

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 四环素抗性遗传因子——质体的转导

范云六 姜书勤 王清海

(中国科学院微生物研究所, 北京)

1. 从临床上分离的两株金黄色葡萄球菌多重抗性菌株(S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 及 S-3 $tet^R pen^+ cad^R$), 其四环素抗性, 通过噬菌体-80 转导给五株四环素敏感的受体菌株。没有观察到四环素抗性与镉离子抗性的共同转导, 而镉离子抗性与产生青霉素酶的遗传因子有共同转导。这一结果表明四环素抗性不与镉离子抗性基因连锁, 而镉离子抗性基因与青霉素酶基因连锁。

2. S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 及 S-3 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株的四环素抗性遗传因子成功地转导至重组缺陷株 RN1030 rec^- , 表明这两株菌株的四环素抗性遗传因子不在染色体上, 而位于染色体外的质体上。

3. S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株的四环素质体自发消除率是 1.49%, 而青霉素酶质体的消除率是 0.09%。溴化胺乙苯菲啶能增加四环素质体和青霉素酶质体的消除率, 没有共同消除现象。可以认为: S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株至少带有两个质体: 一个是四环素质体, 一个是青霉素酶质体。

4. S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株的四环素质体通过紫外线照射后的转导噬菌体裂解物转导至受体 S-19 (N_T) 及 RN1304 (N_T) 时, 转导频率降低, 但转导至受体 S-2 $tet^S pen^+ cad^R$ 时, 转导频率增加, 本文对这一结果进行了讨论。

临床上经常碰到金黄色葡萄球菌(下简称金葡菌)的抗药性菌株。过去^[1]报道了从北京首都医院患者分离的金葡菌对青霉素的抗性是由于它带有青霉素酶质体。金葡菌同时还抗四环素等其它抗菌素。菌株的抗药性基因或位于质体上或位于染色体上, 随抗菌素而不同。由于细菌染色体基因所控制的抗药性出现的频率较低, 因此, 临床上质体性质的抗药性比染色体性质的危害性更大^[2]。为了确定金葡菌对四环素抗性基因的位置, 我们主要采用噬菌体的转导并结合药物消除的方法对金葡菌 S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 和 S-3 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株的四环素抗性标记进行了基因位置的遗传分析。

实验结果确定这两株金葡菌的四环素

基因不在染色体上, 而是在质体上。

材 料 和 方 法

一、菌株

S-19 $tet^R pen^+ cad^R$, S-2 $tet^S pen^+ cad^R$ 及 S-3 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株分别从北京首都医院和上海华山医院患者分离。S-19 (N_T) 系用溴化胺乙苯菲啶(Ethidium bromide, 下简称 EtBr)处理 S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株后得到的四环素质体消除的菌株。80/S-19/S-19(N_T) 及 80/S-19/S-2 系以 S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 为给体, S-19 (N_T) 及 S-2 $tet^S pen^+ cad^R$ 分别为受体通过噬菌体-80 转导得到的抗四环素的转导子。除上述国内临床上的菌株及其衍生菌株外, 试验中还用了 8325, RN1030 rec^- 及 RN1304 等菌株。

本文于 1975 年 5 月 14 日收到。

二、噬菌体

国际金葡菌分型噬菌体,由上海植物生理研究所供给。按 Blair 及 Williams^[3] 方法对试验金葡菌进行噬菌体分型。

噬菌体-80 高效价裂解物的制备:噬菌体-80 在给体上增殖后作为转导实验的转导噬菌体裂解物。采用固体法制备噬菌体-80 的高效价裂解物。在制备之前用双层琼脂法测定噬菌体-80 的常规试验稀释度 (RTD),然后用 RTD 这个浓度进行制备。具体方法如下:将噬菌体-80 以 1% 蛋白胨水稀释(稀释倍数可根据噬菌体效价调整),然后分别将各稀释管中的噬菌体取 0.1 毫升至灭菌空试管中,加上 0.1 毫升 37℃ 振荡培养 4 小时(或 37℃ 静止培养)的给体菌,再加入凉至 45℃ 的含 0.9% 琼脂的 BPY 培养基^[1](含 CaCl₂ 4 毫克分子浓度)3—4 毫升,均匀混合,立即倒在底层已铺有 2% 琼脂的 BPY 固体培养基上,铺平,待凝固后 37℃ 培养 12—18 小时,噬菌斑集密相连(或成网状)的稀释浓度即为噬菌体的 RTD,选用 RTD 的这个浓度进行制备,每皿中加 5—7 毫升 1% 蛋白胨水,浸泡 5—10 分钟,用玻璃刮子将上层软琼脂捣碎,离心(4000 转/分)15 分钟,得上清液,通过 G5 (Jena) 玻璃细菌漏斗过滤,得高效价噬菌体裂解物,一般效价在 2×10^8 噬菌斑形成单位/毫升。

三、培养基

BPY 及 BHI 培养基^[1]灭菌后备用。

四、青霉素酶及四环素抗性的检验方法

采用我们改良的方法^[4] 检验菌株的青霉素酶。测定菌株的四环素抗性用固体双倍稀释法。

五、转导试验

受体菌经斜面活化后,在 5 毫升 BPY 培养液中 37℃ 振荡培养 14—15 小时,细胞数一般在 $1-5 \times 10^8$ 细胞/毫升,菌液经 4000 转/分离心 10 分钟,弃上清液,用 5 毫升新鲜的含有 4 毫克分子浓度 CaCl₂ 的 BPY 培养液重悬细菌细胞,使细胞均匀悬浮。按试验设计的感染系数,取等量细菌悬液与已制备好的高效价噬菌体裂解物于灭菌空试管中(除特定试验外,转导试验的感染系数在 0.1—1.0 之间),试管置 37℃ 水浴摇床中缓慢振荡 30 分钟,立即放入冰浴中。加 2 毫升冷的 1% 柠檬酸钠溶液于试管中均匀混合,以

4000 转/分的速度离心 10 分钟,弃去上清液,再于离心管中加入 5 毫升冷的含 0.5% 柠檬酸钠的 BHI 培养液,使细菌均匀悬浮,离心,弃上清液。如此重复离心两次,加 0.1—0.3 毫升 BHI 或 BPY 培养液重悬细菌细胞。当选择标记为四环素抗性时,将所有细菌悬液用表面涂布法分别涂布在每毫升含 5 微克四环素的 0.5% 柠檬酸钠的 BHI 固体培养基上,一般,每个试验处理的菌液均匀分配在 6—10 个平皿中后进行涂布。37℃ 培养 24—40 小时,计算转导子数目。当选择标记为 Cd⁺⁺ 抗性时,菌液涂布在含 2.5×10^{-4} M Cd(NO₃)₂·4 H₂O 的上述培养基上。所有试验设有噬菌体对照及不加噬菌体处理(以 1% 蛋白胨水代替噬菌体)的回复突变对照。

六、紫外线照射转导噬菌体裂解物 80/S-19

直径 65 毫米的平皿内盛有 7 毫升高效价的 80/S-19 噬菌体裂解物,置紫外灯(15 瓦,波长 2537 Å,距离 27 厘米)下,用电磁搅拌器搅拌在暗箱中进行照射。根据实验所确定的照射时间等量取样两份,放置在用黑纸包好的试管中,其中一份样品立即用双层琼脂法进行噬菌体效价测定,以计算紫外线照射后噬菌体的存活率。另一份样品放在 4℃ 冰箱中保存,供转导试验用。

七、EtBr 消除质体

细菌生长在 BPY 培养液中 37℃ 振荡培养 12 小时后,用无菌水稀释至 10^4 细胞/毫升,加 EtBr (Sigma, 分子量 394.3) 的水溶液,使之最后浓度为 6×10^{-4} M 至 1.2×10^{-3} M, 37℃ 振荡培养 24 小时后,划线于 BPY 固体培养基的平皿上,37℃ 培养过夜,用复制法把菌落复制在 BPY 固体培养基平皿上及含 5 微克/毫升四环素的 BPY 固体培养基平皿上。在 BPY 固体培养基上长出的菌落为复制的总菌落数,在 BPY 固体培养基上生长而在含 5 微克/毫升四环素的 BPY 平皿上不生长的菌落,为四环素质体消除的菌落。用 BPY 固体培养基上长出的菌落来测定青霉素酶质体的消除。

结 果

一、S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株四环素抗性标记的转导

噬菌体-80在 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌上增殖后分别得到噬菌体裂解物 80/S-19 及 80/S-3, 以 0.1—1.0 的感染系数对 S-19(*N_T*), S-2 *tet^S pen⁺ cad^R* 等受体菌株进行转导, 选择标记为四环素抗性。如表 1 所示, 四环素抗性标记的转导频率在 10^{-5} — 10^{-8} 这一范围内。四环素抗性标记与镉离子抗性标记无共同转导, 但产生青霉素酶的基因与 Cd^{++} 抗性基因共同转导(表 2)。这些结果表明: 在 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株中, 四环素抗性标记不与青霉素酶及镉离子抗性基因连锁, 而青霉素酶基因与镉离子抗性基因是连锁的。

表 1 金黄色葡萄球菌四环素抗性标记的转导
(BHI 固体培养基中含四环素 5 微克/毫升)

给体菌株	受体菌株	转导频率
S-19 <i>tet^R pen⁺ cad^R</i>	S-19 (<i>N_T</i>)	6.6×10^{-5} — 7.1×10^{-7}
	S-2 <i>tet^S pen⁺ cad^R</i>	8.1×10^{-8}
	RN1304(<i>N_T</i>)*	9.6×10^{-6}
	8325	3.6×10^{-6}
S-3 <i>tet^R pen⁺ cad^R</i>	S-2 <i>tet^S pen⁺ cad^R</i>	7.0×10^{-6} — 1.4×10^{-7}
	8325	1.2×10^{-6} — 3.3×10^{-7}

* 系用 EtBr 处理 RN1304 菌株后得到的四环素质体消除的菌株。

表 2 金黄色葡萄球菌镉离子抗性的转导
(BHI 固体培养基中含 $2.5 \times 10^{-4}M$ $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$)

给体菌株	受体菌株	转导频率	共同转导	
			<i>cad^R</i> 与 <i>tet^R</i>	<i>cad^R</i> 与 <i>pen⁺</i>
S-19 <i>tet^R pen⁺ cad^R</i>	8325	6×10^{-8}	—	+
S-3 <i>tet^R pen⁺ cad^R</i>	8325	2.6×10^{-8}	—	+

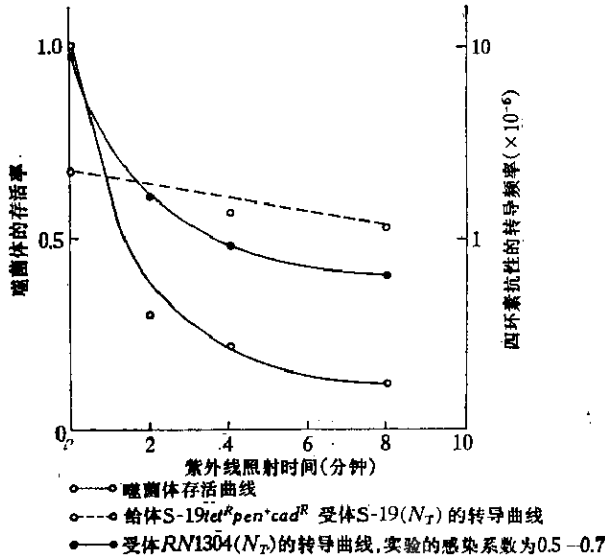


图 1 紫外线照射 80/S-19 噬菌体裂解物对金黄色葡萄球菌四环素抗性转导频率的影响。

二、紫外线照射 80/S-19 噬菌体裂解物后四环素抗性标记的转导频率

紫外线照射转导噬菌体裂解物后, 转导频率的减少表明选择标记为质体性质^[5,6], 但转导频率增加时, 有两种可能性: 一种可能是选择标记为染色体性质, 第二种可能是选择标记仍为质体性质^[8]。在转导频率增加的情况下, 需要配合鉴别菌株质体的其他方法(选择标记的自发消除, 化学药物增加消除率以及对重组缺陷株进行重组等)来对选择标记的性质加以鉴别。

我们在转导系统建立的基础上, 用紫外线照射 80/S-19 噬菌体裂解物, 照射时间为 0—8 分钟, 用 S-19(*N_T*)、S-2*tet^S pen⁺ cad^R* 及 RN1304 (*N_T*) 为受体进行转导。图 1 系 80/S-19 噬菌体裂解物经紫外线照射不同时间后对 S-19 (*N_T*) 及 RN1304 (*N_T*) 受体进行转导的试验结果。从图 1 看出: 四环素抗性标记的转导频率随着紫外线照射剂量的增加而下降, 这个转导曲线表明 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株四环素抗

性标记位于质体上。

但是,如表 3 所示紫外线照射后的 80/S-19 噬菌体裂解物对受体 S-2 *tet^S pen⁺ cad^R* 进行转导时,四环素抗性标记的转导频率没有下降,相反地有所增加,多次试验重复均得到类似的结果。这一现象将作进一步的研究。

表 3 紫外线照射 80/S-19 噬菌体裂解物后对金葡菌四环素抗性标记转导频率的影响
(受体 S-2 *tet^S pen⁺ cad^R*) (BHI 固体培养基中含四环素 5 微克/毫升)

紫外线照射时间(分)	转导子数目/10 ⁸ 噬菌体	噬菌斑形成(单位/毫升)
0	8.1	1.1×10 ⁹
2	18.2	6.3×10 ⁸
4	10.3	2×10 ⁸

三、用重组缺陷株

RN1030*rec⁻* 为受体进行转导

基于紫外线照射 80/S-19 噬菌体裂解物对四环素抗性标记转导频率的影响可能与受体有关的上述试验结果,为了进一步确定 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株四环素抗性基因的性质,我们又用金葡菌重组缺陷株 RN 1030 *rec⁻* 作为受体,进行转导。金葡菌 RN 1030 *rec⁻* 菌株是类似大肠杆菌 *recA* 突变株,用它作为受体时,当选择标记是染色体性质则转导不能成功,如果得到转导子,则表明选择标记不是在染色体上。图 2 和表 4 的结果指出, S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 的四环素抗性基因成功地转导至 RN 1030 *rec⁻* 菌株,说明 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 的四环素抗性基因不在染色体上,而是在染色体外,在质体上。

四、S-19*tet^R pen⁺ cad^R*

菌株四环素抗性标记及青霉素酶质体的消除

鉴别细菌菌株的质体,除用转导方法

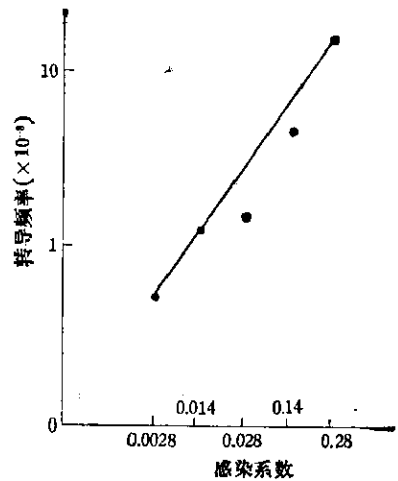


图 2 金葡菌 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 为给体, RN 1030 *rec⁻* 为受体,通过噬菌体-80 进行四环素抗性的转导频率与感染系数的关系。

表 4 金葡菌 S-3 *tet^R pen⁺ cad^R* 为给体, RN 1030 *rec⁻* 为受体四环素抗性标记的转导结果 (BHI 固体培养基中含四环素 5 微克/毫升)

感染系数	转导频率
0.015	1×10 ⁻⁹
0.15	9×10 ⁻⁹
1.5	3×10 ⁻⁹

外,采用化学药物进行消除也是一个常用的有效方法。EtBr 是一种较好的质体消除剂^[10],因此可以用 EtBr 处理 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株,从消除效应来验证 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 四环素抗性标记及青霉素酶标记的质体性质。实验中用 5 种不同浓度的 EtBr ($6 \times 10^{-8}M$, $6 \times 10^{-7}M$, $3 \times 10^{-6}M$,

表 5 EtBr 消除金葡菌 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株的四环素抗性标记及青霉素酶质体结果

EtBr 浓度 (M)	四环素抗性标记的消除			青霉素酶质体的消除		
	复制菌落总数	消除菌落数	消除细胞(%)	复制菌落总数	消除菌落数	消除细胞(%)
0	738	11	1.49	1118	1	0.09
6×10^{-8}	396	7	1.78	396	0	0
6×10^{-7}	846	26	3.07	1334	2	0.15
3×10^{-6}	442	6	1.36	442	1	0.23
6×10^{-6}	846	10	1.18	1274	22	1.73
1.2×10^{-5}	381	2	0.52	381	109	28.6

$6 \times 10^{-6}M$ 及 $1.2 \times 10^{-5}M$) 处理 S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株, 消除四环素抗性标记及青霉素酶质体的结果列于表 5。

从表 5 看出: (1) S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株的四环素抗性是一个不稳定的遗传标记, 自发消除率比青霉素酶质体高; (2) 合适浓度的 EtBr 处理后 S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株增加了四环素抗性标记及青霉素酶质体的细胞消除数目, 四环素抗性标记在 $6 \times 10^{-7}M$ EtBr 时消除率达 3.07%, 而青霉素酶标记在 $1.2 \times 10^{-5}M$ EtBr 浓度时消除率最高, 达 28.6%。

这里还须着重指出的是: 从消除四环素抗性的细胞中没有观察到青霉素酶质体的消除现象, 也没有从消除青霉素酶质体的细胞中观察到四环素抗性标记的消除。这些实验结果表明: S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 菌株的四环素抗性标记与产生青霉素酶的基因是在两个不同的质体上。

五、转导子的噬菌体分型及其质体的稳定性

1. 转导子的噬菌体分型

我们测定了 28 株转导子的噬菌体分型, 它们都保持了受体菌的噬菌体类型。表 6 是给体 S-19 $tet^R pen^+ cad^R \times$ 受体 S-19 (N_T), 给体 S-19 $tet^R pen^+ cad^R \times$ 受体 S-2 $tet^S pen^+ cad^R$ 的两株转导子的噬菌体分型。

2. 转导子四环素及青霉素酶质体的稳定性

我们用 EtBr 消除转导子 80/S-19/S-19(N_T) 及 80/S-19/80 的四环素质体及青霉素酶质体的结果列于表 7。从表 7 看出, 转导子 80/S-19/S-19(N_T) 的四环素质体很不稳定, 自发消除率高达 62.9%, 比给体菌 S-19 $tet^R pen^+ cad^R$ 的四环素抗性标记更不稳定。用 EtBr 处理转导子 80/S-19/S-19(N_T) 后, 四环素质体的消除率增加, 最高消除率达 94.6%, 青霉素酶质体的消除

表 6 金葡萄菌转导子 80/S-19/S-19(N_T) 及 80/S-19/S-2 的噬菌体分型

菌 株		噬 菌 体 分 型
给 体	S-19 $tet^R pen^+ cad^R$	52/80/83A/6/84/85/54/71/81
	S-19 (N_T)	52/80/83A/6/84/85/54/71/81
受 体	S-2 $tet^S pen^+ cad^R$	29/52/52A/79/80/83A/6/84/85/47/53/53A/54/71/77/42D/81
	80/S-19/S-19 (N_T)	52/80/83A/6/84/85/54/71/81
转 导 子	80/S-19/S-2	29/52/52A/79/80/83A/6/84/85/47/53/53A/54/71/77/42D/81

表 7 EtBr 消除金葡萄菌转导子 80/S-19/S-19(N_T) 及 80/S-19/80 的四环素质体及青霉素酶质体

EtBr 浓度 (M)	80/S-19/S-19 (N_T)					80/S-19/80				
	复制 菌落 总数	四环素质体的消除		青霉素酶质体的消除		复制 菌落 总数	四环素质体的消除		青霉素酶质体的消除	
		消除菌落数	消除菌落 (%)	消除菌落数	消除菌落 (%)		消除菌落数	消除菌落 (%)	消除菌落数	消除菌落 (%)
0	367	231	62.9	1	0.27	293	2	0.68	0	0
6×10^{-8}	254	231	90.9	0	—	270	1	0.37	0	0
6×10^{-7}	333	315	94.6	0	—	254	16	6.29	0	0
6×10^{-6}	330	297	90.0	2	0.60	341	21	6.15	0	0
1.2×10^{-5}	330	310	93.9	12	3.63	273	2	0.73	0	0

率也有增加,青霉素酶质体的自发消除率及 EtBr 增加的消除率与 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株的比较均有不同。转导子 80/S-19/80 的四环素质体亦不稳定,在这个转导子上青霉素酶的遗传标记没有消除现象,这是由于青霉素酶的基因在 ps 80 菌株中是位于染色体上^[7]。因此,转导子 80/S-19/S-19 (N_T) 及 80/S-19/80 四环素抗性标记的自发消除及 EtBr 处理后增加其消除率的试验结果也进一步证明 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株的四环素抗性基因的质体性质。

讨 论

紫外线照射 80/S-19 噬菌体裂解物后,当受体为 RN 1304 (N_T) 时四环素抗性标记的转导频率随着紫外线照射剂量的增加而下降,但当 S-2 *tet^S pen⁺ cad^R* 为受体时,转导频率却有所增加,对于上述实验结果如何解释呢?

根据用 EtBr 对 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株四环素抗性标记的消除试验及用 RN 1030 *rec⁻* 为受体进行转导的试验结果,我们认为 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株的四环素抗性标记是携带在质体上。那么,对于上述实验结果一种可能的解释是: S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株的四环素质体在一些菌株【如在 S-19 (N_T) 及 RN 1304 (N_T)】中以游离的质体状态存在,而在另一些菌株(如在 S-2 *tet^S pen⁺ cad^R*) 中,这个质体具有附加体性质,能组入到染色体中。这种解释如同 Asheshov^[7] 解释金葡菌 2P⁺T⁻ 菌株的青霉素酶质体的附加体性质那样。但是,我们测定了 32 株 80/S-19/S-2 转导子的四环素抗性标记的自发消除率,表明这些四环素抗性标记是不稳定的。因此,看来这个解释不能令人满意。

最近 Rubin^[8] 报导,金葡菌 PS81 (P81) (T81) 的青霉素酶质体通过紫外线照射后

的噬菌体裂解物传递给 PS52 受体时,得到的转导频率曲线为典型的质体曲线,但是,用 PS81 (N81) 为受体菌时,青霉素酶质体的转导频率却增加 5 倍。Rubin 从分子水平上证明,在 PS52 中无质体 DNA 存在,而 PS81 (P81) (N_T) 的青霉素酶质体大于 PS81 (N81) 的青霉素酶质体,因此,认为通过转导传递进来的质体 DNA 与 PS81 (N81) 的质体 DNA 进行了重组,使得在紫外线照射转导噬菌体后转导频率有所提高。Rubin 的解释对我们的实验结果是否适用,需要进一步抽提 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 及 S-2 *tet^S pen⁺ cad^R* 菌株的质体 DNA,并证明其重组的可能性后才能最后确定。

到目前为止,没有见到关于 EtBr 对金葡菌四环素抗性标记的消除效应的报导。本文说明 EtBr 消除质体的效应与所用的浓度很有关系,一般用 $6 \times 10^{-6} M$ EtBr 消除青霉素酶质体,根据我们对 S-19 *tet^R pen⁺ cad^R* 菌株的实验结果, $1.2 \times 10^{-5} M$ EtBr 消除青霉素酶质体的效应比 $6 \times 10^{-6} M$ 强,因此,应根据菌株采用最适的 EtBr 消除浓度。

参 考 资 料

- [1] 范云六、姜书勤、郭兴华、王清海: 微生物学报, 14: 209, 1974。
- [2] 范云六: 遗传学报, 2: 173, 1975。
- [3] Blair, J. E. & Williams, R. E. O.: *Bull. W. H. O.*, 24: 771, 1961。
- [4] 姜书勤、范云六: 微生物学报, 14: 230, 1974。
- [5] Arber, W.: *Virology*, 11: 273, 1960。
- [6] Novick, R. P. & Bouanchand, D.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 182: 279, 1971。
- [7] Asheshov, E. H.: *Nature (London)* 210: 804, 1966。
- [8] Rubin, S. J. & Rosenblum, E. D.: *J. Bacteriol.*, 108: 1200, 1971。
- [9] Bouanchand, D. H., Scavizzi, M. R. & Chabbert, Y. A.: *J. Gen. Microbiol.*, 54: 417, 1969。
- [10] Rubin, S. J. & Rosenblum, E. D.: *J. Bacteriol.*, 108: 1192, 1971。

TRANSDUCTION OF TETRACYCLINE PLASMID IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Fan Yunliu, Jiang Shuqin and Wang Qinghai

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

(1) The resistance to tetracycline was transduced by phage-80 from two multiple resistant strains (S-19tet^R pen⁺ cad^R and S-3tet^R pen⁺ cad^R) of *Staphylococcus aureus* from clinical sources to tetracycline-susceptible recipient strains. No co-transduction of determinants of the resistance to tetracycline and to cadmium ion was observed. The determinants of resistance to cadmium ion and production of penicillinase were co-transduced.

(2) Successful transduction of the determinant tetracycline resistant from strains S-19tet^R pen⁺ cad^R and S-3tet^R pen⁺ cad^R into a recombination deficient strain RN1030 of *S. aureus* indicated that the determinants of tetracycline resistance in both strains (S-19tet^R pen⁺ cad^R and S-3tet^R pen⁺ cad^R) were located extrachromosomally.

(3) The rate of spontaneous loss of tetracycline-resistance of S-19tet^R pen⁺ cad^R was 1.49%. The determinant con-

trolling penicillinase production was spontaneously lost at a frequency of 0.09%. Frequencies of loss of tetracycline plasmid and penicillinase plasmid were enhanced by treatment with ethidium bromide. No co-elimination of determinants controlling penicillinase production and tetracycline-resistance was observed. It is suggested that the strain S-19tet^R pen⁺ cad^R of *Staphylococcus aureus* harbours at least two plasmids, one is responsible for penicillinase production, and the other for tetracycline resistance.

(4) When the tetracycline plasmid of S-19tet^R pen⁺ cad^R was transferred to S-19(N_T) and RN1304(N_T), there was a decrease in transduction frequency following ultraviolet irradiation of the transducing phage lysate. However, in the case of S-2tet^S pen⁺ cad^R as a recipient with the same procedure the frequency of transduction was increased. Possible explanations to the above results were discussed.