

# 放綫菌噬菌体的研究

## I. 放綫菌噬菌体的分离\*

蔡宜权 高尚蔭

(中国科学院中南微生物研究所, 武昌)

放綫菌噬菌体作为一种病毒类型来研究,对充实病毒的基本知識有着重要意义<sup>[1]</sup>,同时由于这一类噬菌体在抗菌素工业生产中不断出現<sup>[2,3,4,10]</sup>,溶原菌菌株的存在<sup>[5,6,7]</sup>和有可能用作篩选抗生素的模型<sup>[8,9]</sup>亦日益显示出重要的实际意义。本文报导土壤中放綫菌噬菌体的分离和通过純化获得純培养的结果。

### 一、材料和方法

**菌株:** *Actinomyces griseus*, *Act. niger*, *Act. globisporus*, *Act. chromogenus* (由华中农学院贈送), *Streptomyces fradiae* A. 202, *Str. aureofaciens*, *Str. erythreus* N-2577 (由武汉大学生物系轉送)。

**培养基:** 孢子培养基, 葡萄糖肉湯培养基, 营养琼脂培养基, 上层琼脂培养基, 肉湯培养基等<sup>[1,11]</sup>。

**噬菌体的分离:** 基本按 Welsch 氏<sup>[12]</sup>方法进行,在某些細节上作了修改,具体步骤是: 称取土样 15 克,加入盛有葡萄糖肉湯培养基之錐形瓶中,于 28℃ 迴旋振蕩 (160—175 次/分) 24 小时,然后經 3,000 rpm 离心,上清液与孢子同时加入上层琼脂培养基中,傾注平板,置 28℃ 培养,24 小时后观察溶菌斑出現与否,然后进一步进行純化。

**噬菌体的純化:** 試驗中共采用了 4 种方法,即: (1) 单个溶菌斑純化法: 按 Adams 氏<sup>[13]</sup> 方法进行; (2) 寄主选择純化法: 按一般測定溶菌斑方法进行; (3) 紙上层析純化法: 按 Perlman 氏<sup>[14]</sup> 方法进行,层析用紙为 SS 2043 a 滤紙,溶剂系統为水: 乙醇=2:1; (4) 吸附純化法: 取 7—10 日龄孢子培养基的孢子,加入葡萄糖肉湯培养基中,置 28℃ 培养 5 小时左右,取出并加入希望純化的噬菌体样品,再放在同一溫度下作用 12—14 分钟,經 3,000rpm 离心后,沉淀物用肉湯培养基离心洗滌,共經 3 次,最后一次的沉淀物用 0.5 毫升肉湯培养基使之悬浮,此悬浮液按通常双层平板法傾注平板,培养 18 小时观察結果。

### 二、实验結果

按修改后之 Welsch 分离法,在一次分离过程中同时获得了 *Act. griseus* 和 *Str. erythreus* N-2577 两种菌株的噬菌体,其溶菌斑大小参差不一,我們集中前者进行了試驗。

为了使 *Act. griseus* 噬菌体形成的溶菌斑在形态学上的一致,首先采用了单个溶菌斑法进行試驗,在重复 10 次繼代后,溶菌斑在大小上与原始样品比較,未有任何显著变化,結果见图 1 和图 2。

我們同时进行了紙上层析法的試驗,层析在 10—15℃ 下进行,层析終了时将滤紙条分成 6 等分,分別用肉湯浸取过夜,培养結果表明,噬菌体分配在第一、第五(或第四)两部

\* 参加部分操作的有柯丽华同志。  
本文于 1963 年 2 月 28 日收到。

分。此两部分形成的溶菌斑与单个溶菌斑法的结果相近似。

用寄主选择法进行试验,由于试验中所用之菌株即: *Act. globisporus*, *Act. niger*, *Act. chromogenes*, *Str. fradiae* A. 202, *Str. aureofaciens* 和 *Str. erythreus* N-2577 均不为该噬菌体所侵染而未能达到预期结果。

吸附法的试验结果令人相当满意,经此法连续 3 次重复纯化后,即获得了在形态上一致的溶菌斑,结果见图 3。

由形态一致溶菌斑制备的母液,再按常法与孢子混合平板培养,结果与吸附法相同(见图 4a 和 b)。我们将此噬菌体编号为 Ag-6201。

在本试验中采用的分离法与 Cavajal 氏<sup>[4]</sup>有所不同,在土样中不加入寄主菌株进行噬菌体的分离,乃由于溶原菌菌株的存在<sup>[5,6,7]</sup>有可能混淆噬菌体的真实来源,此点在噬菌体自然分布情况的研究中颇为重要而值得加以注意的。同时,此法又与 Welsch 氏<sup>[12]</sup>和 Раутенштейн 氏和 Ретинская 氏<sup>[13]</sup>法稍有差别,用离心法代替赛氏滤过法乃由于滤板的吸附作用造成的噬菌体的损失<sup>[13]</sup>而减少分离出噬菌体的可能性,此点在分离噬菌体时应该加以考虑。

为了获得形态学一致的溶菌斑,在我们采用的 4 种方法中,看来吸附法不失为一种好的纯化方法。单个溶菌斑法得到的噬菌体具有异质性的文献,已早有报导<sup>[16]</sup>,纸上层析法虽能将待纯化的样品分为二部分,溶菌斑仍不能取得一致的形态,可能由于这些溶菌斑形态不一致的噬菌体具有相同的  $R_f$  值所致。寄主选择法由于寄主菌株不具敏感性而未获得预期结果,却说明试验中之噬菌体在寄主范围上具有一定的特异性,由此不难看出放线菌噬菌体用作一种模型来鉴定未知菌株可能性的存在。

吸附用作纯化噬菌体的依据是:不同的噬菌体具有不同的吸附速率。当然,不同的噬菌体具有相同吸附速率的情况也同时存在,在此情况下则应考虑其他方法的采用。

文中叙述的吸附与实验过程中看到的方法<sup>[17]</sup>的不同,在于不用抗血清排除未吸附的噬菌体,这就使方法本身相对地简化。

## 结 论

由土壤中分离出了 *Actinomyces griseus* 和 *Streptomyces erythreus* 的噬菌体。用吸附法获得了 *Act. griseus* 噬菌体在溶菌斑形态学上一致的纯培养。

## 参 考 文 献

- [1] 蔡宜权: 武汉大学自然科学学报, 3: 98, 1959.
- [2] Woodroff, H. B., Nunheimer, T. D., and Lee, S. B.: *J. Bact.*, 54: 535, 1947.
- [3] Saudek, E. C., Colingsworth, D. P.: *J. Bact.*, 54: 41, 1947.
- [4] Carvajal, F.: *Mycologia*, 45: 209, 1953.
- [5] Shirling, E.: *Virology*, 2: 272, 1956.
- [6] Welsch, M.: *Virology*, 2: 703, 1956.
- [7] Раутенштейн, Я. И.: *Микроб.*, 26: 573, 1959.
- [8] Asheshov, I. N. et al.: 1954: *Antib. and Chemo.*, 4: 380, 1954.
- [9] Гаузе, Г. Ф., и др.: *Ж. ГЭМИ*, 1: 53, 1957.
- [10] 董 村、許文思等: 1957 年抗生素学术会论文集, 第 15 页.
- [11] 蔡宜权、高尚蔭: *实验生物学报*, 7: 199, 1961.

- [12] Welsch, M., Minon, A., and Schonfeld, J. K.: *Experimentia*, 11: 24, 1955.  
[13] Adams, S. H.: in *Medical Research*, Chicago, 2:1, 1950.  
[14] Perlman, D.: *Canad. J. Microbiol.*, 2: 63, 1956.  
[15] Раутенштейн, Я. И., Ретивская, В. И.: *Изв. АН СССР*, сер. биол., № 4, 592, 1960.  
[16] Andrews, C. H., Elford, W. I.: *Brit. J. Expt. Path.*, 14: 367, 1933.  
[17] McDuff, C. R., Lois, M. *et al.*: *J. Bact.*, 83: 324, 1962.

## STUDIES ON ACTINOPHAGE

### I. ISOLATION OF A PURE STRAIN OF ACTINOPHAGE

N. C. TSAI AND Z. Y. GAW

(Wuhan Institute of Microbiology, Academia Sinica, Wuchang)

Two strains of actinophage were isolated from the soil. One of them affects *Actinomyces griseus* and the other *Streptomyces erythreus*. Adsorption method was used for purifying an actinophage culture (*Actinomyces griseus*).