

続細胞学大系

4

小川 和朗 黒住 一昌  
小池 聖淳 佐藤 正一  
編集

# 微生物細胞学

続細胞学大系

4

小川 和朗 黒住 一昌  
小池 聖淳 佐藤 正一  
編 集

# 微生物細胞学

朝 倉 書 店

統細胞学大系 4  
微生物細胞学

昭和 52 年 6 月 15 日 初版発行

編集者承認  
検印省略

編集者 小 川 和 朗  
          小 住 一 昌  
          小 池 聖 淳  
          佐 藤 正 一  
発行者 朝 倉 鑛 造  
          東京都新宿区新小川町 2-10  
印刷者 榎 本 喜 一 郎  
          東京都台東区浅草橋 5-1-35

発行所

株式会社 朝 倉 書 店  
東京都新宿区新小川町 2-10  
郵便番号 162  
電話 東京 (260) 0141 (代)  
振替口座 東京 6-0673 番  
自然科学書協会 会 員

© 1977

日東紙工・渡辺製本

〈無断複写・転載を禁ず〉

3345-161604-0032

<この巻の執筆者>

佐賀医科大学 副学長	小 池 聖 淳
九州大学歯学部口腔細菌学教室 助教授	永 山 在 明
九州歯科大学細菌学教室 助教授	徳 永 純 一
広島大学総合科学部情報行動科学教室 助教授	重 中 義 信
東京大学応用微生物研究所 助教授	田 中 健 治
九州歯科大学細菌学教室 講師	徳 永 美 知 子
徳島大学医学部栄養衛生学教室 教授	川 田 十 三 夫
東京大学理学部植物学教室 教授	飯 野 徹 雄
東京大学理学部植物学教室	原 山 重 明
エーザイ株式会社研究開発本部 理事	友 枝 宗 光
大阪大学医学部分子遺伝学研究施設	赤 星 映 子
大阪大学医学部分子遺伝学研究施設 教授	松 原 謙 一
九州大学薬学部微生物薬品化学教室 助教授	尾 辻 望
名古屋市立大学医学部細菌学教室 教授	蜂 須 賀 養 悦
京都大学ウイルス研究所物理部	松 本 明
川崎医科大学微生物学教室 教授	東 昇
福岡大学医学部微生物学教室 教授	天 児 和 暢

(執筆順)

## 序

---

近年、細胞および細胞小器官(オルガネラ)の構造と機能に関する問題は、単に形態学者のみならず、生化学者、生物学者、微生物学者および臨床医学者、あるいは生物学、医学、農学、ひいては工学など広範な領域の研究者の間で取り扱われており、この傾向は年々たかまる一方である。また、細胞の微細形態学、細胞化学、動的生化学などの長足の進歩を遂げるにつれ、細胞の構造と機能の間には、もはや切り離すことのできない関連があり、旧来の細胞学、細胞生化学、細胞生理学、生物物理学などの、比較的古典的とみなされている学問分科は融合して、一つの共通な新しい細胞学の間を形成しつつある。

このような時代の流れを背景として、先に、朝倉書店より、形態を主とした細胞学者、組織学者のみならず、多少なりとも細胞に関連のある領域の研究者、および諸科学生一般に、現代の細胞学全般の現状をできるだけ平易にわかりやすく紹介することを目的として、「細胞学大系」(全7巻)を刊行したが、「細胞学大系」では、主として細胞学総論的な事項を取り扱っており、各論的事項は、6巻の一部と7巻で取り扱っているのみで、細胞学の大系としては、細胞学各論に関する記載が十分とはいえなかった。

この点を考慮し、このたび、「細胞学大系」の姉妹編として、細胞学各論を主題にした「統細胞学大系」(全4巻)が刊行されることになった。全4巻のうち、第1巻と第2巻は動物細胞学(脊椎動物と無脊椎動物)、第3巻は植物細胞学、第4巻は微生物細胞学であり、目次の作成および内容に関しては、「細胞学大系」と重複しないように、特に留意してある。

本邦では、この種の細胞学各論の集大成がまだ刊行されていないので、「続細胞学大系」が、本邦における細胞学の発展に資するところ大なることを希望してやまない。

昭和 52 年 5 月

編集者一同

# 目 次

---

1. 微生物の生物学的位置づけ	[小池 聖淳]	1
a. 微生物の登場		1
b. 微生物の生物学的位置づけ(原核生物と真核生物)		2
c. 原核生物(藍菌と細菌)		5
2. 微生物細胞学実験法		8
2.1. 一般的手技	[小池 聖淳]	8
a. 培養法		8
1) 培地		8
2) 培地の種類		10
3) 分離培養と純培養		12
b. 菌数, 菌量測定法		14
1) 全菌数測定法		14
2) 生菌数測定法		16
3) 菌量測定法		16
c. 光学顕微鏡法		17
1) 微生物学における顕微鏡操作法		17
2) 染色法		20
2.2. 電子顕微鏡的手技	[永山 在明]	29
a. 超薄切片法		29

1) 固 定 .....	29
2) 脱 水 .....	33
3) 包 埋 .....	33
b. ネガティブ染色法 .....	34
1) ネガティブ染色剤 .....	34
2) ネガティブ染色の方法 .....	35
3) ネガティブ染色の分解能 .....	35
c. シャドウイング法 .....	36
1) 蒸着用金属 .....	37
2) 真空蒸着法 .....	37
3) レプリカ法 .....	38
4) 高分解能シャドウイング .....	38
d. フリーズエッチング法 .....	39
1) フリーズエッチングの手技 .....	39
2) 相補性レプリカ .....	42
3) 超高真空装置 .....	43
e. 凍結超薄切片法 .....	43
1) 凍結超薄切片作製法 .....	44
2) 凍結超薄切片法の特徴 .....	46
2.3. 走査電子顕微鏡のための微生物試料作製法 .....	[徳永 純一] 48
a. SEM 試料の一般的調製法 .....	49
b. 培養方法 .....	49
c. 固定前の試料処理方法 .....	50
d. 固 定 .....	51
e. 脱水ならびに乾燥 .....	54
1) 空气中自然乾燥 .....	55
2) 有機溶媒置換・乾燥 .....	55
3) 凍結乾燥 .....	56
4) 有機溶媒よりの凍結乾燥 .....	56



5) 臨界点乾燥 .....	58
f. 試料のマウンティング .....	60
g. 導電性被覆 .....	62
1) コーティングの必要性 .....	63
2) コーティングの方法 .....	64
h. SEM による観察 .....	66
3. 原生動物細胞 .....	[重中 義信] 70
a. 序 論 .....	70
b. 細胞の構造と機能 .....	71
1) 外 皮 .....	71
2) 細胞内膜系 .....	74
3) 細胞核 .....	86
4) 繊維構造 .....	91
c. 結 論 .....	101
4. 酵母・真菌 .....	[田中 健治] 105
a. 胞子の発芽 .....	105
b. 菌糸細胞の構造 .....	108
1) 極性を持つ菌糸細胞 .....	108
2) 細胞壁 .....	111
c. 菌糸の生長 .....	113
1) 先端小胞 .....	113
2) 先端生長 .....	114
d. 酵母における分裂と出芽 .....	117
e. 菌類の核分裂 .....	119
1) 光学顕微鏡による核の観察 .....	119
2) 電子顕微鏡による研究 .....	121
f. 細胞隔壁の構造 .....	127

<b>5. 真菌細胞の微細構造(特に孢子形成について)</b>	
.....	[徳永 純一・徳永 美知子] 131
a. 真菌の孢子形成	.....132
1) <i>Saccharomyces</i> の子嚢孢子形成	.....132
2) <i>Aspergillus</i> の分生子形成	.....141
<b>6. 細菌細胞</b>	.....155
<b>6.1. 細菌細胞構造概説</b>	.....[小池 聖淳] 155
a. 大きさ	.....155
b. 外形と配列	.....157
c. 細菌の構造	.....160
<b>6.2. 細胞壁</b>	.....[小池 聖淳] 163
a. 細胞壁の存在	.....163
b. 細胞壁の分離・精製	.....164
1) 細菌の調整	.....164
2) 菌体破壊法	.....164
3) 細胞壁分離, 精製法	.....166
4) 純度の検定	.....166
c. 細胞壁の微細構造	.....167
1) 表層構造	.....167
2) 内部構造	.....169
d. 細胞壁の化学的構成	.....172
1) ペプチドグリカン	.....173
2) タイコ酸	.....183
3) グラム陰性菌外膜	.....185
<b>6.3. メソゾーム</b>	.....[川田 十三夫] 199
a. メソゾームの微細構造	.....199
b. メソゾームの存在様式	.....205
c. メソゾームの分画法	.....206

d. メソゾームの化学組成	209
e. メソゾーム膜の再構成	211
f. メソゾームの機能	211
<b>6.4. 鞭毛と運動</b>	[飯野 徹雄・原山 重明] 219
a. 鞭毛の構造と形成	219
1) 鞭毛の基本構造	219
2) フラジェリンとフックタンパク質の化学	221
3) 鞭毛抗原とその変異	223
4) 鞭毛の形成	226
b. 細菌の運動	228
1) 鞭毛による細胞運動	228
2) 鞭毛運動の機構	235
<b>6.5. 線毛と接合</b>	[友枝 宗光] 242
a. 性線毛の分類	243
b. 性線毛の構造	246
1) 形態	246
2) 物理化学的性質	248
c. 性線毛の生合成	250
1) 性線毛生合成を支配するプラスミッドの遺伝子地図	251
2) 性線毛生合成の抑制と解除	252
3) 性線毛生合成と環境条件	253
4) 性線毛生合成と代謝阻害効果	254
5) 性線毛生合成と抗体吸着効果	256
6) 性線毛サブユニットプールの局在性	256
d. 性線毛と接合伝達	256
1) 交配型	258
2) 接合伝達と DNA 合成	259
3) 性線毛の機能	260
4) 接合伝達モデル	262

5) 性線毛のレセプター .....	263
6) 表面排斥 .....	264
7) I型線毛および鞭毛と接合伝達 .....	264
<b>6.6. 染色体とプラスミッド</b> .....	[赤星 映子・松原 謙一] 267
a. 染色体 .....	267
1) 染色体地図 .....	267
2) 物理的性質 .....	267
3) 複製 .....	270
b. プラスミッド .....	272
1) 遺伝子地図 .....	273
2) 物理的性質 .....	277
3) 複製 .....	277
4) コインテグレート .....	282
5) 遺伝子のクローニング .....	283
<b>6.7. 増殖・分裂</b> .....	[尾辻 望] 288
a. 細胞の構造と細胞分裂過程 .....	288
b. 細胞分裂の変異株 .....	290
c. 染色体の複製周期 .....	293
1) 染色体複製周期と細胞分裂 .....	293
2) DNA複製の完了と細胞分裂の連関 .....	295
d. 狭窄の形成 .....	299
1) 細胞表層の生長部位と狭窄形成部位 .....	299
2) 狭窄形成位置の変異株 .....	304
3) 阻害剤と狭窄形成 .....	305
e. 細胞の分離 .....	306
f. 細胞分裂の timing .....	307
1) 染色体の複製と細胞分裂の timing .....	307
2) タンパク質合成と細胞分裂の timing .....	308
<b>6.8. 芽 胞</b> .....	[蜂須賀 養悦] 313

a. 静止芽胞 .....	313
b. 芽胞形成 .....	320
c. 発 芽 .....	324
d. 発芽後成育 .....	330
6.9. リケッチア・クラミジア .....	[松本 明・東 昇] 335
6.9.1. リケッチア .....	335
a. リケッチアの細胞形態と増殖 .....	337
b. リケッチアの抗原構造 .....	344
c. リケッチアの代謝 .....	345
6.9.2. クラミジア .....	349
a. クラミジアの分類 .....	349
b. 増殖サイクルと細胞構造 .....	351
c. クラミジア細胞の超微形態 .....	359
d. 宿主との関係 .....	367
e. クラミジアと他の微生物との比較 .....	370
6.10. 細菌の分類 .....	[小池 聖淳] 373
7. バクテリオファージ .....	[天児 和暢] 377
a. T 偶数系ファージ頭部の微細構造 .....	377
b. 線維状ファージの構造 .....	386
c. 脂質を持つファージ .....	393
ま と め .....	[小池 聖淳] 401
索 引 .....	405

# Ⅰ。微生物の生物学的位置づけ

## a. 微生物の登場

微生物とは肉眼的には不可視で、顕微鏡ではじめて見ることができる単細胞生物群で、1677年、Antony van Leeuwenhoek によって、彼の手製の単眼顕微鏡というよりは虫めがねではじめて観察され、Royal Society of London に報告されて以来、新しい生物群として登場してきたものである。複式顕微鏡は1590年頃にはすでに作製され、1660年代には Robert Hooke はコルク細胞やカビ類を観察し、Micrographia に報告しているが、細菌の観察は行っていない。おそらく不透明な対象を好んで選んでいたせいであろう。Leeuwenhoek はこれに反し、雨水、精液、唾液などの透明な液性のものを対象として選び、彼の虫めがねの焦点に対象物を設置する微動装置を考案し、透過光を用い、さらに彼の眼が非常によかったことも幸いしてか、現在の知見から推論すると200~300倍に拡大して、多くの微生物を観察した。すでに細菌の領域についても、球菌、桿菌、スピロヘーターを観察し、運動性の菌についても記述している。彼はこれらの微生物を“little animal”と呼び、約200のletterをRoyal Societyに送っている。

この生物群には、顕微鏡的オーダーの微小な生物、すなわち現在の知識からすると細菌、藻類、真菌、酵母、原虫すべて含まれるわけで、これを Carl von Linné (1737)以来確立されている生物の二分法、動物界(Kingdom animalia)と植物界(Kingdom plantae)に分類することは多くの矛盾があり、きわめて困難なことである。Ernst H. Haeckel は1866年に、これらの微生物を独立させて、第3の Kingdom protista (原生生物界)とすることを提案した。その頃、Louis Pasteur

は、かの“swan neck flasks”を用いて、微生物の自然発生説を打破し(1864)、また Rabert Koch は特定の微生物は特定の感染症の原因となるという原則(Koch の4原則)を確立し(1876)、病原菌を主軸にして、多くの微生物が発見され、分類されていった。また細菌より小さいウイルスの存在が Iwanowski (1892)、Beijerinck (1899)によって発見された。

#### b. 微生物の生物学的位置づけ(原核生物と真核生物)

このようにして微生物の種類はますます増加し、生物学的、細胞学的研究を通しての比較検討もさかんに行われるようになった。原生生物は主として単細胞性で、単核または多核であり、細胞構造がきわめて単純である。多細胞性のものもあるが、ある特定の機能を持つ組織(tissue)という細胞集団に分化することはない。このような生物群を原生生物(Protista)と総称する。しかし、藍藻(Blue green algae)、細菌(Bacteria)は、原虫(Protozoa)、藻類(Algae)、真菌類(Fungi)に見られるような有糸分裂を行わない。すなわち、核という器官があるのか、ないのか判然としない。この意味で前者は後者と異なっていることから、Copeland (1938)は Protista をさらに二分し、Kingdom Protocista(原生生物界)と Kingdom Monera(モネラ生物界、moner とは核という器官を持たないという意味)に分類し、生物は4 Kingdoms から成立することを提唱した。その後、電子顕微鏡の開発にともなう解像力の拡大、細胞化学、生化学、遺伝学の発展により、細菌、藍藻は高等生物に見られるような核という器官こそ持たないが、核は存在し、その構造上の詳細が明らかにされ、まず Stanier (7)ら(1962)により原核生物(pro-caryote)という命名がなされ、有糸分裂を行う高等な核構造を持つものを真核生物(eucaryote)とした。

その後、Whittaker (8) (1969)は、真菌(Fungi)は、その栄養分獲得の方法として吸収(absorption)を行うが、動物は摂取(ingestion)、植物は光合成(photosynthesis)を行い、これらとはまったく異なるという観点から、Kingdom Fungi を独立させ、5 Kingdom を提案している(図1)。

しかし、いずれにせよ、真核細胞と原核細胞の構造の相違は、電子顕微鏡の開発による飛躍的な解像力の増加と、生化学、遺伝学の発展により、ますます明確

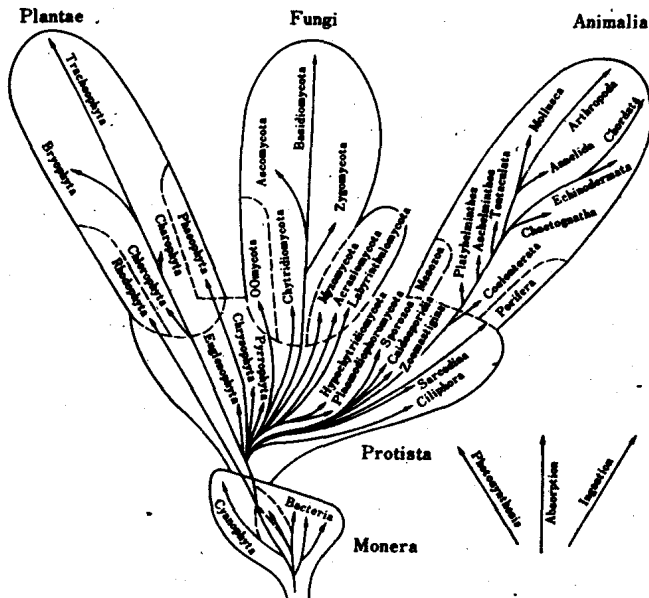


図 1 生物の 5 Kingdom 分類(8)より

表 1 原核細胞と真核細胞の相違点

	原核細胞 (細菌, 桿菌)	真核細胞 (藻類, 真菌, 原虫, 植物, 動物)
核膜	-	+
有糸分裂	-	+
染色体数	1	多数
原形質流動	-	+または-
ミトコンドリア	-	+
葉緑体	-	+または-
運動器官	鞭毛または軸糸	繊毛
アメーバ運動	-	+または-
細胞壁	+	+または-
細胞壁: 基本成分	(一部保有しないものがある) ペプチドグリカン	キチンまたはセルロース

なものとなった(表 1)。すなわち(1)原核細胞は核膜を持たず、遺伝子としての DNA は 1本の線維状分子として糸状になり、細胞質内の一定領域を占め、真核細胞に見られるヒストンその他の塩基性タンパクとは結合していない。(2)リ



ボゾームは 70S で、50S サブユニットと 30S サブユニットからできているが、真核細胞のそれは 80S であり、60S サブユニットと 40S サブユニットからなり、大きさは全然異なっているし、真核細胞のリボゾームは膜と接着したものが多いのに対し、原核細胞のものは free である。(3) 真核細胞にはミトコンドリア (mitochondria)、葉緑体 (chloroplast)、繊毛 (cilia) などの細胞小器官 (organelle) が存在し、これらの小器官は独自の遺伝子 DNA を持ち (繊毛の中心小体には核酸はない)、自律的に増殖し、その DNA の塩基配列は原核細胞の DNA と相似である。さらに、これらの小器官には独自のリボゾームを持ち、このリボゾームは 70S で、原核生物のそれと同一である。これに反し、原核生物はこのような細胞小器官をまったく所持していない。(4) 原核生物の細胞壁の基本的構成成分はペプチドグリカンであるが、真核生物の細胞壁は、植物のそれはセルロース、真菌のそれはキチンが主体である。以上のように、原核細胞と真核細胞とは画然たる差異がある。

この相違は進化論的に見ても明らかである(3)。原核微生物の出現は先カンブリア紀の中期で約 30~32 億年前であり、真核微生物は先カンブリア紀の後期で約 12~14 億年前であることが近年の微化石 (microfossil) の研究によって明らかにされた(6)(図 2)。これでわかるように、地球の歴史 46 億年のうち、初期の 10 億年は化学進化の過程であったが、その後 20 億年は原核生物の独り舞台であり、その間に光合成細菌、および藍藻の進化などがあり、地球の大気に酸素を含有するようになり、それぞれの真核生物群の進化の基盤が

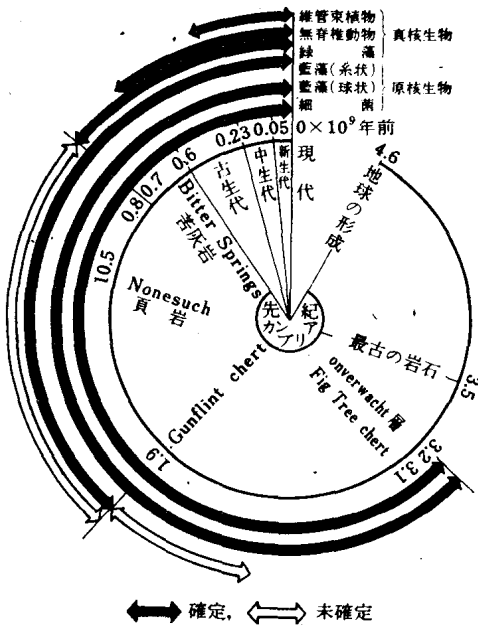


図 2 微化石の年代と微生物進化との関連図(6)より。

の研究によって明らかにされた(6)(図 2)。これでわかるように、地球の歴史 46 億年のうち、初期の 10 億年は化学進化の過程であったが、その後 20 億年は原核生物の独り舞台であり、その間に光合成細菌、および藍藻の進化などがあり、地球の大気に酸素を含有するようになり、それぞれの真核生物群の進化の基盤が