

一些有尾噬菌体的形态和结构

何能波 陈见璋 林彩婵 薛汉煌

(广东省微生物研究所, 广州)

余茂效 贾盘兴 徐 星

(中国科学院微生物研究所, 北京)

以不同菌株(卡那霉素链霉菌、金色链霉菌、水稻白叶枯病菌、钝齿棒状杆菌、多粘芽孢杆菌和苏芸金杆菌)为寄主分离、选择不同类型有尾噬菌体, 在电镜下观察它们的尾部和头部结构。根据负染色造成反差的强弱, 结合空壳的构型, 利用几何图形作图, 可以正确识别噬菌体头部形态, 并进行了讨论。此外, 还发现苏芸金杆菌上一种尾部末端特殊结构的噬菌体。

关于噬菌体的形态和结构已有不少报道, Bradley^[9] 综述了噬菌体的超微结构, 提出六种噬菌体基本形态类群, 认为与其核酸组成相关联。Tikhonenko^[13] 也提出了大致相同的分群。近年来陆续有噬菌体各种新形态的报道^[10, 11] 并说明有尾噬菌体的形态的多样性和复杂性。另一方面, 噬菌体在电镜下的显现和电镜相片的分析, 尤其利用高分辨率的电镜和电镜技术的改进, 可以帮助人们深入探明噬菌体形态和精细结构。本文报道选择的六类菌株的不同类型的噬菌体的形态和结构的分析结果。

材 料 和 方 法

(一) 菌种和噬菌体

卡那霉素链霉菌 (*Streptomyces Kanamyceticus*) 11 由北京制药厂供给, 噬菌体 SK1 从六安制药厂的异常发酵液中分离。金色链霉菌 (*Streptomyces aureofaciens*) 979 系安阳第二制药厂提供, 噬菌体 SA₄ 由中国医学科学院药物研究所抗菌素研究室赠予。水稻白叶枯病菌 (*Xanthomonas oryzae*) 及其噬菌体 XO1 由华南农学院植物保护系提供。钝齿棒状杆菌 (*Corynebacterium creatum*) As 1.542, 多粘芽孢杆菌 (*Bacillus poly-*

myxa) As 1.441 和 18 及其噬菌体 B275、BP 153 与 BP128 由中国科学院微生物研究所噬菌体组保存。苏芸金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 及其噬菌体 TP35 由广东省微生物研究所电镜组保存。

(二) 培养基和培养条件

关于金色链霉菌及其噬菌体^[12], 钝齿棒状杆菌及其噬菌体^[14], 多粘芽孢杆菌及其噬菌体^[13] 和苏芸金杆菌及其噬菌体^[11] 的培养和制备方法均按原始报道的方法和条件。卡那霉素链霉菌的培养基和水稻白叶枯病菌的培养基均为牛肉汁培养基, 但后者以蔗糖代替葡萄糖。培养温度均为 30℃, 24 小时。

(三) 制片方法

于每个新鲜的噬斑接近融合的琼脂平板上, 加入 3—4 毫升蒸馏水, 利用 CFS-250C 超声波发生器 (广东佛山无线电五厂) 在 20 仟周频率下超声处理 1—2 分钟或单纯浸泡 2 小时, 吸取悬液移置于试管中, 静置使自然澄清, 取上清液与等体积 4% 磷钨酸 (pH7.0) 混合负染, 经 20 分钟后, 将覆有火棉胶膜的铜网覆于混合液上, 取出吸去多余的液体, 在空气中干燥。

本文于 1978 年 12 月 16 日收到。

对提供菌种和噬菌体的各单位致谢。

部分电镜工作承生物物理研究所电镜组协助完成, 特此致谢。

(四) 电镜观察

用日立 HS-7S 和 HU-11A 电镜, 加速电压为 50kV, 分别在放大, 25,000 倍和 40,000 倍下观察。

结 果

1. 卡那霉素链霉菌噬菌体 SK1 属于 Bradley^[9] 的 A 类群, 具有一收缩尾部 (180 × 14 毫微米), 头部和尾部连接处有一明显的颈部 (图版 I-1、2), 尾部末端有一基片, 基片与收缩的尾鞘之间显示出一隘刻, 很容易观察到基片的侧面 (图版 I-1), 从图版 I-1、2 中可以看到基片上有 4 根以上的刺突。尾鞘是一中空的管状体, 尾鞘收缩时, 尾髓裸露。这些结构与 T 偶数噬菌体相似^[13]。但头部的形态结构, 从负染色后所显示的图象分析, 判断为八面体, 其大小为 95 × 80 毫微米。

2. 金色链霉菌噬菌体 SA₄ 属于 B 类群噬菌体, 有一非收缩尾部, 长 200 毫微米, 宽 10 毫微米。末端隐约可见一基片, 其上可见 4 个突出的附器, 但实际上是 5—6 个。头部呈现为椭圆形的轮廓, 其大小为 100 × 63 毫微米 (图版 I-3)。

3. 钝齿棒状杆菌噬菌体 B275 属于 B 类群, 有一弯曲非收缩尾部, 其大小为 378 × 10 毫微米。从图版 I-4 和图版 I-5 中可以清晰地看到右边头部核酸已经释放。剩下空壳和一中空的尾部, 看不到尾端结构细节。根据完整的头部外形是一个六边形, 大小为 79 × 71 毫微米, 根据空壳结构进行几何构型, 它显然是一个典型的八面体。

4. 水稻白叶枯病菌噬菌体 × 01 属于 A 类群噬菌体, 它有一收缩尾部, 大小为 87 × 15 毫微米。末端显示一基片, 附有六支刺突 (图版 I-6 和图版 I-7), 尾鞘收缩后露出髓部 (图版 I-7)。头尾连接处呈现

一明显的颈部。头部轮廓是六边形、大小为 65 × 57 毫微米, 但从头部空壳经负染后所提供的构型线条, 结合完整头部观察, 清楚地表明为二十面体 (图版 I-8、9)。

5. 多粘芽孢杆菌噬菌体 BP128 属于 A 类群噬菌体, 它具有较为特异和复杂的形态结构。图版 II-10 中可见到头部和尾部之间有一明显收缩的颈部, 尾端附器成为奇异的花冠, 由数支卷曲的附器组成, 似乎卷曲的附器有分叉的结构, 噬菌体的尾部大小为 156 × 19 毫微米。头部呈六边形, 大小为 69 × 60 毫微米, 表面上有向外辐射延伸出刺状物 (图版 II-10)。BP153 噬菌体隶属于 C 类群, 头部轮廓成六边形, 大小为 65 × 57.5 毫微米, 从其中一个顶角延伸出一支很短突出成尾部 (图版 II-11)。

6. 苏芸金杆菌噬菌体 TP35 属于 B 类群, 它具有一条弯曲较长的尾部, 其大小为 467 × 10 毫微米, 约为头部长度的 5—6 倍 (图版 II-12—14)。尾端有一特殊的末端结构, 外形为梭标状^[1]。头部大小为 87 × 80 毫微米, 从头部释放核酸后的空壳 (图版 II-15、16) 进行详细几何构型, 从对立头部的严格线条构成立体对称图形分析, 可以明确地判定为二十面体。

讨 论

比较七种有尾噬菌体的形态和结构, 从尾部末端结构分析, 金色链霉菌噬菌体 SA₄ 的非收缩尾部末端有 5—6 支突出的片状附器结构, 虽然在其他放线菌噬菌体中有类似结构的报道^[15], 但在金色链霉菌中尚属初次报道。苏芸金杆菌噬菌体 TP35 弯曲尾部末端具有独特的结构, 从图版 II-13、14 中看到一种似梭标状的外形。这种结构在噬菌体中还是初次发现。多粘芽孢杆菌噬菌体 BP128 的尾端具有花冠状的结构, 可能是分枝卷曲的附器组成, 与枯草芽

孢杆菌噬菌体 V₂ 相似^[1], 这在多粘芽孢杆菌中还是初次发现。卡那霉素噬菌体 SK1 和水稻白叶枯病菌噬菌体 ×01 的尾端结构相似, 与大肠杆菌 T 偶数噬菌体的尾部结构也相似, 但 SK1 基片上的刺突表现为粗壮的棍棒状。显然, 钝齿棒状杆菌噬菌体 B275 是一般常见的噬菌体类型, 与类似于大肠杆菌噬菌体 T₂ 的 BP153, 都没有附加的尾端结构。

这些尾端结构, 从繁到简进行比较, 可以推测噬菌体的重要吸附器官有一演变过程, 也反映出尾部结构的复杂性^[10, 11]。最近, 从 Peake 和 Stanley 报道保加利亚乳杆菌 (*Lactobacillus bulgaricus*) 噬菌体有横节的特殊尾部结构的发现后^[12], 更加引起对种类繁多的尾部结构的注意, 虽然认为这样多种多样的尾端器官像 T 偶数噬菌体^[13]一样动作, 但是对不同尾端结构在吸附和侵入过程中的生理功能的意义, 如 TP35、BP128 和 SA₄ 的尾端器官, 在侵染菌细胞时, 它们尾部末端的行动过程、每一步骤的行动如何表现、功能究竟如何、是否有所不同? 都尚待进一步探讨。

至于噬菌体头部结构, Bradley^[9] 已经作了全面的综述, 这里仅对几种头部结构进行一些讨论。SA₄ 头部轮廓显示椭圆形, 类似的头部可以见诸于地衣状芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 噬菌体 BLE^[10] 柄细菌 (*Caulobacter*) 的 ϕ Cb13^[12], 葡萄球菌 (*Staphylococcus*) 的 594n 和链球菌 (*Streptococcus*) 的 3ML 噬菌体^[8, 13]。BP153 头部外廓是个六边形, BP128 也有一个六边形的头部轮廓, 但表面上有许多刺状物, 类似于枯草杆菌 ϕ 29 噬菌体^[5, 6]。上述三种头部从电镜相片中还难于探究出确切的形状。

卡那霉素链霉菌 SK1 的头部, 根据结构对称性的分析, 从空壳和头部立体构型

图, 显示出是一个八面体。

钝齿棒状杆菌噬菌体 B275 完整充实头部和空壳比较, 经负染色后在空壳中显示出两个相互倒置叠正三角形, 而且每边都是直线(图版 I-4、5) 从解析的构型图中表明头部是一个八面体。

水稻白叶枯病菌噬菌体 ×01, 从它的完整头部经染色显示出各面上的反差不同和它的解析的立体构型图中都清楚地表明是一个二十面体。

苏芸金杆菌噬菌体 TP35 从图 12 的完整头部观察, 显然是一个八面体, 但是根据图版 II-13—16 从不同角度和二十面体模型对应的解析相片中的图像, 并绘制出立体对称构型图, 可以判定为二十面体。我们从看到的不同图形可以根据其不同角度和侧面透视分析, 作出相应的构形图, 能正确判明结构, 而避免仅凭轮廓观察得到错误的结论。事实上, 根据我们经验, 二十面体和八面体有时很不易分清。

在工作中, 尤其在噬菌体头部形态结构的观察和分析, 受到许多因素的影响, 在制片过程中样品制备处理、染色、干燥和电镜观察都会造成一些图形的变化, 图版 II-16 中头部怪形, 过去也曾有过类似的报道^[9, 14] (Bradley 的图 47b 和 Tikhonenko 的图 105), 但尚未进行分析识别。我们依照模型, 分析染色后反差程度不同, 结合其他有关拍摄到的相片, 进行综合透视分析几何构型, 可以解决此类图型困难。

参 考 文 献

- [1] 何能波、陈见璋、林彩娣: 微生物学报, 18(3): 220—224, 1978。
- [2] 余茂尧、贾鑫兴、徐星、靳传富: 微生物学报, 14(2): 216—223, 1974。
- [3] 余茂尧: 微生物学报, 18(2): 153—157, 1978。
- [4] 余茂尧、那淑敏、徐星: 微生物学报, 19(3): 297—301, 1979。
- [5] Anderson, D. L., D. D. Hickman. and B.

- E. Reilly: *J. Bacteriol.*, 91:2081—2089, 1966.
- [6] Vinuela, E., Camacho, A., Jimenez, F., Carracosa, J. L., Ramirez, G. and Salas, M.: *Philos. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B*, 276(943):29—35, 1976.
- [7] Bradley, D. E.: *J. Gen. Microbiol.*, 31: 435—445, 1963.
- [8] Bradley, D. E.: *J. Ultrastruct. Res.*, 8: 552—565, 1963.
- [9] Bradley, D. E.: *Bacteriol. Rev.*, 31: 230—314, 1967.
- [10] Ludvik, J., L. Erobenova and H. Lipavaska: *Virology*, 77:872—875, 1977.
- [11] Peake, S. E. and G. Stanley: *J. Appl. Bacteriol.*, 44:321—323, 1978.
- [12] Schmidt, J. M. and R. Y. Stanier: *J. Gen. Microbiol.*, 39:95—107, 1965.
- [13] Shimizu, N. K., Miura, and H. Aoki: *J. Biochem.*, 68:265—276, 1970.
- [14] Simom, L. D. and T. F. Anderson: *Virology*, 32:279—297, 1967.
- [15] Tikhonenko, A. S.: *Ultrastructure of Bacterial Viruses* Plenum Press, New York-London, 1970.

MORPHOLOGY AND STRUCTURE OF SEVERAL TAILED PHAGES

He Neng-bo Chen Jian-zhang Lin Cai-chan Xue Han-huang

(*Institute of Microbiology of Province Guangdong, Guangzhou*)

Yu Mao-xiao Jia Peng-xing Xu Xing

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

Several distinct types of tailed phages on six host strains, namely, *Streptomyces kanamyceticus*, *Streptomyces aureofaciens*, *Xanthomonas oryzae*, *Corynebacterium crenatum*, *Bacillus polymyxa* and *Bacillus thuringiensis* belonging to groups A, B, and C according to Bradley^[1] were studied for their morphology with special reference to the heads and tail-ends. It is of special developmental importance to compare tail-end

structures among phages from different sources. It is convenient to make precise description of head structure by PTA-negative staining as well as interpretative geometric configurations from electron micrograph, this is discussed in detail. Moreover, on the base of its peculiar tail-end structure, phage TP35 on *Bacillus thuringiensis* should be recognized as a new type.