

# 金黄色葡萄球菌青霉素酶质体的研究

## I. 利福平、SDS 对金黄色葡萄球菌 S-5 青霉素酶质体的消除

范云六 姜书勤 郭兴华 王清海

(中国科学院微生物研究所, 北京)

1. 利福平、SDS 对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) S-5 菌株消除青霉素酶质体的结果表明: S-5 菌株青霉素酶的产生是受染色体外遗传因子——质体所控制。

2. 利福平、SDS 处理 S-5 菌株后得到的青霉素酶阴性菌株, 从未见回复至青霉素酶阳性的情况, 这些菌株的青霉素酶阴性是稳定的遗传性。

3. 利福平对带有青霉素酶质体的、抗利福平突变株 (S-5R-1 及 S-5R-21) 有消除青霉素酶质体的作用。金黄色葡萄球菌青霉素酶质体的专一性 RNA 多聚酶问题, 有待进一步用生化方法加以确证。

4. S-5 菌株抗红霉素及抗镉、汞离子的特性是质体性质。汞离子抗性与产生青霉素酶的这二个遗传标记共同消除, 抗红霉素及抗镉离子的遗传因子有可能不在青霉素酶质体上; 抗砷离子的遗传标记与青霉素酶质体无关。

抗菌素应用于临床实践以后, 很快发现金黄色葡萄球菌的抗药性菌株, 这种抗药性是一种稳定的遗传特性。以后发现金黄色葡萄球菌的多重抗药性也普遍存在。抗药性菌株在临床上是一个很难解决的问题。因此, 金黄色葡萄球菌抗药性遗传的研究是一个很重要的课题。

金黄色葡萄球菌对青霉素的抗性, 是由于菌株产生青霉素酶, 即  $\beta$ -内酰胺酶, 它水解青霉素而使青霉素失去疗效。虽则 Asheshov<sup>[1]</sup> 报导金黄色葡萄球菌中的某菌株产生青霉素酶是染色体基因所控制。但 Novick<sup>[2]</sup> 报导, 金黄色葡萄球菌青霉素酶的产生, 是受染色体外的遗传因子——青霉素酶质体所控制。近十几年来愈来愈多的工作证明, 染色体外的遗传因子常常是致病菌对化疗呈现抗性的原因。

某些化学药物能使金黄色葡萄球菌带有的青霉素酶质体消除<sup>[3-9]</sup>。消除质体是

识别菌株有无质体的方法之一。

本试验采用国内临床分离的金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) S-5 菌株 (下称 S-5 菌株)。通过利福平、SDS\* 消除质体来鉴别质体菌的方法, 明确了该菌抗青霉素 (产生青霉素酶) 的特性是由质体所控制; 青霉素酶质体的连锁现象; 以及利用抗利福平突变株, 探讨了金黄色葡萄球菌青霉素酶质体有无专一性的 RNA 多聚酶。

## 材料与方法

### 1. 菌株

从首都医院患者分离的金黄色葡萄球菌 S-5 菌株。该菌株产生青霉素酶, 并对红霉素、四环素、链霉素等抗菌素及镉、汞、砷等重金属离子呈现抗性。该菌株的主要表型列于表 1。

### 2. 方法

菌株对  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{HgCl}_2$ 、 $\text{Na}_2\text{HAsO}_4$ 、

本文 1974 年 5 月 22 日收到。

\* 十二烷基硫酸钠

表 1 S-5 菌株的表型

菌株	青霉素酶	抗性水平				主要发酵特征		血浆凝固酶
		红霉素	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{HgCl}_2$	$\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	甘露醇	葡萄糖	
S-5	+	20微克/毫升	$5 \times 10^{-4}M$	5微克/毫升	$1 \times 10^{-3}M$	+	+	+

$7\text{H}_2\text{O}$ 的抗性水平,是根据 Novick 及 Roth<sup>[10]</sup>方法测定。对青霉素(北京制药厂)及利福平的最低抑制浓度,是用试管双倍稀释法测定。

菌株青霉素酶的测定是采用我们改进的淀粉-碘法<sup>[11]</sup>。

利福平抗性突变株的诱变筛选:接种一环 S-5 菌至 7 毫升 BPY\* 培养液的试管中, 37°C 振荡培养过夜后, 离心, 按无菌操作将菌均匀悬浮于 5 毫升生理盐水中, 在灭过菌的直径 9 厘米培养皿内进行紫外线照射(philips 15 瓦, 波长 2537 Å), 照射时培养皿与紫外灯距离 27 厘米, 照射 1 分钟, 边照射边用电磁搅拌。照射后离心, 将菌重新悬浮于新的 BPY 液中, 黑暗振荡培养 10—16 小时。取菌液 0.1 毫升至含利福平(100 微克/毫升)的 BPY 固体培养基上, 涂布后 37°C 培养 24 小时, 将长出的菌落接种在含有不同浓度利福平的 BPY 固体培养基上, 测定其抗性水平。抗性菌株用 BPY 斜面保存于 4°C 冰箱。

利福平、SDS 消除青霉素酶质体的测定: 37°C 过夜静止培养物稀释至  $10^{-4}$  (含菌量约  $10^6$ /毫升), 取 0.1 毫升加在含有不同浓度的利福平(或 SDS) 的 5 毫升 BPY 培养基中。对照处理不加药物。37°C 振荡培养 24 小时, 在 BPY 固体培养基上划线或用稀释法接种, 37°C 培养 24 小时后, 用复制法将菌落复制。如选择标记为青霉素酶时, 菌落复制在二个相对应位置的 BPY 固体培养基的培养皿上, 37°C 培养 18—24 小时后, 取出其中的一份用改进的淀粉-碘法测定青霉素酶消失的菌落。青霉素阴性菌落就可在另一培养皿的相对应的位置上挑出, 并接种在 BPY 斜面上, 以便再次测定青霉素酶消失的结果。如选择标记是  $\text{Cd}^{2+}$  时, 菌落复制在含  $5 \times 10^{-4}M \text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  的 BPY 固体培养基平皿中。37°C 培养 24 小时, 计数不能在含  $\text{Cd}^{2+}$  培养基上生长的菌落数目。

## 结果与讨论

### 一、利福平及 SDS 消除 S-5 菌株青霉素酶质体

#### (1) 利福平消除 S-5 菌株青霉素酶质体

表 2 所示, 试验所用 5 个不同浓度的利福平处理 S-5 菌株后, 得到比自发消失(对照)较多的不产青霉素酶的菌落, 这结果表明利福平对青霉素酶质体有消除作用。从而说明 S-5 菌株为带有青霉素酶质体的菌株。

表 2 利福平处理后青霉素酶质体的消除

利福平浓度 (微克/毫升)	青霉素酶质体的消除		
	复制菌落总数	青霉素酶阴性菌落数	青霉素酶阴性菌落(%)
0.002	1314	5	0.38
0.004	2228	13	0.58
0.006	2234	8	0.35
0.008	2048	2	0.09
0.010	2794	34	1.21
0.00 (对照)	2298	1	0.04

BPY 培养基, pH 7.2。

除 BPY 培养基外, 在 BHI<sup>[12]</sup> 培养基中用利福平处理 S-5 菌株, 亦得到类似结果。

(2) SDS 消除 S-5 菌株青霉素酶质体  
SDS 是表面活性剂, 能引起生物膜的破坏。由于 SDS 的作用, 金黄色葡萄球菌青霉素酶质体在复制时质体-膜的附着位

\* BPY 培养基成分: 蒸馏水 1000 毫升内含牛肉膏 5 克; 蛋白胨 10 克; 酵母膏 5 克; 葡萄糖 5 克; NaCl 5 克; pH 7.2, 15 磅灭菌 30 分钟。

点遭受破坏,致使 SDS 有消除质体的作用<sup>[7,13]</sup>。为了确证 S-5 菌株产生青霉素酶是由染色体外的遗传因子——质体所控制,我们用了 SDS 处理 S-5 菌株。SDS 对 S-5 菌株的青霉素酶质体的消除结果见表 3。

表 3 SDS 对 S-5 菌株青霉素酶质体的消除

SDS 浓度 (%)	青霉素酶质体的消除		
	复制菌落 总数	青霉素酶阴 性菌落数	青霉素酶阴 性菌落(%)
0.001	699	4	0.57
0.002	671	9	1.34
0.003	695	9	1.29
0.00 (对照)	1699	1	0.05

从表 3 看出, SDS 对 S-5 菌株的青霉素酶质体有消除作用。

根据利福平、SDS 消除 S-5 菌株青霉素酶质体的结果,可以认为 S-5 菌株产生青霉素酶的基因是染色体外的遗传因子。

根据迄今为止的报道,金黄色葡萄球菌中抗药因子的转移主要是通过噬菌体的转导。转导是鉴别遗传标记在染色体外或在染色体上的可靠方法之一。但是 S-5 菌株不被国际标准分型的金黄色葡萄球菌噬菌体中的几株转导噬菌体所感染。因此,有待寻找它的转导噬菌体。

Sonstein 等<sup>[7]</sup>报道了 38 株金黄色葡萄球菌,经 SDS 处理后消除青霉素酶质体者有 2 株。在我们的实验中,SDS 对 S-5 菌株青霉素酶质体有消除作用,但消除效果比 Sonstein 等报道的金黄色葡萄球菌 196E 青霉素酶质体消除的效果低得多。看来,SDS 消除青霉素酶质体的作用随菌株不同而不同。

在我们的实验中,利福平消除 S-5 菌株青霉素酶质体的浓度,以亚致死剂量 0.01 微克/毫升效果最好,与 Johnston 等报道相符。但消除青霉素酶质体的效果为 1.2%。而 Johnston 报道对金黄色葡萄球

菌 8325 菌,利福平消除比例高达 45%。但必须指出, Zimmermann<sup>[9]</sup>等重复了 Johnston 的工作,观察到 8325 菌经利福平处理后,青霉素酶质体消除的比例波动很大,消除比例与自发消除比例有关,高比例的消除只有当自发消除比例高的情况下才能观察到。当自发消除青霉素酶质体小于 0.1% 时,利福平消除青霉素酶质体的比例约在百分之几。在我们的实验中, S-5 菌株自发消除青霉素酶质体为 0.04% 左右,没有观察到 S-5 菌株青霉素酶质体自发消除的比例有相差悬殊的情况。因此,利福平消除金黄色葡萄球菌青霉素酶质体的效应,是否与自发消除有规律性的关系,尚需要更多的实验来证明。

利福平比吡啶类、Ethidium bromide 等药物有选择性作用的优点。但根据我们的实验和 Zimmermann 的工作,我们认为,从临床应用角度来看,利福平要成为金黄色葡萄球菌青霉素酶质体理想的消除剂,除了保持它原有的优点外,还要设法提高它的消除效果。

## 二、经利福平、SDS 处理 S-5 菌株后得到的青霉素酶阴性菌株的遗传稳定性

### (1) 对青霉素的敏感度

试验结果(表 4)表明,自发消除青霉素酶质体的菌株 S-5 (N) 以及经利福平、SDS 作用后得到的青霉素酶质体消除的菌株,均为青霉素敏感株。在 BPY 斜面上连续传代 50 次,未发现这些菌株回复为青霉素抗性菌株。

### (2) 青霉素酶阴性菌株的遗传稳定性

S-5 菌株经利福平(或 SDS)处理后得到的青霉素酶阴性菌株,在不含利福平(或 SDS)的 BPY 斜面上连续传代 50 次,菌浓度在  $10^8$ /ml 以上,如同自发消除青霉素酶质体的菌株一样,未见有菌落回复至青霉素酶阳性的情况。

表 4 从 S-5 菌株得到的青霉素酶阴性菌株  
对青霉素的敏感度

菌株	菌株来源	青霉素酶	接种量 (0.1 毫升)	对青霉素的敏感度 (单位/ 毫升)
S-5 (对照)	从患者分离	+	$10^{-1}$ $10^{-4}$	>2500 312
S-5(N)	自发消失	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.04
S-5-1	利福平处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.08
S-5-4	利福平处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.04
S-5-3	利福平处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.04
S-5-10	利福平处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.04
S-5-18	利福平处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.04
S-5S-3	SDS 处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.02
S-5S-6	SDS 处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.02
S-5S-2	SDS 处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.02
S-5S-8	SDS 处理	-	$10^{-1}$ $10^{-4}$	<0.02

菌浓度:  $1-3 \times 10^{10}$ /毫升。

以上结果说明,青霉素酶质体基因一经消除,不再回复。对这些菌株来说,青霉素酶阴性是稳定的遗传性状。

利福平并不是诱变剂,显然利福平作用于 S-5 菌株所产生青霉素酶阴性菌落不是由于诱变作用所致。大量工作证明<sup>[14-17]</sup>,利福平作用于原核细胞的机理,是高度专一性地抑制依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶。利福平抑制大肠杆菌 (*E. coli*) 及枯草杆菌 (*B. subtilis*) 的 RNA 合成是原发作用,而对蛋白质及 DNA 合成的作用,也是由于抑制了 RNA 合成的结果<sup>[18-21]</sup>。最近不少报道,在 DNA 复制起始时需要 RNA 作引子。利福平作用于金黄色葡萄球菌后,增加青霉素酶质体消除速度,说明依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶,在金黄色葡萄球菌的青霉素酶质体的复制与分配中起一定作用。至于具体起的什么作用,尚待进一步阐明。

### 三、利福平对 S-5 菌株的利福平抗性突变株青霉素酶质体的消除

利福平抗性突变株是由于改变了依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶  $\beta$ -亚基的结果<sup>[14,15,17]</sup>。利福平敏感菌的 RNA 多聚酶对利福平敏感,与利福平形成稳定的复合物。反之抗利福平的菌,由于它们的 RNA 多聚酶改变了  $\beta$ -亚基,成为一个抗利福平的 RNA 多聚酶,它不与利福平形成复合物,致使菌株呈现抗性。

为了探讨 S-5 菌株青霉素酶质体有无专一性的 RNA 多聚酶,我们选用了二株抗利福平的突变株进行研究。这二株抗利福平突变株是 S-5 菌株经紫外线诱变得到的,它们代表抗二个不同水平利福平的抗性\*: S-5R-21 菌株抗利福平的水平为 20 微克/毫升; S-5R-1 菌株的抗性水平为 200 微克/毫升。我们用 SDS 进行试验,得到青霉素酶质体消除的菌落(表5),说明这二株抗利福平的突变株,虽经紫外线处理后得来,但它们产生青霉素酶仍为质体所控制。

肯定了这二株抗利福平突变株青霉素酶产生的质体性质后,便可进一步研究青霉素酶质体有无专一性 RNA 多聚酶的问题。我们进行了利福平对这二株抗利福平突变株青霉素酶质体的消除试验。试验的假设前提是:由于抗利福平突变株具有抗性的 RNA 多聚酶,如果青霉素酶质体没有专一性的 RNA 多聚酶,那么用利福平处理抗利福平突变株时,不应有消除青霉素酶质体的效应。反之,如果利福平作用抗利福平突变株后,有消除青霉素酶质体的效应,那么表明:抗利福平突变株除含抗性的 RNA 多聚酶外,还有对利福平敏感的青霉素酶质体专一性的 RNA 多聚酶。

利福平处理抗利福平突变株 S-5R-1

\* 平皿测定法测定结果。

表 5 SDS 处理 S-5R-1 及 S-5R-21 后青霉素酶质体的消除

SDS 浓度 (%)	青 霉 素 酶 质 体 的 消 除					
	S-5R-1			S-5R-21		
	复制菌落总数	青霉素酶 阴性菌落数	青霉素酶 阴性菌落(%)	复制菌落总数	青霉素酶 阴性菌落数	青霉素酶 阴性菌落(%)
0.001	681	10	1.47	786	1	0.12
0.002	947	10	1.06	731	1	0.14
0.003	943	12	1.27	626	6	0.95
0.004	638	7	1.09	—	—	—
0.00 (对照)	783	6	0.77	654	1	0.15

BPY 培养基, pH 7.2。

及 S-5R-21 后, 青霉素酶质体消除的结果列于表 6。

表 6 利福平处理抗利福平突变株 S-5R-21 及 S-5R-1 后青霉素酶质体的消除

菌株	利福平浓度*(微克/毫升)	青霉素酶质体的消除		
		复制菌落总数	青霉素酶 阴性菌落数	青霉素酶 阴性菌落(%)
S-5R-21	25.00	1228	15	1.2
	12.50	1519	14	0.9
	6.25	1778	18	1.0
	0.00 (对照)	2012	4	<0.2
S-5R-1	450-500	1291	17	1.3
	880-900	1080	18	1.7
	1800	303	1	0.5
	0.00 (对照)	2240	7	0.3

\* 根据试管双倍稀释法, 测定利福平对所试验菌株的亚致死剂量而确定的利福平浓度。

从表 6 看出, 利福平抗性突变株 S-5R-21 及 S-5R-1 经利福平处理后, 青霉素酶质体均有消除作用。由于利福平对 S-5R-21 及 S-5R-1 的亚致死剂量不同, S-5R-21 在利福平浓度为 25 微克/毫升时, 消除为 1.2%; 而 S-5R-1 菌株最高消除青霉素酶质体的利福平剂量为 880—900 微克/毫升, 消除百分比为 1.7%。

虽然 Johnston 等在他们的讨论部分提到<sup>[9]</sup>: 在青霉素酶质体复制和质体分配中,

也许有专一性的 RNA 多聚酶分子, 但没有具体的实验证据。已有报道<sup>[23]</sup> DNA 噬菌体 T<sub>7</sub> 及 T<sub>3</sub> 具有噬菌体专一性的 RNA 多聚酶。DNA 噬菌体与细菌质体在许多方面有相似之处, 甚至某些噬菌体包括在质体的范畴之内<sup>[24]</sup>。根据利用利福平消除抗利福平突变株青霉素酶质体的结果, 我们认为: 金黄色葡萄球菌青霉素酶质体有可能存在专一性的 RNA 多聚酶。

但还须指出, 细胞透性与抗利福平的关系问题。菌株对利福平的抗性水平取决于二个因素: (1) RNA 多聚酶本来具有的抗性水平; (2) 细胞对药物的透性。在大肠杆菌中, 细胞比纯的 RNA 多聚酶抗性高 100 倍, 说明细胞透性对利福平的抗性水平有影响。但是相反, 金黄色葡萄球菌的细胞与它的 RNA 多聚酶对利福平的敏感度是极为一致的<sup>[15]</sup>, 说明细胞透性对金黄色葡萄球菌的利福平抗性水平至少是影响不大。目前尚未见到金黄色葡萄球菌抗利福平的细胞透性突变株的报导。尽管如此, 鉴于利福平对于金黄色葡萄球菌青霉素酶质体消除的机理有待深入研究, 因此, 确证金黄色葡萄球菌青霉素酶质体专一性 RNA 多聚酶的存在, 需要在本报导的工作基础上, 用生化方法抽提出该酶, 进行离体试验, 才能作出肯定的结论。

#### 四、共同消除 (Co-elimination)

根据 Novick<sup>[22]</sup> 报导,金黄色葡萄球菌的青霉素酶质体除青霉素酶的基因外,还有控制镉、汞、砷、铅、锌等金属离子抗性的基因。Hashimoto<sup>[3]</sup> 报导了抗红霉素的基因在青霉素酶质体上。

S-5 菌株除具有抗青霉素特性外,还抗红霉素及抗  $Cd^{+2}$ 、 $Hg^{+2}$ 、 $As^{+5}$  等重金属离子(表1)。为了了解 S-5 菌株青霉素酶质体上的连锁基因,我们随机挑选了 25 株经利福平及 SDS 处理后得到的青霉素酶阴

表7 S-5 青霉素酶阴性菌株对  $Cd^{+2}$ 、 $Hg^{+2}$ 、 $As^{+5}$  及红霉素抗性的测定

菌株	红霉素	$HgCl_2$	$Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	$Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$	青霉素酶
	20微克/毫升	5微克/毫升	$5 \times 10^{-4}M$	$1 \times 10^{-3}M$	
S-5	R	R	R	R	+
S-5(N)	R	S	S	R	-
S-5-2	S	S	R	R	-
S-5-19	S	S	R	R	-
S-5-6	R	S	R	R	-
S-5-7	R	S	R	R	-
S-5-9	S	S	S	R	-
S-5-11	S	S	R	R	-
S-5-12	S	S	S	R	-
S-5-21	R	S	R	R	-
S-5-20	R	S	R	R	-
S-5-26	R	S	R	R	-
S-5-17	R	S	R	R	-
S-5-18	S	S	R	R	-
S-5-10	S	S	S	R	-
S-5-5	R	S	R	R	-
S-5-3	R	S	R	R	-
S-5-14	R	S	R	R	-
S-5-15	R	S	R	R	-
S-5-16	R	S	R	R	-
S-5-1	R	S	R	R	-
S-5-30	S	S	S	R	-
S-5-4	S	S	S	R	-
S-5S-6	R	S	R	R	-
S-5S-2	S	S	S	R	-
S-5S-8	R	S	R	R	-
S-5S-3	R	S	R	R	-

表中 R——抗性 S——敏感

性菌株,对它们进行了抗红霉素、 $Cd^{+2}$ 、 $Hg^{+2}$ 、 $As^{+5}$  的测定,观察这些抗性标记与青霉素酶有无共同消除现象,试验结果列于表7。

从表7可以看出:(1)汞离子的抗性与产生青霉素酶的特性有共同消除现象;(2)抗镉离子和抗红霉素的特性与产生青霉素酶特性有共同消除的现象,但亦有各自消除的情况;(3)砷离子的抗性与产生青霉素酶的特性消除无关。

以上结果说明:(1)S-5 菌株对镉离子、汞离子及红霉素的抗性属质体控制。(2)汞离子抗性遗传标记与青霉素酶基因有连锁的可能性。(3)抗红霉素及抗镉离子的遗传标记,不在青霉素酶质体上的可能性。(4)抗砷离子的遗传标记与青霉素酶质体无关。

#### 参 考 资 料

- [1] Asheshov, E. H.: *Nature*, 210:804, 1966.
- [2] Novick, R. P.: *J. Gen. Microbiol.*, 33: 121, 1963.
- [3] Hashimoto, H., Kono, K. & Mitsuhashi, S.: *J. Bacteriol.*, 88:261, 1964.
- [4] Mitsuhashi, S., Morimura, M., Kono, K. & Oshima, H.: *J. Bacteriol.*, 86:162, 1963.
- [5] Bouanchaud, D. H., Scavizzi, M. R. & Chabbert, Y. A.: *J. Gen. Microbiol.*, 54:417, 1968.
- [6] Rubin, S. J. & Rosenblum, E. D.: *J. Bacteriol.*, 108:1200, 1971.
- [7] Sonstein, S. A. & Baldwin, J. N.: *J. Bacteriol.*, 109:262, 1972.
- [8] Johnston, J. H. & Richmond, M. H.: *J. Gen. Microbiol.*, 60:137, 1970.
- [9] Zimmermann, W., Rossetlet, A. & Knüsel, F.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 182:329, 1971.
- [10] Novick, R. P. & Roth, C.: *J. Bacteriol.*, 95:1335, 1968.
- [11] 姜书勤、范云六: *微生物学报*, 14(2): 230—231, 1974.
- [12] Michigan, D. I., In "Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiological and clinical labora-

- tory procedures" 8th ed., p. 59, 1948.
- [13] Sonstein, S. A. & Baldwin, J. N.: *J. Bacteriol.*, 111:152, 1972.
- [14] Wehrli, W. & Staehelin, M.: *Bacteriol. Rev.*, 35:290, 1971.
- [15] Riva, S. & Silvestri, L. G.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 26:199, 1972.
- [16] Goldberg, I. H. & Friedman, P. A.: In "Drugs and cell regulation" Edited by Enrico Mihich p. 99, 1971.
- [17] Benveniste, R. & Davies, J.: *Ann. Rev. Biochemistry*, 42:471, 1973.
- [18] Lancini, G. C. & Sartori, G.: *Experientia*, 24:1105, 1968.
- [19] Lancini, G. C., Pallanza, R. & Silvestri, L. G.: *J. Bacteriol.*, 97:761, 1969.
- [20] Reid, P. & Speyer, J.: *J. Bacteriol.*, 104:376, 1970.
- [21] Clewell, D. B., Evenchik, B. & Cranston, J. W.: *Nature (New Biol.)* 237:29, 1972.
- [22] Novick, R. P.: *J. Bacteriol.*, 90:467, 1965.
- [23] Chamberlin, M., McGrath, J. & Waskell, L.: *Nature* 228:227, 1970.
- [24] Clowes, R. C.: *Bacteriol. Rev.*, 36:361, 1972.

## THE PENICILLINASE PLASMIDS OF STAPHYLOCOCCI

### I. ELIMINATION OF PENICILLINASE PLASMIDS IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* S-5 BY RIFAMPICIN AND SODIUM DODECYL SULFATE

FAN YUN-LU, CHIANG SHU-CHIN, KUO HSING-HUA AND WANG CHING-HAI  
(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking*)

The elimination of the determinant controlling penicillinase production by rifampicin and SDS was examined in strain S-5 of *Staphylococcus aureus* isolated from a patient in capital Hospital. Spontaneous loss and "curing" by rifampicin and SDS indicated that the determinants for penicillinase production and resistance to erythromycin, mercury and cadmium ions were located on extrachromosomal elements in the cell. The resistance to mercury ion and penicillinase production were always co-eliminated. No co-elimination of penicillinase production and resistance to arsenate was observed. But in this strain the erythromycin resistance and cadmium ion resistance loci may or may not be co-eliminate with the

penicillinase production. The result suggests that the determinants for penicillinase production and erythromycin (or Cadmium ion) resistance might be located on separate plasmids.

The penicillinase plasmids in rifampicin-resistant mutants with different levels of resistance (S-5R-1 and S-5R-21) were eliminated by treatment with SDS and rifampicin. The elimination of penicillinase plasmids in rifampicin-resistant mutants by rifampicin suggests that there exists a specific DNA-dependent RNA polymerase involved in plasmid replication and plasmid distribution to daughter cells in *Staphylococcus aureus*. To confirm this, further investigation is necessary.