

创新霉素对大肠杆菌形态的影响

刘若莹 田佩玉

孙纪申

(中国医学科学院药物研究所,北京) (中国医学科学院流行病学防治研究所,北京)

创新霉素为我国首次发现的抗菌素^[1], 临床试用结果表明,它对大肠杆菌引起的败血症、胆囊炎、泌尿系统感染等疾病有较好疗效。为了解创新霉素是否影响大肠杆菌菌体的结构,进行了形态学的观察。本文简报观察结果。

材料和方法

(一) 菌株

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) B 菌株。

(二) 菌的培养及生长量的测定

将在营养琼脂斜面培养基[成份(%)：牛肉膏 0.3, 酵母膏 0.3, 蛋白胨 1, 葡萄糖 1, 琼脂 2; 蒸馏水配制, pH 7.2—7.4]上长好的菌接种到肉汤培养基内(营养成分同上述培养基),在 37℃ 培养 18 小时。以此培养液作为种子,按 1% 的接种量接种含 15—20 微克/毫升创新霉素的上述肉汤培养基内,于 37℃ 培养 18 小时后,用 72 型分光光度计测定培养液的光密度_{660毫微米},以此表示菌的生长量(种子液的光密度_{660毫微米}为 0.20—0.22)。

(三) 光学显微镜观察

将按上法培养的菌体,用革兰氏染色法观察。

(四) 电子显微镜观察用菌的培养及样品制备

在加有 15—20 微克/毫升创新霉素(或分别加有 1.5—2 微克/毫升氯霉素, 15—20 微克/毫升红霉素, 4—6 微克/毫升四环素, 0.5—1 微克/毫升庆大霉素)的固体培养基上接种大肠杆菌。培养基由牛肉膏 0.3%, 酵母膏 0.3%, 蛋白胨 1%, 葡萄糖 0.4%, 琼脂 2% 组成。于 37℃ 培养 18 小时后,刮下菌体,使成小菌块,置 5% 戊二醛溶液中固定 30 分钟,用改良 Palaoie 氏缓冲液洗 15 分钟后,用 1% OsO₄ 固定 1 小时,再用上述缓冲液洗 15 分钟。经 50% 酒精醋酸双氧铀液染色 15 分钟后,顺序以 70% 酒精、90% 酒精、90% 酒精和

90% 丙酮等量混合液、90% 丙酮、100% 丙酮(二次)脱水各 10 分钟。再用等量混合的 100% 丙酮与包埋剂浸透 3 小时,于 37℃ 下用纯包埋剂浸透 2 小时,并在胶囊内用纯包埋剂浸透 16 小时,最后在 60℃ 处理 24 小时使其聚合并制成超薄切片。包埋剂由 3 毫升国产环氧树脂 618、2 毫升 DDSA (十二烷基琥珀酸酐)及 4% 的 DBP (邻苯二甲酸二丁酯)和 1% 的 DMP-30 [2, 4, 6-三(二甲氨基甲基)苯酚]配成。超薄切片用醋酸双氧铀及柠檬酸铅双染色。

结 果

(一) 创新霉素对大肠杆菌生长的影响

在不同培养时间观察创新霉素对大肠杆菌生长的影响,结果见表 1。可见不管培养时间长短,在加创新霉素后,大肠杆菌的生长都受到抑制。

表 1 创新霉素在不同培养时间对大肠杆菌生长的影响

光密度 660毫微米 培养基	培养时间 (小时)	4	6	8	11	24
肉汤培养基(对照)		0.053	0.253	0.324	0.340	0.388
肉汤培养基+创新霉素(15微克/毫升)		0.0	0.055	0.130	0.240	0.240

(二) 光学显微镜观察结果

在培养 6、11、18、24 和 42 小时后取样观察菌体,结果发现,对照菌体的形态,不论培养时间长短,很少变化,在加创新霉素后,在不同培养时间内,其菌体都较对照菌体小(见图版 1-1, 2, 3, 4)。如以 450 个菌体大小测量平均值作比较,对照为 3.25×1.1 微米,创新霉素作用后之菌体大小为

本文于 1977 年 4 月 13 日收到。

1.8 × 0.8 微米。

(三) 电子显微镜观察结果

在未加创新霉素的培养基上培养的大肠杆菌敏感菌株菌体内,经常可见到细胞质中有由直径为20—50埃的细微颗粒聚集而成的团块(简称团块,见图版 II-1、2、3),有时尚可见到“板层样”结构(见图版 II-3)。

加入创新霉素的培养基上培养的菌体中,团块与“板层样”结构均消失(见图版 III-1),细胞壁及核区的结构未见明显改变。

为了与其它抗菌素的作用相比较,用电子显微镜观察分别加入氯霉素、红霉素、四环素或庆大霉素的培养基上培养的菌体。发现加入氯霉素和红霉素后培养的菌体内,团块消失(图版 III-2、3);加入四环素和庆大霉素的,团块依然存在(图版 IV-1、2),但数量较未加抗菌素培养基上培养的菌体内少些;分别加入上述四种抗菌素后培养的菌体内,均未见到“板层样”结构,而且菌体细胞壁与细胞质膜的分离较少。

讨 论

在培养基中加入创新霉素后,培养的大肠杆菌 B 菌株菌体明显减小,这可能是创新霉素抑制了该菌的正常新陈代谢,从而抑制了菌的发育所造成的。

在 500 个正常生长的菌体中,大约可见 250

个菌体中有团块,而加入创新霉素后,则不管从纵剖面还是横剖面上,都未见到一个菌体有团块,这表明,加有或未加创新霉素的培养基上培养的菌体,在细胞结构上有明显差别。据文献报道,当培养基中缺少氨基酸^[1],或缺少镁离子时^[2],或加有抗菌素时^[4],都会引起大肠杆菌细胞质超微结构改变。

由于培养基中加入氯霉素和红霉素后,也会使所培养的菌体内团块消失,可能创新霉素对大肠杆菌的抑菌机理,也与氯霉素和红霉素的抑菌机理相似,是作用于菌的核糖核蛋白体代谢。究竟是如何引起团块消失的,有待进一步研究。

在大肠杆菌 B 菌株敏感株中有时可见到的“板层样”结构,可能是不典型的膜样小体(mesosome)。这种结构在加创新霉素后培养的菌体中未能见到,可能是由于创新霉素抑制或干扰了细胞质膜的某一部分功能,因为膜样小体是由细胞质膜向内屈折形成的,它可以扩大细胞质膜的内表面,促进细菌的新陈代谢作用。

参 考 资 料

- [1] 中国医学科学院药物研究所创新霉素研究组: 中国科学, 1976年第3期, 295—300页。
- [2] Morgan, C. et al.: *J. Bact.*, 102: 584, 1970.
- [3] Morgan, C. et al.: *J. Bact.*, 91: 891, 1966.
- [4] Morgan, C. et al.: *J. Bact.*, 93(6): 1987, 1967.