

W

微生物学译丛

WEISHENGWUXUEYICONG

上海植物生理研究所微生物研究室编

第 2 辑

上海科学技术文献出版社

微生物学译丛

(第二辑)

上海植物生理研究所微生物研究室编

*

上海科学技术文献出版社出版

(上海高安路六弄一号)

新华书店上海发行所发行

上海新华印刷厂印刷

*

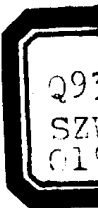
开本: 787×1092 1/16 印张: 6 字数: 149,000

1980年10月第1版 1980年10月第1次印刷

印数: 1—3,300

书号: 13192·14 定价: 0.77元

《科技新书目》172 135



目 录

1. 细菌的表面结构	1
2. 细菌的表面结构	8
3. 初级代谢产物对次级代谢的影响	17
4. 纯化和鉴定共价闭环 DNA 分子的一种新方法	26
5. 采用一种水溶液的二相分配系统分离环状 DNA 的快速方法	33
6. 一种用于测量发酵液中青霉素的酶电极：迈向用酶电极 控制发酵的一步	37
7. 电子计算机在发酵过程中的运用	43
8. 链霉菌通过原生质体融合的遗传重组	52
9. 微生物遗传学在工业发酵过程中的应用	56
10. 抗菌素合成中的障碍突变株	77

细菌的表面结构

A. M. Glauret 等

引言

本文所阐明的是研究细菌表面不同层次电镜观察时所得到的结果。为了研究细菌的表面结构,我们采用三种最常用的技术来制备细菌样品。

1. 完整菌体或离体细胞壁经固定以后,包埋在环氧树脂中,然后切成50~100毫微米的超薄切片。

2. 用冰冻蚀刻方法进行观察,首先是将一小团完整的菌体迅速冷冻与折裂,菌体蚀刻后,这期间包围菌体的一部分冰已升华,将暴露了的细菌表面做成一个铂-碳复制品。这一表面包括了留在菌体表面上的冰区域,而在冰中包埋了菌体,某些内部结构则通过开始的折裂显示出来,外表面的部分则为蚀刻所暴露。移去复制品,清理后在电镜下进行观察。

3. 对细胞壁或细胞壁碎片这类薄的标本采用负染技术是非常有效的。将涂有火棉胶-碳薄膜的电镜铜网面朝下漂浮在细胞壁的悬液上,再移至负染液上(如1%钨酸铵, pH 7)。样品干燥后即可进行电镜观察。

本文例证所选择的细菌,不论是在革兰氏阴性菌还是革兰氏阳性菌的许多属中,都具有规则排列的亚基的外部层次(Glauert 和 Thornley, 1969; Holt 和 Leadbetter, 1969; Remsen 和 Watson, 1972; Thornley, Glauret 和 Sleytr, 1974)。例证中采用的两株革兰氏阴性菌最初是从小鸡尸体中分离出来的不动杆菌(*Acinetobacter*) (Thornley, Ingram 和 Barnes, 1960)。其中一株 MJT/F 5/5, 具有六角形排列的表面层,这个形态特征在冰冻蚀刻和超薄切片所显示的细胞包膜各层次间相互关系的研究中是很有用的。另一株 MJT/F 5/199 A 是用来研究细胞包膜,包括外膜不同层次的分离和化学成分的(Thornley, Glauret 和 Sleytr, 1973; Thorne, Thornley 和 Glauret, 1973)。MJT/F 5/199 A 的外层结构具有四角形排列的蛋白质亚基,当这些亚基被拆开后能够集合成象在完整细胞中有规则排列的结构一样。对亚基的分离和自身装配的必要条件,以及亚基与下表面相结合的方式已经作了研究(Thornley, Thorne 和 Glauret, 1974; Thorne 等, 1975)。另一些已知的不动杆菌则不具有规则排列的表面亚基,所以亚基的存在并不是这一个属所具有的特性。

具有规则排列表面亚基的革兰氏阴性菌的 包膜结构(不动杆菌 MJT/F 5/5)

图 1 中除附加层(α)之外,显示了典型革兰氏阴性菌的结构。(pm)为质膜,它与细胞质相邻。细胞壁的组成是:(d)致密层,肽葡聚糖位于其中;(i)为中间区;(om)是外膜,含有脂多糖、蛋白质和类脂物;(α)亚基有规则排列成的附加层(自 Glauret 和 Thornley, 1971)。

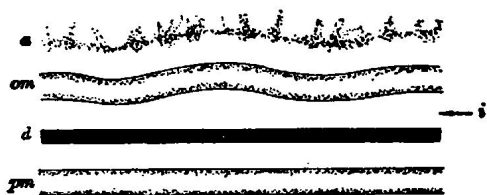


图1 在超薄切片下见到的不动杆菌 MJT/F5/5 的表面层次图。

图2是在完整细胞表面各层次超薄切片中所见到的质膜(pm),致密层(d),外膜(om)和附加层(a) (见图1) ($\times 252,000$) (自 Sleytr, Thornley 和 Glauret, 1974)。

图3是在丙三醇存在下冰冻蚀刻标本中见到的完整细胞包膜的横向折裂图。细胞壁显示了三个主要的脊,细胞壁 $_1$ (cw_1),在多处可以见到的具有双层结构的细胞壁 $_{2+3}$ (cw_{2+3})和细胞壁 $_4$ (cw_4)。图5显示了超薄切片中(图1和2)见到的这些脊和各层次之间的相互关系。图中所展现的折裂面是质膜($\widehat{pm}$)凸折裂面中的一个小区域。 C , 细胞质 ($\times 135,000$)。 (自 Sleytr, Thornley 和 Glauret, 1974)。

细胞壁 $_4$ (cw_4)。图5显示了超薄切片中(图1和2)见到的这些脊和各层次之间的相互关系。图中所展现的折裂面是质膜($\widehat{pm}$)凸折裂面中的一个小区域。 C , 细胞质 ($\times 135,000$)。 (自 Sleytr, Thornley 和 Glauret, 1974)。

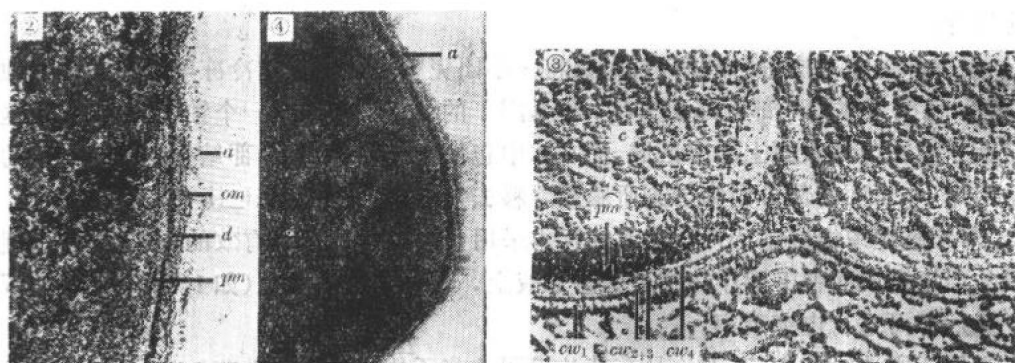


图2,3和4 不动杆菌 MJT/F5/5 的电镜照片。

图4是经过热处理后细胞的负染样品。在细胞壁的折叠棱上可以见到附加层(a),尚可见到收缩的细胞质和有规则排列的表面亚基 ($\times 135,000$)。

图5中的(A)超薄切片中见到的细胞包膜, (pm)为质膜, (d)为致密层, (om)为外膜, (a)是附加层(见图1和2)。(B)冰冻蚀刻标本经横向折裂后见到的细胞包膜(见图3)。四个主要的脊代表质膜(pm)和细胞壁的各个层次; cw_1 代表附加层; cw_{2+3} 代表外膜; cw_4 相当于致密层以及它与外膜之间的中间区。(C)从凸面见到的斜向折裂细胞包膜。蚀刻的外表面($\widehat{cw}_1$)是由附加层六角形排列的亚基所组成。包膜的以下层次交替为脊和折裂面。折裂面 $\widehat{cw}_2$ 仅偶而出现。细胞壁中的主要的凸折裂面 $\widehat{cw}_3$ 呈纤维状,从质膜($\widehat{pm}$)的内折裂面被脊(cw_4 和 r , 质膜的外面部分)所分开,并带有不规则排列的颗粒。(D)从凹面见到的斜向折裂细胞包膜,它显示了细胞质(C),质膜($\widehat{pm}$)的凹折裂面和细胞壁里面的主要凹折裂面($\widehat{cw}_2$),并由细小而致密的颗粒所组成。 $\widehat{cw}_3$ 和 $\widehat{cw}_4$ 折裂面偶尔才能见到。

无论是革兰氏阴性菌还是革兰氏阳性菌两者的包膜中最常出现的是质膜的内折裂面,它显示出不规则排列的内膜颗粒(图5,6,7,8,18和19)。此外,在革兰氏阴性菌的细胞壁内部常显示另一个主要的折裂面,而且在许多种类革兰氏阴性菌的凹折裂面上显示出许多特殊的颗粒外貌(图5和8 $\widehat{cw}_2$)。这些结果指出在所有的例证中折裂面都是在壁的相同的部位形成,但是超薄切片中见到的有关各层次的位置还存在某些疑问(Remsen 和 Watson,

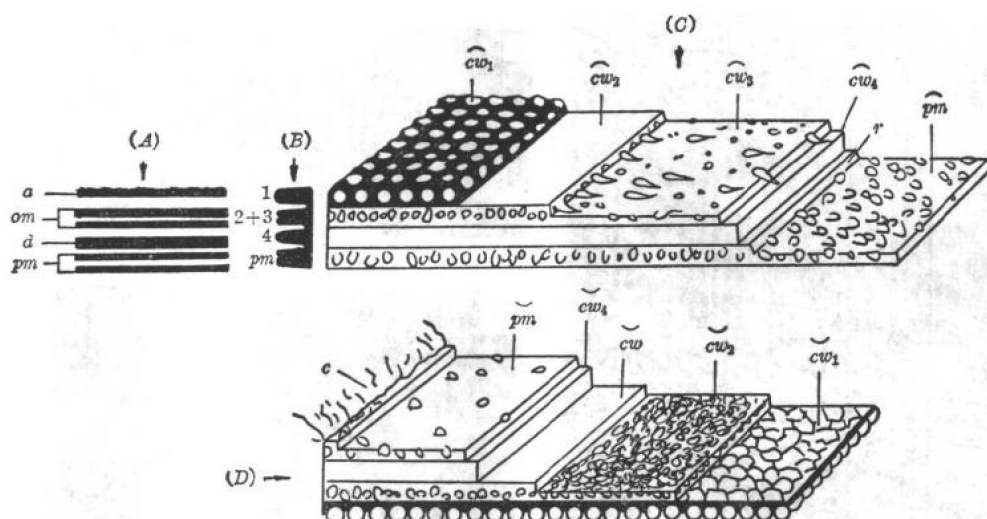


图5 表明不动杆菌 MJT/F5/5 的冰冻蚀刻样品和超薄切片中所显示的细胞包膜各层次之间的相互关系。

1972)。图5以不动杆菌 MJT/F5/5 为材料,证明凸面 $\widehat{cw}_1$ 和凹面 $\widehat{cw}_2$ 是由外膜的内折裂而产生(Sleytr, Thornley 和 Glauert, 1974)。随后在没有表面亚基的荧光假单胞菌 NCTC 10038 中获得了有关两个折裂面位置和表面结构的相似结果 (Thornley 和 Sleytr, 1974)。看来外膜的内折裂面在革兰氏阴性菌中是很常见的。

图6中外表面 $\widehat{cw}_1$ 被蚀刻所展现,它由六角形排列的亚基所组成(见图5)。细胞壁折裂的边缘显示了两个脊(箭头处)。(pm),质膜的内折裂面($\times 112,500$)。(自 Sleytr, Thornley 和 Glauert, 1974)。

图7是在丙三醇存在下的冰冻蚀刻标本中斜向折裂细胞包膜的凸面观(见图5C)。由于丙三醇的存在,被蚀刻的外表层($\widehat{cw}_1$)只暴露了一个小的区域,它显示出亚基有规则的排列。 $\widehat{cw}_2$ 的边缘在细胞壁中与主要的凸折裂面相邻, $\widehat{cw}_3$ 的表面显示出放射状排列着的纤维和一些颗粒和低洼。 $\widehat{cw}_4$ 和质膜(r)外面部分的边缘,紧接着质膜(pm)的内折裂面($\times 80,000$)。(自 Sleytr, Thornley 和 Glauert, 1974)。

图8.用溶菌酶短暂处理,并在丙三醇存在下,细胞经冰冻蚀刻后细胞包膜通过斜向折裂的凹面观。可以见到 $\widehat{pm}$, $\widehat{cw}_2$ 和 $\widehat{cw}_1$ 等凹折裂面, $\widehat{cw}_2$ 显示出由致密的颗粒所组成(见图5D)($\times 80,000$)。

图9,冰冻蚀刻后的标本可以见到表面四角形排列的亚基。亚基相互间成排的构成 80° 角($\times 160,000$) (自 Sleytr 和 Thornley,

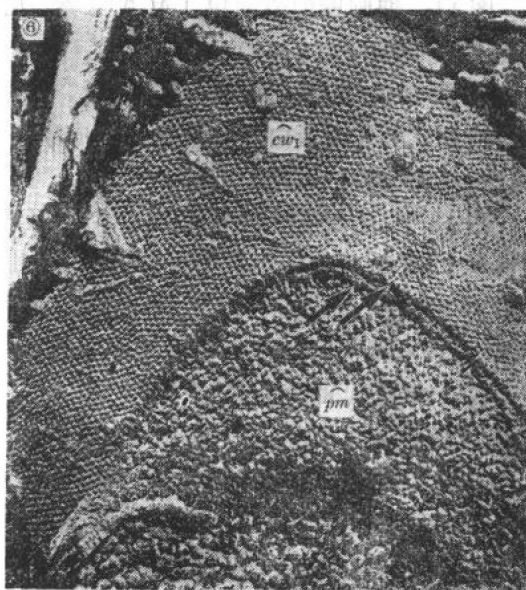


图6 不动杆菌 MJT/F5/5 冰冻蚀刻标本的电镜照片。

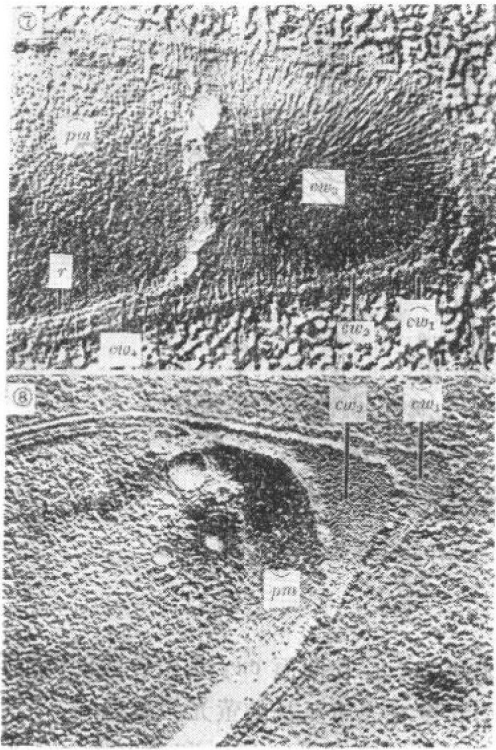


图7和8 不动杆菌 MJT/F5/5 冰冻蚀刻标本的电子显微图片。

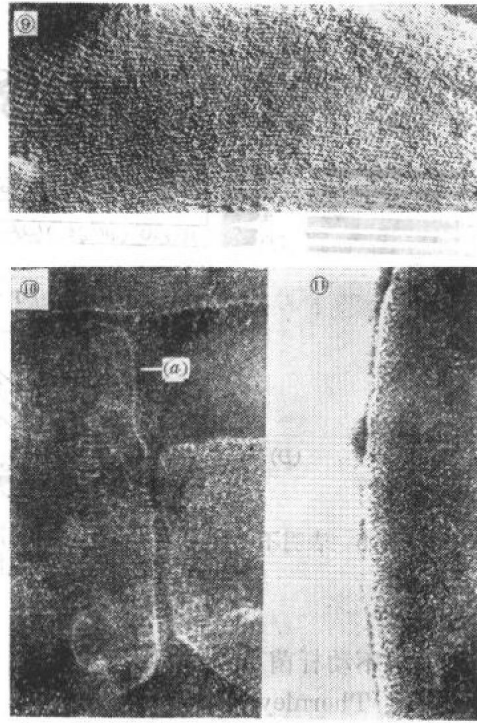


图9,10,11 不动杆菌 MJT/F5/199 A 的电镜照片。

1973)。

图10, 离体细胞壁的负染标本。细胞壁上覆盖着一层规则排列的亚基, 在细胞壁(a)碎片卷曲的边缘部位显得格格外清楚($\times 160,000$)。

图11。细胞壁的表面用 $1M$ 的尿素, 在 $37^{\circ}C$ 下处理 2 小时, 用蒸馏水洗涤后, 这种亚基就不再见到($\times 160,000$)。

图12 中的细胞壁抽提物经过透析, 然后在 $20mM$ $MgCl_2$ 的条件下, 于室温放置 30 分钟。被分离的表面蛋白质自发地装配成象在细胞壁表面所见到的那种大小相同的排列阵式(同图10 相比较)($\times 160,000$)。

图13 中, (a)完整细胞壁; (b) $2M$ 尿素处理后的细胞壁; (c) $2M$ 尿素抽提物; (d)用 $10mM$ EDTA 处理后用蒸馏水冲洗后的细胞壁; (e) $10mM$ EDTA 抽提物; (f) EDTA 处理后再用水洗; (g)用 $10mM$ EGTA 处理后用蒸馏水冲洗后的细胞壁; (h) $10mM$ EGTA 抽提物; (i) EGTA 处理后再用水冲洗。

(A) 带是代表被尿素、EDTA 和 EGTA 所溶解的表面亚基。亚基是一个分子量为 $65,000$ 的酸性蛋白质(自Thornley, Thorne 和 Glauert, 1974)。

这里所列举的革兰氏阳性菌(或革兰氏可变菌)是芽孢杆菌属和梭状芽孢杆菌属, 它们中间许多种在营养细胞表面都含有规则排列的亚基 (Holt 和 Leadbetter, 1969; Sleytr 和 Glauert, 1975), 但某些种则没有亚基存在。Brinton, McNary 和 Carnahan (1969)曾描述了一种具有四角形排列亚基的短芽孢杆菌, 它的亚基被提取后, 具有自身装配成弯曲薄层的性质, 如同在细菌表面所见到的那种型式一样。Aebi 等曾用光衍射和过滤技术对相同菌株



图 12 不动杆菌 MJT/F 5/199 A 细胞壁的尿素抽提物,再经过负染后标本中亚基的排列。

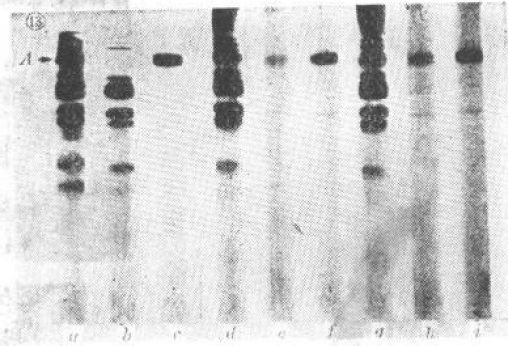


图 13 化学处理后细胞壁的 SDS 丙烯酰胺凝胶电泳。

的详细型式加以描述(1973)。Brinton, McNary 和 Carnahan (1969)与 Howard 和 Tipper (1973)(他们把 Brinton 的菌株分类为球形芽孢杆菌)的化学研究表明,这种亚基是由一个分子量为 150,000 的蛋白质所组成,它占细胞总蛋白的 16%。这里所阐述的是从甜菜榨糖厂中分离并在 68°C 条件下生长的两种嗜热梭状芽孢杆菌,嗜热硫氢梭状芽孢杆菌(*Clostridium thermohydrosulfuricum*)的表面亚基是六角形排列的;而嗜热解糖梭状芽孢杆菌(*Clostridium thermosaccharolyticum*)的表面亚基是四角形的。Hollaus 和 Sleytr(1972)曾指出这些表面亚基排列的差别可以作为区分两个种类关系很密切的菌株间的一个附加分类学特征。

具有规则排列表面亚基的革兰氏阳性菌的包膜结构

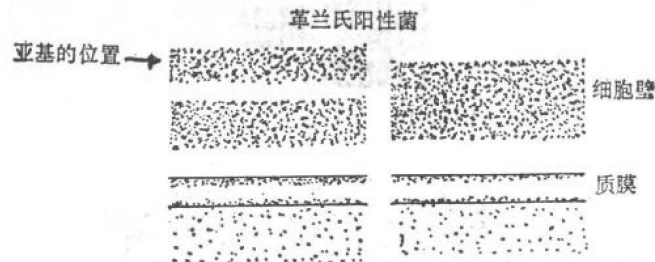


图 14 例图说明在超薄切片中所见到的革兰氏阳性菌包膜结构。

图 14 中发现细胞壁是由两层致密染色层被一个较小致密层或者是被一个相同密度单层所分开。亚基有规则的排列于细菌表面致密层的外部(自 Thornley, Glauert 和 Sleytr, 1974)。

图 15, 溶化后细胞表面层次的超薄切片,可以见到质膜(*pm*)和细胞壁(*cw*)。细胞壁显示两层很薄的致密层,被一层较宽的密度较低的中间层分开($\times 160,000$)。

图 16, 溶化细胞的负染标本。细胞质已经收缩,在细胞壁的表面见到有规则排列的亚基($\times 80,000$)。

图 17, 从细胞上分离下来的表面亚基排列的负染标本($\times 160,000$)。

图 18, 表面具有规则排列的亚基。细菌蚀刻的外表面上见到亚基(*a*)的型式。 $\widehat{pm}$ 为质

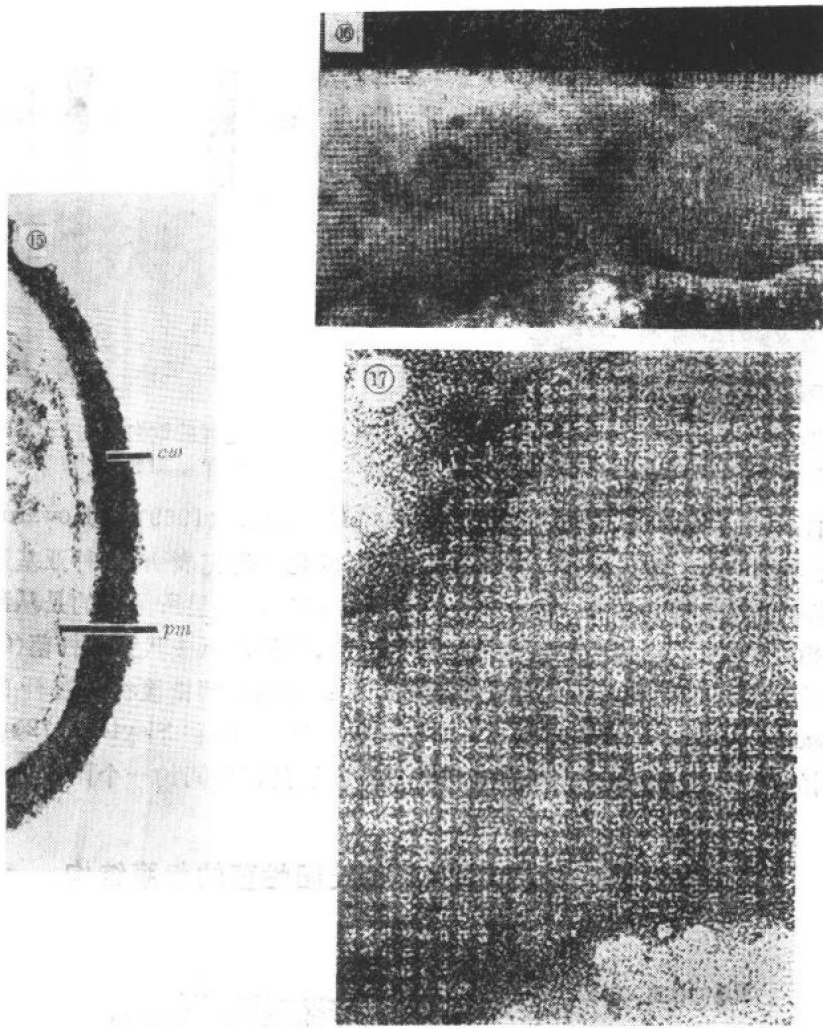


图 15,16 和 17 短杆菌的电镜照片。

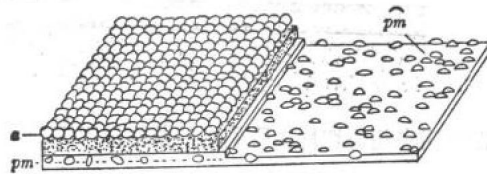


图 18 冰冻蚀刻标本中所见到的革兰氏阳性菌(或革兰氏可变菌)的细胞包膜图。

膜的内折裂面。

图 19, 蚀刻后的细胞外表面(a)可以见到六角形排列的亚基, $\widehat{pm}$ 为质膜的凸折裂面(见图 18)。也可见到一个相邻细菌质膜($\widehat{pm}$)的凹折裂面。 f , 鞭毛($\times 80,000$)。

图 20, 嗜热硫氢梭状芽孢杆菌细胞表面的分裂地方是由小晶体拼起来组成的, 它的有规则六角形亚基型式的方向是不一致的。 f , 鞭毛($\times 96,000$)(自 Sleytr 和 Glauert, 1975)。

图 21, 嗜热解糖梭状芽孢杆菌表面亚基排列成四角形的型式。在细胞的分裂位置上, 表面是由小晶体组成的。 f , 鞭毛($\times 96,000$)(自 Sleytr 和 Glauert, 1975)。

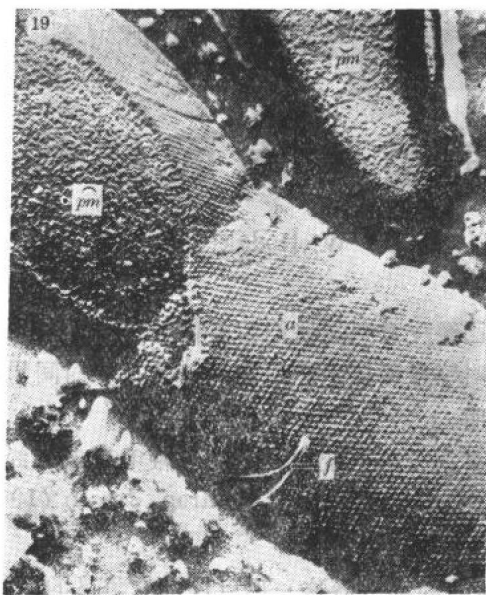


图 19 革兰氏可变菌嗜热硫氢梭状芽孢杆菌冰冻蚀刻的电镜照片。

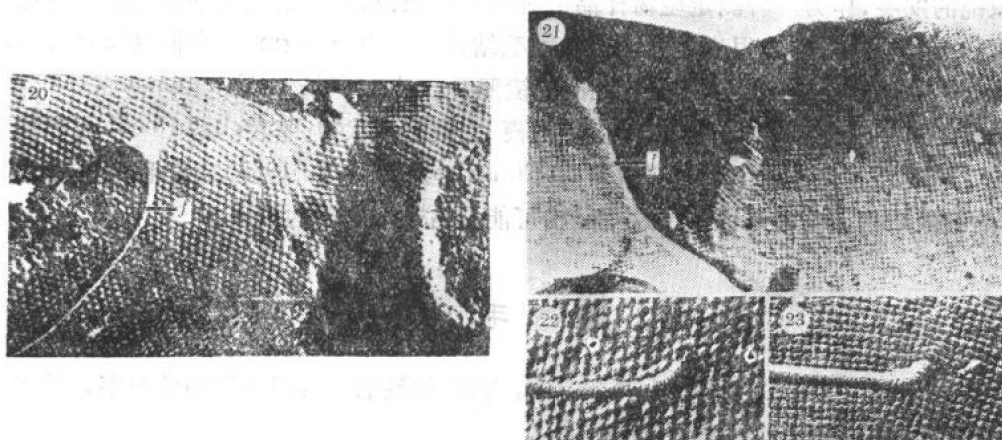


图 20, 21, 22 和 23 两种梭状芽孢杆菌冰冻蚀刻的电镜照片。

图 22, 嗜热硫氢梭状芽孢杆菌的表面上一根鞭毛插入的位置。在细菌表面外侧的钩状区具有特殊的带状结构。表面亚基的六角形规则排列稍稍被鞭毛所干扰($\times 160,000$) (自 Sleytr 和 Glauert, 1975)。

图 23, 嗜热解糖梭状芽孢杆菌表面上鞭毛插入的位置。表面亚基的四角形排列被鞭毛扭歪, 有几排亚基呈弯曲状($\times 160,000$) (自 Sleytr 和 Glauert, 1975)。

参 考 文 献

(略)

译自《Microbial Ultrastructure》31~47, 1976(英文)

吴经纶译 焦瑞身校

细菌的表面结构

W. Hodgkiss 等

从十九世纪初人们就已经注意到某些细菌有鞭毛。可是,直到特殊的鞭毛染色方法出现和比较精致的暗视野照明等显微技术应用前的一段很长时间内,对鞭毛与细菌的运动有关这一点一直没有得到阐明。

在应用光学显微镜的早期分类系统中,运动和鞭毛形成已经成为重要的分类标准。这方面已经做了许多的研究,Leifson (1960),Lautrop、Jessen (1964) 和Rhodes (1965)等作了进一步综述。

然而,对鞭毛是细菌运动的细胞器这一观点还是有争议的(Pijper, 1964),但是这些有争论的观点和意见上的分歧却引起人们对细菌鞭毛形成的研究产生了更大的兴趣。随着电子显微镜的发展,作为一种测定生物样品的研究工具来说,由于它比光学显微镜具有更高的放大率和分辨力而很快地用来研究细菌的鞭毛结构。其中 Kingma Boltjes (1948),Rinker 和 Koffler (1951)最早发表了细菌鞭毛的电镜照片。Houwink 和 Van Iterson (1950)在同期也发表了重要的文章。这些作者不仅证明鞭毛、鞭毛钩状物、基粒(basal bodies)和鞭毛束等结构,同时还首先描述了以后叫做须毛(Fimbriae)(Duguid, 1955)或纤毛(Pili)(Briton, 1959)的细微结构。同时还提出了这些结构可能是粘着细胞器的假说。

鞭 毛

现在对于鞭毛的研究主要分为两个方面。首先是鞭毛本身超微结构的观察,其次是与细菌鉴定和分类学有关的鞭毛形成研究。

鞭毛的超微结构

鞭毛可以通过金属投影式负染技术在电镜中观察到,如果细心操作,还能在超薄切片中见到它。鞭毛呈弯曲状的细丝,直径通常为12~20毫微米,长度约为6~8微米。在培养物中鞭毛的直径通常是不变的,但长度却变化很大。细菌的鞭毛是由细丝、近端钩状物和基粒等三个部分组成。

细丝是由鞭毛蛋白(flagellin)组成的一根纤维。已经报道了许多巧妙的用鞭毛蛋白来测定细丝合成的方式(Asakura, 1970; Wakabayashi, 1974; Gerber, 1973)。显然,细菌的细丝与原生动物和藻类的鞭毛的复杂结构是不相同的(Sleigh, 1974)。但不论怎样,鞭毛的超微结构已经在负染和正染方法中见到(Lowy 和 Hanson, 1965; Smith 和 Koffler, 1971; O'Brien, 1972),嗜热硫氢梭状芽孢杆菌(*Clostridium thermohydrosulphuricum*)的细丝是空心的(Sleytr 和 Glauert, 1973),但是否所有的细菌都那样尚不清楚。某些细菌,特别象弧菌(*Vibrio*)的细丝外面包着一层外鞘(Follett 和 Gordon, 1963; Glauert, 1963; Fuerst 和 Hayward, 1969)。这种使细丝的总直径达到35毫微米以上的外鞘的功能还未进行研究。

细菌的鞭毛是通过近端钩状物固定在基粒上的。这种钩状物已经得到分离 (Abram, Mitchen-Koffler 和 Vatter, 1970; Dimmitt 和 Simon, 1971), 并证明它与鞭毛细丝有不同的抗原, 这就指明钩状物与鞭毛细丝是由不同蛋白质组成的。最近 Kagawa, Asakura 和 Iino (1973) 证实不同种之间的钩状物同样存在抗原性的差异。

基粒被认为是鞭毛合成的位置, 它与鞭毛的活动和控制有关 (图 1 和 2)。De Pamphilis 和 Adler (1970 a, b) 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌鞭毛的超微结构已作了详细的描述。

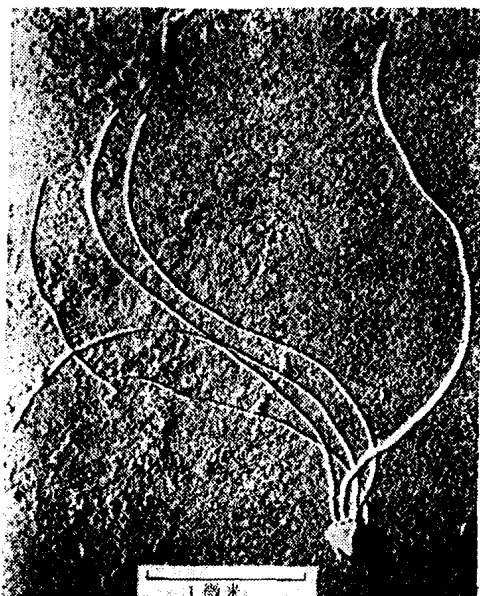


图 1 脱落的假单胞菌基粒和鞭毛的金属投影标本。

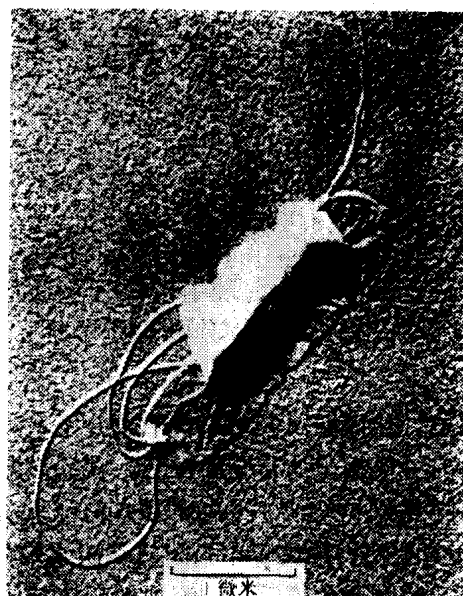


图 2 显示基粒和鞭毛的假单胞菌的金属投影标本。

鉴定和分类学

有关鉴定和分类学中鞭毛形成的研究 Rhodes (1965) 已作了评述, 在 Leifson (1966) 发表的细菌分类学评论中曾呼吁人们对分类学中被忽视的方面要做深入的研究。但是他们的文章中引证了文献中的一些错误结果, 为此 Leifson 很后悔在他的文章中引用那些不确切和不适当的例证。鞭毛形成的特征之所以容易被忽视不单是由于鞭毛染色技术的困难和由此而得到含糊的结果 (Hodgkiss 1960, 1964), 也可能由于电镜使用上的困难。通常, 细菌学家可以用一系列现有的方法对分离的菌株加以鉴定而不求助于检验这一特征 (Cowan, 1974)。如革兰氏阳性菌中的芽孢杆菌与梭状芽孢杆菌, 出现在乳酸杆菌属和棒状杆菌类群中的极少数运动性菌株, 鞭毛形成的类型都不是诊断学上的特征。有关水生和食物微生物学中的鉴定上的问题是因为嗜冷的革兰氏阴性棒状杆菌不如嗜温的肠道菌研究得那样广泛。这些微生物在快速诊断方法上发展得很慢, 在血清学方面的研究也尚待探索。

有关鞭毛和分类学的最初概念并没有因为电子显微镜的应用而有所改变。电子显微镜与光学显微镜相比, 它具有大得多的分辨力而能获得更为确切的图像, 还保留了样品的某些三维结构。可是有关鉴定上的问题并不要求很确切的图像。最近, 对于已经识别的副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) 和裂藻弧菌 (*V. alginolyticus*) 类群 (Fujino 等, 1974) 引起了食品卫生学家的极大兴趣, 在某些培养物中菌体是由极生鞭毛组成 (图 3), 有些则由周生

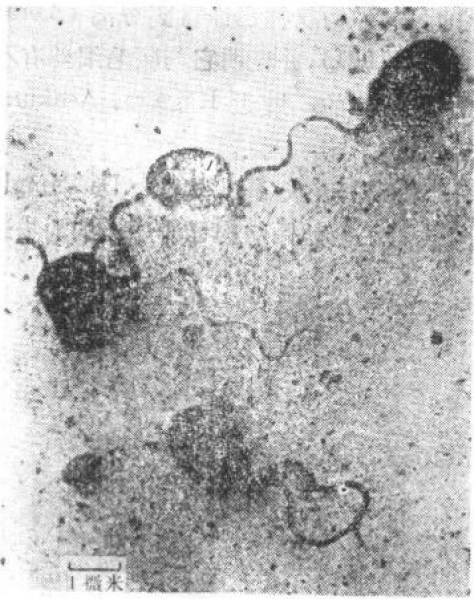


图3 显示极生鞭毛形成的副溶血性弧菌的负染标本。

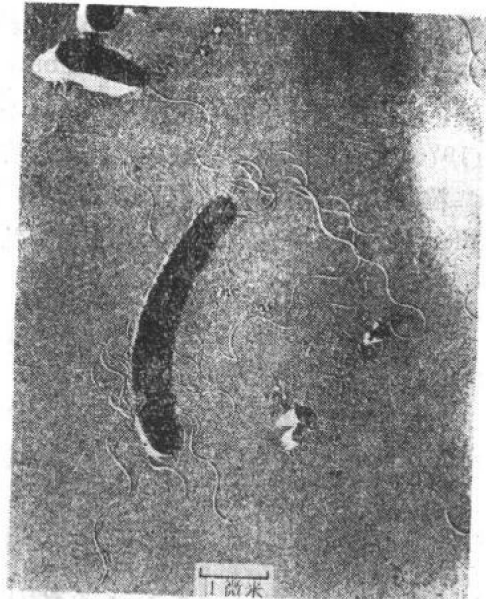


图4 显示混合鞭毛形成的副溶血性弧菌的金属投影标本;一个菌体是极生的,一个是周生的。

鞭毛组成,然而在同一培养物中也会显示两种类型的菌体(图4)。在周生鞭毛菌株的菌体上也长着一根极生的带鞘的鞭毛,它的形态与 Hendrie, Hodgkiss 和 Shewan (1970)定为荧光杆菌属(*Lucibacterium*)的某些海洋发光细菌非常相似(Houwink 和 van Iterson 于1950年曾在他们的文章中描述过从淡水中分离到一个这种形态类型的细菌)。

当上述有周生鞭毛的副溶血性弧菌菌体和发光细菌菌体悬浮在2.5%(w/v)氯化钠溶液中以后,许多鞭毛脱落,而其中一部分结合成束(图5)。已报道了一些能产生这种束状物的细菌,Ulitzur 和 Kessel(1973)描述了一株裂藻弧菌束状物的形成(图6)。在细菌培养物的

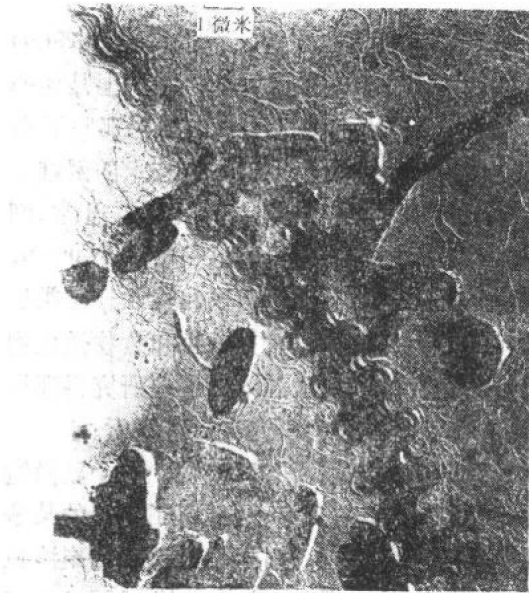


图5 表示鞭毛束形成早期的副溶血性弧菌的金属投影标本。

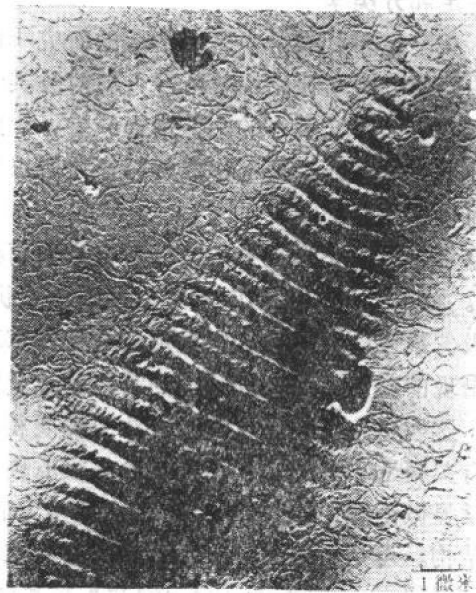


图6 显示了鞭毛束的裂藻弧菌的金属投影标本。

鉴定中鞭毛脱落就显得很重要，而且需要仔细的加以观察。然而我们相信上述单极生鞭毛菌体是不产生这一过程的。

Leifson 和 Hugh(1953)曾叙述海洋细菌混合鞭毛的形成，Sneath(1956,1960)和 Leifson(1963)描述了色杆菌(*Chromobacterium*)混合鞭毛的形成，他(Leifson, 1960)肯定了产气单孢菌(*Aeromonas spp.*)也能出现这种现象，然而 Hodgkiss 和 Shewan (1968) 在电镜研究中却没有见到这一过程。某些腐败极毛杆菌(*P. putrefaciens*)在液体培养时是形成极生鞭毛的，而在营养琼脂培养中鞭毛形成则变为主要是侧生的或完全周生的(图7和8)。在产碱杆菌属和一些“非活性”的假单孢属(Shewan 类群 III 和 IV, Hobbs 和 Hodgkiss, 1960)



图7 生长在胰蛋白胨(tryptone)液体中(20°C, 48小时)的腐败极毛杆菌金属投影标本。

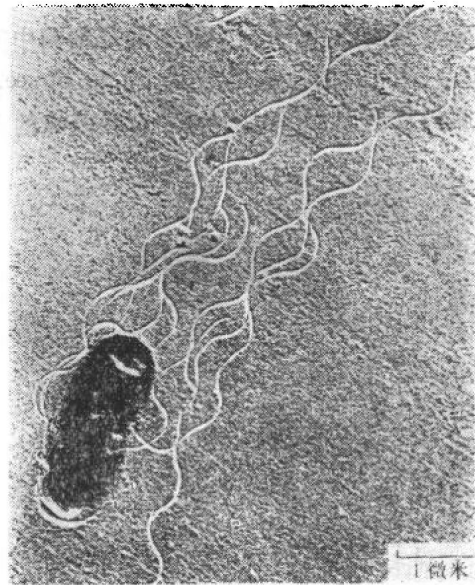


图8 生长在营养琼脂上(20°C, 48小时)的腐败极毛杆菌金属投影标本。

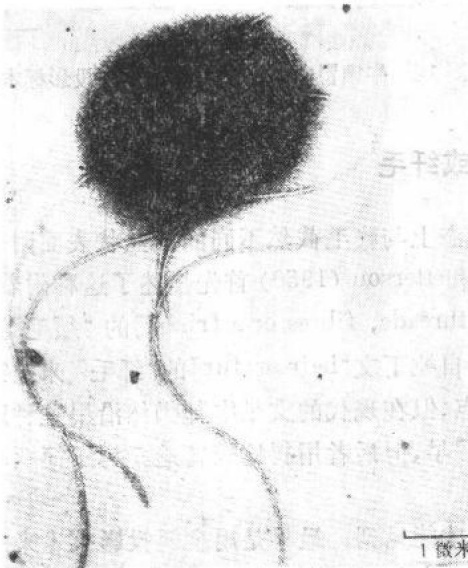


图9 运动性海洋活动球菌的负染标本。

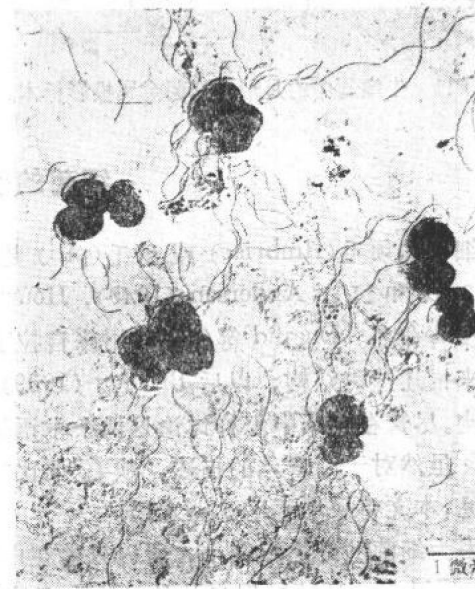


图10 尿素八叠球菌的金属投影标本。

之间,唯一的区别就在于鞭毛形成。这就是将这些细菌归集在一起,要比根据尚未确切研究的特性就把它们分开来得好。在这些有争议的讨论中,有必要指出,要把这个特征用在分类学上看来还要作长期的努力,因为对一个诊断细菌学家来说这并不是很有实用价值的建议。用分辨力为 200 毫微米的光学显微镜来研究直径为 20 毫微米或者更小的结构所得到似乎是确切的结果,这种日子已经过去了。

在 1974 年 10 月的 SAB 论证会议上,既论证了“正常”鞭毛形成,又论证了某些奇怪的现象。在例图中包括了活动球菌属(*Planococcus*) (Koeur 等, 1970) 中的运动性海洋球菌(图 9),尿酸八叠球菌(*Sarcina ureae*) (图 10)——用来驳斥 Pijper 的理论带有特别鞭毛的月形单孢菌(*Selenomonas spp*) (图 11) 而特别选择的模式。

应该指出,这里没有涉及到的是细菌中间还存在其它形式的运动。这包括螺旋体(*Spirochaetes*) (图 12) 的特殊运动(Jahn 和 Bovee, 1965),弯曲杆菌属(*Flexibacteriales*) 的滑动和一些摩氏杆菌属(*Moraxella*) 及有关菌株的表面运动(Henrichsen, 1972)。

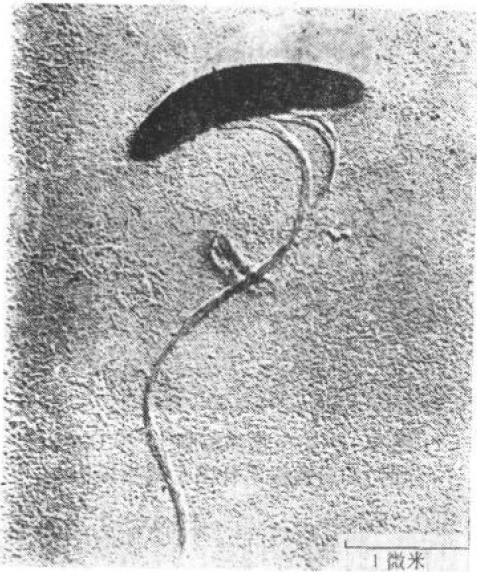


图 11 牛瘤胃中的月形单孢菌金属投影标本。

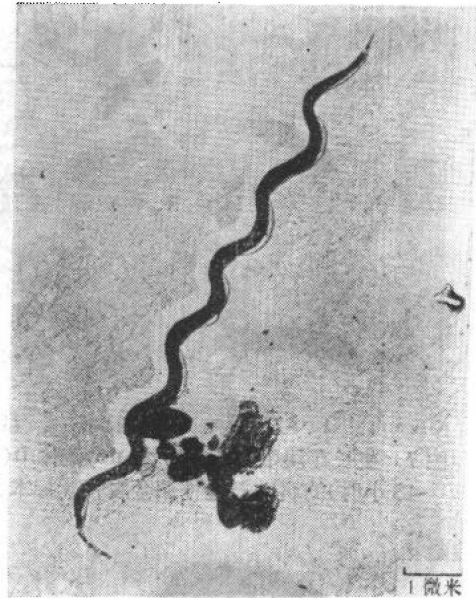


图 12 牛瘤胃中的巨大螺旋体金属投影标本。

细菌的须毛或纤毛

细菌的须毛(fimbriae) 或 纤毛(pili) 是在形态上与鞭毛截然不同的细丝状表面附着丝(图 13,14 和 15)。Anderson (1949), Houwink 和 Iterson (1950) 首先描述了这种附着丝,但是没有命名。Duguid 等(1955)用来自拉丁文“threads, fibres or a fringe”的“须毛”这一术语来描述这种结构,以后 Brinton (1959)用来自拉丁文“hair or fur”的“纤毛”来描述同一结构。尽管在文章中怎样讨论这两个术语的优点,但在现代的文献中却仍然沿用这种双重术语。虽然对于附着丝的描述,“须毛”要比“纤毛”早,但后者用得比较普遍。为了简明和清楚起见,本文将采用纤毛这一术语。

因为细菌的纤毛很细小,所以只能在电镜下才能见到。最早是用金属投影技术来观察的(Duguid 等, 1955),但自从负染法出现后使这一技术更加趋于完美(Thornley 和 Horne,

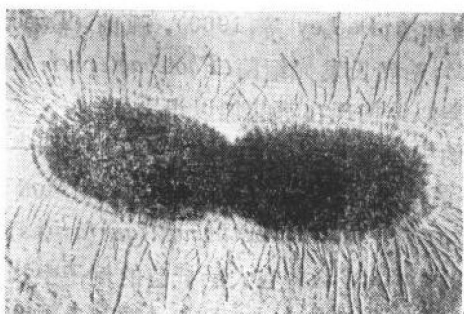


图 13 沙门氏菌纤毛的金属投影标本
($\times 35,200$)。

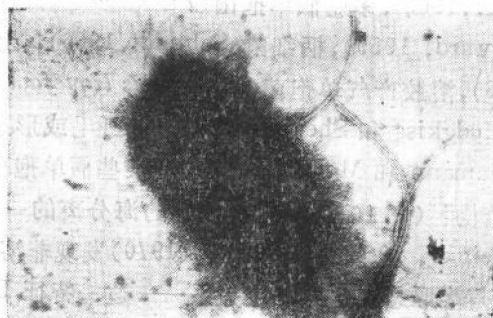


图 14 沙门氏菌纤毛的负染标本
($\times 27,600$)。

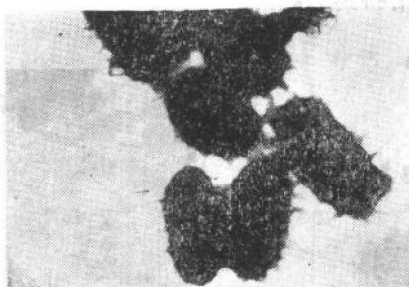


图 15 特异性凝集的沙门氏菌纤毛负染标本($\times 22,440$)。

1962)。从此纤毛就可以在它的投影复制物(Swanson, 1973)和超薄切片的研究中加以识别(Swanson, Kraus 和 Gotschlich, 1971; Novotny, Short 和 Walker, 1975)。

暂且不谈性纤毛,它是这个章节中另一个题目, Brinton (1965)列出了主要从肠道菌中分离到的五种类型细菌纤毛。他对 I 类型的纤毛作了详细研究(类似于 Duguid, Anderson 和 Campbell 后来描述的 I 类型纤毛, 1966)。纯化技术证实纤毛是由最小分子量为 17,000 的蛋白质(纤毛蛋白)所组成。纤毛的精细结构通过电镜, 结晶学和 X 线衍射的研究证明它大量均匀地分布在细菌的整个表面,其直径近似 7 毫微米, 长度为 0.5~2 微米, 还有一个 2~2.5 毫微米的空心结构。纤毛蛋白的亚基排列成螺旋的型式,螺距约为 2.3 毫微米。

Duguid, Anderson 和 Campbell (1966)和其它作者列出了他们多次在肠道菌中所描述过的六种类型细菌纤毛。这些不同类型的纤毛可以通过形态、对甘露糖敏感或者抗性的血球凝集素的存在,或将这些因子结合起来加以区别。Duguid 和他的同事也提出纤毛在分类学上的重要性问题,但事实上它早已成为研究细菌粘着性问题的一种手段。他们表明培养条件可以改变纤毛的形成,也讨论了这些细菌的传染性和生活史。Duguid 和 Campbell (1969)还深入研究了沙门氏菌 I 类型纤毛的抗原性,并作了以下结论,粗的或纯化的纤毛抗血清能够凝集许多种异源血清类型的长着纤毛时期的细菌。

肠道菌中 I 类型纤毛的物理、化学性质和附着性都已做了详细的记录。大量的革兰氏阴性菌,特别是从自然界中新分离的菌株,如沙门氏菌(Duguid 等, 1966),志贺氏菌(Duguid 和 Gillies, 1957),产气克氏菌(Duguid, 1959; Thornley 和 Horne, 1962),肠道菌(Constable, 1956; Duguid, 1959),粘质赛氏杆菌(Duguid, 1959),变形杆菌(Duguid 和 Gillies, 1958; Coetzee, Pernet 和 Theron, 1962; Shedden, 1962; Hashimoto 等, 1963 a, b, 1966;

Hoeniger, 1965), 多刺假单孢菌(*Ps.echinoides*) (Heumann 和 Marx, 1964), 假单孢菌(Fuerst 和 Hayward, 1959), 柄细菌(Schmidt, 1966), 土壤杆菌(De Ley 等, 1966), 弧菌(Tweedy 等, 1968), 溶胶产气单孢菌(*Aeromonas liquefaciens*), 哈费氏发光细菌(*Photobacterium harveyi*) (Hodgkiss 和 Shewan 1968) 等的纤毛或形态类似结构现在都能加以识别了。

Heumann 和 Marx (1964) 表明某些假单孢菌的极生须毛参与典型的细胞凝聚体——“星状结构”(图 16), 而且从波罗的海分离的一个菌株也存在类似结果 (Ahrens, Moll 和 Rheinheimer, 1968)。Bovre 等 (1970) 发现非溶胶摩氏杆菌(*Moraxella nonliquefaciens*) 的须毛和菌落形态之间有一定关系——这一特征 Brinton (1965) 曾在大肠杆菌的例子中指出过。最近, 许多实验室将另些有纤毛的瘤状梭形菌(*Fusiformis nodosus*) 和淋病奈氏球菌作为他们的研究对象。在探索阐明纤毛的物理、化学和抗原等性质时所有的结论都是根据纤毛可能引起细菌致病性的作用得到的。

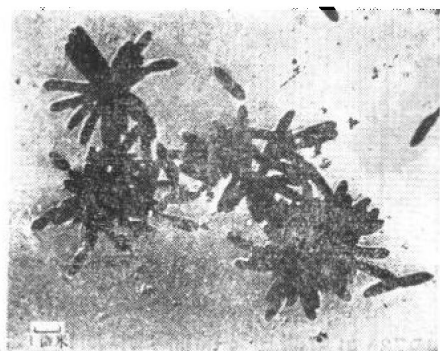


图 16 显示星状结构形成的假单孢菌金属投影标本。



图 17 瘤状梭形菌幼龄细胞负染标本显示的纤毛($\times 20,400$)。

大家知道具有高度传染性的绵羊足根病是由于厌气的瘤状梭形菌(*Fusiformis nodosus*)与坏死梭形菌(*F. necrophorus*) 结合而引起的。这些原始分离的菌株都长有大量的纤毛 (Short 和 Thornley 未发表)。菌体进一步培养, 在对数生长期长有大量的纤毛。负染法显示了菌体的两端长着簇状的纤毛, 直径近似于 6 毫微米, 长度达 5 微米(图 17)。到了生长的静止期和衰老期纤毛数量则急剧下降。Walker 等 (1973) 表明用长有大量纤毛的细菌接种动物产生血清的抗体主要是针对纤毛的(图 18)。这个发现是很重要的, 因为接种过的动物血清凝集作用的效价和防治疾病之间的关系建立起来了。但是以后的许多研究工作指出, 或许细菌表面携带的另一些抗原也是重要的, 也可能纤毛凝集原的类型是专一的。但是 Duguid 等 (1969) 在沙门氏菌研究中得到的看法是恰好相反的。因此在绵羊足根病防护作用中纤毛的功能尚未完全了解之前, 深入的研究是很有必要的。

Jephcott 等 (1971) 和 Swanson 等 (1971) 分别发现淋病奈氏球菌(Kellogg 等, 1963) 的 1,2 类型有毒菌落是有纤毛的, 但是在 3,4 类型的无毒菌株中, 纤毛对毒力的作用尚未引起注意。Swanson 等 (1971) 曾描述菌体上的纤毛数是可以变化的, 长度为 0.5~2.0 微米, 直径在 8.0~10.0 毫微米之间。在酸性条件下纤毛产生明显的侧向凝聚作用, 在超薄切片或负染法观察时纤毛凝聚体显示出模糊的 5.0 毫微米周期性的变化。Jephcott 等 (1971) 表明纤毛的直径只有 5~5.5 毫微米, 在低的 pH 条件下得到的粗凝聚物经初步分析, 其主要成分不是脂肪和蛋白质。