

葡激酶溶原转换性血清A型噬菌体

王家驹 戴小密 司穉东

(中国科学院上海植物生理研究所噬菌体实验室, 上海)

任 静

(新疆维吾尔自治区地方病防治研究所, 乌鲁木齐)

摘 要

从金黄色葡萄球菌菌株120中分离到两株血清A型噬菌体, 其中一株具有产生葡激酶的溶原性转换能力, 过去未曾见过报道。

金黄色葡萄球菌的葡激酶溶原性转换噬菌体的分离曾有过报道 Winkler, K.C.等^[1], Jan, C.M等^[2], R.E.Mason等^[3]发现葡激酶溶原性转换噬菌体都属于血清F型, Kondo, I^[4]获得一株血清 β 型的具有单一葡激酶溶原性转换的噬菌体, 和另一株有F型葡激酶转换能力, 但同时失去 β -溶血素的噬菌体。至今尚未见葡激酶溶原性转换血清A型噬菌体的报道, 在金黄色葡萄球菌溶原性转换的研究中, 我们分离得到一株具有葡激酶溶原性转换的血清A型的噬菌体。

材料与方法

一、菌株和噬菌体

金黄色葡萄球菌(金葡菌)菌株120, 369由上海华山医院抗生素研究室赠送。金葡菌分型噬菌体和相应增殖菌株均为金葡菌国际噬菌体分型所用(英国伦敦Colindale金葡菌分型咨询实验室)。

二、培养基

营养肉汤培养基, 营养肉汤琼脂固体和半固体培养基, 血琼脂平板, 热处理人血浆平板, 参照文献^[5]。

三、噬菌体技术

温和性噬菌体分离, 纯化, 菌株溶原化, 溶原性检查参照文献^[5]。

本文1985年9月17日收到

四、抗噬菌体血清制备

参照 Adams “噬菌体” 一书^[6]。

结 果

一、葡激酶溶原性转换噬菌体的分离

金葡萄菌株 120 为葡激酶阳性, β -溶血素阴性。菌株 369 为葡激酶阴性, β -溶血素为阳性, 用终浓度为 0.5r/ml 的丝裂霉素 C 诱导菌株 120, 诱导液滤过除菌, 适当稀释, 以菌株 369 为指示菌, 在双层琼脂平板上分离单噬菌斑, 经纯化后得到噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 。将菌株 120 诱导液经增殖, 除菌, 直接点滴于表面接种了指示菌 369 的平板上, 发现融汇裂解区内又出现个别单噬菌斑, 挑出后在菌株 369 上纯化得到噬菌体 $\phi 120 \text{ II}$ 。将菌株 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$ 分别将菌株 369 溶原化, 得到 369 ($\phi 120 \text{ I}$) 和 369 ($\phi 120 \text{ II}$), 检查核两噬菌体的溶原性转换能力, 结果见表 1。菌株 369 经噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 溶原化后, 溶原菌 369 ($\phi 120 \text{ I}$) 具有葡激酶产生能力, 同时丢失 369 菌株原有 β -溶血素产生能力。而 $\phi 120 \text{ II}$ 溶化 369, 则无此特性。即 $\phi 120 \text{ I}$ 为葡激酶转换性噬菌体, 而 $\phi 120 \text{ II}$ 为非转换性噬菌体。

表 1 噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$ 溶原性转换
Tab.1 Lysogenic conversion of $\phi 120 \text{ I}$ and $\phi 120 \text{ II}$

溶原性转换	369	369 ($\phi 120 \text{ I}$)	369 ($\phi 120 \text{ II}$)	120
SAK	-	+	-	+
Hemolysin	+	-	+	-

-: 阴性

+: 阳性

二、温和性噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$, $\phi 120 \text{ II}$ 的血清型的检查

为鉴别分离到的噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$ 的噬菌体血清, 制备了 A, B 及 F 型的噬菌体抗血清。用金葡萄国际噬菌体分型用 54 (A 型), 53 (B 型) 和 77 (F 型) 高效价的噬菌体免疫家兔得到抗噬菌体血清 A, B 及 F 型。对噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$, $\phi 120 \text{ II}$, 54, 53 和 77 的中和反应结果见表 2。表明噬菌体血清 A 型对已知 A 型噬菌体 54 中和率达 94.6%。对噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 的中和率也到 98.2%, 而噬菌体血清 B 和 F 型对已知 B 型噬菌体 53 和 F 型噬菌体 77 中和率都达 90% 以上, 而对噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$ 均不中和或很低, 因此噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$ 均为血清 A 型噬菌体。

三、抗噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 血清对血清型为 A, B 和 F 的噬菌体 54, 53 和 77 及 $\phi 120 \text{ I}$, $\phi 120 \text{ II}$ 的中和作用。

已报道的金葡萄葡激酶溶原性转换的噬菌体中, 只有噬菌体血清 F 和 B 型, 未见噬菌体血清 A 型的噬菌体具有葡激酶溶原性转换能力, 为进一步检验分离到的具有葡激酶转换能力的噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 的血清型别, 将经纯化的噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 的高效价无菌培养液免疫家兔, 制备抗噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 血清, 将其抗血清和已知血清型的国际分型用噬菌体 54 (A 型), 53 (B

表 2 抗噬菌体 A、B 和 F 型血清对噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 、 $\phi 120 \text{ II}$ 的中和反应
 Tab. 2 Neutralization of Phage $\phi 120 \text{ I}$ and $\phi 120 \text{ II}$
 by A, B and F Serotypes

噬菌体株	血清型		
	A	B	F
120 I	98.2%	0	0
120 II	98%	25%	37%
54(A型)	94.6%	0	0
53(B型)	0	92.1%	0
77(F型)	0	0	99.9%

型) 和 77 (F 型) 进行中和试验, 结果见表 3。抗噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 的血清对血清 A 型噬菌体 54 中和率达 99.79%, 而对血清 B 和 F 型噬菌体只有 23% 和 4%, 对 $\phi 120 \text{ II}$ 中和率为 99.9%, 表明新分离的葡激酶转换性和非转换性噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$ 确为血清 A 型的噬菌体。

表 3 抗噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 血清对血清 A、B 和 F 型噬菌体的中和反应
 Tab. 3 Neutralization of serotype A, B and F Phages
 by antiphage 120 I serum

噬菌体的血清型	54(A)	53(B)	77(F) 中和率	$\phi 120 \text{ I}$	$\phi 120 \text{ II}$
抗一噬菌体 120 I 血清	99.79%	23%	4%	100%	99.9%

讨 论

金葡菌的葡激酶溶原性转换噬菌体分离和研究已有报道 Winkler 等^[1], Jan 等^[2], Mason 等^[3] 都分离到血清 F 型的噬菌体具有溶原性转换葡激酶产生和丢失原菌株 β -溶血素能力。Kondo 等^[4] 也分离到血清 F 型—5 前相同的葡激酶溶原性转换噬菌体和另一株单一葡激酶转换的血清 B 型噬菌体。我们实验室从菌株 66 中也曾分离到一株血清 F 型的噬菌体具有葡激酶转换能力和另一株无此能力的血清 B 型噬菌体^[5]。1982 年 Kondo 等^[7] 曾证明葡激酶的基因由噬菌体所携带, 并克隆在大肠杆菌中。

此次从溶原性金葡菌菌株 120 中分离到两株噬菌体 $\phi 120 \text{ I}$ 和 $\phi 120 \text{ II}$, 都为血清 A 型的噬菌体, 而 $\phi 120 \text{ I}$ 还具有产生葡激酶转换能力, 同时使溶原化菌的 β -溶血素的产生由阳性转换为阴性, 血清 A 型具有葡激酶转换能力的噬菌体尚未见报道。

据现有报道和我们的工作, 金葡菌葡激酶溶原性转换噬菌体可能相当普遍的, 不仅在血清 F 型, B 型中, 而且现在证明血清 A 型噬菌体中也存在葡激酶转换能力的噬菌体。曾有报道葡激酶基因在单一葡激酶转换的血清 B 型噬菌体中携带^[7], 其他类型葡激酶转换噬菌体包括血清 F 型葡激酶的基因是否也是由噬菌体携带, 尚待进一步证实。

参 考 文 献

- [1] Winkler K.C. et al. 1965, J. Gen. Microb. 39 : 321.
[2] Jan C.M. et al. 1972, J. Virol. 10 : 316.
[3] Mason. R.E. et al. 1975, Can. J. Microb. 21 : 1113-1116.
[4] Kondo, I. et al. 1977, Infect. Immun. 18 : 266-272.
[5] 王家驹等, 1985, 病毒学报 1 : 65-69.
[6] 司穉东等译, 1979. “噬菌体”江苏省噬菌体研究室。
(Adams MH “Bacterophage” Interscience publishers, Inc. New York, 1959)
[7] Kondo, I. et al, 1982, Program and Abstracts, XIII International Congress of Microbiology International Union of Microbiological Societies. P25 : 8.

SEROTYPE A STAPHYLOCOCCAL BACTERIOPHAGE CONVERTING STAPHYLOKINASE

Wang Jiaz-xun Dai Xiao-mi Shi Zhi-dong

(Laboratory of Bacteriophage, Shanghai Institute of
Plant physiology, Academia Sinica, Shanghai)

Ren Jing

(Institute for Prevention and Cure of Endemic Diseases,
Xinjiang Uighur Autonomous Region, Uighur)

Two serotype A temperate phages were isolated from staphylococcus aureus strain 120. One of them has the capacity of lysogenic conversion for production of staphylokinase, it has not been reported previously.