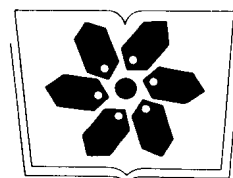


噬菌体图谱

何能波 司穉东 余茂効 等著

科学出版社



中国科学院科学出版基金资助项目

噬菌体图谱

何能波 司穉东 余茂劭 等著

科学出版社

1991

(京)新登字092号

内 容 简 介

本图谱主要描述国内在科研、教学和生产中接触到的有关噬菌体的形态和结构,对其中一些典型代表和生产中重要的噬菌体进行较详细的叙述,少数几株典型代表噬菌体引自国外实验室。全书共收集280帧图片,附有文字说明,对少数疑难图像进行了图解分析。

本书可供病毒学、微生物学、分子生物学、医学和发酵工业等方面的实际工作者、科研人员和高等院校有关师生参考。

噬 菌 体 图 谱

何能波 司穉东 余茂効 等 著

责任编辑 王惠君

科 学 出 版 社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100707

中国科学院印刷厂 印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1991年10月第 一 版 开本:787×1092 1/16

1991年10月第一次印刷 印张:9 插页:2

印数:0001—760 字数:199000

ISBN 7-03-001852-4 / Q · 264

定 价: 49.00元

参加本图谱工作的人员名单

广东省微生物研究所

何能波 陈见璋 薛汉煌 张云武 林彩婵
卢汉逵 苏淑卿 张蔼琳

中国科学院上海植物生理研究所

司穉东 王家驹 戈宝榛 朱素娟 戴小密

中国科学院微生物研究所

余茂劲 贾盘兴 徐 星 那淑敏 许峰锋

序 言

对有经验的观察者来说,经常可以利用电镜技术直接比较噬菌体和进行即速鉴定,从而提供快速的诊断手段,并能省却参照噬菌体和花费在血清学研究方面的时间。噬菌体有的具有尾部,有多面体的、丝状的或多形态的。在电镜下经过研究的噬菌体,其中有95%是有尾噬菌体,其形态各异,相互之间在大小、头部形状、尾部结构方面以及固着器官都不相同,这表明比任何别的病毒组,包括痘病毒在内,有较多的形态变化,这可能是由长期进化史决定的。有尾噬菌体在微生物界中是如此独特,似乎它们脱离细菌要比文献中记载的日期要早,可能已有30亿年,因而它们有时间分化。一些不同类别的多面体的、丝状的和多形态的噬菌体组是很小的,有的仅有一个成员或只由几个成员组成,易于使用电镜技术鉴定。根据形态学也能预测一些理化性质,例如已知所有有尾噬菌体都有一条线状双链DNA。因此观察到尾部可以推测核酸的性质,并进一步确定衣壳大小与核酸含量和颗粒重量之间的关系。电镜技术在目前出现的噬菌体地理分布领域中也是一种重要的工具,如在相距甚远的联邦德国和新西兰都曾发现形态特征相同的链球菌噬菌体。

噬菌体的研究是病毒学和分子生物学的重要分支。噬菌体也是唯一有重要应用价值的病毒。有些噬菌体是有害的,在乳品工业高度发展的西方国家中,噬菌体在破坏菌种引子的培养中制造了严重的混乱,使乳酪制造业遭受巨大的经济损失。在世界各地噬菌体破坏着有机酸、醇、溶剂、抗生素和酶的生产。各种细菌发酵都受到影响,在类别繁多的工业细菌,如芽孢杆菌属、短杆菌属、梭菌属、乳杆菌属、假单胞菌属、链球菌属和链霉菌属中都已报道存在有害噬菌体。在工业发酵中噬菌体的破坏,看来对工业微生物学中的特殊条件是一种不可避免而必然产生的后果,这种条件就是大量体积的培养基和遗传特性多少为同源的细菌处于非无菌状态的发酵罐中,从而建立了经典的纯种培养,不正常的发酵必然会再现。因此,其重要意义在于研究包括从环境中污染的噬菌体和溶源性工业细菌所携带的温和噬菌体。随着工业中越来越多使用改变了遗传特性的细菌,有害噬菌体的重要性可能会递增。

另一方面,噬菌体可能是有益的,其中有许多已应用于人类致病菌的分型噬菌体,例如伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、志贺氏菌(*Shigella* sp.)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)。这些噬菌体在流行病学中起着重要的作用,利用它们可追踪病害的传播,甚至可检测出个别带菌者。新的分型方案不断在公布,而文献中各种分型方案所使用的噬菌体总数已达到1500左右。另一种应用是噬菌体治疗,虽然开始的进展并不理想,曾被抗生素完全替代,目前只在少数地方对垂危病例作冒险治疗而使用着。但是,由于抗药性细菌的扩散,致使利用详知特性的噬菌体及其相应特征以进行噬菌体治疗,可能会重新引起人们的兴趣。最后,噬菌体载体在遗传工程中是十分重要的工具。无论在噬菌体分型、噬菌体治疗或遗传工程中的应用,务须熟悉这些噬菌体的形态以便进行验证。

虽然早在1940年已经利用电镜来观察噬菌体,但还没有一本噬菌体的图谱。1973年

出版了一册名为《动物病毒和噬菌体的超微结构》的图谱 (Academic Press, 纽约), 它主要介绍哺乳动物的病毒, 仅仅描述了 11 种已知的噬菌体。这是一件憾事, 一本图谱应是重要的教学辅导读物, 对初学者有指导意义, 而对有经验的科学工作者应是参考文献。

因此, 这本图谱弥补了这一空白。图谱主要取材于中国的噬菌体, 它对研究噬菌体的生态学作出了巨大的贡献; 例如, 西方科学工作者将会从中发现, 某些在北美或欧洲发现的噬菌体类型也存在于中国, 并广泛地分布在全世界。由于日益广泛地使用电镜于鉴定工作, 所以本书的出版是适时的。目前噬菌体微生物学已发展到诊断阶段, 希望这本图谱能促使这一学科得到更进一步的发展。

加拿大 魁北克省 拉瓦尔大学医学院
微生物系医学博士
H.-W. Ackermann 教授

PREFACE

Electron microscopy of phages allows instant comparison and, often for an experienced observer, instant identification. It thus provides a ready means of diagnosis and may obviate the need for reference phages and lengthy serological investigations. Phages may be tailed, cubic, filamentous, or pleomorphic. Tailed phages, which constitute over 95% of all isolates studied in the electron microscope, are morphologically highly diversified, differing from each other in size, head shape, tail structure, and fixation organelles, showing more morphological variations than any other virus group, including poxviruses. This is probably due to a long evolutionary history. Tailed phages are so ubiquitous in the bacterial world that they seem to antedate the separation of present-day bacteria and may be as old as 3 billion years. Tailed phages then have had time for differentiation. The various groups of cubic, filamentous, and pleomorphic phages are small, sometimes consisting of one or only a few members. Again, these groups are readily identified by electron microscopy. Morphology also enables the prediction of certain physicochemical properties. For example, it is known that all tailed phages contain a single piece of linear double-stranded DNA. Observation of a tail thus permits inferences on the nature of the nucleic acid. Further correlations can be made between capsid size and nucleic acid content and particle weight. Electron microscopy is also an important tool in the emerging field of phage geography; for example, *Streptococcus* phages with the same morphological characteristics have been found in countries as far apart as West Germany and New Zealand.

The study of phages is a major branch of virology and molecular biology. Phages are also the only viruses with important practical applications. Some phages are harmful. In Western countries where the dairy industry is highly developed, phages have created havoc in destroying bacterial starter cultures, causing significant economic losses in cheese manufacture. Throughout the world, they have disrupted the production of organic acids, alcohols, solvents, antibiotics, and enzymes. Every kind of bacterial fermentation may be affected and nuisance phages have been reported in a great variety of industrial bacteria, for example the genera *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, and *Streptomyces*. Phage disruption of industrial fermentations appears as an inevitable consequence of the special conditions of industrial microbiology, namely nonsterile fermentors containing large volumes of nutrient media and genetically more or less homogeneous bacteria. Classical monocultures are thus created and faulty fermentations are bound to recur. It is important then to study the phages involved, both the contaminants from the environment and the temperate phages carried by lysogenic industrial bacteria. The importance of nuisance phages is likely to increase as

genetically modified bacteria are used in industry.

On the other hand, phages may be friendly. Many of them are used as typing phages for such human pathogens as *Salmonella typhi*, *Shigella* species, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, to name a few. These typing phages are playing an important role in epidemiology, where they are used to trace the spread of an infection and even to detect individual carriers. New schemes continue to be published and the total number of phages in the various typing schemes of the literature is about 1,500. Another application is phage therapy, although it got off to a poor start, has completely been superseded by antibiotics, and is now practiced in a few places only as a heroic cure for desperate cases. The spread of antibiotic-resistant bacteria, however, is such that phage therapy, using well-known, specific phages with proper indications, may regain interest. Finally, phage vectors are important tools in genetic engineering. Whether used in phage typing, phage therapy, or genetic engineering, the morphology of these phages must be known for identity control.

Although phages were observed in the electron microscope as early as 1940, there is no phage atlas available. An atlas entitled "Ultrastructure of Animal Viruses and Bacteriophages" was published in 1973 (Academic Press, New York), but it was devoted mainly to mammalian viruses and only described 11 well-known phages. This is regrettable, an atlas is a great teaching aid, a valuable introduction for the beginner, and a reference document for the confirmed scientist.

This atlas therefore closes a gap. Dealing specifically with phages from China, it also makes an important contribution to phage ecology; for example, the Western scientist will find it interesting to learn that certain phage types that occur in North America or Europe, are found in China too and have a world-wide distribution. The present work comes at an opportune time because of the increased availability of electron microscopes and identification schemes. Phage microbiology has now progressed to the diagnostic stage and hopefully will be further advanced by this atlas.

H.-W. Ackermann, M.D. Professor
Department of Microbiology
Faculty of Medicine
Laval University
Quebec, Canada

前 言

编写一本噬菌体图谱的建议是在 1977 年 9 月由北京的同行在中关村向广州的同事们提出的。经过多次探讨,大家认为最近 20—30 年来,国内电镜技术发展很快,在噬菌体方面的研究和应用也不例外,能使人们更多地认识微观世界。从我们过去在工作中积累的资料,结合生产中广大实际工作者、科研和教学人员、大专院校学生和志趣者的需要,充实内容,提高质量,系统分析,可以汇编成一册图谱。这一设想在 1978 年 10 月受到上海同行的热烈支持,他们也早已酝酿这一设想,极为欢迎大家共同协作,为图谱作出贡献。至此,一册主要取材于国内生产、教学和研究工作的,包括工、农、医方面噬菌体图谱的构思已经形成。值得指出,科学出版社热诚支持出版国内第一本基本上取材于国内的噬菌体图谱,这对我们是极大的鼓励。

为了编写好这册图谱,我们反复讨论了它的任务和应该达到的目的。使图谱有效地结合国情,为读者服务,不仅要全面地考虑在研究、教学和生产中的实用意义,而且应根据国际病毒分类委员会提出的准则进行分类安排和形态学的探讨。由于我们的工作所涉及的领域有限,时间也不长,所收集的资料不够全面,只好在可能的情况下,向读者尽量提供较多的基本数据。在制片方法和电镜技术方面,通过长期工作,积累了不少成功和失败的经验;在图像分析和观察方面,也有一些尝试,这些都是前人经验的继续,编写在一章中,供同行和初参加这方面工作的人员参考,希望能有一些用处。

在编写中,无疑存在不少意想不到的困难,提出一两件实例就可以窥测全貌。一部分电镜照片是在未能利用当地电镜而长途跋涉到羊城协同完成的;有些较满意的照片是付出较大的代价,利用几乎要报废的日立 HS—7S 电镜进行观察而获得的。此外,从 1979 年 6 月到 1984 年 5 月,由于我们中的部分作者赴欧美一些实验室工作,不得不暂时放慢了工作的进度,同时也影响了出版计划,我们谨对热心的读者深表歉意,只能尽快完成正待结束的工作,以弥补一些损失。

在这本图谱即将出版的前夕,回忆发展的经过,我们一致认为:合作是谐调和成功的,工作是卓有成效的。在定稿中,通过相互诚挚的商讨,不断地去粗取精、提高和完善,以求达到更高的水平。不少国内外同行对图谱的汇编十分关心,并提出许多宝贵的建议,尤其 Ackermann 教授提供了许多宝贵资料,裘维蕃、朱既明和洪涛教授都详细审阅了初稿,并提出了中肯的意见,我们谨在此表示真诚的谢忱。最后,我们感谢科学出版社的同事们,他们为图谱的编辑、艺术加工和印刷付出了辛勤的劳动,使这册图谱能及早地送到读者的手中。我们竭诚地欢迎读者的批评和建议,这无疑将会有助于图谱的修订。

作者

1986 年 7 月于北京

目 录

序言	i
前言	v
1. 噬菌体的分类	(1)
1.1 有尾噬菌体	(2)
1.2 多面体噬菌体	(5)
1.3 丝杆噬菌体	(6)
1.4 芽生噬菌体	(6)
2. 研究噬菌体的电镜技术	(7)
2.1 支持网和膜	(7)
2.2 噬菌体悬液的制备	(10)
2.3 电镜样品的染色	(11)
3. 噬菌体电镜照片	(13)
肌尾噬菌体科 Myoviridae	(13)
长尾噬菌体科 Styloviridae	(53)
短尾噬菌体科 Podoviridae	(104)
微小噬菌体科 Microviridae	(111)
轻小噬菌体科 Leviviridae	(113)
丝杆噬菌体科 Inoviridae	(116)
其他	(119)
噬菌体名称目录	(127)
参考文献	(132)

1. 噬菌体的分类

噬菌体随着它们的宿主广泛地分布在自然界，至今已在 90 属以上的原核生物，包括细菌、放线菌、蓝绿藻^[54]中都已发现它们的存在。此外，在螺旋体属和支原体中均有噬菌体的报道^[15]，至于在真核生物中的绿藻也可能存在噬菌体，尚需作进一步的肯定。从生理和生态方面考虑，噬菌体的宿主中有好氧和厌氧的、自养和异养的、喜温和喜冷的、嗜盐的细菌。

噬菌体是一类形态繁多而又各异的个体，具有多面体、丝杆状的多形型的成员。它们的大小范围波动颇大。噬菌体颗粒内含单链或双链的 DNA 或 RNA，呈现线状或环状结构，核酸存在于蛋白质外壳之中，有些噬菌体的蛋白质外壳中含有脂质。噬菌体的分类与动植物病毒的分类相似，通常根据颗粒的大小形态和核酸的性质，进行初步的区分。依照国际病毒分类委员会细菌病毒分委员会提出的准则^[15]，利用上述和其它标准，结合沿用的 Bradley^[21]分类和随后 Ackermann 和 Eisenstark^[18]的改进，将噬菌体区分成 10 个主要类群，后又区分成 18 种基本形态型^[18, 53](图 1 和表 1)。在这册图谱中，我们采取上述系统来安排所收集和观察到的噬菌体。

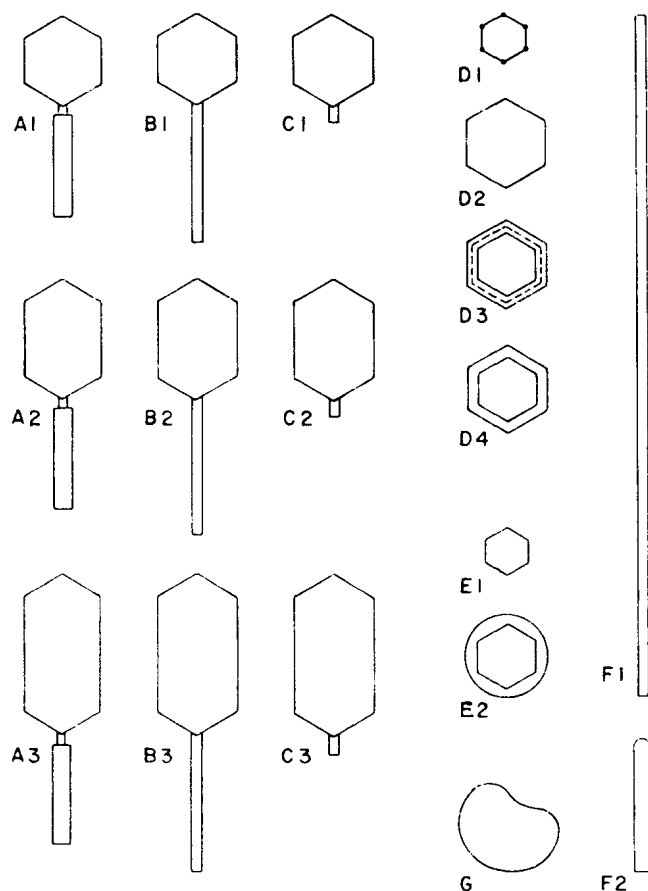


图 1 噬菌体的基本形态型^[53]，参照修改后的 Ackermann 和 Eisenstark 系统^[18]。

表 1 噬菌体的基本性质

形态型	科属	代表株	核酸			病毒颗粒		
			性质	%	分子量 $\times 10^6$	对称	囊膜	脂质
A	肌尾噬菌体科	T2	ds DNA,L	49	120	二重	—	—
B	长尾噬菌体科	λ	ds DNA,L	54	33	二重	—	—
C	短尾噬菌体科	TT	ds DNA,L	51	25	二重	—	—
D1	微小噬菌体科	Φ X174	ss DNA,C	26	1.7	多面体	—	—
D3	覆盖噬菌体科	PM2	ds DNA,C,S	14	6	多面体	—	+
D4	复层噬菌体科	PRD1	ds DNA,L	14	9	多面体	—	+
E1	轻小噬菌体科	MS2	ss RNA,L	30	1.2	多面体	—	—
E2	囊状噬菌体科	Φ 6	ds RNA,L,3 段	10	10.4(2.3,3.1,5.0)	多面体	+	+
F1	丝状噬菌体属	fd	ss DNA,C	5.5—12	1.9—2.7	螺旋状	—	—
F2	杆状噬菌体属	MVL51	ss DNA,C		1.5	螺旋状	—	—
G	芽生噬菌体科	MVL2	ds DNA,C,S		7.6	多形型	+	+

注:数据来自 Ackermann^[15]和 Matthews^[48]。L, 线状的; C, 环状的; S, 超螺旋的; +, 有; —, 无

1.1 有尾噬菌体

有尾噬菌体系指肌尾噬菌体科(Myoviridae)、长尾噬菌体科(Styloviridae)和短尾噬菌体科(Podoviridae)的成员,按其尾部结构可分成 A, B 和 C 三种基本形态型。A 型噬菌体具有可收缩的尾部,属肌尾噬菌体科;B 型噬菌体具有长而不收缩的尾部,属长尾噬菌体科;C 型噬菌体有很短的尾部,属短尾噬菌体科。每一型按其头部的形状可再分成三种亚型,1 型的头部呈现等轴的,2 型和 3 型的头部延长,按其长宽比例决定其归属:

$$A2 = 1.2-1.4; B2 = 1.2-1.4 \text{ 和 } 1.8; C2 = 1.1-1.4;$$

$$A3 = 2.4; B3 = 3-3.4; C3 = 3.5^{[18]}。$$

有关有尾噬菌体的大小和物化性质, Reanney 和 Ackermann 等人^[53]对包括 662 株噬菌体的 8 属 112 种细菌进行了总结(表 2),从中可以获得一般的看法。

表 2 有尾噬菌体的大小和物化性质^[53]

性质	平均值	变化幅度
病毒颗粒		
头部直径(nm)(限于等轴)	72	37—180
尾部长度(nm)	—	3—539
分子量($\times 10^6$)	92	47—490
沉降速度(S20, w)	551	282—1042
浮力密度(g / ml)CsCl	1.48	1.41—1.54
DNA		
百分数	46	25—62
分子量($\times 10^6$)	59	12—490
G+C %	48	28—70

有尾噬菌体是最广泛存在的噬菌体,它们拥有线状双链 DNA,在形态上明显的特征是它们具有不同大小的头部和可收缩和不收缩的尾部,有些噬菌体具有较复杂的尾部附属器官,如基片、尾丝、刺突和颈圈等。从表 3 中可见,在所列出 2038 株噬菌体中 B1 型占 859 株,包括十分不同的宿主属种。从进化角度考虑,一般认为有尾噬菌体是一类古老的噬菌体,其理由之一是这种生物合成尾部的基因早于革兰氏阴性和阳性细菌分化之前存在。

表3 有尾噬菌体的分布

按 Bergey 手册分组	宿主(属)	形 态 型									总计
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	
1	<i>Rhodopseudomonas</i>		1		3			2			6
2	<i>Cytophaga</i>	28			2						30
	<i>Flexibacter</i>	1									1
	<i>Myxococcus</i>	9						3			12
	<i>Saprospira</i>	1									1
3	<i>Sphaerotilus</i>					1					1
4	<i>Ancalomicrobium</i>				3						3
	<i>Asticcacaulis</i>				17	4	3				24
	<i>Caulobacter</i>	4			6	2	33	3			48
	<i>Hyphomicrobium</i>				1			3			4
5	<i>Borrelia</i> (?)	1									1
	<i>Leptospira</i>	1									1
	<i>Spirochaeta</i> (?)			1							1
	<i>Treponema</i>	1			1						2
6	<i>Azospirillum</i>				2						2
	<i>Bdellovibrio</i>	3	1								4
	<i>Campylobacter</i>	5			8						13
7	<i>Acetobacter</i>	1									1
	<i>Achromobacter</i>	13			5			2			20
	<i>Agrobacterium</i>	3			23	8		5			39
	<i>Alcaligenes</i>	4			7			1			12
	<i>Azotobacter</i>	12			2			6			20
	<i>Bordetella</i>				3						3
	<i>Brucella</i>							45			45
	<i>Gluconobacter</i>	1									1
	<i>Halobacterium</i>	3			3						6
	<i>Methylobacter</i>							1			1
	<i>Methylocystis</i>							1			1
	<i>Methylomonas</i>	1									1
	<i>Methylosinus</i>							14			14
	<i>Pseudomonas</i>	52	1		37	10		43			143
	<i>Rhizobium</i>	29	1		32	18	1	20			101
	<i>Thermus</i>	1									1
	<i>Xanthomonas</i>	4			7	8		1			20
8	<i>Enterobactera</i>	127	104	6	153	11	2	154		12	569
	<i>Actinobacillus</i>	1									1
	<i>Aeromonas</i>	26	7					1			34
	<i>Flavobacterium</i>				14						14
	<i>Haemophilus</i>	2			1						3
	<i>Pasteurella</i>	10			8			7			25
	<i>Vibrio</i>	38	2		9	8		31	1		89
9	<i>Bacteroides</i>				9						9
	<i>Desulfovibrio</i>	1									1
	<i>Fusobacterium</i>	1						1			2
10	<i>Acinetobacter</i>	8	1			4		4			17
	<i>Neisseria</i>	3						1			4

(续表 3)

按 Bergey 手册分组	宿主(属)	形 态 型									总计
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	
11	<i>Veillonella</i>				2			2			4
12	<i>Thiobacillus</i>	1									1
14	<i>Micrococcus</i>				12						12
	<i>Leuconostoc</i>				4						4
	<i>Staphylococcus</i>	23			62	34		1			120
	<i>Streptococcus</i>	14			227	70	5	8	4	1	329
15	<i>Bacillus</i>	31			139	12	3	2	19		306
	<i>Clostridium</i>	75	1		43	12		21			152
16	<i>Caryophanon</i>	1			2	1					4
	<i>Erysipelothrix</i>				1						1
	<i>Lactobacillus</i>	28			40	1					69
	<i>Listeria</i>	2			30						32
17	<i>Actinomyces</i>							1			1
	<i>Actinoplanes</i>	1									1
	<i>Arthrobacter</i>				5			1			6
	<i>Bifidobacterium</i>				1						1
	<i>Brevibacterium</i>				7						7
	<i>Brochothrix</i>	1			1						2
	<i>Corynebacterium</i>				77						77
	<i>Dactylosporangium</i>				1						1
	<i>Kurthia</i>								2		2
	<i>Micromonospora</i>				3						3
	<i>Micropolyspora</i>				1						1
	<i>Mycobacterium</i>	1			53	20					74
	<i>Nocardia</i>				9						9
	<i>Nocardioidea</i>				2						2
	<i>Oerskovia</i>				1						1
	<i>Promocromonospora</i>				1						1
	<i>Propionibacterium</i>				10						10
	<i>Rhodococcus</i>				8						8
	<i>Streptomyces</i>	2			58	32		1			93
	<i>Thermoactinomyces</i>				1	2		1			4
	<i>Thermonospora</i>		1		2			1			4
18	<i>Porochlamydia</i>							1			1
19	<i>Acholeplasma</i>							2			3
	<i>Mycoplasma</i>	1			1			1			3
	<i>Spiroplasma</i>				1			1			2
	<i>Cyanobacteria</i>										
	<i>Anabaena</i>	3						2			5
	<i>Anacystis</i>	2									2
	<i>Plectonema</i>							3			3
	<i>Synechococcus</i>	3			3			2			8
	<i>Chlorella</i>							2			2
		684	120	7	1164	254	47	402	26	3	2 721
	总数		811			1469		441			

注: 截止期 1985 年 2 月 28 日, H.-W. Ackermann 和 M.S.DuBow; Viruses of Prokaryotes. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL USA (私人通讯)

表 4 多面体、丝杆状和多形噬菌体的分布

按 Bergey 手册分组	宿主(属)	形 态 型										总计
		D1	D2	D3	D4	E1	E2	F1	F2	F3	G	
4	<i>Camlobacter</i>					8						8
6	<i>Aquazpivillum</i>		1									1
	<i>Bdellavibrio</i>		1			7 ?						87
7	<i>Alteromonas</i>			27								27
	<i>Pseudomonas</i>					2	1	2				5
	<i>Xanthomonas</i>							3				3
8	肠道细菌	29				23		15				67
	<i>Vibria</i>							3				3
	多价噬菌体				6	1		2				9
15	<i>Bacillus</i>				8							8
18	<i>Acholeplasma</i>								13		3	16
	<i>Myeoplasma</i>								1			1
	<i>Spiraplasma</i>	1							1			2
	<i>Thermopratems</i>									3		3
	总 数	30	2	27	14	41 ?	1	25	15	3	3	1367

截止期 1985 年 2 月 28 日, H.-W Ackermann 和 M.S. DuBow; Viruses of Prokaryotes. CRC Press, Inc. Boca Racton, Fl. USA. (私人通讯).

1.2 多面体噬菌体

多面体噬菌体包括在形态上属于 D1, D2, D3, D4, E1 和 E2 各型的噬菌体, 很明显从形态上不同于有尾噬菌体。它们之间在分类上的位置也不相同, 至今已报道的数量不多, 只存在于少数几属宿主菌中。

微小噬菌体科(Microviridae) 是一类含单链 DNA 的噬菌体, 颗粒呈现 20 面体, 直径约 27nm, 分子量约 6.7×10^6 , 有 12 个衣壳体, 在其每个顶角有一组结状刺突。核酸分子量约 1.7×10^6 , 占颗粒重量 26%, 35—60% G+C 量^[48]。代表株为 $\Phi X174$, 属于 D1 形态型。

D2 型噬菌体尚未命名, 对它们的核酸了解不清楚, 是一类含 DNA 噬菌体, 无囊膜, 颗粒直径大于 60nm。其中有一类感染螺菌, 可能含有双链 DNA^[53]; 另一类感染蛭弧菌, 也含有 DNA。

覆盖噬菌体科(Corticoviridae) 的成员含有环状超螺旋双链 DNA, 分子量约 6×10^6 , 占颗粒重量 14%, 含 43% G+C 量。颗粒呈 20 面体, 直径约 60nm, 顶角有刷状刺突。无囊膜。衣壳由多层壳构成, 在内外壳间的双层是由脂质形成的, 占颗粒 12—14%, 90% 是磷脂。颗粒分子量约 50×10^6 。代表株为 PM2, 寄生在海水假单胞菌中^[48]。属于 D3 型。

复层噬菌体科(Tectiviridae) 的成员属于 D4 形态型, 代表株为 PRD1。颗粒呈现 20 面体, 约 65nm 的直径, 有的在顶角有单一长 20nm 的刺突, 具有双层衣壳, 坚固的外壳厚 3nm, 可伸曲的内壳厚 5—6nm, 后者可溶于脂质溶剂。颗粒分子量约 70×10^6 , 含有双链线状 DNA, 分子量约 9×10^6 , 约占颗粒 14%。含有占颗粒 10—20% 的脂质, 似乎

分布在内壳上，60%的脂质为磷脂质。无囊膜。这种噬菌体感染革兰氏阴性菌时，吸附在与质粒有关的伞毛尖端，当注入核酸时，出现长60nm的类似尾部结构^[48]。

轻小噬菌体科(Leviviridae) 的成员属于E1型，代表株为MS2。呈现20面体，直径约23nm，分子量为 3.9×10^6 。可能有32个衣壳体，无囊膜。含有单链RNA，占颗粒重量30%，分子量约 1.2×10^6 ，G+C量为51—52%。已知它们的宿主菌包括肠道细菌、柄细菌、假单胞菌等，吸附在雄性细菌的性伞毛侧面，在感染细胞中噬菌体排列成晶体状，裂解时每个细胞可释放数千个颗粒。

囊状噬菌体科(Cystoviridae) 的成员属于E2型，代表株为Φ6，感染假单胞菌。颗粒为20面体，直径约75nm，具有可曲伸的囊膜，多面体的衣壳直径为60nm，吸附在伞毛侧面。颗粒分子量约 100×10^6 ，颗粒内含三条线状双链RNA，总分子量为 10.4×10^6 ，每条分别为 2.3×10^6 、 3.1×10^6 和 5.0×10^6 ，占颗粒重量10%，G+C量为56%。颗粒中有20%组成为脂质，分布在囊膜上，其中90%脂质为磷脂^[48]。

1.3 丝杆噬菌体

丝杆噬菌体科(Inoviridae) 共分两属，丝状噬菌体属(Inovirus)和杆状噬菌体属(Plectrovirus)，前者为F1型，后者为F2型。

丝状噬菌体属的成员是一类可弯曲的丝状颗粒，长760—1950nm，直径6nm，分子量11— 23×10^6 。内含环状单链DNA，分子量为 $1.9—2.7 \times 10^6$ ，占颗粒重量5.5—12%，G+C量42—62%。噬菌体大多数吸附在雄性细菌的性伞毛末端而进入细胞。代表株为fd^[48]。

杆状噬菌体属的成员是一类短直杆状颗粒，一端钝圆，约 84×14 nm。内含单链DNA，分子量 1.5×10^6 。代表株为感染非胆甾原体(*Acholeplasma*)的MVL 51^[48]。

1.4 芽生噬菌体

芽生噬菌体科(Plasmaviridae) 是一类略呈圆形和多形型的颗粒，被以可伸曲的囊膜，直径约80(50—120)nm。从切面可见到囊膜内有一小而染色密度高的核心。成熟时病毒颗粒通过芽生而释放。这种噬菌体的核酸是一环状超螺旋双链DNA，分子量约 7.6×10^6 ，具有囊膜，其中含有脂质。代表株为感染非胆甾原体的MVL2。形态型属于G型^[48]。

在这本图谱中，我们在多面体噬菌体和丝杆噬菌体方面只收集到微小噬菌体科，轻小噬菌体科的丝状噬菌体属的成员，大多数来自国外实验室。在国内曾报道与支原体有关的噬菌体颗粒，但还需作进一步的肯定。

2. 研究噬菌体的电镜技术

1940年 Ruska 首次在电镜下观察到噬菌体的形态，它是一种具有头尾结构的颗粒，从此，开始了电镜下研究噬菌体形态和大小的工作。最初，为了增强颗粒的反差，使用倾斜投影，即金属投影技术处理样品，可以观察到噬菌体的颗粒形状，但噬菌体结构的细节受到掩盖，样品在空气中干燥时受到表面张力作用而破坏、变形或变得平坦，同时操作较费时和复杂。随着电镜制造业的发展，高分辨率的电镜相继问世，一些配套使用的制片仪器的出现，制片技术也不断地改进，在电镜下观察噬菌体的方法日趋完善。1959年 Brenner 和 Horne^[22]提出利用磷钨酸溶液对病毒样品进行负染色，可以清楚地观察到噬菌体颗粒的结构和形态，较真实地反映它的形态和大小。从此，负染色技术广泛地应用于病毒样品的制备，现已成为各实验室的常规方法，与之相应的醋酸铀溶液染色技术也因有相似的效果应用，可以相辅适用于不同目的。此外，利用一步释放法^[41]或两步释放法^[64]释放噬菌体颗粒中的核酸，在细胞色素 C 单分子层展层^[42]，可以直接观察核酸分子。这些技术使我们能清楚地观察和研究噬菌体的形态结构和结构亚单位，阐明它们的功能，扩大了我们对于这一微观世界的了解。这些技术已成为当今一些实验室的常规方法。

2.1 支持网和膜

常用的支持样品的载网有不锈钢和电解铜网。一般较为实用的是市售铜网，230目。

铜网必须保持清洁，可用稀盐酸浸洗2—3分钟，然后水洗，乙醇洗涤，丙酮洗涤，保持在乙醇中或二氯乙烷中。较脏的网可用浓硫酸浸洗(1分钟内)，待网显示鲜铜色时倾除硫酸，立即用大量清水冲洗，直至中性；如果铜网已覆有火棉胶膜，应先用醋酸异戊酯浸泡去掉后再洗。也有用浓氨水煮铜网5分钟后再用蒸馏水清洗，最后保持在乙醇中待用^[62]。

支持膜是覆在载网上的一层膜，使病毒颗粒能附着其上便于观察，选择作为支持膜材料的最主要原则是对电子的高度透明和足够的强度，还应注意到膜的稳定性。一般说，在25—100kV时，电子贯穿力较低，为了减少电子散射，必须要求高透明度，只有高强度材料才能制成薄和高透明度的支持膜，这是基本的和必需的要求。塑料和碳膜可以供选择使用。

通常使用的支持膜有碳膜、火棉胶膜和透明塑胶(formvar)膜。火棉胶是最常用的一种材料，易于制膜和较少疏水性，由于在这种膜上标本颗粒易分散，适宜于检查和观察小颗粒标本。制成的膜厚度应保持20nm，如果低于此数字时，由于电子束产生静电作用会撕裂膜，尤其未覆碳的火棉胶膜和厚度不超过15nm时更易撕裂。火棉胶溶于醋酸戊酯、醋酸异戊酯、丙酮和乙醚中，常配成0.5—1%溶于醋酸戊酯的溶液，保持隔日后待全溶解才能使用，贮存在黑暗中，以防止在光照下形成不溶性物质而造成膜强度的减低。宜配小量溶液，存放在冰箱中供使用。