



Title	煙草モザイク病ウイルスに対する pH の影響
Author(s)	四方, 英四郎; SHIKATA, Eishiro
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 3(1), 154-161
Issue Date	1958-03-14
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11658
Type	departmental bulletin paper
File Information	3(1)_p154-161.pdf



煙草モザイク病ウイルスに対する pH の影響

四 方 英 四 郎*

Effects of different pH-values upon tobacco mosaic virus

By

Eishiro SHIKATA

Botanical Institute, Faculty of Agriculture,
Hokkaido University

1. 緒 言

水素イオン濃度の変化によつて溶液中の煙草モザイク病ウイルス (TMV) の感染力に変化を生ずることは古くより報告されているが、^(3,4,5,6,7,17,21) ウィルス粒子の変化に関しては超遠心器、^(24,25) 或いは電子顕微鏡^(8,10,14,15,16,18,19,20) による研究がある。これらの結果からウイルス粒子の感染性、或いは粒子の形態的变化及び破壊等に関して、溶液の pH が極めて大きな影響を与えることは明らかである。現在まで行われた pH の TMV に及ぼす影響に関する多くの研究については既に BARTELS (1955)⁽¹⁾ の詳細な報告があるので、ここに繰り返す必要がないと思う。

ウイルス粒子の物理化学的処理によつて生ずる粒子の凝集或いは崩壊の過程を電子顕微鏡で観察するに際しては、精製溶液中のウイルス粒子の分散状態を明らかにし、且つ粒子の形態的变化が少く、感染性の高い、分散が均一な試料を調製しなければならぬ。

特に化学的方法による精製^(2,3) の際には、pH の変化によつてウイルス粒子の感染性と形態が如何に変化するかを明らかにしておくことが必要である。又化学的処理を行つた場合の粒子不活性化及変性の過程に於て、処理による影響の他に溶液の pH による場合が多いと考えられるので、^(4,9,11) ここに精製 TMV に対する pH の影響に就いて電子顕微鏡的観察を行つたものである。

本研究は昭和 30 年度文部省科学研究助成補助金によつて行つた植物ウイルスの電子顕微鏡的研究の一部である。記して関係各位に深く感謝する次第である。

なお本研究に際し特に御指導並に論文の御校閲を賜つた福土貞吉教授に対し心から謝意を表する次第である。

2. 実験材料及び方法

本葉 5~6 枚の若い煙草 (*Nicotiana glauca*) に TMV を接種して約 2~3 週間後に病葉を切り取り -30°C~40°C に凍結貯蔵した。

凍結中の葉を乳鉢中で磨砕した後約 30°C~40°C の温湯中で徐々に融解させる。完全に融解後ガーゼで汁液をしぼり、3500 r.p.m. 30 分間遠心分離を行い緑色の沈澱を除いた。褐色の上清は -10°C~15°C において一夜完全に凍結させた。これを約 30°C~40°C の温湯中で徐々に融解させ 3500 r.p.m. 30 分の遠心分離を行うと清澄な上清を得る。この際ウイルスの大部分は上清にある。清澄な上清から硫酸塩析 2 回、pH 3.3 の等電点沈降を 1 回行つてウイルスを抽出した。

塩析及等電点沈降の際に得たウイルスの沈澱を溶解させる際は全て pH 7.0 の磷酸緩衝液を用いた。始めの粗汁液 50 cc から上記の方法で精製し、最後に得られた沈澱の乾燥重量を秤量した。結果は第 1 表に示す通りである。

第 1 表 TMV の収量

実験回数	原液	沈澱乾燥重量	原液 1 l 中の沈澱量	感染力(グルチノ-サ壊疽斑数) *
I	50 cc	0.06 g	1.2 g	474/582
II	〃	0.09 g	1.8 g	687/1394
III	〃	0.08 g	1.6 g	306/246

* グルチノ-サ 10 葉接種総数、分母は原液、分子は精製ウイルス液を夫々 10 倍に稀釈して接種したもの。

* 北海道大学農学部植物学教室

TMV の収量は、ウイルス源として用いた植物の、生育状態、ウイルス接種後葉を切り取るまでの期間、精製の際の温度、溶液の pH 等によつて異なるものであるが、特に 1/4 飽和硫酸溶液から塩析する際なお多くの活性ウイルスが上清中に残ることを接種試験によつて確かめることが出来た。しかし上清に残るウイルスを出来るだけ多く抽出するため硫酸の量を多くすると、或は硫酸添加後長時間放置してから遠心分離を行つて沈澱を得る方法は、ウイルスの収量を増すが、最終生産物中に多くの不純物を含んでいたり、溶液が僅かに褐色を呈することが多い。電子顕微鏡で観察した結果では我々の精製したウイルス溶液は、撮影に影響する他の混合物はあまり含まれていない様に思う。塩析及等電点沈降の際溶液が 0°C~1°C に冷却されていると、ウイルス液の縞子様光沢は極めて僅か認められるのみで、1 時間の放置後遠心分離しても極めて少量の沈澱しか生じなかつた。しかし冷室中に 1 夜放置すると沈澱を分離し易くなる。

以上の如くして精製した TMV を原液の 1/10 量の磷酸緩衝液に分散させ冷室中に保存して実験に用いた。各 pH 値のウイルス溶液の調製は、精製ウイルス液を蒸溜水で 10 倍に薄めたものを供試液とし、それに各 pH 値の溶液を加えて更に 10 倍とした。pH は BECKMANN の pH meter, (model-G) を用いて測定した。pH 0.5 は 1N の HCl を徐々に滴下して pH meter で測定しながら目盛りが pH 0.5 に至つて中止したものである。pH 1.0 は 1/10N HCl, pH 2.0 は 1/100N HCl, pH 3.0~10.0 は 1/10N 醋酸と醋酸ソーダ及 1/10N 塩化アンモンとアンモニア水よりなる MICHAELIS buffer を用いた。pH 11.0 は 1/100N NaOH, pH 12 は 1/10N NaOH の溶液を用いた。

精製ウイルスは pH 7.0 の磷酸緩衝液に分散させてあるので蒸溜水で 10 倍に希釈してもなお緩衝能が残つていると考えられる。この様な液に所定の pH 値の溶液を加えると中性側に pH が変動するから酸 (1N, 及 1/10N HCl) 或はアルカリ (1N × 1/10N NaOH) 溶液を用いて目的とする pH に補正する必要がある。1N HCl 及 1N NaOH の水溶液は 18°C に於いて pH 0.1 及 14.05 であるので供試液を 1N HCl 及 1N NaOH で 10 倍に希釈したものをも実験に用いた。

以上の如く調製したウイルス液を冷室中 (1°C~3°C) に約 20 時間放置後、1N HCl 希釈液、pH

1.0, pH 12.0 及 1N NaOH 希釈液はセロファン膜に入れて水道水で 2 時間透析を行つた。処理液の一部を蒸溜水で 5 倍に希釈して *N. glutinosa* に接種を行い感染力を調べ、他は電子顕微鏡で粒子の形態的变化を観察した。この際試料を白金耳コロジウム膜にのせ真空ポンプで急速に乾燥させ、クローム或はパラジウム shadow を行つた。

3. 実験結果

ウイルス溶液を所要の pH に調製して約 20 時間冷室中に放置してから溶液の pH を測定したところ酸性側ではあまり変化は無かつたが、アルカリ側ではいずれも水素イオン濃度が高くなつた。

ウイルス液の感染力は pH 4.1 と 6.8 では著しい差異はなかつたが、pH 3.0 で極めて少く、pH 2.15 で再び増大して pH 6.8 の約 80% に達した。pH 1.1 (透析 2 時間) に於いては pH 6.8 の約 21% であつ

第 2 表 各 pH 値溶液中の TMV の感染力及び沈降反応⁽³⁾ (透析又は pH 7.0)

ウイルス溶液の pH	冷室 20 時間処理後の pH	グルチノーサ壊疽斑点 ⁽¹⁾	抗血清稀釈倍数					抗原対照
			32	64	128	256	512	
1N HCl ⁽²⁾		0	-	-	-	-	-	-
0.5	0.5 ⁽²⁾	0	-	-	-	-	-	-
1.1	1.1 ⁽²⁾	134	+	+	+	+	+	-
2.15	2.25	494	+	+	+	+	+	-
3.0	3.08	141	+	+	+	+	+	-
4.1	4.08	639	+	+	+	+	+	-
6.8	6.8	618	+	+	+	+	+	-
8.2	8.15	421	+	+	+	+	+	-
9.0	8.95	373	+	+	+	+	+	-
10.1	9.9	39	+	+	+	+	+	-
11.1	10.5	7	+	+	±	-	-	-
12.4	12.3 ⁽²⁾	0	-	-	-	-	-	-
1N NaOH		0	-	-	-	-	-	-

(1) グルチノーサ 20 葉に生じた壊疽斑点総数。

(2) セロファン膜に入れ水道水で 2 時間透析して接種及び沈降反応を行つた。

(3) 沈降反応は処理液を pH 7.0 にしてから遠沈 30 分後その上清を用いた。

たが、pH 0.5 では全く感染力が認められなかつた。pH 3.0 で感染力が低下しているのは、このウイルスの等電点に近い為ウイルス粒子が凝集した為であろう。アルカリ溶液では pH 8.2 から次第に感染力が低下して pH 11.1 では約 99% が不活性化された。(第 2 表)。

一般に酸性溶液中ではウイルス溶液は蛋白光を有するがアルカリ性になると蛋白光が次第に減少して無色透明となつた。このアルカリ側の溶液を透析して中性とすると再び蛋白光を有する溶液となる。即ち pH 6.8 の精製ウイルス液は僅かに蛋白光を有する溶液である。pH 5.0, 4.0 でも殆んど変化はない。pH 3.5 で溶液は縞子様光沢を生じウイルスの沈澱を生ずる。この光沢は pH 3.3~3.4 の間で最も強く、pH 3.0 では縞子様沈澱は大部分消失して蛋白光の強いやや濁つた液となる。pH 1.1 及び pH 2.15 では溶液は僅かに蛋白光を呈するが pH 6.8 のものより少い様である。pH 1.1 の溶液を透析すると混濁不透明の液となるが沈澱を生じなかつた。pH 0.5 及び 1N HCl を加えた液では処理直後溶液が白濁乳液状を呈し、冷室 20 時間放置すると白色の沈澱を多く生じ、上清は無色透明である。透析 2 時間後溶液は白濁して乳液状であつた。pH 8.2 及び 9.0 では pH 6.8 の溶液にくらべると蛋白光が次第に減少して透明になつた。pH 10.1 及び 11.1 では溶液は全く無色透明であるが pH 12.4 及び 1N NaOH を加えた液も同様である。しかし pH 12.4, 1N NaOH 稀釈液を 2 時間透析したところ白濁した。

血清反応は処理液を pH 7.0 に戻した後 3000 r.p.m. 30 分遠心分離した上清を用いて沈澱反応を検したが、その結果は第 1 表に示す如く pH 1.1~11.1 の間に反応が認められた。pH 1.1 及び 11.1 では反応が弱い。第 3 表の pH 3.0 及び 3.3 はこのウイルスの等電点のため生じた沈澱が遠心分離によつて沈澱し上清には殆どウイルス粒子及び既に感染性を有しない短桿状粒子も存在しないことを示している。

ウイルス粒子の形態的变化を電子顕微鏡で撮影した結果は図版 I-III に示した。得られた写真からウイルス粒子の長さを測定したものが第 1 図及び第 4 表である。

この結果によれば TMV 粒子は酸性側ではアルカリ溶液中にあるよりも安定である。即ち此のウイルスの感染単位と考えられている 300 m μ の長さ^(22,23)の粒子を含む 240~360 m μ の長さの群及びそれ以上の

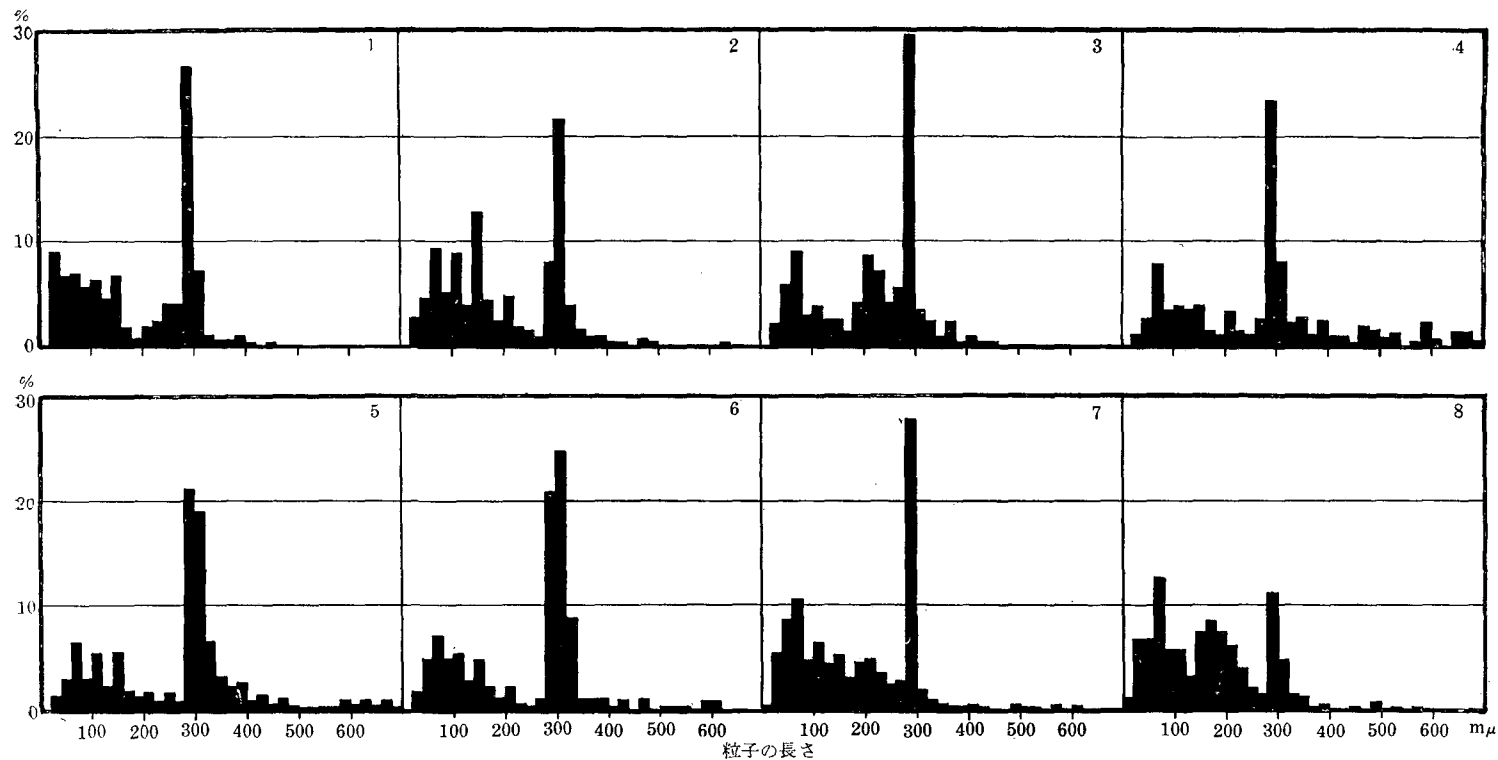
第 3 表 各 pH 価溶液中の TMV の沈澱反応⁽¹⁾ (処理液)

ウイルス溶液の pH	冷室 20 時間後の pH	抗血清稀釈倍数					抗原対照
		16	32	64	128	256	
1N HCl		-	-	-	-	-	-
1.1	1.05	+	±	±	-	-	-
2.1	2.05	+	+	+	+	+	-
3.0	3.0	±	-	-	-	-	-
3.3	3.3	-	-	-	-	-	-
4.0	3.98	+	+	+	+	+	-
5.0	5.0	+	+	+	+	+	-
6.7	6.7	+	+	+	+	+	-
8.2	8.1	+	+	+	+	+	-
9.0	8.85	+	+	+	+	+	-
10.0	9.7	+	+	+	±	-	-
11.05	10.2	+	+	-	-	-	-
11.9	11.4	-	-	-	-	-	-

(1) 各 pH 下に 20 時間保つた後直ちに遠心分離し pH を変えないで沈澱反応を行つた。(処理液を蒸留水で 5 倍に稀釈した)

長さの粒子がアルカリ溶液では pH 9.0 の 39.3% pH 10.0 の 24.4% と甚だ減少している。これに対し酸性溶液の場合は pH 1.0 に至るもなお 46.5% を含んでいる。粒子の分散から云えばアルカリ側では図版に認められる如くウイルス粒子の凝集は殆んど起きない。pH 価が高くなるに従つて 240 m μ 以下の短粒子が増加し、それ以上の長さの粒子が減少する。pH 11.1 では桿状粒子が稀に認められるが、その殆んどが直径 20~40 m μ の小球状粒子であつた。図版 III-17 に於いて桿状粒子が更に小さな粒子に切断される状態を観察出来る。

これに反し酸性溶液中では粒子の凝集を生じ易い。pH 5.0 ではウイルス粒子が縦及び横に凝集するものが多く認められた。しかし一方 240 m μ 以下の短粒子も増加して溶液中の粒子が不均一であることを示している。pH 4.0 では既に粒子の大部分が縦及び横に凝集している。pH 3.3 及び 3.0 の透析しない試料では図版に示す如く、このウイルスの等電点に於ける沈澱の状態を観察することが出来た。pH 3.3 の沈澱はウ



第 1 図 各 pH 溶液中の TMV の長さ (冷室 1°~3°C に 20 時間処理)

- (1) pH 1.1 (2) pH 2.1 (3) pH 3.0 (透析) (4) pH 5.0
 (5) pH 6.8 (6) pH 8.2 (7) pH 9.0 (8) pH 10.0
 (但し pH 3.0 の試料は処理後セロファン膜に入れ水道水にて透析 2 時間)

ウイルス粒子が1方向に樹枝状に規則正しく凝集して単一粒子が存在しないが pH 3.0 及び 4.0 ではむしろ網目状の凝集を示す。これらの凝集ウイルス粒子は 300 m μ の粒子のみでなく、短粒子も含まれている。従つて精製の際の第電点沈降によつて粒子の均一性を求めることは出来ない様である。pH 2.0 附近でもなお粒子の凝集は認められるが pH 1.1 では凝集は起らず分散の良好な状態を示した (図版 I-3)。pH 2.15-2.25 の試料では (図版 I-4) ウイルスの網目状凝集が起きているが pH 2.1~2.05 (図版 I-5) では僅かな凝集を認めるのみで網目状に沈澱していない。即ち pH 2.1 の附近では僅かな pH 或いは塩の濃度によつてウイルスの凝集の程度に変化がおき易いのではないかと思われる。pH 0.5 及び 1N HCl 稀釈ウイルス液は桿状粒子が全く認められずコロジウム膜上に極めて小さい粒状沈澱が散在している。ウイルス粒子の崩壊は酸性側では pH 1.1 と 0.5 の間で急激に起きたがアルカリ側では pH 値が高くなるに従つて次第に粒子の切断が起り pH 11.1 から 11.9 の間で完全に変性した。電子顕微鏡による観察で認められた短桿状粒子の存在と沈降反応の結果とよく一致することが認められた (第 2, 3 表)。

第 4 表 各 pH 溶液中の TMV の長さの割合

ウイルス×液の pH	ウイルス粒子の長さ (m μ)				
	120以下	120-240	240-360	360-480	480以上
10.0	39.1%	36.4%	22.4%	0.9%	1.1%
9.0	35.7	24.9	36.2	1.5	1.7
8.2	23.5	13.2	56.8	4.3	1.9
6.8	19.4	13.5	52.6	8.7	5.9
5.0	18.2	16.8	39.8	7.2	17.9
3.0	23.1	25.6	46.7	4.5	—
2.1	30.1	29.5	37.1	2.7	0.6
1.1	35.3	18.2	44.6	1.9	—

pH 3.0 の試料は処理後セロファン膜に入れ水道中にて 2 時間透析した。

4. 論 議

TMV の電子顕微鏡的研究に於いて第一に溶液中の試料の均一性 (300 m μ の長さの粒子が最も多く含まれていること) が保たれていること、第二にウイルス

粒子の分散が良いこと、第三に粒子の均一性と分散をいつも同じ状態で保存し得ることが望ましい。化学的方法によつて分離精製した試料では粒子の均一性或いは分散が必ずしも良好とは云えない場合がある。その原因として、植物体内のウイルス感染期間、精製の過程に於ける変化、及び精製ウイルス溶液中の塩の有無、種類、濃度及び保存等の影響が考えられる。植物体のウイルス感染期間によつてウイルス粒子の長さや感染力に変化があることは RAWLINS, ROBERTS & UTECH, (1946)⁽¹³⁾ TAKAHASHI & RAWLINS (1948)⁽¹⁹⁾ 等によつて報告された。それによると TMV の感染期間が長くなるに従つて短い粒子を多く含む様になるので精製ウイルスの調製に際しては、感染植物の選択も、均一な試料作製上極めて必要なことである。精製過程に於ける粒子の形態的或いは感染性の変化はウイルス粒子の分散している溶液の塩の種類、濃度 pH、或いは塩析に用いる物質の影響等が考えられる。本実験に用いた TMV は硫酸塩析及び等電点沈降を反覆して純化したものであるが、等電点に於いて縦及び横に凝集したウイルスは 3500 r.p.m. 30 分の遠沈によつて殆んど完全に沈澱し上清には沈降反応によるウイルス粒子の存在を認め得なかつた (第 3 表)。即ち図版 II-10 に観察される針状の沈澱は桿状構造を有するウイルス蛋白が全て凝集していることを示すものである。単一粒子は殆んど認められない。この様な試料を透析したところ明らかに 240 m μ 以下の短粒子の増加が認められた (第 1 図及第 4 表)。

ウイルス精製の為等電点沈降を行うことは上述の結果から見ても明らかに粒子の崩壊を生じ、溶液中の粒子の均一性が減少する。しかしこの様な粒子の崩壊は酸性側に於けるよりもアルカリ側に於いて顕著である。アルカリ側では pH 値が高くなるに従つて粒子の破壊が起り次第に短粒子を増加し、それと共に感染力の低下を示した。

アルカリ溶液中の TMV は粒子の凝集しない分散の良好な状態で存在するが pH 8.2 20 時間で既に粒子の切断が始まり pH 9.0 20 時間に於いては 240 m μ 以下の短粒子は 60.6%, pH 10.0 では 75.5% に達した。pH 11.05 或いは 11.1 に於いては短桿状粒子が更に小さな粒子に分裂し遂には小さな球状粒子として観察された (図版 III-17, 18)。この様な試料の沈降反応は極めて弱い。我々の用いた電子顕微鏡の性能ではこの小球状粒子の形態に就いて詳細な検討を加えることは困難である。

酸性溶液 (pH 5.0~3.3) ではウイルスの凝集を生じ易く既に pH 5.0 に於いて現われ等電点に至つて最大となるから分散良好で均一な試料とはならない。等電点を過ぎて pH 2.1~1.0 になると粒子の分散は良好となるが、短粒子への崩壊が著しく不均一な試料である。

pH 3.3 に於いて生じた沈澱は、高濃度の溶液ならば更に大きな重結晶になつて光学顕微鏡で観察出来る沈澱となるものであろう。pH 2.15, 3.0 の沈澱は電子顕微鏡的所見は網目状の構造であるが、溶液中では極めて小さな凝集粒子が多数浮遊し、等電点の時の如く一方向に大きく発達せず乾燥された状態ではないかと思われる。

感染力が大きく且つ粒子の崩壊の少い均一な試料は、葉及粗汁液の凍結融解を行い、等電点沈降を行う精製法では期待出来ない。相当量の短粒子の生成は免れない様である。精製 TMV の試料は pH 6.8~7.0 の磷酸緩衝液に分散させ 2~5°C の氷室中に保存して置くと 1~2 ヶ月後には明らかに粒子の凝集或いは崩壊を生じ更に不均一な溶液となる。しかし溶液を凍結貯蔵することによつて凝集はまぬがれるが、短粒子は融解の際に生成される。⁽¹²⁾

5. 結 論

種々の水素イオン濃度溶液中の TMV 粒子を電子顕微鏡で観察しその形態的变化、分散の状態につき考察した。化学的方法で精製した TMV は pH 6.8 の溶液中で最も分散及粒子の均一性が良好で且つ感染力が大である。

酸性溶液中では等電点 pH 3.3 に近づくに従つて粒子が凝集し易くなり、等電点では最大となつて重結晶様の沈澱となつた。それ以下の pH では逆に分散が良くなるが粒子の破壊も多く生じ短い粒子が増加し、pH 0.5 で完全に変性し感染力、沈降反応共全く失われた。

アルカリ溶液中では凝集は全く起きず分散が良好であるが pH が大になるに従つて次第に粒子の崩壊が著しく pH 10.0 では 240 m μ 以下の短粒子を 75.5% 含む様になつた。感染力も次第に減少し pH 11.1 にて約 99% 不活性化し pH 12.4 で完全に変性し、沈降反応及短桿状粒子は全く認められなかつた。

6. 引用文献

1. BARTELS, W.: Der gegenwärtige Stand der

Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus. *Phytop. Zeitschr.* 24: 117-178, 1955

2. BAWDEN, F. C.: *Plant virus and virus diseases.* 3rd ed. 1950
3. BAWDEN, F. C. & N. W. PIRIE: The isolation and some properties of liquid crystalline substances from solanaceous plants infected with three strains of tobacco mosaic virus. *Pro. Roy. Soc. London S-B*, 123: 274-320, 1937
4. BAWDEN, F. C. & N. W. PIRIE: The effects of alkali and some simple organic substances on three plant viruses. *Biochem. Jour.* 34: 1278-1292, 1940
5. BEST, R. J.: The relationship between the activity of tobacco mosaic virus suspensions and hydrogen-ion concentration over the pH range 5 to 10. *Aust. Jour. exp. Biol. med. Sci.* 14: 323-328; 1936
6. BEST, R. J. & G. Samuel: The reaction of the viruses of tomato spotted wilt and tobacco mosaic to the pH value of media containing them. *Ann. appl. Biol.* 23: 509-537, 1936
7. FUKUSHI, T.: On some properties of the tobacco mosaic virus 1. *Japanese Jour. Bot.* 6: 381-392, 1933
8. FUKUSHI, T. & E. SHIKATA: Electron microscope studies on plant viruses. I. *Jour. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* 50: 74-94, 1955
9. KASSANIS, B. & A. KLECZKOWSKI: The effect of formaldehyde and mercuric chloride on tobacco mosaic virus. *Biochem. Jour.* 38: 20-24, 1944
10. KAUSCHE, G. A. und H. RUSKA: Die Sichtbarmachung der Adsorption von metallkolloiden an Eiweisskörper I. Die Reaction Kolloid Gold-Tabakmosaikvirus. *Kolloid Zeitschr.* 89: 21-26, 1939
11. MARSHAK, A. & W. N. TAJAHASHI: The effect of pH on inactivation of tobacco mosaic virus by X-rays. *Pro. Nat. Acad.*

- Science 28: 211-216, 1942
12. 根井外喜男, 佐々木芳郎, 四方英四郎: Tobacco mosaic virus の凍結乾燥による断裂について, 低温科学 14: 75-85, 1956
 13. RAWLINS, T.E., Catherine Roberts & Nedra M. Utech: An electron microscope study of tobacco mosaic virus at different stages of infection. Amer. Jour. Bot. 33: 356-363, 1946
 14. SCHRAMM, G.: Die Biochemie der Viren. 1954
 15. SCHRAMM, G., G. Schumacher, und W. Zilling: Über die Struktur des Tabakmosaikvirus. III Mit.: Der Zerfall in alkalischen Lösung. Zeitschr. Naturforsch. 10 b: 481-492, 1955
 16. SIGURGEIRSSON, T. & W.M. Stanley: Electron microscope studies on tobacco-mosaic virus. Phytop. 37: 26-38, 1947
 17. STANLEY, W.M.: Chemical studies on the virus of tobacco mosaic III. Rates of inactivation at different hydrogen-ion concentrations. Phytop. 25: 475-492, 1935
 18. STANLY, W.M. & T.F. ANDERSON: A study of purified viruses with the electron microscope. Jour. Biol. Chem. 139: 325-338, 1941
 19. TAKAHASHI, W.N. & T.E. RAWLINS: An electron microscope study of tobacco mosaic virus extracted from pulp and juice after various periods of infection. Phytop. 38: 279-282, 1948
 20. TAKAHASHI, W.N.: The effect of pH on the linear aggregation of tobacco mosaic virus. Amer. Jour. Bot. 36: 642-645, 1949
 21. THORNBERRY, H.H.: Effect of phosphate buffers on infectivity of tobacco mosaic virus. Phytop. 25: 618-627, 1935
 22. WILLIAMS, R.C.: The shapes and sizes of purified viruses as determined by electron microscopy. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biol. 18: 185-196, 1953
 23. WILLIAMS, R.C. & R.L. Steere: Electron microscopic observations on the unit of length of the particles of tobacco mosaic virus. Jour, Amer. Chem. Soc. 73: 2057-2061, 1951
 24. WYCKOFF, R. W. G.: An ultracentrifugal study of pH stability of tobacco mosaic virus protein. Jour. Biol. Chem. 122: 239-247, 1937
 25. WYCKOFF, R. W. G., BISCOE J. & W. M. STANLEY: An ultracentrifugal analysis of the crystalline virus proteins isolated from plants diseased with different strains of tobacco mosaic virus. Jour. Biol. Chem. 117: 57-71, 1937

図版説明

各 pH 溶液中の TMV 粒子の電子顕微鏡写真

図版 I

1. 1N HCl にて稀釈した TMV 溶液 ×27,000
2. pH 0.5 →0.5 (20 時間後) //
3. pH 1.1 →1.1 (//) //
4. pH 2.15 →2.15 (//) //
5. pH 2.1 →2.05 (//) ×50,000

図版 II

6. pH 3.0 →3.08 (20 時間後) ×27,000
7. pH 3.0 →3.08 (20 時間後セロファン膜に入れ水道水中で透析) ×27,000
8. pH 4.0 →3.98 (20 時間後) ×27,000
9. pH 4.2 →4.1 (//) //
10. pH 3.3 →3.3 (//) //

図版 III

11. pH 5.0 →5.0 (20 時間後) ×27,000
12. pH 5.0 →5.0 (//) //
13. pH 6.8 →6.8 (//) //
14. pH 8.2 →8.1 (//) //
15. pH 9.0 →8.85 (//) //
16. pH 10.1 →9.9 (//) //
17. pH 11.1 →10.5 (//) //
18. pH 11.05 →10.2 (//) //

Summary

It has been observed with an electron microscope that homogeneity and dispersity of TMV particles were variable in solutions of different hydrogen-ion concentrations. About 67.2% of virus particles in chemically

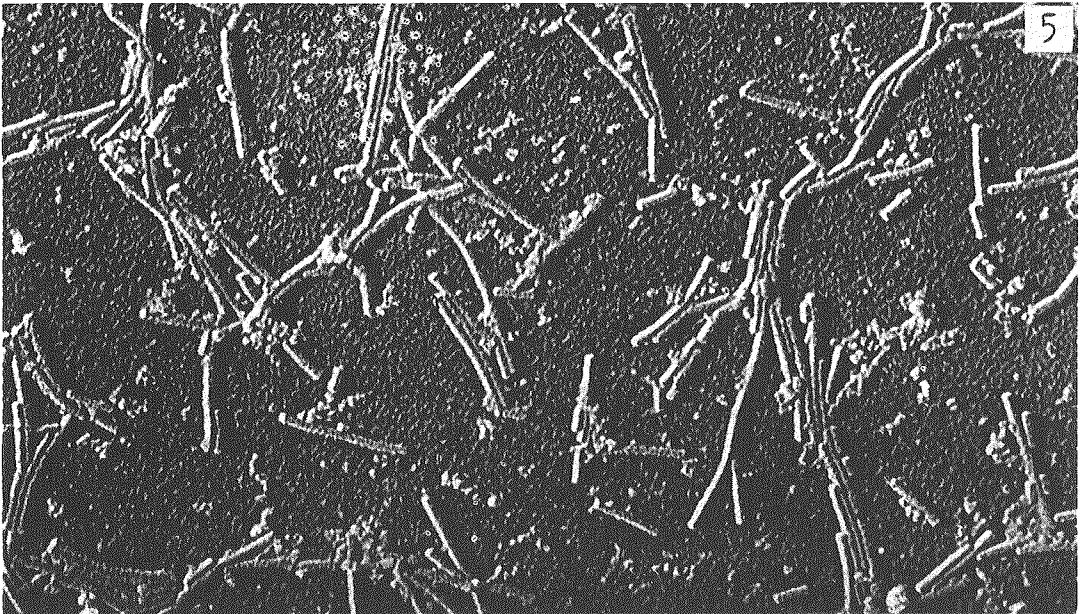
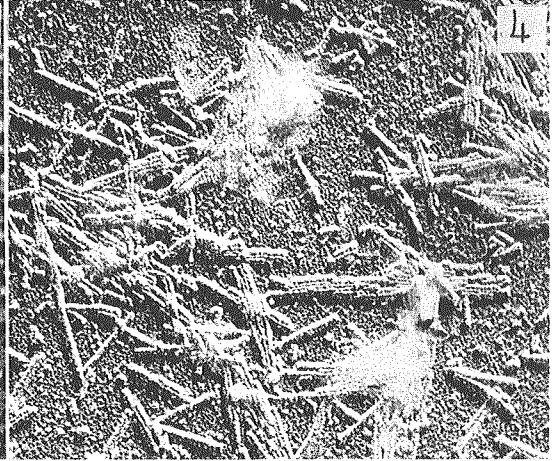
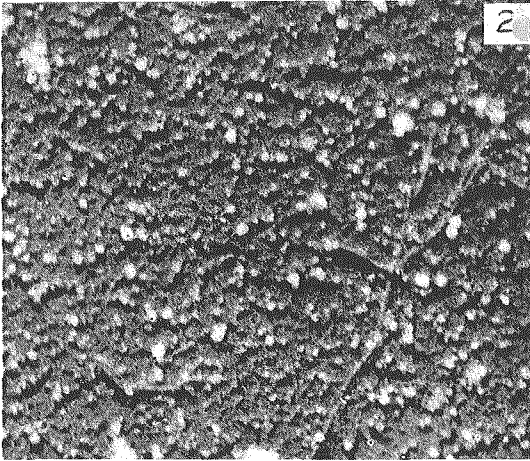
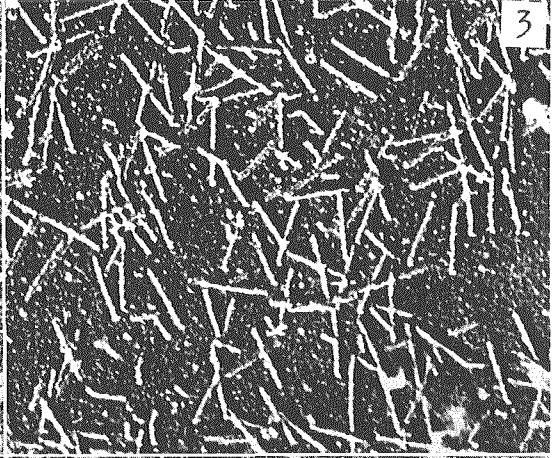
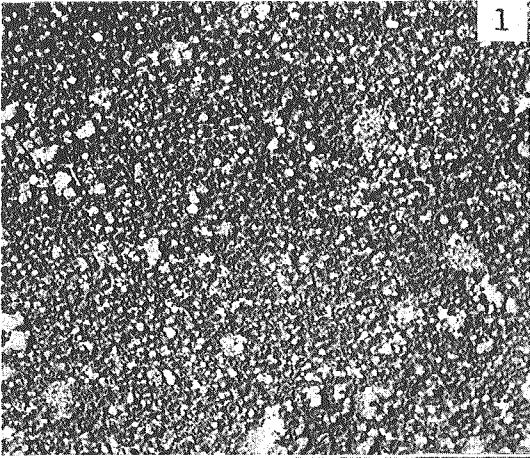


图 版 II

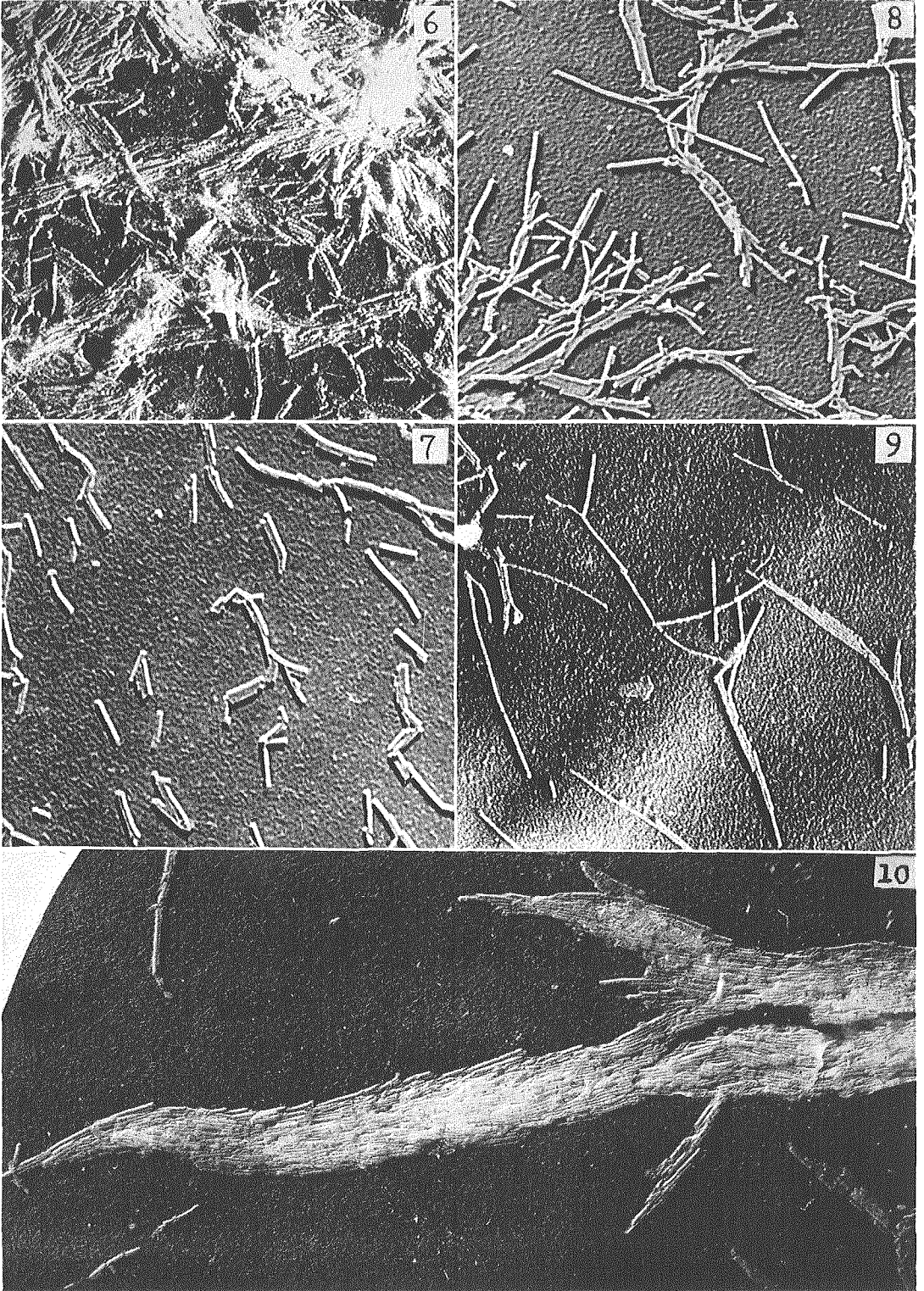
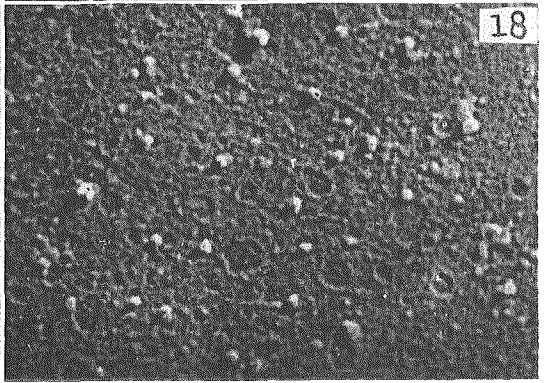
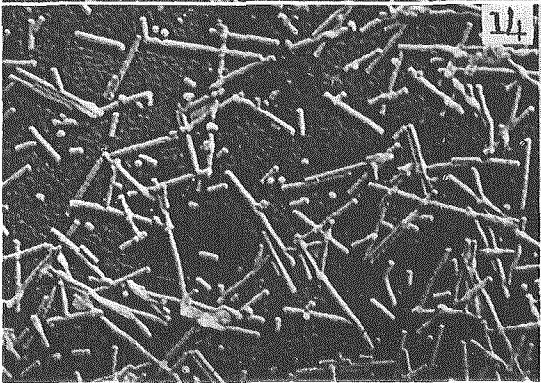
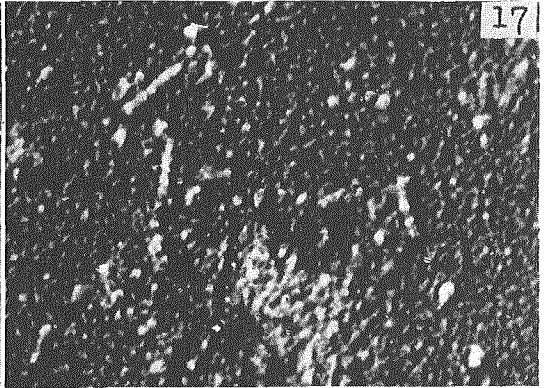
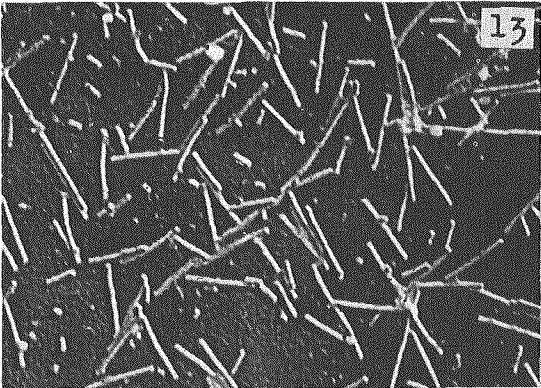
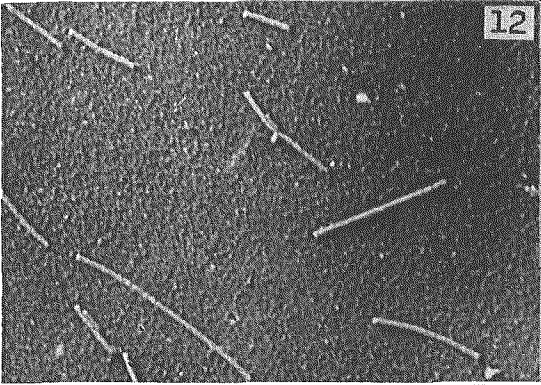
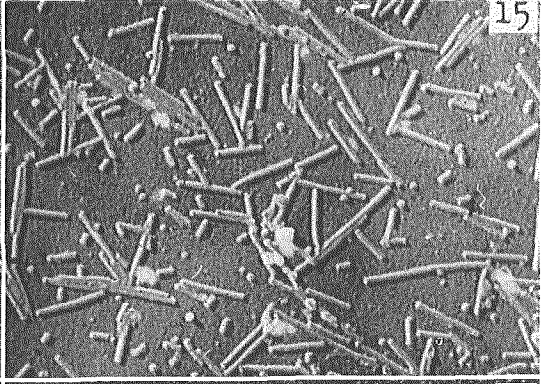
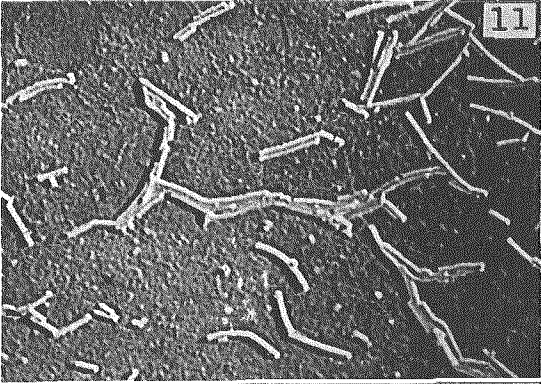


图 版 III



purified solutions at pH 6.8 existed either as monomers of length of about $300\text{ m}\mu$ or longer. When such a preparation was mounted on the collodion film virus particles were found scattering uniformly.

As hydrogen-ion concentrations of the solution increased TMV particles showed a tendency towards end to end and side by side aggregations, and at pH 3.3, the isoelectric point of the virus, the rod shaped particles deposited into paracrystalline aggregates.

Adjusting the pH values of virus solution at 2.0 and 1.1, it was found that virus rods scattered again and those shorter than $240\text{ m}\mu$ in length increased, while those equal to or longer than $300\text{ m}\mu$ in length decreased. At pH 0.5, virus rods were denatured and assumed amorphous globular appearance, no

infectivity and precipitin reaction having been demonstrated.

On the contrary, low hydrogen-ion concentrations caused no aggregation but breaking of the rod shaped virus particles, thus reducing the homogeneity of virus particles in the solution. When adjusted at pH 10.0, about 75.5% of the virus particles had the length shorter than $240\text{ m}\mu$ whereas at pH 11.1 the virus preparation revealed numerous globular particles and a few rods shorter than $120\text{ m}\mu$ in length. About 99% of the virus particles in the solution were non-infective though a slight precipitin reaction was demonstrated. The complete loss of both infectivity and antigenicity occurred at pH 12.4 destroying the structure of virus rods and producing small globular deposits.