

## Mycobacterium の薬剤耐性獲得の機序

M. 607 のいわゆる休止菌 (Resting Cells) および  
増殖菌 (ブイオン陳旧培養菌) に対するイソニア  
ジドおよびストレプトマイシンの作用について

慶応義塾大学医学部細菌学教室

牛場 大蔵

国立相模原病院 内科

後藤 敏夫・清水 邦彦

渡口 精吉・坂本 光弘

(受付 昭和 30 年 7 月 6 日)

細菌の薬剤耐性獲得の機序に関しては、薬剤耐性の遺伝子的変化を認めるものの中に、従来対立する 2 つの学説がある。すなわち、ひとつは突然変異選択説 (Spontaneous mutation and selection theory) であり、他は誘導変異説 (Induced mutation theory) である。前者は Demerec (1948<sup>1</sup>), Luria (1947<sup>3</sup>), Alexander および Leidy (1947<sup>4</sup>), Alexander および Redman (1949<sup>7</sup>), Klein および Kimmelman (1946<sup>8</sup>), Yegian および Vanderline (1948<sup>9</sup>), Newcombe および Hawirko (1949<sup>10</sup>), Scott (1949<sup>11</sup>), English および Mc Coy (1951<sup>12</sup>), 牛場および渡辺 (1954<sup>13</sup>), 渡辺 (1954<sup>14</sup>), 55<sup>15</sup>) らによつて主張され、突然変異と薬剤の選択作用によるものに対し、後説は Linz (1950<sup>16</sup>), 秋葉ら (1952<sup>17</sup>), 53<sup>18</sup>), 金井ら (1953<sup>19</sup>), 君野 および都築 (1954<sup>20</sup>), 横田 (1955<sup>21</sup>) らによつて主張され、薬剤とくにストレプトマイシン (以下 S.M. と略記) の場合には前説のみで説明することは困難であるとし、薬剤そのものの誘導変異作用 (mutagenic action) の存在を強調している。また、最近金井 (1955<sup>22</sup>) は牛場らがいう “SM 不関性” と “SM 耐性” の 2 現象がそれぞれ突然変異と薬剤誘導の機序によつて説明されるであろうこと、すなわち、SM 耐性獲得に関して 2 元説を提唱した。以上のほかに非遺伝子的の考えとして酵素的適応をモデルとしたいわゆる適応現象を考慮に入れようとする Hinshelwood ら (1949<sup>23</sup>), 53<sup>24</sup>) のほか、Sevag および Rosanoff (1952<sup>25</sup>) は SM 耐性と菌の代謝との関係から一種の適応説を唱え、また Eagle ら (1951<sup>26</sup>), 52<sup>27</sup>) は突然変異と適応との 2 元的解釈を古くから主張している。なお最近、堀ら (1954<sup>28</sup>) は適応なり誘導作用による SM 耐性の上昇を示唆する成績を発表している。

一般に薬剤は増殖しつつある細菌の Population に対

しては選択作用をもちうるもので、Klein ら<sup>8</sup>), 秋葉ら<sup>17</sup>),<sup>18</sup>), 牛場ら<sup>13</sup>), 横田ら<sup>21</sup>), 堀ら<sup>28</sup>) はいわゆる休止菌 (resting cells) について実験し、薬剤との直接的な相互作用 (interaction) のみによつて薬剤耐性が獲得されるかどうかを決めている。かようにして秋葉ら<sup>17</sup>),<sup>18</sup>), 横田<sup>21</sup>) は黄色ブドウ球菌 (209p 株), 大腸菌 (B-19 株, BO-54 株, NY HJ 株) や結核菌 (H<sub>37</sub>Rv 株), 堀らはトリ型結核菌 (竹尾株) と SM とを接触させると、いわゆる “phenolag” の現象を考慮に入れなくとも、直接の耐性分布検査で SM 耐性を著明に認めたと報じているが、Klein ら<sup>8</sup>) は赤痢菌、牛場ら<sup>13</sup>) は腸炎菌 (No 11 株) と SM とを接触させても耐性上昇がみられなかつたと述べている。また一方、増殖菌 (ブイオン陳旧培養菌) に種々の量の SM を作用せしめて、耐性分布がいかに変化するかも、秋葉ら<sup>17</sup>) によつて観察されてきた。われわれは Mycobacterium 607 についてイソニアジド (以下 INH と略記) と SM を用い同様の実験を行ったので、その成績について報告したい。

## 実験材料と実験方法

(1) 菌株は国立療養所清瀬病院の鈴木技官から分与された Mycobacterium 607 を使用した。本菌株は無毒人型菌とも伝えられるが、その起源については疑問があり、おそらくスメグマ菌 (*M. smegmatis*) であろうとの意見もある (Tobie 1948<sup>29</sup>)。われわれは増殖が速かで取扱が容易な抗酸性菌という意味で本菌株を用いたもので、抗酸性や薬剤感受性の面では結核菌と多少の類似を示すものでこそあれ、本菌株による成績を直ちに人型菌にあてはめて考察しようとするものではない。

(2) SM は Merck の Dihydrostreptomycin Sulfate を、INH は第一製薬のものを使用した。

(3) 培地としては和光純薬工業の純グリセリン、極東

製薬所のペプトンとユールリツヒ肉エキスをを用いた1%グリセリン・ブイオンと1%グリセリン・平板寒天とを使用し、いずれも国産化学のマラヒット線を134,000倍に添加した(この程度のマラヒット線の量では本菌の増殖には影響がみられなかった)。

(4) 磷酸緩衝液は Sørensen pH 7.0 のものを使用した。

(5) M. 607 のいわゆる休止菌を作るには、まず1集落培養(single colony isolation)を3回繰返した本菌を1%グリセリン・寒天平板に接種して3日間培養し秤量した菌を磷酸緩衝液で2mg/ccの菌液を作り(ガラス球入りコルベンで手振り)、これを遠心沈澱し、さらに同様に3回洗滌して作った。

(6) いわゆる休止菌液の作製には主として磷酸緩衝液を用い、これにINH または SM の生理的食塩水稀釈液を、(7)のようにして決めた増殖阻止作用ある濃度(実際には高低2種類の濃度を使用した)に加えて2mg/ccの菌液とし、対照としてはこれらの薬剤を含まない生理的食塩水を加えて2mg/ccの菌液とし各試験管に5ccずつ分注し、水分の蒸発を防ぐために綿栓を蠟封した。増殖菌の実験のためには同じく阻止作用のある濃度と阻止作用のない濃度の2種類をそれぞれの薬剤につき用い、その各濃度の薬剤を含んだグリセリン・ブイオン5ccにM. 607 0.2mgを接種、37°Cに培養し、日をおつて各1本を取り出してその発育菌膜を可及的的全部採取した後ガラス球入りコルベンにて均等菌液を作製、混濁度にて2mg/ccの濃度に規正し、休止菌液と同様の方法(後述)で耐性分布を測定した。

Table 1. Sensitivity of M. 607 to isoniazid and streptomycin in 1% glycerin-broth. (Inoculum: 0.2mg per 5ml of broth)

a) Sensitivity to isoniazid

Days of incubation	Concentration of the drug ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	0	0.16	0.32	0.63	1.25	2.5	5.0	10	20	50
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	*	-	-	-	-	-	-
3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

\* Extent of surface growth

(7) M. 607 に対するINH およびSMの増殖阻止作用のある濃度と、阻止作用のない濃度は1%グリセリン

Table 1. Sensitivity of M. 607 to isoniazid and streptomycin in 1% glycerin-broth (Inoculum: 0.2mg per 5ml of broth)

b) Sensitivity to streptomycin

Days of incubation	Concentration of the drug ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	0	0.16	0.32	0.63	1.25	2.5	5.0	10	20	50
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	*	+	+	+	+	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
4	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
5	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

\*Extent of surface growth

・ブイオンを用いて決めた。すなわち、本増地においてM. 607 に対するINHの増殖阻止作用をみるとTable 1aのとおりで、1.25 $\mu\text{g/cc}$ 以上にみられる。しかし0.5 $\mu\text{g/cc}$ にはそれが無いものと考えられる。また本菌に対するSMの増殖阻止作用をみるとTable 1bのとおりで0.16 $\mu\text{g/cc}$ 以上にみられる。しかし0.05 $\mu\text{g/cc}$ にはそれが無いものと考えられる。なお本菌の増殖はパラミノサルチル酸ソーダでは2,000 $\mu\text{g/cc}$ 以上、チオアセタゾンでは200 $\mu\text{g/cc}$ で阻止されないことを追記したい。

## 実験成績

実験はいわゆる休止菌(resting cells)と増殖菌(ブイオン陳旧培養菌)との2つに大別される。

1. いわゆる休止菌についての実験

(1) INHの作用

M. 607の休止菌と接触させた増殖阻止作用ある濃度としては5 $\mu\text{g/cc}$ と50 $\mu\text{g/cc}$ とを用い、上記のようにして4°Cおよび37°Cに3日、7日および14日保存してから遠心沈澱し、再び磷酸緩衝液で1回洗滌した後に本液で菌液を作り、直ちにグリセリン・寒天平板で耐成分分布を測定し(5日判定)、保存前および対照増地のそれと比較した。しかして耐性分布を測定する時は1枚の平板につき適当に稀釈された0.1ccずつの菌液をおき、一定規格のCanradi棒で平等に塗抹培養を行うこととし、培地中の各濃度および菌液の各稀釈に対して1~2枚ずつの平板を使用して集落数の平均をとった。集落の算定は37°Cで5日培養した後に肉眼的に行つた。なおこの実験は3回繰返した。

その成績は実験したINH濃度、温度および培養日数のいずれにおいても保存前と同一で、耐性分布の上昇を

認めえなかつた。その成績の一部を示したのが Fig. 1 である。

つぎに、われわれが実験に使用した M. 607 の 10mg (2mg/cc, 5cc) 中に INH に対するいわゆる自然耐性菌があるかどうかを 1% グリセリン・ブイオンで調べた成

**Table 2** Population of isoniazid-resistant cells in large inocula of M. 607.

a) Cultivation of 10mg of bacilli in 1% glycerin-broth

Days of incubation	Concentration of isoniazid ( $\mu\text{g/ml}$ )							
	0	1.0	10	100	1,000	5,000	10,000	50,000
5	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
10	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-

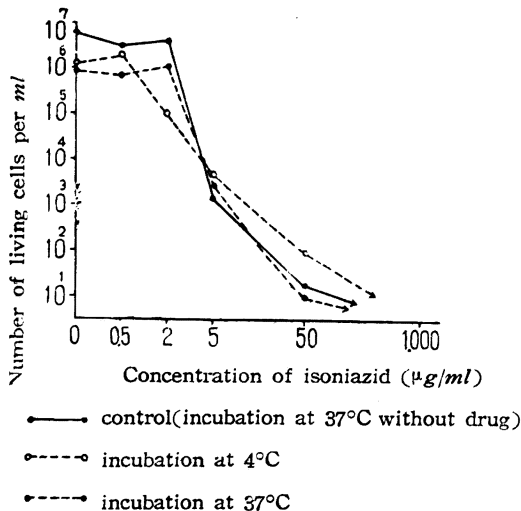
**Table 2** Population of isoniazid-resistant cells in large inocula of M. 607.

b) Cultivation of 2mg of bacilli on 1% glycerin-broth

Days of incubation	Concentration of isoniazid ( $\mu\text{g/ml}$ )									
	0	0.5	5.0	10	50	100	500	1,000	5,000	10,000
5	卅	卅	卅	200*	300	100	100	0	0	0
10	卅	卅	卅	500	450	170	50	40	0	0

\* Number of colonies per plate

**Fig. 1** Population change of isoniazid-resistant cells in "resting cells" of M. 607 after 14 days' contact with 50 $\mu\text{g/ml}$  of isoniazid at 4° and 37°C, respectively.



績は、Table 2a, また 2mg 中のいわゆる自然耐性分布を 1% グリセリン・寒天平板で調べた成績は Table 2b のとおりで、いずれも 1,000 $\mu\text{g/ml}$  まで耐性菌を認めた

が、5,000 $\mu\text{g/ml}$  以上の耐性菌は認められなかつた。

(2) SM の作用

M. 607 のいわゆる休止菌と接触させた増殖阻止作用ある SM 濃度としては 0.5 $\mu\text{g/ml}$  と 5 $\mu\text{g/ml}$  とを用い、INH の場合と同様に 4°C および 37°C に 3 日 7 日お

び 14 日保存してから耐性分布を測定し、保存前および対照培地のそれと比較した。なおこの実験は 3 回繰返した。

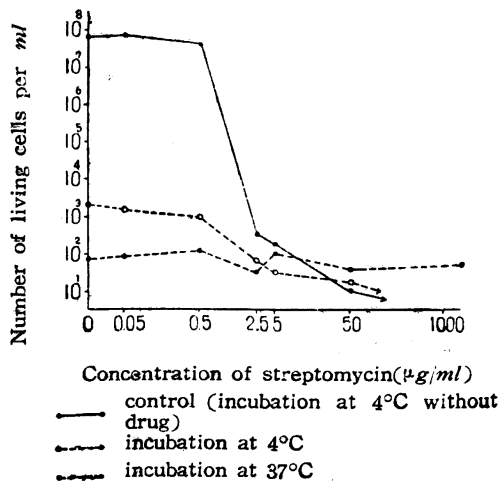
その成績は、まず保存前と対照培地に保存した場合の耐性分布はほぼ一致し、4°C では SM のいずれの濃度、培養のいずれの日数においても耐性分布の上昇を認めなかつた。しかし 37°C では耐性分布の上昇を認め、しかもこの傾向は SM 濃度が高く、培養日数が長い場合に著しか

つた。ただし SM 感性菌の減少が目目され、しかもこの傾向は SM 濃度が高く、培養日数が長い場合に著しいほか、4°C よりも 37°C の場合に著しかった。その成績の一部を示したのが Fig. 2 である。

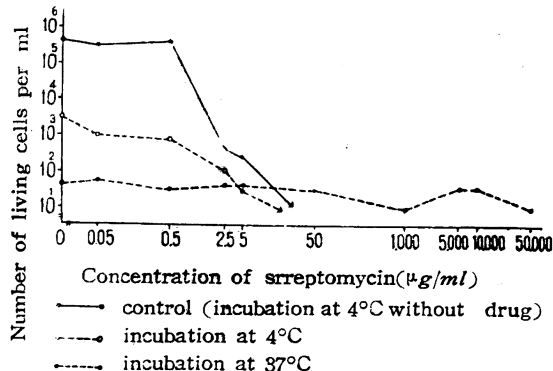
この SM, 37°C の場合は、培地の栄養素が十分に洗滌されないために耐性菌が増殖する疑も一応置かれるので、磷酸緩衝液で 3 回洗滌した菌液を 37°C に 1 日放置

した後、再び磷酸緩衝液で 3 回洗滌し本菌を極力飢餓の状態において同一の実験を繰返したが、Fig. 3 のとおり

**Fig. 2** Population change of streptomycin-resistant cells in "resting cells" of M. 607 after 14 days' contact with 5 $\mu\text{g/ml}$  of streptomycin at 4°C and 37°C, respectively (I Expt.)



**Fig. 3** Population change of streptomycin-resistant cells in "resting cells" of *M. 607* after 14 days' contact with 5 $\mu$ g/ml of streptomycin at 4°C and 37°C, respectively (Expt.)



**Table 3** Population of streptomycin-resistant cells in large inocula of *M. 607*.

a) Cultivation of 10mg of bacilli in 1% glycerin-broth

Days of incubation	Concentration of streptomycin ( $\mu$ g/ml)							
	0	1.0	10	100	1,000	5,000	10,000	50,000
5	###	##	##	+	+	+	+	+
10	###	###	##	+	+	+	+	+

**Table 3** Population of streptomycin-resistant cells in large inocula of *M. 607*.

b) Cultivation of 2mg of bacilli on 1% glycerin-broth

Days of incubation	Concentration of streptomycin ( $\mu$ g/ml)										
	0	0.05	0.5	5.0	10	50	100	500	1,000	5,000	10,000
5	###	###	###	150	13	4	1	0.5	0.5	0	0
10	###	###	###	250	130	9	4	1.5	2	2	1

全く同一の結果をえた。しかもこの時は SM 50,000Y/cc までの分布を調べたが、7日 37°C ですでに最高濃度までの耐性菌を証明した。

しかし、われわれが使用した *M. 607* の 10mg (2 mg/cc, 5cc) 中に SM に対する自然耐性菌があるかどうかを 1% グリセリン・ブイヨンで調べた成績は Table 3a, また 2mg 中のいわゆる自然耐性分布を 1% グリセリン・平板寒天で調べた成績は Table 3b のとおりである。すなわち、INH の場合とことなつていずれも 10,000Y/cc 以上に耐性菌の認められることが注目される。

## 2. 増殖菌についての成績

### (1) INH の作用

上記の実験方法により 1% グリセリン・ブイヨン内増殖菌の INH に対する耐性分布を日をおつてみた結果は Fig. 4 のとおりで、INH では増殖阻止作用の有無にかかわらず、いずれの濃度によつても耐性上昇がみられなかつた。すなわち、14日までいずれの時期にも 50Y/cc の耐性菌しか見出されなかつた。

### (2) SM の作用

一方、SM を用いた実験では INH の場合と異なり、Fig. 5 のとおり増殖阻止作用のある濃度 (0.2Y/cc) では 7日目ですでに 1,000Y/cc 耐性菌が認められ、しかもこの時感性菌の著明な減少を伴つて、その耐性はほとんど完全耐性に近い状態を示した。しかし増殖阻止作用のない濃度 (0.05Y/cc) では 14日に至つてもほとんど対照と変化なく、50Y/cc 耐性菌の少数の出現をみたに過ぎない。

## 総括と考察

上記の *M. 607* のいわゆる休止菌の実験を総括すると、INH の増殖阻止作用ある濃度 (5Y/cc, 50Y/cc) は、4°C でも 37°C でも 14日 にわたつて耐性分布の上昇を来たさなかつた。ところが、SM の増殖阻止作用のある濃度 (0.5 Y/cc, 5Y/cc) は、4°C では同様に耐性分布の上昇を来たさなかつたが、37°C では明らかにそれをもたらした。しかし、実験中感性菌の数は、

INH の場合は著変を認めにくかつたが、SM の場合、とくに 37°C の耐性上昇が認められた時には著しく減少することが注目された。ただし 4°C では感性菌が減少しても、耐性菌の増加のみられないことには注意を要する。ひるがえつて、*M. 607* の Population のなかにはいわゆる自然耐性菌が僅少に存在することが明らかにされたので、SM, 37°C の場合には本菌は完全には "resting" の状態になく、恐らく薬剤によつて殺菌された死菌の菌体成分を栄養素として、元来存在していたその自然耐性菌 (SM の場合は 10mg 中に高度耐性菌の存在が推定された—Table 3) が選択的に増殖したものと考えることが可能であるばかりでなく、4°C の場合には低温のためいわゆる自然耐性菌も増殖できなかつたとみなされよう。これに反し INH, 37°C の場合には、本実験の条件では薬剤により殺菌が行われなかつたために死菌の菌体成分を栄養素となしえないことが、耐性菌増殖を来たさなかつたとも考えられる。また増殖に

Fig. 4 Population change of isoniazid resistant cells of *M. 607* in aged broth cultures in the presence of isoniazid.

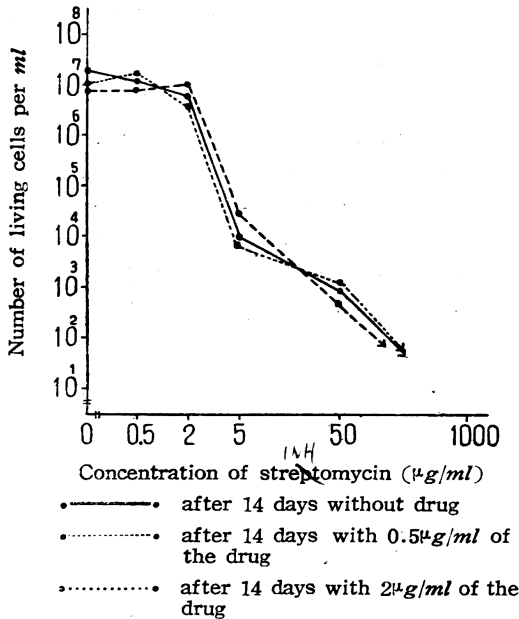
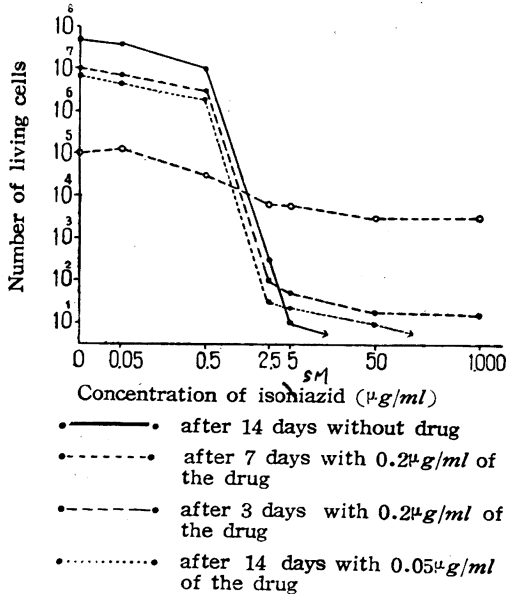


Fig. 5 Population change of streptomycin-resistant cells of *M. 607* in aged broth cultures in the presence of streptomycin.



適する条件が多少存在したとしても、Table 2 にみられるとおり、元来 INH に対する高度耐性菌が存在しないために耐性の上昇が結果づけられなかつたともいえよう (Table 2 のとおり  $1,000Y/cc$  耐性菌は存在していたので、この推論は完全には裏書きされないけれども)。またもちろんこの場合、元来の菌数中に自然耐性菌が存在

していたかどうかをみた実験方法は、その確定的証拠とはなりえず、培養時薬剤との接触中に誘導されて SM 高度耐性菌が生じたともいえよう。しかしながら多数の菌中に自然耐性菌の存在しうことは、すでに Lederberg および Lederberg (195230) によつて証明されていることであり、本実験の成績についても、この方法で認められた耐性菌が元来存在していたと仮定することが許されよう。かくて休止菌における耐性上昇は薬剤の選択作用のみによつて説明され、あえて薬剤そのものの誘導作用を考慮に入れなくてもよいと考えられる。

つぎに、増殖菌の実験を総括すると、INH では増殖阻止作用の有無にかかわらず耐性上昇がみられなかつたが、SM では増殖阻止作用のある濃度では急速に耐性菌の増加と感性菌の減少が起つた。しかし増殖阻止作用のない濃度ではほとんど変化がなかつた。このことは、SM ではいわゆる自然耐性菌、とくに高度耐性菌が、増殖阻止作用のある濃度では選択的に増殖し、INH では高度耐性菌が少数なことと殺菌作用が弱いことと相まつて選択作用を十分に発揮しえなかつたと説明しえられるであろう。

以上の結果は、また薬剤耐性獲得の機序の解明のほか、SM, INH の両者の耐性上昇にある程度の差異があることを示唆しているようである。従来、細菌の薬剤耐性獲得の形式にはペニシリン型とストレプトマイシン型の2つの異つた Pattern があり (Demerec, 19492) INH は SM と同様な形式で耐性が上昇すると考えられがちであつた。また Szybalski および Bryson (195331) は *B. megatherium* についてはあるが、その菌が INH に対して高度完全耐性を一足跳びに獲得することを報じている。しかしわれわれの実験では、上記のどおり、両者に対する耐性獲得の形式が別個に考察せらるべきもののように思われる。このことは続いて行われた継代培養の成績においても一部認められているが、この問題については共同研究者の渡口が詳細に後報する予定である。

## 結 論

(1) *Mycobacterium 607* のいわゆる休止菌 (resting cells) をイソニアジド (INH) およびストレプトマイシン (SM) の増殖阻止作用ある濃度に、 $37^{\circ}C$  および  $4^{\circ}C$  において接触せしめ、その耐性分布の変化を追及した結果、SM,  $37^{\circ}C$  の場合にのみ耐性分布の上昇を認めた。

(2) いわゆる休止菌で耐性上昇を認めた場合はいずれも著しい生菌数の減少が認められ、他方生菌数の減少の著しくない時には  $37^{\circ}C$  においても耐性上昇は認められなかつた。したがつて、耐性が上昇した場合には死菌の菌体成分を栄養素として耐性菌の増殖する可能性が推察された。

(3) *M. 607* の増殖菌 (フイオン陳旧培養菌) に培養当

初から種々の濃度の INH および SM を加えておくと、増殖阻止作用のある SM によつてのみ高度耐性菌が増殖し、感性菌は著減した。

(4) 以上の成績から、M. 607 の SM 耐性上昇は増殖可能な状況下に行われる薬剤選択作用によつて説明され、あえて薬剤そのものの誘導作用を考慮する必要はないであろうと考察された。

(5) INH と SM に対する耐性獲得形式にはある程度の差異があることが、陳旧培養菌の実験によつて示唆された。

本論文の一部は後藤らによつて 1954 年 10 月 10 日第 9 回厚生省医務局研究会発表会で報告<sup>32)</sup>、要旨は 1955 年 4 月 4 日第 30 回日本結核病学会総会で発表した。

本研究は国立相模原病院において、国立病院・結核(耐性)共同研究班の治療研究費の援助の下に行われたものである。ここに記して謝意を表する。

## 文 献

- 1) Demerec, M.: J. Bact., 56: 63-74, 1948.
- 2) Demerec, M.: J. Clin. Invest., 28: 891-893, 1949.
- 3) Luria S.E.: Bact. Rev., 11: 1-40, 1947.
- 4) Alexander, H.E. and Leidy, G.: J. exp. Med., 85: 329-338, 1947.
- 5) Alexander, H.E. and Leidy, G.: J. exp. Med., 85: 607-621, 1947.
- 6) Alexander, H.E. and Leidy, G.: Pediatrics, 4: 214-221, 1949.
- 7) Alexander, H. and Redman, W.: Pediatrics, 4: 461-467, 1949.
- 8) Klein, M. and Kimmelman, L.J.: J. Bact., 52, 471-479, 1946.
- 9) Yegian, D. and Vanderline, R.J.: J. Bact., 56, 177-186, 1948.
- 10) Newcombe, H.B. and Hawirko, R.: J. Bact., 57: 565-572, 1949.
- 11) Scott, G.W.: Brit. J. exp. Path., 30: 501-505, 1949.
- 12) English, A. and Mc Coy, E.: J. Bact., 61: 51-56, 1951.
- 13) 牛場大蔵・渡辺力: 日本細菌学雑誌, 9: 349-353, 1954.
- 14) 渡辺力: Keio J. Med., 3: 193-213, 1954.
- 15) 渡辺力: 日本細菌学雑誌, 10: 231-237, 1955.
- 16) Linz, R.: Ann. Inst. Past., 78: 105-114, 1950.
- 17) 秋葉朝一郎・横田健: 医学と生物学, 24: 218-222, 1952.
- 18) 秋葉朝一郎: Chemotherapy, 1: 1-11, 1953.
- 19) Kanai, K., Nakamoto, T., and Yanagisawa, K.: Japanes J. Med. Sci. and Biol., 6: 365-370, 1953.
- 20) 君野徹三・都築敏男: J. Antibiotics, Ser. B., 7: 62-65; 89-92, 1954.
- 21) 横田健: 日本細菌学雑誌, 10: 261-267, 1955.
- 22) 金井興美: 日本細菌学雑誌, 10: 177-183, 1955.
- 23) Hinshelwood, C.: Nature, 166: 1089-1092, 1950.
- 24) Dean, A.C.R. and Hinshelwood, C.: Adaptation in Microorganisms (Cambridge Univ. Press), 21-45, 1953.
- 25) Sevag, M.G. and Rosanoff, E.I.: J. Bact., 63: 243-251, 1952.
- 26) Eagle, H.: Bact. Proceedings p. 56, 1951.
- 27) Eagle, H., Fleishman, R. and Levy, M.: J. Baet., 63: 623-638, 1952.
- 28) 堀三津夫・吉川正吾・伊藤和夫・横井正照: 結核 30 (特別号) 12-13, 1955.
- 29) Tobie, W.C.: Amer. Rev. Tuberc., 58: 693-697 1948.
- 30) Lederberg, J. and Lederberg, E.: J. Bact., 63: 399-406, 1952.
- 31) Szybalski, W. and Bryson, V.: J. Bact., 66: 468-469, 1953.
- 32) 後藤敏夫・清水邦彦・渡口精吉・坂本光弘: 医薬 9 (増刊号): 143-143, 1955.