された。内部構造には著変を見なかつたが、これは染色法を工夫するか、超薄切片の電子顕微鏡による観察の余地が残されていると考える。また原株は鎖状を呈する傾向があるに反し、BR strain はすべて単独に存在した。鎖状を呈すること自体、大腸菌一般によく見られる現象でさほど重大な事柄でないが、clumping の程度は細菌に放射線を照射した場合の生存曲線にかなりの影響を及ぼすことが報告されているから、BR strain が全く鎖状を呈さない事実と比較の上で意味があるのかもしれない。

Witkin²⁷⁾²⁸⁾は放射線に感受性の高い大腸菌は紫外線照射を受けると一個の細胞内に多数の核を含む糸状の形態をとること、B/r の lag phase が原株より25%短い (hardier division)、B/r が Penicillin, Sodium sulfafiazole に耐性をもつ等から、細胞分裂と放射線耐性の関連性を強調している。しかし著者はBR strainと原株の成長曲線を観察し、両者の間に著しい差を認めることができなかった。

著明な差異を認めたのは、形態においてであり、BR strain が原株より短小であることが成長 phase の“ずれ”によつて起つたものでない点で意義を認めねばならない。

以上の如く、BR strain の生物学的性状が原株と大差のないことは、種々の因子の欠陥をもつ変異株よりも、かならずしも放射線の殺菌力に対し抵抗する力が弱いと言うことにはならぬが、一般細菌学的定性的検査ではその差異が陰蔽されている可能性も充分あつて、形態的に短小であること、phageの感受性等に差異のあることからそれが暗示されている。phageの実験から示された如く、BR strain に核酸系もしくは特異的蛋白質の変化があるとすれば、酵素の水準ではおそらく差異が存在すると予想される。

T系 phage による実験において、著者は BR strain と原株の間に顕著な差異を見出した。BR strain, 原株共に T_2r^+ に対し感受性を有するが Burst size に著しい差をみ、また T_3 は原株に

において増殖するにかゝらず BR strain においては増殖を全く見なかった。

著者の分離したような放射線耐性菌に対し行われた phage の実験については今まで大腸菌による Weed 等²⁹⁾⁵⁹⁾の報告以外にない。しかも Weed 等の実験目的は分離された変異株が大腸菌であることを証明する為であり、 T_{6r}^+ 、 T_{4r} で原株同様溶菌されたと言うに留まっている。

放射線が、紫外線やマスタード類と同様に、生体の DNA 合成に著しい影響 (DNA 合成の低下) を持つことは近年明らかとなつた⁴⁵⁾⁴⁶⁾。その放射線がもたらした変化が機械的な障害 (直接作用) であるか、化学的な毒作用 (間接作用) であるかは未だ議論のあるところであるが⁴³⁾⁴⁷⁾、むしろ放射線の生きた細胞に対する作用は、物理的または化学的作用によつたたとえ DNA に変化が起るとしても生命現象の場を通じて拡大され遂に細胞を死に致らしめると⁴⁸⁾⁴⁹⁾考えるべきだと言われて来ている。一方、実験 5 においても述べた如く、phage 感染或いは増殖に変化があることは宿主の核酸系に変化のあることを予想せしめる。殊に渡辺の指摘する如く phage の特異性伝達に際し、phage DNA の特異性は機能的には蛋白質を介して、或いは Volkin の言う如く RNA を介して解読されるとすれば⁵⁰⁾、その機構は放射線の生きた細胞に対する作用機構として最近説かれているところと同じ次元のものであると言つて言い過ぎであらうか。

故に著者の見出したこれ等 phage に関する実験事実は、phage 増殖の研究に興味ある一知見を提供すると考えられると共に、少なくとも核酸系もしくは特異的な蛋白質が放射線耐性の発現、維持の機構に関与していると言う示唆を我々に与えると言えよう。

これ以上に推論する為には更に多くの実験成績の集積を待たねばならないが、Caspersson⁵¹⁾によつて提出されたところの核が蛋白合成の center であると言う仮説に始まり、DNA が RNA を mediator として細胞質の蛋白合成を支配すると言う特異性伝達機序に関する Speculation⁵²⁾ か

ら、鈴木、渡辺等⁵³⁾のように放射線照射によつて引き起される遺伝的変異株の発現について核酸と蛋白質間の相互的關係を模型として示すことは可能であろう。しかし放射線耐性と言う形質の発現あるいは維持の機構としては不十分と言わざるをえない。

さらに著者に推論を許されるならば、細胞の放射線感受性は一般に酸素濃度によつて影響され²⁴⁾⁵⁴⁾⁵⁵⁾、また放射線に対する有効な保護物質は生体内に低酸素を生ずることが実証または推定されているから、⁵⁶⁾細胞内酸素濃度の低下する如き遺伝的変異がまた耐性を起しうことは容易に想像される。溶存酸素の存在下で特に著しい放射線の影響を受けるものは細胞内に存在する SH 基である⁵⁷⁾殊に固定 SH 基 (Fixed SH-groups) としての SH 酵素、蛋白質や細胞分裂にたずさわる SH 基の機能が放射線生物作用を考える上から重要であろう。いずれにせよ、核酸と蛋白質 (酵素) の相互の関連性を常に念頭におくべきだと考える。

放射線耐性を論ずる場合の複雑さは、放射線の生物作用は言うまでもなく、生物体の耐性発現機構と獲得された耐性が以後の照射に如何にして耐えるかの命題が何れも現在未解決であるからであることは論をまたない。しかし著者は大腸菌 B 株で原株の 3 倍量の γ 線照射に耐える安定な菌株を分離し、耐性の存在を立証した。定性的な実験水準では生物学的乃至生化学的性質において原株との差異を認めなかつたが、phage の実験から核酸系或いは特異的蛋白質に変化のあることが予想され、さらに核酸と酵素の相互的な関連性のもとに細胞内 SH 基の重要性を推察した。これ等のことは、この研究の今後の発展の方向と、著者のこの実験で未だ觸れられていない酵素・核酸の水準での研究がなされなくてはならないことを示していると考えられる。

IV 結 論

大腸菌 B 株を用い、放射線耐性の存在を立証し、獲得の状態並びにその機構を究明せんとして実験を行い次の成績をえた。

1 大腸菌 B 株に対し、細菌の薬剤耐性で言う

“training method”に従い、4次にわたる ^{60}Co γ 線照射により115,200 rに耐える耐性菌株を分離した。

2 1年6カ月の継代によつてもその耐性は維持され、安定なものと考えられたので、この菌株に *Escherichia Coli* BR strainと名付けた。

3 この菌株は原株に比し約3倍の照射線量に耐えることが判明した。

4 この菌株と原株の間に定性的な一般細菌学的生物学的諸性状の差異を認めなかつた。

5 単染色標本、位相差顕微鏡、電子顕微鏡いずれの観察によつても、この菌株は原株に比し短小であつた。

6 この菌株は Bacteriophage T_{2r}^{+} に対し原株同様 sensitive であつたが Burst size は小で、 T_3 に対しては原株と異り resistant であつた。

本論文の要旨は第3回日本アイソトープ会議において発表した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導を蒙り、御校閲を賜つた恩師楢林教授並びに木村助教授に深甚の感謝を捧げ、また心よく phage を提供下さつた京都大学ウイルス研究所渡辺教授並びに実験につき多大の御援助を賜つた木方、春名両博士、細菌学的研究につき種々の御教示を賜つた本学微生物学教室堀田教授、種々の御支援を蒙った本学附属成長機構研究所近藤博士、荒木、広田理学士、河本技師、兵庫県立淡路病院放射線科石田医長に厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Marinelli, L.D. and Bruss, A.M.: The physiopathology of cancer, P.B. Hoeber, New York, 1953, 664. — 2) Windholz, F.: Radiol., 1947, 48, 398. — 3) Nice C.M. and Stenstrom, K.W.: Radiol., 1954, 62, 641. — 4) Dietrich, W., Hohne, G. and Schubert, G.: Progress in Radiobiology, Oliver and Boyd, Edinburgh, 1956, 381. — 5) Nice, C.M.: Radiol., 1957, 68, 555. — 6) Sturgis, C.C.: Postgrad. Med., 1951, 9, 375. — 7) Conger, A.D. and Luippold, H.J.: Cancer Research, 1957, 17, 9, 897. — 8) Demerec, M.: J. Bact., 1948, 56, 63. — 9) Schubert, G.: Z. für Krebsforschung, 1954, 60, 216, Strahlenther., 1953, 90, 59. — 10) 宮川, 田坂: 日医放誌, 11巻3—4号, 12号4号, 13巻6号. — 11) 長瀬: 日医放誌, 16巻8号. — 12) 小祝: 日医放誌, 18巻4号. — 13) 金田: 日医放誌, 18巻5号. — 14) Bloom, M.A.: Radiol., 1950, 55, 104. — 15) Pape, R.: 6th internat. Congr. Radiol., London, 1950, 162. — 16) Pape, R.: Radiol. Austriaca, 1950, 3, 43. — 17) Pape, R.: Radiol. Austriaca, 1951, 4, 35. — 18) Paper, J.R.: Radiol., 1947, 49, 314. — 19) Trautmann, J., Frey, J.G. and Schaaf, J.: Strahlenther., 1953, 91, 4, 602. — 20) Dacquist, M.P.: Radiation Research, 1959, 10, 118. — 21) 間島: 日医放誌, 14巻6, 8, 9号. — 22) Ferroux, K., Regaud, C. und Samssonow, N.: Strahlenther., 1936, 57, 12. — 23) 山本: 日医放誌, 19巻9号. — 24) 木村, 石田, 青山: 日医放誌, 17巻5号, 18巻5号. — 25) Bloom, W.: Histopathology of irradiation from external and internal source, McGraw-Hill, New York, 1948. — 26) Nice, C.M.: 8th internat. Congr. Radiol., Mexico, 1956, 248. — 27) Witkin, E.M.: Proc. Nat. Acad. Sci., 1946, 32, 59. — 28) Witkin, E.M.: Genetics, 1947, 32, 221. — 29) Weed, L. and Longfellow, D.: J. Bact., 1954, 67, 361. — 30) Schabinski, G., Ahlendorf, W. und Schabe, F.: Die naturwissenschaften, 1959, 46, 8, 268. — 31) Rubin, B.A.: J. Bact., 1954, 67, 361. — 32) 伊藤: Radio-isotope, 1959, 8, 56. — 33) 田中: 遺伝学, 裳華房, 東京, 1955, 11. — 34) Braun, W.: Bacterial Genetics, W.B. Sanders, London, 1957, 58. — 35) Lamanna, C. and Mallette, M.F.: Basic Bacteriology, The Williams and Wilkins co., Baltimore, 1953. — 36) 伝染病研究所学友会編: 細菌学実習提要, 全改訂第1版, 丸善, 東京, 1958. — 37) Breed, R.S., et al.: Bergey's manual of determinative bacteriology, 7th edition, The Williams and Wilkins co., Baltimore, 1957, 336. — 38) 高橋, 土肥: 医学生物研究者の為の推計学入門, 医学書院, 東京, 1953. — 39) 微生物学ハンドブック編集委員会編: 微生物学ハンドブック, 技報堂, 東京, 1957. — 40) 柴谷: 核酸及び核蛋白質下巻, 共立出版, 東京, 1950, 129. — 41) Adams, M.H.: Bacteriophage, Intersciences Publishers, New York, 1959, 396. — 42) Adams, M.H.: Methods of medical research, 1950, 2, 1. — 43) スピア, F.G.: 放射線と生細胞, みすず書房, 東京, 1955, 168. — 44) Lea, D.E., Haines, R.B. and Bretscher, E.: J. Hyg., 41, 1. — 45) Hevesy, G. and Forssberg, A.: Proc. 3rd Internat. Congr. Biocchem., Brussels, 1955, 479. — 46) Kelly, L.S., Hirsch, J.D., Beach, G. and Payne, A.H.: Radiation Research, 1955, 2, 490. — 47) Zelle, M.R. and Hollaender, A.: Radiation Biol.

ogy, McGraw-Hill, New York, 1955, 2, 365.
 — 48) 柴谷: 蛋白質核酸酵素1957, 2, 4, 271.
 — 49) 木村: 日医放誌, 11巻3, 4号. — 50) 渡
 辺: 細胞化学シンポジウム, 1957, 6, 163. —
 51) Brachet, J.: Biochemical Cytology, Acad-
 emic press, New York, 1957, 342. — 52) 大
 沢: 科学, 1957, 27, 20. — 53) 鈴木, 渡辺, 細
 胞化学シンポジウム, 1959, 9, 81. — 54) Wri-
 ght, E.A. and Howard-Flanders, P.: Acta Ra-

diologica, 1957, 45, 1. — 55) Gray, H.L., et
 al.: Brit. J. Radiol., 1957, 30, 356. — 56) 栗
 冠: 放射線生物学, 裳華房, 東京, 1959, 225. —
 57) 平出: SHの進歩, 医学書院, 東京, 1954, 97.
 — 58) Pugsley, A.T., Oddie, T.H. and Eddy,
 C.E.: Proc. Roy. Soc., 1935, 118, 276. — 59)
 Bryson, V. and Davidson, H.: Proc. Natl. Ac-
 ad. Sci. U.S., 1951, 37, 784.

Studies on the Resistance to Irradiation by ^{60}Co γ ray of Escherichia Coli B.

By

Takashi Aoyama

Department of Radiology, Kobe Medical College

(Director: Professor K. Narabayashi, M.D.)

Studies on the resistance of Escherichia Coli B to irradiation by ^{60}Co γ ray have been undertaken. The results were summarized as follows.

- 1) A resistant strain to ^{60}Co γ ray irradiation, designated Escherichia Coli BR in our laboratory, has been isolated from the original strain by means of "the training method".
- 2) The resistance of the strain to radiation was stable on subculture for one year and a half.
- 3) The strain could survive after exposure of 115,200 r, which was three times the minimum lethal dose of the original strain.
- 4) Morphologically, the cell size of this strain was shorter in length than the original. This fact was proved microscopically on the stained cells or by electron-microscopic measurement.
- 5) To T_2 r+ phage, the strain was as sensitive as the original one, despite the smaller burst size of this strain, while, to T_3 phage, the BR strain was resistant, in contrast to the original strain.
- 6) With regard to the fermentation of sugars or the other routine biological characteristics, no difference was detected between the resistant and the original strain.