

新たに分離した海洋バクテリオファージの性状

日 高 富 男*

Characterization of Marine Bacteriophages Newly Isolated

Tomio HIDAHA

Abstract

The author isolated newly sixteen marine bacteriophage systems from sea water and marine mud, and determined the morphological character and stability of them. The host bacteria of marine phage systems isolated belong to *Pseudomonas* (5 strains), *Vibrio* (5), *Flavobacterium* (2), *Achromobacter* (2) and *Aeromonas* (2). The structure of particles of marine phages isolated varies widely. Remarkable variety was observed especially in the tail structure. They are divided into four morphological groups; phages with analogs of a tail (3 strains), phages with a short tail (4), phages with a long and non-contractile tail (5) and phages with a tail of complex structure with a contractile sheath (4). Phages with analogs of a tail or a short tail were sensitive to heating at 50°C for 30 minutes as well as treatment with chloroform. These results confirm the views in author's previous papers. Of the sixteen phages, two of them, 07T-12P and 25N-66P are temperate phages and the others are virulent phages.

著者はできるだけ多くの海洋バクテリオファージを収集し、それらを系統的に研究して海洋ファージの特性を明らかにしたい。更に、分離海洋ファージの性状と海洋環境因子との関連性や、分離ファージ系の宿主特異性、また海洋細菌相互間での遺伝的变化（形質導入）における分離海洋ファージの関与などを通して、海洋生態系における海洋ファージの役割を究明する目的でこの研究を進めつつある。1970年以来、数次にわたり九州南方海域から海洋ファージの分離を試み、今までに数十組の海洋ファージ系を得ている。そのうち1970年に分離した16組の海洋ファージ系については、それらの分離方法や宿主細菌の性状、分離海洋ファージの溶菌斑形態と粒子構造、またそれらファージの安定性などをすでに報告している（HIDAKA, 1971; 日高・藤村, 1971a; 日高・藤村, 1971b; HIDAKA, 1972; 日高・一田, 1972）。本報においては、1970年以後に新しく分離した16組の海洋ファージ系の性状について追加報告し、前報（日高・藤村, 1971a, 1971b）で得られた知見を確認する。

実験材料および方法

実験材料 海洋ファージ系の分離材料としては多く海水を用い、ときに海底堆積泥をも供試した。先ず1970年7月1日、米国ワシントン州立大学の研究船ミトンプソン号（1,300トン）が鹿児島に寄港した機会に、同船のコア・サンプラーを用いて鹿児島湾中央最深部（31°26'N-130°39'E, 深度230m）の海底泥を採取し、直ちに研究室に持帰り、海底表層泥を海洋ファージ系の分離

* 鹿児島大学水産学部微生物学研究室 (Laboratory of Microbiology, Faculty of Fisheries, Kagoshima University)

実験に供した。この時の採取試料およびそれからの分離物には 07T- の符号を付す。次に 1971 年 5 月 16 日、本学練習船「南星丸」を利用し、鹿児島県佐多岬から東へ 20 湊沖合 ($31^{\circ}00'N-131^{\circ}03'E$, 深度 100 m) の海水を採取して実験に供した。この時の採取海水およびそれからの分離物には 15N- の符号をつける。また 1972 年 5 月 20 日には、同じく「南星丸」を利用し、鹿児島湾の湾口より湾内に向かって A, B, C の三点から海水を採取した。A 点は湾口中央、長崎鼻と立目崎をむすぶ中点 ($31^{\circ}07'N-130^{\circ}38'E$, 深度 100 m) で、B 点は知林島と皆倉をむすぶ中点 ($31^{\circ}17'N-130^{\circ}45'E$, 深度 125 m), また C 点は喜入と寺田をむすぶ中点 ($31^{\circ}24'N-130^{\circ}39'E$, 深度 225 m) である。それらの採取海水およびそれらからの分離物には 25N- の符号を付す。さらに 1972 年 12 月 16 日、種子島の民間船を利用し、種子島浜田漁港から東へ 10 湊沖合 ($30^{\circ}26'N-131^{\circ}11'E$, 深度 1,000 m) より海水を採取し実験に供した。この採取海水およびそれからの分離物には 22T- の符号を付して呼ぶ。海水の採取にあたってはすべて J-Z 式無菌採水器を用い、水深 50 m 層の海水を無菌的に採取し、可及的速かに研究室または最寄りの施設に持帰り直ちに分離実験を行なった。

使用培地は海水培地 (Sea Water Broth) や海水寒天培地 (Sea Water Agar) で、その組成は前報 (HIDAKA, 1971; 日高・藤村, 1971 a) と同じである。培養温度も前報同様に $25^{\circ}C$ である。

実験方法 海洋細菌の分離法や海洋ファージの検出, 分離, 増強法, また電子顕微鏡によるファージ粒子構造の観察法などは前報 (HIDAKA, 1971; 日高・藤村, 1971 a) に記載した方法によった。供試海洋ファージの安定性—— $50^{\circ}C$ 30 分間の加熱やクロロホルム処理による失活度合——も前報 (日高・藤村, 1971 b; HIDAKA, 1972) 同様に検査した。

実 験 結 果

海洋バクテリオファージ系の分離 海洋ファージ系を分離するための実験材料を採取したステーションを Fig. 1 に示した。図中のステーション 1' と 2' は前報で報告した 06N- および 0 XN- ファージ系を分離した海水の採取点を示すものであり、補足的に付記した。本報における実験材料の採取点はステーション 1~6 であり、採取日時順に番号を付した。

各実験材料中の生菌数は寒天平板塗抹法で算定し、次いで代表的な細菌集落を釣菌単離して、それぞれいくつかの純粋培養菌を得た。それら分離細菌を宿主とするようなファージを同じ実験材料から間接法 (集殖法) で検索し、それぞれ幾組かの宿主-ファージ系が検出された。各実験材料の生菌数, 分離菌数, 検出された宿主-ファージ系の宿主菌とその菌属名および分離ファージの符号をまとめたものが Table 1 である。Table 1 にみられるように, 07T- 海底堆積泥の細菌数は $10^4/g$ であり, それから代表菌 22 株を分離し, それらを宿主とするファージを検索して 07T-12 菌に感染能をもつファージが 1 株検出された。そのファージを 07T-12P と符号する。同様にして各試料海水の細菌数はほぼ $40\sim 100/ml$ の範囲にあった。それぞれの分離細菌の中で宿主-ファージ系が認められたのは, 15N- の 3 株, 25N-A- の 1 株, 25N-B- の 3 株, 25N-C- の 5 株と 22T- の 3 株, 計 16 株であった。これらファージ系の宿主菌は後述するように海洋細菌の性質を備えるものであり, 分離ファージ系はすべて海洋ファージ系とみなされる。

宿主細菌の性状 宿主細菌の性状検査は標準法 (HARRIGAN and McCANCE, 1966) で行ない。鑑別は BERGEY'S Manual, 7 版 (BREED *et al.*, 1957) と, SHEWAN *et al.* (HENDRIE and SHEWAN, 1966; BAIN and SHEWAN, 1968) によって要約された鑑別法に従って同定した。

宿主菌 16 株の一般性状は Table 2 に示した。供試菌のすべては, グラム染色陰性の運動性をも

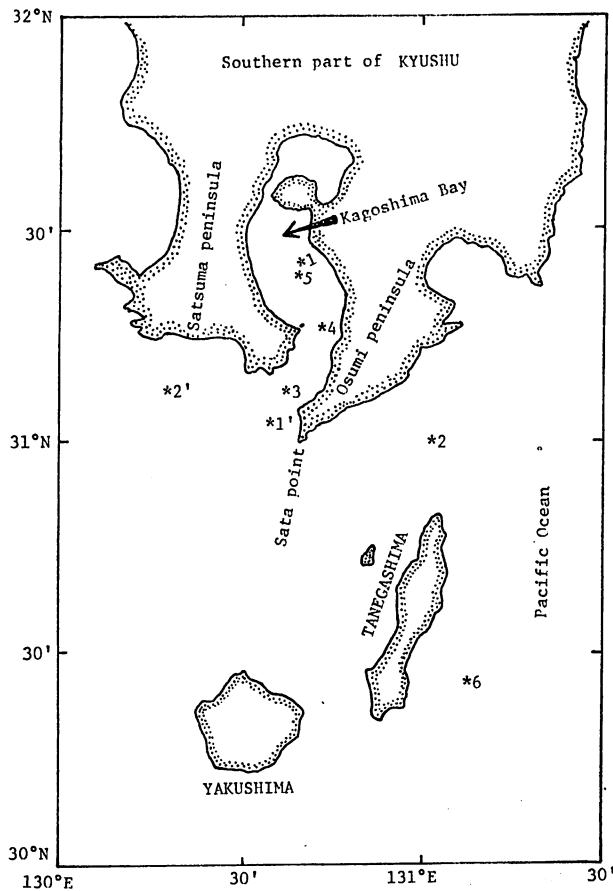


Fig. 1. Map showing the sampling stations for isolation of marine phage systems.

Star marks show the stations.

*1' : 06N station } See previous paper (HIDAKA and FUJIMURA, 1971 a)
 *2' : 0XN station }

*1 : 07T station (Depth, 230 m)

*2 : 15N station (Depth, 100 m)

*3 : 25N-A station (Depth, 100 m)

*4 : 25N-B station (Depth, 125 m)

*5 : 25N-C station (Depth, 225 m)

*6 : 22T station (Depth, 1000 m)

つ桿菌で、海洋細菌の主導菌と目される菌属の性質を備えている。また無機塩要求性による群別法 (HIDAKA and SAKAI, 1968) によれば、それらは海洋型菌と好塩型菌に属するものであり、陸棲型菌は含まれなかった。これらのことから分離ファージ系の宿主菌はいずれも海洋細菌と考えられる。それらの性状からそれぞれ 07T-12, 15N-5, 15N-12, 25N-35 と 25N-69 の 5 株は *Pseudomonas* に、25N-12, 25N-73, 22T-6, 22T-33 と 22T-36 の 5 株は *Vibrio* に、15N-11 と 25N-61 の 2 株は *Flavobacterium* に、25N-27 と 25N-42 の 2 株は *Achromobacter* に、25N-66 と 25N-70 の 2 株は *Aeromonas* に属する菌であった。

分離海洋バクテリオファージの溶原性 ここに分離された 16 株の海洋ファージは、前述のごと

Table 1. Details of the marine phage systems newly isolated.

Samples	No. of viable cells in samples	No. of isolated bacteria	Phage systems detected		
			No. of systems	Host bacteria	Phages
07T-marine mud	10 ⁴ /g	22	1	07T-12 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	07T-12 P
15 N-sea water	80/ml	30	3	15N- 5 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	15N- 5 P
				15N-11 (<i>Flavobacterium</i> sp.)	15N-11 P
				15N-12 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	15N-12 P
25 N-A-sea water	100/ml	22	1	25N-12 (<i>Vibrio</i> sp.)	25N-12 P
25 N-B-sea water	100/ml	23	3	25N-27 (<i>Achromobacter</i> sp.)	25N-27 P
				25N-35 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	25N-35 P
				25N-42 (<i>Achromobacter</i> sp.)	25N-42 P
25 N-C-sea water	100/ml	30	5	25N-61 (<i>Flavobacterium</i> sp.)	25N-61 P
				25N-66 (<i>Aeromonas</i> sp.)	25N-66 P
				25N-69 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	25N-69 P
				25N-70 (<i>Aeromonas</i> sp.)	25N-70 P
				25N-73 (<i>Vibrio</i> sp.)	25N-73 P
2ZT-sea water	40/ml	38	3	2ZT- 6 (<i>Vibrio</i> sp.)	2ZT- 6 P
				2ZT-33 (<i>Vibrio</i> sp.)	2ZT-33 P
				2ZT-36 (<i>Vibrio</i> sp.)	2ZT-36 P

く間接法によって分離されたものである。したがって、それらの分離ファージのなかには海水や海底泥中に遊離していたものばかりでなく、集菌培養中に溶原菌があつてそれから誘発してきたと考えられるものをも含む可能性がある。よつて各分離ファージの溶原性を検討したところ、07T-12Pと25N-66Pの2株のファージに溶原性が認められた。このことは07T-12Pと25N-66Pはテンペレート・ファージ (temperate phage) であることを示すものであり、他の14株はヴィルレント・ファージ (virulent phage) であつた。テンペレート・ファージである07T-12Pと25N-66Pについては別報で詳述する。

分離海洋バクテリオファージの溶菌斑形態 分離海洋ファージ系の二重寒天平板法による溶菌斑形態を Fig. 2-1~2 に示した。多くの分離海洋ファージ、15N-11P, 15N-12P, 25N-35P, 25N-66P, 25N-70P, 25N-73P, 2ZT-6P, 2ZT-33Pと2ZT-36Pは径1~2mmの正円の透明な溶菌斑を形成し、一般に宿主菌苔に対する溶菌部分のコントラストは弱い。15N-5P, 25N-61Pと25N-69Pは同様に小さく透明な溶菌部分の周囲にハローをもつ溶菌斑を作る。07T-12Pと25N-27Pは透明で大きな溶菌斑 (径3~5mm) を形成し、また25N-12Pと25N-42Pはさらに大きなしかも周囲にハローをもつ溶菌斑を形成する。

分離海洋バクテリオファージ粒子の構造 各供試ファージはそれぞれ調製されたファージ・ライゼイト (phage lysate) から遠心分離法でファージ粒子を集め、それを1%酢酸アンモニウム水溶液に濃厚に懸濁 (10¹⁰⁻¹¹ pfu/ml) する。この濃厚ファージ懸濁液を試料とし、リンタングステン酸による陰染色標本作成して、日立製電子顕微鏡、HU-11D型にそう入し、電顕実拡大50,000倍で観察し撮影した。そのネガを更に4倍に引伸ばして焼付け、200,000倍の写真として Fig. 3-1~4

Table 2. Brief characterization of the host bacteria.

Host bacteria	Cell form	Gram's stain	Flagellation	Kovacs oxidase	Hugh & Leifson test	Sensitivity to 0/129	Arginine dihydrolase	Gelatin hydrolysis	Starch hydrolysis	Growth in 7.5% NaCl	Growth at 37°C	Luminescence	Pigment (non-diffusible)	Indole production	Nitrate reduction	H ₂ S from cysteine	V. P. test	M. R. test	Typing (M-, H-, and T-type) *
07T-12	R	-	M	+	NC	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	M-
15N- 5	R	-	M	+	NC	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	M-
15N-11	R	-	P	-	NC	-	-	+	+	-	-	-	yO	-	+	+	-	-	M-
15N-12	R	-	M	+	NC	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M-
25N-12	R	-	M	+	F	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	M-
25N-27	R	-	P	+	NC	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H-
25N-35	R	-	M	+	NC	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	M-
25N-42	R	-	P	-	NC	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	M-
25N-61	R	-	P	-	NC	-	-	+	+	+	+	-	yO	-	-	+	-	-	H-
25N-66	R	-	M	+	F	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	H-
25N-69	R	-	M	+	O	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	H-
25N-70	R	-	M	+	F	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	H-
25N-73	R	-	M	+	F	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	H-
2ZT- 6	R	-	M	+	F	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	H-
2ZT-33	R	-	M	+	F	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	H-
2ZT-36	R	-	M	+	F	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+	H-

Key: R, rods; P, peritrichous; M, monotrichous; Y, yellow; yO, yellowish-orange; -, negative; +, positive; O, oxidative; F, fermentative; NC, growth with no change in reaction; M-, Marine type; H-, Halophilic type.

* Three types, Marine (M-) type, Halophilic (H-) type and Terrestrial (T-) type, were designated according to the requirement of bacteria for several kinds of salts in sea water (HIDAKA and SAKAI, 1968).

に示した。またそれら構造の各部の大きさを Table 3 にまとめた。

07T-12P 粒子は径 60 mμ の外観六角形の正多面体の頭部に痕跡の尾部様構造を付した形である。供試海洋ファージのうち、この構造に類するものは25N-35P と 2ZT-36P である。

15N-5P 粒子は径 60~70 mμ の外観六角形の頭部と短い尾部から成っている。尾部の大部分は尾板で占められ、尾板は非常に短いネックを通じてほとんど直接頭部に接続している。さらにその尾板の先には六角に配置された6個の突起をもつ。このように短いながらも複雑な構造の尾部はおおよそ巾 10 mμ 長さ 20 mμ の大きさである。供試海洋ファージのうち、この粒子構造に類するものは25N-12P, 25N-42P と 2ZT-33P である。

15N-11P 粒子は径 65 mμ 位の外観六角形の多面体形をした頭部と比較的細くて長い非収縮性の尾部(幅 10 mμ, 長さ 180 mμ) とから成立っている。供試海洋ファージのなかで、この粒子構造に類するものは、15N-12P, 25N-66P, 25N-69P と 25N-70P である。ただし尾部の長さはファージによってそれぞれ異なり、そのうえ尾部先端構造も様々である。25N-66P の尾部末端構造には明らかに尾板があり、その先にスパイク様の突起が見られる。15N-11P, 15N-12P と 25N-69P のそ

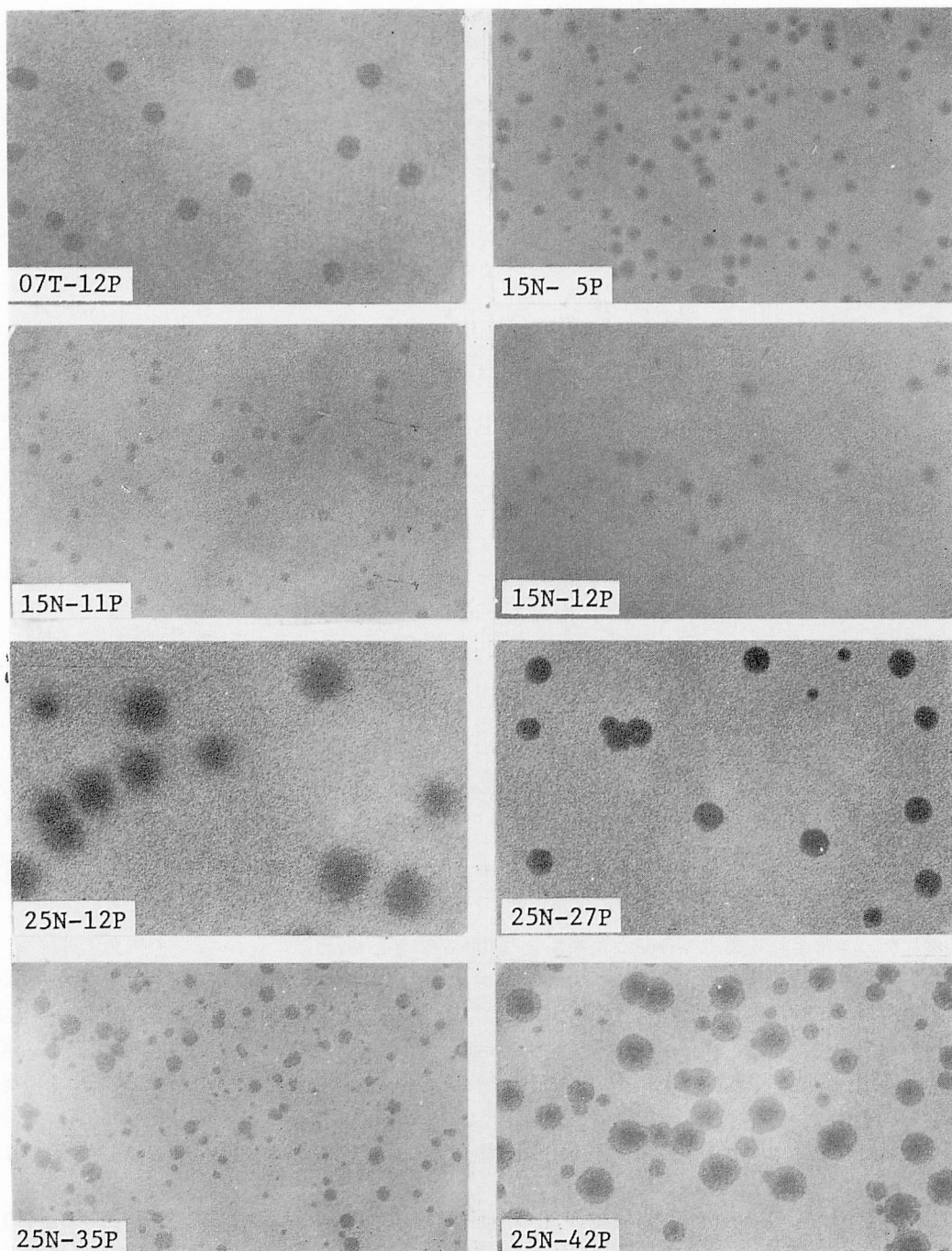


Fig. 2-1. Plaque morphology of the marine phages (Part 1). X 1

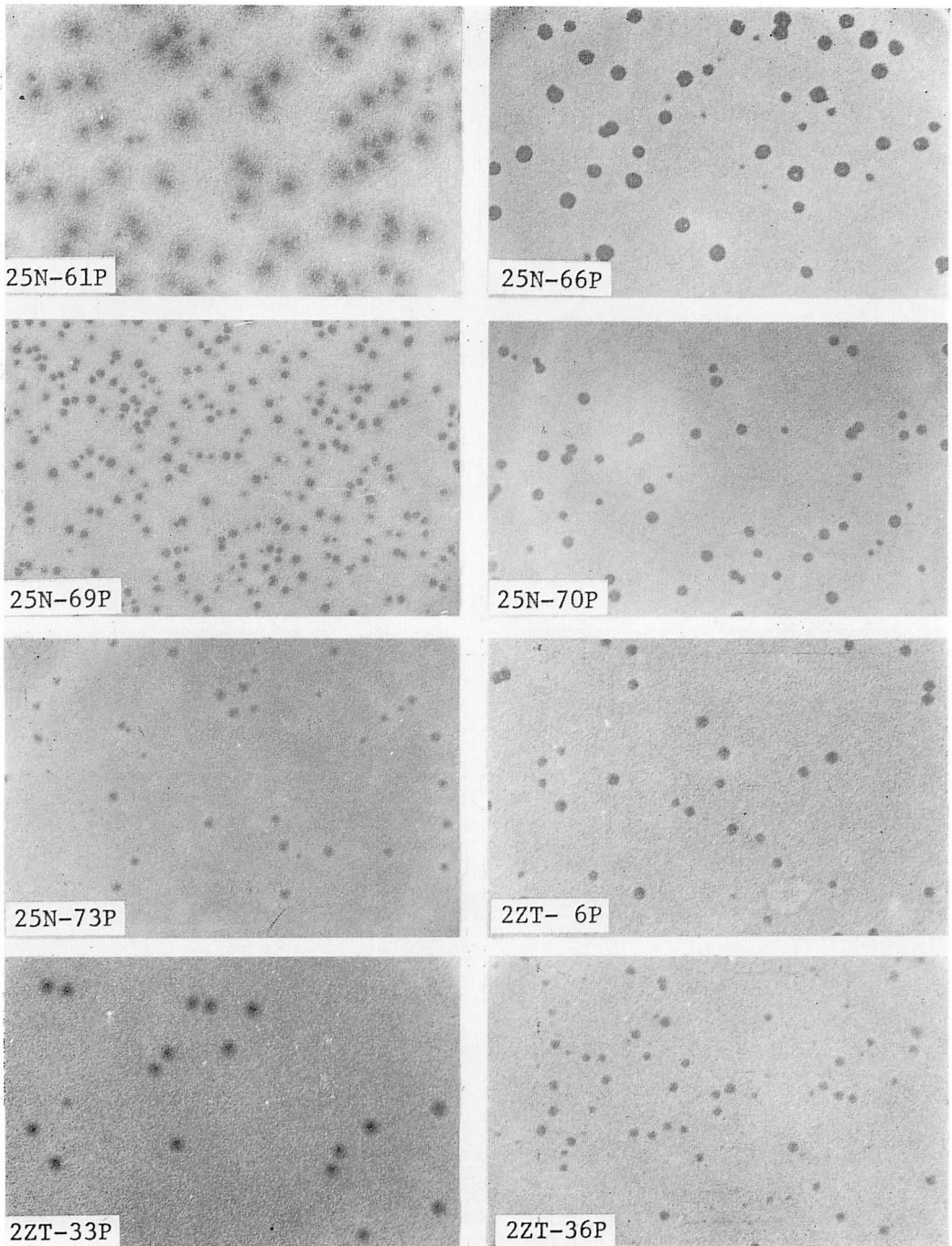


Fig. 2-2. Plaque morphology of the marine phages (Part 2). X 1

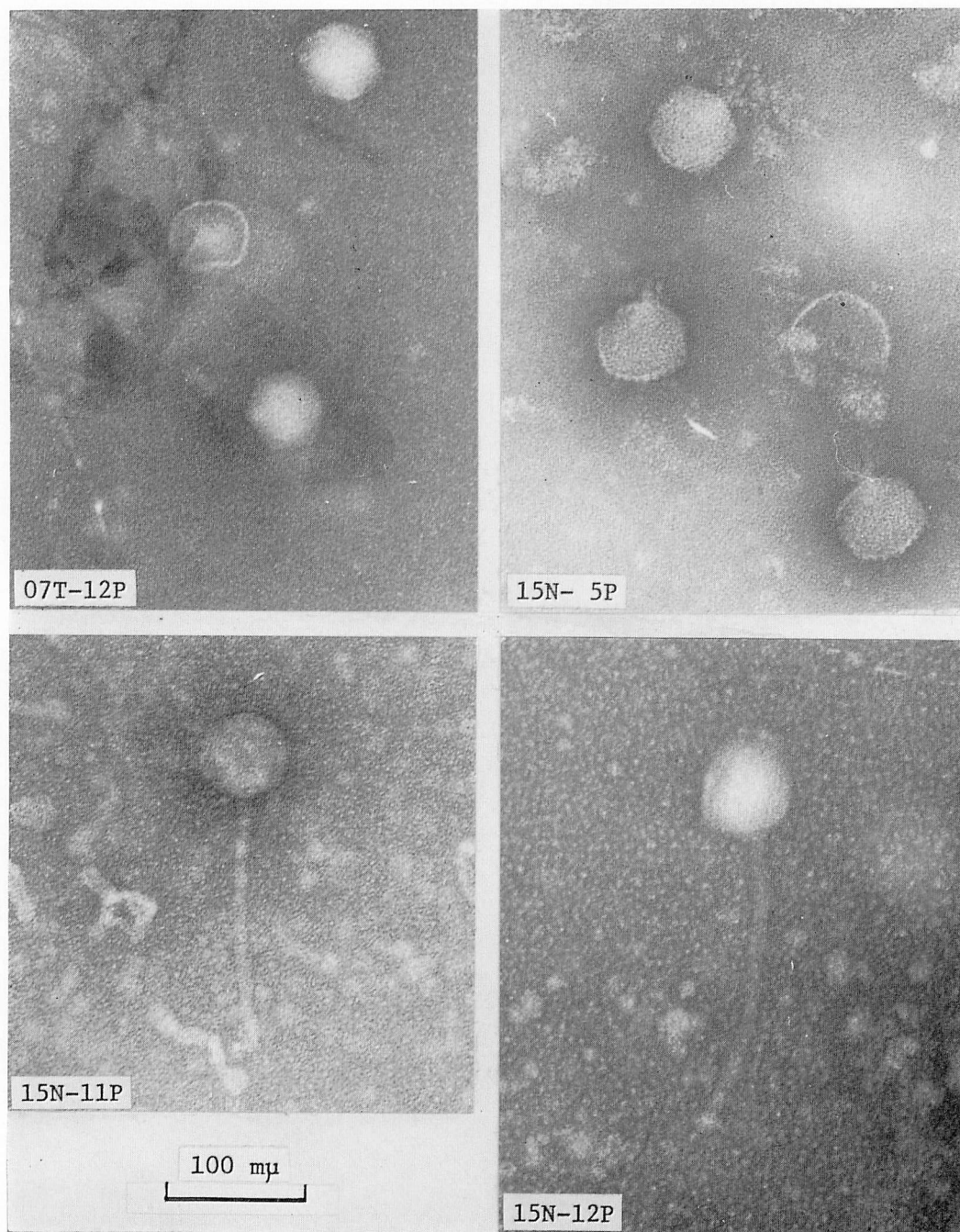


Fig. 3-1. Electron micrographs of 07T-12P, 15N-5P, 15N-11P and 15N-12P particles negatively stained with phosphotungstic acid. X 200,000

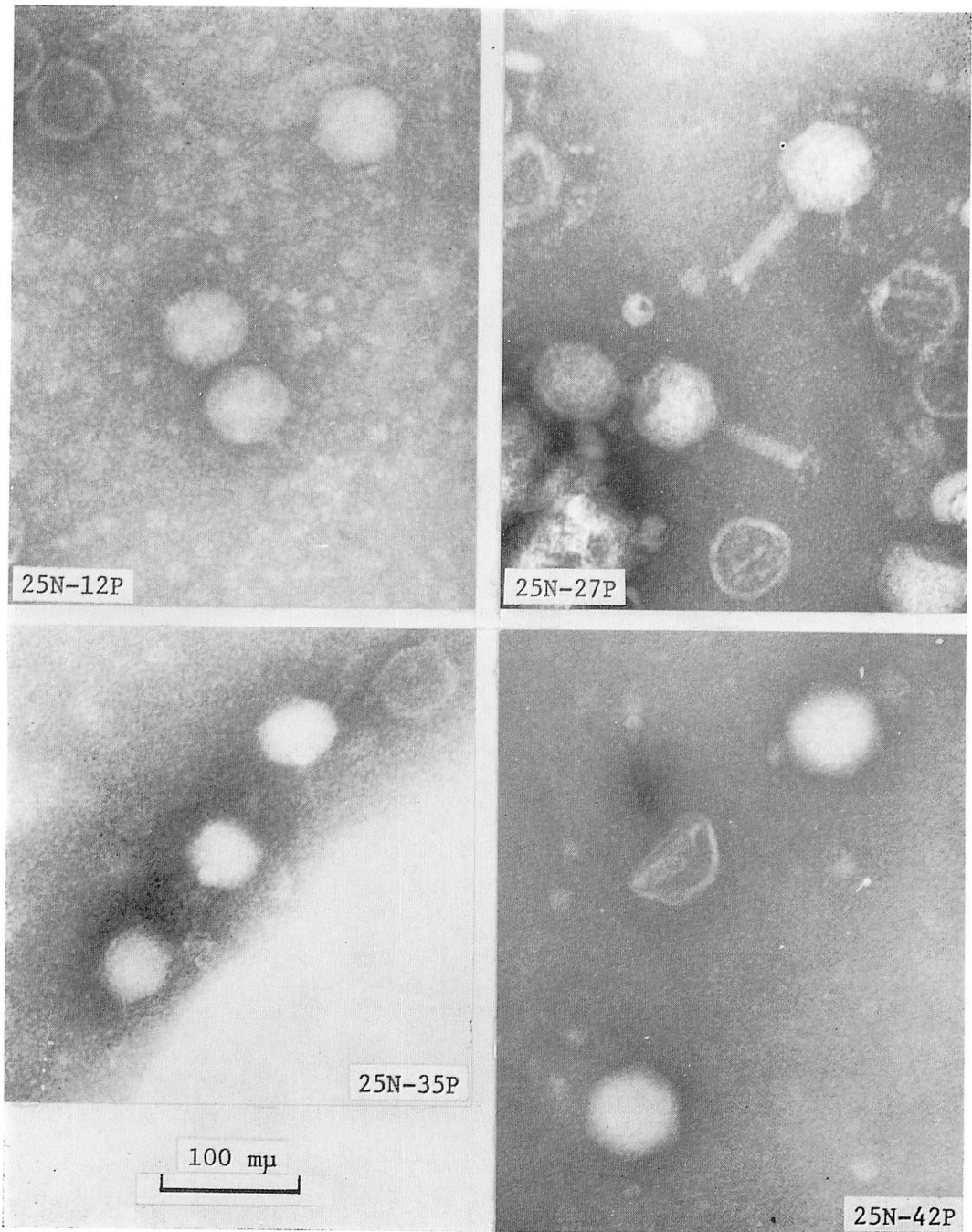


Fig. 3-2. Electron microrographs of 25N-12P, 25N-27P, 25N-35P and 25N-42P particles negatively stained with phosphotungstic acid. X 200,000

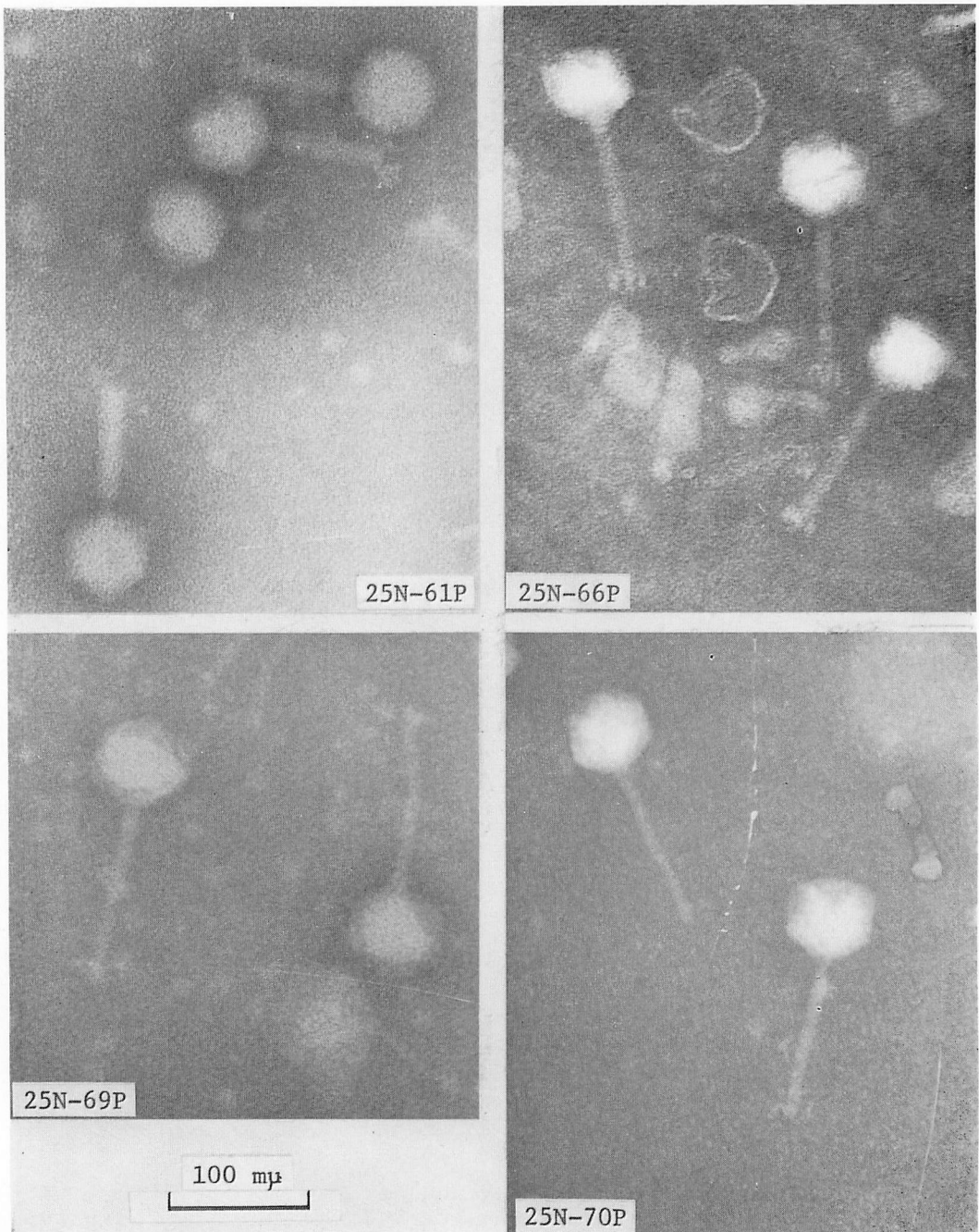


Fig. 3-3. Electron micrographs of 25N-61P, 25N-66P, 25N-69P and 25N-70P particles negatively stained with phosphotungstic acid. X 200,000

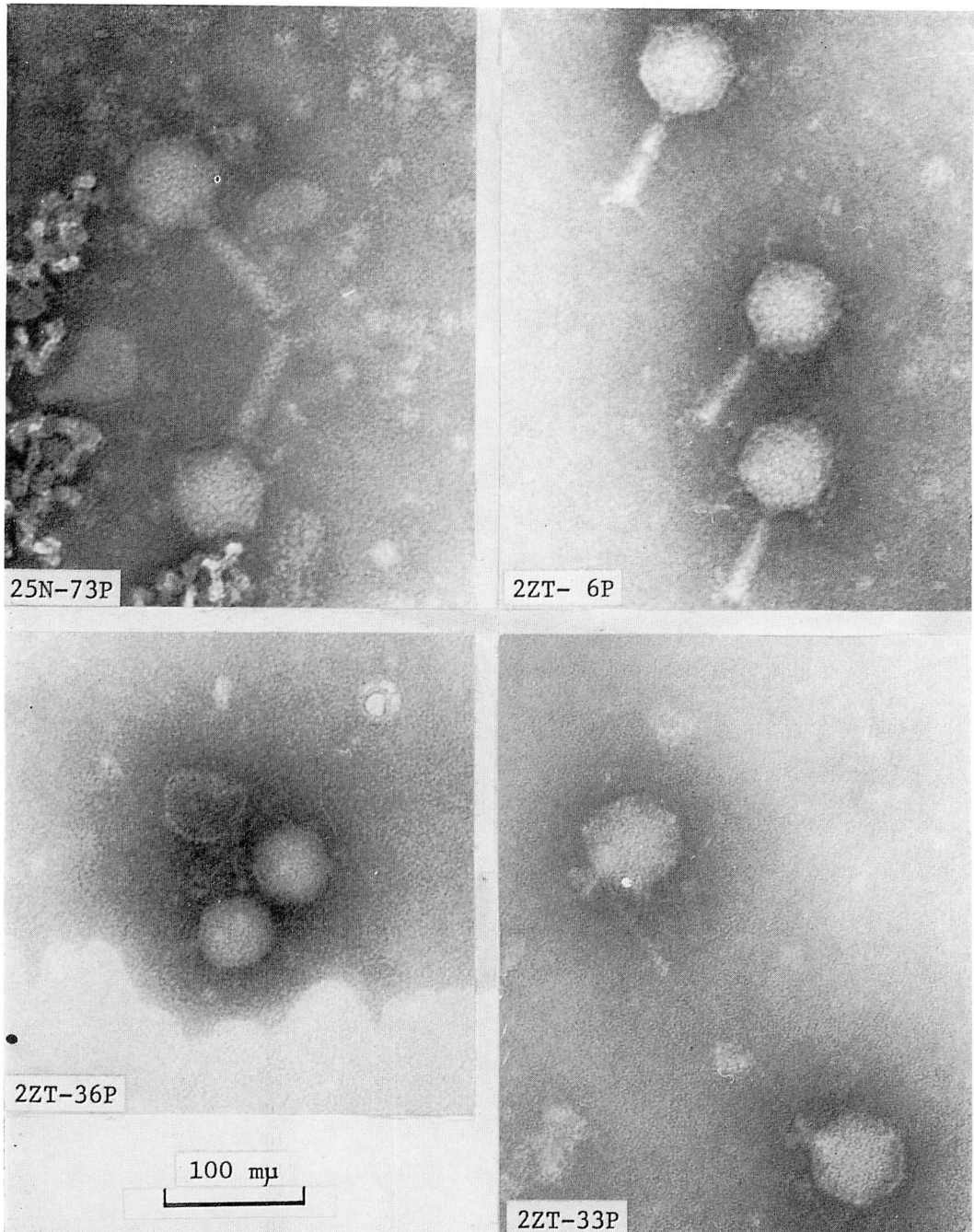


Fig. 3-4. Electron micrographs of 25N-73P, 2ZT-6P, 2ZT-33P and 2ZT-36P particles negatively stained with phosphotungstic acid. X 200,000

Table 3. Dimensions of the particles of marine phages used.

Phages	Size of head Diameter, m μ	Size of tail	
		Length, m μ	Width, m μ
07 T-12 P	60	5	10
15 N- 5 P	70	20	10
15 N-11 P	65	180	10
15 N-12 P	70	200	10
25 N-12 P	60	15	10
25 N-27 P	70	75	20
25 N-35 P	55	5	10
25 N-42 P	70	10	10
25 N-61 P	60	80-90	20
25 N-66 P	60	120	10
25 N-69 P	70	120	10
25 N-70 P	60	110	10
25 N-73 P	70	85-95	20
2 ZT- 6 P	65	65-75	20
2 ZT-33 P	70	15	10
2 ZT-36 P	60	5	10

Table 4. Survival of the marine phages heated at 50°C for 30 min or treated with chloroform.

Initial phage concentration was a 10⁶ pfu/ml in sea water broth.

Phages	Survival of the phage particles (pfu/ml)	
	heated at 50°C for 30 min	treated with chloroform
07 T-12 P	0	0
15 N- 5 P	10	10 ³
15 N-11 P	10 ⁵	10 ⁶
15 N-12 P	10 ⁵	10 ⁵
25 N-12 P	10 ⁴	10 ⁶
25 N-27 P	10 ⁶	10 ⁶
25 N-35 P	0	10 ⁴
25 N-42 P	10 ⁵	10 ⁶
25 N-61 P	10 ⁶	10 ⁶
25 N-66 P	10 ⁶	10 ⁶
25 N-69 P	10 ⁶	10 ⁶
25 N-70 P	10 ⁶	10 ⁶
25 N-73 P	10 ⁶	10 ⁶
2 ZT- 6 P	10 ⁶	10 ⁶
2 ZT-33 P	10 ⁶	10 ⁶
2 ZT-36 P	0	0

れは尾板様のものがみられ、その先が分岐している。25N-70P は尾部先端構造が明りようでない。

25N-27P の粒子は径 $70\text{ m}\mu$ の外観六角形の頭部と巾 $20\text{ m}\mu$ 長さ $80\text{ m}\mu$ の尾部から成っている。尾部の囲りには収縮性尾鞘をつけ、先端に尾板をもつ。尾板にはスパイク様構造が見られる。この粒子構造の成り立ちは、大腸菌-T 偶数系ファージの構造に類似し完全な形をしている。供試海洋ファージのうち、25N-61P、25N-73P と 2ZT-6P がこの構造に類似する。25N-61P の写真では尾部が収縮した様子もうかがえる。

分離海洋バクテリオファージの安定性 供試ファージ粒子の加熱やクロロホルム処理による失活度合は、そのファージの実験手技に大きなかわりをもつ。一般に多くの陸棲ファージはそれらの処理に対して安定であるが、海洋ファージには不安定なものをみかける。そこで分離海洋ファージの性状の一つとして、それらの安定性を検討した。すなわち、各ファージ液はそれぞれ海水培地中で 10^6 pfu/ml に調整し、それらを 50°C 30 分間の加熱またはクロロホルム 1/10 量を加え強く振盪して室温（約 25°C ）に 1 時間放置後、それぞれの生残ファージ数を計数した。その結果は Table 4 に示される。Table 4 にみられるように、 50°C 30 分間の加熱で 07T-12P、15N-5P、25N-35P と 2ZT-36P はほとんどあるいは完全に、また 25N-12P は 1/100 に、15N-11P、15N-12P と 25N-42P は 1/10 に失活した。他の供試海洋ファージは 50°C 30 分間の加熱に対し安定であった。次に、クロロホルム処理によつては 07T-12P と 2ZT-36P が完全失活し、15N-5P は 1/1000 に 25N-35P は 1/100 に失活した。他の供試海洋ファージはクロロホルム処理に対し安定であった。このように、クロロホルム処理によるよりも 50°C 30 分間の加熱によってより多くの海洋ファージが何らかの失活を被った。そしてクロロホルム処理に対し不安定なものは 50°C 30 分間の加熱に対しても不安定であった。不安定度に差はあるが供試海洋ファージのうち 1/3 程度が不安定なファージであった。これら不安定なファージは、ファージ液の貯蔵中でも力価の減少が速い。

考 察

本報に記載した 16 組の海洋ファージ系は、各供試材料から分離された宿主—ファージ系を相互に交叉感染させてその類似性を検討し、同種の宿主—ファージ系と見なされるものを整理統合したうえ、更に前報（日高・藤村、1971 a, 1971 b）で記載した 06N- ファージ 8 株と 0XN- ファージ 8 株ともそれぞれ異種性が確認された新しいものである。これらの過程において、同じ試料海水から同種の海洋ファージ系が重複して分離されたことがあったが、採取点の異なる試料海水から分離された海洋ファージ系で相互に類似するものは殆んどなかった。このように各海域に共通する海洋ファージ系が少なかったことは、試料採取点の位置的相違によるものばかりでなく、試料採取時期が大きく異ったせいであろう。ただ一つ 15N-11P はそれと同種のファージ系が 25N- 海水と 2ZT- 海水からも分離されていたが、このファージ系に類するものは九州南方の亜熱帯海域にひろく分布するもののようである。と言うのは、前報に記載した 06N-12P、06N-24P と本報に記載した 15N-11P とは相互に交叉感染はしなかったが、それらの宿主菌の性状やファージ粒子構造などが酷似している。これらファージ系の同定は更に詳細に検討したいが、このファージに類するものが九州南方海域に特有なものであることがうかがえた。

分離海洋ファージ系の宿主菌は *Vibrio* 5 株、*Pseudomonas* 5 株、*Flavobacterium* 2 株、*Achromobacter* 2 株と *Aeromonas* 2 株であり、それらはいずれも海洋細菌の主導菌に属するものであるが、なかでも *Vibrio* 属と *Pseudomonas* 属菌が多い。ちなみに、前報に記載した 16 組のファージ

系の宿主菌は *Vibrio* 9株, *Pseudomonas* 4株, *Flavobacterium* 2株, *Achromobacter* 1株であった。宿主菌が同じ菌属 (genus) に属するものであっても、それらに感染するファージの性状はそれぞれ異なった。分離海洋ファージの宿主特異性はきびしく、宿主域の狭いものであった。従って分離海洋ファージ系の宿主菌の分類的位置を菌種 (species) レベルまで精査し、それらに感染するファージとの相関性を整理して分類困難な海洋細菌の鑑別に役立てたい。

分離海洋ファージの粒子構造は多様であり、特に尾部構造において巾広い差異が見られた。ここに分離海洋ファージの粒子構造を大別すれば、1) 痕跡の尾部類似の構造をもつファージ3株、2) 短い尾部をもつファージ4株、3) 細長い非収縮性の尾部をもつファージ5株、4) 収縮性尾鞘をつけ完全な形をした尾部をもつファージ4株であった。TIKHONENKO (1970) はファージの粒子構造を基礎にして、ファージをⅠ～Ⅴの五群に分けている。彼の群別に照らせば、上述の2)、3)、4) はそれぞれⅢ、Ⅳ、Ⅴ群に相応する。また同氏の記載によれば、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ群に属するファージは2本鎖DNAを遺伝物質としてもつファージである。上述の1) はTIKHONENKOの群別のⅡ群に属するものかⅢ群に属するものかはFig. 3の写真からだけでは明らかでない。Ⅲ群に属するものとすれば2本鎖DNAファージであるが、Ⅱ群に属するものとすれば1本鎖DNAファージかRNAファージということになる。1) がⅡ、Ⅲ群のいずれに属するものであるかは、粒子構造の外観ばかりでなくそれらファージの遺伝物質である核酸の形状をも検討し、両者をあわせて考えて群別しなければならない。そのことは現在検討中である。このように分離海洋ファージの粒子構造は多様であり、陸棲ファージに対し、海洋ファージの形態的特性として示される共通する特異構造は見出し得なかった。

分離海洋ファージの約1/3の割合で見出される不安定なファージは、形態的には短いまたは痕跡の尾部をもつファージに多く、次いで非収縮性の長い尾部をもつファージに見られ、収縮性尾鞘をつけた尾部をもつファージには見られなかった。このことは前報(日高・藤村, 1971b)で得られた知見を再確認するものである。

次に本報において特記すべき点は、分離海洋ファージ16株のうち2株がテンプレート・ファージであることである。海洋テンプレート・ファージである07T-12Pは*Pseudomonas* sp. を25N-66Pは*Aeromonas* sp. を宿主とするテンプレート・ファージである。両テンプレート・ファージの宿主菌に対する溶原サイクルを確認したが、その詳細は別報にゆずる。これらテンプレート・ファージを使い、海洋*Pseudomonas* 菌や海洋*Aeromonas* 菌の形質導入実験の成立を目指して基礎実験を進めている。

要 約

九州南方海域から採取した海水や海底堆積泥から16組の海洋ファージ系を分離した。それらの宿主菌は典型的な海洋細菌であり、*Vibrio* (5株), *Pseudomonas* (5), *Flavobacterium* (2), *Achromobacter* (2) と *Aeromonas* (2) に属する菌種であった。分離海洋ファージの粒子構造は個々に異なり、これら供試ファージの構造から海洋ファージの形態的特性を表わす共通点は見出し得ず、むしろその形態の多様性を認めた。また不安定な海洋ファージは形態的には短い尾部をもつファージに多いことなど前報で得られた知見が再確認された。分離海洋ファージ16株のうち14株はヴィルレント・ファージであったが、2株はテンプレート・ファージであった。このテンプレート・ファージを使って、海洋細菌の形質導入実験が期待される。

本研究の一部は昭和 47 年度文部省科学研究費補助金 (No. 756108) によって行なった。記して謝意を表します。海底堆積泥の採取にあたり御支援賜った米国ワシントン州立大学海洋学部の Dr. H. LING に、また海水試料採取に御協力いただいた学生、一田謙一、田村良和、徳重明憲の 3 氏にもあわせて御礼申し上げます。

文 献

- BAIN, N. and J. M. SHEWAN (1968) : Identification of *Aeromonas*, *Vibrio* and related organisms. in "Identification Methods for Microbiologists, Part B" (B. M. GIBBS and D. A. SHAPTON, ed.), 79-84, Academic Press, New York.
- BREED, R. S., E. G. D. MTRRAY, and N. R. SMITH (1957) : "BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology", 7th ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- HARRINGAN, W. F. and M. E. MCCANCE (1966) : "Laboratory Methods in Microbiology", Academic Press, New York.
- HENDRIE, M. S. and J. M. SHEWAN (1966) : The identification of certain *Pseudomonas* species. in "Identification Methods for Microbiologists, Part A" (B. M. CIBBS and F. A. SKINNER, ed.), 1-7, Academic Prese, New York.
- HIDAKA, T. and M. SAKAI (1968) : Comparative observation of the inorganic salt requirements of the marine and terrestrial bacteria. *Bull. Misaki Marine Biol. Inst. Kyoto Univ.*, No. 12, 125-149.
- HIDAKA, T. (1971) : Isolation of marine bacteriophages from sea water. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **37**, 1199-1206.
- 日高富男・藤村剛 (1971 a) : 海洋バクテリオファージの形態について。本誌, **20** (1), 141-154.
- 日高富男・藤村剛 (1971 b) : 海洋バクテリオファージの熱およびクロロホルム耐性。本誌, **20** (1), 155-158.
- HIDAKA, T. (1972) : On the stability of marine bacteriophages. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 517-523.
- 日高富男・一田謙一 (1972) : 海洋バクテリオファージの細菌沍過膜通過による損失。本誌, **21** (1), 97-102.
- TIKHONENKO, A. S. (1970) : "Ultrastructure of Bacterial Viruses" (Translated from Russian by B. HAIGH), 29-32, Plenum Press, New York.