

Ames 试验菌株 TA100 的电子显微镜观察

孙纪申 张全福

(中国医学科学院生物医学工程研究所, 四川, 简阳)

Ames 等人提出用鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 突变株测试化学致癌物质, 经过 10 多年的研究, 发表了一系列研究报告^[1,2]。目前国外已有很多实验室建立了 Ames 试验方法, 并测试了上千种物质, 获得比较满意的结果。1978 年以来, 国内也开展了此项工作。这一工作仅依赖于肉眼观察, 是不够精确的。为了观察突变株在诱变剂作用下的超微结构变化, 我们用电镜观察细菌超薄切片, 获得了下述结果。

材 料 和 方 法

一、鼠伤寒沙门氏菌 TA100 的回变株标本制备

将鼠伤寒沙门氏菌 TA100 株接种于

上层琼脂培养基上, 并放上蘸有正定霉素溶液 (3mg/ml 灭菌蒸馏水) 的圆形小滤纸 ($\phi 6\text{mm}$) 一张, 37°C 培养 2 天后, 观察到滤纸片周围 2 cm 范围内为一抑菌圈, 在抑菌圈的周围长出菌落, 呈同心圆排列。把平皿放入 4°C 冰箱保存。

将鼠伤寒沙门氏菌野生株接种于上层琼脂培养基上作对照。

二、电镜标本的制备

1. 分别从鼠伤寒沙门氏菌野生株、TA100 株、TA100 株的回变株的平皿上刮取菌块。

2. 用 2% 多聚甲醛——2.5% 戊二醛 (pH

方连富副所长、杨成民主任对本工作的关心和指导; 杨秀甫、林国萍、杨宏剑、牛惠玲等同志参加部分工作, 一并致谢。

2.4) 冰箱固定 4—5 小时, 生理盐水清洗两次(各 10 分钟)。再用改良的 palade 氏缓冲液缓冲的 1% OsO_4 室温固定 1 小时, 生理盐水清洗 2 次(各 10 分钟)。

3. 在 40℃ 下用 30% 丙酮(10 分钟), 50% 丙酮(10 分钟), 70% 丙酮(15 分钟), 90% 丙酮(15 分钟), 100% 丙酮(三次, 每次 15 分钟)脱水。

4. 浸透: 用环氧树脂 618 和 100% 丙酮(1:1) 浸泡 1 小时, 再用纯 618 浸泡 3 小时(60℃)。618 包埋液*装入胶囊。

5. 固化: 60℃12 小时, 80℃12—24 小时。

部分标本用常规 Epon 812 包埋(A 液:B 液=2:8)。

结 果

鼠伤寒沙门氏菌野生株、TA100 和 TA100 的回变株各观察 500 个菌株, 其结果如下。

1. 野生株(图版 I-1, 2): 细胞壁一般由 2—3 个电子致密层和中间电子透明区所组成, 厚 110—180 Å 左右, 有的细胞壁呈波浪形。胞浆膜不够清晰, 有的地方可见二暗一明的结构, 厚 100 Å 左右。胞浆中充满核糖核蛋白颗粒, 有的小颗粒组成团块。核区电子密度低, 可见 DNA 细丝。

2. TA100 株(图版 I-3): 细胞壁一般由 3 个电子致密层和 2 个电子透明区所组成, 厚 200—300 Å。有的地方可以看到 4 个电子致密层及 3 个电子透明区。胞浆膜不清晰, 有的地方可见二暗一明的结构, 厚 100 Å 左右。胞浆中充满核糖核蛋白颗粒, 有的颗粒聚集在一起。核区电子密度低, 可见 DNA 细丝。

3. TA100 株的回变株(图版 I-4, 5): 细胞壁由 2—3 个电子致密层及中间电子透明区所组成, 厚 100—180 Å, 有的仅有一个电子致密层。细胞壁外面有小“刺”状结构, 约长 350 Å

(图中箭头所指)。胞浆膜不清晰。胞浆中充满核糖核蛋白颗粒。有时胞浆中出现电子致密小块。核区电子密度低, 内有 DNA 细丝。

讨 论

1. 从上述观察结果看, 鼠伤寒沙门氏菌的不同类型, 其细胞壁有着明显的差别。野生株的细胞壁一般由 2—3 个电子致密层和中间电子透明区所组成, 厚 110—180 Å 左右, 有的细胞壁呈波浪形(和大肠杆菌相似)。TA100 株的细胞壁一般由 3 个电子致密层和 2 个电子透明区所组成, 厚 200—300 Å (和脑膜炎奈瑟氏菌 A 群菌株相似)^[3], 有的地方可以看到 4 个电子致密层及 3 个电子透明区(和牛型布鲁氏菌 A₁ 菌株相似)^[4]。TA100 株经正定霉素作用后产生的回变株的细胞壁由 2—3 个电子致密层及中间电子透明区所组成, 厚 100—180 Å, 亦有仅一个电子致密层的, 壁外有小“刺”状结构, 这和野生株、TA100 株均不同。

2. 鼠伤寒沙门氏菌野生株的胞浆中可以看到细颗粒组成的团块(和大肠杆菌相似), 而 TA100 株及回变株则未见到。回变株胞浆中有时可见到形状不规则的高度电子致密的小块, 而野生株及 TA100 株则未见到。说明三者是有差别的。

以上试验结果为鉴别 Ames 试验的阳性、假阳性提供了形态学的资料。

参 考 文 献

- [1] Ames, B. N.: Science, **176**: 47, Apr. 1, 1972.
- [2] Ames, B. N. et al.: Mutation Res. **31**(6): 347, 1975.
- [3] 蔡保健、胡绪敬: 中国医学科学院学报, **3**(1): 62, 1981.
- [4] 孙纪申等: 微生物学报, **15**(1): 77, 1975.

* 618 包埋液配方 环氧树脂 618 15g, 十二碳烯基丁二酸酐 6.4g, 苯二甲酸二丁酯 (DBP) 2.2ml, 二乙基苯胺 2.2ml。