

43110

噬菌作用

Я. И. 拉烏廷斯金 著

科学出版社

噬 菌 作 用

(噬菌現象及其在一些生产中意义的一般知識)

Я. И. 拉烏廷斯金著

严 幼 寬 譯

科 学 出 版 社

1957年12月

Я. И. РАУТЕНШТЕЙН
БАКТЕРИОФАГИЯ

Изд. АН СССР, Москва, 1955

內 容 提 要

本書作者首先分別闡明了噬菌體的結構、繁殖、對外界影響的抗性、變異性、在自然界的分佈、分離法和定量測定法等，然後又談到噬菌現象對於酪製造業、抗生素工業等發酵生產的意義，並且詳細敘述了微生物在噬菌體影響下的定向變異，最後還討論到噬菌體的本性問題。

這本書比較系統而又全面地闡述了噬菌現象，所述理論部分與生產實踐聯繫極為密切，並為生產部門提供了不少合理化建議。

本書適用於對微生物學、醫學以及抗生素工業等與食品製造業有關的發酵生產有興趣的工作者們。

噬 菌 作 用

[蘇] Я. И. 拉烏廷斯金著

嚴 幼 寬 譯

科學出版社出版 (北京朝陽門大街117號)

北京市書刊出版業營業許可證出字第 061 號

中國科學院印刷廠印刷 新華書店總經售

1957年1月第一版

1957年12月第一次印刷

(京)0001-1,380

書號:0934 字數:99,000

開本:850×1168 1/32

印張:4 1/8 插頁:5

定價:(10) 0.95 元

目 錄

緒論.....	1
噬菌体的結構.....	6
噬菌体的形态学.....	6
噬菌体的化学成份.....	10
噬菌体的抗原性.....	12
噬菌体的繁殖.....	16
噬菌体繁殖的規律性.....	16
噬菌体繁殖的某些特性.....	23
噬菌体溶菌作用的活化剂.....	24
噬菌体对外界影响的抗性.....	27
噬菌体的保存.....	29
噬菌体的喪失活性.....	31
能产生溶解作用的現象.....	37
能产生溶解作用的培养物.....	37
能产生溶解作用底培养物的实验获得法.....	42
能产生溶解作用性的喪失.....	45
阐明能产生溶解作用性的方法.....	46
能产生溶解作用現象的实质.....	48
噬菌体的变異性.....	55
噬菌体在自然界的分佈及其分离和定量測定的方法.....	61
噬菌体在自然界的分佈.....	61
噬菌体的分离法.....	62
噬菌体微粒数量的測定法.....	68
噬菌現象对一些發酵生产的意义.....	71
干酪制造業中的噬菌作用.....	72

干酪制造厂中噬菌体出现的来源.....	73
在干酪制造业以及乳品工业的其他部门中防治噬菌体的措施.....	76
抗生素工业中的噬菌作用问题.....	82
在抗生素工业中噬菌作用的防治措施.....	87
其他发酵生产中的噬菌作用.....	91
微生物在噬菌体影响下的变异性.....	94
对噬菌体有抵抗力的培养物.....	94
微生物在噬菌体影响下的变异性.....	108
噬菌体的本性问题.....	114
参考文献.....	122
学名及术语对照表.....	127

緒 論

1892年出現了我国学者 Д. И. Ивановский 的“論两种菸草病”的經典著作，在这一著作中曾經首次在微生物学的历史上指出：能通过細菌過濾器（即能阻擋細菌的過濾器）的最微小的病原体——所謂濾过性病毒乃是菸草花叶病的病因。

Ивановский 的標誌着微生物学發展中新時代的这一研究，曾經为新的科学——病毒学——奠定了基础。

第一个病毒——菸草花叶病病原体——的發現，乃是病毒学領域中广泛开展研究的刺激剂。此后曾經發現了許多其他能使人類、动物和植物产生各种各样疾病的濾过性病毒。

Ивановский 的發現濾过性病毒表明：在自然界中存在着最微小因子的特殊世界，它們不仅在大小和組織上、而且在許多其他特性方面都与細菌有所不同。

在廿世紀初，能够感染細菌並使它們的細胞分解或溶解（лизис）¹⁾的濾过性因子，就已为大家所知；这些因子被称为噬菌体。

微生物細胞溶解或分解的現象本身，乃是早就知道的事。这种分解能在細胞發育的一定阶段作为細胞衰老的正常生理过程而發生。在細胞發育的早期阶段，微生物細胞的溶解則作为一种病理过程而常被看到，这种病理过程可能由各种原因所引起。Н. Ф. Гамалея 曾經是首先發現微生物的溶解現象、並且詳細研究了这种現象的研究者之一。

1896年出現了他的關於炭疽桿菌在咖啡鹼影响下溶解的著作。Н. Ф. Гамалея 在其以后的著作中曾指出过：細菌細胞的溶解，

1) лизис 一字的原义是溶解，但根据近年来电子显微鏡技术的研究，也可意譯为裂解——譯者註。

可能是被他称为溶菌素的那种因素的作用所引起。当用蒸馏水处理炭疽桿菌以及其他細菌的細胞时，Н. Ф. Гамалея 成功地分离出具有使这些細胞溶解的能力的物質。Н. Ф. Гамалея 所分离出来的物質，其中有許多都具有仅使一定細菌种(вид)的細胞溶解的特殊作用；其中有某些則具有从一个試管移种到另一試管的能力。

当給动物体注射微生物时，它就能制造出一些也能使这些微生物溶解的物質，这些物質被称为溶素(лизин)。

Красильников (1938)、Красильников 和 Коренько (1938) 的研究曾經闡明：某些放線菌能制造出溶菌物質，这种物質具有严格的特異性，它仅对一定的菌株或与它相近菌株的活細胞和死細胞起作用。

此后發現了許多微生物(放線菌、真菌和細菌)都能制造出蛋白質分解酶类，或具有使活細胞和死細胞溶解能力的抗生素类型的物質。

可見，自然界中有着很多各种各样的因素，在它們的影响下，微生物細胞就能被溶解。

但是，在所有能够使微生物細胞分解的因素中，噬菌体引起了研究者們最大的注意。

應該指出，微生物細胞和噬菌体之間的相互关系，正像它在以后將被指出的，是極其多种多样和复杂的，而且並非都是导致細胞的溶解。比較正确的是將噬菌体影响下的溶解，看作是噬菌体对細胞作用的可能后果之一。但是我們應該將有关噬菌体的知識归功於它的溶解作用，因为正是噬菌体的这种特性首先引起了研究者們的注意。也还应该強調：在噬菌体的影响下，細胞的溶解与其他因素所引起的細胞的分解極不相同，它常是最完全的。

1917 年法国学者 D'Herelle 曾由感染了痢疾的腸中分离出一种特殊的因子，它能通过細菌過濾器(即能阻擋細菌的過濾器)，並能在痢疾菌上繁殖而同时使它們溶解；他首先提議將这种因子

称为噬菌体。此后曾經發現了能使最不相同的微生物溶解的各种噬菌体。

D'Herelle 將这种濾过性活性因子看作是超微生物(即最小的微生物)、細菌的寄生者,並且称它为腸噬菌体(Bacteriophagum intestinale),这意味着它是由腸分离出来的細菌的吞食者。

除了噬菌体(Бактериофаг 或簡写为 фаг)的名称外,在文献中可以看到用来表示同一現象的名称有:噬菌体溶素、溶解因子、溶解要素、D'Herelle 現象、Twort 現象、Twort-D'Herelle 現象等。

Twort 現象的名称是和英国学者 Twort 有关,他曾在 1915 年描写过葡萄球菌的溶解現象。放線菌噬菌体的名称被建議用来标明那些能使放線菌溶解的噬菌体。近年来,已广泛使用細菌病毒这一名词来标明噬菌体。

为了將噬菌体和放線菌噬菌体統一起来,Крне (1953) 使用了微生物噬体(микробофаг)这一术语。

最初噬菌体由於它对病原性微生物具有溶解作用,因而引起了許多国家的很多研究者們的注意。他們曾經多次企圖利用噬菌体来治疗和預防一些傳染病,諸如霍乱、鼠疫、腸伤寒、痢疾等。在这一問題上已积累了大量的相互矛盾的資料。但是目前大多数研究者們認為:特别是和抗生素制品的效能相比,噬菌体的治疗价值是不大的。

但是在印度利用噬菌体来防治霍乱,以及在苏联和其他国家用它来防治其他傳染病的大量实验都說明了:噬菌体可以被有成效地用来防治某些傳染病,特别是作为預防的藥品。

在苏联和外国曾經进行了許多有关利用噬菌体来防治植物病原性微生物的研究,但是在这一領域內,噬菌体还没有得到广泛的应用。

能够使根瘤菌溶解的噬菌体引起了人們很大的注意,为了研究这一羣噬菌体,曾經进行了較多的工作。但迄今还没有完全搞

清根瘤菌噬菌体对豆科作物产量影响的問題;有一些作者認為,使根瘤菌溶解的根瘤菌噬菌体,可能是豆科作物歉收的原因,另一些作者則不同意这些意見。

噬菌体对土壤中进行的微生物过程的影响很少被研究过。关于这一問題,曾有个别的有关土壤微生物个别类羣的著作被發表过;例如:已有报导指出,反硝化細菌的噬菌体能阻止反硝化过程。

近年来,研究者们对于噬菌作用这一問題的注意大大增加了。这种兴趣的增長,是由很多原因所引起的,其中有些則應該特別指出如下:

第一,噬菌体是用来解决这样重要的理論和实际問題的極其方便的对象,例如当研究:

- 1) 动植物病毒的本性,以及它們与細胞的相互作用;
- 2) 化学治疗物質和抗生素对病毒的作用;
- 3) 病毒的变異性;
- 4) 外界因素(紫外線、倫琴射線和其他因素)对病毒的影响;
- 5) 在已被病毒感染了的細胞中蛋白質和核酸的合成以及代謝

的其他方面;

第二,对噬菌現象的巨大兴趣是由於这一問題对一些生产事業已变得極其迫切而引起的。

以利用微生物生命活动为基础的各种各样工業部門的成長,为噬菌体在某些生产事業中的繁殖和傳播創造了有利的条件。由於这个緣故,在很多生产事業(干酪制造業、抗生素工業、丙酮丁醇生产、疫苗制造業等)中已看到工艺过程受到严重的破坏;这就迫使人們認真地全面研究各种生产事業中噬菌体溶菌的原因,以便拟定出防治这种現象的有效措施。

許多噬菌体的溶菌作用可能具有严格的选择性;在这种情况下,噬菌体仅能使一定种(ВНД)的培养物溶解,而且往往仅能使該种的一定的菌株或变型溶解。因此具有选择性的噬菌体被广泛地

用来鑑定培养物(Фаготипаж)。用噬菌体鑑定培养物的方法已被有效地用来鑑定人类和动物的病原性微生物,用来确定诊断以便提高流行病調查的質量,以及用来闡明种子的内部傳染病並且鑑定植物病原性細菌。

实际应用噬菌体的可能性,还不限於以上所說的。

噬菌体可以被有效地用於制备細菌的酶类;例如,根据 Sher 和 Mallette (1953) 的資料, 22 个噬菌体微粒就能使一个大腸桿菌(*Bact. coli*)細胞中佔总量 92% 的脫羧酶釋放出来,而且全部过程在二小时內就完全結束了。

噬菌体还可以被有效地用来防治微生物——一些生产事業的危害者;諸如防治乳酸菌类,乙醇和丙酮、丁醇生产的危害者,防治干酪膨脹的病原菌以及其他危害者。關於实际利用噬菌体的这种工作的有成效性,首先有賴於善於选择所必需的噬菌体,有賴於对噬菌体特性和特点的知識,並且有賴於依照研究者所面临的具体任务而善於活化或抑制噬菌体溶菌的过程。

噬菌体的結構

噬菌体的形态学

將电子显微鏡技术运用到微生物学研究的实践中,才有可能詳尽地不仅闡明了噬菌体的形态,并且还获得了有关噬菌体内部結構的某些概念。

噬菌体的微粒本性,即噬菌体是由个别微粒所組成的說法,是在电子显微鏡运用到这一領域之前就已被确定了。电子显微鏡术的資料完全証实了这一原理。

我們应当感激 Ruska (1941), Pfankuch 和 Kausche 根据在电子显微鏡下研究噬菌体而获得的有关噬菌体形态的最初的知識。1941 年 Ruska 首先成功地指出:在葡萄球菌、鏈球菌、变形桿菌、痢疾桿菌和腸桿菌的噬菌体溶解产物中,都会有特殊的小体(тельце),它具有精子形,並且是噬菌体微粒;这些小体是由以尾巴或突起为其末端的头部所構成。

过了一些时候,这些作者(以及其他作者)都曾描述过圓形和桿形的噬菌体(具有精子形的噬菌体除外)。看来,不同的噬菌体彼此不仅在外形上有区别,而且在其微粒的大小上也有所不同。同时每一株噬菌体的結構,在这方面也是很特異的,即当一定結構的噬菌体感染細菌时,仅形成該种結構的噬菌体微粒。

大多数被描述过的噬菌体都具有精子形。

这些噬菌体的头或身体可以是圓形、橢圓形或不規則圓形。只有一种附有突起的噬菌体,它的身体是桿狀的,它是 *Mycobacterium phlei* (絲桿菌) 培养物的噬菌体,具有寬度为 50—60 毫微米而長度为 150—200 毫微米的身体以及長度达 250—300 毫微米

的尾巴。不同噬菌体头部的直径,可以由45—50毫微米到45—140毫微米(多半是60—80毫微米)。

具有精子形噬菌体的尾巴或突起的大小,其厚度可以由10到40毫微米,而长度则可由100到200毫微米。Williamson 和 Bertand (1951) 仅描述过一株乳酸链球菌的噬菌体,它具有很长的尾巴,达500—600毫微米(圖4),尾巴可能是直的或弯曲的(圖1,2,3,4) 通常每一微粒仅附有一个尾巴,但也曾記載过同一微粒具有两个尾巴的情况。

迄今尚未完全搞清:噬菌体的尾巴起着什么作用,曾經發表过尾巴是运动器官的思想,但是沒有获得証实。

許多作者認為:尾巴是用来使噬菌体固定在微生物細胞上,而噬菌体的头部内含物則輸入細胞;但是某些研究者們却不贊同,他們認為噬菌体常以头部固定在細胞上,而桿狀的噬菌体則用侧面固定在細胞上(Крисс, 1953)。

圓形而沒有尾巴的噬菌体,其直径平均常由40—80毫微米,而桿狀噬菌体的大小則为 35×150 毫微米¹⁾。

当在电子显微镜下研究标本时,常能看到与头部不联的自由存在的尾巴(圖7)。根据这点曾發表了一种假設,即 Ruska 和其他作者所观察过的桿狀噬菌体是似精子的噬菌体脱离下来的尾巴。也有这样的报导,即在沒有尾巴的噬菌体上,可以發現很短的突起。

Мовсесян, Бирюзова 和 Золковер 曾观察到某些噬菌体的尾端有特殊的粗大部分。

絕大多數研究噬菌体头部結構的研究者都指出:噬菌体头部不是同質的,在噬菌体的很多标本上可以相当明显地看到內部分

1) 对比較詳細的各种噬菌体的形状和大小問題有兴趣者可参考 А. Е. Крисс 的著作“噬菌体的結構”(1953),其中引証了有关文献中記載过的噬菌体大小資料的表格。

化為一定的結構；這些結構呈種子形，它們的外形、大小和數量可以是不同的（圖8），某些噬菌體則具有膜，在標本上可以看得很清楚。

當為電子顯微鏡術準備噬菌體標本時，通常將金屬撒在它們上面，此時所用金屬的本質和撒的方法都能影響到觀察的情況；但是應該指出：無論在用金屬作對照的標本或在未加金屬作對照的標本上，都能很好地看到內部的分化，即噬菌體微粒的異質性。

所引用的有關噬菌體形態學的資料表明，似精子的噬菌體在其結構上，無疑與動物病毒和植物病毒有所不同。在人類和動物的病毒中，只有亞細亞假雞瘟（新城病）的病原體可以在電子顯微鏡中看到具有突起的圓頭外形；但該突起物乃是病毒因鹽類而變性所產生的形成物（образование）。具有圓的外形的噬菌體以及桿狀噬菌體，在其形態上與動物和植物病毒相近。

能使分類學上很遠類羣（группа）的微生物溶解的噬菌體，例如腸桿菌、乳酸鏈球菌的某些噬菌體，以及放線菌噬菌體，無論在其外形上或大小方面，彼此都可以沒有區別；但是能使同一培養物溶解的噬菌體，在其外形和結構上，卻可以彼此極顯著地有所不同；例如，在能使腸桿菌溶解的噬菌體和能使乳酸鏈球菌溶解的噬菌體以及其他種的噬菌體的結構上，就有着顯著的差異。

Крисс 和 Тихоненко（1952, 1953）所完成的對 *Bac. mycoides*（真菌形芽孢桿菌）和 *Bac. lactis aerogenes*（產氣乳酸桿菌）的噬菌體進行的電子顯微鏡研究顯然是有趣的。

曾經使這兩種具有精子外形的噬菌體遭受到5,000個大氣壓，由於這種作用的結果，噬菌體的形狀顯著地被改變了，而由似精子形變成了絲狀。

他們曾得到了不同長度的絲狀體：除了極長的（4.4—4.8微米）以外，也看到了較短的、由球形部分所構成的小鏈，按照 Крисс 的見解，它們是蛋白質巨分子（圖9）。

假如高压对噬菌体微粒的作用历时更久(168小时),或当使噬菌体微粒遭受到高浓度的尿素(36%)作用时,就可看到絲状体分解为个别球形部分。

Крисс (1953) 根据上述观察作出結論,即具有头和尾巴的噬菌体所特有的似精子的形状,乃是卷成螺旋形的絲,这种螺旋絲組成了头,而其自由的末端則是噬菌体的尾巴。按照 Крисс 的意見,在噬菌体头部所看到的內部結構是由球形部分構成的小鏈的彼此紧密相連的小圈所引起。捷克斯洛伐克研究員 Герчик (1951) 也曾描述过腸桿菌的噬菌体具有絲状体,以及由 6—8 个球形部分構成小鏈形尾巴的結構。

Крисс 認為他所获得的資料推翻了近来根据电子显微鏡研究噬菌体所發生的有关噬菌体微粒具有复杂組織的概念。

尽管上述 Крисс 和 Тихоненко 的研究工作具有明显的科学意义,但 Крисс (1953) 所作出的結論却不能令人信服。

А. Крисс 和 А. Тихоненко 所获得的絲状体(按照他們的資料),既不具有溶解活性,也沒有繁殖能力;可見,由於高压作用的結果,噬菌体微粒失去其特有的主要生物学特性。А. Крисс 曾經試驗的噬菌体微粒轉变为絲状体,以及絲状体甚至进一步分解为球状部分,都既沒有談到噬菌体微粒缺乏膜,也沒有証明其結構的“簡單”。当强迫分解复杂而有組織的細胞时,可以获得形态上一样的微粒。有关噬菌体对紫外線作用的敏感性的現有資料都証明它仍有一定的內部形态,並且噬菌体的不同部分具有生物学的不等价性(неравноценность)。对紫外線作用最敏感的乃是存在於噬菌体头部並被厚度約为 $100\text{\AA}$ 的蛋白質保护層所包围着的物質。突起物較不活潑,而且按照很多作者的意見,它是为固定在寄主細胞上用的。

應該承認,我們對於噬菌体內部結構的知識还是很不够的。

毫無疑义,进一步改善研究噬菌体的方法,特別是电子显微术

的方法,才使有可能解决这一复杂的问题。

噬菌体的化学成分

噬菌体和动植物病毒的提纯方法的改善,使有可能相当详细地研究它们的化学成分。

曾经确定,植物病毒微粒是由蛋白质和核糖核酸所组成,但它却不含拟脂类。大多数的动物病毒是由蛋白质、核酸和拟脂类所组成。

噬菌体在化学成分和形态上,都与动物病毒相近些(与植物病毒相比)。肠杆菌的噬菌体(T-羣噬菌体)的化学成分,特别是噬菌体 T_2 ,曾被最详细地研究过。表1中引证了有关噬菌体 T_2 以及人类和动物的某些病毒的化学成分的資料。

肠杆菌噬菌体 T_7 在血清学和形态学上,与噬菌体 T_2 以及 T_6 不同,而它的化学成分却和噬菌体 T_2 的成分近似。

Czaky 等(1950)引用了有关这些噬菌体化学成分的下列資料(表2)。

由表1和表2資料可知,噬菌体与动物病毒和細菌細胞(其寄主)的不同处是具有高含量的脱氧核糖核酸。曾经确定,后者是处于噬菌体的头部,而突起则由蛋白质组成。

噬菌体在拟脂类的质的成分上,与大多数的动物病毒不同;例如,噬菌体只含有中性脂肪,而病毒除中性脂肪外,还含有磷脂类和胆固醇。噬菌体在其化学成分上与細菌不同处,不仅在于脱氧核糖核酸佔多数,而且在拟脂类成分上也有所不同。細菌的拟脂类较多些,而后者完全是由噬菌体所沒有的磷脂类所组成。

肠杆菌噬菌体(T_2 , T_4 和 T_6)都含有嘧啶碱——5 羟甲基胞核嘧啶,它在含有胞核嘧啶的寄主細胞的脱氧核糖核酸中是不存在的。

噬菌体 T_5 和 T_7 都不含上述嘧啶碱。

表 1 噬菌体 T₂ 以及人和动物的某些噬菌体的化学成分
(以百分計)(按照 Beard 的資料)

	碳	氮	磷	碳 水 化 合 物	拟 脂 类			非 脂 肪 物 質				
					磷 脂 类	膽 固 醇	中 性 脂 肪	总 和	蛋 白 質	碳 水 化 合 物	脫 氧 核 糖 酸	核 糖 核 酸
噬菌体 T ₂	42.0	13.5	4.84	13.6	0	0	2.6	97.4	50.6	13.1	40.3	6.6
得自肉湯	42.3	13.3	5.22	11.7	0	0	1.8	98.2	52.4	11.2	44.6	1.3
得自合成培养基												
病毒												
牛痘	33.7	15.3	0.57	2.8	2.2	1.4	2.2	94.0	89.0	2.8	5.6	—
乳头状瘤	49.6	15.0	0.94	6.5	—	—	—	98.5	90.0	—	8.7	—
馬腦脊髓炎	62.2	7.7	2.2	4.0	35.0	13.8	9.6	53.0	49.1	7.2	—	4.4
流行性感胃 B	52.7	9.7	0.94	13.1	11.2	3.7	7.2	76.4	63.6	9.4	1.2	—
流行性感胃 A	53.2	10.0	0.97	12.5	11.3	7.0	5.1	77.5	65.0	7.3	1.5	—
大腸桿菌												
培养於肉湯中的	49.1	13.2	2.72	12.5	7.75	0	0	92.3	67.9	12.5	5.2	19.1
培养於合成培养基的	49.0	13.2	2.66	11.6	9.11	0	0	90.9	67.9	11.6	2.4	20.9

表2 腸桿菌噬菌體 T_1 、 T_2 和 T_6 的化學成分
(以%計)(按照 Czaky 的資料)

	噬 菌 體 T_1		噬 菌 體 T_2	噬 菌 體 T_6	大腸桿菌
	A 組	B 組			
氮	14.73	11.50	13.5	13.3	13.2
蛋白質	48.65	36.70	50.6	—	67.9
磷	4.18	3.46	4.84	3.95	2.72
碳水化合物	16.60	31.1	13.6	—	12.5
脫氧核糖核酸	41.10	33.3	40.3	42.0	5.2

噬菌體具有細菌所沒有的中性脂肪,但噬菌體卻沒有細菌所具有的磷脂類,以及有關某些噬菌體具有寄主細胞所沒有的 5-羥甲基胞核嘧啶的資料都說明了在寄主細胞中噬菌體形成的生理過程的一定獨立性。

噬菌體的抗原性

假如往動物皮下或靜脈內注射蛋白質、細菌培養物或是它生命活動的一定產物,那麼有機體就會製造出被稱為抗體的特殊物質。

當注射入動物體就能引起抗體形成的物質稱為抗原。

抗體是很特異的,它們具有僅與那些引起它們形成的物質(抗原)起一定反應的能力;抗體或和相應的抗原結合,或者中和它們,或使它們沉淀,或使它們溶解。

所有已知的微生物都具有抗原性,看來,所有的噬菌體也都具有特異的抗原性。

當將噬菌體注射到動物體內時,後者的血清裡就形成了僅對該噬菌體起作用的特殊抗體,這種血清被稱為抗噬菌體血清。當把噬菌體和特異性的抗噬菌體血清混合時,噬菌體就喪失活性,即