

质粒在大肠杆菌对噬菌体抗性中的作用

胡彦民

(河北师范大学生物系, 石家庄 050016)

质粒是存在于染色体外的遗传物质。多年来对大肠杆菌的 F 质粒、Col 质粒和 R 质粒的遗传结构、行为和分子性状等已作了深入研究。在革兰氏阴性菌中存在的质粒常常会改变细胞壁外膜的组成和特性^[1], 从而影响到细菌在自然界中的存活。质粒的这种作用也有重要的实践意义。

本文主要探讨质粒在大肠杆菌对噬菌体抗性中的作用。发现质粒的存在使细菌对某些噬菌体的感染产生抗性。其中有些抗性的产生是因为噬菌体不再吸附到大肠杆菌细胞的表面, 有些则是其他原因所致。

材 料 和 方 法

(一) 细菌菌株、质粒和噬菌体

本实验所用菌株来源于 *E. coli* K-12, 称作 *E. coli* 1829。质粒为 R124 ColV 和 1-K94。ColV, 1-K94 编码大肠杆菌素 V 和 I 的产生^[2], R124 是四环素抗性质粒^[3]。噬菌体分别为 Mel、K3、T4、T7、Tula 和 TuII*。这些菌株、质粒和噬菌体由伦敦大学学院生物系 Rowbury 教授提供。

(二) 培养基和缓冲液

液体培养基选用 Oxoid 营养液体培养基(简称 NB); 营养琼脂(简称 NA)是采用 NB 加上 2% 的 Difco 琼脂; 半固体营养琼脂(简称半固体 NA)是 NB 加 0.5% 的 Difco 琼脂。

吸附缓冲液: 34mmol/L Na_2HPO_4 、22mmol/L KH_2PO_4 、9mmol/L NaCl 、1mmol/L MgSO_4 、1mmol/L CaCl_2 , pH7.0^[4]。

(三) 噬菌体敏感试验

按文献[3]的方法, 在 4ml 半固体 NA 中加入噬菌体和受试菌, 其中含噬菌体 10^1 — 10^2 个/ml, 受试菌细胞每毫升 6.5×10^7 个。然后倒在 NA 平板上, 37℃ 培养 16 小时, 观察噬菌斑。

(四) 噬菌体吸附实验

按文献[4]的方法并加以修改。在 10ml 吸附缓冲液中加入噬菌体和受试菌, 其浓度分别为 3×10^7 个/ml 和 5×10^7 个/ml。37℃ 静置培养, 使噬菌体吸附在大肠杆菌细胞上。间隔一定时间后, 取出 1ml 上述吸附液, 在 0℃ 用吸附缓冲液稀释 100 倍终止其吸附。上述样品以 5000r/min 离心 15 分钟, 以除去大肠杆菌细胞。取上清液 0.1ml 加在含有 0.1ml 过夜培养的敏感菌 *E. coli* 1829 的 4ml 半固体 NA 中, 覆盖在事先倒好的 NA 平板上, 37℃ 培养 16 小时, 计算噬菌斑数并求出每毫升噬菌体数。

结 果 和 讨 论

(一) 质粒对大肠杆菌噬菌体敏感性的影响

用噬菌体 Mel、K3、T7、T4、Tula 和 TuII* 分别感染 *E. coli* 1829 和 *E. coli* 1829 R124、*E. coli* 1829 ColV, 1-K94, 结果见表 1。

本文于 1991 年 3 月 5 日收到。

本文是作者在伦敦大学学院生物系进修时的部分工作, 受到 Rowbury 教授的指导和帮助, 在此表示感谢。

表 1 质粒对大肠杆菌噬菌体敏感性的影响

噬 菌 体 菌 株	Mel	K3	T7	T4	Tula	TuII*
1829	S	S	S	S	S	S
1829R124	R	S	S	R	S	S
1829 ColV, I-K94	R	S	S	R	S	R

注：R表示大肠杆菌噬菌体抗性,即无噬菌斑出现;S表示大肠杆菌对感染的噬菌体敏感。

从表 1 结果可以看出, 不含质粒的 *E. coli* 1829 对上述 6 种噬菌体的感染全部敏感, 而含有 R124 质粒的同一菌株对 Mel 和 T4 噬菌体具有抗性, 含质粒 ColV、I-K94 的菌株对 Mel、T4 以及 TuII* 噬菌体产生抗性。可见该大肠杆菌对这些噬菌体的抗性是由质粒决定的。

(二) 质粒对噬菌体吸附的影响

上述出现的噬菌体抗性, 可能表现在细菌细胞壁外膜的变化上。分别用 T4、Mel 和 TuII* 对其抗性菌以及不含质粒的对照菌做吸附实验, 每间隔 4 分钟, 即 4、8、12、16 分钟时取样, 按材料和方法 (四) 求出每毫升噬菌体数。结果见图 1 和图 2。

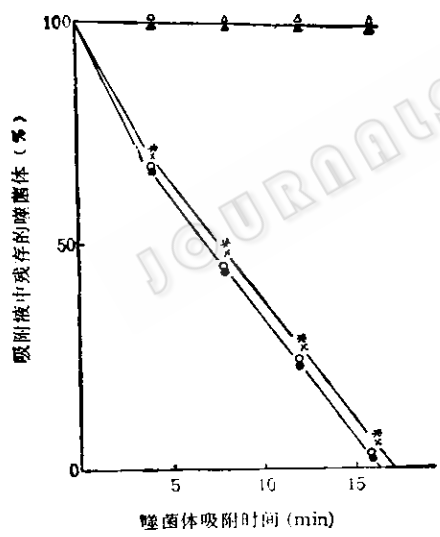


图 1 噬菌体 Mel 和 T4 对 *E. coli* 1829、*E. coli* 1829 R124 和 *E. coli* 1829 ColV、I-K94 的吸附
△—△: T4 对 *E. coli* 1829 R124 的吸附
▲—▲: Mel 对 *E. coli* 1829 R124 的吸附
—: T4 对 *E. coli* 1829 的吸附
×—×: Mel 对 *E. coli* 1829 的吸附
○—○: T4 对 *E. coli* 1829 ColV, I-K94 的吸附
●—●: Mel 对 *E. coli* 1829 ColV, I-K94 的吸附

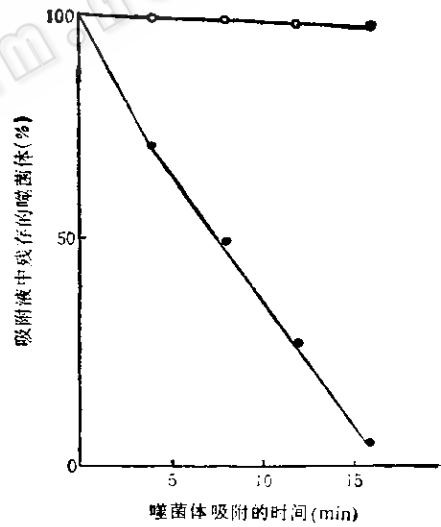


图 2 噬菌体 TuII* 对 *E. coli* 1829 和 *E. coli* 1829 ColV、I-K94 的吸附
○—○ TuII* 对 *E. coli* 1829 ColV、I-K94 的吸附;
●—● TuII* 对 *E. coli* 1829 的吸附

从图 1 可见, 对 T4 和 Mel 敏感的 *E. coli* 1829, 随吸附时间的推移, 液体里噬菌体的残存率逐渐下降, 吸附 16 分钟时已下降至 5% 左右, 说明 95% 的噬菌体已被吸附到细菌细胞的表面。而对噬菌体 T4 和 Mel 表现抗性的 *E. coli* 1829 ColV, I-K94 被这两种噬菌体吸附的结果与不含质粒的对照

很相近。

从图 2 可见, Tull 对 *E. coli* 1829 ColV, I-K94 的吸附曲线十分平稳, 吸附 16 分钟后, 几乎 98% 的噬菌体仍留在液体里; 而约 95% 的该噬菌体吸附到了不含质粒的大肠杆菌 1829 细胞上。

在大肠杆菌细胞壁的外膜上, 可以作为噬菌体吸附的受体有脂多糖和四种外膜蛋白质: OmpA, OmpC, OmpF 和脂蛋白^[6]。其中 OmpC 和脂多糖是 T4 噬菌体的受体^[6]; OmpC 还是 Mel 噬菌体的受体^[7]; OmpA 是 Tull* 的受体^[8]。吸附实验结果表明, 绝大多数的 T4 和 Mel 噬菌体未能吸附到含质粒 R124 的大肠杆菌细胞壁上, 这无疑是由于 R124 的存在改变了细胞壁外膜上 T4 和 Mel 的受体——OmpC 和脂多糖的结构或数量。同样, 质粒 ColV, I-K94 可能改变了细胞壁外膜上 Tull* 噬菌体的受体——OmpA 蛋白的组成或数量, 使得 Tull* 无法吸附而导致了大肠杆菌对 Tull* 产生抗性。至于质粒 ColV, I-K94 引起的 T4 和 Mel 噬菌体抗性, 其原因并不发生在细菌的细胞壁上, 质粒的存在可能影响到噬菌体在寄主细胞内的复制和装配等环节。

质粒可以增强寄主细胞对噬菌体感染的抵抗能力, 这对细菌在自然界中的存活有重要意义。在发酵工业中, 如能很好地利用质粒的这种特性, 可以避免令人棘手的噬菌体感染而造成的损失。

参 考 文 献

- [1] Iyer, R. et al.: *FEBS Lett.*, **85**: 127, 1978.
- [2] Hardy K. G.: *Bact. Rev.*, **39**: 464, 1975.
- [3] Rossouw, F. T. et al.: *Journal of Applied Bacteriology*, **56**: 63—79, 1984.
- [4] Heller, K. et al.: *J. Bacteriol.*, **139**: 32—38, 1979.
- [5] Lutkenhaus, J. F.: *J. Bacteriol.*, **131**: 631—637, 1977.
- [6] Henning, U. et al.: *J. Bacteriol.*, **137**: 664—666, 1979.
- [7] Verhoef, C. et. al.: *Mol. Gen. Genet.*, **150**: 103—105, 1977.
- [8] Datta, D. B. et. al.: *J. Bacteriol.*, **131**: 821—829, 1977.

THE EFFECT OF PLASMIDS ON THE RESISTANCE OF *E. COLI* TO PHAGES

Hu Yanmin

(Department of Biology, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016)

The introduction of the ColV, I-K94 or R124 plasmid into *Escherichia coli* K12 resulted in resistance to certain phages. Derivatives of *E. coli* carrying the plasmid R124 and ColV, I-K94 were resistance to the phages T4, Mel comparing with the plasmid-free parent and the plasmid ColV, I-K94 conferred resistance to the phage Tull*. It suggested that an envelope change caused by the plasmids might be responsible for the resistance because most of the phages fell to absorb to the plasmid-bearing *E. coli* cells.

Key words *Escherichia coli*; Plasmid; Resistance; Phage