

Bacillus subtilis SNU 816의 phage에 대한 전자현미경적 관찰

安慶瀾 · 李周植* · 李雄植**
(청주사범대학 생물교육과, 서울대학교 미생물학과*, 서울대학교 생물교육과**)

Electron Microscopical Observation on the Phage of *Bacillus subtilis* SNU 816

(Ahn, Kyung Joon, Zoo Shik Lee*, and Woong Jik Lee**)

Department of Biological Education Cheongju College of Education, Department of
Microbiology* and Department of Biological Education Seoul National University.

Abstract

The phages of *Bacillus subtilis* SNU 816 were observed by electron microscope with their host.
The results are as follows;

The phage had hexagonal head, contractile tail sheath and base plate with six tail fibers. During the
lysis of bacteria due to attack of phage, dissolution of flagella were initiated from distal end of flagella.

序 論

최근의 연구에 의하면 *Bacillus subtilis*의 phage는
HMU-containing phage와 같은 毒性 phage와 溶原性
phage로 크게 나누며, 溶原性 phage는 다시 SP₀₂등
의 溶原性群과 SP₁₀등의 偽溶原性群으로 나뉘어지며
지난 십여년간 *B. subtilis*의 산업적 이용에 따라 이
를 宿主菌으로 하는 phage의 遺傳的, 分子生物學的,
연구가 활발히 진행되고 있으며, 지금까지 밝혀진
phage의 종류만도 수십종에 달하고 있다 (Hemphill
and Whiteley, 1975).

본 연구에 사용된 *B. subtilis* SNU 816 균주는 발
효공 제조에 쓰이는 것으로서 Lee(1974)가 분리한
菌株이다.

이 菌株을 이용한 콩과 밀쌀의 醱酵時 종종 粘質
物質의 消失에 따른 異常醱酵現象이 일어나 여기에
서 phage를 분리하였다.

분리된 phage에 대해서는 Lee(1978)와 Rhee(1980)
에 의하여 生理的 特性과 形態가 연구되었으며, 본

연구에서는 아직 보고되지 않은 형태적인 면을 추가
로 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 使用菌株: *Bacillus subtilis* SNU 816
2. 使用培地: Nutrient agar (polypeptone 10g,
yeast extract 2g, meat extract 7g, glucose 10g, Na
Cl 3g, agar 15g, D. W. 1ℓ, pH 7.2)

3. phage

異常醱酵을 일으킨 菌株을 nutrient agar plate 에
宿主菌과 함께 接種하여 plaque를 형성시켰다.
이를 희석, 培養하여 phage를 분리하였다.

4. 電子顯微鏡 試料 製作

(1) 試料支持膜

Collodion膜을 mesh에 받아 carbon-coating하였다.

(2) Negative Staining

NaOH로 pH6.8-7.0으로 조정된 1% phosphotungstic acid를 한방울 떨어뜨리고 plaque 주변에서 한loop
취하여 잘 묻 다음 mesh로 떠서 室溫에서 乾燥시켰

다.

(3) Metal Shadowing

멸균증류수를 한방울 떨구고 plaque 주변에서 한 loop 취하여 잘 쪼른 다음 mesh로 떠서 室温에서 乾燥시킨 후, vacuum evaporator에서 20°의 경사로 하여 Chromium으로 Shadowing시켰다.

(4) 試料 觀察 및 撮影

제작된 試料은 JEM-50B로 관찰하였고, 50KV 에서 2,000, 3,000, 6,000배의 배율로 촬영하였다.

結 果

宿主菌인 *B. subtilis* SNU 816은 桿菌으로서 균체 주변에는 많은 편모가 peritrichous한 상태로 붙어있었다(Fig. 1, 2).

Fig. 2의 균체 왼쪽에는 균체를 공격하고 있는 phage들이 부착되어 있음을 볼 수 있다.

Fig. 3에는 溶菌中인 균체와 균의 内, 外部에 phage particle이 널려 있음을 볼 수 있으며, 화살표 부위는 편모의 끝부분이 녹아 들어 가고 있음을 보이고 있다.

Fig. 3의 일부분을 Fig. 4로 확대하였으며, head가 상실된 phage의 base plate 부위에는 6개의 tail fiber 構造가 보이고 있다.

Fig. 5와 6에서와 같은 normal form의 phage와 Fig. 7~9에서와 같은 核酸을 放出한 상태의 contracted form이 관찰되었다.

phage의 head는 六角形 構造를 나타내고 있었으며 (Fig. 10), tail sheath 부위에는 cross band가 관찰되었다(Fig. 5, 6).

normal form에서는 tail sheath가 核酸을 放出한 contracted form에서 보다 길었고, contracted form에서는 base plate 밑부분에 tube가 突出되어 있음을 볼 수 있었다(Fig. 7~9).

考 察

電子顯微鏡 시료제작 과정에서 metal shadowing한 경우는 윤곽이 뚜렷하고 조사하고자 하는 재료의 높이를 알 수 있는 반면, phage와 같은 微細構造를 정확히 알아내는 데는 negative staining보다 못한 것으로 사료된다.

왜냐하면 shadowing된 그림자 때문에 정확한 크기를 알 수 없기 때문이다.

Fig. 3에서의 균체가 溶菌되는 과정에서 편모가 끝에서 부터 녹아 들어가는 모습은 흥미있는 사실이다.

본 연구에 사용된 phage는 Rhee(1980)가 보고한 바와 같이 *B. subtilis*의 phage SP₃와 형태학적으로 類似하였으며 (Eiserling and Romig, 1962), 특기할 만한 사실은 base plate 부위에 6개의 tail fiber 構造가 관찰되었다는 사실이며, 이는 *E. coli*의 T-even phage의 base plate 구조와 類似한 것이다(Bradley, 1967).

Fig. 4에서의 head는 시료 제작 과정에서 喪失된 것으로 추측된다.

본 연구에 사용된 JEM-50B 電子顯微鏡은 解像能 이 最大 50Å으로 phage의 微細構造를 確認하기에는 미흡하였으나 細菌의 구조와 phage의 存在를 조사하기에는 적당하다고 생각된다.

結 論

Bacillus subtilis SNU 816에서 분리한 phage에 대하여 電子顯微鏡으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

1. 분리된 phage는 육각형의 head와 contractile tail sheath를 가지며, base plate 부위에 6개의 tail fiber를 가지고 있었다.

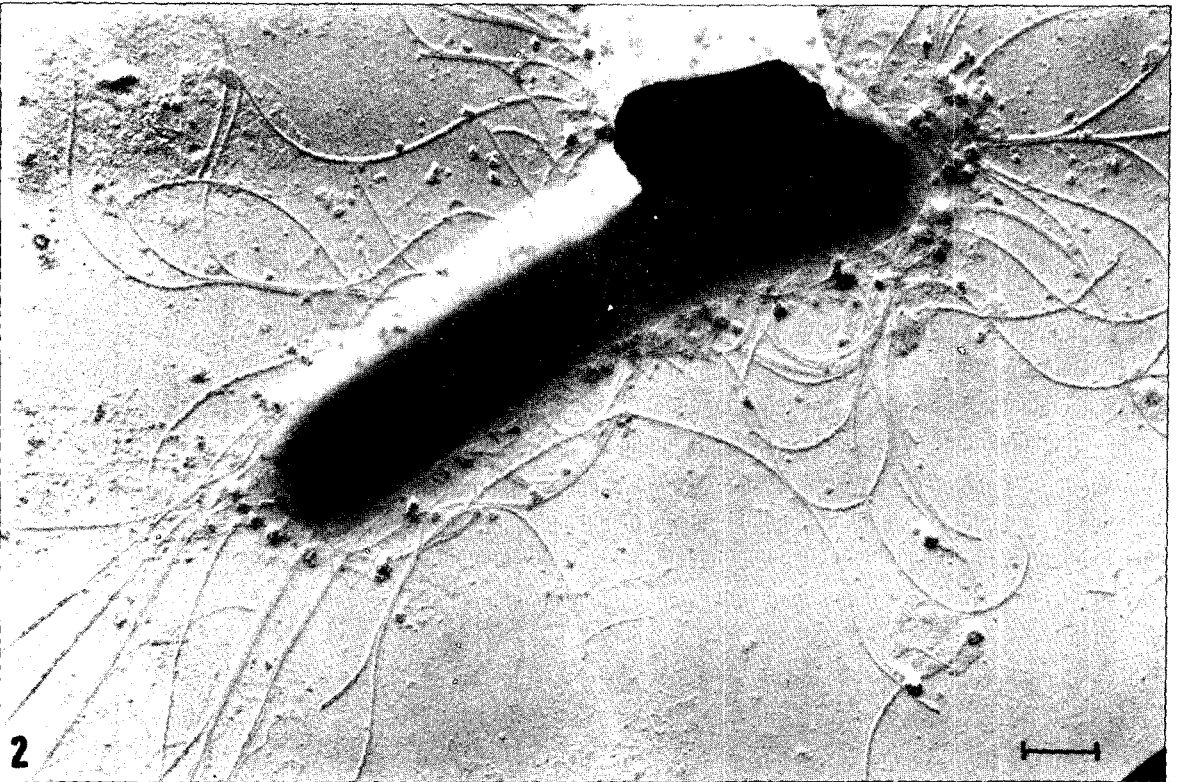
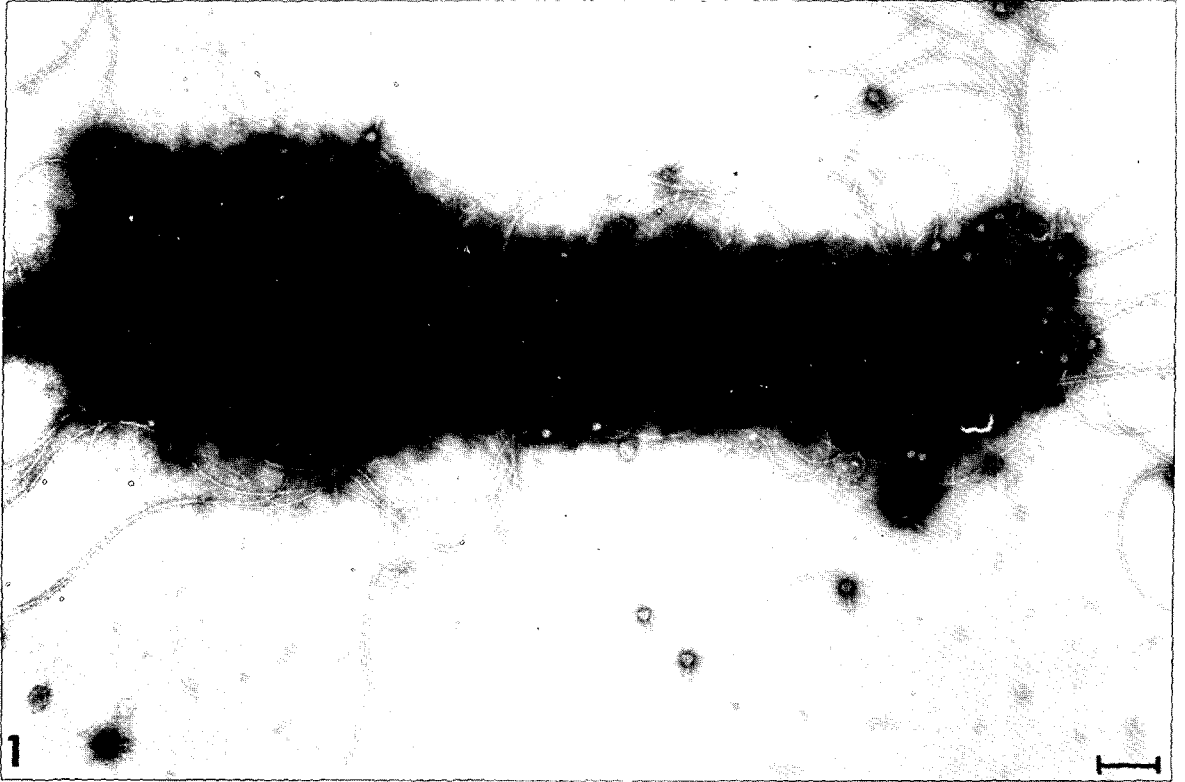
2. phage의 공격을 받아 溶菌되고 있는 宿主菌에서 편모가 끝에서 부터 녹아 들어가고 있었다.

References

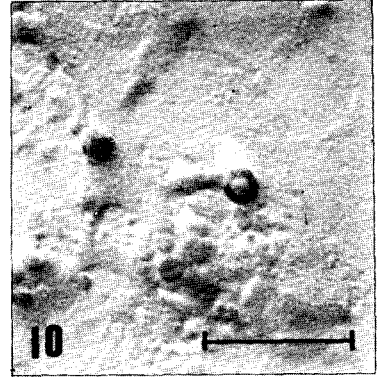
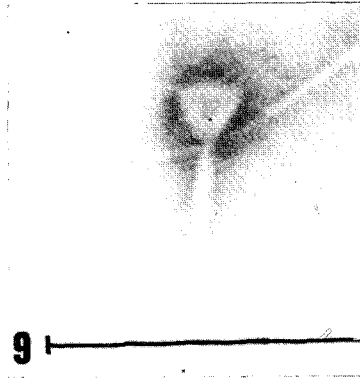
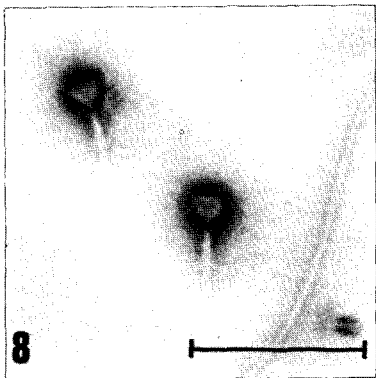
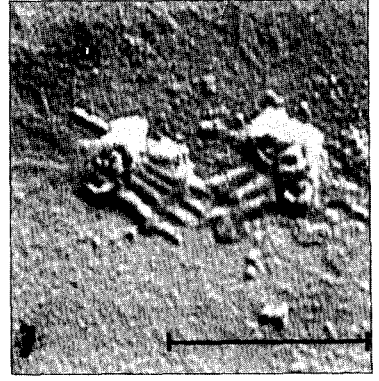
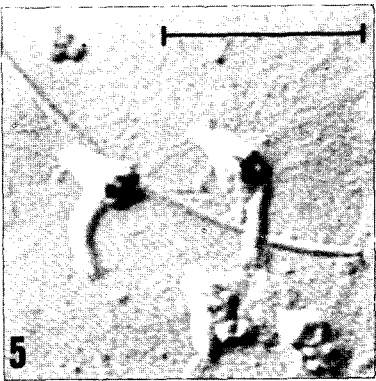
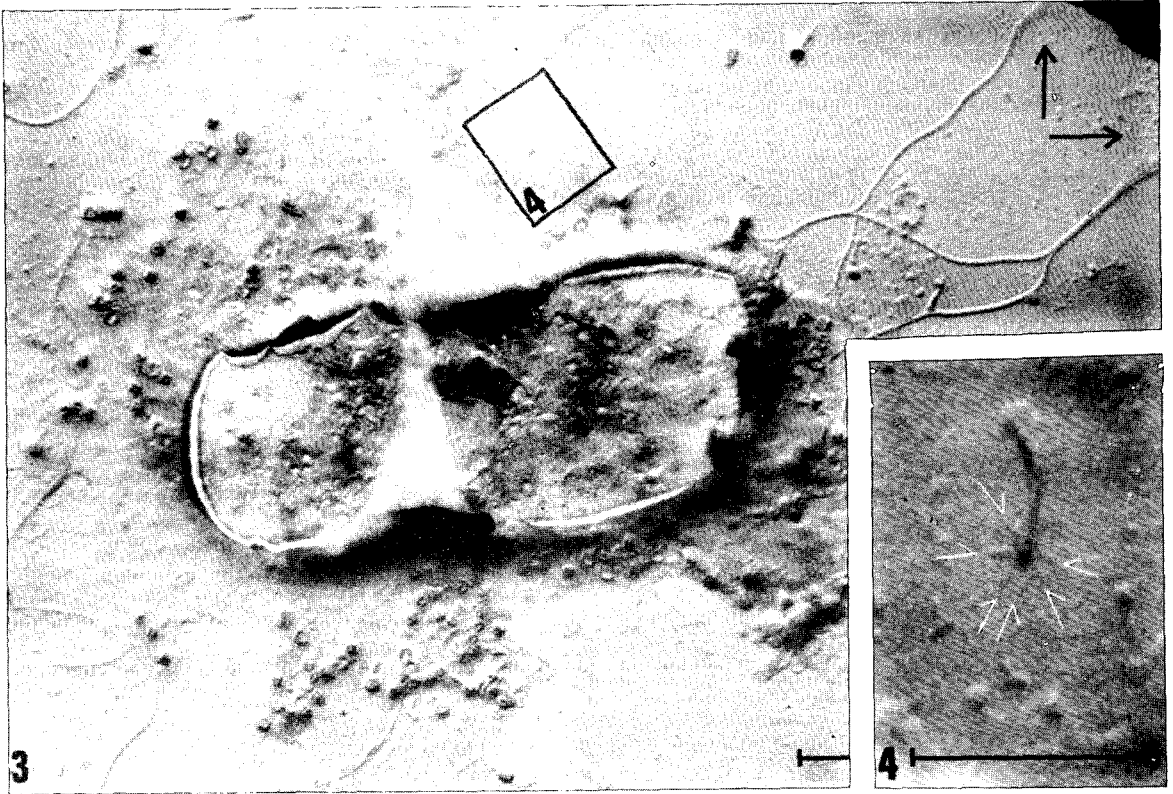
Bradley, D.E. 1967. Ultrastructure of bacteriophage and bacteriocins. *Bacteriol. Rev.* 31:230-314.
 Eiserling, F.A. and W.R. Romig 1962. Studies of *Bacillus subtilis* bacteriophage. Structural characterization by electron microscopy. *J. Ultrastr. Res.* 6:540-546.
 Hemphill, H.E. and H.R. Whitley 1975. Bacteriophage of *Bacillus subtilis*. *Bacteriol. Rev.* 39:257-315.
 Lee, Z.S. 1978. Studies on the isolation and characterization of bacteriophage of *Bacillus subtilis* var. 816. *Kor. J. Microbiol.* 16:71-78.
 Rhee, T.W. 1980. A study on the bacteriophage of *Bacillus subtilis* var. 816. *Bulletin of Cheongju College of Education* 10:169-176.

Figure Legends

- Fig. 1.** Phages and their host bacteria, negative staining. x15,000.
- Fig. 2.** Phages attached to their host, metal shadowing. x18,000.
- Fig. 3.** Lysis of host bacteria and dissolution of flagella (arrow), metal shadowing. x16,000
- Fig. 4.** Six tail fibers attached to base plate (arrow), metal shadowing. x57,000.
- Fig. 5.** Normal forms of phage, metal shadowing. x48,000.
- Fig. 6.** Normal forms of phage, metal shadowing. x82,000.
- Fig. 7.** Contracted form of phage, metal shadowing. x48,000.
- Fig. 8.** Contracted form of phage, negative staining. x41,700.
- Fig. 9.** Contracted form of phage, negative staining. x82,000.
- Fig. 10.** Hexagonal head of phage, metal shadowing. x36,000.



Bars indicate 0.5 μ .



Bars indicate 0.5μ .