

## *Nocardia* sp 의 生理生化學的研究

(第 1 報) *Nocardia* sp 의 微細構造에 關하여

洪 淳 德

慶北大學校 農科大學 農化學科

(1977년 9월 22일 수리)

## The Physiological and Biochemical Studies of *Nocardia* sp

(Part I) Cell Fine Structure of *Nocardia* sp

**Soon-Duck Hong**

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture

Kyung-Pook National University, Taegu, Korea

(Received Sept. 22, 1977)

### Abstract

The results of electron microscopic studies on the cell fine structure of *Nocardia* sp the location of tellurite-reducing enzyme and the reduction part of T. T. C. (Triphenyl tetrazonium chloride) were summarized as follows.

As the fine structure of the cell, the membrane-like structure with unit membrane was distributed in the cytoplasm. The membrane-like structure had complicate forms; some of membrane-like structure appeared spiral form.

As the metal tellurium salt appeared in the cytoplasm, it is obvious that tellurite and tellurate-reducing enzymes are present in the cytoplasm.

Reduction of T. T. C. took place in the cell membrane and the intracellular membrane-like structure. Therefore, it was thought that reduction of tellurate and T. T. C. took place in different parts.

T. T. C. formazane formed in the cell was reoxidized by osmic acid which was used as a fixation reagent for the electron microscopic specimen preparation. As 95% T. T. C. formazane was soluble in ethanol and embedding materials and removed out of the cell, an originally formed formazane appeared as electron light part on the electron microscopic image.

### 緒 論

*Nocardia* 는 Bergey's Manual<sup>(1)</sup> 의 分類에 依하면

Order Actinomycetales, Family Actinomycetaceae 에 屬하며 Family Streptomycetaceae 에 屬하는 菌과 같이 放線菌에 屬하는 微生物이다. 이 genus 에 屬하는 菌은 靜置培養에 있어서 生育初期의 細胞는

長糸狀으로 生長해서 分枝를 내지만 나중에 斷裂되어 短棒狀 혹은 球狀의 形態를 取하는 特異한 生育狀況을 나타낸다.

또한 *Nocardia* 中에는 *N. opaca*, *N. corallina* 는 naphthaline<sup>(2)</sup> 을, *N. opaca*, *N. erythropolis*, *N. globerula*, *N. coeliaca* 와 같은 것은 phenol<sup>(3)</sup> 을, 또한 *N. salmonicolor* 는 paraffin<sup>(4)</sup> 을, 또 *N. rubropertincta* 와 같이 benzine, petroleum, paraffin oil 및 paraffin<sup>(5)</sup> 을 唯一의 炭素源으로 해서 生育하는 것들이 있어 生理的으로 特異한 性狀을 나타내는 것도 있다. 그러나 이의 菌學的, 分類學的 研究에 있어서는 많은 報告가 있지만<sup>(6,7,8,9,10,11,12,13)</sup> 아직 決定約인 結論을 얻지 못하고 있을 뿐 아니라 이외에 生理化學約研究에 있어서도 그 研究가 그다지 많지 않다<sup>(14,15,16)</sup>.

著者가 本研究에 使用한 菌株는 phenol 工業 廢液處理에 使用한 活性汚泥로부터 分離한 것으로서 phenol 을 資化하는 菌으로서 朝井<sup>(17)</sup> 등에 의하여 *Nocardia corallina* 라고 同定한 것이다. (以下 *Nocardia* sp. 라고 記載한다).

그리고 *Nocardia* 類緣菌으로서 *Corynebacterium*, *Mycobacterium* 을 들 수 있는데 이들 菌은 tellurate 및 tellurite 을 넣은 培地에서 培養시키면 黑色의 聚落을 形成한다는 것은 널리 알려져 있고, 이 聚落의 黑化는 이들 菌株가 가지고 있는 tellurate 및 tellurite 의 還元에 依한 것이라고 알려져 있다.<sup>(18)</sup> 따라서 이러한 微生物은 菌體內 tellurate 또는 tellurite 還元酵素를 生産하지 않으면 안 된다. 臨床細菌學約으로는 tellurate 의 性質을 利用하여 *Corynebacterium diphtheriae* 의 鑑別을 하여 過去에는 diphtheria 症 判定의 臨床檢査에도 쓰여 왔다.<sup>(19)</sup> 그리고 또한 이의 選擇培地에 生育시킨 *Corynebacterium diphtheriae* 聚落의 黑色 程度가 菌이 生産하는 毒素의 量에 比例한다는 것으로부터 毒素의 鑑別에도 가끔 쓰여 왔다.<sup>(20)</sup>

한편 *Mycobacterium* 에 있어서는 菌의 生存能力의 迅速判定法으로서 使用하였고<sup>(21)</sup> 例를 들면 potassium tellurite ( $K_2TeO_3$ ) 를 培地에 添加하면 사람型菌에서는 發育이 阻害되지만 牛型菌 및 非病原性菌에서는 發育阻害가 보이지 않으므로 potassium tellurite 를 *Mycobacterium* 菌型의 鑑別에 使用할 수 있다는 報告도 있다.<sup>(22)</sup> 그런데 山村<sup>(23)</sup> 등은 *Mycobacterium* 이 potassium tellurite 를 還元하여 黑色의 聚落을 만드는 性質과 그 菌株의 毒素生産性 및 그 毒力과의 關係에 對한 研究를 하여 이들

사이에도 어떠한 相關關係도 發見하지 못하였다고 報告하였다.

여하튼 菌의 tellurite 및 tellurate 에 대한 態度는 菌의 鑑別에 重要한 關係가 있다는 것이 알려져 있다. 그러나 *Mycobacterium* 및 *Corynebacterium* 만이 tellurite 및 tellurate 를 還元하는 것이 아니고 *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* 및 *Escherichia coli* 등에 있어서도 이들 金屬酸化물을 還元한다는 것은 이미 많은 研究者들에 依하여 알려져 있으며<sup>(23)</sup> tellurite 및 tellurate 還元酵素는 微生物에 있어서 상당히 넓은 分布를 나타내는 것으로 생각된다. 그런가답에 *Mycobacterium* 및 *Corynebacterium* 의 類緣菌인 *Nocardia* 도 당연히 酵素의 存在가 豫想되며 本菌도 이 還元酵素가 存在한다는 것을 알게 되었다.<sup>(24)</sup>

以上과 같이 微生物에 있어서 tellurite 및 tellurate 還元酵素의 分布는 菌學上 重要함에도 불구하고 이 酵素의 酵素化學的 性質 및 生理學的 意義에 관한 研究는 그다지 많지 않을 뿐 아니라 아직 명확하게 밝혀지지 않고 있다.

Mudd<sup>(25)</sup> 등은 *Mycobacterium thumopheos* 를 tellurite 나 tetrazorium 鹽으로 染色한 結果 이들이還元型인 金屬 tellurium (針狀結晶) 및 formazane 이 菌體細胞顆粒部分에 있다는 것을 電子顯微鏡으로 觀察하여 이러한 物質의 還元反應은 菌體內 顆粒部分에서 일어난다고 結論지우고 있다. 그러나 赤井<sup>(26)</sup> 는 *Mycobacterium avium* 을 磨碎한 후 細胞成分을 超遠心分離하여 tellurite 還元酵素를 精製해서 그 性質의 一部를 調査한 結果, 細胞顆粒成分은 T. T. C. (Triphenyl tetrazorium chloride) 의 還元能力을 가지지만 tellurite 의 還元能力은 全然보이지 않고, 반대로 細胞溶性成分에 있어서 tellurite 의 還元能力을 나타내므로 微體內에서의 T. T. C. 와 tellurite 의 還元은 서로 틀리는 部分에 일어난다고 報告하고 있다.

著者가 *Nocardia* sp 에 對한 實驗結果도 寺井等의 *Mycobacterium* 에 對한 實驗成績과 같은 結果를 얻었다.

그리하여 本報에서도 우선 菌體內에서의 tellurite 와 T. T. C. 의 還元部位를 檢討할 目的으로 超薄切片法에 의한 電子顯微鏡의 관찰을 하여 本菌의 微細構造와 아울러 이들의 還元部位에 對한 結果를 보고하는 바이다.

## 材料 및 方法

### 1. 使用 菌株

本實驗에 使用한 菌株는 工業廢液의 活性汚泥로부터 化離하여 *Nocardia corallina* (CF222)라고 同定한 것이다. 本菌은 phenol을 單-한 炭素源으로서 生育하며 窒素源으로서는 硫安, 炭素源으로서 phenol을 使用한 合成培地에서도 良好하게 生育하지마는 phenol 代身에 glucose를 使用하면 한층 더 生育이 좋아진다.

### 2. 培養法

生理的인 實驗에 있어서는 合成培地를 使用한 때 도 있었으나 本菌株의 tellurite 還元酵素의 抽出精製를 目的으로하였기 때문에 가장 菌 收量이 많은 nutrient broth를 使用하였다. 本菌의 phenol oxidase는 培地에 phenol이 存在할 때만 菌體內에 phenol oxidase 活性이 보이는 소위 適應酵素이지만는 tellurite 還元酵素는 phenol oxidase와는 달라서 培地組成에 關係없이 항상 菌體內에 存在하므로 酵素의 精製를 目的으로 할 때는 菌收量에 많은 nutrient broth가 훨씬 이득이다. 本實驗에 使用한

Table 1. Nutrient Broth.

Meat extract	10 g
Peptone	10 g
NaCl	3 g
Distilled water	100 ml
pH	7.6~7.8

Table 2. Synthesis Medium.

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.2 g
NaCl	0.1 g
FeCl <sub>3</sub>	0.02 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 g
CaCl <sub>2</sub>	0.1 g
Distilled water	1000 ml
pH	7.6~7.8

Carbon source	
Glucose	1%
Phenol	0.1%

nutrienty broth 및 合成培地의 組成은 Table 1, Table 2와 같다.

그리고 本菌은 매우 好氣性이기 때문에 어떠한 培地를 使用하더라도 振湯培養法으로 培養하였다.

Nutrient broth를 使用하여 30°C에서 培養하면 生育曲線의 對數, 生育, 減衰期는 約 40時間이다.

### 3. 菌體 生育測定

Nutrient broth를 使用해서 培養하였을 때는 培地 10 ml를 遠心分離해서 그 菌體를 生理的 食鹽水로서 2回 洗滌한 後 25 ml의 生理的 食鹽水에 懸濁하여 420 m $\mu$ 에서 吸光度를 測定하였다.

合成培地일때는 菌體를 洗滌하지않고 培地를 그대로 420 m $\mu$ 에서 吸光度를 測定하였다. 生菌數는 稀釋法에 依한 寒天 plate<sup>(27)</sup>上的 colony數를 count해서 測定하였다.

### 4. 電子顯微鏡的 觀察

菌體 細胞內의 微細構造를 電子顯微鏡으로 觀察하기 爲하여 이의 固定液은 主로 Palade<sup>(28)</sup>固定液을 使用하였으며 固定液의 pH는 細胞內 微細構造에 對해서 比較的 再現性이 있는 pH 7.4를 使用하였다. 그리고 固定時間은 4°C에서 20時間 固定한 후, 常法에 따라 脫水는 etanol의 graded solution으로, penetration은 propylene oxide로, 包埋는 Luft<sup>(29)</sup>方法에 의하여 epon mixture를 重合하여 Ultramicrotome으로 400~500Å으로 薄切한 後 Reynolds<sup>(30)</sup>의 二重染色을 하여 電子顯微鏡으로 觀察하였다.

## 結果 및 考察

*Mycobacterium*, *Corynebacterium* 등에 있어서는 培地에 tellurate 및 tellurite를 加하여 培養하면 菌體內에 있어서 tellurate鹽 및 tellurite鹽을 還元하여 金屬 tellurium을 析出한다는 것이 알려져 있지만 本 菌體에 있어서도 아주 같은 양상의 還元力을 가지고 있다는 것을 알았다. 그러므로 菌體內에서의 金屬鹽의 還元部位를 檢討하기 爲하여 超薄切片法에 依한 電子顯微鏡的 觀察을 하였다. 이들 金屬鹽의 還元部位와 比較하기 爲하여 T. T. C.의 還元作用에 對해서도 함께 檢討하였다.

먼저 本菌을 nutrient broth에서 40時間 培養한 正常菌의 細胞에 微細構造를 電子顯微鏡으로 觀察한 것으로서 Fig. 1에서 보는 바와 같이 unit membrane을 가진 小顆粒이 복잡한 形態를하고 細胞內에 分布되어 있다. 그리고 또한 이 顆粒의 한쪽은

cell membrane 과 연결되며 細細膜의 細胞質內的  
연장 또는 陷入에 依해서 생겨난 것으로 추측되는  
卽 mesosome 과 같은 形態를 하고 있는 것도 있  
다. (Fig. 1)

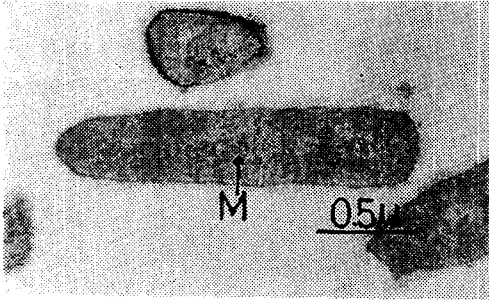


Fig. 1. *Nocardia* sp Cultured in Nutrient Broth for 40 Hours. Intracellular membrane-like structure appeared around the septa. (X 40000)

細胞質內에 unit membrane 을 가진 膜樣構造가  
잘 發達되어 있다.

다음은 nutrient broth 에 T. T. C. 및 potassium tel-  
lurite 를 加하여 *Nocardia* sp 로 培養한 것을 電子  
顯微鏡으로 觀察한 結果 Fig. 2 에서와 같이 細胞膜  
및 細胞內膜樣 構造 卽 unit membrane 을 가진 小  
顆粒部分에 T. T. C. 還元部位가 나타나는 電子顯微  
鏡像을 얻었다.

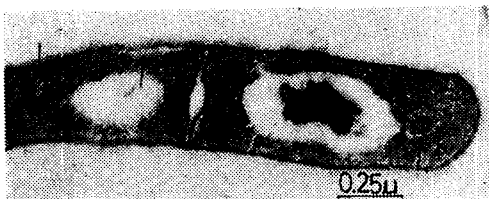


Fig. 2. *Nocardia* sp Cultured in Nutrient Broth and treated with T. T. C. Arrow indicates Parts of T. T. C. and Ring-like Appearance indicates intercellular membran-like structure. (X 80000)

한편 tellurite 의 還元作用은 Fig. 3 에서 나타난  
것과 같이 細胞質內에서 만이 金屬 tellurium 의 折  
出이 나타나며 T. T. C. 의 還元作用이 있는 細胞膜  
및 細胞膜樣 構造部分에서는 金屬 tellurium 의 折  
出은 認定되지 않는다.

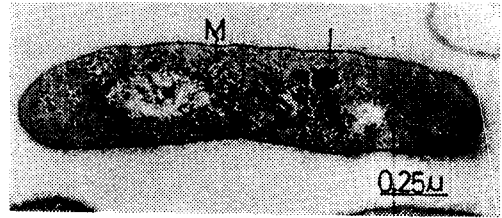


Fig. 3. *Nocardia* sp. Cultured in Nutrient Broth and Treated with Potassium Tellurite. Intracellular black granule metal tellurite. Especially arrow indicates remarkable crystallization of metal tellurite. And also intercellular membrane-like structure (M) appeared arrow the intracellular center. (X 70000)

이와같은 현상으로 보아 細胞內에서의 T. T. C.  
및 tellurite 還元部位는 전혀 다른 部分에 存在하며,  
T. T. C. 還元作用은 細胞膜 및 細胞膜樣 構造體에서  
보이고 tellurate 및 tellurite 還元酵素는 細胞質에  
散在하여 있다는 것으로 생각된다. 그렇지만 다만  
電子顯微鏡學의 手段만으로서 이들 物質의 還元에  
關與하는 酵素의 細胞內 分佈를 結論짓는다는 것  
은 매우 위험할 뿐만 아니라 특히 T. T. C. 還元物  
質(formazone)은 물에는 녹지 않으나 alcohol 및  
propylene oxide 에는 可溶이라는 것을 考慮할 때 試  
料을 電子顯微鏡으로 觀察하기 위하여 alcohol 및  
propylene oxide 의 前處理 과정에서 大部分의 for-  
mazane 은 菌體로 부터 溶出되어 나가기 때문에 上  
述한 電子顯微鏡像에 있어서 著者가 T. T. C. 還元  
部位라고 判斷한 部分이 정말 眞實性이 있는가의  
如否는 매우 의문이다. 그래서 이러한 의문을 풀  
기 위하여 다음과 같은 實驗을 하였다.

### 1. 菌體의 各 phase 에 依한 tellurite 및 T. T. C. 還元能

菌體의 各 菌令과 tellurite 還元能과의 關係를 究  
明코자 nutrient broth 에 培養한 各 phase 의 洗滌  
菌體 100 mg 을 M/15 phosphate buffer (pH 6.0)  
4.0 ml 에 懸탁하여 0.5%  $K_2TeO_3$  液 1.0 ml 가하  
여 37°C 60分 incubate 한 다음 菌體를 洗滌 5ml  
의 물에 懸탁하여 吸光度 (500 m $\mu$ )를 測定해서 菌  
體에 析出하는 金屬 tellurium 量을 tellurite 還元能  
으로 하였다. 이 結果 Fig. 4 에서 보는 바와 같이 培  
養 20時間의 菌이 最大値를 나타내며 20時間 以後  
는 菌令의 增加와 더불어 점점 減少된다.

그리고 T. T. C. 의 各 菌令에 對한 還元能은 各  
phase 菌體 1.0 g 을 nutrient broth 25.0 ml 에 sus-

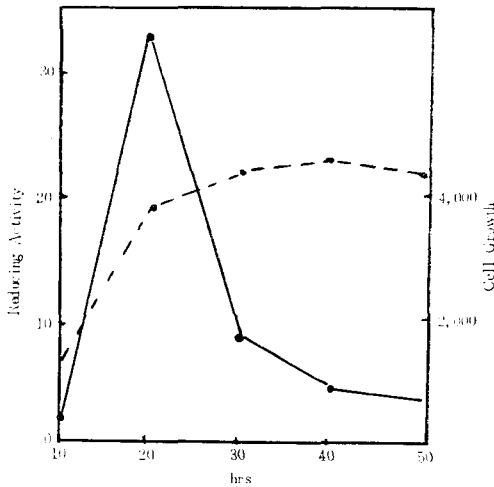


Fig. 4. Growth Curve and Reducing Activity of Tellurite at Each Phase.

pend 해서 이 菌液 9.0 ml 에 0.5% T. T. C. 液 1.0 ml 加하여 37°C 5 分間 incubate 한 후, 20 ml formalin 을 加하여 反應을 정지시켜 遠心分離하여 모든 菌體를 洗滌하고 chloroform 6.0 ml, acetone 0.5 ml 를 加하여 菌體에 形成된 formazone 을 抽出해서 480 m $\mu$  에서 吸光度를 測定하고 乾燥菌體의 比를 求하여 T. T. C. 還元能으로 하였다.

Fig. 5 에서와 같이 T. T. C. 還元能은 tellurite 와 같이 培養後 20 時間에서 最大値에 이르고 菌令이 많아짐에 따라 減少되다가 50 時間의 菌令에 있어서는 T. T. C. 의 還元能이 다시 增加된다.

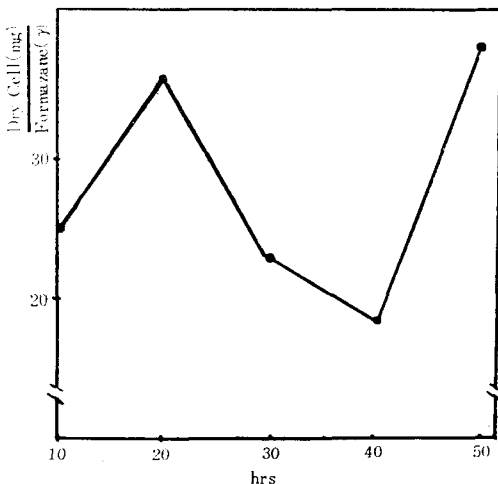


Fig. 5. Reducing Activity of T. T. C. at Each Phase.

따라서 tellurite 還元能과 T. T. C. 還元能은 반드시 平衡關係가 아니라는 것을 알 수 있다. 이러한 事實로서 兩者의 還元酵素는 同一한 것으로 생각할 수 없다.

## 2. 電子顯微鏡 관찰을 하기 위한 試料의 前處理와 菌體內 還元 T. T. C. 의 變化

앞에서 보는바와 같이 菌體에 依한 T. T. C. 還元能은 菌令에 따라 상당한 變動이 있지만 이 還元은 어떠한 때라도 菌體內에서 일어나며 菌體外에서는 일어나지 않는다. 이러한 事實로부터 菌體內에 存在하는 T. T. C. 還元酵素는 용이하게 菌體外로 溶出하는 것이 아니고 菌體內에 있어서 菌體의 構造와 상당히 견고하게 結合되어 있는 것으로 豫想할 수 있다. 그러나 T. T. C. 를 還元하여 形成된 formazone 이 電子顯微鏡 觀察을 하기 위하여 여러가지 前處理 卽 osmic acid, alcohol 등으로 處理하므로 菌體內 實在의 存在部位에서 다른 部分으로 移行 및 菌體外로 溶出이 생각되므로 단순히 電子顯微鏡像만으로서 還元部位를 結論짓는다는 것은 많은 문제가 있기 때문에 이러한 點을 檢討할 目的으로 다음과 같은 實驗을 하였다.

### (1) T. T. C. formazane 의 osmic acid 에 依한 再酸化

精製 formazane 을 使用해서 formazane 의 osmic acid 에 依한 再酸化를 檢討하기 위해서 formazane 5.0 mg 을 acetone 水混合液(3:1) 50 ml 에 溶解시켜 이 formazane 液에 osmic acid 를 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 1.0% 가 되게 加하여 溶解시켜 室溫에 放置하면서 吸光度의 經時的인 變化를 測定하여 이 吸光度의 變化로부터 formazane 의 變化率을 보면 Fig. 6 과 같이 osmic acid 添加量의 增加와 더불어 formazane 은 急激히 酸化되어 osmic acid 添加 20 分後에는 添加量의 차이에 關係없이 酸化率은 거의 40% 를 나타낸다. 따라서 osmic acid 에 依한 再酸化作用은 매우 현저하므로 電子顯微鏡 試料에 依한 菌體內 formazane 의 再酸化를 無視해서는 안 될 것이다.

그래서 實在菌體內에 formazane 을 形成시켜 놓고 固定時間에 따른 菌體內 formazane 의 osmic acid 에 依한 酸化率을 보면 다음과 같다.

Fig. 7 에서와 같이 菌體內 formazane 은 固定液의 osmic acid 濃度の 增加와 더불어 酸化量도 增加되어 固定 20 時間 0.1% osmic acid 에서 約 15%, 0.5% 에서 約 23%, 1% osmic acid 에서는 約 38% 酸化되었기 때문에 電子顯微鏡 試料 製作時의 固定

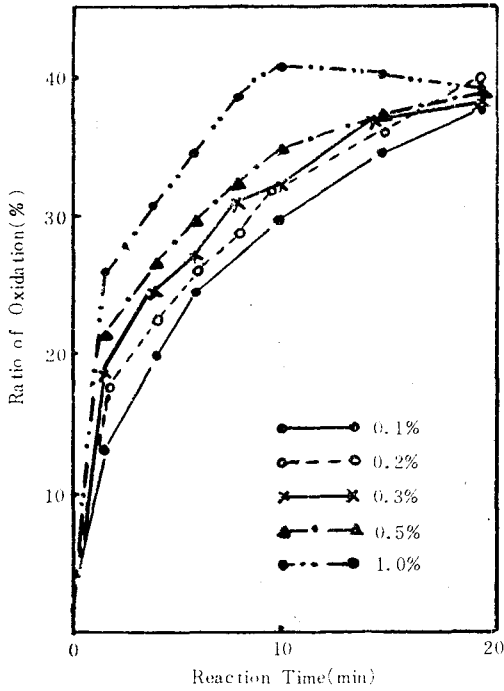


Fig. 6. Reoxidation of T. T. C. Reduced by Osmic Acid.

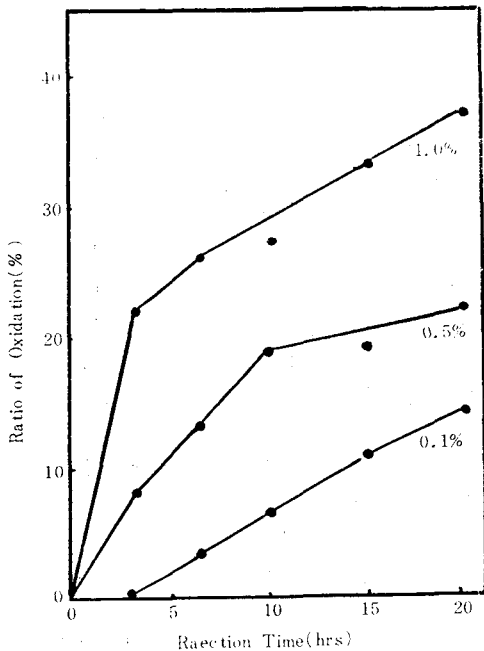


Fig. 7. Reoxidation of Intracellular Formazane by Osmic Acid.

操作에 따라 菌體內 formazane 은 그의 約 40%가 酸化되어 菌體로부터 消滅되는 것으로 생각된다.

### (2) Ethanol 및 propylene oxide 에 의한 菌體內 T. T. C. formazane 의 抽出

T. T. C. formazane 은 물에 對해서는 溶解되지 않지만 一般的으로 有機溶媒에 對해서는 容易하게 溶解되므로 ethanol, propylene oxide 에 對해서도 可溶性이다. 따라서 電子顯微鏡 試料製作에 있어서 ethanol 및 propylene oxide 는 脫水置換用으로 使用하고 있다. 그러므로 菌體內에 形成된 formazane 은 脫水, 包埋時에 相當한 量이 抽出되어 없어질 것이 豫想된다. 따라서 電子顯微鏡 試料製作時 ethanol, propylene oxide 處理에 依해 消失된 菌體內 formazane 量을 測定하기 위하여 다음과 같은 實驗을 하였다. 卽 菌體內에 formazane 을 形成시켜 놓은 다음 50, 80, 100% ethanol 과 propylene oxide 를 加하여 1, 3, 5, 7, 10 時間 放置하면서 菌體內 formazane 의 抽出率을 算出해보면 Fig. 8 과 같이 50%, 80% ethanol 의 抽出은 別差없이 10時間 放置에서 約15%의 抽出率을 나타내지만 100% ethanol 에서는 抽出率이 현저히 增加해서 約 25%를 나타낸다. 한편 propylene oxide 約 50%의 formazane 이 菌體外로 溶出됨을 알 수 있다.

### (3) 固定, 脫水, 包埋에 의한 菌體內 formazane 의 殘存量

以上の 實驗結果로부터 明白한 바와같이 菌體內에 形成된 formazane 은 固定, 脫水, 包埋를 거쳐서 電子顯微鏡으로 檢鏡할 때 까지의 여러 단계의 過程에서 相當한 量의 損失이 생각된다.

따라서 實際로 固定, 脫水, 包埋를 거쳐 檢鏡時에는 어느 정도의 formazane 이 試料中에 存在하는가를 檢討하면 다음과 같다. 卽 菌體內 formazane 을 形成시켜 놓고 固定, 脫水, 包埋 直前까지 處理한 試料(菌體)로부터 formazane 을 抽出하여 試料中에 殘存하는 formazane 量을 測定한 結果 Fig. 9 에서와 같이 T. T. C. 作用時間에 關係없이 菌體內 formazane 은 電子顯微鏡 前處理 과정에서 90% 以上이 菌體로부터 溶出되어 檢鏡時에는 事實上 試料中에 殘存하는 formazane 은 거의 없을 것이다.

以上과 같은 實驗結果로서 T. T. C. 處理菌體의 電子顯微鏡像의 formazane 形成部分은 다음 膜式圖에서 보는 바와같이 細胞內 電子透過性 部分이라고 推定할 수 있으며 이 部分은 아마 T. T. C. 에 依하여 formazane 을 形成하였다가 固定, 脫水, 包埋의 處理로 因하여 溶出된 部分으로서 檢鏡時의 관찰

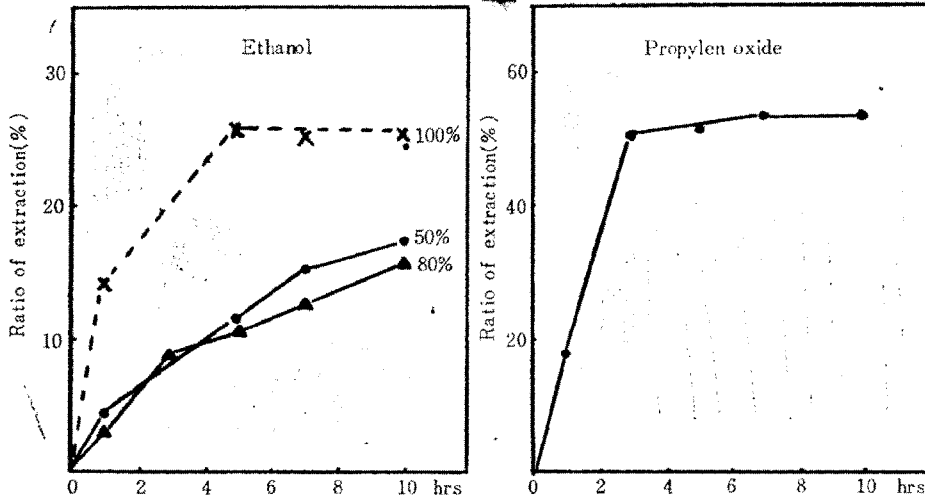


Fig. 8. Extraction of Intracellular Formazane by Ethanol, Propylene Oxide.

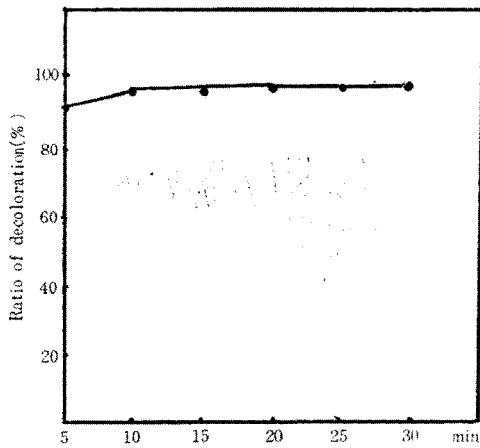


Fig. 9. The Ratio of Reduced T. T. C. on Fixation and Embedding of T. T. C. Reducing Cell.

은 formazane 形成된 後 溶出된 部分을 보는데 지 나지 않는다고 생각된다. 한편 tellurate 및 tellurite 還元部位를 金屬 tellurium 을 析出하기 때문에 固 定, 脫水, 包埋等의 處理에 依해서 容易하게 溶出 되지 않을 것으로 생각된다. 따라서 電子顯微鏡의 金屬 tellurium 의 存在部位는 T. T. C. 의 還元部 位와 서로 상이할 뿐 아니라 매우 安定하다고 생 각된다(Fig. 10 模式圖參照).

### 要 約

*Nocardia* sp의 細胞內 微細胞構造 및 tellurite 還元酵素의 存在部位와 T. T. C. 還元部位를 電子顯 微鏡으로 觀察한것을 要約하면 다음과 같다. 細胞內 微細胞構造에 있어서 unit membrane 을 가

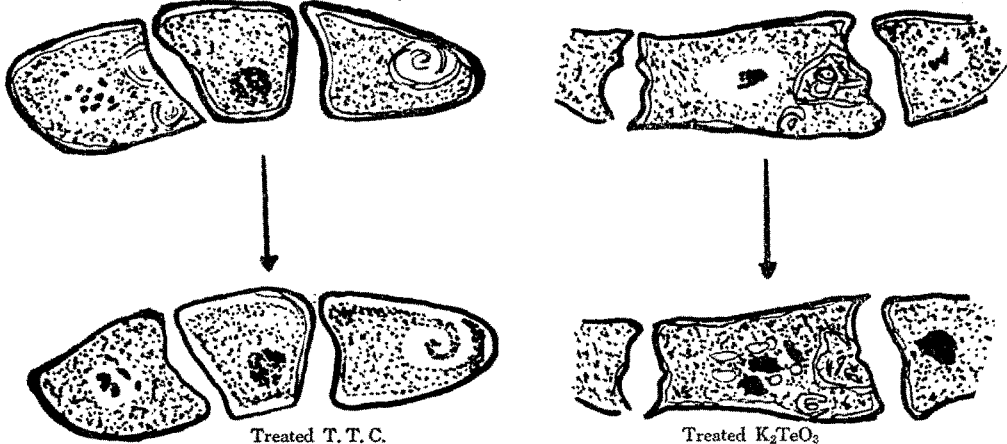


Fig. 10 Schema of Cell Treated by T. T. C. and Tellurite.

진 膜樣構造가 복잡한 形態를 하고 細胞質에 分布되어있고 어떤 것은 膜構造가 둥글게 감겨있는 形態도 있다. 金屬, tellurate 鹽의 析出이 細胞質中에 나타나므로 tellurite 및 tellurate 還元酵素는 細胞質中에 存在한다는 것을 알 수 있다. 그리고 T. T. C. 의 還元은 細胞膜 및 細胞內膜樣構造 部分에서 일어난다. 따라서 tellurate 還元과 T. T. C. 還元은 서로 相異한 部位에서 일어남을 알 수 있다.

菌體內에 形成된 T. T. C. tellurate 은 固定劑인 osmic acid 에 依하여 再酸化되며, 더우기 脫水劑로 使用하고 있는 ethanol 에 녹고 아울러 包埋劑에도 녹기 때문에 약 95%의 formazane 이 菌體外로 溶出되어 나오므로 檢鏡時의 細胞內에는 거의 formazane 이 存在하지 않기 때문에 電子顯微鏡像의 電子透過性인 部分은 원래 formazane 이 形成되었던 部分인 것이다.

#### 參 考 文 獻

- 1) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th Ed. Williams and Wilkins Baltimore, 713 (1957).
- 2) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th Ed. Williams and Wilkins Baltimore, 719 (1957).
- 3) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th Ed. Williams and Wilkins Baltimore, 719, 720, 724, 725, 728 (1957).
- 4) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th Ed. Williams and Wilkins Baltimore, 725 (1957).
- 5) Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R. : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th Ed. Williams and Wilkins Baltimore, 726 (1957).
- 6) 朝井勇宜外 : 醱酵協會誌, 18, 225 (1960).
- 7) Waksman, S. A., : *The Actinomycetes*, 1, 47 (1957).
- 8) Gordon, R. H., and J. Mihm, : *J. Bact.*, 73, 15 (1957).
- 9) Romans, A. H. and A. Sohler, : *J. Bact.*, 72, 865 (1956).
- 10) Cummins, C. S. and H. Harris, : *J. Gen., Microbiol.*, 14, 583 (1956).
- 11) Cummins, C. S. and H. Harris, : *J. Gen., Microbiol.*, 18, 173 (1958).
- 12) Vesaka, I. : *Japan J. Tuberc.*, 4, 1 (1956).
- 13) Arai, T. and S. Kuroda, : *Ann. Rep. Inst. Food Microbiol.*, Chiba Univ., 12, 77 (1959).
- 14) Arai, T. and S. Kuroda, : *Symposium on Taxonomy of Actinomycetes*, p. 22, Japan Antibiotic Reserch Association, Tokyo (1959).
- 15) Cartwright, N. J. and R. B. Gain, : *Biochem. J.*, 71, 248 (1957).
- 16) Cartwright, N. J. and R. B. Cain, : *Biochem. J.*, 73, 305 (1957).
- 17) Cain, R. B. and N. J. Cartwright, : *Biochem. Biophys. Acta.*, 37, 197 (1960).
- 18) 石田名香雄, 日沼頼夫 : 病原微生物學, p. 175, 金原出版, 東京 (1955).
- 19) 微生物學ハンドブック編輯委員會 : 微生物ハンドブック, p. 195, 枝報堂 (1957).
- 20) Anderson, J. S. et al : *J. Path. Bact.*, 34, 667 (1951).
- 21) Corper, H. : *J. Infectious Dis.*, 16, 47 (1951).
- 22) 林治 : 日本細菌學會雜誌, 5, 441 (1950)
- 23) 山村雄一, 釜洞剛 : 第28回日本生化學會發表 (1958).
- 24) 渡邊晋外 : 日本農藝化學會講演要旨, p. 167 (1965).
- 25) Mudd, S., : *Ann. Rev. Microbiol.*, 8, 1 (1954).
- 26) 赤井武雄, 釜洞剛, 山村雄一 : 第15回日本結核病學會 近畿地方會發表, (1957).
- 27) Society of American Bacteriologist : *Manual of Microbiological Method*, McGraw-Hill Book Company, Inc., p. 170 (1957).
- 28) Palade, G. E. : *A Study Fixation for Electron Microscop. J. Exp. Med.*, 95, 285 (1952).
- 29) Luft, J. H. ; Improvement in Epoxy Resin Embedding Methods, *J. Biophysic and Biochem.*, 9, 408 (1961).
- 30) Reynolds, E. S. : The Use of Lead Citrate at High pH as an Electron-Opaque Stain in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.* 17, (1963).