

野油菜黄单胞菌低温分泌黄原胶 微细结构特征和化学特性

刁虎欣 查满武

(南开大学微生物学系 天津 300071)

摘要:首次发现 28°C 培养至对数期且未分泌黄原胶的野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)移至 4°C 低温培养仍合成分泌黄原胶。黄原胶低温分泌最微细的结构单位是微丝,多根微丝进一步组成纤维、类似双螺旋或纤维束等级结构形式。低温分泌的黄原胶与 28°C 常温分泌的黄原胶相比有相同的化学组成与结构,但分子量、丙酮酸含量低。

关键词:黄原胶,低温分泌,微细结构,化学特性

中图分类号:Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2654(2001)02-0015-05

THE TINY STRUCTURE AND CHEMICAL PROPERTY FXANTHANSECRETED BY *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* UNDER LOW TEMPERATURE

DIAO Hu-Xin CHA Man-Wu

(The Department of Microbiology, NanKai University, Tianjin 300071)

Abstract: We first find *Xanthomonas campestris* N. K-01 which don't produce xanthan at 28°C can

synthesize and secrete the xanthan under low temperature (4°C). Little string is the most minute unit of the secreted under low temperature. Many little strings secreted by bacterium cell extend to form a wider xanthan fiber. When depart from cell, xanthan fiber either twine to form double helix of bundle together. They are both advanced structures of the xanthan strings. Xanthan secreted under 4°C has the same chemical composition and structure as that under 28°C, but lower molecular weight and lower pyruvate content.

Key words: Xanthan, Secreting under low temperature, Tiny structure, Chemical property

目前,微生物胞外多糖的合成与分泌已成为研究的热点问题。木醋杆菌(*Acetobacter xylium*)胞外纤维素的合成与分泌已详细报道^[1]牛淑敏等研究报道了野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*) N-K-01 菌株 28°C 常温培养黄原胶分泌的细胞学动态^[2]。

在黄原胶研究中,我们首次发现 28°C 常温培养且未合成分泌黄原胶的 *X. campestris* N-K-01,移至 4°C 低温培养仍能合成分泌黄原胶。利用黄原胶低温分泌数量少、速度慢的特点,我们研究了黄原胶低温分泌微细结构特征与化学特性,本文报道研究结果。

1 材料与方法

1.1 菌种

X. campestris N-K-01,南开大学微生物学系分离并保存。

1.2 培养基

蔗糖 30g,蛋白胨 5g,牛肉膏 3g,酵母膏 1g,蒸馏水配制,pH7.0,250mL 锥形瓶分装 50mL,8 层纱布扎瓶口,灭菌。

1.3 N-K-01 低温培养及透射电镜观察

将 28°C 震荡培养至对数生长期、经检测未分泌黄原胶的 N-K-01 培养物移至 4°C 冰箱静止培养 7d,检测低温培养物是否分泌黄原胶。采用牛淑敏等人的方法对低温培养物进行透射电镜观察^[2]。

1.4 黄原胶分析样品制备

采用刘如林等人的方法^[3]制备用于化学特性研究的黄原胶样品。

1.5 黄原胶红外光谱分析及分子量,丙酮酸含量测定

黄原胶样品经 KBr 压片,用 5DX 红外光谱仪分析,按王德润等人的粘度法测其分子量^[4],用 Duckworth 和 Yaphe 的酶法测其丙酮酸含量。

2 结果

2.1 N-K-01 低温分泌黄原胶

从图 1、图 2 看到,N-K-01 低温培养物光镜形成黄原胶多糖荚膜,电镜观察分泌丝状黄原胶,表明 N-K-01 4°C 低温培养合成分泌黄原胶。

2.2 黄原胶低温分泌微细结构特征

如图 3 所示,低温下黄原胶以纤细微丝向胞外分泌,微丝是分泌的最基本的结构单位。几根微丝从菌体细胞向外延伸组成较粗的黄原胶纤维。脱离菌体细胞的黄原胶纤维如图 4、5 所示,或成类似双螺旋、或排列成纤维束,这些皆是黄原胶微丝进一步形成的高级结构形式。

2.3 低温分泌黄原胶的化学特性

经分析,低温分泌的黄原胶与 28°C 常温分泌的黄原胶有相同的红外吸收光谱,表明它们有相同的分子结构。但低温分泌的黄原胶其分子量和丙酮酸含量低,如表 1、表 2 所示。

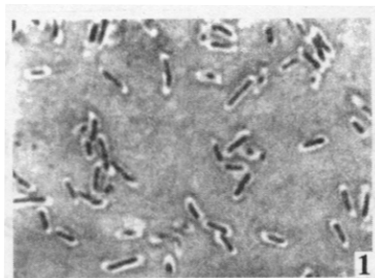


图 1 N-K-01 低温培养光镜观察形成黄原胶荚膜(1500×)

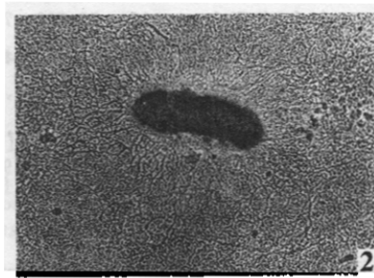


图 2 N-K-01 低温培养电镜观察分泌丝状黄原胶(23000×)

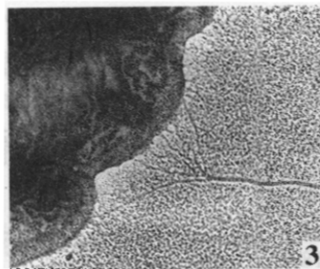


图 3 低温下黄原胶微丝形成纤维(34000×)

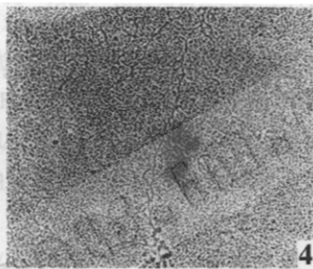


图 4 低温下黄原胶纤维形成类似双螺旋(23000×)

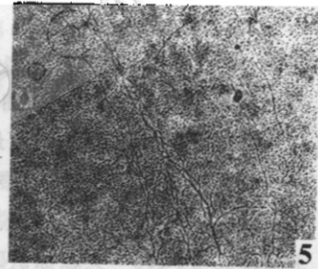


图 5 低温下黄原胶纤维排列成纤维束(18000×)

表 1 4°C 低温分泌和 28°C 常温分泌黄原胶分子量比较

黄原胶样品	分子量($\times 10^6$ D)				
4°C 低分泌黄原胶	2.10	1.96	1.90	1.93	1.87
28°C 常温分泌黄原胶	3.30	3.00	3.40	3.13	3.15

表 2 4°C 低温培养和 28°C 常温分泌黄原胶丙酮酸含量比较

黄原胶样品	丙酮酸含量(%)				
4°C 低分泌黄原胶	1.50	1.38	1.42	1.47	1.51
28°C 常温分泌黄原胶	3.50	3.31	3.42	3.36	3.54

3 讨论

28°C 常温培养且未分泌黄原胶的 *X. Campestris* N-K-01, 4°C 低温培养仍合成分泌黄原胶, 国内外尚未见报道。表明低温下黄原胶合成与分泌的酶类仍有活性, 但“五糖重复单位”聚合酶、丙酮酸酰化酶活性可能低, 导致分子量与丙酮酸含量低。

Leipi L 等人最新研究证明^[6], 黄原胶“五糖重复单位”的合成与聚合, 皆在膜内糖基载体

脂上进行。低温下膜脂双分子层可能多呈晶态,降低了糖基载体脂的运载活性,降低了黄原胶合成与分泌的数量和速度。只有低温下才能清楚地观察到黄原胶分泌的微细结构特征。

参 考 文 献

- [1] Zaar K. *Journal of cell Biology*, 1979, **80**:733~776.
- [2] 牛淑敏,杨建华,刘锡猛,等. *微生物学报*, 1994, **34**(6):475~479.
- [3] 刘如林,梁凤来,刁虎欣,等. *南开大学学报*, 1989, **1**:57~62.
- [4] 王德润,于宪潮,赵大健,等. *南开大学学报*, 1990, **3**:72~75.
- [5] Duckworth M, Yaphe W. *Chemical Industry*, 1970, **24**(2):747~749.
- [6] Ieipi L, Couso R, Dankert M, *Journal of Bacteriology*, 1993, **175**(9):2490~2500.