

电镜观察棒状杆菌菌体及其原生质体

洪益国* 郑幼霞** 杨颐康

(华东师范大学, 上海)

原核微生物原生质体融合为育种和基础分子生物学研究提供了一条有利的途径^[1-3], 在棒状杆菌属中已有成功的报道^[1-3]。但对于原生质体的形成, 所见报道甚少。Abram^[4]曾观察过嗜热脂肪芽孢杆菌原生质体形成过程; 在棒状杆菌属中, 诸葛健等^[5]通过光镜观察提出了原生质体形成的一种新模式, 但并没有令人信服的证据。本文选择棒状杆菌属两个种: 谷氨酸棒状杆菌和北京棒状杆菌, 用电镜详细观察了其菌体及原生质体, 研究表明菌体具有典型的原核微生物的超显微结构, 菌体从其两端、中部等不同的部位释放出单个原生质体。

材料和方法

(一) 菌种

谷氨酸棒状杆菌 (*Corynebacterium glutamicum* T613), 浙江省平湖味精厂提供; 北京棒状杆菌 (*Corynebacterium pekinense*) AS1.223, 中国科学院北京微生物研究所提供。

(二) 培养基及有关缓冲液的配制

见文献[4, 6, 7]。

(三) 菌体培养及原生质体制备

参照文献[4]的方法。

(四) 扫描电镜样品制备

收集菌体或原生质体, 用 1% 戊二醛前固定, 再用 2.5% 戊二醛 0—4℃ 固定过夜, 巴比妥钠-NaAc 缓冲液浸洗后, 1% OsO₄ 后固定 1 小时, 缓冲液浸洗, 乙醇逐级脱水, 最后用醋酸异戊酯置换, 临界点干燥, S-450 型扫描电镜观察。

(五) 透射电镜样品制备

样品制备在 90% 乙醇脱水前同扫描电镜样品制备, 其后用丙酮脱水, #618 环氧树脂包埋, LKB-5 型超薄切片机超薄切片, 醋酸双氧铀-柠檬酸铅复染, JEM-100CXII 型透射电镜观察。

结果和讨论

(一) 菌体与原生质体形态的电镜观察

扫描电镜观察菌体为棒状, 表面光滑 (图版 1-1a)。经过青霉素 G 预处理的菌体未观察到形态变化 (图版 1-2a), 但原生质体的形态显圆形, 表面光滑 (图版 1-3a)。

透射电镜观察到菌体的内部结构包括细胞壁、细胞膜、胞质、细胞核区域 (拟核) 以及间体 (图版 1-1b)。青霉素 G 处理过的菌体的超显微结构与原菌体的无差异 (图版 1-2b); 原生质体没有细胞壁, 但具有细胞膜等结构 (图版 1-3b)。

电镜观察表明, 棒状杆菌菌体为单个或“八”字排列并具有典型的原核微生物的超显微结构, 原生质体没有细胞壁。T613 与 AS 1.223 两菌之间的观察结果并无明显区别。

(二) 原生质体的形成

透射电镜观察原生质体单个释放方式 (图版 1-4, 5): 原生质体是在菌体的一定部位释放出来的, 并非细胞壁完全被酶解后才形成。

原生质体的形成可能是在棒状杆菌正常生理代谢或分裂的情况下, 青霉素 G 作用于细胞壁的某些部位, 提高了壁对溶菌酶的敏感性, 溶菌酶作用后, 破坏了细胞壁的完整结构, 此时原生质体首先进行质壁分离, 这种现象的产生可能是原生质体脱水的结果, 质膜与细胞壁的某些氢键等弱的化学键力被破坏, 原生质体受到的束缚力减小, 从而可以从细胞壁的裂口处释放出来。

我们的结果表明, 棒状杆菌原生质体的形成有下面三个特点 (1) 原生质体的形成是一个释放过程而非由于细胞壁全部破坏后才形成; (2) 原生质体一般从菌体的顶端部位释放; (3) 不论是单个棒状菌体还是“八”字形菌体的原生质体释放都是单个进行的。

本文于 1989 年 8 月 1 日收到。

* 现在中国科学院微生物研究所, 北京。

** 中国科学院上海植物生理研究所。

参 考 文 献

- [1] Fodor, K. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **73**: 2147—2150, 1976.
- [2] Hopwood, D. A.: *Ann. Rev. Microbiol.*, **35**: 237—272, 1981.
- [3] Katsumata, R. et al.: *J. Bacteriol.*, **159**: 305—311, 1984.
- [4] 乔宝义等: 微生物学报, **23**: 33—43, 1983.
- [5] Abram, P.: *J. Bacteriol.*, **89**: 855—873, 1955.
- [6] 诸葛健等: 微生物学报, **26**: 346—349, 1986.
- [7] Frehe, C.: *J. Bacteriol.*, **137**: 1351—1351, 1978.

ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATIONS ON INTACT CELLS AND PROTOPLASTS OF *CORYNEBACTERIUM*Hong Yiguo* Zheng Youxia** Yang Yikang

(East China Normal University, Shanghai)

Intact cells and protoplasts of *Corynebacterium* were observed by means of electron microscope (EM). There are morphological and structural differences between cells and protoplasts. This report described single protoplast releasing modes of *Corynebacterium*.

Key words

Corynebacterium; Protoplast; EM observation

* Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing.

** Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica, Shanghai.

图 版 说 明

1. 菌体 (T513) (a × 24000, 扫描电镜; b × 27000, 透射电镜)
2. 青霉素G处理后菌体 (T613) (a × 11000, 扫描电镜; b × 14000, 透射电镜)
3. 原生质体 (T513) (a × 15000, 扫描电镜; b × 400000, 透射电镜)
4. T613 单个原生质体释放 (a, b, c, d, e × 14000)
5. AS1.223 单个原生质体释放 (a × 14000; b × 20000; c × 27000; d × 20000; e × 27000)