

通过碱土金属盐先将微生物吸附沉降,再采用聚丙烯酰胺包埋固定,其特点是可以免去固定菌体的离心浓缩。角野立夫等<sup>[28]</sup>选用无毒的酯来提高固定化微生物的活性。其方法是:将末端带异氰酸基的聚氨基甲酸酯(预聚物)、海藻酸钠、甲基乙基甲酮(5—30%)、甲苯二异氰酸酯(0.2—0.8%)、微生物充分搅拌均匀,用注射器滴入2.5%的CaCl<sub>2</sub>溶液中,再使其聚合即得固定化微生物颗粒。田中秀夫等<sup>[29]</sup>发现,将一些能吸收有害的有机溶剂的吸附剂分散在固定化微生物颗粒中而制得的固定化微生物颗粒,可以在含有有害有机溶剂的培养基中进行培养而不受其影响,这为解决一些类似的特殊的问题提供了一条新的途径。

上述方法虽然针对的大都是微生物菌体,但对酶以及其他欲固定的对象同样适应。

### 参 考 文 献

1. Tsay S S et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, 29(3):297, 1987.
2. Barbel H H. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, 26: 771, 1984.
3. Hidco T et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, 28: 1761, 1986.

4. 福井三郎: *バイオリアクター*, 講談社, 1985.
5. 角野立夫等: 公开特许, 昭 60-153794, 1985.
6. 岳奇贤: 哈工大硕士论文集, 1989.
7. 飯田高三等: 公开特许, 昭 62-190081, 1987.
8. 角野立夫等: 公开特许, 昭 61-271089, 1986.
9. 角野立夫等: 公开特许, 昭 61-271090, 1986.
10. 梅山公一等: 公开特许, 昭 62-215389, 1987.
11. 丹羽千明: 公开特许, 昭 61-209091, 1986.
12. 村上幸夫等: 公开特许, 昭 62-166889, 1987.
13. 片岡克之: 公开特许, 昭 61-242691, 1986.
14. 田沢竜三: 公开特许, 昭 61-242580, 1986.
15. 丹羽千明: 公开特许, 昭 61-209088, 1986.
16. 小林浩志等: 公开特许, 昭 62-186995, 1987.
17. 市村国宏等: 公开特许, 昭 62-13403, 1987.
18. 市村国宏等: 特许公报, 昭 61-49957, 1986.
19. 桥本奖等: 公开特许, 昭 61-158786, 1986.
20. 三村精男等: 公开特许, 昭 57-105190, 1982.
21. 角野立夫等: 公开特许, 昭 61-68196, 1986.
22. 角野立夫等: 公开特许, 昭 61-204089, 1986.
23. 片貝信義等: 公开特许, 昭 62-224290, 1987.
24. 片岡克之等: 公开特许, 昭 62-19083, 1987.
25. 桥本奖等: 公开特许, 昭 61-100193, 1986.
26. 三島浩二等: 公开特许, 昭 61-219385, 1986.
27. 森直道等: 公开特许, 昭 62-61583, 1987.
28. 角野立夫等: 公开特许, 昭 62-3787, 1987.
29. 田中秀夫等: 公开特许, 昭 61-247385, 1986.

## 枝原体和类菌质体辨析

李 寿 星

(湖北农学院, 湖北荆州)

各类高等院校目前使用的《微生物学》教材中,有些在述及枝原体(*Mycoplasma*)时,称“枝原体又称类菌质体”<sup>[1,2]</sup>,或将有关的微生物含糊其辞地称作“枝原体类”<sup>[3]</sup>。《英汉微生物学词汇》和《英汉生物学词汇》等权威性工具书中,对*Mycoplasma*的释义也有枝原体和类菌质体之说。其实,枝原体和类菌质体二者既密切相关,又不等同,对此甚有必要加以澄清,以利于在教学工作中有一个正确的概念传授给学生。

### (一) 枝原体

*Mycoplasma*一词在我国译称甚多,普通微生物学和医学微生物学工作者一般译作枝原体(或支原体);植病工作者多译作菌质体、菌原体、菌原质、菌形体等;兽医界则有译为霉形体的。本文采用较为通用的译名:枝原体。

Nocard和Reux 1898年从患胸膜肺炎的牛体中分离得到一种病原物,定名为胸膜肺炎微生物(*Pleuropneumonia organism*,简称PPO)。此后,Bridro和Donatien 1923年从患传染性无乳症的绵羊,Shoeten-

sack 1934年从犬瘟热的分泌物、肝和肠中,Laidlaw和Elford 1936年从阴沟水中都发现了性质类似的微生物,笼统地把它们称为类胸膜肺炎微生物(*Pleuropneumonia-like organisms*,简称)。枝原体一词最初见于1929年,Nowak提议将牛胸膜肺炎的病原体称为胸膜肺炎枝原体(*Mycoplasma Peripneumoniae*),1955年又将其易名为犊状枝原体(*M. mycoides*)。1957年《伯杰细菌鉴定手册》第七版在原生植物门(Protophyta)裂殖菌纲(Schizomycetes)中单设枝原体目(*Mycoplasmatales*),1966年国际细菌命名会议和1967年枝原体分类专门委员会将枝原体列入一独立新纲——柔膜菌纲(Mollicutes),意思是这类生物具有易弯曲的、柔软的细胞膜<sup>[4]</sup>。1974年《伯杰细菌鉴定手册》第八版将枝原体列为原核生物界(Procaryotae)细菌门(Bacteria)中的最后一个部(第19部),仍归入柔膜菌纲<sup>[5]</sup>。1984年《伯杰系统细菌学手册,第一卷》把枝原体归入原核生物界软壁菌门(Tenericutes)柔膜菌纲,纲内设一目三科四属,另有二个分类位置未定的属(表1)<sup>[6]</sup>。

表 1 柔膜菌纲生物的分类<sup>[6]</sup>

- 目 I. 枝原体目 (Mycoplastales)
- 科 I. 枝原体科 (Mycoplastaceae)
  - 属 I. 枝原体属 (*Mycoplasma*)
  - 属 II. 尿原体属 (*Ureaplasma*)
- 科 II. 无胆甾原体科 (Acholeplasmataceae)
  - 属 I. 无胆甾原体属 (*Acholeplasma*)
- 科 III. 螺原体科 (Spiroplasmataceae)
  - 属 I. 螺原体属 (*Spiroplasma*)
- 分类位置未定的属:
  - 属 厌氧原体属 (*Anaeroplasma*)
  - 属 热原体属 (*Thermoplasma*)

枝原体是一个俗名,最初是指枝原体属的成员,现已扩大到用于指包括在柔膜菌纲内的任何生物。当提到纲内其它相应属的成员时,则常用到无胆甾原体、尿原体、厌氧原体、螺原体和热原体等俗名。1980年柔膜菌纲分类专门委员会会议提议把柔膜菌纲的生物称为柔膜菌,若此建议被通过,则枝原体这一俗名就只能是指枝原体属的生物了<sup>[6]</sup>。

枝原体都是很小的原核生物,无细胞壁,仅有细胞膜包围着菌体,而且不能合成肽聚糖及其前体物质;对青霉素及其类似物有抗性,但对渗透打击的溶菌作用、去污剂、乙醇、四环素、加有补体的特异抗体敏感;菌体呈高度多形性,具有从球形或梨形(直径 0.3—0.8 $\mu\text{m}$ )到分枝丝状和螺旋丝状的各种形态,并可通过孔径 450 nm 的膜滤器。由于丝状体常高度分枝,形似丝状真菌的原生质 (myco = 真菌、霉菌、分枝; plasma = 原生质、成形),故在我国根据其形态和词义出现多种译称。基因组复制先于细胞分裂,但并不一定伴随有细胞分裂,因此还可观察到形成出芽和念珠状丝以及典型的二分叉;能在成分复杂的无细胞人工培养基上生长,多数种的生长需要固醇和脂肪酸,在固体培养基上几乎所有的种都形成很小的直径不足 1mm 的“油煎蛋”状菌落。上述特点能将枝原体与其它原核微生物很好地区别开,但与细菌 L-型不易区别,因二者都形成“油煎蛋”状菌落,都对青霉素和溶菌酶有抗性,以及具有渗透脆性和缺乏细胞壁等。然而,二者之间也存在一些十分重要的区别,如在 L-型培养物中细胞大小具有明显的异质性,存在有所谓的“大体”,但缺乏枝原体那样的丝状体;L-型的膜内存在有细胞壁多聚物的前体物质,而枝原体则无;L-型一般是实验室的人工产物,一旦从生长培养基中除去诱导物(如青霉素、溶菌酶、抗体),能够逆转为细菌型,枝原体则否<sup>[4-6]</sup>。

## (二) 类菌质体的发现

植物的黄化型病害长期被认为是病毒病。1967年,日本土居养二 (Doi) 等利用电子显微镜超薄切片方法,对感染萎蔫、马铃薯从枝、翠菊黄化或泡桐丛枝病的植物进行了研究,发现在病株韧皮部筛管细胞

中存在有大小介于病毒和细菌之间的一类新病原,其形态结构与引起动物病的枝原体(菌质体)十分相似,所以称为类菌质体 (Mycoplasma-like organisms, 又译为类枝原体、类菌原体等),简称 MLO,当时还认为这些新病原也可能是与动物的鸚鵡热-淋巴肉芽肿-沙眼 (PLT) 病原相类似的微生物<sup>[7]</sup>。石象 (Ishii) 等用四环素族抗生素治疗桑萎缩病的病株,具有一定疗效,可使症状受到抑制或消失,在传毒的昆虫体内也观察到类菌质体的存在<sup>[8]</sup>。因此日本学者首先提出了类菌质体学说的四点依据:① 类菌质体只存在于病株,不存在于健株;② 类菌质体只存在于带毒虫体,不存在于无毒虫体;③ 病株中从未发现有病毒粒子;④ 类菌质体对四环素族抗生素敏感。1968年法国的 Maillet 和美国的 Maramorosch 等对翠菊黄化病也进行了研究,同样发现存在类菌质体<sup>[9]</sup>。类菌质体的发现,解决了长期以来植物黄化病害的病原问题,为植病研究开拓了一个新领域。至 1986年,发现可能系由类菌质体引起的植物病害达 200 多种<sup>[10]</sup>。

## (三) 类菌质体与枝原体的异同

与枝原体相似,类菌质体是无细胞壁,只有一层膜包围着的原核微生物,菌体直径 0.2—0.8 $\mu\text{m}$ ,具有球形、椭圆形、分枝丝状或螺旋丝状等多种形态。按是否存在螺旋丝状结构,类菌质体可分为两种类型,一类是螺旋状的,称为螺原体 (*Spiroplasma*),现已明确其分类地位,归入柔膜菌纲螺原体属(见表 1)。螺原体具有运动性,可在无细胞的人工培养基上生长,在固体培养基上形成微小的脐状或“油煎蛋”状菌落,引起柑桔顽固病的柠檬螺原体 (*Spiroplasma citri*) 即为其模式种。大多数类菌质体是非螺旋状的,体外培养尚未获成功<sup>[6,10]</sup>。

尽管植物中发现的类菌质体和动物的枝原体在形态和对四环素族抗生素的敏感性等方面颇为相似,但它们之间也存在有区别,例如枝原体能够人工培养,而多数类菌质体则不能人工培养;动物的枝原体是细胞间寄生,而植物中的类菌质体是细胞内寄生。现将植物的类菌质体、动物的枝原体和植物病毒三者的一些性状对照比较如表 2。

## (四) 结束语

正如前述,植物类菌质体的名称是基于它在形态上和已知微生物相比较而与动物枝原体十分相似而暂定的。目前业已发现为数众多的类菌质体,其鉴定的关键性试验是要将其培养成功或提纯,并与已知微生物进行生物化学、血清学及对抗生素的敏感性等方面的比较,才能确定其属、种、株的隶属关系。然而,除了螺原体能够人工培养,鉴定其属于柔膜菌纲,可以确认为枝原体外,类菌质体中的大多数由于无法人工培养,也尚未完全提纯,其种的鉴定也就没有可能。因此,目前只能根据其形态类似于枝原体仍称其为类菌质体,

表2 植物类菌质体、动物枝原体和植物病毒主要性状的比较<sup>[11]</sup>

病原物	植物病毒	植物类菌质体	动物枝原体
特征			
粒体或细胞的大小和形状	形态固定,球形(直径17—100nm)或杆状(12×20—100×300nm)	不定形,球形(直径100—1000nm)或丝状体	不定形,球形(直径100—1000nm)或丝状体
粒体或细胞的外膜	多数无,少数粒体有一层脂质外膜	有均一的单位膜	有均一的单位膜
粒体或细胞中的核酸	RNA或DNA	可能是DNA和RNA	DNA和RNA
基因组大小(道尔顿)	$0.4 \times 10^6$	有一例为 $1000 \times 10^6$	$400—1000 \times 10^6$
核糖体	无	很多,大小与细菌的相似	很多,大小与细菌的相似
增殖	复制	可能是二分裂	二分裂
在寄主中的部位	细胞内	细胞内	细胞间
人工培养基上培养	不能	少数可培养,形成“油煎蛋”状菌落	较易培养,形成“油煎蛋”状菌落
对四环素类的反应	抵抗	敏感	敏感
自然传播方式	大多由介体传播	节肢动物介体传播	多数通过环境污染传播

待以后鉴定清楚确属柔膜菌纲后,便可说“类菌质体即枝原体”了,那时,前面冠以的“类”字也无存在之必要了。目前只可以说“类菌质体可能是枝原体”(事实上有个别已确定是,如柠檬螺原体),而不可说“枝原体又称类菌质体”,因为二者无论是从词义上还是事实上都不能等同,即使将来证实二者为同类生物,这种提法也有反客为主,鸠占鹊巢之嫌。不过需要指出的是,由于大多数类菌质体的分类地位未定和可能是枝原体,《伯杰细菌鉴定手册》第八版和《伯杰系统细菌学手册,第一卷》都是将其放在枝原体的条目后加以叙述的。

诚然,有部分文献出现过“植物的枝原体”和“植物的枝原体病”的提法,有的甚至是作为题目或标题使用的,然而,这些文献总是毫无例外地要同时提及类菌质体和作一些说明。可能正是这些文献使有的人产生了“枝原体又称类菌质体”的错觉吧,但如果通览全文和多接触些文献,此问题是不难明了的。

### 参 考 文 献

1. 杨颐康: 微生物学,第36—37页,高等教育出版社,北京,

1986年。  
 2. 武汉大学、复旦大学微生物学教研室: 微生物学(第二版),第72—74页,高等教育出版社,北京,1987年。  
 3. 华中农业大学、南京农业大学: 微生物学(修订第四版),第16—17页,农业出版社,北京,1989年。  
 4. 佐佐木正五编,项大实、李建时译: 枝原体病,第1—151页,农业出版社,北京,1981年。  
 5. 中国科学院微生物研究所译: 伯杰细菌鉴定手册(第八版),第1283—1322页,科学出版社,北京,1984年。  
 6. Krieg NR et al.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1, p 740—793, Williams and Wilkins, Baltimore/London, 1984.  
 7. Doi Y et al.: Ann Phytopathol Soc Japan, 33: 259—266, 1967.  
 8. Ishie T et al.: Ann Phytopathol Soc Japan, 33: 267—275, 1967.  
 9. 陈作义: 生物化学与生物物理进展, 5: 24—30, 1977。  
 10. Lee I.M. and Davis RE: Ann Rev Phytopathol 24: 339—354, 1986.  
 11. Gibbs A and Harrison B: Plant Virology, The Principles, p249—255, Edward Arnorld, 1976.

## 幽门弯曲菌的微生物学研究现状

贺 茜

(第三军医大学微生物教研室,重庆)

近年来,关于幽门弯曲菌和慢性胃炎关系的研究报道层出不穷,但该课题进展不快,其主要限制因素是

本文承蒙周善章教授审校,特此致谢。

没有成功的动物模型。目前开展幽门弯曲菌的微生物学研究对该课题停滞不前的状态无疑有推动作用。但至今这方面资料尚很少见。本文旨在初步探讨决定幽门弯曲菌胃粘液定植和生存的几个生态学因素,以便引起有关研究者的重视。

### (一) 幽门弯曲菌的胃粘液定植

粘液定植 (Mucus Colonization) 是在研究肠道螺形菌粘附机制时提出的一个概念,指的是细菌通过粘液与肠道上皮细胞发生联系,但它与后者无配受体关系<sup>[1]</sup>。幽门弯曲菌也是一种生活在粘液下的螺形菌<sup>[2]</sup>,至今未发现它与上皮细胞有恒定的粘附现象,由此推测粘液定植是胃壁上幽门弯曲菌的主要粘附机制。胃粘液是由高分子糖蛋白构成的胶样物质,它形成厚约 200 $\mu\text{m}$  的粘液层覆盖于胃粘膜表面<sup>[3]</sup>,因其极大的粘稠度而对细菌运动形成较强的阻力。但幽门弯曲菌除靠鞭毛进行线性运动外,其菌体还能进行螺旋状运动,它在粘稠物质中的运动能力是大肠杆菌的 10 倍<sup>[4]</sup>,所以它能从胃腔钻入粘液层,并在其中自由穿行。由于粘液呈高度还原状态,故微嗜氧的幽门弯曲菌有贴近上皮细胞获取微量氧的倾向;又因为胃粘膜上皮细胞的连接处有较高浓度的尿素及血红素<sup>[4]</sup>,很可能形成这两种物质的梯度使幽门弯曲菌定向趋化运动,这在体外试验中已得到证实。根据该菌不出现在肠粘膜粘液中这一事实<sup>[5]</sup>,推测粘液的组成不同,会直接影响到幽门弯曲菌的定植。

### (二) 幽门弯曲菌的生长繁殖条件

任何细菌定植后都必须有合适的生长繁殖条件,才能在定植的环境中生存。幽门弯曲菌的体外生长条件如气体、营养、湿度等都高于普通菌,对它定居的胃环境进行理化分析,发现上述条件能通过一定的机制得到满足。胃粘液由胃腔至胃上皮细胞层存在着一个递增的 pH 梯度,在贴近上皮细胞表面时 pH 值为 7<sup>[11]</sup>,这样不耐酸的幽门弯曲菌就避开了胃酸的致死作用,而绝大多数其它菌因无动力或动力不够而在胃腔内被酸杀灭。粘液含有稳定的水层,保证了粘液下胃上皮表面部位有较高湿度,同时使胃腔内氧气难以透过粘液层,从而维持粘液下环境有较低的氧分压。该环境中的 CO<sub>2</sub> 除来自胃上皮细胞分泌的 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 与 H<sup>+</sup> 中和产生的 CO<sub>2</sub> 外<sup>[12]</sup>,幽门弯曲菌代谢中产生的高活性尿素酶还可不断分解尿素产生所需的 CO<sub>2</sub><sup>[6]</sup>,生成的 NH<sub>3</sub> 则与 H<sup>+</sup> 反应。营养物主要来自粘膜上皮、组织间液和胃腔,其成份极其丰富。绝大多数细菌因粘液限制而不能进入这样一个环境,需氧菌和厌氧菌在微嗜氧环境也不易生长,只有幽门弯曲菌不仅能定植,而

且获得了最适宜的生长繁殖条件。

### (三) 定植抗力 (Colonization Resistance, CR)<sup>[13]</sup>

一般情况下外来细菌进入消化道的某一部位,都要受到该部位常居菌群的拮抗作用,但胃粘膜表面环境有其独特性。据报道在正常情况下健康人胃内呈无菌状态,进餐时由于胃酸被中和,从口腔和咽部带入的细菌可暂时生存,30 分钟后胃内恢复酸性,则细菌被杀灭<sup>[14]</sup>。无动力的细菌及只靠鞭毛运动的细菌,都无法穿过粘液到中性环境中生存。对正常人和胃病患者胃活检粘膜切片观察及胃粘膜培养,都未发现恒定的伴随菌,说明整个胃粘膜表面和胃腔很可能无常居菌群,因此幽门弯曲菌也就不至于受到其它菌的拮抗。

### (四) 胃局部免疫力

正常情况下粘膜表面的免疫因子主要是 IgA,它能阻止病原体接近宿主细胞;有炎症时局部还有 IgG 渗出,可以中和并促使病原体被杀灭。但在幽门弯曲菌感染中,局部免疫因子的作用不明显,用免疫酶染色发现,绝大部分菌体表面包被有 IgG 和 IgA,但细菌不受损伤而仍然和病灶同在<sup>[15]</sup>,说明此时的胃环境不利于抗体功能的发挥,相反为该菌的致病性提供了有利条件。

### (五) 结语

幽门弯曲菌主要依靠其螺旋式的运动钻入粘液下,避开胃酸的作用,在粘液下胃粘膜上皮之上这一环境,它能得到适宜的生长繁殖条件,且不受其它菌及局部免疫的排斥,从而能生存和致病。系统地开展幽门弯曲菌的微生物学研究,将能揭示出决定幽门弯曲菌定植和生存的主要因素,并指导动物模型的建立,为深入研究幽门弯曲菌的致病机理,为慢性胃炎及溃疡病的预防及治疗提供了可靠的理论基础。

### 参 考 文 献

1. Adrian Lee: *Advances in Microbial Ecology*. Ed Marshall KC; Australia. 115—161, 1986.
2. Rollason TP et al.: *J Clin Pathol*. 37(1): 23—26, 1984.
3. Koelz HR et al.: *The Gastroenterology Annual/3*. Ed F Kern Jr, et al. USA. 47, 1986.
4. Hazell SL et al.: *J Infect Dis*. 153(4): 658, 1986.
5. Buck GE et al.: *J Infect Dis*. 153(3):664—669, 1986.
6. Borromeo M, et al.: *J Clin Pathol*. 40(4): 462—463, 1987.
7. Hill M et al.: *Scan J Gastroenterol*. 20(Sup111): 1—5, 1985.
8. Wyatt JI et al.: *J Clin Pathol*. 39(8): 865—870, 1986.