

簡 报

多粘芽胞杆菌噬菌体研究初报

北京大学制药厂生物化学专业多粘菌素研制组

噬菌体污染是细菌和放线菌发酵工业经常遇到的问题^[1]。我校开始生产多粘菌素E时效价比较稳定,后来断续发现发酵周期延长、发酵单位降低、菌体变形等现象,并且异常现象越来越为严重,甚至发酵16小时后菌体显著减少,pH值上升,氨基氮迅速增长,最后导致菌体全部消失。经过无菌取样及一系列的试验证明,确系噬菌体感染的结果。为了选育抗噬菌体的菌株,我们将污染发酵液的噬菌体进行了增殖,对噬菌体侵染多粘芽胞杆菌的过程进行了观察,现将结果作初步报道。

一、噬菌体存在的验证

原始敏感菌株是1966年中国科学院微生物研究所与医学工业研究院协作,从北京中关村菜园土中分离出的多粘芽胞杆菌(*Bacillus polymyxa*),编号为42-1-19。

为了验证噬菌体的存在,我们将多粘芽胞杆菌原始敏感菌株(以下简称敏感菌)接种在麸皮斜面培养基上,把污染的多粘菌素发酵液离心(3000转/分,30分钟),再经G-6细菌漏斗过滤。取滤液少许涂抹在斜面下部,28℃培养2—3天,斜面上部生长良好,下部则无菌生长。再将敏感菌接入肉膏蛋白胨液体培养基中,30℃振荡培养至对数期后,加过滤后的污染发酵液5毫升,继续培养24小时,发现菌被裂解。我们又用双层法^[2]将0.2毫升对数期的敏感菌与0.3毫升过滤的污染发酵液混合后倾注于平皿内,30℃培养24小时,平板上出现噬菌斑(图1)。以上结果均可证明多粘菌素发酵液确是污染了噬菌体。

二、多粘芽胞杆菌感染噬菌体后形态的变化

将敏感菌接种在肉膏蛋白胨液体培养基内,30℃培养至对数期(约16小时),加入效价在 10^{10} 个/毫升的噬菌体2毫升,继续在30℃振荡培养,

定时用结晶紫染色后,在普通光学显微镜下进行检查。发现在8小时菌体延长;10—12小时菌体变粗,部分胀大,边缘不整齐;14小时菌体完全裂解成碎片。其过程如图2(左)所示。

将相应时间的样品,在聚乙烯醇缩甲醛(Formav)膜上点样,用pH6.5的2%磷钨酸进行负染色,在电子显微镜下观察,其过程如图2(右)所示。

三、电子显微镜下多粘芽胞杆菌噬菌体形态的初步观察

目前多粘芽胞杆菌的噬菌体尚未完全纯化,从电子显微镜初步观察的结果,其中有一种噬菌体的形态明显地是属于Bradley所划分的六种噬菌体中的A型^[3]。噬菌体头部的平面轮廓是六角形,在尾髓外面套有可收缩的尾鞘,个别噬菌体尾的基部还可看见基板和尾丝。初步测定噬菌体的大小:头部宽650Å,长700Å,尾部长1200Å,尾髓粗120Å,尾鞘收缩时宽240Å(图3)。

据前人报道,多粘芽胞杆菌噬菌体共有四型^[4],但尚未见到各型噬菌体电子显微镜的照片。目前我们正在进行分型工作,各型噬菌体的形态有待作进一步的观察。

参 考 资 料

- [1] 中国科学院微生物研究所噬菌体组:噬菌体及其防治,科学出版社1973。
- [2] Adams, M. H.: Bacteriophages, 450—451, Interscience Publishers, INC., New York, 1959.
- [3] Bradley, D. E.: *Bact. Rev.*, 31:230—314, 1967.
- [4] Francis, A. E. & J. E. Rippon: *J. Gen. Microbiol.*, 3:425—433, 1949.

本文1973年1月24日收到。

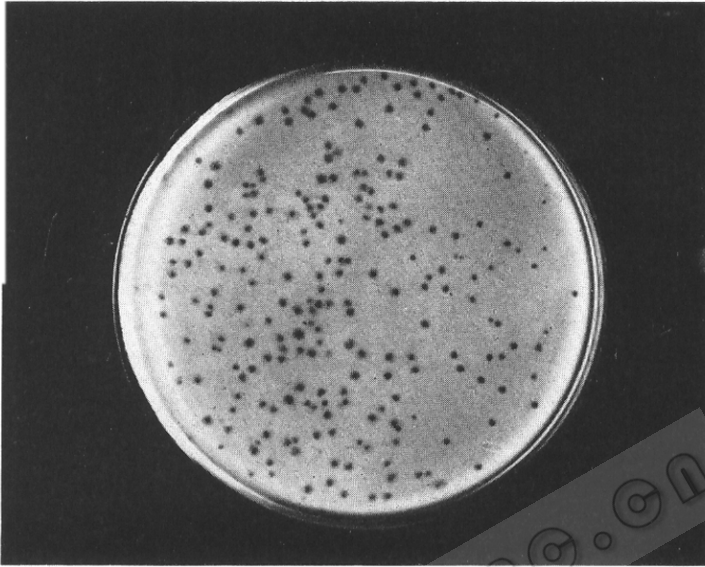


图 1 多粘菌素发酵液培养后出现的噬菌斑

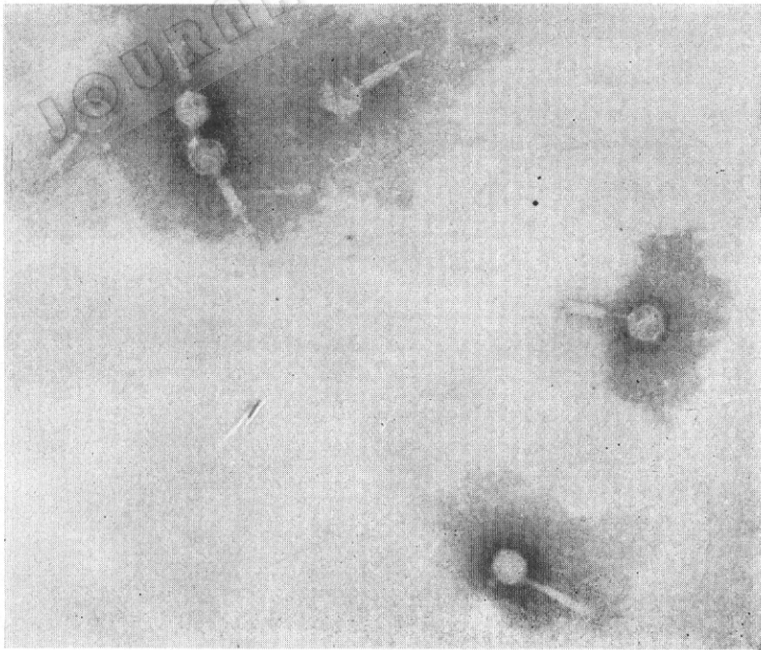
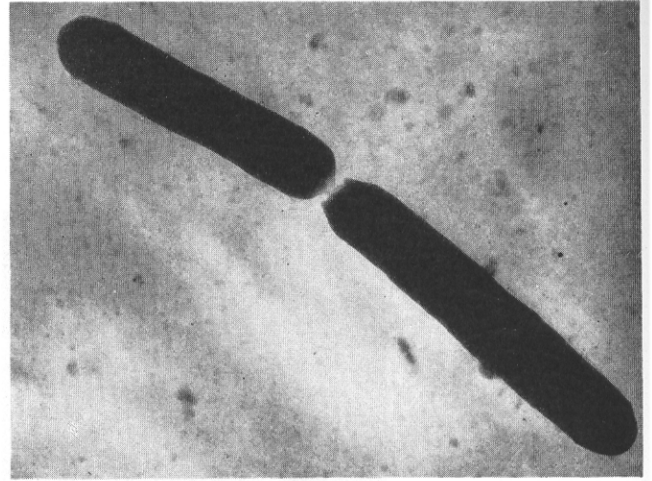
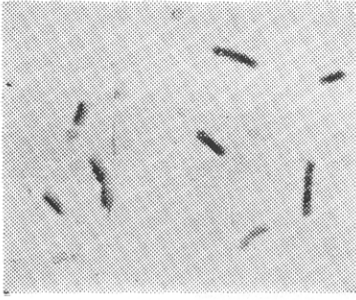


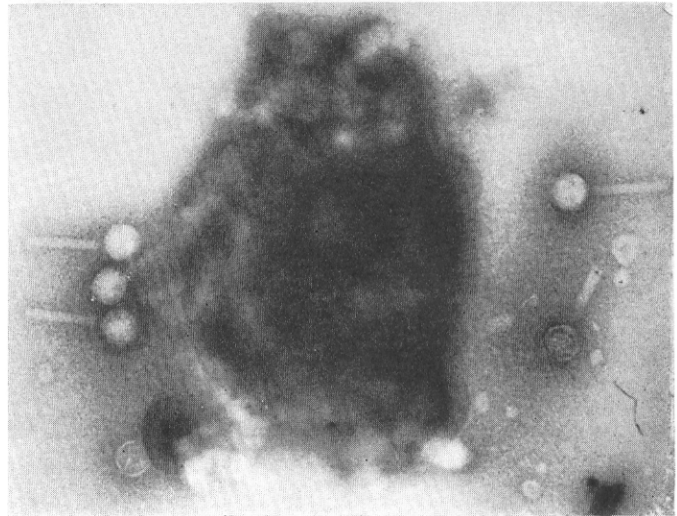
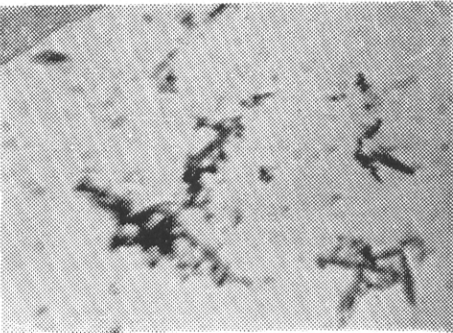
图 3 多粘芽胞杆菌噬菌体的形态(放大 80,000 倍)



正常的多粘芽胞杆菌



噬菌体感染后菌体变形



菌体裂解成碎片

菌体裂解释放出噬菌体

图2 多粘芽胞杆菌感染噬菌体后*形态的变化
(左) 普通光学显微镜下的形态 (右) 电子显微镜下的形态

* 本文附图得到本校电子显微镜室和生物系的大力协助, 致以谢意。 © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>