

## 臨床微生物学の「礎」を築いた人々

— 気道関連の微生物研究に携わった研究者達の技術と思索 — 11

血液含有培地導入前後における肺炎球菌とレンサ球菌  
(その3)

帝京大学名誉教授  
 こんのまさとし  
 紺野昌俊  
 Masatoshi KONNO

前号では肺炎球菌の病原と目された莢膜が、1932年に Cooper<sup>1)</sup> によって32の血清型に分類されるまでの諸々の研究者間で交わされた論議について記しました。しかし、肺炎球菌にはもう一つの問題があります。それは Kruse<sup>2)</sup> (1891年) によって示された培地上での集落の変形、双球菌の形態のレンサ状や桿菌状への変化、莢膜の喪失といった問題(解離: dissociation)です。本号ではそのことについて記すことにします。

肺炎球菌の解離について本格的な研究が始まったのは1923年に英国の Griffith<sup>3)</sup> が肺炎球菌の集落にはS型とR型の2種類があるとした報告から始まったと言えるようです(註1)。このことには2つの参考となる論文があります。一つは1916年に記述された Stryker<sup>4)</sup> の論文で、肺炎球菌を同菌の抗血清を含有するブイオン中で培養すると、莢膜が失われて毒性が低下し、貪食され易くなる。また、その抗体は特異性を失って他の肺炎球菌をも凝集する。しかし、マウスの腹膜内通過によってその機能は回復するというものでした。もう一つは1921年の Arkwright<sup>5)</sup> によって出された論文で、赤痢菌の免疫血清含有培地上に発育した赤痢菌の集落は表面が粗く、通常の培地に発育した菌に見られる滑らかな集落と異なる。このことから前者をR型(rough)、後者をS型(smooth)と称するものでした。

Griffith は肺炎球菌で作成した抗血清を含有する

ブイオン中で同一の菌を培養した後に、固形培地上で再培養するとS型とR型の集落が形成される。S型の菌は毒性が強く、その抗血清は型特異性を示すが、R型の菌は毒性を失い、抗血清は型特異性を失うというものでした。一方、この時期には短報形式ですが、米国の Blake & Trask<sup>6)</sup> もまた同様な実験を行い、集落や凝集反応の相違からはA, B, Cの3つの型に分けられると発表しております。ただし、この発表ではR型の集落形成には触れていませんでした。同様な見解は同年にですが、前号で記した Yoshioka<sup>7)</sup> によっても発表されています。ただし、Yoshiokaの論文ではこれらの変化は抗血清ではなく、高温や不適切な培地で培養した際に観察されるとしているところが異なっていました。

この Griffith の論文に対してはさまざまな反響がありました。その反響にはドイツと米国でかなりの相違が見られているのが特徴です。それには1924年に Neufeld がドイツの微生物学会で「オプトヒンに晒されて変異した肺炎球菌は胆汁溶解性をも変化させる」と発言したことから始まっているようです(註2)。ドイツの Morgenroth<sup>8)</sup> は1925年にオプトヒン含有ブイオン中で肺炎球菌を培養後、血液寒天上で再培養した際の集落の相違から、1) 肺炎球菌の特性を維持する株、2) 胆汁に不溶性で *Streptococcus viridans* に類似する株、3) 出現頻度は少ないが溶血性が強く *Streptococcus haemolyticus* に類似す

註1: Griffith は英国の医師で、世界第一次大戦の際に英国厚生省の所属職員として働いていましたが、Spanish flu に罹患した患者の多くが肺炎で死亡していくのを身をもって体験し、それ以来肺炎球菌の研究に精力的に取り組んだ研究者です。Griffith が公表した論文は自らが体験した事実を誠実に顧みて実験を行ったとの印象を強く感じさせるもので、発表の度に多くの研究者の関心を引き起こしました。ことに1928年に発表した形質転換に関わる研究は、あらゆる生物の遺伝子がDNAにあることを実証する基本的な実験(Griffith's experiment)としてよく知られております。当時の肺炎球菌に関わる研究の多くが米国の Rockefeller 医学研究所に所属する研究者によってなされていたのに対し、英国での研究であることが極めて印象的です

註2: Neufeld は肺炎球菌の胆汁溶解能や膨化試験など肺炎球菌に関する優れた研究を発表したドイツの優れた研究者で(本シリーズ、血液含有培地導入前後における肺炎球菌とレンサ球菌(その1)参照)、Robert Koch 研究所の所長をしていたこともあって、学会での彼の発言は多くの研究者に影響を与えたようです。また、1928年に Griffith によって発表された Griffith experiment の追試を真っ先に行った人物で、その論文(文献26)を読むと Neufeld の研究者としての誠実な人柄が偲ばれるところがあります。しかし、後年ナチ党の台頭と共に Neufeld は Robert Koch 研究所の所長を降ろされております。1924年のドイツ微生物学会での発言内容に相当する原著は見当たりませんが、発言の内容は当時の Centralbl Bakt, 1 Abt, Orig, 93 (Beiheft): 41, Oct 1924 に記載されています。

る株の3つに分け、肺炎球菌がレンサ球菌に形質転換する可能性を論じています。また、その傍証として、Morgenrothの共同研究者であったBergerら<sup>9~11</sup>はオプトヒン変異株はマウス腹腔内での4代継代で肺炎球菌に戻る<sup>9</sup>、Type IIIの肺炎球菌をオプトヒン耐性の*S. viridans*に変換させた<sup>10</sup>、イヌリン含有培地上での継代培養では変異株は出現しない<sup>11</sup>等の論文を公表しております。もちろん、これらの論文に対する反論はドイツの国内でもありました。

1926年にWirth<sup>12</sup>は*Streptococcus mucosus*は肺炎球菌からの突然変異であることを証明しようとしたが成功しませんでした。1927年にはHeim & Schlirfら<sup>13</sup>はMorgenrothらの実験の追試をしましたが同様な結果が得られず、Morgenrothらの実験には汚染物質が介在していたのではないかと記しております。その反面、フランスのAmzel<sup>14</sup>は1927年にオプトヒンを注射した2例の肺炎患者から分離された肺炎球菌にはS型とR型の集落が混在しており、R型の3株をマウスの腹腔内を通過させたところ、1株に先祖返りが見られたと報告しております。

一方、米国のRockefellerの研究者達はオプトヒン誘導変異株はもちろんのこと、Griffithの発表にも疑念を抱いていたようです。オプトヒン誘導変異株に対する批判は後述しますが、Griffithの発表に対する彼等の疑義は1925年にAmoss<sup>15</sup>が発表した論文からもうかがうことができます(註3)。Amossはブイヨンで培養した肺炎球菌の希釈菌液の微量をプレパラート上に滴下して、顕微鏡下で双球状(pure line)あるいは単球状(derivative)の菌を毛細管で一細胞ずつ吸い上げてブイヨン中で再培養し、それを10万倍に希釈してマウス腹腔内に接種し、pure lineの菌は毒性に差はないが、derivativeとした菌の一株に強い毒性があるのを見出し、その菌は家兎に対する毒性も異なっていたと記しております。

つまり、Amossはpopulation解析を行った上で単一細胞を取り出してGriffithの追認試験を行ったことになるのですが、Rockefellerの研究者間にはGriffithが行った実験は、本来はpure lineの単一細胞で実施すべきであるとの見解が内在していたよう

です。それは同年に発表されたReimannの論文<sup>16</sup>もまた肺炎球菌の単一細胞を使用してR型菌の実験を行ったと強調していることからもうかがわれます。

Dawson & Averyら<sup>19</sup>もまたType I, II, IIIの肺炎球菌のS型の単一細胞にこだわった実験を行っており、同属の抗血清含有培地中で連続培養することによって安定したR型菌が得られることを確認し、それらのR型菌はマウスの腹腔内通過によってS型に復元できることを1927年に発表しております。敢えて言うならば、Rockefellerの研究者が単一の細胞にこだわって実験した結果でも、Griffithの発表を追認する形になったことは皮肉なことでした。

オプトヒン誘導の変異株に対する米国の批判は、1927年にReimann<sup>20</sup>によって発せられています。要約はオプトヒン誘導の肺炎球菌が*S. viridans*に変異することはあり得ない。オプトヒン誘導R型菌を溶解するには高濃度の胆汁を要するが不溶性ではない。*S. viridans*とは異なり、オプトヒン誘導のR型集落の菌塊は食塩水中に浮遊させれば自然に崩壊する。オプトヒン誘導R型菌の免疫反応は他のR形菌のそれと一致する。*S. haemolyticus*への変異と考えられる菌を見出すことはできなかったというものでした。正にMorgenrothらの説を一蹴するものでしたが、当時はともかくとして、オプトヒンに限らず抗菌活性を有する物質によって誘導される変異株を検索することは、population解析と共に今日では薬剤耐性の本質を探求する上での大切な検査法であります。

その間において、1925年にはFalk & Jacobsonら<sup>17,18</sup>は1925年にBlake & Traskら<sup>6</sup>が発表した抗血清含有培地上で发育したA, B, Cの3つの型の肺炎球菌を電気泳動に掛けて相違を見出そうとした報告もありますが、著明な変化は見られてはおりません。

1927年にはPaul<sup>21</sup>によってDowson & Averyら<sup>19</sup>が作成した安定化したR型菌は自己融解能も失われていることが報じられています。また、肺炎球菌で免疫した馬の血流からR型の肺炎球菌が検出されたとするWadsworth & Sicklesら<sup>22</sup>の報告や、同年か

註3: Amossはこの論文の冒頭で、「感染症は関わる実験においては往々にして諸家の成績に相違が見られる。この一因には、実験に用いられた病原菌が継代していくに従って原株と異なる性質を有する可能性を否定できない」ということを記しております。心すべき言葉です。

ら翌 1928 年に掛けて Type I, II, III の R 型死菌を家兎に注射して作成した抗血清は、同族の S 型菌による能動免疫に役立つとする Tillett<sup>23)</sup> の報告もあります。加えて、1928 年にはマウスの腹腔内通過による R 型菌の S 型菌への先祖返りは、Type II では容易、Type I では困難、Type III では 28 代を要したという相違を記した興味ある報告が Dawson<sup>24)</sup> によってなされています。

1928 年は Griffith's experiment として知られる肺炎球菌の形質転換に関する有名な論文が Griffith<sup>25)</sup> によって発表された年であります。多くの成書には S 型の Type III の加熱死菌の大量を Type II の R 型生菌と共にマウスに皮下注射したところ、Type III の S 型生菌が検出されたとの趣旨が記されていますが、その原著は 47 頁にわたる緻密とも言える膨大な論文で、一言では言い尽くせないものです。

Griffith はその論文の冒頭で、大葉性肺炎由来の肺炎球菌は Type I が主流 (30 ~ 40%) で年次的な変動は見られないが、Type II の検出率は急速に低下し、かわって Group IV に属する菌が急増し、中には血清型が複雑に交差する菌もあり、しかも type I や type II の菌と共に検出されることも多く、喀痰中には毒性が強いと考えざるを得ない R 型菌も見出されると記載しております。言うなれば、喀痰の培養に直接取り組んだ者でなければ把握できないような問題を提起して、変異に関わる実験に取り組んだこととなります (註 4)。

この論文には二つの主要な点があります。一つは臨床での最大の疑問であった Group IV の菌が Type I あるいは Type II の菌に生体内で変異することは有り得るのかという問題です。そのため Group IV の加熱死菌を作成し、その大量を Type I あるいは Type II の安定化した R 型生菌の微量と共にマウスの皮下に接種して、その部位から Group IV の生菌が得られるかという実験を行っております。その結果は接種 2 ~ 4 日で死亡する例が見られ、これらの死亡例からは Group IV の生菌ではなく、S 型に変異した Type I あるいは Type II の生菌が検出されたということです。対照群からは生菌は見出されませんでした。

つまり、この実験は失敗したことになるのですが、この結果から明白になったことが二つあります。一つは加熱死菌の作成には加熱温度が極めて重要で、60℃以上の加熱処理では R 型の生菌が S 型に変異する頻度が低くなるということです。言い換えれば、死菌に含まれる耐熱性の何らかの物質が R 型生菌を S 型に変異させる引き金になっているということです。二つ目は R 型生菌の S 型への変異は Type I よりも Type II の方が容易であることが示されたことです。

問題は Group IV 以外の加熱死菌であれば、加熱死菌から生菌を得ることができるかということです。それが先に述べた主要な要点の二つ目です。そして Type III の加熱死菌の大量を Type I あるいは Type II の R 型生菌の微量と共にマウスに皮下注射して、Type III の生菌を得る実験に成功しました。ただし、その成功もまた 60℃での加熱死菌を使用した際に成功したもので、100℃での加熱死菌では R 型生菌として用いた Type II の S 型菌しか検出できませんでした。ここでも Type I より Type II の菌の方が S 型菌の出現は容易であることが示されました (写真 1)。

この Griffith の論文の追試を真っ先に行ったのは Neufeld & Levinthal<sup>26)</sup> であります。それは Neufeld らがロンドンを訪れた際に偶然に Griffith と会い、Griffith よりその実験の詳細を聞いたことによるものでした。そのことは同論文の冒頭に正直に書かれています。ただし、彼らの追試は R 型生菌を同 Type の加熱死菌の大量と共に皮下注射して同 Type の S 型菌を得たというもので、肺炎球菌の先祖返りを動物の体内で実証したに過ぎませんでした。米国でも 1929 年に Reimann<sup>27)</sup> が同様な報告をしております。

一方、1930 年に出された Rockefeller の Dowson<sup>28)</sup> の論文は厳しい反論に満ちたものでした。その第一は試験管内実験ならともかく、R 型の肺炎球菌がヒトの上気道から検出される evidence を Rockefeller の研究一派は持ち合わせていないというものでした。第二は動物実験で R 型の菌を同 type の S 型菌に先祖返りさせることはすでに検証済みで、目新しいこ

註 4: 肺炎球菌の血清型は 1931 年に Cooper らによって 32 の血清型に分けられるまで、1913 年に Dochez らによって分類された Type I, II, III および Group IV が使用されておりました。また、Griffith がこの論文で Group IV に属する菌としたいくつかの菌株は、上記 Cooper によって 32 の血清型に分類されています。本シリーズ、血液含有培地導入前後における肺炎球菌とレンサ球菌 (その 2) をも参照してください。

Table XII:

Killed S pneumococci	Living R pneumococci	No. of mouse	Result		Type of culture obtained from the mouse		
			Killed	14 days			
Type III heated 2 hours at 60° C. Dose = deposit of 100 c.c. of glucose broth culture	R 4, Type II. Dose = 0.25 c.c. of blood broth culture	869	Killed	14 days	None		
		870	"	14 "	"		
		871	Died	7 "	S colonies, Type III		
		872	"	10 "	" "		
		873	Killed	14 "	" "		
		874	"	14 "	None		
		875	Died	2 "	S colony, Type III		
		876	"	8 "	S colonies, Type III		
		Type III, as above	R 3, Type I. Dose = 0.25 c.c. of blood broth culture	877	Killed	14 days	None
				878	"	14 "	"
879	"			14 "	S colonies, Type III		
880	"			14 "	None		
881	"			14 "	"		
882	"			14 "	"		
883	"			14 "	"		
884	"			14 "	"		
Type III steamed at 100° C. for 12 minutes. Dose = deposit of 100 c.c.	R 4, Type II. Dose = 0.25 c.c.	885	Died	3 days	S colonies, Type II		
		886	Killed	14 "	None		
		887	"	14 "	"		
		888	Died	3 "	S colonies, Type II		
Type III, as above	R 3, Type I. Dose = 0.25 c.c.	889	Killed	14 days	R colonies only		
		890	Died	12 "	None		
		891	Killed	14 "	"		
		892	"	14 "	R colonies and one S colony		

## 写真 1

この表は Griffith の形質転換に関わる論文 (文献 259) の 29 頁に記されている 12 番目の表である。Griffith はこの論文の中で 15 の実験系を組んで形質転換の実験を行っているが、この 12 番目の表の上 2 段が Type III の S 型菌を 60°C で 2 時間加熱した際の死菌大量 (Killed *S. pneumoniae*) を Type II あるいは Type III の定常化した R 型生菌 (Living R pneumococci) の 0.25cc と共にマウスの鼠腹皮下に接種した際に、Type II 接種菌群では 8 匹中 5 匹から、Type I 接種群では 8 匹中 1 匹から Type III の S 型生菌が検出された (Type of culture obtained from the mouse) ことが示された表である。下の 2 段は Type III の S 型菌を 100°C で 12 分加熱した際の死菌大量を上段と同様にして接種した際の成績で、ここでは Type III の菌ではなく、Type II の R 型生菌接種群では Type II の S 型生菌が得られている。一方、Type I の R 型生菌接種群では S 型菌が検出されたのは 1 コロニーのみで、R 型の菌のまま検出された例もあることが示されている。このように形質転換には加熱死菌を作成する際の温度が重要な意味を持っており、なおかつ Type I の菌より Type II の菌の方が形質転換が起こり易いことが示されている。

とではないということでした。第三は死菌作成に際しての加熱温度の相違は加熱死菌がワクチンとして生体側に何らかの影響を及ぼしているはずで、その証拠にわれわれは Griffith の実験を試験管内で実施したが、Griffith のような結果は得られなかったというものでした。

この Dawson の反論に対する Griffith のコメントを記した文献は見当たりません。実際のところ、第一の反論に対しては臨床での Griffith の実感ですから応答の仕様もないはずで、第二の先祖返りについての Dawson<sup>24)</sup> の論文は Griffith<sup>25)</sup> の論文とほぼ同時に出版されたものです。第三の反論については Griffith もまた自らの論文の discussion の項で十分

に述べていることでありました。

Dawson は Rockefeller 研究所の面子に掛けても試験管内での形質転換を成功させなければならなかったようです。1931 年、Dawson & Sia<sup>29)</sup> は試験管内実験において、特定の血清型の加熱死菌と他の血清型の R 型生菌を混合培養することによって、加熱死菌と同じ血清型の生菌を得ることに成功しました。ただし、この成功には R 型生菌の抗血清を同時に添加する必要がありました。また、加熱温度の相違は Griffith の実験を承認せざるを得ないものでした。

1932 年、Alloway<sup>30)</sup> は加熱死菌の代わりに S 型菌の抽出物をバルケフェルドで濾過し、その濾液を R 型菌の抗血清と共に加えることによって形質転換

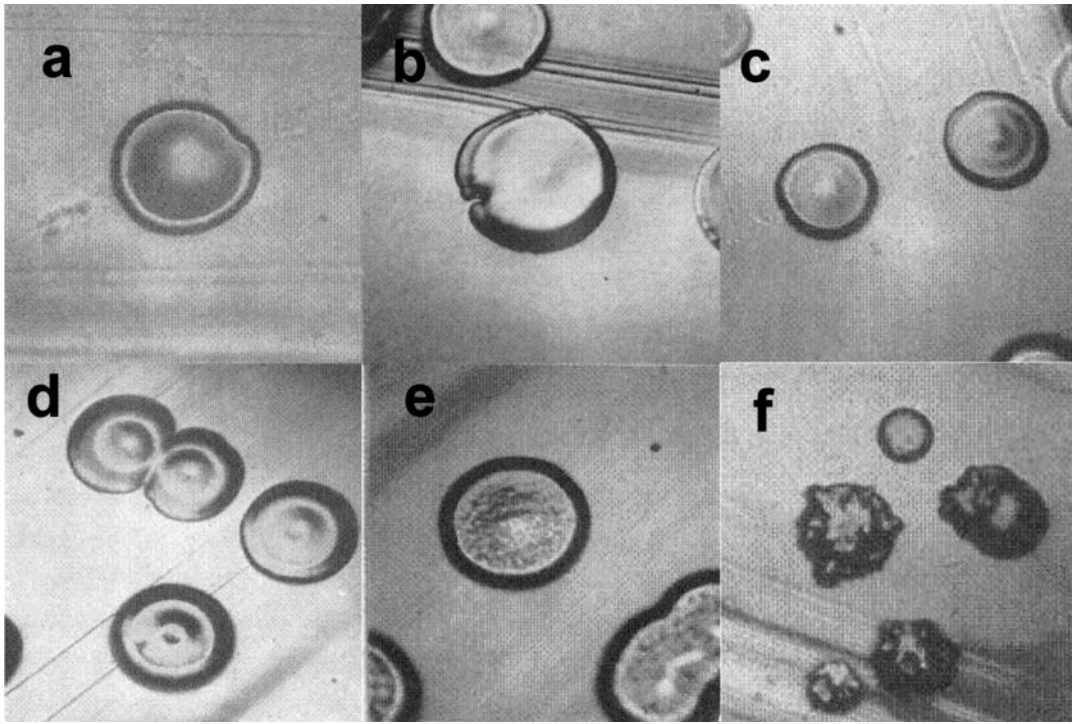


写真2

Paulが肺炎球菌の解離 (dissociation) について記述した総説 (文献34) の末尾に掲載されている肺炎球菌集落像で、その解離途上において顕微鏡下で観察される集落の写真である。PaulはS型からR型に至る途上において肺炎球菌が示す集落にはaからdまでの形態があると論説している。論文に掲載されている写真は9枚であるが、比較的鮮明な像として映し出されている6枚を選んで、ここに紹介した。倍率は約25倍と記されているが、ここでは写真のサイズを同一にするために適宜拡大あるいは縮小して示してあることをお断りしておきたい。a) Type IIのS型の典型的な像で autolysisはまだ始まっていない。b) Type Iの菌のa形態で、平坦な部位では autolysisが始まっている。c) Type IIの菌のc形態で、S型に近いが中心部が僅かに高くなっている。この像は中間型からR型へ移行する際によく見られる。d) これも Type IIの菌のc形態であるが、辺縁はすでに顆粒状で、中央が陥没しているのは autolysisの像である。e) Type IIの菌の典型的なR型の像である。f) Type IIの菌を胆汁含有ブイヨン中で培養後、血液寒天培地上に再培養した際に観察される像である。小さな集落はd形態で autolysisは作動していない。大きな集落がR集落から二次的にR型の娘集落が発育して、辺縁が不整となっている。

が可能であることを実証しました。かくて、形質転換に関わる研究には大きなヒントが与えられたことになるのですが、実際にデスオキシリボ核酸が形質転換の主役であることが Averyら<sup>31)</sup>によって実証されたのは、それから12年後のことです。12年の間に形質転換に関わる研究に何があったのかということもまた興味のあるところですが、本シリーズの記述は1933年に Smithら<sup>32)</sup>によってインフルエンザの病原体がウイルスであることが判明したところまでにするとお断りしたこともあって、その後の動向については割愛させていただきます。

肺炎球菌の解離に関わる研究は、記述が進むに

従って形質転換の研究に置き換えられて行きましたが、この間においてもR型への変異には phage の関与が考えられるとする Faragoの報告<sup>33)</sup>もあります。しかし、成功はしておりません。米国でも1934年に Paul<sup>34)</sup>が肺炎球菌の解離に関する総説を書いております。結論としてはS型からR型への解離は同種免疫血清培地上では短絡的に移行するが、胆汁含有培地上ではその中間型とでもいべき集落を形成してR型に移行する。実際問題としてR型に解離した肺炎球菌を集落の形態のみで区別することは難しいというものでした。Paulが示した肺炎球菌の集落の形態を添付しましたが(写真2)、現状の細菌

検査において肺炎球菌の検出を見落としている可能性は極めて大きいと言わざるを得ないようであります。肺炎球菌のお話は、一応ここまで止めて、次回はレンサ球菌のお話をしてみたいと考えています。

## 文 献

- 1) Cooper G, Rosenstein C, Walter A, et al. The further separation of types among the pneumococci hitherto called group IV and the development of therapeutic antisera for these types. *J Exp Med.* **55** : 531-554, 1931.
- 2) Kruse W, Panshi S. Untersuchungen über den *Diplokokkus pneumoniae* und verwandte Streptokokken. *Ztschr Hyg,* **11** : 279-380, 1891.
- 3) Griffith F. The influence of immune serum on the biological properties of pneumococcus. *Rep Pub Health Med, Ministry of Health.* **18** ; 1-13, 1923.
- 4) Stryker LM. Variations in the pneumococcus induced by growth in immune serum. *J Exp Med.* **24** : 49-68, 1916.
- 5) Arkwright JA. Variation in bacteria in relation to agglutination both by salts and by specific serum. *J Path Bact.* **24** : 36-60, 1921.
- 6) Blake FG, Trask JD. Alterations in virulence and agglutination reactions of pneumococcus induced by growth in immune serum. *J Med Res.* **44** : 100, 1923.
- 7) Yoshioka M. Untersuchungen über Pneumokokkenimmunität. II. Mitteilung. Veränderung der Agglutination bei Pneumokokken des Typus I, II und III und bei Streptokokken. *Ztschr Hyg Infectionkr.* **97** : 232-243, 1923.
- 8) Morgenroth J, Schnitzer R, Berger E. Ueber die Einheit der Streptokokken und Pneumokokken. I. Mitteilung. *Ztschr Immunitätsforsch exper Therapy.* **43** : 169-209, 1925.
- 9) Berger E, Jakob T. Ueber die Einheit der Streptokokken und Pneumokokken. II. Mitteilung. *Ztschr Immunitätsforsch exper Therapy.* **43** : 235-237, 1925.
- 10) Berger E, Engelmann B. Über Änderungen des serologischen Typus bei einem Pneumokokkus. *Klin Wchnschr.* **5** : 599-600, 1926.
- 11) Berger E, Silberstein W. Die Inulinvergarung in der Streptokokken-Pneumokokkengruppe. *Klin Wchnsche* : **5** : 2307-2309, 1926.
- 12) Wirth E. Zur Kenntnis der Streptokokken. *Centralbl Bakt 1 Abt, Orig.* **99** : 266-273, 1926.
- 13) Heim L, Schlirf K. Was ist es mit der Einheit der Streptokokken? *Central Bakt. 1 Abt, Orig,* **100** : 24-47, 1927.
- 14) Amzel R. Sur la variabilité du pneumocoque, expériences de Morgentoth : Pneumocoque et Streptococcus viridans. *Compt rend Soc biol.* **96** : 1487-1488, 1927. Sur la variabilité du pneumocoque. Pneumocoque des pneumonies et des sujets sains. *Ibid.* **96** : 1489-1490, 1927.
- 15) Amoss HL. The composite nature of a pure culture of a virulent pneumococcus. *J Exp Med.* **41** : 649-662, 1925.
- 16) Reimann HA. Variations in specificity and virulence of pneumococci during growth in vitro. *J Exp Med.* **41** : 587-600, 1925.
- 17) Falk IS, Jacobson MA. Studies on respiratory diseases. XXIII. Electrophoretic potential and virulence of variants of Type I pneumococci. *J Infect Dis.* **37** : 499-506, 1925.
- 18) Falk IS, Yang SY. Studies on respiratory diseases. XXVI. The effect of pneumococci by sodium oleate. *J Infect Dis.* **38** : 8-13, 1926.
- 19) Dawson MH, Avery OT. Reversion of avirulent "rough" forms of pneumococcus to virulent "smooth" types. *Proc Soc Exper Biol Med.* **24** : 943-945, 1927.
- 20) Reimann BA. Studies concerning the relationship between pneumococci and streptococci. *J Exp Med.* **45** : 1-10, 1927.
- 21) Paul JR. A comparative study of smooth and rough pneumococcus colonies. *J Exp Med.* **46** : 793-805, 1927. The occurrence of rough pneumococci in vivo. *Ibid.* **46** : 807-817, 1927.
- 22) Wadsworth AB, Sickles GM. A Study of pneumococci isolated from horses undergoing pneumococcus immunization. *J Exp Med.* **45** : 787-797, 1927.
- 23) Tillett WS. A Study of immunity to pneumococcus mucosus (Type III). II. The infectivity of Type III pneumococcus for rabbits. *J Exp Med.* **45** : 1093-1106, 1927. III. Increased resistance to Type III infected in rabbits by immunization with R and S forms. *Ibid.* **46** : 343-356, 1927. Active and passive immunity to pneumococcus infection induced in rabbits by immunization with R pneumococci. *Ibid.* **48** : 791-804, 1928.
- 24) Dawson MH. The interconvertibility of "R" and "S" forms of pneumococcus. *J Exp Med.* **47** : 577-591, 1928.
- 25) Griffith F. The significance of pneumococcal types. *J Hyg.* **27** : 113-159, 1928.
- 26) Neufeld F, Levinthal W. Beiträge zur Variabilität der Pneumokokken. *Ztschr Immunitätsforsch exper Therap.* **55** : 324-340, 1928.
- 27) Reimann HA. The reversion of R to S pneumococci. *J Exp Med.* **49** : 237-249, 1929.
- 28) Dawson MR. The transformation of pneumococcal types. I. The conversion of R forms of pneumococcus into S forms of the homologous Type. *J Exp Med.* **51** : 99-122, 1930.
- 29) Dawson MR, Sia RHP. In vitro transformation of pneumococcal Types. I. A technique for inducing transformation of pneumococcal Types in vitro. *J Exp Med.* **54** : 681-699, 1931.
- 30) Alloway JL. The transformation in vitro of R pneumococci

- into S forms of different specific Types by the use of filtered pneumococcus extracts. *J Exp Med.* **55** : 91-99, 1932. Further observations on the use of pneumococcus extracts in effecting transformation of Type in vitro. *Ibid.* **57** : 265-278, 1932.
- 31) Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal Types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolate from pneumococcus Type III. *J Exp Med.* **79** : 137-158, 1944.
- 32) Smith W, Andrewes CH, Laidlaw PP. A virus obtained from influenza patients. *Lancet.* **222** : 66-68, 1933.
- 33) Farago F. Untersuchung an Pneumokokkenstämmen von verschiedenen Typus, mit besonderer Berücksichtigung der Dissoziationserscheinungen. *Zentralbl Bakt, 1 Abt, Orig.* **125** : 341-345, 1932.
- 34) Paul JR. Pneumococcus variants. II. Dissociants of R pneumococci and their relation to streptococcus viridans. *J Bact.* **28** : 69-91.