

苏拉明处理威氏梭状芽孢杆菌后表现型链的形成

M. Rafi Shaikh* I. Lominski

(格拉斯哥大学微生物学系, 苏格兰)

威氏梭状芽孢杆菌 (*Clostridium welchii*) 是一个不运动的能形成孢子的嫌气性杆菌, 正常以单个或成对细胞的形式出现, 但是, 在培养基中镁离子缺乏的影响下, 该菌可以形成链或丝状体。Webb (1948, 1953) 报导, 在培养基中含有 1—6 ppm Mg^{++} 时细胞则形成丝状体, 离子浓度增加使该菌形成长链。Welshimer (1953) 在巨大芽孢杆菌中利用一个相似的系统证实了这种现象, 虽然该菌在液体培养基中本来是自发地形成链的, Webb (1951c) 还讨论了相反的链断裂的现象, 0.1 毫克/5 毫升溶菌酶能裂解威氏梭状芽孢杆菌的链, 在不缺乏镁离子的培养基中生长的细胞经过机械破碎之后得到威氏梭状芽孢杆菌的无细胞提取物也能裂解该链。由于知道苏拉明对溶菌酶和相似的酶 (Lominski 和 Gray, 1961) 有抑制作用, 所以我们决定研究苏拉明对威氏梭状芽孢杆菌细胞分离系统抑制作用的可能性。

一、材料和方法

威氏梭状芽孢杆菌 (*Cl. welchii*) 取自伦敦国家标准菌株保藏站, 整个研究过程都是利用这个菌株, NCTC 6785, 该菌在 Oxoid Robertson 氏肉汁培养基中培养, 每隔 4 周转接一次。

培养基

设计了两种培养基, 利用 10% 葡萄糖 (分析纯, W/V) 和不同的抑制剂浓度。

培养基 A: 1 份 Oxoid “Lab Lemco” 肉汁加到 3 份 Difco 豚蛋白胨水中 (V/V)。

培养基 B: 1 份 Oxoid “Lab Lemco” 肉汁与 3 份 Difco 豚水 (Neopeptone) Water 混合 (V/V)。

Lab Lemco 肉汁是 8 克无水培养基加到 1 升水中, 再加 5 克 NaCl (分析纯) 制成, pH 7.23。豚蛋白胨水: Difco 豚蛋白胨 (10 克) 和分析纯的 NaCl (5 克) 溶解于 1 升水中, pH 7.52。豚水: 这个培养基的制备方法与豚蛋白胨水相同, 只是

Difco 豚蛋白胨用 Neopeptone 代替。

所有的培养基在 15 磅压力下灭菌 15 分钟, 为制备培养基 A 和 B, 灭菌的肉汁和蛋白胨水按指出的比例在灭菌的具有螺旋塞的瓶子里进行无菌混合并使用。

抑制剂

苏拉明 (Bayer 205) 由英格兰 ICI 得到, 该粉末溶于蒸馏水中使浓度为 10% (W/V)。浆状溶液通过烧结玻璃的细菌过滤器过滤除菌, 灭菌溶液贮存于 4°C 备用。

一系列加倍稀释的抑制剂溶液, 从 1/100 到 1/800 (W/V), 用培养基 A 和 B 制备, 对照是利用含有葡萄糖的培养基 A 或 B。接种 2 滴用 Robertson 氏肉汁培养基培养的威氏梭状芽孢杆菌的培养物摇动管子, 在 H_2 存在下在 BTL 厌氧瓶中保温 18—24 小时。

用水封片进行显微镜观察, 然后对细胞壁染色。热固定的涂片浸入 5% 丹宁酸溶液中 10 分钟, 然后用 0.1% 结晶紫溶液染色, 用流动的自来水充分冲洗。

二、结果和讨论

显微镜观察指出, 在含有 1% 葡萄糖和 1% 苏拉明的肉汁培养基 A 和 B 中发现长达 30 个细胞的链, 链纠缠在一起, 因此它们好象是细胞的绳索, 细胞壁染色表明横隔存在, 说明链是由单个细胞单位形成的而不是丝状体 (图 1), 在苏拉明稀释超过 1/200 后没有看到链的形成。在对照试验中细胞是单个的或成对的 (图 2)。把充分洗涤的威氏梭状芽孢杆菌链转到无苏拉明培养基中则恢复正常形态, 指出该现象是表现型。

Webb (1958, 1953) 已经叙述过在中度缺乏

* 现在地址: 卡拉奇大学微生物学系, 卡拉奇 (巴基斯坦)

本文 1974 年 3 月 2 日收到。

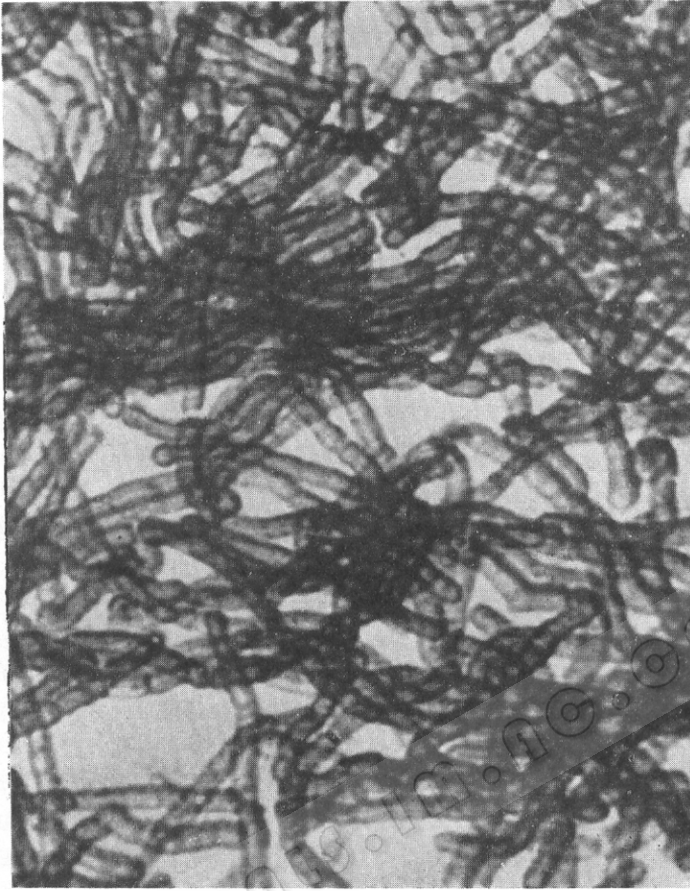


图1 在1% 苏拉明和1%葡萄糖存在下(培养基 B) 培养的威氏梭状芽孢杆菌 (*Cl. welchii*) 的生长情况
细胞壁染色 $\times 1600$

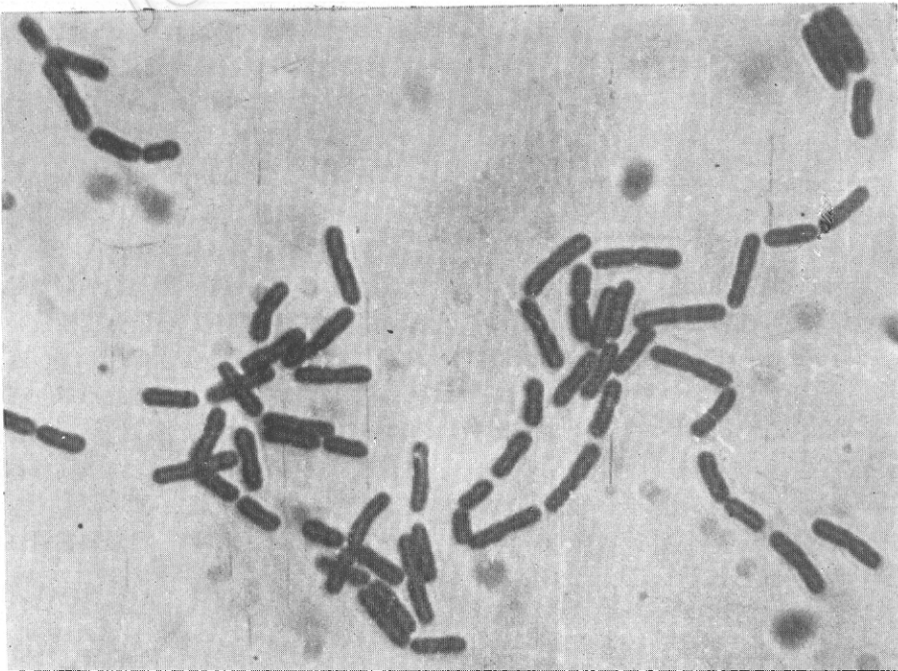


图2 在仅含1%葡萄糖的培养基A中培养的威氏梭状芽孢杆菌 (*Cl. welchii*)
细胞壁染色 $\times 1600$

镁离子的培养基中链的诱导形成。在转移到不缺乏这种离子的培养基中时他们恢复为正常形态。链暴露于卵清溶菌酶或生长于完全培养基中的威氏梭状芽孢杆菌的无细胞提取物中, 则引起链断裂成单个细胞。实际上在 Strange (1956) 首次叙述壁酸 (muramic acid) 之前 Webb (1951c) 已巧妙地证明细胞壁组分的释放。无细胞提取物能裂解链表明, 两个酶作用是相似的, 至少是在所描述的威氏梭状芽孢杆菌链的范围内。Lominski 和 Gray (1961) 报导过, 苏拉明能抑制卵清溶菌酶, 似乎有理由相信, 在威氏梭状芽孢杆菌中存在着有关细胞分离的体系, 它与卵清溶菌酶裂解链的特性相似, 并且两者都可以为同一种抑制即苏拉明所抑制, 从而引起长链的形成。

三、结论

威氏梭状芽孢杆菌 (*Cl. welchii*) NCTC

6785, 培养在含 1% 葡萄糖和 1% 苏拉明的培养基中, 细胞形成 30 个单位的长链, 稀释度超过 1/200 就没有发现这种效应。转移到无苏拉明的培养基中链恢复到正常形态, 指出这种形态上的变化是表现型。

参 考 资 料

- [1] Webb, M.: *J. Gen. Microbiol.*, 2: 260, 1948.
- [2] Webb, M.: *Science*, 118: 607, 1953.
- [3] Webb, M.: *J. Gen. Microbiol.*, 5: 496, 1951c.
- [4] Welshimer, H. J.: *J. Bacteriol.*, 66: 112, 1953.
- [5] Lominski, I. and Gray, S.: *Nature*, 192: 683, 1961.
- [6] Strage, R. E.: *Biochem. J.* 64: 23, 1956.

PHENOTYPIC CHAIN FORMATION IN *CLOSTRIDIUM WELCHII* BY SURAMIN

M. RAFI SHAIKN*, I. LOMINSKI

(Dept. Microbiology, The University of Glasgow, Scotland)

Cl. welchii NCTC 6785 was grown in 1% glucose containing medium having 1/100 concentration of Suramin. The cells grew into the long chains of thirty units. This effect was not found beyond 1/200

dilution. On transfer into Suramin free medium the chains reverted to normal morphology indicating the change in morphology to be phenotypic.